

VeriSeq™ NIPT Solution v2

Ensayo integral y accesible
de secuenciación del
genoma completo

- Vista completa de los cromosomas fetales con un amplio catálogo de pruebas validado en un estudio de precisión clínica con más de 2300 muestras.
- Rendimiento fiable de la prueba¹ gracias a la rapidez y gran precisión de los resultados y a las bajas tasas de error.
- Solución de DIV sencilla y flexible capaz de analizar 24, 48 o 96 muestras por experimento.



Introducción

Las pruebas prenatales no invasivas (NIPT, noninvasive prenatal testing) realizadas con la secuenciación de nueva generación (NGS, next-generation sequencing) proporcionan resultados de cribado fiables de aneuploidías cromosómicas fetales a partir de la semana 10 de gestación (con un solo tubo de sangre materna).^{2,3} VeriSeq NIPT Solution v2 aprovecha la potente tecnología de NGS de Illumina para aportar un enfoque de secuenciación del genoma completo (WGS, whole-genome sequencing) a las NIPT, con lo que se amplían las opciones del menú de pruebas para incluir aneuploidías comunes (cromosomas 21, 18 y 13), todas las aneuploidías autosómicas raras (RAA, rare autosomal aneuploidies), aneuploidías de cromosomas sexuales (SCA, sex chromosome aneuploidies) y deleciones y duplicaciones parciales, a las que se hace referencia como «variaciones en el número de copias» (CNV, copy number variation), de ≥ 7 Mb de tamaño.

Al combinar un amplio catálogo de pruebas, resultados precisos y bajas tasas de error, VeriSeq NIPT Solution v2 ofrece un cribado completo de los cromosomas fetales, lo que permite tomar decisiones fundamentadas y oportunas sobre el tratamiento del embarazo.¹ VeriSeq NIPT Solution v2, que incluye reactivos, instrumentos, software, instalación y formación, es una solución automatizada y fiable para las NIPT internas (figura 1 y tabla 1).

Vista completa de los cromosomas fetales

Muchas soluciones de NIPT para laboratorio se centran en el cribado de trisomías en los cromosomas 21, 18 y 13, si bien estas afecciones tan solo representan una parte de las anomalías que se pueden producir. Estas pruebas no detectarán CNV de ≥ 7 Mb que pueden estar asociadas a anomalías fetales y al retraso del desarrollo neurológico y tienen una tasa de detección positiva del 0,12 % con las NIPT.⁴ Estas pruebas tampoco detectarán embarazos con detección positiva de RAA, que pueden estar asociadas a resultados adversos, lo que incluye aborto, restricción del crecimiento intrauterino (IUGR, Intrauterine Growth Restriction), disomía uniparental (UPD, Uniparental Disomy),

parto prematuro espontáneo y anomalías fetales, entre otros.⁵ La tasa combinada de resultados positivos de cribado para RAA es del 0,34 %, ⁵ en comparación con el 0,30 % para la trisomía del 21.^{6,7}

Tabla 1: Resumen de VeriSeq NIPT Solution v2

| Parámetro | Descripción |
|--------------------------------------|--|
| Método | Secuenciación del genoma completo |
| Preparación de librerías | Sin PCR |
| Proceso químico | Secuenciación «paired-end» |
| N.º de muestras | 24, 48 o 96 por lote |
| Tiempo hasta la obtención de informe | Aprox. 26 horas |
| N.º de operadores | 1 |
| Muestra | De 7 a 10 ml de un solo tubo de sangre materna |
| Análisis ofrecidos | Estado de aneuploidía de todos los autosomas y cromosomas sexuales; CNV de ≥ 7 Mb |

Rendimiento fiable de la prueba

A partir de la precisión de los resultados, el tiempo de respuesta y las tasas de error, VeriSeq NIPT Solution v2 demuestra un rendimiento excelente.

