

VeriSeq^{MC} NIPT Solution v2

Test de séquençage du
génomme entier de bout
en bout et accessible

- Vue d'ensemble des chromosomes foëtaux avec menu de test étendu, validé par une étude de précision clinique portant sur plus de 2 300 échantillons
- Performances de test éprouvées¹ avec une haute précision, des résultats rapides et de faibles taux d'échec
- Solution de diagnostic *in vitro* (DIV) simple et évolutive capable d'analyser 24, 48 ou 96 échantillons par analyse



Introduction

Le dépistage prénatal non invasif (DPNI) réalisé avec un séquençage de nouvelle génération (SNG) fournit des résultats de dépistage fiables pour les aneuploïdies chromosomiques fœtales dès 10 semaines de gestation, à partir d'un seul tube de sang maternel.^{2,3} VeriSeq NIPT Solution v2 exploite la technologie performante de SNG d'Illumina pour introduire une approche de séquençage du génome entier (WGS, Whole-Genome Sequencing) dans le DPNI. Ainsi, les options de menu de test incluent en plus les aneuploïdies courantes (trisomies 21, 18, et 13), les aneuploïdies autosomiques rares (RAA, Rare Autosomal Aneuploidies), certaines aneuploïdies des chromosomes sexuels (ACS) et les délétions et duplications chromosomiques partielles, appelées variations du nombre de copies (CNV, Copy Number Variations), d'au moins 7 Mb.

En combinant un menu de test étendu, des résultats précis et de faibles taux d'échec, VeriSeq NIPT Solution v2 offre un dépistage complet des chromosomes fœtaux, ce qui permet de prendre des décisions éclairées en matière de gestion de la grossesse en temps utile.¹ Incluant les réactifs et instruments, le logiciel, l'installation et la formation, VeriSeq NIPT Solution v2 est une solution automatisée et fiable pour les DPNI en interne (figure 1 et tableau 1).

Vue d'ensemble des chromosomes fœtaux

De nombreuses solutions de DPNI en laboratoire se concentrent sur le dépistage des trisomies sur les chromosomes 21, 18 et 13, mais ces anomalies ne représentent qu'une partie de celles pouvant survenir. Ces tests ne détectent pas les CNV d'au moins 7 Mb pouvant être associées à des anomalies fœtales et à un retard de développement et présentent un taux de dépistage positif de 0,12 % avec le DPNI.⁴ Ils ne détectent pas non plus les grossesses positives aux RAA pouvant entraîner des issues défavorables, notamment une fausse couche, un retard de croissance intra-utérin (RCIU), une disomie uniparentale (DUP), un travail prématuré spontané et des anomalies fœtales.⁵ Le taux de dépistage positif combiné pour les RAA est de 0,34 %,⁵ contre 0,30 % pour la trisomie 21.^{6,7}

Tableau 1 : Aperçu de VeriSeq NIPT Solution v2

Paramètre	Description
Méthode	Séquençage du génome entier
Préparation de la banque	Sans PCR
Chimie	Séquençage à lecture appariée
Nombre d'échantillons	24, 48 ou 96 par lot
Délai de génération des rapports	~26 heures
Nombre d'opérateurs	1
Échantillon	7 à 10 ml d'un seul tube de sang maternel
Analyse proposée	Statut d'aneuploïdie pour tous les autosomes et chromosomes sexuels ; CNV d'au moins 7 Mb

Performances de test fiables

En ce qui concerne la précision des résultats, le délai de réponse et les taux d'échec, VeriSeq NIPT Solution v2 démontre d'excellentes performances.

Haute précision

VeriSeq NIPT Solution v2 a été validé en vue de garantir la précision et la fiabilité cliniques. Les échantillons provenant de femmes enceintes concernées étaient admissibles pour les tests si les résultats cliniques étaient disponibles et remplissaient les critères d'inclusion des échantillons. La cohorte incluait des âges gestationnels d'au moins 10 semaines, des échantillons avec de faibles fractions fœtales et des grossesses gémellaires. L'étude a analysé plus de 2 300 échantillons maternels avec des résultats connus pour la trisomie 21, la trisomie 18, la trisomie 13, les RAA, les CNV d'au moins 7 Mb et les ACS. Les résultats obtenus avec VeriSeq NIPT Solution v2 ont été comparés aux résultats du standard de référence clinique. VeriSeq NIPT Solution v2 a démontré une sensibilité et une spécificité élevées pour les trisomies courantes, les RAA et les CNV d'au moins 7 Mb, une concordance élevée de classification du sexe fœtal avec les résultats cliniques et un faible taux d'échec au premier passage de l'échantillon de 1,2 % (tableau 2 et tableau 3).¹



Figure 1 : Flux de travail complet de DIV pour le DPNI — VeriSeq NIPT Solution v2 comprend tous les éléments nécessaires au DPNI fondé sur le SNG, y compris les réactifs pour l'extraction d'ADN, la préparation des banques et le séquençage ; les instruments pour automatiser la préparation des banques et le séquençage avec le gestionnaire de flux de travail ; un serveur sur site pour le stockage sécurisé et l'analyse des données ; et un logiciel d'analyse de données qui génère des rapports de résultats qualitatifs.

