

# VeriSeq™ NIPT Solution v2

Teljes körű, hozzáférhető,  
teljesgenom-szekvenálási  
vizsgálat

- A magzati kromoszómák részletes áttekintése > 2300 mintával végzett klinikai pontossági tanulmányban igazolt, széles körű genetikai lefedettséggel
- Megbízható vizsgálati teljesítmény<sup>1</sup> nagy pontosságú, gyors eredményekkel és alacsony sikertelenségi aránnyal
- Egyszerű, skálázható IVD-megoldás, amely futtatásonként 24, 48 vagy 96 minta elemzésére alkalmas

illumina®

## Bevezetés

Az új generációs szekvenálással (NGS) végzett nem invazív prenatális vizsgálat (NIPT) a magzati kromoszóma-aneuploiditásokról megbízható szűrési eredményt biztosít már a terhesség 10. hetétől – egy kémcsőnyi anyai vérből.<sup>2,3</sup> A VeriSeq NIPT Solution v2 a nagy teljesítményű Illumina NGS technológiával a teljes genom-szekvenálási (WGS) megközelítést alkalmazza NIPT céljára, ezzel a vizsgált eltérések körét kiterjesztve a gyakori aneuploiditások (21-es, 18-as és 13-as kromoszóma), a ritka autoszómális aneuploiditások (RAA), a nemi kromoszómák bizonyos aneuploiditásai (SCA) és az összes autoszómát érintő  $\geq 7$  Mb méretű részleges deléciók és duplikációk, más néven példányszám-változások (CNV-k) kimutatására alkalmas.

A vizsgálati lehetőségek széles köre, a pontos eredmények és az alacsony sikertelenségi arány kombinációjával a VeriSeq NIPT Solution v2 a magzati kromoszómák átfogó szűrését biztosítja, amely lehetővé teszi a tájékozott, időben történő terhességi döntések meghozatalát.<sup>1</sup> A reagenseket, készülékeket és szoftvert tartalmazó, a telepítést és a képzést magában foglaló VeriSeq NIPT Solution v2 automatizált, megbízható megoldás az NIPT intézményen belüli elvégzésére (1. Ábra és 1. Táblázat).

## A magzati kromoszómák teljes körű áttekintése

Számos, laboratóriumon belül elvégezhető NIPT-megoldás csak a 21-es, 18-as és 13-as kromoszóma triszómiájának szűrésére alkalmas, pedig ezek csak a lehetséges rendellenességek egy részét képviselik. Ezekkel a vizsgálatokkal nem mutathatók ki a  $\geq 7$  Mb méretű részleges duplikációk és deléciók, amelyek magzati rendellenességekkel és fejlődésbeli elmaradással járhatnak, és 0,12%-os incidenciával lépnek fel.<sup>4</sup> E vizsgálatokkal ugyancsak elmarad az RAA-k kimutatása, amelyek nemkívánatos eredményekkel, többek között vetéléssel, intrauterin növekedési visszamaradással (IUGR), uniparentális diszómiával (UPD), koraszüléssel és magzati rendellenességekkel járhatnak.<sup>5</sup> Az RAA-k összesített pozitív szűrési eredményeinek aránya 0,34%,<sup>5</sup> összehasonlításként: a 21-es triszómia aránya 0,30%.<sup>6,7</sup>

### 1. Táblázat: A VeriSeq NIPT Solution v2 áttekintése

Paraméter	Leírás
Módszer	Teljes genom szekvenálása
Könyvtár előkészítése	PCR nélkül
Kémiai alapelv	Páros végű szekvenálás
Minták száma	Tételenként 24, 48 vagy 96
Eredményekig eltelő idő	~26 óra
Kezelők száma	1
Minta	Egy cső (7–10 ml) anyai vér
Elvégezhető elemzés	Minden autoszóma és nemi kromoszóma aneuploiditási állapota; $\geq 7$ Mb méretű CNV-k

## Megbízható vizsgálati teljesítmény

Az eredmények pontossága, az eredményig eltelő idő és a sikertelenség aránya alapján a VeriSeq NIPT Solution v2 kiemelkedő teljesítményt nyújt.