Alta precisión

VeriSeq NIPT Solution v2 se ha validado para conseguir la fiabilidad y precisión clínicas. Las muestras de embarazos afectados fueron aptas para su análisis siempre que hubiera resultados clínicos disponibles y que se cumplieran los criterios de inclusión de la muestra. La cohorte comprendía edades gestacionales de 10 semanas como mínimo, muestras con una reducida fracción fetal y embarazos gemelares. El estudio examinó más de 2300 muestras maternas con resultados conocidos para la trisomía del 21, la trisomía del 18, la trisomía del 13, RAA, CNV de ≥ 7 Mb y SCA.



Figura 1: Flujo de trabajo completo de las NIPT de DIV. VeriSeq NIPT Solution v2 le ofrece todo lo que necesita para las NIPT con tecnología de NGS, incluidos los reactivos para la extracción de ADN, la secuenciación y preparación de librerías; la instrumentación para la secuenciación y preparación de librerías automatizadas con un software gestor del flujo de trabajo; un servidor in situ para un análisis y almacenamiento seguros de los datos, así como un software de análisis de datos que genera informes con resultados cualitativos.

Tabla 2: Rendimiento clínico de VeriSeq NIPT Solution v2¹

| | Trisomía 21 ^c | Trisomía 18 | Trisomía 13 | RAA ^d | CNV de ≥7 Mb | Cualquier anomalía ^e |
|---------------------------------------|--------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|------------------------|---------------------------------|
| Sensibilidad ^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) |
| IC del 95 % bilateral ^b | 97,1 %, 100 % | 91,4 %, 100 % | 87,1 %, 100 % | 82,3 %, 99,4 % | 55,3 %, 86,8 % | 92,7 %, 97,3 % |
| Especificidad | 99,90 % (1982/1984) | 99,90 % (1995/1997) | 99,90 % (2000/2002) | 99,80 % (2001/2005) | 99,80 % (2000/2004) | 99,34 % (1954/1967) |
| IC del 95 % bilateral ^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. Se notifica el rendimiento de cribado básico para las trisomías T21, T18 y T13, salvo para 16 muestras con mosaicos conocidos y 49 muestras afectadas por anomalías solo para el cribado del genoma completo; se notifica el rendimiento del cribado del genoma completo para las RAA y las duplicaciones y deleciones parciales.
- b. IC según el método de puntuación de Wilson.
- c. No se muestran siete embarazos gemelares notificados correctamente como T21.
- d. La RAA excluye los cromosomas 21, 18 y 13.
- e. La categoría «Cualquier anomalía» incluye muestras de cribados básicos o del genoma completo para SCA.

Tabla 3: Concordancia de los resultados de clasificación del sexo fetal con VeriSeq NIPT Solution v2 respecto a la referencia clínica¹

| Resultados con VeriSeq NIPT Solution v2 | Resultados de la exploración física del recién nacido | | Resultados citogenéticos | | | | | |
|---|---|-------|--------------------------|-------|--------|-------|-------|--------|
| | Niña | Niño | XX | XY | XO | XXX | XXY | XYY |
| Porcentaje de concordancia | 100 % | 100 % | 100 % | 100 % | 90,5 % | 100 % | 100 % | 91,7 % |

Los resultados obtenidos mediante VeriSeq NIPT Solution v2 se compararon con los resultados de la referencia clínica. VeriSeq NIPT Solution v2 demostró un alto grado de sensibilidad y especificidad para trisomías comunes, RAA y CNV de ≥7 Mb, un alto grado de concordancia entre la clasificación del sexo del feto y el resultado clínico, y una baja tasa de error de muestras de primer paso del 1,2 % (tabla 2 y tabla 3).¹

Resultados rápidos

VeriSeq NIPT Solution v2 ofrece un flujo de trabajo rápido en tres pasos que genera unos resultados precisos en poco más de un día (tabla 4). Siguiendo el flujo de trabajo sencillo y automatizado, un operador puede analizar de 24 a 96 muestras en menos de 8 horas con un tiempo mínimo de participación activa. La secuenciación selectiva y los métodos basados en array tienden a tener protocolos de

