

VeriSeq™ NIPT Solution v2

Uçtan uca, erişilebilir bir tüm
genom dizileme testi

- > 2300 numunelik bir klinik doğruluk çalışmasında valide edilen geniş bir test menüsü ile fetal kromozomlara yönelik kapsamlı görünüm
- Doğruluk, hızlı sonuçlar ve düşük hata oranlarıyla güvenilir test performansı¹
- Çalıştırma başına 24, 48 veya 96 numuneyi analiz edebilen basit ve ölçeklenebilir *in vitro* tanı (IVD) çözümü

illumina®

Giriş

Yeni nesil sekanslama (NGS) kullanılarak gerçekleştirilen invaziv olmayan prenatal test (NIPT), tek tüp maternal kan ile henüz 10 hafta gibi gebeliğin erken dönemlerinde fetal kromozomal anöplidiler konusunda güvenilir tarama sonuçları sağlar.^{2,3} VeriSeq NIPT Solution v2 güçlü Illumina NGS teknolojisi sayesinde NIPT konusunda tüm genom dizileme (WGS) yaklaşımını uygulamaya koyarak yaygın anöplidileri (21, 18 ve 13. kromozomlar), nadir otozomal anöplidileri (RAA'lar), belirli cinsiyet kromozomu anöplidilerini (SCA'lar) ve ≥ 7 Mb boyutundaki parsiyel duplikasyon ve delesyonları içeren genişletilmiş bir test menüsü yelpazesi sunmaktadır.

Geniş bir test menüsünü, doğru sonuçları ve düşük hata oranlarını bir araya getiren VeriSeq NIPT Solution v2, fetal kromozomlara yönelik kapsamlı bir tarama sunarak bilgiye dayalı ve zamanında gebelik yönetimi kararları alınmasını sağlar.¹ Reaktifleri, cihazları, yazılımı, kurulumu ve eğitimi sunan VeriSeq NIPT Solution v2 firma içi NIPT için otomatik ve güvenilir bir çözümdür (Şekil 1 ve Tablo 1).

Fetal kromozomlara ilişkin tam görünüm

Pek çok laboratuvar içi NIPT çözümünde 21, 18 ve 13. kromozomlardaki trizomilerin taramasına odaklanılır ancak bu hastalıklar, meydana gelebilecek anomalilerin yalnızca bir kısmını temsil eder. Bu testlerde, fetal anomaliler ve gelişimsel gecikme ile ilişkilendirilebilecek ≥ 7 Mb parsiyel duplikasyonlar ve delesyonlar gözden kaçırılacak ve NIPT ile %0,12 tarama pozitif oranı elde edilecektir.⁴ Bu testlerde diğerlerinin yanı sıra düşük, intrauterin büyüme geriliği (IUGR), uniparental dizomi (UPD), spontan erken doğum ve fetal anomaliler dahil olmak üzere olumsuz sonuçlarla ilişkilendirilebilecek RAA'lar için tarama sonucu pozitif olan gebelikler de gözden kaçırılacaktır.⁵

Tablo 1: Tek bakışta VeriSeq NIPT Solution v2

Parametre	Açıklama
Yöntem	Tüm genom dizileme
Kütüphane hazırlama	PCR'siz
Kimya	Çift sonlu sekanslama
Numune sayısı	Seri başına 24, 48 veya 96
Raporlamaya kadar geçen süre	~ 26 sa
Teknisyen sayısı	1
Numune	7-10 ml tek tüp maternal kan
Sunulan analiz	Tüm otozomların ve cinsiyet kromozomlarının anöplidi durumu; tüm otozomlar için ≥ 7 Mb parsiyel duplikasyon ve delesyonlar

Güvenilir test performansı

Sonuç doğruluğu, yanıt verme süresi ve hata oranları temel alındığında VeriSeq NIPT Solution v2 mükemmel performans göstermektedir.