### Kiváló pontosság

A VeriSeq NIPT Solution v2 hitelesítve van a klinikai pontosság és megbízhatóság biztosítására. A vizsgálatba bevonták azokat az érintett terhességből származó mintákat, amelyeknél a klinikai eredmények rendelkezésre álltak, és a minta megfelelt a bevonási feltételeknek. A vizsgált csoport legalább 10 hetes terhességekből állt, és tartalmazta az alacsony magzati frakciójú és az ikerterhességeket is. A vizsgálatban több mint 2300 anyai mintát szűrtek, amelyek státusa 21-es triszómia, 18-as triszómia, 13-as triszómia, RAA-k,  $\geq 7$  Mb-os CNV-k és SCA-k tekintetében ismert volt. A VeriSeq NIPT Solution v2 vizsgálatból kapott eredményeket összehasonlították a klinikai viszonyítási alapot jelentő tényleges diagnózissal. A VeriSeq NIPT Solution v2 eredményei magas szenzitivitást és specificitást mutattak a gyakori triszómiák, az RAA-k, a CNV-k és a  $\geq 7$  Mb méretű CNV-k tekintetében, a magzati nemre vonatkozó eredményének egyezését a klinikai eredménnyel, valamint az első próbálkozásakor alacsony, 1,2%-os sikertelenségi arányt (2. Táblázat és 3. Táblázat).<sup>1</sup>



1. Ábra: A teljes IVD NIPT munkamenet – A VeriSeq NIPT Solution v2 tartalmaz mindent az NGS segítségével végzett NIPT-hez, többek között a DNS-extrakcióhoz, a könyvtár-előkészítéshez és a szekvenáláshoz szükséges reagenseket, az automatizált könyvtár-előkészítéshez és a szekvenáláshoz való eszközöket munkafolyamat-kezelő szoftverrel, egy helyi kiszolgálót a biztonságos adattároláshoz és -elemzéshez, valamint kvalitatív eredményeket tartalmazó jelentést létrehozó szoftvert tartalmaz.

2. Táblázat: A VeriSeq NIPT Solution v2 klinikai teljesítménye<sup>1</sup>

	21-es triszómia <sup>c</sup>	18-as triszómia	13-as triszómia	RAA <sup>d</sup>	CNV-k $\geq$ 7 Mb	Bármilyen rendellenesség <sup>e</sup>
Szenzitivitás <sup>a</sup>	> 99,9% (130/130)	> 99,9% (41/41)	> 99,9% (26/26)	96,4% (27/28)	74,1% (20/27)	95,5% (318/333)
2 oldalas 95%-os konfidencia-intervallum <sup>b</sup>	97,1%, 100%	91,4%, 100%	87,1%, 100%	82,3%, 99,4%	55,3%, 86,8%	92,7%, 97,3%
Specifititás	99,90% (1982/1984)	99,90% (1995/1997)	99,90% (2000/2002)	99,80% (2001/2005)	99,80% (2000/2004)	99,34% (1954/1967)
2 oldalas 95%-os konfidencia-intervallum <sup>b</sup>	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. Az alapszintű szűrés a T21, T18 és T13 eltéréseket tartalmazza, és a teljesítményéhez figyelembe vett minták közül ki van zárva 16, ismert mozaicizmusos eset és 49 minta, amelyekben csak a teljes genomra kiterjedő szűrés által kimutatott rendellenesség állt fenn; az RAA-k és a részleges duplikációk és deléciók esetén a teljes genomra kiterjedő szűrés eredménye szerepel.
- b. A Wilson-pontszám módszerrel megállapított konfidencia-intervallum.
- c. A táblázatban nem szerepel hét ikerterhesség, amelyekben helyesen történt 21-es triszómia azonosítása.
- d. Az RAA nem tartalmazza a 21-es, 18-as és 13-as kromoszóma eltéréseit
- e. A bármilyen rendellenesség tartalmazza az SCA alapszintű és a teljes genomra kiterjedő szűrését.

3. Táblázat: A VeriSeq NIPT Solution v2 magzati nemre vonatkozó eredményének egyezése a klinikai állapottal<sup>1</sup>

A VeriSeq NIPT Solution v2 eredménye	Az újszülött fizikális vizsgálatának eredménye		Citogenetikai eredmények					
	Nő	Férfi	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYY
Százalékos egyezési arány	100%	100%	100%	100%	90,5%	100%	100%	91,7%

## Gyors eredmények

A VeriSeq NIPT Solution v2 gyors, háromlépéses munkafolyamata pontos eredményt ad alig több mint egy nap alatt (4. Táblázat). Az egyszerű, automatizált munkafolyamat követésével egy kezelő 24–96 minta elemzését tudja elvégezni kevesebb mint 8 óra alatt, csekély munkaidőigénnyel. A célzott szekvenálási és a DNS-chip-alapú módszerekhez általában hosszabb idejű laboratóriumi protokollok és több munkaidő szükséges.

