

VeriSeq™ NIPT Solution v2

Ein umfassender,
anwenderfreundlicher
Gesamtenom-
Sequenzierungsassay

- Umfassende Analyse fetaler Chromosomen mit einem umfangreichen Testmenü, überprüft in einer Studie zur klinischen Genauigkeit mit mehr als 2.300 Proben
- Zuverlässige Testperformance¹ mit hoher Genauigkeit, schnellen Ergebnissen und geringen Fehlerraten
- Einfache, skalierbare IVD-Lösung zur Analyse von 24, 48 oder 96 Proben pro Lauf



Einleitung

Nichtinvasive Pränataltests (NIPT), die mit Sequenzierung der nächsten Generation (NGS, Next-Generation Sequencing) durchgeführt werden, liefern zuverlässige Screening-Ergebnisse für Aneuploidien der Chromosomen ab einem Gestationsalter von 10 Wochen anhand eines einzigen Röhrchens mit mütterlichem Blut.^{2,3} VeriSeq NIPT Solution v2 nutzt die leistungsstarke NGS-Technologie von Illumina für NIPT mit Genomsequenzierung (WGS, Whole Genome Sequencing) und erweitert das Testmenü so um häufige Aneuploidien (Trisomien 21, 18 und 13), seltene autosomale Aneuploidien (RAAs, Rare Autosomal Aneuploidies), bestimmte Geschlechtschromosomen-Aneuploidien (SCAs, Sex Chromosome Aneuploidies) und partielle Deletionen sowie Duplikationen, die als Kopienzahlvarianten (CNVs, Copy Number Variations) bezeichnet werden, mit einer Größe ≥ 7 Mb.

VeriSeq NIPT Solution v2 erlaubt ein umfassendes Screening der fetalen Chromosomen mit einem breiten Testmenü, genauen Ergebnissen und niedrigen Fehlerraten und ermöglicht fundierte, zeitnahe Entscheidungen zum Schwangerschaftsmanagement.¹ Mit Reagenzien, Instrumenten, Software, Installation und Schulung ist VeriSeq NIPT Solution v2 eine automatisierte, zuverlässige Lösung für hauseigene NIPT (Abbildung 1 und Tabelle 1).

Vollständige Analyse fetaler Chromosomen

Viele im Labor verwendete NIPT-Lösungen konzentrieren sich auf das Screening von Trisomien der Chromosomen 21, 18 und 13. Diese Chromosomenstörungen machen jedoch nur einen Teil der Anomalien aus, die auftreten können. Bei diesen Tests werden CNVs ≥ 7 Mb übersehen, die mit fetalen Anomalien und Entwicklungsverzögerungen in Verbindung gebracht werden können. Die Rate positiver Screening-Ergebnisse beim NIPT beträgt 0,12 %.⁴ Bei diesen Tests werden auch Schwangerschaften übersehen, die positiv auf RAAs getestet wurden, was mit negativen Folgen wie Fehlgeburten, intrauteriner Wachstumsrestriktion (IUGR, Intrauterine Growth Restriction), uniparentaler Disomie (UPD), spontanen Frühgeburten und fetalen Anomalien verbunden sein kann.⁵ Die kombinierte Rate positiver Screening-Ergebnisse für RAAs beträgt 0,34 %⁵, für Trisomie 21 liegt sie bei 0,30 %.^{6,7}

Tabelle 1: VeriSeq NIPT Solution v2, Übersicht

Parameter	Beschreibung
Methode	Genomsequenzierung
Bibliotheksvorbereitung	ohne PCR
Chemie	Paired-End-Sequenzierung
Anzahl der Proben	24, 48 oder 96 je Batch
Dauer bis Bericht	ca. 26 Stunden
Anzahl der Bediener	1
Probe	7–10 ml aus einem einzigen Röhrchen mit mütterlichem Blut
Nutzung der Analyse	Aneuploidiestatus sämtlicher Autosomen und Geschlechtschromosomen; CNVs ≥ 7 Mb

Zuverlässige Testperformance

Bezogen auf die Genauigkeit der Ergebnisse, die Reaktionszeit und die Fehlerraten weist VeriSeq NIPT Solution v2 eine herausragende Performance auf.