Doğru sonuçlar

VeriSeq NIPT Solution v2 klinik doğruluğu ve güvenilirliği belirlemek üzere valide edilmiştir. Klinik sonuçların mevcut olması ve numuneyi dahil etme ölçütlerini karşılaması koşuluyla test için uygun olan, etkilenen gebeliklerden elde edilen numunelerle bir klinik validasyon çalışması gerçekleştirilmiştir. Kohort kapsamında gebelik yaşı en az 10 hafta olmuştur, düşük fetal fraksiyonlu numunelere ve ikiz gebeliklere yer verilmiştir. Çalışmada VeriSeq NIPT Solution v2 kullanılarak trizomi 21, trizomi 18, trizomi 13,



Şekil 1: Tüm IVD NIPT iş akışı—VeriSeq NIPT Solution v2, NGS yardımıyla NIPT için gereken her şeyi sunar (örneğin, DNA ekstraksiyonu, kütüphane hazırlama ve sekanslamaya yönelik reaktifler; Workflow Manager yazılımı ile sekanslama ve kütüphane hazırlamayı otomatikleştirmeye yönelik cihazlar; güvenli veri depolama ve analizi için yerinde sunucu; kalitatif sonuçlar sunan rapor oluşturabilen bir veri analizi yazılımı dahildir).

Tablo 2: VeriSeq NIPT Solution v2'nin klinik performans¹

	Trizomi 21 ^c	Trizomi 18	Trizomi 13	RAA ^d	≥7 Mb parsiyel duplikasyonlar ve delesyonlar	Herhangi bir anomali ^e
Duyarlılık ^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)
2 taraflı %95 CI ^b	%97,1, %100	%91,4, %100	%87,1, %100	%82,3, %99,4	%55,3, %86,8	%92,7, %97,3
Özgüllük	%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 taraflı %95 CI ^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. T21, T18 ve T13 için temel tarama performansı raporlanmıştır ve bilinen mozaikleri içeren 16 numune ile yalnızca genom geneli tarama için anomalilerden etkilenen 49 numune hariç tutulmuştur; RAA ve parsiyel duplikasyon ve delesyonlar için genom geneli tarama performansı raporlanmıştır
- b. Wilson skoru yöntemine göre güven aralığı (CI)
- c. T21 olarak doğru raporlanan yedi ikiz gebelik tabloda gösterilmemektedir
- d. 21, 18 ve 13. kromozomlar RAA'dan hariç tutulmuştur
- e. Herhangi bir anomali, temel ve genom geneli SCA taramalarına ait numuneleri içermektedir

Tablo 3: VeriSeq NIPT Solution v2'nin fetal cinsiyet sınıflandırması sonuçları için klinik referans ile uyumu¹

VeriSeq NIPT Solution v2 sonuçları	Yenidoğan fizik muayene sonucu		Sitogenetik sonuçlar					
	Kız	Erkek	XX	XY	XO	XXX	XXY	XXY
Yüzde uyumu	%100	%100	%100	%100	%90,5	%100	%100	%91,7

RAA'lar, SCA'lar ve tüm otozomlar için ≥ 7 Mb boyutundaki parsiyel duplikasyon ve delesyonlar açısından sonuçları bilinen > 2300 maternal numune taranmış ve sonuçlar klinik referans doğrular ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar; yaygın trizomiler, RAA'lar, tüm otozomlar için ≥ 7 Mb boyutundaki parsiyel duplikasyon ve delesyonlar için yüksek düzeyde duyarlılık ve özgüllük sağlandığını, fetal cinsiyet sınıflandırmasının klinik sonuçla yüksek düzeyde uyumlu olduğunu ve ilk geçiş numune hata oranının %1,2 gibi düşük bir düzeyde olduğunu göstermiştir (Tablo 2 ve Tablo 3).¹

Hızlı sonuçlar

VeriSeq NIPT Solution v2, neredeyse bir gün gibi bir sürede doğru sonuçlar üreten üç adımlık hızlı bir NIPT iş akışı sunar (Tablo 4). Bir teknisyen, basit ve otomatik iş akışını uygulayarak minimum düzeyde manuel işlem süresi ile < 8 saatte 24 ila 96 numuneyi analiz edebilir. Hedeflenen sekanslama ve dizi temelli yöntemler genellikle daha uzun süren laboratuvar protokollerine sahiptir ve daha uzun süreli manuel işlem gerektirir.

