

Framtida rutindiagnostik: kräver automatiserad NGS

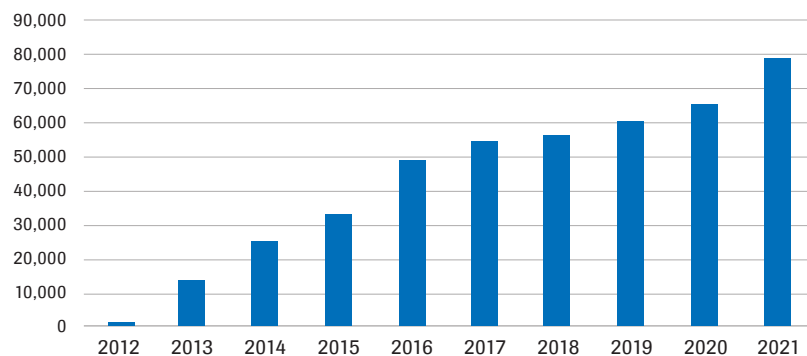
Viktiga lärdomar

Förstå de utmaningar som ställs på laboratoriet vid utförande av next generation sequencing (NGS) som en rutindiagnostisk metod.

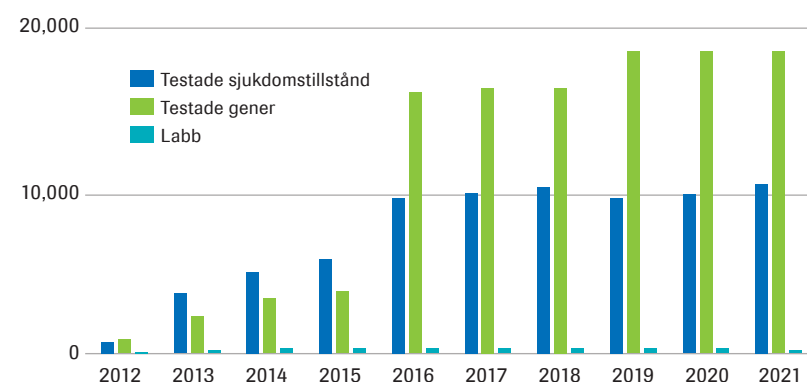
Tänk på dagens automationsgrad och vikten av spårbarhet istället för att bara kopiera manuella moment som automatiseras. På så sätt kan värde skapas för hela laboratoriets arbetsflöde.

Inledning

Next generation sequencing har varit avgörande för omvandlingen av genomanalys sedan starten på 1990-talet. Under de senaste tio åren har kostnaderna för sekvensering av hela genom sjunkit tusenfalt¹. Antalet genetiska tester har ökat till mer än 75 000 (figur 1A) för cirka 10 000 sjukdomstillstånd, vilket inkluderar över 18 000 gener (figur 1B).² Genetisk sekvensering underlättar forskning och möjliggör för precisionsdiagnostik och individanpassad vård.



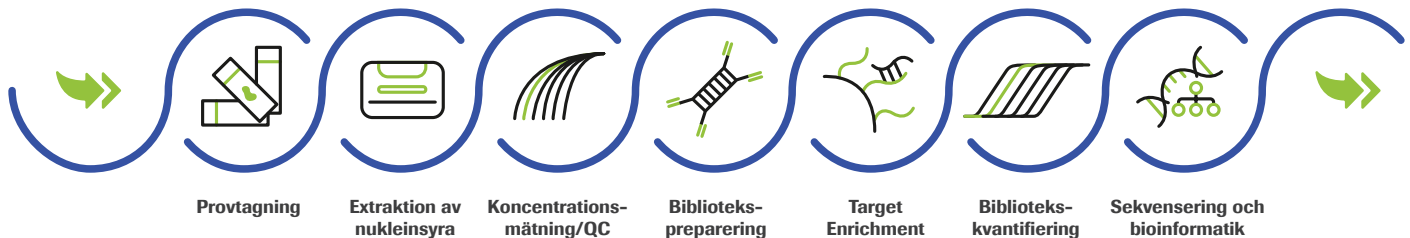
Figur 1A: Ökande antal humana genetiska tester som erbjuds från kliniska laboratorier och forskningslaboratorier som skickats till GTR från 2012–2021, i alla globala regioner.



Figur 1B: Antal sjukdomstillstånd (inklusive sjukdomar) och gener som testats vid kliniska laboratorier och forskningslaboratorier och skickats till GTR (Genetic Testing Registry) från 2012–2021. Antal registrerade laboratorier som utför genetiska tester visas.

Fokusera på processen

Ett generellt NGS-arbetsflöde visas i figur 2. Det kan delas upp i tre delar – extraktion av nukleinsyror, bibliotekspreparation (LP – Library Preparation) med eller utan anrikning av specifika områden (TE – Target Enrichment) samt sekvensering och analys. Vid de olika stegen i arbetsflödet måste även moment för kvalitetskontroll och kvantifiering utföras.