Hohe Genauigkeit

VeriSeq NIPT Solution v2 wurde zur Gewährleistung der klinischen Genauigkeit und Zuverlässigkeit getestet. Proben betroffener Schwangerschaften wurden in die Testgruppe aufgenommen, wenn klinische Ergebnisse vorlagen und die Probeneinschlusskriterien erfüllt waren. Die Kohorte umfasste ein Gestationsalter von mindestens 10 Wochen, Proben mit niedriger fetaler Fraktion sowie Zwillingsschwangerschaften. In der Studie wurden mehr als 2.300 mütterliche Proben mit bekannten Ergebnissen für Trisomie 21, Trisomie 18, Trisomie 13, RAAs, CNVs ≥ 7 MB und SCAs getestet. Die mit VeriSeq NIPT Solution v2 ermittelten Ergebnisse wurden mit einer klinischen Referenz verglichen. VeriSeq NIPT Solution v2 zeigte eine hohe Sensitivität und Spezifität für häufige Trisomien, RAAs, CNVs ≥ 7 Mb, eine hohe Übereinstimmung bei der Klassifizierung des Geschlechts des Fetus mit den klinischen Ergebnissen sowie eine geringe Probenfehlerrate beim ersten Lauf von 1,2 % (Tabelle 2 und Tabelle 3).¹



Abbildung 1: Umfassender IVD-NIPT-Workflow: VeriSeq NIPT Solution v2 bietet alles, was für NIPT mit NGS benötigt wird, darunter Reagenzien für die DNA-Extraktion, Bibliotheksvorbereitung und Sequenzierung, Geräte für die automatisierte Bibliotheksvorbereitung und Sequenzierung mit Workflow-Manager-Software, ein Vor-Ort-Server für die sichere Datenspeicherung und -analyse sowie Datenanalysesoftware, die Berichte mit qualitativen Ergebnissen erstellen kann.

Tabelle 2: Klinische Performance von VeriSeq NIPT Solution v2¹

	Trisomie 21 ^c	Trisomie 18	Trisomie 13	RAA ^d	CNV ≥ 7 Mb	Beliebige Anomalie ^e
Sensitivität ^a	> 99,9 % (130/130)	> 99,9 % (41/41)	> 99,9 % (26/26)	96,4 % (27/28)	74,1 % (20/27)	95,5 % (318/333)
Zweiseitiges 95%-KI ^b	97,1 %, 100 %	91,4 %, 100 %	87,1 %, 100 %	82,3 %, 99,4 %	55,3 %, 86,8 %	92,7 %, 97,3 %
Spezifität	99,90 % (1.982/1.984)	99,90 % (1.995/1.997)	99,90 % (2.000/2.002)	99,80 % (2.001/2.005)	99,80 % (2.000/2.004)	99,34 % (1.954/1.967)
Zweiseitiges 95%-KI ^b	99,63 %, 99,97 %	99,64 %, 99,97 %	99,64 %, 99,97 %	99,49 %, 99,92 %	99,49 %, 99,92 %	98,87 %, 99,61 %

- a. Der Bericht mit der grundlegenden Screening-Performance umfasst T21, T18 und T13. Nicht enthalten sind 16 Proben mit bekannten Mosaiken sowie, ausschließlich beim genomweiten Screening, 49 weitere Proben mit Anomalien. Die genomweite Screening-Performance wird für RAAs sowie partielle Duplikationen und Deletionen angegeben.
- b. KI basiert auf der Score-Methode nach Wilson.
- c. Sieben Zwillingschwangerschaften, die korrekt als T21 ermittelt wurden, werden nicht dargestellt.
- d. RAA ohne die Chromosomen 21, 18 und 13.
- e. Beliebige Anomalie mit Proben aus grundlegenden und genomweiten SCA-Screenings.

