

Les résultats sur l'état du chromosome sexuel fœtal sont automatiquement générés et ils peuvent être facultativement déclarés. Lorsqu'aucune aneuploïdie des chromosomes sexuels n'est détectée, le rapport indique NO ANEUPLOIDY DETECTED (Aucune aneuploïdie détectée) avec la classification du sexe : XX (échantillon d'un fœtus de sexe féminin) ou XY (échantillon d'un fœtus de sexe masculin). Les aneuploïdies des chromosomes sexuels sont déclarées au moyen du code ANEUPLOIDY DETECTED (Aneuploïdie détectée) avec le type particulier d'aneuploïdie détecté : XXX, XXY, XYY ou XO (monosomie X). Dans de rares cas, les valeurs des chromosomes sexuels tombent à l'extérieur de la fourchette de déclaration, et le système génère le résultat SEX CHROMOSOMES NOT REPORTABLE (Impossible de déclarer les chromosomes sexuels). Les résultats d'aneuploïdie autosomique peuvent quand même être déclarés pour ces échantillons.

Le logiciel de test DPNI VeriSeq emploie des statistiques obtenues pendant le séquençage pour fournir une estimation de la fraction fœtale (EFF) pour chacun des échantillons. L'EFF est une estimation de la composante fœtale d'ADN acellulaire, laquelle est récupérée par le test et déclarée comme un pourcentage arrondi pour chacun des échantillons. L'écart-type moyen de cette estimation pour tous les échantillons est de 1,3 %. L'EFF ne doit pas être utilisée seule pour exclure des échantillons au moment de déclarer les résultats.

Pour produire des définitions de représentation chromosomique, le logiciel de test DPNI VeriSeq utilise un test de fiabilité individuel d'aneuploïdie fœtale (iFACT), un indicateur de seuil dynamique qui indique si le système a généré une couverture de séquençage suffisante, d'après la fraction fœtale estimée pour chaque échantillon. Le système produit des définitions de représentation chromosomique seulement si l'échantillon atteint le seuil iFACT. Si un échantillon n'atteint pas ce seuil, l'évaluation de CQ affiche FAILED iFACT (ÉCHEC DE l'iFACT) et le système ne génère aucun résultat. Tous les échantillons sont soumis à l'évaluation iFACT.

Outre l'iFACT, le logiciel de test DPNI VeriSeq évalue plusieurs autres indicateurs de CQ au cours de l'analyse. Les indicateurs supplémentaires comprennent les évaluations de l'uniformité de la couverture des régions génomiques de référence (DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE [données à l'extérieur de la fourchette attendue]) et la répartition des longueurs de fragments d'ADN acellulaire (FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE [répartition de la taille du fragment à l'extérieur de la fourchette attendue]). L'évaluation de CQ affiche soit un avertissement du CQ, soit un échec du CQ pour tout indicateur situé hors de la plage acceptable. En cas d'échec du CQ, le système ne génère pas de résultat pour l'échantillon. Si un échantillon échoue le CQ, il est possible de traiter une deuxième partie aliquote de plasma pourvu que le volume de plasma du tube de prélèvement de sang soit suffisant.

Caractéristiques de performance

Les données suivantes décrites dans les sections sur la performance clinique et la performance analytique ont été générées au moyen des protocoles et des matières décrits dans le *Mode d'emploi* qui commence par le plasma. Toutes les données de séquençage pour cette section ont été générées à partir d'un système de séquençage NextSeq 500/550 d'Illumina avec les configurations suivantes :

- Logiciel de commande NextSeq v2.1.0.31
- Trousse de réactifs de séquençage NexSeq 500/550 High Output Kit v2 (75 cycles)
- Analyse de séquençage à lecture appariée de 2 x 36 en mode de rendement élevé

Étude clinique

L'exactitude clinique de la solution DPNI VeriSeq, relativement aux résultats que l'évaluation standard de la référence clinique a déterminés, a été prouvée en évaluant les échantillons de plasma de femmes enceintes d'un seul fœtus qui subissaient un dépistage prénatal pour les aneuploïdies chromosomiques fœtales. Les échantillons proviennent d'une banque d'échantillons de plasma anonymisés qui ont été traités auparavant à partir d'échantillons de sang entier périphérique.

Au total, 3 107 échantillons ont été testés. De ces échantillons, 21 (0,68 %, 21/3107) ont échoué le CQ du test au premier essai pendant l'analyse des données de séquençage terminé :

- ▶ 11 ont échoué l'iFACT.
- ▶ Huit affichaient des données à l'extérieur de la fourchette prévue.
- ▶ Deux avaient une répartition de la taille des fragments à l'extérieur de la fourchette prévue.

Données démographiques et caractéristiques des grossesses

L'âge maternel, l'origine ethnique, l'âge gestationnel et le trimestre de la grossesse sont résumés dans le **Tableau 7**.

Tableau 7 Données démographiques et caractéristiques des grossesses

	(N = 3086)
Âge maternel – années	
Moyenne	36,8
Écart-type	3,6
Médiane	36,7
25 ^e percentile, 75 ^e percentile	35,3, 38,8
Minimum, maximum	18,2, 51,6
Origine ethnique – n (%)^a	
Blanc ou Caucasien	981 (32 %)
Noir ou Afro-américain	231 (7 %)
Hispanique ou Latino	1 079 (35 %)
Asiatique	706 (23 %)
Amérindiens	4 (0,1 %)
Origines mixtes	58 (2 %)
Origine inconnue ^b	27 (1 %)
Âge gestationnel à la prise de sang - semaines	
Moyenne	12,2
Écart-type	2,8
Médiane	11
25 ^e percentile, 75 ^e percentile	10, 13
Minimum, maximum	10, 25
Trimestre de la grossesse - n (%)	
Premier (< 14 semaines)	2 520 (82 %)
Deuxième	566 (18 %)
Troisième (≥ 27 semaines)	0 (0 %)

^a Cet essai a été réalisé aux États-Unis.

