

VeriSeq™ NIPT Solution v2

Ensayo integral y accesible
de secuenciación
del genoma completo

- Visión completa de los cromosomas fetales con un amplio catálogo de pruebas validado en un estudio de precisión clínica con más de 2300 muestras.
- Rendimiento¹ fiable de la prueba gracias a la alta precisión, los rápidos resultados y las bajas tasas de error.
- Solución de DIV sencilla y flexible capaz de analizar 24, 48 o 96 muestras por experimento.

illumina®

Introducción

Las pruebas prenatales no invasivas (NIPT, *non-invasive prenatal testing*) que se realizan mediante secuenciación de nueva generación (NGS, *next-generation sequencing*) aportan resultados de cribado fiables de aneuploidías de cromosomas 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 ofrecer una estrategia de secuenciación del genoma completo (WGS, *whole-genome sequencing*) a las NIPT, gracias a la ampliación del catálogo de pruebas para incluir aneuploidías comunes (cromosomas 21, 18 y 13), aneuploidías autosómicas raras (RAA, *rare autosomal aneuploidies*), determinadas aneuploidías de cromosomas sexuales (SCA, *sex chromosome aneuploidies*), y duplicaciones y deleciones parciales ≥ 7 Mb.

Gracias a la combinación de un amplio catálogo de productos, resultados precisos y tasas de error bajas, VeriSeq NIPT Solution v2 ofrece un cribado completo de los cromosomas fetales, lo que permite tomar decisiones informadas y oportunas en relación con el embarazo.¹ VeriSeq NIPT Solution v2, que incluye reactivos, instrumentos y software, así como servicios de instalación y formación, es una solución automatizada y fiable para realizar NIPT hospitalarias (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. En estas pruebas se omiten las duplicaciones y deleciones parciales a partir de 7 Mb que pueden asociarse a anomalías fetales y retraso del desarrollo, y tienen una tasa de resultados positivos de cribado del 0,12 % con las NIPT.⁴ Con estas pruebas también se omiten embarazos con un resultado de cribado positivo para RAA, que puede asociarse a resultados adversos como el aborto, la restricción del crecimiento intrauterino (RCIU), la disomía uniparental (DUP), el parto prematuro espontáneo y anomalías fetales, entre otros.⁵ La tasa combinada de resultados positivos de cribado para RAA es del 0,34 %, 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 bibliotecas	Sin PCR
Proceso químico	Secuenciación "paired-end"
N.º de muestras	24, 48 o 96 por lote
Tiempo hasta obtención de informe	Aprox. 26 horas
N.º de técnicos	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; duplicaciones y deleciones parciales ≥ 7 Mb

Rendimiento fiable de la prueba

Sobre la base 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 determinar su 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. En el estudio se cribaron más de 2300 muestras maternas con resultados conocidos de trisomía del 21, trisomía del 18, trisomía del 13, RAA, duplicaciones y deleciones parciales a partir de 7 Mb y SCA con VeriSeq NIPT Solution v2, y los resultados se compararon con la realidad clínica de referencia. Los resultados demostraron un alto grado de sensibilidad y especificidad para trisomías comunes, RAA, duplicaciones y deleciones parciales a partir 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



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 NGS, incluidos los reactivos para la extracción de ADN, la secuenciación y preparación de bibliotecas; la instrumentación para la secuenciación y preparación de bibliotecas automatizadas con un software gestor del flujo de trabajo; un servidor in situ para un análisis y almacenamiento seguros de los datos, así como el software de análisis de datos con capacidad de generación de informes con resultados cualitativos.

Tabla 2: rendimiento clínico de VeriSeq NIPT Solution v2¹

	Trisomía del 21 ^c	Trisomía del 18	Trisomía del 13	RAA ^d	Duplicaciones y deleciones parciales 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. En la tabla 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 básico 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

Resultado con VeriSeq NIPT Solution v2	Resultado 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 %

Resultados rápidos

VeriSeq NIPT Solution v2 ofrece un flujo de trabajo rápido en tres pasos para las NIPT que genera unos resultados precisos en poco más de un día (tabla 4). Siguiendo el flujo de trabajo sencillo y automatizado, un técnico 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 matrices tienden a tener protocolos de laboratorio más prolongados y que requieren más tiempo de participación activa.

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

Paso	Tiempo de participación activa	Duración total
Preparación de la muestra y la biblioteca	Aprox. 2 horas	Aprox. 8 horas
Secuenciación	Aprox. 15 min	Aprox. 14 horas
Análisis de datos y generación del informe	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.