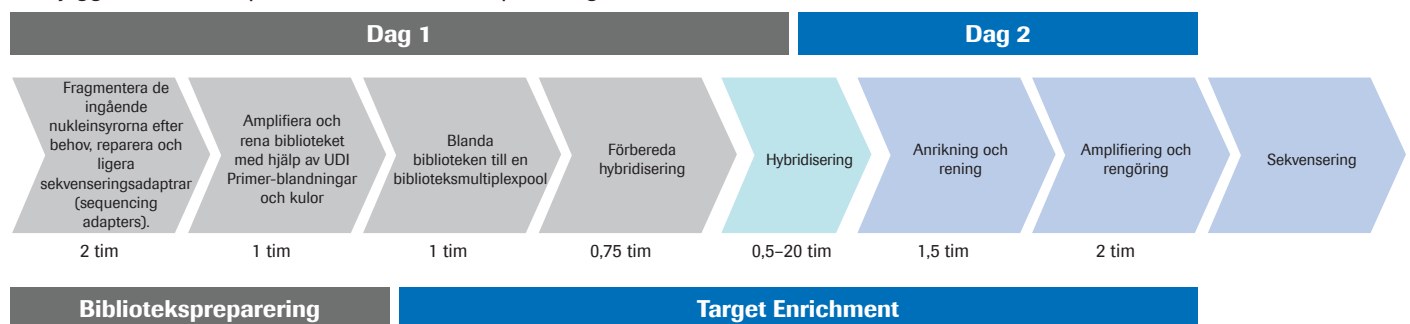


Figur 2: Exempel på stegen i ett NGS-arbetsflöde.

Traditionellt har manuell pipettering varit standard i många forsknings- och diagnostiklaboratorier. Detta orsakar en flaskhals i antalet prover som laboratoriet kan bearbeta, det är också viktigt att notera att en upprepad pipetteringsrörelse också kan leda till belastningsskador (RSI – Repetitive Stress Injury). Detta är en vanlig förekomst hos laboratoriepersonal.³ Eftersom ett manuellt NGS-arbetsflöde är arbetskrävande, känsligt och tidskrävande kan det påverka både personalens välbefinnande och resultatens tillförlitlighet och reproducerbarhet. När metoderna flyttas från forskning till diagnostisk rutin och tester blir en del av laboratoriets utbud, flyttas de vanligtvis antingen till en särskild uppsättning personal (med stor skicklighet på manuell pipettering), eller till att vätskehanteringsstegen i arbetsflödet dupliceras av en pipetteringsrobot. I vissa fall integrerar dessa robotar även andra processer – till exempel temperaturkontrollerad inkubation, PCR och koncentrationsmätning.

En pipetteringsrobot kan ge en rad allmänna fördelar, nämligen:

- Färre manuella fel och bättre spårbarhet
- Förbättrad reproducerbarhet och högre tillförlitlighet till data och resultat
- Möjliggör för ökad kapacitet och bättre resursplanering



Figur 3: Översikt av arbetsflödet vid biblioteksprep – en flerstegsprocess som spänner över flera dagar och som gynnas av en ökad automationsgrad och bibehållen spårbarhet.

Det finns utmaningar i varje steg, men när man överväger hinder för rutinmässig användning av NGS i diagnostik utgör det komplexa arbetsflödet med flerstegs LP/TE i flera dagar en av de svåraste utmaningarna. Detta medför i sin tur att det är svårt att bibehålla spårbarhet.

- Personalens tid frigörs och skapar utrymme för att genomföra mer värdefulla uppgifter
- En säkrare arbetsmiljö och minskad belastning av RSI-skador som kan uppkomma vid manuell pipettering
- Sänkta laboratoriekostnader

En nyligen publicerad rapport⁴ bedömde påverkan av laboratorieautomatisering i kemi- och immunanalyslaboratorier och utgick från fyra nyckeltal (KPI – Key Performance Indicators) för studien: genomsnittlig analystid, 99:e percentilens analystid, koefficient för variation av analystid, viktat antal manuella beröringar av provrör. Författarna drog slutsatsen att betydande förbättringar kan uppnås för alla nyckeltal genom en ökad automationsgrad.

I figur 3 visas att ett typiskt NGS-arbetsflöde har flera steg i processen som tar flera dagar att slutföra. Arbetsflödet är en repetitiv process med många steg som behöver hanteras, samt att laboratoriet måste utföra kvalitetskontroller och kvantifiera biblioteken – till exempel mäta koncentration och utföra fragmentanalys – innan man fortsätter med sekvensering.

Så hur kan ett automatiserat flöde se ut?