## 4. Táblázat: A VeriSeq NIPT elvégzésének ideje alig több mint egy nap

Lépés	Munkaidő	Teljes idő
Minták és könyvtárak előkészítése	~2 óra	~8 óra
Szekvenálás	~15 perc	14 óra
Adatok elemzése és jelentés elkészítése	N.a.	~4 óra
Teljes idő	~2,25 óra	~26 óra

A tényleges munkaidő a laboratóriumi gyakorlattól függ, és eltérhet ettől;  
N.a.: nem alkalmazható.

## Alacsony sikertelenségi arány

Az NIPT megbízhatósága és klinikai hasznossága szempontjából fontos tényező a sikertelen vizsgálatok aránya, amikor nem lehet eldönteni, hogy fennáll-e diszómia vagy aneuploiditás. A sikertelenség aránya jelentősen különbözik a használt vizsgálati módszertől függően. A célzott megközelítést vagy egyetlen nukleotid polimorfizmusán (SNP) alapuló módszert alkalmazó vizsgálatoknál nagyobb a sikertelenség aránya, mint az NGS esetében.<sup>8</sup> A VeriSeq NIPT Solution v2 teljesgenom-szekvenálás segítségével nagy mennyiségű adatot szolgáltat az összes kromoszómáról a pontosság romlása vagy a sikertelenség vagy az álpozitív eredmények gyakoriságának növelése nélkül. A klinikai validálási vizsgálatban az első menetben a sikertelenségi arány 1,2% volt.<sup>1</sup> A laboratóriumi gyakorlatban az első vérvételben elegendő plazma van a VeriSeq NIPT munkafolyamat megismétléséhez, ha szükséges.<sup>9</sup> Az ismételt tesztelés az elsődleges sikertelenségi arány 2%-ról 1,3%-ra történő csökkenését mutatta ugyanazon minta esetében.<sup>9</sup>

## Egyszerű, skálázható IVD-megoldás

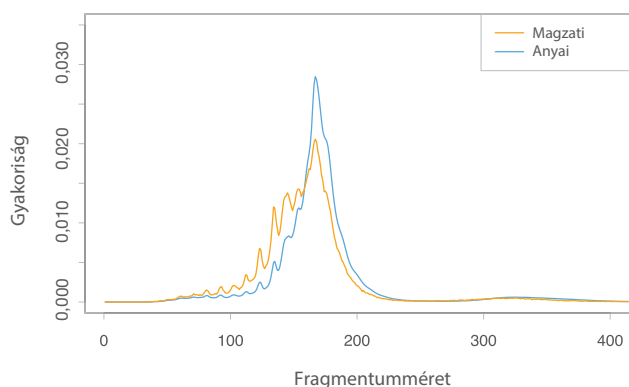
Az integrált VeriSeq NIPT Solution v2 tartalmaz mindent, ami szükséges a vizsgálat elvégzéséhez. Az automatizált munkafolyamat könnyen skálázható futtatásonként 24, 48 vagy 96 minta elemzéséhez, lehetővé téve a mintamennyiség hatékony és rugalmas kezelését. Minden mintához kiválasztható az alapvető vagy a genomszintű szűrés.

## Automatizált munkafolyamat

A teljesen automatizált VeriSeq NIPT vizsgálat egyszerű munkafolyamat, amely minimálisra csökkenti a munkaidőt és a hibák lehetőségét. A protokollhoz 7–10 ml anyai teljes vér szükséges, amelyet az ajánlott Streck vérvételi csőbe (BCT) kell levenni. Az optimalizált VeriSeq NIPT minta-előkészítési készletek tartalmazzák a sejtmentes DNS-ből (cfDNS) a szekvenálási könyvtárak előkészítéséhez szükséges reagenseket és címkéket. A plazma elválasztása, a cfDNS kivonása és a PCR-mentes könyvtár-előkészítés, beleértve a mennyiségi meghatározási lemez elkészítését, a könyvtárak mennyiségi meghatározását és a könyvtárak összekeverését, automatizálva történik a VeriSeq NIPT Microlab STAR, a Hamilton Microlab STAR rendszernek kifejezetten az NIPT VeriSeq munkafolyamatra beállított változata segítségével. A felhasználóbarát VeriSeq NIPT Workflow Manager vezérli a minta-előkészítés minden lépését, beleértve a minta követését.