Tabelle 3: Übereinstimmung der Ergebnisse von VeriSeq NIPT Solution v2 zur Klassifizierung des Fetusgeschlechts mit klinischer Referenz¹

Ergebnisse von VeriSeq NIPT Solution v2	Ergebnis der körperlichen Untersuchung der Neugeborenen		Zytogenetische Ergebnisse					
	Weiblich	Männlich	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYY
Übereinstimmung in Prozent	100 %	100 %	100 %	100 %	90,5 %	100 %	100 %	91,7 %

Schnelle Ergebnisse

VeriSeq NIPT Solution v2 bietet einen schnellen, drei Schritte umfassenden Workflow. In nur etwas mehr als einem Tag liegen genaue Ergebnisse vor (Tabelle 4). Mit dem einfachen automatisierten Workflow kann ein Bediener 24–96 Proben in weniger als 8 Stunden mit nur minimalem manuellen Aufwand analysieren. Zielgerichtete Sequenzierung und arraybasierte Methoden nehmen im Labor in der Regel mehr Zeit in Anspruch und erfordern einen höheren manuellen Aufwand.

Tabelle 4: VeriSeq NIPT ist in gut einem Tag abgeschlossen.

Schritt	Manueller Aufwand	Gesamtdauer
Proben- und Bibliotheksvorbereitung	ca. 2 Stunden	ca. 8 Stunden
Sequenzierung	ca. 15 Minuten	ca. 14 Stunden
Datenanalyse und Berichterstellung	n. z.	ca. 4 Stunden
Gesamtdauer	ca. 2,25 Stunden	ca. 26 Stunden

Die tatsächliche Dauer hängt von den individuellen Laborprozessen ab und kann variieren; n. z.: nicht zutreffend.

Geringe Testfehlerraten

Testfehler, d. h. Fälle, in denen kein Call für Disomie oder Aneuploidie erzeugt werden kann, sind ein wichtiger Faktor für die Zuverlässigkeit und klinische Anwendung von NIPT. Die Fehlerraten unterscheiden sich je nach verwendetem Test signifikant voneinander. Bei Tests mit einem zielgerichteten Ansatz oder einer Methode für Einzelnukleotidpolymorphismus (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) sind die Raten für primäre Testfehler höher als bei NGS.⁸ VeriSeq NIPT Solution v2 liefert dank WGS umfangreiche Daten zu allen Chromosomen, ohne die Genauigkeit zu beeinträchtigen oder die Fehler- oder Falsch-Positiv-Raten zu erhöhen. In der klinischen Validierungsstudie betrug die Fehlerrate beim ersten Lauf 1,2 %.¹ Im Laboreinsatz liefert die anfängliche Blutentnahme ausreichend Plasma, um den VeriSeq NIPT-Workflow bei Bedarf zu wiederholen.⁹ Bei wiederholten Tests hat sich für dieselbe Probe eine Reduktion der primären Fehlerrate von 2 % auf 1,3 % gezeigt.⁹

Einfache, skalierbare IVD-Lösung

Die integrierte VeriSeq NIPT Solution v2 bietet alles, was für die Durchführung des Assays benötigt wird. Der automatisierte Workflow lässt sich problemlos mit 24, 48 oder 96 Proben pro Lauf durchführen und ermöglicht so eine effiziente und flexible Verarbeitung unterschiedlicher Mengen von Proben. Für jede Probe kann entweder das einfache oder das genomweite Screening ausgewählt werden.

Automatisierter Workflow

Der vollständig automatisierte VeriSeq NIPT Assay bietet einen einfachen Workflow, der den manuellen Aufwand und mögliche Fehlerquellen minimiert. Für das Protokoll sind 7–10 ml mütterlichen peripheren Vollbluts erforderlich, die in das empfohlene Streck Blood Collection Tube (BCT) gegeben werden. Optimierte VeriSeq NIPT-Probenvorbereitungskits enthalten Reagenzien und Marker zur Vorbereitung von Sequenzierungsbibliotheken aus zellfreier DNA (cfDNA, cell-free DNA). Die Plasmatisolation, cfDNA-Extraktion und Bibliotheksvorbereitung ohne PCR, einschließlich Erstellung von Quantifizierungsplatten, Bibliotheksquantifizierung und Bibliotheks-Pooling, werden in einem automatisierten Verfahren auf dem VeriSeq NIPT Microlab STAR durchgeführt, einem Hamilton Microlab STAR-System, das speziell für die Verwendung mit dem VeriSeq NIPT-Workflow konfiguriert wurde. Mit dem benutzerfreundlichen VeriSeq NIPT Workflow Manager lassen sich sämtliche Aspekte der Probenvorbereitung, einschließlich der Probenverfolgung, steuern.