Tabla 4: VeriSeq NIPT se completa en poco más de un día

| Paso | Tiempo de participación activa | Duración total |
|--|--------------------------------|-----------------|
| Preparación de muestras y de librerías | Aprox. 2 horas | Aprox. 8 horas |
| Secuenciación | Aprox. 15 min | Aprox. 14 horas |
| Análisis de datos y generación de informes | n.p. | Aprox. 4 horas |
| Duración total | Aprox. 2,25 horas | Aprox. 26 horas |

Los tiempos reales pueden variar y dependen de las prácticas de cada laboratorio; n.p., no procede.

laboratorio más prolongados y que requieren más tiempo de participación activa.

Tasas de error bajas en las pruebas

Los errores en las pruebas, cuando no se puede realizar una llamada de disomía o aneuploidía, son un factor importante en términos de fiabilidad y utilidad de las NIPT. Las tasas de error pueden variar de manera significativa en función de la prueba empleada. Las pruebas que emplean un enfoque selectivo o un método de polimorfismo de nucleótido único (SNP) muestran tasas más elevadas de error de la prueba primaria que la NGS.⁸ VeriSeq NIPT Solution v2 usa la WGS para proporcionar datos amplios en todos los cromosomas, sin afectar a la precisión ni aumentar las tasas de error o falsos positivos. En el estudio de validación clínica, la tasa de error de primer paso fue del 1,2 %.¹ En la práctica del laboratorio, la extracción de sangre inicial proporcionará el plasma suficiente para repetir el flujo de trabajo de VeriSeq NIPT si fuera necesario.⁹ Las pruebas repetidas han demostrado una reducción en la tasa de error principal del 2 % al 1,3 % para la misma muestra.⁹

Solución de DIV sencilla y flexible

La solución integrada VeriSeq NIPT Solution v2 proporciona todo lo necesario para ejecutar el ensayo. El flujo de trabajo automatizado se adapta fácilmente para analizar 24, 48 o 96 muestras por experimento, lo que ofrece eficiencia y flexibilidad a la hora de gestionar volúmenes de muestras. Se puede seleccionar el cribado básico o del genoma completo para cada muestra.

Flujo de trabajo automatizado

El ensayo VeriSeq NIPT totalmente automatizado ofrece un flujo de trabajo sencillo que reduce al mínimo el tiempo de participación activa y la posibilidad de errores. Para el protocolo se deben extraer entre 7 y 10 ml de sangre completa periférica recogida en el tubo de recogida de sangre (BCT, Blood Collection Tube) de Streck recomendado. Los kits de preparación de muestras optimizados para VeriSeq NIPT contienen reactivos y etiquetas para la preparación de librerías de secuenciación a partir de ADN fetal libre circulante (cfDNA). Los procesos de aislamiento del plasma, extracción de cfDNA y preparación de librerías sin PCR, incluidas la creación de las placas de cuantificación, la cuantificación de librerías y la agrupación de librerías, se llevan a cabo de forma automática en VeriSeq NIPT MicroLab STAR, un sistema personalizado de Hamilton MicroLab STAR configurado de manera específica para su uso en el flujo de trabajo de VeriSeq NIPT. Gracias a su facilidad de uso, VeriSeq NIPT Workflow Manager controla todos los aspectos de la preparación de muestras, incluido el seguimiento de la muestra.

Secuenciación

Una muestra de sangre materna contiene fragmentos de cfDNA de diferentes longitudes; las longitudes más largas suelen ser maternas, mientras que las más cortas suelen proceder del feto (figura 2).¹⁰ VeriSeq NIPT Solution v2 identifica de forma rápida y eficiente las longitudes de todos los fragmentos de ADN sin células dentro de una única muestra y centra el análisis en el cfDNA más corto mediante la secuenciación «paired-end» realizada en Illumina NextSeq™ 550Dx System, que ofrece la potencia de la NGS de alta productividad¹¹ con la asequibilidad de un sistema de sobremesa (tabla 5).

