

Інструкція з використання

ВИКОРИСТОВУВАТИ ДЛЯ ДІАГНОСТИКИ IN VITRO.

Передбачене використання

VeriSeq™ NIPT Solution v2 — це діагностичний тест *in vitro*, використовуваний як засіб скринінгового тесту для виявлення повногеномних генетичних аномалій плода зі зразків материнської периферичної цільної крові вагітних жінок із терміном вагітності принаймні 10 тижнів. VeriSeq NIPT Solution версії 2 застосовується повногеномне секвенування для виявлення часткових дуплікацій і делецій для всіх аутосом, а також стану анеуплоїдії для всіх хромосом. Тест дає можливість оформити запит на виявлення анеуплоїдії статевих хромосом (sex chromosome aneuploidy, SCA), а також на повідомлення про результат. Цей виріб не можна використовувати як єдину підставу для діагнозу або ухвалення інших рішень щодо ведення вагітності.

VeriSeq NIPT Solution версії 2 включає: VeriSeq NIPT Workflow Manager версії 2 для VeriSeq NIPT Microlab STAR, Набір VeriSeq NIPT Sample Prep та VeriSeq Onsite Server версії 2 з VeriSeq NIPT Assay Software версії 2. VeriSeq NIPT Solution версії 2 призначено для використання із секвенатором наступного покоління.

Зведена інформація та пояснення аналізу

Хромосомні аномалії плода, зокрема анеуплоїдія (аномальна кількість хромосом), є частою причиною репродуктивної недостатності, вроджених аномалій, затримки в розвитку й розумової відсталості. Анеуплоїдія зустрічається приблизно в 1 з 300 живонароджених дітей, і ще більше її діагностують у разі викиднів або мертвонародження^{1, 2}. Донедавна було два типи пренатального тестування для цих порушень: діагностичне тестування й скринінг. Діагностичне тестування передбачає інвазивні процедури, на кшталт амніоцентезу або біопсії ворсин хоріона. Ці методи тестування вважаються золотим стандартом для виявлення фетальної анеуплоїдії. Проте вони пов'язані з ризиком переривання вагітності, який становить від 0,11 % до 0,22 %³. Звичайні скринінги на численні маркери не несуть ризику переривання вагітності, адже вони неінвазивні, але менш точні, ніж діагностичні тести. Показник виявлення трисомії 21 для таких тестів варіюється від 69 % до 96 % залежно від умов конкретного скринінгу, віку матері та терміну вагітності на момент тестування⁴. Важливо відзначити, що вони мають частоту хибнопозитивних результатів біля 5 %, що може привести до проведення інвазивного діагностичного тестування, отож до виникнення ризику, пов'язаного з процедурою переривання вагітності⁴. Під час ультразвукового скринінгу також можна виявити хромосомні аномалії, але ці результати будуть ще менш достовірними, ніж результати інших методів.

Фетальну анеуплоїдію хромосом 21, 18, 13, X і Y можна виявити з високим ступенем точності під час неінвазивного пренатального тестування (noninvasive prenatal testing, NIPT) за допомогою повногеномного секвенування позаклітинної ДНК (пкДНК), отриманої з материнської плазми на 10-му тижні вагітності або пізніше. Нещодавній метааналіз численних клінічних досліджень показав зважені

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution версії 2

об'єднані частотності виявлення й специфічності для трисомії 21 і трисомії 18 у разі одноплідних вагітностей: трисомія 21 — 99,7 % і 99,96 %, а трисомія 18 — 97,9 % і 99,96 % відповідно⁵. В одному дослідженні зроблено припущення, що використання NIPT як основного скринінгу для всіх вагітностей може призвести до 89 % скорочення кількості підтверджувальних інвазивних процедур⁶.

З огляду на значне зменшення частотності отримання хибнопозитивних результатів з NIPT порівняно зі звичайним скринінгом на численні маркери багато професійних медичних організацій випустили заяви на підтримку декількох показань для використання NIPT.

Зокрема, Міжнародна спільнота з пренатальної діагностики (International Society for Prenatal Diagnosis), Американська колегія акушерів і гінекологів (American College of Obstetricians and Gynecologists, ACOG) / Спільнота перинатології (Society for Maternal Fetal Medicine, SMFM), Американська колегія медичної генетики й геноміки (American College of Medical Genetics and Genomics, ACMG) і Європейська спільнота генетики людини (European Society of Human Genetics) / Американська спільнота генетики людини (American Society of Human Genetics) підтримують пропозицію використовувати NIPT для всіх вагітних жінок^{7, 8, 9}. Для підтвердження позитивного результату скринінгу пкДНК рекомендуються консультування перед тестуванням, отримання інформованої згоди й діагностичне тестування⁴.

VeriSeq NIPT Solution версії 2 — це неінвазивний діагностичний тест *in vitro* (IVD), у якому використовується повногеномне секвенування фрагментів пкДНК, отриманих зі зразків материнської периферичної цільної крові від вагітних жінок із терміном вагітності принаймні 10 тижнів. У тесті передбачено два типи скринінгу: базовий і повногеномний. Базовий скринінг надає інформацію про наявність анеуплоїдії лише для хромосом 21, 18, 13, X й Y. Повногеномний скринінг забезпечує інформацією про часткові дуплікації та делеції всіх аутосом, а також стан анеуплоїдії для всіх хромосом. Обидва типи скринінгу мають опцію для повідомлення про SCA із повідомленням про стать плода або без нього. Опцію повідомлення про SCA можна вимкнути. Якщо опцію повідомлення про SCA вимкнено, стать плода не повідомляється. Для отримання додаткової інформації про варіанти повідомлення про стать див. *Посібник із програмного забезпечення системи VeriSeq NIPT Solution версії 2 (документ № 1000000067940)*.

Принципи виконання процедури

VeriSeq NIPT Solution версії 2 — це автоматизоване рішення для проведення лабораторних аналізів NIPT, яке складається з автоматичного підготування зразків й аналізу даних секвенування. Набори для приготування зразків Набір VeriSeq NIPT Sample Prep — це спеціалізовані одноразові реагенти, які використовуються разом із VeriSeq NIPT Microlab STAR для підготування партій із 24, 48 або 96 зразків для секвенування наступного покоління. Аналіз повногеномного секвенування парних кінцевих фрагментів здійснюється спеціалізованим програмним забезпеченням — VeriSeq NIPT Assay Software версії 2, після чого генерується звіт, у якому наводяться якісні результати.

Робочий процес складається з таких процедур: взяття зразків, виділення плазми, екстракція пкДНК, підготування бібліотек, кількісний аналіз бібліотек, об'єднання бібліотек у пул, секвенування й аналіз. Далі їх описано докладніше.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution

версії 2

- **Взяття зразків.** 7–10 мл материнської периферичної цільної крові поміщається в пробірку Streck для взяття крові (ПВК) для отримання позаклітинної ДНК, яка запобігає лізису клітин і геномному забрудненню та стабілізує цільну кров.
- **Виділення плазми.** Протягом 5 днів після взяття зразка плазма виділяється з материнської крові за допомогою стандартних методів центрифугування. VeriSeq NIPT Microlab STAR аспірує й розподіляє плазму в 96-лунковий планшет із глибокими лунками для подальшої обробки. За потреби в повторному тестуванні після обробки зразка можна закрити кришками й зберігати за температури 4°C ще протягом 5 днів (загалом не більше ніж 10 днів після взяття крові).



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Перевищення вказаного вище періоду може негативно вплинути на частоту утворення невдалих зразків.

- **Екстракція пкДНК.** Відокремлення пкДНК під плазми досягається через поглинання планшетом для зв'язування, промивання цього планшета, аби усунути забруднювачі, й елювання.
- **Підготування бібліотеки.** Відокремлені фрагменти пкДНК проходять процес відновлення кінцевих фрагментів, щоб перетворити «липкі» кінці 5' і 3' на тупі кінці. Потім до кінців 3' додається нуклеотид дезоксиаденозину, щоб створити одноосновний «липкий» кінець. Після цього на оброблені фрагменти пкДНК лігуються проіндексовані адаптери, які містять одноосновний «липкий» кінець дезокситимідину 3'. Лігована ДНК очищується за допомогою твердофазних гранул зі зворотною іммобілізацією. Кожний зразок у наборі з 24, 48 або 96 отримує унікальний проіндексований адаптер. Використання адаптерів має 2 цілі:



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Будьте дуже обережні, щоб уникнути перехресного забруднення індексів, що може призвести до неправильних результатів.

- індекси дають змогу ідентифікувати зразки під час подальшого секвенування;
- адаптери індексу містять послідовності, які дають змогу захопити бібліотеку на твердій поверхні проточної кювети для секвенування, а потім виконати секвенування.
- **Кількісний аналіз.** Продукт бібліотеки виражається кількісно за допомогою флуоресцентного барвника в концентрації, визначеній під час порівняння зі стандартною кривою ДНК.
- **Об'єднання бібліотек у пул і секвенування.** Бібліотеки зразків об'єднуються в пули з 24 або 48 зразків у скоригованих об'ємах, щоб мінімізувати похибки в охопленні. Після цього кожна група секвенується за допомогою система секвенування наступного покоління.
- VeriSeq NIPT Solution версії 2 не передбачає наявності обладнання для секвенування та витратних матеріалів.
- **Аналіз.** Для кожного зразка аналіз складається з таких етапів:
 - ідентифікація фрагментів бібліотеки за послідовністю індексів і вирівнювання зчитувань парних кінцевих фрагментів відповідно до еталонного людського геному;

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution **illumina**[®] версії 2

- обчислення фетальної фракції бібліотеки через поєднання інформації від розподілу довжин і геномних координат фрагментів бібліотеки;
- після врахування відомих систематичних помилок статистична модель виявляє зони геному, кількість яких зменшено або збільшено в бібліотеці в порядку, відповідному до аномалії на обчислюваному рівні фетальної фракції;
- у звіті NIPT наводяться підсумкові результати для вибраного меню тесту, де разом з обчисленням фетальної фракції для зразків, які пройшли контроль якості (КЯ), зазначається ANOMALY DETECTED (АНОМАЛІЮ ВІЯВЛЕНО) або NO ANOMALY DETECTED (АНОМАЛІЮ НЕ ВІЯВЛЕНО);
- у додатковому звіті вказуються кількісні показники, які характеризують кожну виявлену аномалію.