^b Déclarée comme « inconnue ».

Performance clinique dans les cas de grossesses simples

Tous les échantillons de l'étude affichaient des résultats de l'évaluation standard de la référence clinique (« vérité » clinique) associés à l'aneuploïdie et ils étaient fondés sur l'évaluation du test cytogénétique par le médecin ou le conseiller en génétique ou sur les résultats de l'examen physique du nouveau-né. Les échantillons étaient admissibles au test si les résultats cliniques affichaient une aneuploïdie fœtale des chromosomes 21, 18, 13 ou des résultats sur le sexe du fœtus, y compris l'aneuploïdie fœtale des chromosomes sexuels (ACS) (monosomie X, XXX, XXY ou XYY). Dans la série d'échantillons, 3 057 échantillons affichaient des données de référence clinique d'aneuploïdies autosomiques et 3 082 échantillons affichaient des données de référence clinique d'ACS. Les résultats du test de la solution DPNI VeriSeq ont été comparés aux résultats de l'évaluation standard de la référence clinique.

Tableaux en croix des résultats de la solution DPNI VeriSeq comparés aux résultats standards de la référence clinique pour la trisomie 21, la trisomie 18 et la trisomie 13

Des tableaux en croix des résultats de la solution DPNI VeriSeq (lignes) et des résultats standards de la référence clinique (colonnes) sont fournis dans une série de tableaux 2 x 2. Aucun cas de définition croisée n'a été relevé dans les aneuploïdies autosomiques (p. ex., la solution DPNI VeriSeq n'a pas détecté de trisomie 18 dans un échantillon déjà touché par la trisomie 21).

Tableau 8 Tableau en croix des résultats pour la trisomie 21

Résultats de la solution DPNI VeriSeq	Référence clinique Résultats standards ^a		
	Touché par la trisomie 21	Non touché par la trisomie 21	Total
Aneuploïdie détectée pour le chromosome 21	90	1	91
Aucune aneuploïdie détectée pour le chromosome 21	1	2965	2966
Total	91	2966	3057

^a L'évaluation standard de la référence clinique a été réalisée au moyen de tests cytogénétiques ou d'un examen physique du nouveau-né.

Tableau 9 Tableau en croix des résultats pour la trisomie 18

Résultats de la solution DPNI VeriSeq	Référence clinique Résultats standards ^a		
	Touché par la trisomie 18	Non touché par la trisomie 18	Total
Aneuploïdie détectée pour le chromosome 18	18	3	21
Aucune aneuploïdie détectée pour le chromosome 18	2	3034	3036
Total	20	3037	3057

^a L'évaluation standard de la référence clinique a été réalisée au moyen de tests cytogénétiques ou d'un examen physique du nouveau-né.

Tableau 10 Tableau en croix des résultats pour la trisomie 13

Résultats de la solution DPNI VeriSeq	Référence clinique Résultats standards ^a		
	Touché par la trisomie 13	Non touché par la trisomie 13	Total
Aneuploïdie détectée pour le chromosome 13	8	4	12
Aucune aneuploïdie détectée pour le chromosome 13	0	3045	3045
Total	8	3049	3057

^a L'évaluation standard de la référence clinique a été réalisée au moyen de tests cytogénétiques ou d'un examen physique du nouveau-né.

Sensibilité et spécificité de la solution DPNI VeriSeq pour détecter les trisomies 21, 18 et 13

Tableau 11 Sensibilité et spécificité de la solution DPNI VeriSeq pour détecter les trisomies 21, 18 et 13

	Trisomie 21	Trisomie 18	Trisomie 13
Sensibilité	98,9 % (90/91)	90,0 % (18/20)	100,0 % (8/8)
IC bilatéral à 95 % ^a	(94,0 %, 99,8 %)	(69,9 %, 97,2 %)	(67,6 %, 100,0 %)
Spécificité	>99,9 % (2965/2966)	99,9 % (3034/3037)	99,9 % (3045/3049)
IC bilatéral à 95 % ^a	(99,8 %, 100,0 %)	(99,7 %, 100,0 %)	(99,7 %, 99,9 %)

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

Sensibilité et spécificité de la solution DPNI VeriSeq pour des échantillons dont l'estimation de la fraction fœtale est $\leq 4\%$ et $> 4\%$.

Les échantillons dans les analyses de performance affichaient des estimations de la fraction fœtale de $< 1\%$ à 30% . La détection d'aneuploïdies fœtales à partir de l'ADN acellulaire maternel dépend en partie de la fraction fœtale de chacun des échantillons. Par conséquent, la performance du test peut être diminuée en cas de basses fractions fœtales. Certaines méthodologies de DPNI respectent une limite bien définie de la fraction fœtale^{9,10,11,12}, où 4% est perçu comme la limite inférieure de détection^{9,10,11}. Les tableaux suivants indiquent la performance de la solution DPNI VeriSeq à une estimation de la fraction fœtale égale ou inférieure à 4% et supérieure à 4% . Les résultats de l'étude clinique révèlent que la solution DPNI VeriSeq est capable de détecter une aneuploïdie fœtale avec une fraction fœtale de 4% ou moins.

