

# VeriSeq™ NIPT Solution v2

Доступный комплексный  
анализ с полногеномным  
секвенированием

- Комплексный анализ хромосом плода с расширенным меню тестирования, валидированный в исследовании с оценкой клинической достоверности, проведенном на > 2300 образцах
- Надежный метод тестирования<sup>1</sup>, высокая точность, быстрое получение результатов и низкая частота ошибок
- Простое адаптивное решение для диагностики *in vitro* с возможностью анализа 24, 48 или 96 образцов за один запуск

illumina®

## Введение

Неинвазивное пренатальное тестирование (НИПТ) с секвенированием нового поколения (NGS, next-generation sequencing) позволяет получать надежные результаты при скрининге на хромосомные анеуплоидии плода уже на 10-й неделе гестации. Необходимый для тестирования объем материнской крови — всего одна пробирка<sup>2,3</sup>. Опираясь на преимущества NGS, эффективной технологии компании Illumina, метод VeriSeq NIPT Solution v2 позволяет применять в ходе НИПТ полногеномное секвенирование (WGS, whole-genome sequencing), при этом в качестве вариантов в меню тестирования включены распространенные анеуплоидии (трисомия по хромосомам 21, 18 и 13), редкие аутосомные анеуплоидии (РАА), определенные анеуплоидии по половым хромосомам (АПХ), а также частичные делеции и дупликации, которые называют вариациями числа копий (ВЧК), размером  $\geq 7$  Мб.

VeriSeq NIPT Solution v2 содержит расширенное меню тестирования, обеспечивает достоверные результаты с низкой частотой ошибок и позволяет проводить комплексный анализ хромосом плода с дальнейшим своевременным информированием пациенток о решениях, принятых врачом в отношении ведения их беременности<sup>1</sup>. Метод VeriSeq NIPT Solution v2 предусматривает все необходимое — реагенты, приборы, программное обеспечение с установкой, а также обучение, — что делает его надежным автоматизированным решением для проведения НИПТ на местах (Рисунок 1 и Таблица 1).

## Комплексный анализ хромосом плода

Многие лабораторные методы НИПТ предназначены для скрининга на трисомию по хромосомам 21, 18 и 13, однако эти случаи представляют лишь часть возможных аномалий. При тестировании с помощью таких методов можно пропустить ВЧК размером  $\geq 7$  Мб, которые могут быть ассоциированы с пороками развития плода и дальнейшим отставанием в развитии. Такие нарушения можно выявить при скрининге с помощью НИПТ; частота положительных результатов скрининга составляет при этом 0,12 %<sup>4</sup>. Более того, упомянутые методы не являются эффективными методами скрининга для выявления РАА, которые могут стать причиной неблагоприятного исхода беременности, в том числе выкидыша, задержки внутриутробного развития (ЗВУР), однородительской дисомии (ОРД), спонтанных преждевременных родов, а также пороков развития плода<sup>5</sup>. Совокупная частота положительных результатов скрининга на РАА составляет 0,34 %<sup>5</sup> по сравнению с 0,30 % для трисомии по хромосоме 21<sup>6,7</sup>.

Таблица 1: Основные характеристики анализа VeriSeq NIPT Solution v2

Параметр	Описание
Метод	Полногеномное секвенирование
Подготовка библиотеки	Без использования ПЦР
Химический метод	Секвенирование методом парных прочтений
Число образцов	24, 48 или 96 на серию
Время до создания отчета	~26 часов
Номер оператора	1
Образец	7–10 мл (одна пробирка) материнской крови
Выполняемый анализ	Статус анеуплоидии для всех аутосом и половых хромосом; ВЧК размером $\geq 7$ Мб

## Достоверность тестирования

Метод VeriSeq NIPT Solution v2 отличается превосходными показателями достоверности результатов, скорости их получения и частоты ошибок.