Обмеження процедури

Обмеження аналізу

- Докази щодо підтвердження чутливості й специфічності для аналізу охоплюють одноплідні й двоплідні вагітності. У цій інструкції з використання не наведено дані щодо чутливості й специфічності для триплодових або багатоплідних вагітностей.
- VeriSeq NIPT Solution версії 2 не призначено для виявлення поліплоїдії, наприклад триплоїдії.
- VeriSeq NIPT Solution версії 2 не призначено для виявлення збалансованих хромосомних перебудов.
- Для аналізу потрібні зразки материнської периферичної цільної крові від вагітних жінок із терміном вагітності принаймні 10 тижнів.
- Під час базового скринінгу VeriSeq NIPT Solution версії 2 шукає специфічні хромосомні відхилення. Результати, позначені як NO ANOMALY DETECTED (АНОМАЛІЮ НЕ ВІЯВЛЕНО), не виключають можливість наявності хромосомних відхилень перевірених хромосом. Негативний результат не виключає можливості того, що виношуваний плід має інші хромосомні відхилення, спадкові захворювання або вроджені аномалії розвитку (наприклад, незарощення нервової трубки).
- Під час повногеномного скринінгу доволі значні делеції та дуплікації, які не перевищують 75 % від розміру хромосоми, можуть указувати на повнохромосомну анеуплоїдію.
- У разі повногеномного аналізу деякі зони вилучаються з аналізу. Список зон, які вилучаються з аналізу, можна знайти на вебсайті Illumina Support. Генетичні аномалії виявляються лише в дозволених зонах.
- Повідомлення про стать плода недоступне для всіх зон через місцеві нормативні акти, які стосуються повідомлення про гендер плода.
- Згідно з літературними даними, результати скринінгу на основі безклітинної ДНК можуть бути спотворені певними факторами матері та плоду. Деякі з них перераховані нижче, зокрема:
 - Нещодавнє переливання материнської крові

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution версії 2

- Попередня трансплантація органів/стовбурових клітин матері
- Аутоімунне захворювання матері
- Доброякісні та злоякісні новоутворення матері (доброякісні та злоякісні)
- мозаїцизм у матері;
- Варіації числа материнських копій
- Фетоплацентарний мозаїцизм / обмежений плацентарний мозаїцизм
- Загибель плоду / зникаючий близнюк

VeriSeq NIPT Solution версії 2 Звітування

- VeriSeq NIPT Solution версії 2 — це скринінговий тест, і його не можна розглядати окремо від інших клінічних досліджень та результатів аналізів. Висновки щодо стану плода й ухвалених рішень щодо ведення вагітності не мають базуватися виключно на результатах скринінгу NIPT⁷.
- Звіти VeriSeq NIPT Solution версії 2 про таке:
 - У разі базового скринінгу здійснюється перевірка на збільшення кількості хромосом 13, 18 і 21.
 - У разі повногеномного скринінгу здійснюється перевірка на зменшення та збільшення кількості всіх аутосом, разом із частковими делеціями й дуплікаціями розміром не менше ніж 7 млн п. о.
 - У разі одноплідних вагітностей, якщо для повідомлення про стать вибрано Yes (Так) або SCA, зустрічаються такі аномалії статевих хромосом: XO, XXX, XXY та XYY.
 - У разі одноплідних вагітностей, якщо для повідомлення про стать вибрано Yes (Так), повідомляється стать плода.
 - Наявність Y-хромосоми в разі двоплідної вагітності.

Компоненти виробу

VeriSeq NIPT Solution версії 2 складається з наступних зразків:

- Набір VeriSeq NIPT Sample Prep (24 зразки) (частина № 20025895)
- Набір VeriSeq NIPT Sample Prep (48 зразків) (частина № 15066801)
- Набір VeriSeq NIPT Sample Prep (96 зразків) (частина № 15066802)

складається VeriSeq NIPT Solution версії 2 з таких компонентів програмного забезпечення:

- VeriSeq NIPT Assay Software версії 2 (частина № 20047024), попередньо інстальована на VeriSeq Onsite Server версії 2.
 - VeriSeq Onsite Server версії 2 (частина № 20028403, 20047000, 20101927) або наявний VeriSeq Onsite Server (частина № 15076164 або 20016240), оновлений до версії 2.
- VeriSeq NIPT Workflow Manager версії 2, (частина № 20044988), попередньо інстальована на VeriSeq NIPT Microlab STAR.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

- VeriSeq NIPT Microlab STAR (частина № Hamilton Company Reno: 95475-01 (115 B) і 95475-02 (230 B), Hamilton Company Bonaduz: 806288).
- Модуль Local Run Manager VeriSeq NIPT (частина № 20044989)

Реагенти

Реагенти, що є в комплекті

Illumina містить такі реагенти: Набір VeriSeq NIPT Sample Prep (24 зразки) (частина № 20025895), Набір VeriSeq NIPT Sample Prep (48 зразків) (частина № 15066801) і Набір VeriSeq NIPT Sample Prep (96 зразків) (частина № 15066802). Набори Набір VeriSeq NIPT Sample Prep призначені для використання із системою VeriSeq NIPT Microlab STAR (ML STAR) (частина № 95475-01, 95475-02 або 806288), що надає Hamilton Company.

Набір VeriSeq NIPT Sample Prep, Коробка з матеріалами для екстракції

Таблиця 1 VeriSeq NIPT Коробка з матеріалами для екстракції VeriSeq NIPT (24) і (48), артикул № 20025869 і 15066803

Назва реагенту на етикетці	Кількість контейнерів у наборі	Активні фармацевтичні складники	Зберігання
Lysis Buffer	1	Гуанідингідрохлорид у буферизованому водному розчині	Від 15 до 30 °C
Буфер для промивання I	1	Гуанідингідрохлорид і 2-пропанол у буферному водному розчині	Від 15 до 30 °C
Буфер для промивання II	1	Буферний водний розчин, який містить солі	Від 15 до 30 °C
Elution Buffer	1	Буферний водний розчин	Від 15 до 30 °C
Протеїназний буфер	1	Гліцерин у буферному водному розчині	Від 15 до 30 °C
Протеїназа K	3	Ліофілізована протеїназа K	Від 15 до 30 °C

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

Таблиця 2 VeriSeq NIPT Коробка з матеріалами для екстракції (96), частина № 15066807

Назва реагенту на етикетці	Кількість контейнерів у наборі	Активні фармацевтичні складники	Зберігання
Lysis Buffer	1	Гуанідингідрохлорид у буферизованому водному розчині	Від 15 до 30 °C
Буфер для промивання I	1	Гуанідингідрохлорид і 2-пропанол у буферному водному розчині	Від 15 до 30 °C
Буфер для промивання II	2	Буферний водний розчин, який містить солі	Від 15 до 30 °C
Elution Buffer	1	Буферний водний розчин	Від 15 до 30 °C
Протеїназний буфер	1	Гліцерин у буферному водному розчині	Від 15 до 30 °C
Протеїназа K	4	Ліофілізована протеїназа K	Від 15 до 30 °C

Набір VeriSeq NIPT Sample Prep, Коробка з матеріалами для підготування бібліотек

Таблиця 3 Коробка з матеріалами для підготування бібліотек VeriSeq NIPT (24) і (48), артикул № 20026030 і 15066809

Назва реагенту на етикетці	Кількість контейнерів у наборі	Активні фармацевтичні складники	Зберігання
End Repair Mix	1	ДНК-полімераза й дНТФ у буферному водному розчині	від -25 °C до -15 °C
A-Tailing Mix	1	ДНК-полімераза й дАТФ у буферному водному розчині	від -25 °C до -15 °C
Ligation Mix	1	ДНК-лігаза в буферному водному розчині	від -25 °C до -15 °C
Hybridization Buffer	1	Буферний водний розчин	від -25 °C до -15 °C

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

Назва реагенту на етикетці	Кількість контейнерів у наборі	Активні фармацевтичні складники	Зберігання
Планшет адаптерів NIPT DNA	1	Олігонуклеотиди в буферному водному розчині	від -25 °C до -15 °C

Таблиця 4 Коробка з матеріалами для підготування бібліотек VeriSeq NIPT (96), артикул № 15066810

Назва реагенту на етикетці	Кількість контейнерів у наборі	Активні фармацевтичні складники	Зберігання
End Repair Mix	1	ДНК-полімераза й дНТФ у буферному водному розчині	від -25 °C до -15 °C
A-Tailing Mix	2	ДНК-полімераза й дАТФ у буферному водному розчині	від -25 °C до -15 °C
Ligation Mix	2	ДНК-лігаза в буферному водному розчині	від -25 °C до -15 °C
Hybridization Buffer	1	Буферний водний розчин	від -25 °C до -15 °C
Планшет адаптерів NIPT DNA	1	Олігонуклеотиди в буферному водному розчині	від -25 °C до -15 °C

Набір VeriSeq NIPT Sample Prep, Коробка з приладдям

Таблиця 5 VeriSeq NIPT Коробка з приладдям, частина № 15066811

Назва реагенту на етикетці	Кількість контейнерів у наборі	Активні фармацевтичні складники	Зберігання
Планшет для зв'язування ДНК	1	Пропіленовий мікропланшет із модифікованою силіконовою мембраною	Від 2 °C до 8 °C
Resuspension Buffer	1	Буферний водний розчин	Від 2 °C до 8 °C