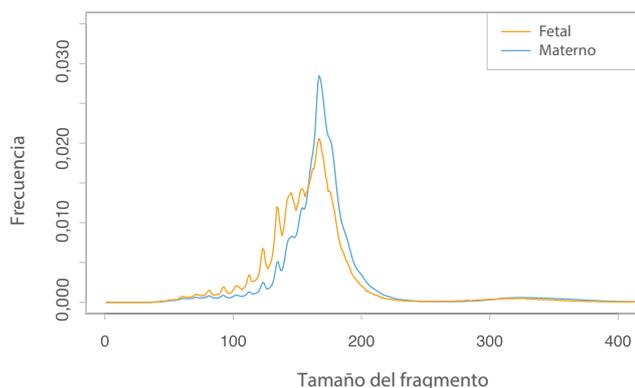


Figura 2: Comparación de tamaño de los fragmentos de cfDNA maternos y fetales. La secuenciación «paired-end» diferencia fragmentos de cfDNA en función del tamaño. Los fragmentos de mayor longitud suelen ser maternos, mientras que los más cortos suelen ser de origen fetal.

Tabla 5: Requisitos de rendimiento del instrumento de NGS

| Parámetro | Especificación |
|----------------------------------|----------------------------------|
| Longitud de lectura | 2 × 36 pb |
| Tipo de archivo de secuenciación | Archivo .BCL |
| Resultados de secuenciación | 400 millones de lecturas |
| Duración del experimento | Aprox. 14 horas |
| Multiplexado | 24 o 48 muestras por experimento |

Análisis in situ

El análisis de datos se lleva a cabo en un servidor VeriSeq v2 Onsite Server específico con VeriSeq NIPT Assay Software v2 de DIV. El servidor procesa de manera automática los datos de secuenciación. Pueden ponerse en cola varios lotes de muestras para su análisis en un único servidor. No hay necesidad de enviar datos para su análisis, con el consiguiente ahorro de tiempo y la protección de la identidad de las muestras.

VeriSeq NIPT Assay Software v2

VeriSeq NIPT Assay Software v2 filtra las lecturas y las alinea con un genoma de control. Un algoritmo avanzado determina la densidad de lectura por cromosoma (segmento) y ayuda a detectar y diferenciar de aneuploidías y CNV. El software también genera y comunica una estimación de fracción fetal para cada muestra. Los datos de la fracción fetal se utilizan en combinación con la cobertura y otros datos estadísticos generados durante la secuenciación para evaluar el estado de aneuploidía.

Para lograr que las tasas de error de las pruebas sean bajas, VeriSeq NIPT Assay Software v2 incluye el valor de puntuación de calidad de la muestra de la prueba de confianza de aneuploidía fetal individualizada (iFACT, individualized Fetal Aneuploidy Confidence Test). La iFACT indica si el ensayo ha generado suficiente cobertura de secuenciación, dada la estimación de la fracción fetal para cada muestra, para permitir una llamada de aneuploidías o duplicaciones y deleciones parciales, incluso para muestras con fracción fetal baja.¹² Este corte dinámico permite a VeriSeq NIPT Assay Software v2 informar sobre muestras de baja fracción fetal, lo que se traduce en un reducido número de errores en las pruebas.¹

Generación de informes

Tras el análisis de los datos, VeriSeq NIPT Assay Software genera un resultado de detección de aneuploidía («Aneuploidy Detected») o de no detección de aneuploidía («No Aneuploidy Detected») para los cromosomas analizados en cada muestra. Si se detecta una CNV, en el informe se muestran las coordenadas exactas en el genoma. Los datos se proporcionan en un archivo .CSV que se puede integrar con un LIMS existente, lo que permite crear un informe clínico personalizado.