Tableau 12 Sensibilité et spécificité des échantillons dont l'estimation de la fraction fœtale est $\leq 4\%$

	Trisomie 21	Trisomie 18	Trisomie 13
Sensibilité	90,9 % (10/11)	80,0 % (4/5)	s. o. (0/0)
IC bilatéral à 95 %*	(62,3 %, 98,4 %)	(37,6 %, 96,4 %)	s. o.
Spécificité	99,7 % (329/330)	100,0 % (336/336)	99,7 % (340/341)
IC bilatéral à 95 %*	(98,3 %, 99,9 %)	(98,9 %, 100 %)	(98,4 %, 99,9 %)

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

Tableau 13 Sensibilité et spécificité des échantillons dont l'estimation de la fraction fœtale est $> 4\%$

	Trisomie 21	Trisomie 18	Trisomie 13
Sensibilité	100,0 % (80/80)	93,3 % (14/15)	100 % (8/8)
IC bilatéral à 95 %*	(95,4 %, 100,0 %)	(70,2 %, 98,8 %)	(67,6 %, 100,0 %)
Spécificité	100,0 % (2636/2636)	99,9 % (2698/2701)	99,9 % (2705/2708)
IC bilatéral à 95 %*	(99,9 %, 100,0 %)	(99,7 %, 100 %)	(99,7 %, 100 %)

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

Détection des aneuploïdies des chromosomes sexuels

Les résultats des chromosomes sexuels de la solution DPNI VeriSeq ont été comparés à ceux de l'évaluation standard de la référence clinique et ils sont résumés dans le tableau ci-dessous. Le pourcentage de concordance a été calculé pour chacun des chromosomes sexuels de chacun des résultats de l'évaluation standard de la référence clinique [classification]. Le pourcentage de concordance a été calculé comme suit :

nombre d'échantillons pour lesquels la définition du chromosome sexuel de la solution DPNI VeriSeq correspond à la classification de l'évaluation standard de la référence clinique, divisé par le nombre total d'échantillons ayant la même classification de l'évaluation standard de la référence clinique.

Tableau 14 Pourcentage de concordance pour la classification du sexe du fœtus

Résultats de la solution DPNI VeriSeq pour la classification du sexe du fœtus	Résultats de l'évaluation standard de la référence clinique								
	Résultats de l'examen physique du nouveau-né [Aucun résultat cytogénétique]		Résultats cytogénétiques						
	Féminin	Masculin	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYY	Autre ^a
Pourcentage de concordance	99,9 % (1371/1373)	99,9 % (1420/1422)	97,4 % (147/151)	100,0 % (118/118)	100,0 % (6/6)	80,0 % (4/5)	100,0 % (5/5)	100,0 % (1/1)	Sans objet

^a Un échantillon affichait le résultat 49, XXXXY, et la solution DPNI VeriSeq l'avait classé dans « Sex chromosome not reportable » (Impossible de déclarer les chromosomes sexuels)

Valeur prédictive positive et valeur prédictive négative de la solution DPNI VeriSeq pour détecter les trisomies 21, 18 et 13 pour une gamme de prévalences

La valeur prédictive positive (VPP) et la valeur prédictive négative (VPN) du test fournissent des renseignements sur la capacité du test à étayer les décisions cliniques d'après la sensibilité du test, la spécificité du test et la probabilité avant le test que le fœtus était atteint de trisomie (prévalence). Puisque la VPP et la VPN dépendent de la prévalence et que la prévalence de ces aneuploïdies peut varier au sein de différentes populations de sujets, la VPP et la VPN ont été calculées d'après la sensibilité et la spécificité observées déterminées dans l'étude d'exactitude clinique pour les trisomies 21, 18 et 13. Le tableau ci-dessous résume la VPP et la VPN pour une gamme de valeurs de prévalence possibles.

Tableau 15 Valeur prédictive positive et valeur prédictive négative de la solution DPNI VeriSeq pour détecter les trisomies 21, 18 et 13 pour une gamme de prévalences

Aneuploïdie	Prévalence	VPP	VPN
Trisomie 21	0,05 %	59,48 %	100,00 %
	0,10 %	74,60 %	100,00 %
	0,20 %	85,47 %	100,00 %
	0,50 %	93,65 %	99,99 %
	1,00 %	96,74 %	99,99 %
	1,50 %	97,81 %	99,98 %
	2,00 %	98,36 %	99,98 %
Trisomie 18	0,03 %	21,48 %	100,00 %
	0,05 %	31,32 %	99,99 %
	0,10 %	47,71 %	99,99 %
	0,20 %	64,62 %	99,98 %
	0,30 %	73,28 %	99,97 %
	0,40 %	78,54 %	99,96 %
	0,50 %	82,08 %	99,95 %

Aneuploïdie	Prévalence	VPP	VPN
Trisomie 13	0,01 %	7,09 %	100,00 %
	0,02 %	13,23 %	100,00 %
	0,05 %	27,61 %	100,00 %
	0,10 %	43,29 %	100,00 %
	0,20 %	60,44 %	100,00 %

VPN = valeur prédictive négative, VPP = valeur prédictive positive

Performance dans les cas de grossesses gémellaires

Performance clinique

En raison de la faible prévalence, seul un petit nombre d'échantillons de type gémellaire étaient disponibles pour l'étude clinique. Quatre échantillons de type gémellaire avec trisomie 21 ont été testés et ils ont tous correctement rapporté la présence de trisomie 21 et l'absence de toute autre anomalie. Toutefois, étant donné le trop faible nombre d'échantillons de type gémellaire, les niveaux de confiance pour la sensibilité et la spécificité seraient trop étendus pour être utiles. Ces échantillons n'ont donc pas été inclus dans les calculs de performance globale présentés au [Tableau 11](#).