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

Назва реагенту на етикетці	Кількість контейнерів у наборі	Активні фармацевтичні складники	Зберігання
Sample Purification Beads	1	Твердофазні парамагнітні гранули в буферному водному розчині	Від 2 °C до 8 °C
Реагент для кількісного визначення ДНК	1	Інтеркалірувальний барвник ДНК в DMSO	Від 2 °C до 8 °C
Стандарт для кількісного визначення ДНК	1	Стандарт длДНК, неспецифічна ДНК та азид натрію в буферному водному розчині	Від 2 °C до 8 °C

Пробірки й етикетки для робочого процесу, Набір VeriSeq NIPT Sample Prep

Таблиця 6 Пробірки й етикетки для робочого процесу, артикул № 15071543

Назва позиції на етикетці	Кількість позицій у наборі	Зберігання
Етикетка (LBL), бар-код для планшета	9	Від 15 до 30 °C
Етикетка (LBL), бар-код для планшета з глибокими лунками	12	Від 15 до 30 °C
Пробірка (TB), порожня пробірка для об'єднання в пул	5	Від 15 до 30 °C

Реагенти, яких немає в комплекті

Потрібні реагенти, яких немає в комплекті

- Реагенти й витратні матеріали для секвенування, потрібні для системи секвенування нового покоління (NGS)
- Сертифікована вода без РНКаз — для молекулярної біології
- Етанол, 100 % (міцність 200), для молекулярної біології

ПРИМІТКА Етанол ступеня чистоти, який не призначено для молекулярної біології, може негативно вплинути на ефективність аналізу.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution версії 2

Додаткові реагенти, яких немає в комплекті

- Забуферений фосфатом Дульбекко фізіологічний розчин (DPBS) для контролю без додавання матриці (NTC).

Зберігання й поводження

1. Кімнатною температурою вважається температура від 15 °C до 30 °C.
2. Усі реагенти призначено для одноразового використання. Після того як реагенти підготовлено до використання, їх потрібно негайно використати.
3. Якщо упаковку або вміст компонентів VeriSeq NIPT Solution пошкоджено або порушено їхню цілісність, зв'яжіться зі Illumina службою підтримки користувачів .
4. Реагенти є стабільними за умови зберігання за зазначених температур до завершення терміну придатності, указанного на етикетках наборів. Умови зберігання див. у стовпці «Зберігання» в таблицях у розділі [Реагенти](#). Заборонено використовувати реагенти, термін придатності яких минув.
5. Зміни в зовнішньому вигляді реагентів, що є в наборі, можуть указувати на псування матеріалів. У разі змінення зовнішнього вигляду (наприклад, очевидного змінення кольору реагентів або їхнього помутніння, що спостерігається на тлі мікробного забруднення) реагенти використовувати заборонено.
6. Під час роботи з Sample Purification Beads дотримуйтесь описаних далі належних практик:
 - ніколи не заморожуйте гранули;
 - перед використанням доведіть гранули до кімнатної температури;
 - безпосередньо перед використанням змішайте гранули на вихровій мішалці до повного суспендування й однорідного кольору.
7. У буфері для лізису, буфері для промивання I, буфері для промивання II, буфері для елюювання та протеїназному буфері можуть утворюватися видимий осад або кристали. Перед використанням енергійно змішайте на вихровій мішалці, а потім огляньте й переконайтеся, що осаду немає.
8. Ніколи не заморожуйте цільну кров після взяття.
9. Після отримання пулу якомога скоріше секвенуйте бібліотеки. Об'єднані в пул бібліотеки лишаються стабільними не довше ніж 7 днів за температури -25°C до -15°C. За умови зберігання протягом цього періоду та за цих умов додаткова денатурація не знадобиться.

Обладнання й матеріали

Потрібні обладнання й матеріали, які не надано

Потрібне обладнання, що не надається

Обладнання	Постачальник
Система секвенування нового покоління (NGS) із наведеними далі можливостями. <ul style="list-style-type: none">• Секвенування парних кінцевих фрагментів для 2 × 36 п. о.• Сумісність з подвійними індексними адаптерами Набір VeriSeq NIPT Sample Prep• Автоматичне створення файлів BCL• Двоканальний хімічний процес• Зчитування 400 млн парних кінцевих фрагментів на прогін• Сумісність із VeriSeq NIPT Assay Software версії 2 або NextSeq 550Dx системою секвенування.	Постачальник приладу або Illumina, артикул № 20005715
Морозильна камера, від -25 °С до -15 °С	Постачальник загально-лабораторного обладнання
Мікроцентрифуга	Постачальник загально-лабораторного обладнання
Піпетковий дозатор	Постачальник загально-лабораторного обладнання
Холодильник, від 2 °С до 8 °С	Постачальник загально-лабораторного обладнання
Одноканальні піпетки, 20 мкл	Постачальник загально-лабораторного обладнання
Одноканальні піпетки, 200 мкл	Постачальник загально-лабораторного обладнання
Одноканальні піпетки, 1000 мкл	Постачальник загально-лабораторного обладнання
Вихрова мішалка	Постачальник загально-лабораторного обладнання
Центрифуга й вузол ротора для пробірок для взяття крові	

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution

версії 2

Обладнання	Постачальник
Еквівалентні вироби <ul style="list-style-type: none">• Центрифуга з охолодженням, здатна до прискорення 1600 g без гальмування• Ротор із хитними склянками (бакет-ротор) зі склянками• Вставки для групи з мінімальною глибиною 76 мм• Адаптери для вставок для утримування пробірок для взяття крові розміром 16 мм x 100 мм	Постачальник загально-лабораторного обладнання
Рекомендовані вироби <ul style="list-style-type: none">• Центрифуга серії Allegra X12R, 1600 g• Ротор GH-3.8 зі склянками для центрифуги Allegra• Кришки склянок для центрифуги Allegra, комплект із двох штук• Вузол адаптера для центрифуги Allegra, 16 мм, комплект із чотирьох штук	Beckman Coulter, артикул № 392304 (120 В або 230 В) Beckman Coulter, артикул № 369704 Beckman Coulter, артикул № 392805 Beckman Coulter, артикул № 359150
Центрифуга й вузол ротора для мікропланшетів	
Еквівалентні вироби <ul style="list-style-type: none">• Центрифуга, здатна до прискорення 5600 g• Ротор із хитними планшетами з тримачами для планшетів на 96 лунок, мінімальна глибина 76,5 мм.• Multifuge X4 Pro-MD 120 В TX-1000BT• Центрифуга Sorvall Legend XTR	Постачальник загально-лабораторного обладнання Thermo Fisher Scientific, артикул № 75016034 Thermo Fisher Scientific, артикул № 75004521 (120 В) або артикул № 75004520 (230 В)
<ul style="list-style-type: none">• Ротор для мікропланшетів HIGHPlate 6000• Планшет з великим ротором 6000	Thermo Fisher Scientific, артикул № 75003606 Thermo Fisher Scientific, артикул № 97040-244
Підставка для мікропланшетів <ul style="list-style-type: none">• Рекомендовані вироби<ul style="list-style-type: none">• Підставка MicroAmp для планшетів на 96 лунок• Тримач для ПЛР-планшетів на 96 лунок	Thermo Fisher Scientific, артикул № 4379590 Thermo Fisher Scientific, артикул № AB-0563/1000

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution

версії 2

Обладнання	Постачальник
Один із зазначених далі зчитувачів мікропланшетів (флюорометр) з програмним забезпеченням SoftMax Pro версій 6.2.2–7.1.2. <ul style="list-style-type: none">• Gemini XPS• SpectraMax M2, M3, M4 і M5.<ul style="list-style-type: none">• Для використання в робочому процесі потрібна фіолетова вставка з пристроєм для зчитування мікропланшетів.	Molecular Devices, артикул № XPS Молекулярні пристрої, частина № M2, M3, M4 і M5
Високошвидкісний перехідник із USB-порту на послідовний порт SpectraMax	Molecular Devices, артикул № 9000-0938
Ампліфікатор (термоциклер) з наведеними далі характеристиками. <ul style="list-style-type: none">• Кришка з підігрівом• Діапазон температур від 4 °C до 98 °C• Точність температури до ±2 °C• Мінімальна швидкість змінення температури 2 °C на секунду• Сумісність із ПЛР-планшетом Twin.tec на 96 лунок, з повною спідницею	Постачальник загально-лабораторного обладнання
VeriSeq NIPT Microlab STAR	Hamilton, артикул № 95475-01 (115 В), артикул № 95475-02 (230 В) або артикул № 806288 (для компанії Hamilton у м. Бонадуц)
VeriSeq Onsite Server v2 або VeriSeq Onsite Server оновлена версія	Illumina, № частини 20028403 або 20047000 (v2) або 20101927 або № 15076164 або № 20016240 (оновлена версія)
Якщо використовується система секвенування NextSeq 550Dx Sequencing System <ul style="list-style-type: none">• набір реагентів із високим виходом NextSeq 550Dx High-Output Reagent Kit v2.5, 75 циклів	Illumina, частина № 20028870

Додаткове обладнання, що не надається

Обладнання	Постачальник
Система для зняття ковпачків Pluggo	LGP Consulting, артикул № 4600 4450

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

Обладнання	Постачальник
Валідаційний планшет (флуоресценція) SpectraMax SpectraTest FL1	Molecular Devices, артикул № 0200-5060
Ротатор для пробірок місткістю 15 мл, 40 об/хв, 100–240 В	Thermo Scientific, артикул № 88881001 (США) або артикул № 88881002 (ЄС)