Tableau 2 : Performances cliniques de VeriSeq NIPT Solution v2¹

	Trisomie 21 ^c	Trisomie 18	Trisomie 13	RAA ^d	CNV ≥ 7 Mb	Toute anomalie ^e
Sensibilité ^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 bilatéral à 95 % ^b	97,1 %, 100 %	91,4 %, 100 %	87,1 %, 100 %	82,3 %, 99,4 %	55,3 %, 86,8 %	92,7 %, 97,3 %
Spécificité	99,90 % (1982/1984)	99,90 % (1995/1997)	99,90 % (2000/2002)	99,80 % (2 001/2 005)	99,80 % (2 000/2 004)	99,34 % (1 954/1 967)
IC bilatéral à 95 % ^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. Les performances de base du dépistage sont rapportées pour T21, T18 et T13 en excluant 16 échantillons de mosaïcisme connu et 49 échantillons affectés par des anomalies concernées par le dépistage pangénomique uniquement ; les performances du dépistage pangénomique sont rapportées pour les RAA et les duplications et délétions partielles.

b. Intervalle de confiance (IC) fondé sur la méthode Wilson.

c. Sept grossesses gémeillaires pour lesquelles une T21 a correctement été dépistée ne sont pas rapportées dans le tableau.

d. Les RAA excluent les chromosomes 21, 18 et 13.

e. La détection de toute anomalie porte sur des échantillons faisant l'objet de dépistages de base et de dépistages pangénomiques d'ACS.

Tableau 3 : Concordance des résultats de la classification du sexe fœtal VeriSeq NIPT Solution v2 avec la référence clinique¹

Résultats obtenus avec VeriSeq NIPT Solution v2	Résultats de l'examen physique du nouveau-né		Résultats cytogénétiques					
	Féminin	Masculin	XX	XY	XO	XXX	XXY	XXY
Pourcentage de concordance	100 %	100 %	100 %	100 %	90,5 %	100 %	100 %	91,7 %

Résultats rapides

VeriSeq NIPT Solution v2 propose un flux de travail rapide en trois étapes qui génère des résultats précis en à peine plus d'une journée (tableau 4). En appliquant le flux de travail simple et automatisé, un opérateur peut analyser 24 à 96 échantillons en moins de 8 heures avec un temps de manipulation minimal. Le séquençage ciblé et les méthodes à puces à ADN ont généralement des protocoles de laboratoire plus longs, ce qui nécessite plus de temps de manipulation.

Tableau 4 : Dépistage VeriSeq NIPT terminé en un peu plus d'une journée

Étape	Temps de manipulation	Durée totale
Préparation des échantillons et préparation de la banque	~2 heures	~8 heures
Séquençage	~15 minutes	~14 heures
Analyse des données et génération de rapports	S.O.	~4 heures
Durée totale	~2,25 heures	~26 heures

Les durées réelles dépendent des pratiques de laboratoire individuelles et peuvent varier ; S.O. signifie « sans objet ».

Faibles taux d'échec aux tests

Les échecs aux tests, qui ne permettent pas de conclure à une disomie ou à une aneuploïdie, représentent un facteur important dans la fiabilité et l'utilité clinique du DPNI. Les taux d'échec peuvent varier considérablement en fonction du test utilisé. Les tests qui utilisent une approche ciblée ou une méthode de polymorphisme d'un seul nucléotide (SNP, Single Nucleotide Polymorphism) présentent des taux plus élevés d'échec au premier test par rapport au SNG.⁸ VeriSeq NIPT Solution v2 utilise le WGS pour fournir de nombreuses données sur tous les chromosomes, sans compromettre la précision ou augmenter les taux d'échec ou de faux positifs. Dans l'étude de validation clinique, le taux d'échec au premier passage était de 1,2 %.¹ En pratique, le prélèvement sanguin initial en laboratoire fournira suffisamment de plasma pour répéter le flux de travail VeriSeq NIPT si nécessaire.⁹ Des tests répétés ont démontré une réduction du taux d'échec au premier test de 2 % à 1,3 % pour le même échantillon.⁹

Solution de DIV simple et évolutive

Le système intégré VeriSeq NIPT Solution v2 comprend tous les éléments nécessaires à l'exécution du test. Le flux de travail automatisé est facilement adaptable pour analyser 24, 48 ou 96 échantillons par analyse afin de permettre une gestion efficace et flexible des volumes d'échantillons. Pour chaque échantillon, il est possible de choisir entre un dépistage de base ou un dépistage pangénomique.