## Высокая точность

Для обеспечения клинической достоверности и надежности результатов проведена валидация метода VeriSeq NIPT Solution v2. Для тестирования отбирали соответствующие критериям исследования образцы, полученные у беременных женщин с клинически подтвержденными искомыми аномалиями плода. В эту когорту включали женщин после достижения по меньшей мере 10 недель гестации. Образцы отличались низкой фетальной фракцией или были получены у женщин с двуплодной беременностью. В ходе этого исследования был проведен скрининг более 2300 образцов, полученных у женщин с известными исходами беременности, такими как трисомия по хромосомам 21, 18 и 13, РАА, ВЧК размером  $\geq 7$  Мб, а также АПХ. Результаты, полученные при использовании VeriSeq NIPT Solution v2, сравнили с результатами для соответствующего клинического эталонного стандарта. Высокая чувствительность и специфичность результатов метода VeriSeq NIPT Solution v2 продемонстрированы в отношении распространенных трисомий, РАА, а также ВЧК размером  $\geq 7$  Мб. Показана высокая степень совпадения пола плода, определенного во время тестирования и наблюдаемого клинически, а также низкая частота ошибок при первом тестировании образца — 1,2 % (Таблица 2 и Таблица 3)<sup>1</sup>.



Рисунок 1: Полный рабочий процесс НИПТ для диагностики *in vitro*: VeriSeq NIPT Solution v2 предусматривает все необходимое для НИПТ с использованием NGS, включая реагенты для выделения ДНК, подготовки библиотек и секвенирования; средства для автоматизации подготовки библиотек и секвенирования с помощью программного диспетчера рабочих процессов; локальный сервер для надежного хранения и анализа данных; а также программное обеспечение анализа данных с возможностью создания отчетов, представляющих качественные результаты.

Таблица 2: Клиническая эффективность VeriSeq NIPT Solution v2<sup>1</sup>

	Трисомия по хромосоме 21 <sup>c</sup>	Трисомия по хромосоме 18	Трисомия по хромосоме 13	РАА <sup>d</sup>	ВЧК размером ≥ 7 Мб	Любая аномалия <sup>e</sup>
Чувствительность <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-сторонний 95%-й ДИ <sup>b</sup>	97,1 %, 100 %	91,4 %, 100 %	87,1 %, 100 %	82,3 %, 99,4 %	55,3 %, 86,8 %	92,7 %, 97,3 %
Специфичность	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-сторонний 95%-й ДИ <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. Данные об эффективности базового скрининга представлены для таких аномалий, как трисомии (Т) Т21, Т18 и Т13, и не включают данные 16 образцов с подтвержденным мозаицизмом и 49 образцов с аномалиями, выявляемыми только при полногеномном скрининге; результаты полногеномного скрининга представлены для РАА и частичных дупликаций и делеций.
- b. Доверительный интервал (ДИ), рассчитанный по методу Уилсона.
- c. В таблицу не включены данные семи случаев дуплированной беременности, для которых аномалия была правильно определена как Т21.
- d. В категорию РАА не включены аномалии по хромосомам 21, 18 и 13.
- e. В категорию любых аномалий включены данные образцов базового и полногеномного скрининга на АПХ.

Таблица 3: Соответствие результатов определения пола плода, полученных при использовании метода VeriSeq NIPT Solution v2, эталонным клиническим результатам<sup>1</sup>

Результаты, полученные с помощью метода VeriSeq NIPT Solution v2	Физически наблюдаемый пол новорожденного		Результаты цитогенетического анализа					
	Женский	Мужской	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYX
Процент соответствия	100 %	100 %	100 %	100 %	90,5 %	100 %	100 %	91,7 %

### Быстрый результат

Метод VeriSeq NIPT Solution v2 позволяет проводить тестирование с использованием быстрого трехэтапного рабочего процесса, который обеспечивает получение достоверных результатов примерно за сутки (Таблица 4). Благодаря простому автоматизированному рабочему процессу один оператор может проанализировать 24–96 образцов менее чем за 8 часов, при этом время работы, требующей непосредственного участия человека, будет минимальным. Для таргетного секвенирования и методов на основе массивов, как правило, используются более масштабные лабораторные протоколы, для выполнения которых требуется больше времени активного участия персонала.