Sequenzierung

Eine Probe mütterlichen Bluts enthält cfDNA-Fragmente unterschiedlicher Länge. Längere Reads stammen in der Regel von der Mutter, kürzere Reads stammen dagegen in der Regel vom Fetus ([Abbildung 2](#)).¹⁰ VeriSeq NIPT Solution v2 identifiziert schnell und effizient die Längen aller cfDNA-Fragmente einer einzelnen Probe und gewichtet kürzere cfDNA stärker. Dies geschieht mit der Paired-End-Sequenzierung auf dem Illumina NextSeq™ 550Dx System, das die Leistung von NGS¹¹ mit hohem Durchsatz und die Erschwinglichkeit eines Tischsystems verbindet ([Tabelle 5](#)).

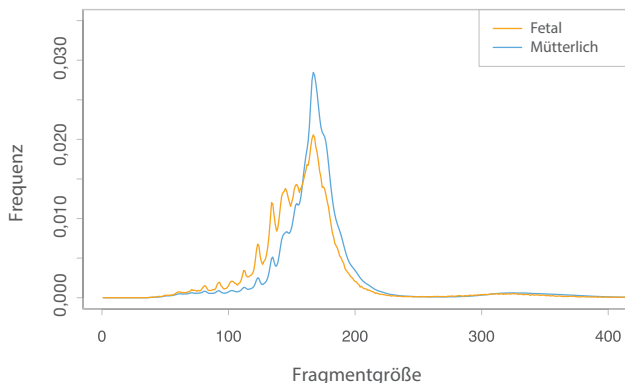


Abbildung 2: Größenvergleich zwischen den cfDNA-Fragmenten mütterlichen und fetalen Ursprungs: Die Paired-End-Sequenzierung unterscheidet cfDNA-Fragmente anhand ihrer Größe. Längere Fragmente sind in der Regel mütterlichen Ursprungs und kürzere Fragmente fetalen Ursprungs.

Tabelle 5: Voraussetzungen für die NGS-Performance des Geräts

Parameter	Spezifikation
Read-Länge	2 × 36 bp
Sequenzierungsdateityp	BCL-Datei
Sequenzierungsausgabe	400 Mio. Reads
Laufzeit	ca. 14 Stunden
Multiplexing	24 oder 48 Proben pro Lauf

Vor-Ort-Analyse

Die Datenanalyse erfolgt auf einem dedizierten VeriSeq v2 Onsite Server mit der IVD VeriSeq NIPT Assay Software v2. Der Server verarbeitet die Sequenzierungsdaten automatisch. Auf einem einzelnen Server können mehrere Probenbatches für die Analyse in die Warteschlange gestellt werden. Daten müssen nicht an externe Stellen gesendet werden, was Zeit spart und die Identität der Probe schützt.

VeriSeq NIPT Assay Software v2

Die VeriSeq NIPT Assay Software v2 filtert und aligniert die Reads mit einem Referenzgenom. Ein erweiterter Algorithmus bestimmt die Read-Dichte pro Chromosom (Segment) und unterstützt die Erkennung und Unterscheidung von Aneuploidien und CNVs. Außerdem ermittelt die Software für jede Probe den Schätzwert für die fetale Fraktion und gibt diesen aus. Mithilfe der Daten zur fetalen Fraktion sowie der Coverage und anderen während der Sequenzierung generierten statistischen Angaben wird der Aneuploidiestatus beurteilt.