## Szekvenálás

Az anyai vér különböző hosszúságú cfDNS-eket tartalmaz; a hosszabb szakaszok nagyobb valószínűséggel anyai, a rövidebbek pedig nagyobb valószínűséggel magzati DNS-t tartalmaznak (2. Ábra).<sup>10</sup> A VeriSeq NIPT Solution v2 gyorsan és hatékonyan meghatározza a mintában lévő összes cfDNS-fragmentum hosszúságát, és az a rövidebb cfDNS-darabokat részesíti előnyben. Ehhez páros végű szekvenálás történik az Illumina NextSeq™ 550Dx rendszeren, amely nagy teljesítményű új generációs szekvenálást (NGS) nyújt<sup>11</sup> egy asztali rendszer megfizethetőségével egyidejűleg (5. Táblázat).



2. Ábra: Az anyai és a magzati cfDNS méretének összehasonlítása – Páros végű szekvenálással a cfDNS-fragmentumok a méret alapján elkülöníthetők. A hosszabb fragmentumok általában anyai eredetűek, a rövidebbek pedig inkább magzati eredetűek.

## 5. Táblázat: Az NGS készülék teljesítménye

Paraméter	Műszaki adatok
Beolvasások hossza	2 × 36 bp
Szekvenálási fájl típusa	.BCL-fájl
Szekvenálási kimeneti teljesítmény	400 000 000 beolvasás
Működési idő	14 óra
Multiplexelés	Futtatásonként 24 vagy 48 minta

## Helyi adatelemzés

Az adatok elemzése az erre kijelölt VeriSeq v2 Onsite Server számítógépen az IVD VeriSeq NIPT Assay Software v2 szoftverrel történik. A kiszolgáló automatikusan elvégzi a szekvenálási adatok feldolgozását. Egy kiszolgálón való feldolgozásra több adattétel állítható sorba elemzésre. Nincs szükség az adatok más helyre történő elküldésére, ami időt takarít meg, és védi a minta személyes adatait.

## VeriSeq NIPT Assay Software v2

A VeriSeq NIPT Assay Software v2 a beolvasásokat szűri és a referenciagenomhoz illeszti. Egy speciális algoritmus megállapítja a kromoszómánkénti (szegmensenkénti) beolvasások sűrűségét, és segít az aneuploiditás és a CNV-k kimutatásában és elkülönítésében. A szoftver minden mintánál kiszámítja és jelenti a magzati frakció értékét is. A magzati frakció, a lefedettség és más, a szekvenálás során gyűjtött statisztikai adatok alapján történik az aneuploiditási állapot meghatározása.

Az alacsony sikertelenségi arány biztosításához a VeriSeq NIPT Assay v2 Software részét képező különálló magzati aneuploiditási megbízhatósági vizsgálat (iFACT) létrehoz egy mintaminőségi pontszámot. Az iFACT azt mutatja meg, hogy a vizsgálati adatok szekvenálási lefedettsége – az illető minta becsült magzati frakciója figyelembevételével – elegendő-e az aneuploiditás vagy a részleges duplikációk és deléciók azonosításához, még alacsony magzati frakciójú minták esetén is.<sup>12</sup> E dinamikus határérték segítségével a VeriSeq NIPT Assay v2 Software eredményt tud adni alacsony magzati frakciójú minták esetén is, ami alacsony sikertelenségi arányt eredményez.<sup>1</sup>

## Jelentés létrehozása

Az adatok elemzése után a VeriSeq NIPT Assay Software minden minta kromoszómái esetén az „aneuploiditás kimutatva” vagy a „nincs aneuploiditás kimutatva” eredményt adja. CNV kimutatása esetén a jelentésben megjelennek az eltérés pontos genomiai koordinátái. Az adatok „CSV” fájlként állnak rendelkezésre, amely integrálható egy meglévő LIMS-sel, lehetővé téve egyéni klinikai jelentés létrehozását.

## A megvalósítás teljes körű támogatása

A laboratórium zökkenőmentes felkészítéséhez a VeriSeq NIPT Solution v2 magában foglalja a képezett Illumina-szervizmérnök által végzett telepítést és a személyzet gyakorlati képzését. Ennek során az Illumina szakértője lépésről lépésre végigvezeti a személyzetet a minta kivonása, a könyvtár-előkészítés, a szekvenálás és az elemzés lépésein (6. Táblázat). A terméket használó összes rendszernek az Illumina műszaki ügyfélszolgálat folyamatos támogatást biztosít.