Tablo 4: VeriSeq NIPT neredeyse bir gün gibi bir sürede tamamlanır

Adım	Manuel işlem süresi	Toplam süre
Numune hazırlama ve kütüphane hazırlama	~ 2 sa	~ 8 sa
Sekanslama	~ 15 dak	~ 14 sa
Veri analizi ve rapor oluşturma	N/A	~ 4 sa
Toplam süre	~ 2,25 sa	~ 26 sa

Gerçek süreler münferit laboratuvar uygulamalarına bağlı olup değişiklik gösterebilir; N/A, geçerli değil.

Düşük test hatası oranları

Hiçbir dizomi ya da anöploidi aramasının yapılamadığı test hataları, NIPT'nin güvenilirliği ve klinik kullanışlılığı açısından önemli bir faktördür. NIPT test hatası oranları kullanılan teste göre önemli oranda farklılık gösterir. Hedeflenen bir yaklaşım ya da tek polimorfik yöntem kullanılan testlerin, temel test hatası oranları NGS'ye göre daha yüksektir.⁶ VeriSeq NIPT Solution v2, WGS kullanarak tüm kromozomlar genelinde kapsamlı veriler sağlarken doğruluğu etkilemez veya hata ya da yalancı pozitif oranlarını artırmaz. Klinik validasyon çalışmasında ilk geçiş hata oranı %1,2 olmuştur.¹

Laboratuvar uygulamasında, alınan ilk kandan elde edilen plazma miktarı, gerekli olan durumlarda VeriSeq NIPT iş akışını tekrarlamak için yeterli olacaktır.⁷ Bir klinik validasyon çalışmasında, ikinci kan almından sonra nihai hata oranımızın %0,4 olduğu gözlenmiştir.⁷

Basit ve ölçeklenebilir IVD çözümü

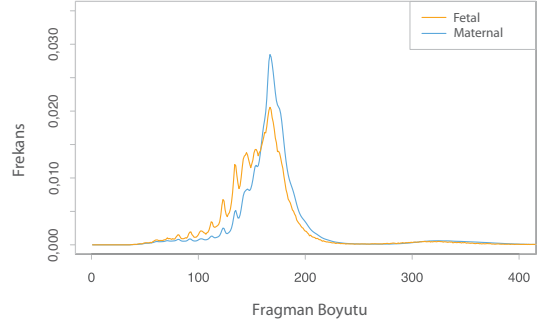
Entegre VeriSeq NIPT Solution v2 testi çalıştırmak için ihtiyaç duyduğunuz her şeyi sağlar. Otomatik iş akışı, numune hacimlerini yönetme konusunda etkinlik ve esneklik sağlamak üzere çalıştırma başına 24, 48 veya 96 numuneyi analiz etmek için kolayca ölçeklenir. Laboratuvar numuneye göre temel ya da genom geneli tarama çalıştırmayı seçebilir.

Otomatik iş akışı

Tamamen otomatik VeriSeq NIPT testi, teknisyenin manuel işlem süresini ve hata potansiyelini en aza indiren basit bir iş akışı sağlar. Protokol için önerilen Streck Kan Toplama Tüpünde (BCT) 7-10 ml maternal periferik tam kan toplanması gerekir. Optimize edilmiş VeriSeq NIPT numune hazırlama kitleri, cfDNA'dan sekanslama kütüphanelerini hazırlamaya yönelik reaktifleri ve etiketleri içerir. Plazma izolasyonu, cfDNA ekstraksiyonu ve PCR-free kütüphane hazırlama (miktar tayini plakasını oluşturma, kütüphane miktar tayini ve kütüphane havuzlama dahil) özellikle VeriSeq NIPT iş akışında kullanılmak üzere özel olarak yapılandırılmış bir Hamilton Microlab STAR sistemi olan VeriSeq NIPT Microlab STAR'da otomatikleştirilmiştir. Kullanıcı dostu VeriSeq NIPT Workflow Manager numune hazırlığını, numune takibi dahil olmak üzere her yönden kontrol eder.