Потрібні матеріали, що не надаються

Витратний матеріал	Постачальник
Наконечники для піпеток, з фільтром 1000 мкл, нестерильні	Hamilton, артикул № 235905
Наконечники для піпеток, з фільтром 300 мкл, нестерильні	Hamilton, артикул № 235903
Наконечники для піпеток, з фільтром 50 мкл, нестерильні	Hamilton, артикул № 235948
Резервуар з глибокими лунками з указаними далі характеристиками. <ul style="list-style-type: none">• Формат мікропланшета SLAS 1-2004, 96 лунок з пірамідальним або конічним дном, мінімальна місткість 240 мл.• Усі поверхні, що контактують зі зразком, — поліпропіленові, переважно з низьким зв'язуванням ДНК.• Внутрішні розміри (рівень рідини) сумісні з автоматизованими етапами аспірації та дозування приладу VeriSeq NIPT Microlab STAR.• Висота сумісна з автоматизованими рухами приладу VeriSeq NIPT Microlab STAR.	Постачальник загально-лабораторного обладнання Сумісні резервуари <ul style="list-style-type: none">• Corning Axygen, артикул № RES-SW96-HP-SI• Agilent, артикул № 201246-100

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution **illumina** версії 2

Витратний матеріал	Постачальник
<p>Ємність для реагентів з указаними далі характеристиками.</p> <ul style="list-style-type: none">Ємність, що надійно але без сили захоплюється тримачем приладу VeriSeq NIPT Microlab STAR, з конічним дном, мінімальна місткість 20 мл.Матеріал виготовлення — поліпропілен без вмісту РНКаз/ДНКаз.Внутрішні розміри резервуара (рівень рідини) генерують рівні рідини за допомогою об'ємів реагентів аналізу, сумісних з етапами автоматизованої аспірації та видачі VeriSeq NIPT Microlab STAR.Висота сумісна з автоматизованими рухами приладу VeriSeq NIPT Microlab STAR.	<p>Сумісні ємності:</p> <ul style="list-style-type: none">Illumina Ємність для реагентів, частина № 20095418
<p>Планшети з глибокими лунками з указаними далі характеристиками.</p> <ul style="list-style-type: none">Формат мікропланшета SLAS 1-2004, 3-2004 й 4-2004, 96 лунок з пірамідальним або конічним дном, мінімальна місткість лунки 2 мл.Усі поверхні, що контактують зі зразком, — напівпрозорий поліпропілен, переважно з низьким зв'язуванням ДНК.Розміри лунки генерують рівень рідини, який сумісний з автоматизованими етапами аспірації та дозування VeriSeq NIPT Microlab STAR.Спідниця планшета, яка дозволяє розміщувати штрих-коди планшетів, щоб забезпечити надійне зчеплення із плоскою поверхнею.Рама, стійка до крутного моменту, здатна витримувати мінімум 5600 × г.Висота планшета сумісна з автоматизованими рухами VeriSeq NIPT Microlab STAR	<p>Постачальник загально-лабораторного обладнання</p> <p>Сумісні планшети</p> <ul style="list-style-type: none">Eppendorf, артикул № 0030505301Eppendorf, артикул № 30502302USA Scientific, артикул № 1896-2000

Витратний матеріал	Постачальник
<p>Планшет на 384 лунки з указаними далі характеристиками.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Мікропланшет на 384 лунки, оптимізований для малих об'ємів, мінімальна місткість лунки 50 мкл. • Усі поверхні, що контактують зі зразком, — полістиролові чорного кольору, світлонепроникні, з низьким зв'язуванням ДНК. • Розміри лунки генерують рівні рідини, які сумісні з автоматизованими етапами аспірації та дозування VeriSeq NIPT MicroLab STAR. • Висота планшета сумісна з автоматизованими рухами VeriSeq NIPT MicroLab STAR. • Спідниця планшета, яка дозволяє розміщувати бар-коди планшетів, щоб забезпечити надійне зчеплення із плоскою поверхнею. 	<p>Постачальник загально-лабораторного обладнання</p> <p>Сумісні планшети</p> <ul style="list-style-type: none"> • Corning, артикул № 3820
<p>Планшет на 96 лунок з указаними далі характеристиками.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Мікропланшет зі стійким до перекручування каркасом, здатний витримувати мінімум 5600 × g, і 96 напівпрозорих лунок із конічним дном і дещо піднятими краями, мінімальна місткість лунки 150 мкл. • Усі поверхні, що контактують зі зразком, — поліпропіленові, без умісту РНКаз/ДНКаз, з низьким зв'язуванням ДНК. • Розміри лунки генерують рівні рідини, які сумісні з автоматизованими етапами аспірації та дозування VeriSeq NIPT MicroLab STAR. • Висота планшета сумісна з автоматизованими рухами VeriSeq NIPT MicroLab STAR. <p>ПРИМІТКА: Сумісні пластикові вироби з різними номерами деталей, наприклад, сумісні 96-лункові планшети від різних виробників, можуть бути невзаємозамінними без спеціального калібрування VeriSeq NIPT MicroLab STAR системи Illumina сервісним і допоміжним персоналом. Щоб змінити пластикові вироби, зверніться до служби підтримки Illumina.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Спідниця планшета, яка дозволяє розміщувати бар-коди планшетів, щоб забезпечити надійне зчеплення із плоскою поверхнею. • Сумісний з термоциклерами для денатурації. 	<p>Постачальник загально-лабораторного обладнання</p> <p>Сумісні планшети</p> <ul style="list-style-type: none"> • Eppendorf, артикул № 0030129512 • Eppendorf, артикул № 30129580 • Eppendorf, артикул № 30129598 • Eppendorf, артикул № 30129660 • Eppendorf, артикул № 30129679 • Bio-Rad, артикул № HSP9601

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

Витратний матеріал	Постачальник
Один з таких варіантів ущільнення наведено нижче. <ul style="list-style-type: none">• Фольга Microseal (F)• Фольговий ущільнювач	Bio-Rad, артикул № MSF1001 Beckman Coulter, артикул № 538619
Пробірка Cell-Free DNA BCT CE	Streck, артикул № 218997
Пробки	Sarstedt, артикул № 65.802
Пробірки з кришкою, що закручується, 2 мл	Постачальник загально-лабораторного обладнання
Наконечники для пристрою для піпетування 20 мкл, з фільтром 20 мкл	Постачальник загально-лабораторного обладнання
Наконечники для пристрою для піпетування 200 мкл, з фільтром 200 мкл	Постачальник загально-лабораторного обладнання
Наконечники для пристрою для піпетування 1000 мкл, з фільтром 1000 мкл	Постачальник загально-лабораторного обладнання
Еквівалентні вироби <ul style="list-style-type: none">• Швидкодійний спрей для дезінфекції на спиртовій основі• Розчин дезінфікувального очищувального засобу Рекомендовані вироби <ul style="list-style-type: none">• Деіонізована вода та 70% етанол	Постачальник загально-лабораторного обладнання

Додаткові матеріали, що не надаються

Витратний матеріал	Постачальник
Забуферений фосфатом Дульбекко фізіологічний розчин (DPBS) для контролю без додавання матриці (NTC).	Постачальник загально-лабораторного обладнання
Пробірка з кришкою, що закручується, 10 мл (лише для контрольних зразків)	Sarstedt, артикул № 60.551
Пробірка з кришкою, що закручується, 50 мл	Постачальник загально-лабораторного обладнання
Серологічні піпетки, 25 мл	Постачальник загально-лабораторного обладнання
Серологічні піпетки, 10 мл	Постачальник загально-лабораторного обладнання

Узяття, транспортування та зберігання зразків



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Зі зразками потрібно поводитися так, ніби вони потенційно інфіковані.

- Зразки цільної крові об'ємом 7–10 мл потрібно збирати в пробірки Streck Cell-Free DNA BCT. Не заморожувати.
- Транспортування цільної крові має відповідати всім застосовним нормативним актам щодо транспортування збудників захворювань. Рекомендуються прискорені методи доставки/транспортування.
- Під час транспортування зберігайте при температурі від 4 °C до 30 °C. Після отримання зразків зберігайте їх при температурі від 2 °C до 8 °C до моменту готовності до продовження. Період від взяття крові до початкового виділення плазми не має бути довшим за 5 днів.
- За потреби в повторному тестуванні після обробки зразки можна закрити кришками й зберігати за температури 4 °C ще протягом 5 днів (загалом не більше ніж 10 днів після взяття крові).



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Вплив підвищених температур, що перевищують вищезазначені діапазони, може негативно вплинути на частоту відмов окремих зразків та/або на характеристики зразків.

Застереження

- Цей аналіз містить протеїназу К. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі може завдати шкоду здоров'ю. Використовуйте в добре провітрюваному місці, використовуйте захисний одяг, намагайтеся не вдихати пил та утилізуйте всі контейнери й невикористаний уміст відповідно до застосовних державних стандартів безпеки.
- Цей аналіз містить гуанідинхлорид. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі може завдати шкоди здоров'ю. Використовуйте в добре провітрюваному місці лише в захисному одязі й утилізуйте всі контейнери та невикористаний уміст відповідно до застосовних місцевих державних стандартів безпеки.
- Цей аналіз містить займисту хімічну речовину 2-пропанол. Тримайте подалі від джерел тепла й відкритого полум'я. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі може завдати шкоди здоров'ю. Використовуйте в добре провітрюваному місці лише в захисному одязі й утилізуйте всі контейнери та невикористаний уміст відповідно до застосовних місцевих державних стандартів безпеки.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution **illumina**[®] версії 2

- Цей аналіз містить корозійну й легкозаймисту рідину — диметилсульфоксид. Вдихання, проковтування, потрапляння на шкіру та в очі може завдати шкоди здоров'ю. Використовуйте в добре провітрюваному місці лише в захисному одязі й утилізуйте всі контейнери та невикористаний уміст відповідно до застосовних місцевих державних стандартів безпеки.
- Щоб запобігти утворенню шкідливих газів, заборонено утилізувати залишки від екстракції пкДНК (які містять гуанідингідрохлорид) із залишками з відбілювальним засобом (гіпохлорит натрію).
- Зі зразками потрібно поводитися так, ніби вони містять потенційні збудники інфекційних захворювань.
- Використовуйте стандартні заходи застереження, прийняті в лабораторії. Не використовуйте піпетування ротом. Не вживайте їжу або напої й не паліть у робочих зонах. Під час роботи зі зразками та реагентами для аналізу надягайте одноразові рукавички й лабораторний одяг. Після роботи зі зразками та реагентами для аналізу ретельно мийте руки.
- Заборонено використовувати компоненти аналізу, якщо минув термін придатності, указаний на етикетці упаковки аналізу. Не замінюйте компоненти аналізу на компоненти з інших серій аналізу. Серія аналізу вказується на етикетці упаковки аналізу. Зберігайте компоненти аналізу за вказаної температури.
- Щоб запобігти погіршенню характеристик зразка або реагенту, переконайтеся, що всі випарування гіпохлориту натрію після очищення повністю розсіялися, перш ніж запускати протокол.
- Недотримання викладених процедур може призвести до неправильних результатів або значного погіршення якості зразка.
- негайно повідомляйте про всі серйозні інциденти, пов'язані з цим виробом, у Illumina й компетентні установи держав, у яких перебувають користувач і пацієнт.
- Щоб отримати інформацію про захист навколишнього середовища, здоров'я та безпеку, див. паспорти безпеки продукції (safety data sheet, SDS) на сайті support.illumina.com/sds.html.