Estimation de la performance pour les trisomies 21, 18, et 13

Afin d'évaluer avec une plus grande précision la performance de la solution DPNI VeriSeq dans les cas des grossesses gémellaires, des modèles *in silico* fondés sur des observations tirées d'échantillons cliniques ont été utilisés pour simuler des populations de grossesses gémellaires représentatives de la population visée. La distribution de la fraction fœtale a été déterminée à partir d'environ 4 500 échantillons de type gémellaire et comparée à la distribution déterminée à partir d'environ 120 000 échantillons de type simple. La distribution de la fraction fœtale conditionnelle à l'état d'aneuploïdie a été déterminée à partir de définitions putatives de type simple (1 004 trisomies 21, 312 trisomies 18 et 197 trisomies 13). La combinaison des deux distributions permet les inférences liées à la détection d'aneuploïdie dans les échantillons de type gémellaire. Des groupes de jumeaux dizygotes et monozygotes ont été simulés et une moyenne pondérée représentant leur prévalence au sein de la population visée a été calculée (deux groupes de jumeaux dizygotes pour un groupe de jumeaux monozygotes) pour obtenir une estimation de la sensibilité. Pour obtenir une estimation de la spécificité, des groupes de jumeaux non atteints ont été simulés.

La fraction de chaque échantillon de type simple atteint de trisomie (« fraction atteinte ») a été calculée de manière différente pour chaque catégorie d'échantillon :

- Pour les jumeaux monozygotes, la fraction atteinte de chaque échantillon a été établie à 1,0, car, dans ce cas, la trisomie touche les deux jumeaux.
- Pour les jumeaux dizygotes, il a été présumé que seulement un jumeau a été touché (il est extrêmement rare que les deux jumeaux dizygotes soient atteints). Les valeurs de la fraction atteinte ont été simulées au moyen de la distribution connue des ratios de la fraction fœtale déterminée à partir des échantillons cliniques de type gémellaire dont le sexe ne concorde pas. Une approche conservatrice a été adoptée selon laquelle il est présumé que le jumeau atteint présente toujours la fraction fœtale la plus basse parmi les deux jumeaux. Un facteur de correction a été appliqué aux fractions fœtales dont la moyenne est plus basse pour les grossesses avec trisomie 13 et 18.
- Pour les jumeaux non atteints, la fraction atteinte de chaque échantillon a été établie à zéro.

Pour les jumeaux atteints de trisomie 18 ou de trisomie 13, la fraction fœtale correspondant à la fraction atteinte de l'échantillon a été réduite proportionnellement à la réduction moyenne de la fraction fœtale observée dans les données cliniques sur les trisomies 18 et 13 comparativement aux euploïdies, dans les cas de grossesses simples.

La fraction fœtale globale et la fraction atteinte de chaque échantillon simulé ont ensuite été utilisées pour calculer un score d'aneuploïdie au moyen de l'algorithme normalisé de la solution DPNI VeriSeq. La sensibilité a été calculée en considérant la fréquence à laquelle les scores d'aneuploïdies des jumeaux simulés atteints étaient supérieurs à la limite correspondante pour l'aneuploïdie. Parallèlement, la spécificité a été calculée en considérant la fréquence à laquelle les scores d'aneuploïdies des jumeaux simulés non atteints étaient inférieurs à la limite correspondant pour l'aneuploïdie (Tableau 16). Les intervalles de confiance à 95 % ont été estimés en fonction du nombre d'échantillons cliniques réels de type gémellaire parmi l'ensemble des données initiales, lesquels ont été classés selon qu'ils sont atteints ou non par la trisomie en cause.

Tableau 16 Estimations pour les trisomies 21, 18, et 13 au sein de la population simulée des grossesses gémellaires

	Trisomie 21	Trisomie 18	Trisomie 13
Sensibilité	97,1 %	95,8 %	95,1 %
IC bilatéral à 95 %*	(87,9 %, 99,2 %)	(66,7 %, 99,5 %)	(67,7 %, 99,3 %)
Spécificité	99,9 %	> 99,9 %	> 99,9 %
IC bilatéral à 95 %	(99,7 %, 99,9 %)	(99,9 %, > 99,9 %)	(99,9 %, 99,9 %)

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

Au Tableau 16, les estimations ponctuelles et les intervalles de confiance à 95 % estimés relativement à la sensibilité et à la spécificité de la solution DPNI VeriSeq lors la détection des trisomies 21, 18 et 13 ont été déterminés à partir d'une population simulée de grossesses gémellaires représentative de la population visée. Les intervalles de confiance ont été estimés en fonction du nombre d'échantillons de type gémellaire ayant réussi le contrôle de qualité, classés selon qu'ils sont atteints ou non par la trisomie en cause. Le calcul de la sensibilité présume que les deux tiers des grossesses gémellaires atteintes sont dizygotes et que l'un des jumeaux est atteint, tandis que le tiers des grossesses gémellaires atteintes sont monozygotes et que les deux jumeaux sont atteints.

Les estimations présentées au Tableau 16 portent uniquement sur des grossesses gémellaires. En raison de la faible prévalence, les données concernant les grossesses multiples d'ordre élevé (triplets ou plus) sont insuffisantes pour établir des modèles statistiques appropriés en fonction desquels la détection de cas d'aneuploïdie pourrait être estimée avec précision.