Flux de travail automatisé

Le test VeriSeq NIPT entièrement automatisé fournit un flux de travail simple qui minimise le temps de manipulation et le risque d'erreur. Le protocole nécessite 7 à 10 ml de sang total périphérique maternel prélevé dans le tube de prélèvement Streck Blood Collection Tube (BCT) recommandé. Les kits de préparation d'échantillons optimisés VeriSeq NIPT contiennent des réactifs et des étiquettes pour la préparation des banques de séquençage à partir d'ADN libre circulant (ADNlc). L'isolement du plasma, l'extraction de l'ADNlc et la préparation des banques sans PCR, y compris la production de plaques de quantification, la quantification des banques et le regroupement des banques, sont automatisés sur VeriSeq NIPT Microlab STAR, un système Microlab STAR de la société Hamilton configuré spécifiquement pour être utilisé dans le flux de travail VeriSeq NIPT. L'outil convivial VeriSeq NIPT Workflow Manager contrôle tous les aspects de la préparation des échantillons, y compris le suivi des échantillons.

Séquençage

Un échantillon de sang maternel contient des fragments d'ADNlc de différentes longueurs ; les fragments les plus longs proviennent généralement de la mère, tandis que les fragments les plus courts proviennent généralement du fœtus (figure 2).¹⁰ VeriSeq NIPT Solution v2 permet d'identifier rapidement et efficacement les longueurs de tous les fragments d'ADNlc dans un seul échantillon et concentre l'analyse sur les fragments d'ADNlc plus courts à l'aide d'un séquençage à lecture appariée effectué sur le système Illumina NextSeq^{MC} 550Dx, qui offre la puissance du SNG à débit élevé¹¹ au prix abordable d'un système de paillasse (tableau 5).

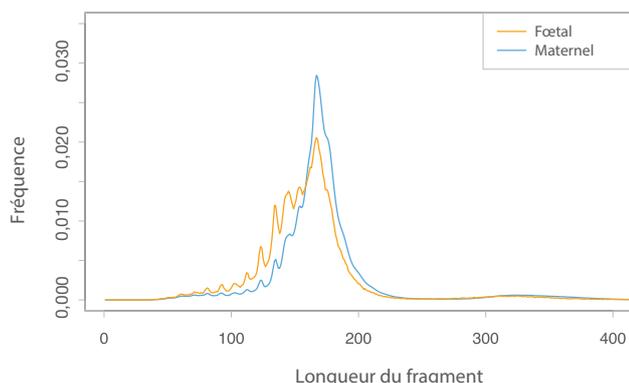


Figure 2 : Comparaison des longueurs de fragments d'ADNlc maternels et fœtaux : le séquençage apparié différencie les fragments d'ADNlc en fonction de leur longueur. Les fragments les plus longs proviennent généralement de la mère, tandis que les fragments les plus courts proviennent généralement du fœtus.

Tableau 5 : Exigences de performance de l'instrument de SNG

Paramètre	Spécification
Longueur de lecture	2 × 36 pb
Type de fichier de séquençage	Fichier .BCL
Données de séquençage	400 millions de lectures
Durée de l'analyse	~14 heures
Multiplexage	24 ou 48 échantillons par analyse

Analyse sur site

L'analyse des données est effectuée sur un serveur sur site dédié VeriSeq v2 Onsite Server avec le logiciel de DIV VeriSeq NIPT Assay Software v2. Le serveur traite automatiquement les données de séquençage. Plusieurs lots d'échantillons peuvent être mis en file d'attente pour analyse sur un seul serveur. Il n'est pas nécessaire de transmettre les données pour analyse, ce qui permet de gagner du temps et de protéger les informations d'identification de l'échantillon.

VeriSeq NIPT Assay Software v2

VeriSeq NIPT Assay Software v2 filtre et aligne les lectures sur un génome de référence. Un algorithme avancé détermine la densité des lectures par chromosome (segment) et facilite la détection et la différenciation des aneuploïdies et des CNV. Le logiciel génère également une estimation de la fraction fœtale pour chaque échantillon et la présente dans un rapport. Les données sur la fraction fœtale sont combinées à la couverture et à d'autres données statistiques générées pendant le séquençage pour évaluer le statut de l'aneuploïdie.