Den totala kvaliteten på NGS-data är till stor del beroende av kvaliteten på biblioteksprep och target enrichment. Det är också tydligt att utmaningen som NGS-arbetsflödet utgör har gjort att laboratorier har ett betydande behov av optimerade processer och nyttjande av resurser.

Intervjuer med laboratoriechefer* visar på vikten av att välja rätt prestanda och egenskaper för sitt LP/TE-system:

- Helt integrerad automatisering – för biblioteksprep och kvantifiering av anrikade gener, PCR och pooling av prover
- Ingen manuell pipettering vid rutinanvändning
- Flexibelt antal prover per körning
- Noggrann pipettering av alla prover och reagenser
- Inbyggda säkerhetssystem (t.ex. skadeskydd)
- Minimerad korskontaminering

Det viktigaste, överst på önskelistan, från de intervjuade är en praktisk lösning utan behov av manuella åtgärder under körningen. En helt automatiserad lösning för vätskehantering, levererad i ett fristående system som inte kräver övervakning eller manuella åtgärder när en körning har startats

* Studien genomfördes av Roche Sequencing Solutions

Ett nytt system

Den senaste pipeteringsroboten för automatiserade NGS bibliotek kör flerdagarsprotokoll utan avbrott, vilket gör att laboratoriet för första gången har en möjlighet att förändra sina arbetsmetoder. Ett system som ger möjlighet att utöka laboratoriets kapacitet genom att öka antalet prover, öka laboratoriets genomströmning, möjliggöra dygnet runt körningar, eller schemalägga körningar över natten eller helgen – utan manuell hantering.

Detta tillvägagångssätt kan potentiellt öka ett laboratoriums kapacitet med 128 timmar per vecka (förutsatt åtta timmars arbete per dag, fem dagar i veckan). NGS-automatisering av den här skalan innebär betydande fördelar för laboratoriets kostnad, liksom att laboratoriepersonalens arbetssätt och arbetsbelastning förändras i grunden.

Viktigt är att kvantifiering och pooling är en del av den helautomatiserade processen, vilket krävs för att erbjuda en heltäckande lösning för biblioteksprep, inklusive target enrichment, för ett bibliotek redo för sekvensering.

Framtiden är här

Automation på laboratoriet spelar viktig roll när det gäller att förverkliga NGS i rutindiagnostik. För första gången är lanseringen av ett helt automatiserat system för biblioteksprep en verklighet. En lösning som täcker den mest utmanande delen av arbetsflödet.

Mer information om Roche Sequencingsportfölj finns på webbplatsen <https://diagnostics.roche.com>

Roches långsiktiga engagemang för klinisk diagnostik

Den kliniska användbarheten av Roches ledande modulära analysserie, cobas®-systemen, har bevisats under årtionden. Som ledande inom innovation har Roche visat sitt engagemang för att tillhandahålla lösningar som förbättrar prestandan hos kliniska laboratorier över hela världen.

Roches åtagande visas genom ett nära samarbete med sjukhus och kliniska laboratorier, där vi samarbetar med opinionsledare

inom flera områden för att utveckla optimerade lösningar inom diagnostik.

Roche Sequencing Solutions nyttjar företagets historiska expertis inom klinisk diagnostik för att tillhandahålla lösningar för att öka effektiviteten, möjliggöra automatisering och effektivisera processerna för next generation sequencing (NGS).

Mer information om hur vi kan hjälpa dig i din implementering av NGS finns på <https://rochesequencingstore.com/>

Referenser

1. National Institutes of Health (NIH). National Human Genome Research Institute. The Cost of Sequencing a Human Genome. <https://www.genome.gov/about-genomics/fact-sheets/Sequencing-Human-Genome-cost> (2016).
2. National Center for Biotechnology Information (NCBI) Genetic Testing Registry (GTR) online database. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/gtr/v/gtr/> (Accessed Oct 2021).
3. DePalma A. Repetitive Strain Injury in the Laboratory. Biocompare. <https://www.biocompare.com/Bench-Tips/348286-Repetitive-Strain-Injury-in-the-Laboratory/>. Published 2018. Accessed July 29, 2022.
4. Kim K, Lee SG, Kim TH, Lee SG. Economic Evaluation of Total Laboratory Automation in the Clinical Laboratory of a Tertiary Care Hospital. *Ann Lab Med.* 2022 Jan 1;42(1):89-95. doi: 10.3343/alm.2022.42.1.89. PMID: 34374353; PMCID: PMC8368223.

Publicerad av: sequencing.roche.com

Roche Diagnostics Scandinavia AB
Box 1228
171 23 Solna

Alla produktnamn och varumärken tillhör respektive ägare.
© 2022 Roche Sequencing Solutions, Inc. Med ensamrätt.