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 de las pruebas NIPT varían de manera significativa en función de la prueba empleada. Se ha observado que las pruebas que utilizan un enfoque selectivo o un método basado en polimorfismos de nucleótido único presentan mayores tasas de error primario que la NGS.⁸ VeriSeq NIPT Solution v2 utiliza la WGS para proporcionar datos de sobra en todos los cromosomas, sin afectar a la precisión ni aumentar las tasas de error o de falsos positivos. En el estudio de validación clínica, la tasa de error de primer paso fue del 1,2 %.¹ En la práctica en el laboratorio, habrá plasma suficiente de la extracción de sangre inicial para repetir el flujo de trabajo VeriSeq NIPT, si fuera necesario.⁹ Se ha demostrado que, en la repetición, la tasa de error primario se redujo del 2 % al 1,3 % en 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. El laboratorio puede optar por ejecutar un 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 minimiza el tiempo de participación activa del técnico 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 Collect Tube) de Streck recomendado. Los kits de preparación de muestras optimizados para VeriSeq NIPT contienen reactivos y etiquetas para la preparación de bibliotecas de secuenciación a partir de ADN sin células. Los procesos de aislamiento del plasma, extracción de ADN sin células y preparación de bibliotecas sin PCR, incluidas la creación de las placas de cuantificación, la cuantificación de bibliotecas y la agrupación de bibliotecas, 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 ADN sin células de diferentes longitudes; por lo general, los fragmentos más largos son de origen materno, mientras que los más cortos suelen proceder del feto (figura 2).¹⁰ VeriSeq NIPT Solution v2 permite una identificación rápida y eficiente de la longitud de todos los fragmentos de ADN sin células en una única muestra para centrar el análisis en los más cortos con el uso de la secuenciación "paired-end", que se lleva a cabo en el NextSeq™ 550Dx System de Illumina. Este asequible sistema de sobremesa proporciona la potencia de la NGS¹¹ de alto rendimiento (tabla 5).

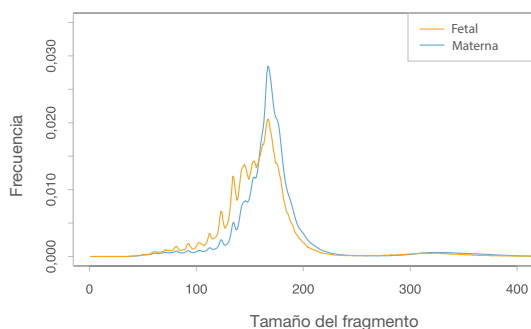


Figura 2: comparación de fragmentos de ADN sin células maternos y del feto. La secuenciación "paired-end" diferencia los fragmentos de ADN sin células en función de su tamaño. Los fragmentos de mayor longitud suelen ser maternos, mientras que los más cortos suelen ser de origen fetal.

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 referencia. Un algoritmo avanzado determina la densidad de lectura por cromosoma (segmento) y ayuda a la detección y diferenciación de aneuploidías y duplicaciones y deleciones parciales. 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 garantizar 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 valor de corte dinámico permite que VeriSeq NIPT Assay Software v2 genere informes sobre muestras con una baja fracción fetal, lo que redundará en menos errores en la prueba.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 detectan duplicaciones o deleciones parciales, en el informe se muestran las coordenadas exactas en el genoma. La información figura en un archivo ".CSV" que se puede integrar con un LIMS existente. Los datos se pueden utilizar para crear un informe clínico personalizado.

Implementación totalmente compatible

Para una integración sin problemas en el laboratorio, VeriSeq NIPT Solution v2 incluye una 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 expertos de Illumina en relación con la extracción de muestras, la preparación de bibliotecas, la secuenciación y el análisis (tabla 6). Tras la puesta en marcha de los laboratorios, el equipo de asistencia técnica de Illumina ofrece soporte continuado.

Tabla 6: formación sobre VeriSeq NIPT Solution v2

Tema	Detalles
Introducción a VeriSeq NIPT Solution v2	Descripción general del seminario sobre el flujo de trabajo y el análisis <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	Formación <i>in situ</i> <ul style="list-style-type: none"> • Es necesaria la instalación del instrumento
Inspección del centro	Confirmación <i>in situ</i> <ul style="list-style-type: none"> • Instalación del equipo auxiliar • Reactivos necesarios • Conectividad de los componentes del sistema
Formación <i>in situ</i>	Ensayo realizado por científico de Illumina <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 <i>in situ</i>	Ensayo realizado por el cliente <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.

Información adicional

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

Datos para realizar pedidos

Producto	N.º de referencia
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 ciclos	20028870

Declaración de uso previsto

VeriSeq NIPT Solution v2 es una prueba diagnóstica *in vitro* concebida para su uso en pruebas de cribado para la detección de anomalías genéticas 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 secuenciación del genoma completo para detectar duplicaciones y deleciones parciales de todos los autosomas, así como aneuploidías de todos los cromosomas. La prueba ofrece la opción de solicitar un informe sobre aneuploidía del cromosoma sexual (SCA). Este producto no debe utilizarse como la única base diagnóstica o para la toma de decisiones en relación con el embarazo.

Referencias

- 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.

illumina®

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

© 2021 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, visite www.illumina.com/company/legal.html.
M-APJ-00036 ESP v2.0