Performance analytique

Précision

Pour évaluer la précision de la solution DPNI VeriSeq, deux études ont été menées :

- ▶ Dans une étude interne multisite de reproductibilité, un seul lot de réactifs a été soumis à neuf analyses réalisées par trois opérateurs dans trois sites.
- ▶ Une étude de précision en laboratoire se composait de 12 analyses réalisées au moyen de trois lots de réactifs dans un seul site, mais par deux opérateurs et sur deux instruments.

Un groupement de trisomie 21 avec une fraction fœtale est de 5 % a été créé en combinant l'ADN acellulaire extrait du plasma maternel de femmes enceintes (dont le fœtus est atteint de la trisomie 21) et l'ADN acellulaire extrait du plasma de femmes non enceintes. Les ADN acellulaires regroupés extraits du plasma maternel de femmes enceintes dont les fœtus de sexe masculin (XY) et de sexe féminin (XX) ne sont pas touchés par la trisomie ont aussi été testés. Les tests des 2 études ont été réalisés sur une période de 10 jours et comptent en tout 21 analyses.

Les 903 échantillons analysés dans les deux études affichaient une correspondance parfaite : 84/84 pour la trisomie 21, 399/399 pour la classification sexuelle XX et 420/420 pour la classification sexuelle XY. La répartition des échantillons par site se déclinait comme suit : site 1 - T21 (12), XX (57), XY (60); site 2 - T21 (12), XX (57), XY (60); site 3 - T21 (60), XX (285), XY(300).

Tableau 17 Reproductibilité et précision en laboratoire (données combinées)

Résultat voulu	Nombre total	Résultat observé				
		T21	T18	T13	XX	XY
T21 (XY)	84	84	0	0	0	84
XX	399	0	0	0	399	0
XY	420	0	0	0	0	420

Contamination croisée

Le gestionnaire de flux de travail de la préparation d'échantillons de la solution DPNI VeriSeq a évalué la contamination croisée. Les groupements de plasma des femmes non enceintes (XX) et ceux des hommes adultes (XY) ont été testés selon un modèle d'échiquier dans quatre plaques de 96 puits (N = 48 échantillons par plaque pour chacun des sexes, pour un total de 192 échantillons du sexe féminin et 192 du sexe masculin). Aucun des échantillons du sexe féminin n'affiche une couverture du chromosome Y statistiquement supérieure au contexte estimé, ce qui indique que les échantillons du sexe masculin sur la même plaque n'ont pas contaminé les échantillons du sexe féminin. Aucune contamination croisée détectable n'a été observée dans la solution DPNI VeriSeq.

Substances potentiellement interférentes

Pour évaluer l'incidence de substances interférentes sur la solution DPNI VeriSeq, les performances du test ont été évaluées en présence d'éventuelles substances interférentes.

De l'albumine, de la bilirubine, de l'hémoglobine et des triglycérides (endogènes) ont été injectés dans les groupements de plasma maternel de femmes enceintes d'un fœtus de sexe féminin (XX) non affecté et testés à deux concentrations pour chacune des substances (N = 16 pour chacune d'elles). Aucune interférence n'a été observée dans les performances du test.

Tableau 18 Substances potentiellement interférentes (endogènes)

Substance de test	Test à concentration faible (mg/ml)	Test à concentration élevée (mg/ml)
Albumine	35	50
Bilirubine	0,01	0,15
Hémoglobine	100	200
Triglycéride	1,5	5

L'ADN génomique (ADNg) maternel que l'on trouve naturellement dans le plasma peut aussi potentiellement interférer dans les performances du test et il peut être extrait en même temps que l'ADN acellulaire fœtal. Les quantités d'ADN génomique de 1,6, 3,3 et 4,9 ng par échantillon (ce qui correspond à 1, 2 et 3 écarts-types au-dessus de la moyenne attendue de la concentration d'ADNg après 7 jours d'entreposage du sang entier¹³) ont été ajoutées à l'ADN acellulaire extrait du plasma maternel de femmes enceintes d'un fœtus de sexe féminin (XX) non affecté. Par la suite, les échantillons ont été testés dans la solution DPNI VeriSeq (N = 16 pour chaque concentration). Aucune interférence n'a été observée dans les performances du test en présence des quantités élevées d'ADNg.

Vingt substances potentiellement interférentes (exogènes) à base de médicaments fréquemment utilisés ou prescrits pendant la grossesse ont été testées conformément aux lignes directrices EP7-A2 (Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline-Second Edition). Les 20 substances potentiellement interférentes ont été combinées dans 4 groupements, injectées dans le plasma maternel de femmes enceintes d'un fœtus de sexe féminin (XX) non affecté et testées dans la solution DPNI VeriSeq (N = 16 pour chaque groupement). Aucune interférence n'a été observée dans les performances du test en présence de ces substances exogènes.