Зауваження до процедур

Уникнення забруднення

- Використовуйте нові наконечники й нове витратне лабораторне обладнання.
- Використовуйте стійкі до аерозолю наконечники, щоб знизити ризик перенесення від зразка до зразка та ймовірність перехресного забруднення.
- Через можливість забруднення будьте надзвичайно обережні, щоб уміст лунки завжди повністю залишався в лунці. Не розбризкуйте вміст. Центрифугуйте після кожної операції змішування на вихровій мішалці.
- Дотримуйтеся застосовних нормативних актів, які регламентують принципи належної лабораторної практики й гігієни під час роботи з кров'ю та похідними крові.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

- Під час підготування бібліотеки заборонено користуватись аерозольними вибілювальними спреями. Забруднення відбілювальними засобами в слідовій кількості може спричинити помилку аналізу.
- Розкриваючи будь-які планшети, постарайтеся поставити планшет на тверду рівну поверхню, міцно тримаючи його. Повільно зніміть ущільнювач, переконавшись, що ущільнювач не контактує з відкритими лунками. Будьте обережні, щоб не торкатися відкритих лунок і не порушити вміст. Перехресне забруднення може призвести до отримання неправильних результатів.

Очищення платформи VeriSeq NIPT Microlab STAR

- Перш ніж використовувати платформу, перевірте, чи чиста вона. Принаймні один раз на тиждень виконуйте щотижневе технічне обслуговування, дотримуючись цих інструкцій з очищення.
- Витягніть усі незавантажувані тримачі й очистіть їх швидкодіючим спреєм для дезінфекції на спиртовій основі, деіонізованою водою та 70% етанолом і залиште висихати. Якщо вони сильно забруднені, замочіть їх у розчині дезінфікувального очищувального засобу, промийте в спиртовому дезінфікувальному засобі й залиште висихати.
- Відкрийте передню кришку й протріть платформу тканиною, змоченою деіонізованою водою та 70% етанолом. Особливу увагу потрібно звернути на чистоту висувних блоків.
- Зніміть колектор базової вакуумної системи платформи (BVS) й очистіть колектор, прокладки та внутрішні відсіки BVS тканиною. Намагайтеся не чистити прокладки етиловим спиртом, адже це може призвести до пошкодження матеріалу.
- Приберіть залишки з наконечника для залишків головки CORE 96 і незалежного каналу.
- Зніміть висувну пластину незалежного каналу станції залишків наконечника й очистьте її: нанесіть деіонізовану воду та 70% етанол безпосередньо на поверхню та протріть. Натягніть на раму новий пластиковий пакет і поверніть її на місце. Поверніть на місце чисту висувну пластину наконечника.
- Нанесіть спрей з деіонізованої води та 70% етанолу безпосередньо на поверхню контейнера для залишків CORE з 96 головками та жолоб й очистьте їх:
 - якщо наконечники для залишків складно очистити, протирайте їх тканиною, змоченою у воді без ДНКаз/РНказ, доки забруднення не буде усунуто. Використану тканину потрібно належно утилізувати. Наступний крок — стерилізація дезінфікувальним засобом на основі спирту.
- Змочіть безворсову тканину або ватний тампон 70%-м етиловим спиртом. Протріть вікно лазерного сканера зчитувача бар-коду. За допомогою тієї самої тканини або тампона протріть кожну лунку адаптера планшета SPAC. У разі використання тканини притисніть її до кожної лунки адаптера задньою частиною ручки, щоб як слід очистити лунку всередині.
- Очистьте незалежні канали:
 - на незалежних каналах очистьте висувний рукав наконечника (зовнішня частина каналів піпетування) безворсовою тканиною, змоченою деіонізованою водою та 70% етанолом. (Див. *Довідковий посібник Hamilton Microlab STAR № 15070074.*)

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution **illumina**[®] версії 2

- очистьте стопорний диск та ущільнювальні кільця головки піпетування (зовнішня частина каналів піпетування) безворсовою тканиною, змоченою деіонізованою водою та 70% етанолом.
- Очистьте головку CORE 96:
 - Використовуючи ту саму безворсову тканину, змочену деіонізованою водою та 70% етанолом, очистіть корпус контейнера з 96 головками та нижню частину стопорних дисків.
 - Тією ж тканиною або відірваною смужкою від тканини, змоченої деіонізованою водою та 70% етанолом, прочистьте заглибини навколо бокових сторін каналів піпетування контейнера з 96 головками (очищувальні рухи аналогічні таким у разі користування зубною ниткою), щоб очистити ущільнювальні кільця. Повторіть цю процедуру для кожного каналу піпетування головки 96.
- Нанесіть на передню та бічну кришки спрей з деіонізованої води та 70% етанолу та витріть насухо.
- Очистіть стрічку для захисту автоматичного навантаження тканиною, змоченою деіонізованою водою та 70% етанолом, і протріть її, не докладаючи зусиль.
- Коли платформа й компоненти повністю висохнуть, поверніть тримачі на місце.

ПРИМІТКА Неналежне очищення й обслуговування ML STAR може призвести до перехресного забруднення та погіршення ефективності аналізу.

Контроль якості

Контрольний матеріал із відомими характеристиками продуктивності може бути оцінено, аби виявити відмінності в обробці й технічних процедурах у лабораторії.

Прогін контрольного зразка або контролю без матриці зменшує загальну кількість невідомих материнських зразків, які можна обробити з кожним набором для підготування зразків.

Не обробляйте більше двох зразків NTC на партію з 24 або 48 зразків або чотирьох зразків NTC на партію з 96 зразків.

Інструкції з використання

Підказки й методи

Якщо момент безпечного зупинення не зазначено, відразу переходьте до наступного етапу.

Нанесення бар-кодів на планшети

- Бар-коди для планшетів із повною спідницею мають починатися з PL.
- Бар-коди для планшетів із глибокими лунками мають починатися з DW.
- Нанесіть бар-коди на планшети з повними спідницями й глибокими лунками на боці поруч зі стовпцем 12.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution

версії 2

- Завантажте планшети (бар-код має бути розташовано з правого боку), щоб мати змогу запустити автоматичне сканування.

Закриття й відкриття планшета

- Будьте дуже обережні, щоб уникнути перехресного забруднення — на нижній частині ущільнювача не повинно бути жодної рідини.
 - Переконайтеся, що відкрита нижня сторона ущільнення не контактує з відкритими лунками.
 - Не слід торкатися відкритих лунок.
- Завжди герметично закривайте 96-лунковий планшет, перш ніж виконувати вказані далі етапи протоколу:
 - етапи центрифугування;
 - етапи термічного циклування.
- Щоб герметично закрити планшет, накрийте його плівкою, а потім закрийте. Переконайтеся, що тиск застосований до всього планшета, а ущільнення в кожній окремій лунці є герметичним.
- Перш ніж відкрити планшет, виконайте такі дії:
 - нетривалий час відцентрифугуйте планшет на 96 лунок за 1000 г протягом 20 секунд;
 - розмістіть планшет на рівній поверхні та потім повільно зніміть ущільнення.

VeriSeq NIPT Microlab STAR

- Перед використанням виконайте й задокументуйте потрібне технічне обслуговування відповідно до інструкцій виробника.
- Спостерігайте за ML STAR під час проходження автоматизованих етапів. Стежте за інтерфейсом програмного забезпечення VeriSeq NIPT Workflow Manager версії 2, де можуть з'явитися підказки й інструкції для оператора.
- Під час роботи передня кришка має бути на місці.
- Під час роботи на платформі нічого не має бути.
- Якщо під час події обробки помилок відображається кнопка вибору **Виключити**, не обирайте цей варіант за будь-яких обставин. Якщо метод не може передувати явищу обробки помилок або має обмежені параметри обробки помилок, перервіть прогін.
- Під час вакуумування планшета вручну створіть герметичне ущільнення між планшетом і вакуумним колектором, якщо з'явилася відповідна підказка VeriSeq NIPT Workflow Manager версії 2.
- Система має автоматично утилізувати наконечники з адаптера. Не знімайте наконечники вручну, якщо не побачите відповідну підказку програми.
- Усуньте витрачені реагенти й витратні матеріали відповідно до вказівок Workflow Manager.
- Щоденно випорожнюйте пляшки вакуумної ємності для залишків. Перша пляшка ніколи не має наповнюватися більше ніж на ½. Переповнення вакуумної ємності для залишків може призвести до пошкодження вакуумного насоса й зменшити застосовний вакуум системи.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution **illumina**[®] версії 2

- Для партій з 24, 48 і 96 зразками завантажте повну стійку з 8-канальними наконечниками. перед початком методу.