Afin d'obtenir de faibles taux d'échec aux tests, VeriSeq NIPT Assay Software v2 utilise un indicateur de qualité des échantillons utilisés pour le test de fiabilité individuel d'aneuploïdie fœtale (iFACT, individualized Fetal Aneuploidy Confidence Test). D'après l'estimation de la fraction fœtale, l'iFACT indique si le test génère une couverture de séquençage suffisante pour permettre la détection d'aneuploïdies, de délétions et de duplications partielles, même pour les échantillons à faible fraction fœtale.¹² Ce seuil dynamique permet à VeriSeq NIPT Assay Software v2 d'identifier les échantillons à faible fraction fœtale, ce qui se traduit par un faible taux d'échec aux tests.¹

Génération de rapports

Après l'analyse des données, VeriSeq NIPT Assay Software génère un résultat « Aneuploidy Detected » (Aneuploïdie détectée) ou « No Aneuploidy Detected » (Aucune aneuploïdie détectée) pour les chromosomes testés dans chaque échantillon. Si une CNV est détectée, les coordonnées génomiques exactes sont indiquées dans le rapport. Les données sont fournies sous la forme d'un fichier « .CSV » qui peut être intégré à un système de gestion des informations de laboratoire (LIMS, Laboratory Information Management System) existant, permettant la création d'un rapport clinique personnalisé.

Implémentation entièrement prise en charge

Pour une intégration aisée en laboratoire, VeriSeq NIPT Solution v2 comprend l'installation complète du système par un technicien d'assistance sur le terrain expérimenté d'Illumina et une formation pratique. Les scientifiques d'Illumina guident le personnel du laboratoire étape par étape dans l'extraction des échantillons, la préparation des banques, le séquençage et l'analyse ([tableau 6](#)). Lorsque tous les systèmes sont opérationnels, une assistance permanente est assurée par l'équipe du support technique d'Illumina.

Tableau 6 : Formation VeriSeq NIPT Solution v2

Sujet	Détails
Présentation de VeriSeq NIPT Solution v2	Présentation du séminaire sur le flux de travail et l'analyse <ul style="list-style-type: none"> • Guide de l'équipement auxiliaire • Guide des consommables • Protocole de prélèvement sanguin • Protocole d'isolement du plasma
Formation au fonctionnement de l'instrument	Formation sur site <ul style="list-style-type: none"> • Nécessite un instrument installé
Inspection du site	Confirmation sur site <ul style="list-style-type: none"> • Installation de l'équipement auxiliaire • Réactifs nécessaires • Connectivité des composants du système
Formation sur site	Test effectué par un scientifique d'Illumina <ul style="list-style-type: none"> • Échantillons de plasma déjà testés dont les caractéristiques de performance sont connues (fournis par Illumina) • Présentation du flux de travail du test, de l'isolement du plasma au fonctionnement de l'instrument et à l'analyse des données • Formation à l'analyse des données
Tests de compétence sur site	Test effectué par le client <ul style="list-style-type: none"> • Échantillons de plasma déjà testés dont les caractéristiques de performance sont connues (fournis par Illumina)

Résumé

VeriSeq NIPT Solution v2 révolutionne l'accessibilité, la fiabilité et les performances du DPNI. Désormais, les laboratoires peuvent exploiter le SNG pour obtenir des résultats de DPNI rapides, fiables et très précis avec de faibles taux d'échec.

En savoir plus

[Illumina VeriSeq NIPT Solution v2](#)

Informations relatives aux commandes

Produit	Référence
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (24 échantillons)	20025895
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (48 échantillons)	15066801
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (96 échantillons)	15066802
VeriSeq NIPT Assay Software v2	20047024
VeriSeq Onsite Server v2	20047000 20101927
Tube de prélèvement Streck cell-free DNA BCT (CE)	15073345
Instrument NextSeq 550Dx	20005715
NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5, 75 cycles	20028870

Déclaration d'utilisation prévue

VeriSeq NIPT Solution v2 est un test de diagnostic *in vitro* conçu pour être utilisé comme un test de dépistage des anomalies génétiques fœtales pangénomiques à partir d'échantillons de sang total périphérique maternel de femmes enceintes d'au moins 10 semaines. VeriSeq™ NIPT Solution v2 utilise le WGS pour détecter les duplications et délétions partielles pour tous les autosomes et le statut d'aneuploidie pour tous les chromosomes. Le test offre également l'option d'évaluer l'ACS. Ce produit ne doit pas être utilisé comme l'unique fondement d'un diagnostic ou d'autres décisions sur la prise en charge de la grossesse.

VeriSeq NIPT Solution v2 comprend : VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 pour VeriSeq NIPT Microlab STAR, VeriSeq NIPT Sample Prep Kits et VeriSeq Onsite Server v2 avec VeriSeq NIPT Assay Software v2. VeriSeq NIPT Solution v2 est destiné à être utilisé avec un séquenceur de nouvelle génération.

Références

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, Ordoñez 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



Numéro sans frais aux États-Unis : +(1) 800 809 4566 | Téléphone : +(1) 858 202 4566
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Tous droits réservés. Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour plus d'informations sur les marques, consultez www.illumina.com/company/legal.html.
M-APJ-00036 FRFR v3.0