Tableau 19 Substances potentiellement interférentes (exogènes)

Groupement 1	Groupement 2	Groupement 3	Groupement 4
Acétaminophène	Diphenhydramine	Albutérol	Cétirizine
Acétylcystéine	Érythromycine	Bupropion	Dextrométhorphan
Bisoprolol	Guaifénésine	Caféine	Acide ascorbique
Citalopram	Héparine	Sertraline	Métoprolol
Desloratadine	Lidocaïne	Fluorure de sodium	Nadolol

Dépannage

Dépannage de la solution DPNI VeriSeq

Type d'échec	Résultat possible	Interprétation	Action recommandée	Commentaires
Plasma introduit insuffisant	Échec du CQ de l'échantillon	Volume de plasma insuffisant.	Reprise d'un nouvel échantillon.	Selon l'inspection visuelle du volume de plasma.
Échec lié à l'échantillon de sang	Aucune séparation du sang en couches	Échantillon non centrifugé.	Vérifiez que la centrifugeuse a fonctionné et que l'éprouvette a été soumise à la bonne force de centrifugation. Reprise d'un nouvel échantillon.	
		Mauvais transport ou stockage de l'échantillon (lyse de l'échantillon).	Reprise d'un nouvel échantillon.	Les échantillons congelés ne se séparent pas.
Échantillon obstrué ou écoulement lent	Contamination du plasma	Les échantillons individuels peuvent obstruer la plaque de fixation si l'échantillon de plasma est considérablement contaminé.	Inspectez l'échantillon, si le plasma restant dans l'éprouvette est rouge ou laiteux, annulez l'échantillon et demandez une reprise. Si l'échantillon semble normal, testez de nouveau l'échantillon.	
	Défaillance de l'équipement	Digestion inadéquate de la matière pendant l'extraction.	Testez de nouveau l'échantillon. Si le problème persiste dans l'emplacement du puits avec d'autres échantillons, veuillez communiquer avec l'assistance technique d'Illumina.	

Type d'échec	Résultat possible	Interprétation	Action recommandée	Commentaires
Échec du CQ de l'analyse d'échantillons individuels	Échec du CQ du séquençage	Matériel génétique insuffisant OU mauvais transfert pendant la manipulation de l'échantillon.	Vérifiez l'annotation de l'échantillon. Vérifiez si les échantillons précédents ont donné des résultats semblables dans la position relative de la plaque. Testez de nouveau l'échantillon.	Indique soit l'introduction d'un mauvais échantillon, soit un mauvais transfert vers le système ML STAR. La quantité insuffisante de matière génétique peut être attribuable à une quantité insuffisante d'ADN acellulaire dans le plasma ou l'ADN cellulaire cause une surdilution de l'échantillon pour le séquençage.
	Faible FF ou faible nombre de NES	Données insuffisantes pour produire un rapport exact.	Testez de nouveau à partir du plasma.	
Échec du CQ de la quantification	Échec de l'analyse de quantification; médiane du lot sous le minimum	Résultats insuffisants du traitement.	Répétez la quantification. Si la reprise produit elle aussi un échec, veuillez communiquer avec l'assistance technique d'Illumina.	Le dépassement des indicateurs d'une courbe de standards indique un problème avec la préparation de la librairie.
	Échec de l'analyse de quantification	Échec associé à la courbe standard en raison d'une mauvaise quantification.	Répétez la quantification. Si la reprise produit elle aussi un échec, veuillez communiquer avec l'assistance technique d'Illumina.	
Échec du regroupement	Échec du regroupement de l'échantillon	L'analyse du regroupement n'est pas en mesure de calculer les bons volumes du groupement.	Évaluez de nouveau la concentration cible du groupement et lancez de nouveau l'analyse du regroupement.	

Dépannage du système Microlab STAR DPNI VeriSeq

Étape du processus	Code d'erreur	Texte de l'erreur	Description	Solution de l'utilisateur
Batch Creation (Création du lot)	EM0044	Le n° d'identification du lot contient des caractères interdits.	Les champs de données de la solution DPNI VeriSeq n'acceptent que les chiffres, les lettres, les traits de soulignement et les tirets.	Renommez le lot en optant pour un nom qui ne contient aucun caractère textuel spécial.
Batch Creation (Création du lot)	EM0051	Le n° d'identification du lot compte plus de 26 caractères.	La solution DPNI VeriSeq limite la longueur du nom du lot à 26 caractères ou moins.	Renommez le lot en optant pour un nom qui compte moins de 26 caractères.

Étape du processus	Code d'erreur	Texte de l'erreur	Description	Solution de l'utilisateur
Batch Creation (Création du lot)	EM0076	Incapable d'établir une connexion avec le serveur sur site VeriSeq.	Le serveur sur site VeriSeq ne répond pas aux demandes de données du gestionnaire de flux de travail.	Vérifiez les points suivants : 1. Le système ML STAR est connecté au réseau. 2. Le serveur sur site VeriSeq fonctionne. 3. Le système ML STAR peut se connecter au serveur sur site VeriSeq (au moyen d'une commande Ping). 4. Si les étapes ci-dessus ne règlent pas le problème, veuillez envoyer un courriel à l'assistance technique d'Illumina.
Batch Creation (Création du lot)	EM0118	Le lot a subi un échec et il ne peut plus être traité.	Le lot précisé a déjà subi un échec et il ne peut plus subir aucun traitement.	Le dossier du lot sur le serveur sur site VeriSeq indique que le lot choisi a subi un échec. Aucun autre traitement n'est permis. Créez un autre lot avec les échantillons voulus.
Batch Creation (Création du lot)	s. o.	Ce lot a déjà terminé le traitement. Aimeriez-vous le regrouper de nouveau?	Le lot indiqué a été traité par le regroupement. Le seul traitement possible est de le regrouper de nouveau.	Pour effectuer un nouveau regroupement, cliquez sur Re-Pool (Regrouper de nouveau). OU Interrompez la méthode et vérifiez le nom du lot (Batch Name).
Isolation de plasma	WP0087	Doublons des codes à barres des échantillons chargés.	Des échantillons aux codes à barres identiques ont été chargés dans le système.	1. Suivez les commandes du gestionnaire de flux de travail pour trouver les échantillons en double. 2. Retirez ces échantillons et remplacez-les ou changez leurs étiquettes. 3. Rechargez les échantillons.
Isolation de plasma	EP0102	Les échantillons indiqués dans la feuille d'échantillons n'ont pas été chargés.	Les échantillons de la feuille d'échantillons ne font pas partie des codes à barres chargés.	1. Suivez les commandes du gestionnaire de flux de travail pour trouver les échantillons manquants. 2. Ajoutez les échantillons manquants au lot et rechargez les échantillons. OU Interrompez la méthode, modifiez la feuille d'échantillons au besoin et relancez la méthode.
Chargement de la plaque	s. o.	Erreur du masque de code à barres Venus.	Le gestionnaire de flux de travail assure l'utilisation de la bonne plaque et du bon lot au moyen de masques de codes à barres Venus.	1. Vérifiez le chargement de la plaque pour confirmer qu'elle est bien placée. 2. Vérifiez que la plaque chargée est bien la bonne pour le lot indiqué.