Обробка зразків

Процедура

1. Для кожної аліквоти завершіть зазначені далі етапи.
 - a. Центрифугуйте зразки з бар-кодами за 1600 г протягом 10 хвилин за температури 4°C з вимкненим гальмом.
 - b. Коли центрифуга повністю зупиниться, витягніть пробірки зі зразками.
Протягом 15 хвилин після центрифугування починайте виділення плазми. Якщо мине більше 15 хвилин, центрифугуйте повторно.
2. Перевірте кожну пробірку на сумісність зі зразком, зокрема переконайтеся, що:
 - об'єм зразка відповідає очікуваному;
 - після центрифугування можна побачити чітке розділення між шарами еритроцитів і плазми зразків;
 - рівень плазми вище лейкоцитарної плівки щонайменше на 1,5 мл;
 - зразок не надто гемолізовано (тобто плазма не має темно-червоного кольору);
 - зразок не ліпемічний (наприклад, плазма не має непрозорого білого або тьмяно-молочного кольору);
 - зразок не згорнувся.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Зразки, які неправильно зберігали або з якими неправильно поводитися, можуть стати непридатними. Якщо в робочому процесі буде оброблено непридатні зразки, вони можуть закупорити планшет для зв'язування під час екстракції, що призведе до переливання зразків у сусідні лунки.

3. Зніміть кришки з пробірок і завантажте їх до тримачів пробірок. Завантажте всі зразки й усі контролю плазми для партії.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Якщо під час явища з обробки помилки відображається варіант Виключити, не обирайте його за будь-яких обставин. Якщо метод не може передувати явищу обробки помилок і у вас є обмежені параметри обробки помилок, перервіть прогін.

Виділення плазми

Підготування

1. Промаркуйте як «Проміжна плазма» 1 новий планшет із глибокими лунками й нанесіть на нього бар-код.
2. Промаркуйте як «Готова плазма» 1 новий планшет із глибокими лунками й нанесіть на нього бар-код.
3. Для партій з 24, 48 і 96 зразками завантажте повну стійку з 8-канальними наконечниками перед початком методу.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Обов'язково використовуйте правильний тип планшета для проміжної плазми й готової плазми. Якщо замість планшета з глибокими лунками буде використано резервуар із глибокими лунками, зразки змішаються, а результати будуть помилковими.

Процедура

1. Відкрийте AppLauncher і виберіть **VeriSeq NIPT Method**.
2. Уведіть унікальний ідентифікатор партії й ім'я користувача, а потім натисніть **OK**.
Ідентифікатор партії може містити ≤ 26 символів. Ви можете використовувати в назві лише цифри, літери, нижні підкреслення (_) або дефіси (-). Приклад наведено далі. 2025-10-16_Batch3.
Ідентифікатор партії не чутливий до регістру. Ідентифікатори партії, чутливі до регістру, не вважаються унікальними.
Назви партій повинні бути унікальними та не повинні відрізнятися лише великими літерами. Наприклад, назви партій Batch01 та Batch01 не є унікальними. Це ж правило застосовується до іменування ідентифікатора зразка.
3. Виберіть **New Batch** (Нова партія).
4. Після ініціювання виберіть **OK**, щоб почати виділення плазми.
5. Виберіть розмір партії та натисніть **OK**.
6. Виберіть кількість контролів без матриць (NTC) і натисніть **OK**.
Комірки для NTC завжди вибирають останніми. Наприклад, під час прогону 24 зразків з двома NTC позиції 23 та 24 призначено для NTC.
7. Виконайте один із зазначених етапів.
 - Щоб завантажити існуючий протокол аналізу, виберіть такий, що пов'язано з партією, і натисніть **OK** (Завантажити).
 - Щоб продовжити й не вибирати протокол аналізу зразка, виберіть **No Sample Sheet** (Без протоколу аналізу зразка).

Інформацію про створення протоколу аналізу див. у *Посібник із програмного забезпечення системи VeriSeq NIPT Solution версії 2 (документ № 1000000067940)*.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

ПРИМІТКА Щоб забезпечити належний аналіз даних, потрібно точно зареєструвати тип зразка (від одноплідної чи двоплідної вагітності) для кожного зразка. Якщо ви вибрали опцію **No Sample Sheet** (Без протоколу аналізу зразка), обов'язково задайте значення зразка в службових інструментах Workflow Manager Service Tools. Для отримання додаткової інформації див. розділ *Посібник із програмного забезпечення системи VeriSeq NIPT Solution версії 2 (документ № 1000000067940)*.

8. Переконайтеся, що бар-коди прикріплено, і завантажте зразки, наконечники та планшети (бар-код має бути праворуч) на тримач.
9. Вибирайте **OK** після кожного запиту завантаження.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48, 96	Наконечник	7–12	Наконечники 1000 мкл	5
			Наконечники 1000 мкл (лише для партії на 96 одиниць)	4, 5
	Пробірка	15	Підготовлені пробірки для зразків крові 1–24 (для всіх розмірів партії)	1–24
	Пробірка	16	Підготовлені пробірки для зразків крові 25–48 (для розмірів партії на 48 і 96 одиниць)	25–48
	Пробірка	17	Підготовлені пробірки для зразків крові 49–72 (лише для партії на 96 одиниць)	49–72
	Пробірка	18	Підготовлені пробірки для зразків крові 73–96 (лише для партії на 96 одиниць)	73–96
	Multiflex	19–24	Порожній планшет із глибокими лунками, готова плазма з бар-кодом	4
	Multiflex	19–24	Порожній планшет із глибокими лунками, проміжна плазма з бар-кодом	5
	Реагент	47	[Додатково] Забуферений фосфатом Дульбекко фізіологічний розчин (DPBS) для контролю без додавання матриці (NTC).	5

10. Переконайтеся, що носії, лабораторне обладнання та реагенти завантажені правильно.
11. На екрані Pre-Spin Deck Verification натисніть кнопку **OK**.
12. Спостерігайте за роботою ML STAR під час проходження автоматизованих етапів.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

13. У разі виникнення запиту від диспетчера Workflow Manager переконайтеся, що на завантажувальній платформі ML STAR немає жодних перешкод, щоб ML STAR міг вивантажити тримачі з неї.
14. Виберіть **Unload** (Вивантажити), щоб вивантажити платформу.
15. Приберіть планшет для проміжної плазми з глибокими лунками.
 - a. Перевірте планшет щодо відповідності об'ємів у кожній лунці (відсутність помилок піпетування). Очікуваний об'єм становить 1000 мкл.
 - b. Запишіть всі суперечності після завершення процедури виділення плазми.
 - c. Герметично закрийте планшет, завантажте противагу та центрифугуйте за 5600 g протягом 10 хвилин із вимкненим гальмом або з найнижчими параметрами.
16. Виберіть **Yes** (Так), щоб перейти до кінцевого етапу виділення плазми.
17. Зніміть кришку планшета й завантажте планшет на тримач.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48, 96	Multiflex	19–24	Планшет для проміжної плазми з глибокими лунками	5

18. Виберіть прапорець **Intermediate Plasma plate has been spun** (Проміжну плазму відцентрифуговано) і натисніть **OK**.
19. Спостерігайте за роботою ML STAR під час проходження автоматизованих етапів.
20. У разі виникнення запиту від диспетчера Workflow Manager переконайтеся, що на завантажувальній платформі ML STAR немає жодних перешкод, щоб ML STAR міг вивантажити тримачі з неї.
21. Виберіть **Unload** (Вивантажити), щоб вивантажити платформу.
22. Після запиту від диспетчера робочого процесу Workflow Manager звільніть тримачі та платформу.
23. Приберіть планшет для готової плазми з глибокими лунками.
24. Перевірте планшет на наявність наступних помилок:
 - різні об'єми в кожній лунці; очікуваний об'єм — 900 мкл;
 - видимий осад із клітин;
 - надлишковий гемоліз.Якщо спостерігаються аномальні видимі осади з клітин або надлишковий гемоліз, анулюйте проблемний зразок наприкінці методу виділення плазми або використайте диспетчер партій Batch Manager. Для отримання додаткової інформації про використання див. *Посібник із програмного забезпечення системи VeriSeq NIPT Solution версії 2 (документ № 1000000067940)*.
25. У разі отримання запиту від Workflow Manager виберіть **OK**.
26. Уведіть примітки щодо проблемних лунок і натисніть **OK**.
27. Виконайте один із наведених далі етапів.
 - Щоб продовжити екстракцію пкДНК, натисніть **Yes** (Так).

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

- Щоб зупинитися, натисніть **Exit** (Вихід).

ТОЧКА БЕЗПЕЧНОГО ЗУПИНЕННЯ

Якщо ви зупиняєте процес, герметично закрийте планшет для готової плазми та зберігайте його за температури від 2 °C до 8 °C протягом до 7 діб.

Екстракція пкДНК

Підготування

- Візуально перевірте терміни придатності на коробці з матеріалами для екстракції та коробці з приладдям, щоб переконатися, що вони придатні до використання.
- Приготуйте вказані далі реагенти. Промаркуйте ємності резервуарів і резервуари з глибокими лунками, указавши назву реагентів.

Реагент	Зберігання	Інструкції
Планшет для готової плазми з глибокими лунками	Від 2 °C до 8 °C	У разі попереднього зберігання залиште на 30 хвилин і доведіть до кімнатної температури. Відцентрифугуйте за 1000 g протягом 20 секунд. Розкрийте планшет для готової плазми з глибокими лунками перед використанням.

- Повільно додайте 3,75 мл протеїназного буфера до кожної пробірки для реагенту, що містить протеїназу К.
 - Підготуйте 3 пробірки для 24 і 48 зразків.
 - Підготуйте 4 пробірки для 96 зразків.
- Закрийте кришкою пробірки з протеїназою К і змішайте на вихровій мішалці до ресуспендування.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Не забруднюйте гумову кришку. Якщо на гумову кришку потраплять інші речовини, це може призвести до забруднення майбутніх зразків.