Sekanslama

Maternal kan numunesi farklı uzunluklarda cfDNA fragmanlarını içerir; daha uzun okumalar, maternal DNA için zenginleştirilirken daha kısa okumalar, fetal DNA için zenginleştirilir (Şekil 2).⁸ VeriSeq NIPT Solution v2 hızlı ve etkili bir biçimde tek bir numunedeki tüm cfDNA fragmanlarının uzunluklarını tanımlar ve tezgah üstü sistemin uygun fiyat avantajıyla yüksek verimlilikli NGS⁹ gücünü sunan Illumina NextSeq™ 550Dx System üzerinde gerçekleştirilen çift sonlu sekanslamanın kullanıldığı analiz algoritmasında daha kısa cfDNA'ya daha fazla ağırlık verir (Tablo 5).



Şekil 2: Maternal ve fetal cfDNA fragmanlarına ilişkin boyut karşılaştırması—Çift sonlu sekanslama, boyuta göre cfDNA fragmanlarını birbirinden ayırt eder. Daha uzun fragmanlar, maternal DNA için zenginleştirilirken daha kısa fragmanlar, fetal DNA için zenginleştirilir.

Tablo 5: NGS cihazı performans gereklilikleri

Parametre	Spesifikasyon
Okuma uzunluğu	2 × 36 bp
Sekanslama dosyası türü	.BCL dosyası
Sekanslama çıktısı	~ 400 M okuma
Çalıştırma süresi	~ 14 sa
Çoğullama	Çalıştırma başına 24 veya 48 numune

Yerinde analiz

Veri analizi, IVD işaretli VeriSeq NIPT Assay Software v2 içeren ayrı bir VeriSeq v2 Yerinde Sunucu üzerinde gerçekleştirilir. Sunucu sekanslama verilerini otomatik olarak işler. Tek sunucuda birden fazla numune serisi analiz için kuyruğa alınabilir. Analiz için verilerin gönderilmesi gerekmez ve bu sayede zaman tasarrufu ve numune kimliklerinin korunması sağlanır.

VeriSeq NIPT Assay Software v2

VeriSeq NIPT Assay Software v2 okumaları filtreler ve bir referans genoma hizalar. Gelişmiş bir algoritma, kromozom (bin) başına okuma yoğunluğunu belirler ve anöploidi ve parsiyel duplikasyon ve delesyonların tespitine ve ayırımına yardımcı olur. Yazılım aynı zamanda her bir numune için bir fetal fraksiyon tahmini oluşturur ve raporlar. Fetal fraksiyon verileri, anöploidi durumunu değerlendirmek için sekanslama sırasında oluşturulan diğer istatistiksel girdiler ve kapsam ile birleştirilir.

VeriSeq NIPT Assay Software v2, test hata oranlarının düşük olmasını sağlamak üzere bireyselleştirilmiş fetal anöploidi güven testi (iFACT) numune kalitesi skoru metriğini içermektedir. iFACT, düşük fetal fraksiyonlu numuneler için bile anöploidi veya parsiyel duplikasyon ve delesyon araması yapılabilmesini sağlamak için her bir numuneye ilişkin fetal fraksiyon tahminine göre testin yeterli sekanslama kapsamı oluşturup oluşturmadığını belirtir.¹⁰ Bu dinamik kesme eşiği, VeriSeq NIPT Assay Software v2'nin düşük fetal fraksiyon numuneleri hakkında rapor oluşturmasına olanak sağlayarak düşük test hatası oranları elde edilmesini sağlar.¹

Rapor oluşturma

VeriSeq NIPT Assay Software veri analizinin ardından her bir numunede test edilen kromozomlar için bir "Anöploidi Saptandı" veya "Anöploidi Saptanmadı" sonucu oluşturur. Parsiyel delesyon veya duplikasyon saptanırsa raporda genomdaki tam koordinatlar görüntülenir. Bilgiler, mevcut LIMS ile entegre edilebilen bir ".tab" dosyasında çıktı olarak sunulur. Veriler, özel klinik rapor oluşturmak üzere kullanılabilir.