Étape du processus	Code d'erreur	Texte de l'erreur	Description	Solution de l'utilisateur
Extraction d'ADN acellulaire	WE0150	La pression dans la chambre à vide est trop faible.	Le gestionnaire de flux de travail ne poursuivra pas son travail si la sonde indique que la pression de la canalisation à vide est inférieure à 400 torr.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Vérifiez si la canalisation à vide est pliée ou obstruée. 2. Desserrez les pinces de la tubulure d'évacuation, laissez la pression s'échapper et resserrez complètement les pinces de la tubulure. 3. Vérifiez si le dispositif de commande de vide et la pompe sont mis en marche. 4. Si le problème persiste, veuillez communiquer avec l'assistance technique d'Illumina.
	WE0153	La pression dans la chambre à vide est trop élevée.	Si la pression du vide mesurée est trop élevée avant de commencer le contrôle de la pression, le système pourrait mal fonctionner.	À l'arrière du dispositif de commande, vérifiez si toute la tubulure et tous les raccords pour vide sont bien branchés.
	WE0996	Le vide n'est pas maintenu.	Le système ne parvient pas à créer un joint de décompression sur la plaque de fixation.	<p>REMARQUE : Ne choisissez pas OK tant que le problème de vide n'est pas complètement résolu.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Vérifiez si la plaque de fixation est bien collée contre le collecteur pour le vide. D'une main gantée, appuyez avec force sur la plaque de fixation. 2. Cliquez sur OK pour poursuivre l'extraction d'ADN acellulaire. 3. Si ce message d'erreur s'affiche plus de trois fois au cours d'une analyse, envoyez un courriel à l'assistance technique d'Illumina.
	WM0219	Si le vide est activé, interrompez manuellement la pompe.	Le vide peut demeurer activé après l'interruption de la méthode pendant l'extraction.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Sur le dispositif de commande du vide, appuyez sur le bouton de mise en marche pour désactiver le vide. 2. Attendez 10 secondes et appuyez de nouveau sur le bouton de mise en marche pour activer le vide.
	EE0477	Une erreur s'est produite pendant le mouvement d'une plaque (iSWAP error) (erreur iSWAP).	Si une erreur iSWAP se produit (abaissement de la plaque, échec du ramassage, etc.), le système indiquera à l'utilisateur de terminer le mouvement de la plaque à la main.	<p>Assurez-vous qu'il est possible de récupérer la plaque (sans renverser de matière).</p> <ul style="list-style-type: none"> - Si ce n'est pas le cas, interrompez l'analyse. - Si c'est le cas, suivez les instructions à l'écran pour terminer le transfert de la plaque à la main.
	EE0519	Le code à barres balayé ne correspond pas au code à barres de la plaque de fixation inscrit au dossier.	Le code à barres de la plaque de fixation chargée ne correspond pas à celui de la plaque retirée.	Assurez-vous que le code à barres de la plaque à charger correspond à celui inscrit au dossier (voir le registre des traces pour connaître le bon code à barres).

Étape du processus	Code d'erreur	Texte de l'erreur	Description	Solution de l'utilisateur
API (Interface de programmation d'applications)	EA0372	Incapable d'établir une connexion avec le serveur de données.	Le serveur sur site VeriSeq ne répond pas aux demandes de données du gestionnaire de flux de travail.	Vérifiez les points suivants : 1. Le système ML STAR est connecté au réseau. 2. Le système ML STAR peut se connecter au serveur sur site VeriSeq (au moyen d'une commande Ping). 3. Le serveur sur site VeriSeq fonctionne.
	EA0774	Erreur de connexion La connexion au serveur de l'interface de programmation d'applications n'a pas été validée.	Le serveur sur site VeriSeq a cessé de répondre aux demandes de données du gestionnaire de flux de travail.	Vérifiez les points suivants : 1. Le système ML STAR est connecté au réseau. 2. Le système ML STAR peut se connecter au serveur sur site VeriSeq (au moyen d'une commande Ping). 3. Le serveur sur site VeriSeq fonctionne.
	EA0780	Code 403 : demande invalide La transaction actuelle n'est pas valide.	Les données transmises ne respectent pas la logique du flux de travail du système.	Vérifiez les détails sur l'erreur pour obtenir de plus amples renseignements. Les entrées trop longues ou qui ne respectent pas la liste des caractères acceptables, font partie des causes fréquentes.