- Об'єднайте підготовлену протеїназу К з усіх пробірок у кюветі для реагентів і промаркуйте її, указавши, що це протеїназа К.
- Додайте 100 мл етилового спирту 100 % до кожної пляшки з реагентом, у якій міститься буфер для промивання I.
 - Підготуйте 1 пляшку для 24 і 48 зразків.
 - Підготуйте 2 пляшки для 96 зразків.
- Переверніть пляшки з буфером для промивання II, щоб перемішати вміст.
- Поставте відповідні позначки на пляшках із буфером для промивання II.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

9. Промаркуйте як «Проміжний» 1 новий планшет із повною спідницею та нанесіть на нього бар-код планшета.
10. Промаркуйте як «Елюювання пкДНК» 1 новий планшет із повною спідницею та нанесіть на нього бар-код планшета.
11. Промаркуйте як «Проміжна екстракція» 1 новий планшет із глибокими лунками й нанесіть на нього бар-код планшета з глибокими лунками.
12. Нанесіть бар-код планшета на планшет для зв'язування ДНК.
13. Наклейте фольгу на невикористані лунки для 24 і 48 партій зразків.
14. Підготуйте розчин 70%-го етилового спирту для очищення (70 % етилового спирту, 30 % води без умісту ДНКази/РНКази), щоб очистити вакуумну систему.
15. Підготуйте вакуумну систему.
 - a. Зніміть вакуумний колектор і очистьте його 70%-м етиловим спиртом.
Намагайтеся не чистити прокладки за допомогою етилового спирту, адже це може призвести до пошкодження матеріалу.
 - b. Спорожніть вакуумну ємність для залишків.
 - c. Переконайтеся, що вакуумну систему ML STAR увімкнено.

Процедура

1. Виберіть **OK**, щоб почати екстракцію пкДНК.
2. Якщо **VeriSeq NIPT Method** (метод VeriSeq NIPT) ще відкрито, зробіть наведене далі.
 - a. Відкрийте AppLauncher і виберіть **VeriSeq NIPT Method** (Метод VeriSeq NIPT).
 - b. Уведіть ідентифікатор партії й ім'я користувача, а потім натисніть **OK**.
3. Завантажте наконечники в тримачі для наконечників, як описано далі, і натисніть **OK**.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Перед запуском методу для партій із 24, 48 і 96 зразків додайте повну стійку з 8-канальними наконечниками.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24	Наконечник	1–6	Наконечники 1000 мкл	1
		7–12	Наконечники 300 мкл	1
48	Наконечник	1–6	Наконечники 1000 мкл	1, 2
		7–12	Наконечники 300 мкл	1
96	Наконечник	1–6	Наконечники 1000 мкл	1, 2, 3, 4
		7–12	Наконечники 300 мкл	1

4. Завантажте підраховані наконечники в тримачі для наконечників, як описано далі.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48, 96	Наконечник	49–54	Наконечники 1000 мкл	1
			Наконечники 300 мкл	2
			Наконечники 50 мкл	3

- Укажіть розташування першого й останнього наконечників для кожної стійки для наконечників і натисніть **ОК**.
- Відскануйте бар-коди коробки з матеріалами для екстракції.
- Уведіть ім'я користувача або ініціали особи, що готує реагенти, і натисніть **ОК**.
- Відскануйте бар-коди коробки з приладдям.
- Уведіть ім'я користувача або ініціали особи, що готує реагенти, і натисніть **ОК**.
- Переконайтеся, що бар-коди прикріплено.
- Розкрийте планшет для готової плазми з глибокими лунками, якщо необхідно.
- Завантажте планшети (бар-код має бути праворуч) на тримач планшета, як описано дані, і натисніть **ОК**.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48, 96	Multiflex	19–24	Новий планшет із повною спідницею, проміжний із бар-кодом	1
			Новий планшет із повною спідницею, елювання пкДНК з бар-кодом	2
			Новий планшет із глибокими лунками, проміжна екстракція з бар-кодом	4
			Планшет для готової плазми з глибокими лунками, з бар-кодом	5

- Переконайтеся, що планшет для зв'язування ДНК має бар-код, і натисніть **ОК**.
- Для партій із частковим заповненням планшета застосовуйте обмежувальну герметизацію планшета над лунками, що не використовуються (стовпці 4–12 для партій з 24 зразків і стовпці 7–12 для партій з 48 зразків).
- Завантажте планшет для зв'язування ДНК на вакуумний колектор так, щоб бар-код був праворуч.
- Перед розміщенням планшета для зв'язування на колекторі BVS візуально огляньте лунки на наявність можливих перешкод.
Це може перешкоджати потоку реагентів у вакуумі.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

17. Якщо ви використовуєте 24 або 48 партій зразків, накрийте невикористані лунки та закрийте їх фольгою. Установіть прапорець **Are DNA Binding Plate Columns Sealed?** (Стовпці на планшеті для зв'язування ДНК герметично закрито?), а потім виберіть **ОК**.

18. Завантажте кювети з реагентами на відповідний тримач, як описано далі, і натисніть **ОК**.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48	Реагент	47	16 мл Elution Buffer	1
			Протеїназа К 11 мл	2
96	Реагент	47	16 мл Elution Buffer	1
			15 мл Протеїназа К	2

19. Перенесіть зазначені реагенти до резервуарів із глибокими лунками, а потім завантажте резервуари на відповідні тримачі, як описано далі.

20. Виберіть **ОК**.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48	3 глибокими лунками	39–44	125 мл буфера для промивання II	1
			125 мл буфера для промивання I	2
			60 мл 100%-го етилового спирту	3
			100 мл Lysis Buffer	4
			60 мл води без умісту ДНКаз/РНКаз	5
96	3 глибокими лунками	39–44	200 мл буфера для промивання II	1
			125 мл буфера для промивання I	2
			100 мл 100%-го етилового спирту	3
			100 мл Lysis Buffer	4
			100 мл води без умісту ДНКаз/РНКаз	5

21. Зачекайте завершення автоматичної процедури перевірки об'єму.

22. Переконайтеся, що вакуумна ємність для залишків порожня (рекомендовано заповнення не більше ніж наполовину), і виберіть **ОК**.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

23. Перевірте розташування всіх тримачів, лабораторного обладнання та реагентів, а потім натисніть **OK** на екрані Extraction Deck Verification (Верифікація платформи екстракції).
24. Спостерігайте за ML STAR під час проходження автоматизованих етапів.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Потрібно вручну ліквідувати переповнення зразками лунок, яке не виявила система, доки це не призвело до забруднення сусідніх лунок.

25. Після останнього вакуумного етапу приберіть планшет для зв'язування ДНК й очистьте нижню поверхню 70%-м етиловим спиртом.
26. Щільно закрийте всі відкриті лунки на планшеті для зв'язування ДНК, а потім помістіть його на порожній планшет для готової плазми з глибокими лунками.
27. Відцентрифугуйте планшет для зв'язування ДНК в зборі з планшетом для готової плазми за 5600 g протягом 10 хвилин з увімкненим гальмом.
28. Виберіть **OK**.
29. Під час центрифугування планшета для зв'язування ДНК виконайте вакуумне очищення.
 - a. Зніміть вакуумний колектор і виберіть **OK**.
 - b. Зачекайте, доки не завершиться автоматична утилізація залишків.
 - c. Очистьте вакуумний колектор і внутрішні частини вакуумної системи 70%-м етиловим спиртом, а потім поверніть на місце вакуумний колектор.
 - d. Виберіть прапорець **Manifold is on Vacuum** (Колектор під вакуумом), щоб ініціювати перенесення планшета для елюювання на вакуумний колектор, і натисніть **OK**.
30. Після центрифугування відкрийте лунки, які містять зразки, на планшеті для зв'язування ДНК.
31. Помістіть планшет для зв'язування ДНК зверху на планшет для елюювання пкДНК, який знаходиться у вакуумному колекторі.
32. Завантажте планшет для зв'язування ДНК так, щоб бар-код був праворуч, і натисніть **OK**.
33. Спостерігайте за ML STAR під час проходження автоматизованих етапів.
34. Після інкубації встановіть прапорець **Plates are assembled as indicated** (Планшети складено вказаним чином). Переконайтеся, що вузол планшета для елюювання ДНК/пкДНК розташовано на підставці (якщо цього потребує центрифуга).
35. Щільно закрийте незакриті лунки на планшеті для зв'язування ДНК.
36. Центрифугуйте за 5600 g протягом 2 хвилин з увімкненим гальмом, а потім виберіть **OK**.
37. Візуально перевірте планшет для елюювання пкДНК щодо відповідності об'ємів у кожній лунці. Очікуваний об'єм становить приблизно 55 мкл.
38. Герметично закрийте планшет для елюювання пкДНК, щоб підготувати бібліотеки.
39. У разі виникнення запиту від диспетчера Workflow Manager переконайтеся, що ML STAR на завантажувальній платформі немає жодних перешкод, щоб ML STAR міг вивантажити тримачі з неї.
40. Виберіть **Unload** (Вивантажити), щоб вивантажити платформу.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution версії 2

41. Вивантажте всі тримачі й очистіть платформу ML STAR, а потім натисніть **OK**.

42. Уведіть примітки щодо проблемних лунок і натисніть **OK**.

43. Виконайте один із зазначених етапів.

- Щоб продовжити підготування бібліотек, виберіть **Yes** (Так).
- Щоб зупинитися, натисніть **Exit** (Вихід).

ТОЧКА БЕЗПЕЧНОГО ЗУПИНЕННЯ

Якщо виконуєте зупинення, герметично закрийте планшет для елюювання пкДНК й зберігайте його за температури від -25 °C до -15 °C протягом до 7 діб.

Підготування бібліотек

Підготування

1. Огляньте коробку з матеріалами для підготування бібліотек і коробку з приладдям, щоб переконатися, що термін дії набору не минув.
2. Приготуйте вказані далі реагенти. Промаркуйте кювети й резервуари з глибокими лунками, указавши назви реагентів.