Zur Gewährleistung niedriger Testfehlerraten enthält die VeriSeq NIPT Assay Software v2 den individualisierten fetalen Aneuploidie-Konfidenztest (iFACT, individualized Fetal Aneuploidy Confidence Test) zur Bewertung der Probenqualität. iFACT zeigt an, ob der Assay für die Schätzung der fetalen Fraktion jeder Probe eine ausreichende Sequenzierungscoverage generierte, um einen Aneuploidie- oder partiellen Duplikations- und Deletions-Call selbst für Proben mit niedriger fetaler Fraktion zu ermöglichen.¹² Durch diesen dynamischen Cutoff kann die VeriSeq NIPT Assay Software v2 auch Proben mit niedrigem fetalen Anteil erkennen, was die Anzahl der Testfehler reduziert.¹

Berichterstellung

Nach der Datenanalyse generiert die VeriSeq NIPT Assay Software für die in den einzelnen Proben getesteten Chromosomen das Ergebnis „Aneuploidy Detected“ (Aneuploidie festgestellt) oder „No Aneuploidy Detected“ (Keine Aneuploidie festgestellt). Wenn CNVs erkannt werden, enthält der Bericht die genauen Koordinaten aus dem Genom. Die Daten werden als CSV-Datei bereitgestellt. Diese lässt sich in ein vorhandenes LIMS integrieren und ermöglicht die Erstellung eines benutzerdefinierten klinischen Berichts.

Vollständig unterstützte Implementierung

Zur nahtlosen Laborintegration beinhaltet VeriSeq NIPT Solution v2 eine Komplettinstallation des Systems durch einen speziell ausgebildeten Servicetechniker von Illumina sowie eine Praxisschulung. Wissenschaftler von Illumina weisen das Laborpersonal Schritt für Schritt in die Probenextraktion, Bibliotheksvorbereitung, Sequenzierung und Analyse ein (Tabelle 6). Sobald alle Systeme einsatzfertig sind, stellt der technische Support von Illumina weitere Unterstützung bereit.

Tabelle 6: Schulungen zu VeriSeq NIPT Solution v2

Thema	Details
Einführung in VeriSeq NIPT Solution v2	Seminarübersicht zum Workflow und zur Analyse <ul style="list-style-type: none"> • Anleitung zu Zusatzgeräten • Anleitung zu Verbrauchsmaterialien • Blutentnahmeprotokoll • Plasmaisolationsprotokoll
Schulung zum Gerätebetrieb	Vor-Ort-Schulung <ul style="list-style-type: none"> • Erfordert ein installiertes Gerät
Standortbegehung	Prüfung vor Ort <ul style="list-style-type: none"> • Installation von Zusatzgeräten • Benötigte Reagenzien • Konnektivität der Systemkomponenten
Vor-Ort-Schulung	Assay-Durchführung durch einen Wissenschaftler von Illumina <ul style="list-style-type: none"> • Vorgetestete Plasmaproben mit bekannten Leistungsmerkmalen (von Illumina zur Verfügung gestellt) • Einweisung in die einzelnen Assay-Workflow-Schritte, von der Plasmaisolation bis zum Gerätebetrieb und zur Datenanalyse • Datenanalyseschulung
Vor-Ort-Kompetenztest	Assay-Durchführung durch den Kunden <ul style="list-style-type: none"> • Vorgetestete Plasmaproben mit bekannten Leistungsmerkmalen (von Illumina zur Verfügung gestellt)

Zusammenfassung

VeriSeq NIPT Solution v2 revolutioniert die Anwenderfreundlichkeit, Zuverlässigkeit und Performance von NIPT. Labore erhalten jetzt mithilfe von NGS schnelle, zuverlässige und hochgradig genaue NIPT-Ergebnisse bei nur geringen Fehlerraten.

Weitere Informationen

[Illumina VeriSeq NIPT Solution v2](#)

Bestellinformationen

Produkt	Katalog-Nr.
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (24 samples)	20025895
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (48 samples)	15066801
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (96 samples)	15066802
VeriSeq NIPT Assay Software v2	20047024
VeriSeq Onsite Server v2	20047000 20101927
Streck cell-free DNA BCT (CE)	15073345
NextSeq 550Dx Instrument	20005715
NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)	20028870

Erklärung zur bestimmungsgemäßen Verwendung

VeriSeq NIPT Solution v2 ist ein *In-vitro*-Diagnostest und als Screeningtest für den Nachweis genomweiter fetaler genetischer Anomalien in mütterlichen peripheren Vollblutproben schwangerer Frauen vorgesehen, die sich mindestens in der 10. Schwangerschaftswoche befinden. VeriSeq NIPT Solution v2 erkennt mithilfe von WGS partielle Duplikationen und Deletionen für alle Autosomen sowie den Aneuploidiestatus für alle Chromosomen. Der Test bietet eine Option für die Protokollierung von SCA. Dieses Produkt darf nicht als alleinige Grundlage für eine Diagnose oder die Entscheidung über einen Schwangerschaftsabbruch verwendet werden.