Таблица 4: Выполнение НИПТ при помощи VeriSeq занимает чуть больше суток

Этап	Время активного участия персонала	Общее время выполнения
Подготовка образца и подготовка библиотеки	~2 часа	~8 часов
Секвенирование	~15 мин	~14 часов
Анализ данных и создание отчета	Н/П	~4 часа
Общее время выполнения	~2,25 часа	~26 часов

Фактическое время может отличаться в зависимости от процедур конкретной лаборатории. Н/П — неприменимо.

### Низкая частота ошибок тестирования

Ошибки тестирования, при которых невозможно распознать дисомии или анеуплоидии, — важный фактор, влияющий на надежность и клиническую ценность НИПТ. Частота ошибок тестирования существенно различается в зависимости от используемого теста. Тесты, в которых используется таргетный подход или определение однонуклеотидных полиморфизмов (ОНП), отличаются более высокой частотой ошибок при первом тестировании, чем NGS<sup>®</sup>. В методе VeriSeq NIPT Solution v2 используется WGS, что позволяет получить данные для всех хромосом в достаточном объеме без ущерба достоверности, а также без повышения частоты ошибок и частоты получения ложноположительных результатов. В клиническом исследовании валидации метода частота ошибок при первом тестировании образца составляла 1,2 %<sup>1</sup>. В лабораторной практике один образец крови позволяет получить достаточное количество плазмы, чтобы при необходимости повторить рабочий процесс НИПТ методом VeriSeq<sup>®</sup>. При повторном выполнении тестирования частота первичных ошибок для одного и того же образца снижалась с 2 % до 1,3 %<sup>®</sup>.

### Простое адаптивное решение для диагностики *in vitro*

Интегрированный метод VeriSeq NIPT Solution v2 обеспечивает все необходимое для запуска анализа. Автоматизированный рабочий процесс легко адаптируется для анализа 24, 48 или 96 образцов за один запуск, позволяя эффективно и гибко использовать ресурсы в ходе анализа. Для каждого образца можно выбрать либо базовый, либо полногеномный скрининг.

## Автоматизированный рабочий процесс

При проведении полностью автоматизированного анализа методом VeriSeq NIPT используется простой рабочий процесс, который минимизирует время, затрачиваемое персоналом, и снижает вероятность ошибок. Для выполнения протокола необходимо 7–10 мл материнской периферической цельной крови, собранной в рекомендованную пробирку для взятия крови (BCT, Blood Collection Tube) Streck. Оптимизированные наборы для подготовки образца для анализа методом VeriSeq NIPT содержат реагенты и этикетки для подготовки библиотек секвенирования свободно циркулирующей ДНК (сцДНК). Такие этапы, как отделение плазмы, выделение сцДНК и подготовка библиотек без полимеразной цепной реакции (ПЦР), включая создание планшетов для количественного анализа, количественный анализ библиотек и объединение библиотек, автоматизированы при использовании лабораторной рабочей станции VeriSeq NIPT Microlab STAR (система Microlab STAR компании Hamilton, настроенная специально для использования с рабочим процессом VeriSeq NIPT). Удобный диспетчер рабочих процессов VeriSeq NIPT Workflow Manager контролирует все аспекты подготовки образца, включая отслеживание образцов.

## Секвенирование

Образец материнской крови содержит фрагменты сцДНК различной длины; более длинные фрагменты, как правило, являются частью материнской ДНК, а более короткие — фетальной ДНК (Рисунок 2)<sup>10</sup>. При помощи метода VeriSeq NIPT Solution v2 можно быстро и эффективно определить длину всех фрагментов сцДНК в одном образце, при этом в алгоритме анализа на основе секвенирования методом парных прочтений, выполняемого в системе Illumina NextSeq™ 550Dx System, больше внимания будет уделено более коротким фрагментам сцДНК, что определяет эффективность системы NGS, отличающейся высокой производительностью<sup>11</sup> и доступной в настольном формате (Таблица 5).