Implementación totalmente compatible

Para una integración sin problemas en el laboratorio, VeriSeq NIPT Solution v2 incluye la instalación completa del sistema por parte de un ingeniero de servicio técnico de campo de Illumina cualificado, además de formación para la participación activa. El personal del laboratorio recibe instrucciones detalladas de científicos de Illumina en los procesos de extracción de muestras, preparación de librerías, secuenciación y análisis (tabla 6). Tras la puesta en marcha de todos los sistemas, el equipo de asistencia técnica de Illumina ofrece soporte continuado.

Tabla 6: Formación de VeriSeq NIPT Solution v2

| Tema | Datos |
|---|---|
| Introducción a VeriSeq NIPT Solution v2 | <p>Descripción general del seminario sobre el flujo de trabajo y el análisis</p> <ul style="list-style-type: none"> • Guía del equipo auxiliar • Guía de consumibles • Protocolo de extracción de sangre • Protocolo de aislamiento del plasma |
| Formación de funcionamiento del instrumento | <p>Formación in situ</p> <ul style="list-style-type: none"> • Es necesaria la instalación del instrumento |
| Inspección del centro | <p>Confirmación in situ</p> <ul style="list-style-type: none"> • Instalación del equipo auxiliar • Reactivos necesarios • Conectividad de los componentes del sistema |
| Formación in situ | <p>Ensayo realizado por el científico de Illumina</p> <ul style="list-style-type: none"> • Muestras de plasma preanalizadas con características de rendimiento conocidas (proporcionadas por Illumina) • Recorrido del flujo de trabajo del ensayo desde el aislamiento del plasma hasta el funcionamiento del instrumento y el análisis de los datos • Formación de análisis de datos |
| Pruebas de aptitud in situ | <p>Ensayo realizado por el cliente</p> <ul style="list-style-type: none"> • Muestras de plasma preanalizadas con características de rendimiento conocidas (proporcionadas por Illumina) |

Resumen

VeriSeq NIPT Solution v2 está revolucionando la accesibilidad, la fiabilidad y la potencia de las NIPT. Ahora, cualquier laboratorio puede aprovechar la NGS para obtener resultados de las NIPT rápidos, fiables y sumamente precisos con tasas de error bajas.

Más información

[Illumina VeriSeq NIPT Solution v2](#)

Datos para realizar pedidos

| Producto | N.º de catálogo |
|---|----------------------|
| 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 |

Declaración de uso previsto

VeriSeq NIPT Solution v2 es una prueba diagnóstica *in vitro* concebida para su uso como prueba de cribado para la detección de anomalías genéticas fetales del genoma completo a partir de muestras de sangre completa periférica materna de mujeres embarazadas de un mínimo de 10 semanas de gestación. VeriSeq NIPT Solution v2 usa la WGS para detectar duplicaciones y deleciones parciales de todos los autosomas, así como el estado de aneuploidía de todos los cromosomas. La prueba ofrece la opción de solicitar un informe sobre SCA. Este producto no debe usarse como la única base para el diagnóstico ni para la toma de decisiones en relación con el embarazo.

VeriSeq NIPT Solution v2 incluye: VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 para VeriSeq NIPT Microlab STAR, VeriSeq NIPT Sample Prep Kits y VeriSeq Onsite Server v2 con VeriSeq NIPT Assay Software v2. VeriSeq NIPT Solution v2 se ha concebido para su uso con un secuenciador de nueva generación.

Bibliografía

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, Sistermans 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, Ordóñez E, Rueda L, Syngelaki A, Nicolaides 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



1 800 809 4566 (llamada gratuita, EE. UU.) | Tel.: +1 858 202 4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados. Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Si desea consultar información específica sobre las marcas comerciales, consulte www.illumina.com/company/legal.html.

M-APJ-00036 ESP v3.0