Tamamen desteklenen uygulama

VeriSeq NIPT Solution v2, sorunsuz bir laboratuvar entegrasyonu için vasıflı bir Illumina Saha Servis Mühendisi tarafından gerçekleştirilen eksiksiz sistem kurulumu ve uygulamalı eğitim içerir. Bilgili Illumina bilim insanları laboratuvar personeline numune ekstraksiyonu, kütüphane hazırlama, sekanslama ve analiz boyunca adım adım kılavuzluk sunar (Tablo 6). Laboratuvarlar çalışmaya hazır duruma geldiğinde Illumina Teknik Destek ekibi tarafından sürekli destek sunulur.

Tablo 6: VeriSeq NIPT Solution v2 eğitimi

Konu	Ayrıntılar
VeriSeq NIPT Solution v2'ye Giriş	İş akışı ve analize ilişkin seminer genel bakışı <ul style="list-style-type: none"> Yardımcı ekipman kılavuzu Sarf malzemeleri kılavuzu Kan alma protokolü Plazma izolasyonu protokolü
Cihazı çalıştırma eğitimi	Yerinde eğitim <ul style="list-style-type: none"> Kurulu cihaz gereklidir
Tesis denetimi	Yerinde onay <ul style="list-style-type: none"> Yardımcı ekipman kurulumu Gerekli reaktifler Sistem bileşenlerinin bağlantı durumu
Yerinde eğitim	Test Illumina bilim insanı tarafından gerçekleştirilir <ul style="list-style-type: none"> Bilinen performans özelliklerine sahip önceden test edilen yapay plazma numuneleri (Illumina tarafından sağlanır) Plazma izolasyonundan cihazı çalıştırmaya ve veri analizine kadar test iş akışının adım adım açıklaması Veri analizi eğitimi
Yerinde yeterlilik testi	Test müşteri tarafından gerçekleştirilir <ul style="list-style-type: none"> Bilinen performans özelliklerine sahip önceden test edilen yapay plazma numuneleri (Illumina tarafından sağlanır)

Özet

VeriSeq NIPT Solution v2 NIPT'nin erişilebilirliği, güvenilirliği ve gücü konusunda devrim yaratmaktadır. Artık laboratuvarlar düşük hata oranlarıyla hızlı, güvenilir, doğru NIPT sonuçları elde etmek için NGS teknolojilerinden yararlanabilir.

Daha fazla bilgi edinin

VeriSeq NIPT Solution v2, www.illumina.com/VeriSeqNIPT

Sipariş bilgileri

Ürün	Katalog no.
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	20028403 20047000
Streck cell-free DNA BCT (CE)	15073345
NextSeq 550Dx Instrument	20005715
NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5, 75 cycles	20028870

Kullanım amacı açıklaması

VeriSeq NIPT Solution v2, gebeliğin en az 10. haftasında olan hamile kadınlardaki maternal periferik tam kan numunelerinden genom geneli fetal genetik anomalilerin saptanması için tarama testi olarak kullanılması amaçlanan bir *in vitro* tanı testidir. VeriSeq NIPT Solution v2, tüm kromozomlar için anöploidi durumunu ve tüm otozomlar için parsiyel duplikasyonları ve delesyonları saptamak üzere tüm genom dizileme işlevini kullanır. Test, cinsiyet kromozomu anöploidisinin (SCA) raporlanmasını talep etme seçeneği sunar. Bu ürün, tanı veya diğer gebelik yönetimi kararları için tek temel olarak kullanılmamalıdır.

illumina[®]

1 800 809 4566 ücretsiz (ABD) | +1 858 202 4566 tel
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2022 Illumina, Inc. Tüm hakları saklıdır. Tüm ticari markalar Illumina, Inc. veya ilgili sahiplerinin malıdır. Özel ticari marka bilgileri için bkz. www.illumina.com/company/legal.html.
M-GL-01319 TUR v1.0

Referanslar

- 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 fetoplacental disease](#). *Sci Transl Med*. 2017;9(405).
- 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. doi: 10.15761/OGR.1000157.
- 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.