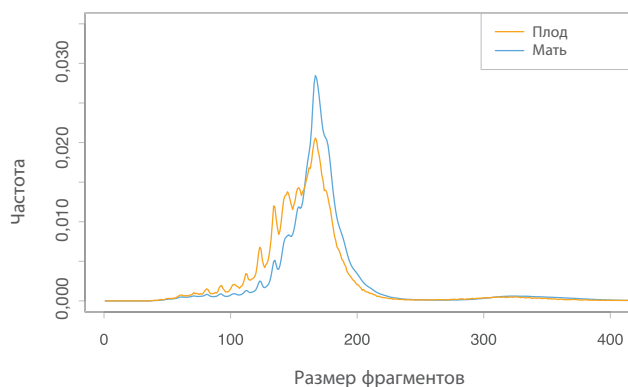


Рисунок 2: Сравнение размеров фрагментов сцДНК матери и плода. Секвенирование методом парных прочтений дифференцирует фрагменты сцДНК по размеру. Как правило, источником более длинных фрагментов является мать, а более коротких — плод.

Таблица 5: Требования к характеристикам прибора для NGS

Параметр	Спецификация
Длина прочтения	2 × 36 п. о.
Тип файла секвенирования	Файл формата .BCL
Выходные данные секвенирования	400 млн прочтений
Время выполнения запуска	~14 часов
Мультиплексирование	24 или 48 образцов на запуск

## Анализ на рабочем месте

Анализ данных выполняется на специальном сервере VeriSeq Onsite Server v2 с помощью программного обеспечения для диагностики *in vitro* VeriSeq NIPT Assay Software v2. Сервер автоматически обрабатывает данные секвенирования. В очередь для анализа на одном сервере можно добавить несколько партий образцов. Отсутствие необходимости в отправке данных для анализа экономит время и позволяет не идентифицировать образцы.

## Программное обеспечение VeriSeq NIPT Assay Software v2

Программное обеспечение VeriSeq NIPT Assay Software v2 выполняет фильтрацию и картирование прочтений на референсный геном. Усовершенствованный алгоритм определяет плотность прочтений на хромосому (сегмент) и помогает определять и дифференцировать анеуплоидию и ВЧК. Кроме того, программное обеспечение проводит оценку фетальной фракции для каждого образца и создает соответствующий отчет. Для оценки статуса анеуплоидии данные о фетальной фракции объединяются с данными об охвате секвенирования и другими статистическими исходными данными, полученными во время секвенирования.

Для достижения низкой частоты ошибок при тестировании программное обеспечение VeriSeq NIPT Assay Software v2 оснащено таким показателем оценки качества образца, как индивидуализированный критерий достоверности выявленной анеуплоидии плода (iFACT, individualized fetal aneuploidy confidence test). Критерий iFACT показывает, обеспечил ли анализ достаточный охват секвенирования для распознавания анеуплоидии или частичной дупликации и делеции, учитывая оценку фетальной фракции для каждого образца, даже в случае образцов с низкой фетальной фракцией<sup>12</sup>. Благодаря такой динамической отсечке программное обеспечение VeriSeq NIPT Assay Software v2 создает отчет по образцам с низкой фетальной фракцией, что позволяет достичь снижения частоты ошибок<sup>1</sup>.

## Создание отчета

После анализа данных программное обеспечение VeriSeq NIPT Assay Software создает отчет о положительном или отрицательном результате обнаружения анеуплоидии — Aneuploidy Detected (Анеуплоидия выявлена) или No Aneuploidy Detected (Анеуплоидия не выявлена) — для хромосом, протестированных в каждом образце. Если обнаружена ВЧК, в отчете будут отображены ее точные координаты в геноме. Данные будут представлены в виде файла формата .CSV с возможностью интеграции с имеющейся системой управления лабораторной информацией (LIMS, Laboratory Information Management System), благодаря чему их можно будет использовать для создания индивидуального клинического отчета.

## Полная поддержка при применении

Для беспрепятственной интеграции метода VeriSeq NIPT Solution v2 со средой лаборатории предусмотрены установка всей системы квалифицированным сервисным инженером компании Illumina и обучение персонала на рабочем месте. Научные сотрудники компании Illumina вместе с персоналом лаборатории поэтапно выполняют выделение ДНК из образца, подготовку библиотеки, секвенирование и анализ (Таблица 6). После завершения настройки всех систем и начала использования данного метода сотрудники службы технической поддержки компании Illumina предоставляют постоянную поддержку.