VeriSeq NIPT Solution v2 umfasst Folgendes: VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 für das VeriSeq NIPT Microlab STAR-Gerät, VeriSeq NIPT Sample Prep Kits und den VeriSeq Onsite Server v2 mit VeriSeq NIPT Assay Software v2. VeriSeq NIPT Solution v2 ist für die Verwendung mit einem Sequenzierer der nächsten Generation vorgesehen.

Quellen

1. Pertile MD, Flowers N, Vavrek D, et al. [Performance of a Paired-End Sequencing-Based Noninvasive Prenatal Screening Test in the Detection of Genome-Wide Fetal Chromosomal Anomalies](#). *Clin Chem*. 2021;doi: 10.1093/clinchem/hvab067
2. Bianchi DW, Platt LD, Goldberg JD, Abuhamad AZ, Sehnert AJ, Rava RP. [Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing](#). *Obstet Gynecol*. 2012;119(5):890-901
3. Bianchi DW, Parker RL, Wentworth J, et al. [CARE Study Group: DNA sequencing versus standard prenatal aneuploidy screening](#). *N Engl J Med*. 2014;370:799-808
4. Pertile MD. [Genome-wide cell-free DBA-based prenatal testing for rare autosomal trisomies and subchromosomal abnormalities](#). Page-Christiaens L, Klein HG. *Noninvasive Prenatal Testing (NIPT): Applied Genomics in Prenatal Screening and Diagnosis*. London, United Kingdom: Academic Press Elsevier; 2018:97-123
5. Pertile MD, Halks-Miller M, Flowers N, et al. [Rare autosomal trisomies, revealed by maternal plasma DNA sequencing, suggest increased risk of feto-placental disease](#). *Sci Transl Med*. 2017;9(405)
6. van der Meij KRM, Siermans EA, Macville MVE, et al. [TRIDENT-2: National Implementation of Genome-wide Non-invasive Prenatal Testing as a First-Tier Screening Test in the Netherlands](#). *Am J Hum Genet*. 2019;105(6):1091-1101
7. Van Den Bogaert, K, Lannoo, L, Brison, N. et al. [Outcome of publicly funded nationwide first-tier noninvasive prenatal screening](#). *Genet Med*. 2021;23:1137-1142
8. Yaron Y. [The implications of non-invasive prenatal testing failures: a review of an under-discussed phenomenon](#). *Prenat Diagn*. 2016;36:391-396
9. Eiben B, Borth H, Kutur N, et al. [Clinical experience with noninvasive prenatal testing in Germany: analysis of over 500 high-risk cases for trisomy 21, 18, 13, and monosomy X](#). *Obstet Gynecol Rep*. 2021;5:1-7
10. Lo YM, Chan KC, Sun H, et al. [Maternal plasma DNA sequencing reveals the genome-wide genetic and mutational profile of the fetus](#). *Sci Transl Med*. 2010;2(61):61ra91
11. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry](#). *Nature*. 2008;456(7218):53-59
12. Cirigliano V, Ordoñez E, Rueda L, Syngelaki A, Nicolaidis KH. [Performance evaluation of the NeoBona test, a new paired-end massive parallel shotgun sequencing approach for cfDNA based aneuploidy screening](#). *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2016; doi: 10.1002/uog.17386.



1 800 8094566 (USA, gebührenfrei) | +1 858 2024566 (Tel. außerhalb der USA)
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Alle Rechte vorbehalten. Alle Marken sind Eigentum von Illumina, Inc. bzw. der jeweiligen Inhaber.
Spezifische Informationen zu Marken finden Sie unter www.illumina.com/company/legal.html.
M-APJ-00036 DEU v3.0