6. Táblázat: VeriSeq NIPT Solution v2 – képzés

Téma	Részletek
VeriSeq NIPT Solution v2 – bevezetés	A munkafolyamat és az elemzés elméleti áttekintése <ul style="list-style-type: none"> <li>• Kiegészítő berendezések</li> <li>• Fogyóeszközök</li> <li>• Vérvételi protokoll</li> <li>• Plazmaelválasztási protokoll</li> </ul>
A készülék használatára vonatkozó képzés	Képzés a használat helyén <ul style="list-style-type: none"> <li>• Telepített készülék szükséges</li> </ul>
Helyszín megtekintése	Ellenőrzés a használat helyén <ul style="list-style-type: none"> <li>• Kiegészítő berendezések telepítése</li> <li>• Szükséges reagensek</li> <li>• A rendszer összetevőinek csatlakoztatása</li> </ul>
Képzés a használat helyén	Az Illumina tudományos szakértője végzi a vizsgálatot <ul style="list-style-type: none"> <li>• Előzetesen megvizsgálta, ismert teljesítményjellemzőkkel rendelkező plazmaminták (az Illumina szállítja)</li> <li>• Végigvezetés a vizsgálati munkafolyamaton a plazma elválasztásától a készülék működtetéséig és az adatok elemzéséig</li> <li>• Adatelemzési képzés</li> </ul>
Helyszíni kompetencia-ellenőrzés	Az ügyfél végzi a vizsgálatot <ul style="list-style-type: none"> <li>• Előzetesen megvizsgálta, ismert teljesítményjellemzőkkel rendelkező plazmaminták (az Illumina szállítja)</li> </ul>

## Összefoglalás

A VeriSeq NIPT Solution v2 forradalmi változást hoz az NIPT hozzáférhetősége, megbízhatósága és teljesítménye terén. Mostantól a laboratóriumok ki tudják használni az NGS lehetőségeit a gyors, megbízható és igen pontos NIPT-eredmények készítésére.

## Tudjon meg többet

[Illumina VeriSeq NIPT Solution v2](#)

## Rendelési információk

Termék	Cikkszám
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (24 minta)	20025895
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (48 minta)	15066801
VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (96 minta)	15066802
VeriSeq NIPT Assay Software v2	20047024
VeriSeq Onsite Server v2	20047000 20101927
Streck sejtmentes DNS BCT (CE)	15073345
NextSeq 550Dx készülék	20005715
NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 ciklus)	20028870

## Rendeltetés

A VeriSeq NIPT Solution v2 *in vitro* diagnosztikai vizsgálat, amely szűrővizsgálatként szolgál a genomszintű magzati genetikai rendellenességek felismerésére az anya perifériás teljes vérből, legkorábban a 10. gesztációs héten. A VeriSeq NIPT Solution v2 a teljes genom szekvenálásával (WGS) mindegyik autoszóma részleges deléciójának és duplikációjának, valamint az összes kromoszóma aneuploiditásának kimutatására szolgál. A vizsgálat lehetőséget nyújt a nemi kromoszómák aneuploiditásának (SCA) meghatározására. A termék nem használható a diagnózis felállításának vagy az egyéb, terhességgel kapcsolatos döntések meghozatalának egyedüli alapjaként.

A VeriSeq NIPT Solution v2 összetevői: a VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 a VeriSeq NIPT Microlab STAR készüléken, a VeriSeq NIPT Sample Prep Kit készletek és a VeriSeq Onsite Server v2 a VeriSeq NIPT Assay Software v2 szoftverrel. A VeriSeq NIPT Solution v2 új generációs szekvenálógéppel való használatra szolgál.

## Hivatkozások

- 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
- 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
- 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
- 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
- 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)
- 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
- 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
- Yaron Y. [The implications of non-invasive prenatal testing failures: a review of an under-discussed phenomenon](#). *Prenat Diagn*. 2016;36:391-396
- 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
- 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
- Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate whole human genome sequencing using reversible terminator chemistry](#). *Nature*. 2008;456(7218):53-59
- 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.



1.800.809.4566: díjmentesen hívható szám (az Amerikai Egyesült Államokból) | tel.: +1.858.202.4566  
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Minden jog fenntartva. Minden védjegy az Illumina, Inc., illetve az adott tulajdonosok tulajdonát képezi. A márkanevekkel kapcsolatos információkat lásd a [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html) internetes oldalon.  
M-APJ-00036 HUN v3.0