Таблица 6: Обучение по VeriSeq NIPT Solution v2

Тема	Подробная информация
Ознакомление с методом VeriSeq NIPT Solution v2	<p>На семинаре рассматриваются рабочий процесс и анализ</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Руководство по вспомогательному оборудованию</li> <li>Руководство по расходным материалам</li> <li>Протокол получения образца крови</li> <li>Протокол отделения плазмы</li> </ul>
Обучение работе с прибором	<p>Обучение на рабочем месте</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Необходим установленный прибор</li> </ul>
Проверка рабочего места	<p>Требует подтверждения на рабочем месте</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Установка вспомогательного оборудования</li> <li>Наличие необходимых реагентов</li> <li>Подключение компонентов системы</li> </ul>
Обучение на рабочем месте	<p>Выполнение анализа научным сотрудником компании Illumina</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Предварительно протестированные образцы плазмы с известными рабочими характеристиками (предоставляются компанией Illumina)</li> <li>Поэтапное выполнение анализа, начиная с отделения плазмы до работы с прибором и анализа данных</li> <li>Обучение анализу данных</li> </ul>
Проверка полученных знаний на рабочем месте	<p>Выполнение анализа персоналом лаборатории</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Предварительно протестированные образцы плазмы с известными рабочими характеристиками (предоставляются компанией Illumina)</li> </ul>

## Резюме

Метод VeriSeq NIPT Solution v2 вывел доступность, надежность и возможности НИПТ на новый уровень. Теперь лаборатории могут использовать технологию NGS, чтобы получать быстрые, надежные и высокоточные результаты НИПТ с низкой частотой ошибок.

## Дополнительная информация

[Illumina VeriSeq NIPT Solution v2](#)

## Информация для заказа

Изделие	Номер по каталогу
Набор для подготовки образцов VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (24 samples)	20025895
Набор для подготовки образцов VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (48 samples)	15066801
Набор для подготовки образцов VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (96 samples)	15066802
Программное обеспечение VeriSeq NIPT Assay Software v2	20047024
Сервер VeriSeq Onsite Server v2	20047000 20101927
Пробирка для выделения свободно циркулирующей ДНК Streck BCT (CE)	15073345
Прибор NextSeq 550Dx Instrument	20005715
Набор реагентов NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5, 75 cycles	20028870

## Заявление о предполагаемом использовании

VeriSeq NIPT Solution v2 представляет собой метод диагностики *in vitro*, который предназначен для скринингового тестирования беременных женщин со сроком гестации не менее 10 недель и используется для выявления хромосомных аномалий плода при полногеномном тестировании материала, полученного из образцов цельной периферической крови матери. Система VeriSeq NIPT Solution v2 использует WGS для выявления частичных дупликаций и делеций для всех аутосом и статуса анеупloidии для всех хромосом. Тестирование предусматривает возможность запроса сообщения об АПХ. Результаты, полученные с помощью данной системы, нельзя использовать в качестве единственного основания для постановки диагноза или принятия других решений о ведении беременности.

В систему VeriSeq NIPT Solution v2 входят: диспетчер рабочих процессов VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 для рабочей станции VeriSeq NIPT MicroLab STAR, наборы для подготовки образцов VeriSeq NIPT Sample Prep Kit и сервер VeriSeq Onsite Server v2 с программным обеспечением VeriSeq NIPT Assay Software v2. Система VeriSeq NIPT Solution v2 предназначена для использования с секвенатором нового поколения.

## Литература

- 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.



Тел.: +1 800 809 45 66 (бесплатно для США) | +1 858 202 45 66  
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© Illumina, Inc., 2024 г. Все права защищены. Все товарные знаки являются собственностью компании Illumina, Inc. или соответствующих владельцев. Информацию о конкретных товарных знаках см. на веб-сайте по адресу [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-APJ-00036 RUS v3.0