Références

- 1 NAGAOKA, S., HASSOLD, T., HUNT, P. Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem. *Nat Rev Genet.* 2012. 13(7). 493-504. doi: 10.1038/nrg3245.
- 2 GARNDER, R.J., SUTHERLAND, G.R., SCHAFFER, L.G. *Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling.* 4e édition. New York (NY) : Oxford University Press. 2012.
- 3 AKOLEKAR, R., BETA, J., PICCIARELLI, G., OGILVIE, C., D'ANTONIO, F. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015 Jan. 45(1). 16-26. doi: 10.1002/uog.14636.
- 4 ACOG Practice Bulletin, n° 163.
- 5 GIL, M. M., QUEZADA, M. S., REVELLO, R., AKOLEKAR, R., et NICOLAIDES, K. H. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015, 45. 249-266. doi:10.1002/uog.14791
- 6 BENN, P., BORRELL, A., CHIU, R.W., et coll. « Position statement from the Chromosome Abnormality Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis. » *Prenat Diagn.* 2015. 35. 725-34.
- 7 2. ACOG Committee on Genetics. « Committee Opinion No. 640: Cell-Free DNA Screening For Fetal Aneuploidy. » *Obstet Gynecol.* 126. 2015. e31-7.
- 8 BIANCHI, D., PARKER, R., WENTWORTH, J., et coll. DNA Sequencing versus Standard Prenatal Aneuploidy Screening. *N Engl J Med.* 2014. 370. 9. 799-808. doi: 10.1056/NEJMoa1311037
- 9 McCULLOUGH, R. M., ALMASRI, E. A., GUAN, X., et coll. Non-invasive prenatal chromosomal aneuploidy testing – clinical experience: 100 000 clinical samples. *PLoS One.* 2014. 9. 10. e109173.
- 10 NORTON, M. E., BRAR, H., WEISS, J., et coll. Non-Invasive Chromosomal Evaluation (NICE) Study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18. *J Obstet Gynecol.* 2012. 207. 137.e1-8.
- 11 NORTON, M. E., JACOBSSON, B., SWAMY, G. K., et coll. Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy. *New Engl J Med.* 2015. 372. 17. 1589-97.

- 12 RYAN, A., HUNKAPILLAR, N., BANJEVIC, M., et al. Validation of an enhanced version of a single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal test for detection of fetal aneuploidies. *Fetal Diagn Ther.* 2016;doi:10.1159/000442931.
- 13 NORTON, S., LECHNER, J., WILLIAMS, T., FERNANDO, M., et coll. A Stabilizing Reagent Prevents Cell-free DNA Contamination by Cellular DNA in Plasma During Blood Sample Storage and Shipping as Determined by Digital PCR. *Clin. I Biochem.* 2013. 46. 1561–1565. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2013.06.002.

Brevets et marques de commerce

Ce document et son contenu sont exclusifs à Illumina, Inc. et à ses sociétés affiliées (« Illumina »); ils sont exclusivement destinés à l'usage contractuel de son client dans le cadre de l'utilisation du ou des produits décrits dans les présentes et ne peuvent servir à aucune autre fin. Ce document et son contenu ne seront utilisés ou distribués à aucune autre fin et ne seront communiqués, divulgués ou reproduits d'aucune façon sans le consentement écrit préalable d'Illumina. Illumina ne cède aucune licence en vertu de son brevet, de sa marque de commerce, de ses droits d'auteur ou de ses droits traditionnels ni des droits similaires d'un tiers quelconque par ce document.

Les instructions contenues dans ce document doivent être suivies strictement et explicitement par un personnel qualifié et adéquatement formé de façon à assurer l'utilisation correcte et sûre du ou des produits décrits dans les présentes. Le contenu intégral de ce document doit être lu et compris avant l'utilisation de ce ou ces produits.

SI UN UTILISATEUR NE LIT PAS COMPLÈTEMENT ET NE SUIT PAS EXPLICITEMENT TOUTES LES INSTRUCTIONS CONTENUES DANS LES PRÉSENTES, IL RISQUE DE CAUSER DES DOMMAGES AU(X) PRODUIT(S), DES BLESSURES, NOTAMMENT AUX UTILISATEURS ET À D'AUTRES PERSONNES, AINSI QUE D'AUTRES DOMMAGES MATÉRIELS, ANNULANT AUSSI TOUTE GARANTIE S'APPLIQUANT AU(X) PRODUIT(S).

ILLUMINA DÉCLINE TOUTE RESPONSABILITÉ DÉCOULANT DE L'UTILISATION INAPPROPRIÉE DU OU DES PRODUITS DÉCRITS DANS LES PRÉSENTES (Y COMPRIS LEURS COMPOSANTES ET LE LOGICIEL).

© 2020 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page www.illumina.com/company/legal.html.

Coordonnées



Illumina

5200 Illumina Way
San Diego, CA 92122 États-Unis
+(1) 800 809-ILMN (4566)
+(1) 858 202-4566 (en dehors de l'Amérique du Nord)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Freddy van Riemsdijkweg 15
5657 EE Eindhoven
Pays-Bas



Commanditaire australien

Illumina Australia Pty Ltd
Nursing Association Building
Level 3, 535 Elizabeth Street
Melbourne, VIC 3000
Australie

Étiquette du produit

Pour voir la liste complète des symboles qui peuvent apparaître sur l'emballage et l'étiquetage du produit, reportez-vous à la légende des symboles, sur le site support.illumina.com, à l'onglet *Documentation & Literature* (Documentation) propre à votre trousse.