Реагент	Зберігання	Інструкції
A-Tailing Mix	Від -25 °C до -15 °C	Розморозьте за кімнатної температури. Змішайте на вихровій мішалці, а потім нетривалий час відцентрифугуйте.
Планшет для елюювання пкДНК	Від -25 °C до -15 °C	За умови попереднього зберігання переконайтеся, чи планшет не зберігався понад 7 діб і розморозувався за кімнатної температури. Змішайте на вихровій мішалці за 1500 об/хв протягом 1 хвилини. Відцентрифугуйте за 1000 г протягом 20 секунд.
End Repair Mix	Від -25 °C до -15 °C	Розморозьте за кімнатної температури. Змішайте на вихровій мішалці.
Hybridization Buffer	Від -25 °C до -15 °C	Розморозьте за кімнатної температури. Змішайте на вихровій мішалці. Після використання поверніть у місце зберігання.
Ligation Mix	Від -25 °C до -15 °C	Розморозьте за кімнатної температури. Змішайте на вихровій мішалці, а потім нетривалий час відцентрифугуйте.
Планшет адаптерів NIPT DNA	Від -25 °C до -15 °C	Розморозьте за кімнатної температури. Змішайте на вихровій мішалці. Відцентрифугуйте за 1000 г протягом 20 секунд.
Resuspension Buffer	Від 2 °C до 8 °C	Змішайте на вихровій мішалці. Після використання поверніть у місце зберігання.
Sample Purification Beads	Від 2 °C до 8 °C	Залиште на 30 хвилин і доведіть до кімнатної температури. Перед кожним використанням енергійно змішайте. Змішайте або на вихровій мішалці, або перегортаючи, доки всі гранули не суспендуються й суміш не стане однорідною.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Розкриваючи адаптерний планшет NIPT DNA, будьте дуже обережні, щоб не допустити перехресного забруднення лунок аерозолем, що може призвести до отримання неправильних результатів.

3. Якщо планшет для елюювання пкДНК зберігався в замороженому стані, підготуйте його наступним чином.
 - a. Розморозьте за кімнатної температури.
 - b. Змішайте на вихровій мішалці за 1500 об/хв протягом 1 хвилини.
 - c. Відцентрифугуйте за 1000 g протягом 20 секунд.
4. Промаркуйте як «Бібліотеки» 1 новий планшет із повною спідницею та нанесіть на нього бар-код планшета.
5. Приготуйте 80% етанол з абсолютного етанолу. Змішайте 40 мл 100% етанолу та 10 мл води без ДНКази/РНКази. Переверніть для перемішування вмісту.
6. Переконайтеся, що термоконтроль ML STAR увімкнено.

Розведення ферментів

1. Об'єднайте A-Tailing Mix та Resuspension Buffer у пробірку з кришкою, що закручується. Змішайте на вихровій мішалці, а потім нетривалий час відцентрифугуйте.

Розмір партії зразків	A-Tailing Mix (мкл)	Resuspension Buffer (мкл)
24, 48	900	1200
96	1800	2400

2. З'єднайте суміш для лігування й буфер для ресуспендування в пробірці з кришкою, що закручується. Змішайте на вихровій мішалці, а потім нетривалий час відцентрифугуйте.

Розмір партії зразків	Ligation Mix (мкл)	Resuspension Buffer (мкл)
24, 48	230	1713
96	440	3278

Процедура

1. Виберіть **OK**, щоб почати підготування бібліотеки. Якщо **VeriSeq NIPT Method** (метод VeriSeq NIPT) ще не відкрито, зробіть наведене далі.
 - a. Відкрийте AppLauncher і виберіть **VeriSeq NIPT Method** (Метод VeriSeq NIPT).
 - b. Уведіть ідентифікатор партії й ім'я користувача, а потім натисніть **OK**.
2. Переконайтеся, що вказані далі витратні матеріали приготовлено відповідно до вказівок на екрані Reagent Preparation (Підготування реагентів):
 - A-Tailing Mix, і Ligation Mix 80% етанол

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

- гранули для очищення зразків, End Repair Mix і планшет адаптерів ДНК NIPT.
3. Установіть прапорці й натисніть **ОК**.
 4. Відскануйте бар-коди коробки з матеріалами для підготування бібліотек.
 5. Уведіть ім'я користувача або ініціали особи, що готує реагенти, і натисніть **ОК**.
 6. Відскануйте бар-коди коробки з приладдям.
 7. Уведіть ім'я користувача або ініціали особи, що готує реагенти, і натисніть **ОК**.
 8. Завантажте наконечники в тримачі для наконечників, як описано далі, і натисніть **ОК** для кожного тримача.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24	Наконечник	1–6	Наконечники 50 мкл	1
		7–12	Наконечники 300 мкл	1, 2
48	Наконечник	1–6	Наконечники 50 мкл	1, 2
		7–12	Наконечники 300 мкл	1, 2, 3, 4
96	Наконечник	1–6	Наконечники 50 мкл	1, 2, 3, 4
		7–12	Наконечники 300 мкл	1, 2, 3, 4, 5

9. Якщо ви зупините протокол після завершення процедури екстракції пкДНК, завантажте підраховані наконечники в тримачі для наконечників, як описано далі.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48, 96	Наконечник	49–54	Наконечники 1000 мкл	1
			Наконечники 300 мкл	2
			Наконечники 50 мкл	3

10. Укажіть розташування першого наконечника для кожної стійки для наконечників і натисніть **ОК**.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

11. Переконайтеся, що бар-коди прикріплено, і завантажте планшети (бар-код має бути праворуч) на тримач для планшетів, а потім виберіть **ОК**.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48, 96	Multiflex	19–24	Планшет для елюювання пкДНК, з бар-кодом	1
			Планшет адаптерів ДНК NIPT, з бар-кодом	2
			Новий 96-лунковий планшет із повною спідницею, бібліотеки, з бар-кодом	3
			Нові 96-лункові планшети з повною спідницею	4, 5

12. Завантажте тримач із глибокими лунками, як описано далі, і натисніть **ОК**.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48, 96	3 глибокими лунками	39–44	50 мл етилового спирту 80 % у резервуарі з глибокими лунками	1
			Нові 96-лункові планшети з повною спідницею	2, 3, 4, 5

13. Завантажте кювети з реагентами на відповідний тримач, як описано далі, і натисніть **ОК**.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48, 96	Реагент	47	2,5 мл End Repair Mix	1
			Підготовлена суміш A-Tailing Mix (загальний об'єм)	2
			Підготовлена суміш для лігування (загальний об'єм)	3
			10 мл гранул для очищення зразків	4
			12 мл гібридизаційного буфера	5

14. Збережіть решту 12 мл буфера для гібридизації (HT1) в контейнері для об'єднання.
15. Переконайтеся, що тримачі, лабораторне обладнання й реагенти завантажено відповідно до вказівок, і виберіть **ОК** на екрані Library Deck Verification (Верифікація платформи бібліотек).
16. Зачекайте завершення автоматичної процедури перевірки об'єму.
17. Спостерігайте за ML STAR під час проходження автоматизованих етапів.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

- У разі виникнення запиту від диспетчера Workflow Manager переконайтеся, що на завантажувальній платформі ML STAR немає жодних перешкод, щоб ML STAR міг вивантажити тримачі з неї.
- Виберіть **Unload** (Вивантажити), щоб вивантажити платформу.
- Перевірте планшет для бібліотек на відповідність об'ємів у кожній лунці.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Якщо об'єми лунок не співпадають, зразки можуть не пройти автоматизований контроль якості.

- Для забезпечення зберігання герметично закрийте та зафіксуйте планшет для бібліотек.
- Вивантажте всі тримачі й очистьте платформу, а потім натисніть **OK**.
- Уведіть примітки щодо проблемних лунок і натисніть **OK**.
- Виконайте один із зазначених етапів.
 - Щоб продовжити кількісний аналіз бібліотек, виберіть **Yes** (Так).
 - Щоб зупинитися, натисніть **Exit** (Вихід).

ТОЧКА БЕЗПЕЧНОГО ЗУПИНЕННЯ

Якщо виконуєте зупинення, перед зберіганням герметично закрийте планшет. Планшет для бібліотек стабільний до 7 діб з дати приготування за температури від -25 °C до -15 °C.

Кількісний аналіз бібліотек

Підготування

- Приготуйте зазначені далі реагенти:

Реагент	Зберігання	Інструкції
Реагент для кількісного визначення ДНК	Від 2 °C до 8 °C	Захищайте реагент від світла. Розморозуйте за кімнатної температури протягом 30–150 хвилин. (Рекомендовано усувати реагенти на початку процедури підготування бібліотек.) Змішайте на вихровій мішалці, а потім нетривалий час відцентрифугуйте.
Стандарт для кількісного визначення ДНК	Від 2 °C до 8 °C	Змішайте на вихровій мішалці, а потім нетривалий час відцентрифугуйте.
Resuspension Buffer	Від 2 °C до 8 °C	Змішайте на вихровій мішалці.

- Якщо планшет Бібліотеки зберігався в замороженому стані, підготуйте його наступним чином.
 - Підтвердіть, що планшет не зберігався довше 7 діб і розморозувався за кімнатної температури.
 - Змішайте на вихровій мішалці.

- c. Відцентрифугуйте за 1000 × g протягом 1 хвилини.
3. Вмикайте флуориметр за 10 хвилин до використання.
4. Нанесіть бар-код планшета на новий 384-лунковий планшет.
5. Нанесіть бар-код планшета на новий планшет з повною спідницею.

Процедура

1. Виберіть **ОК**, щоб почати кількісне визначення.
2. Якщо метод VeriSeq NIPT ще не відкрито, зробіть наведене далі.
 - a. Відкрийте AppLauncher і виберіть **VeriSeq NIPT Method** (Метод VeriSeq NIPT).
 - b. Уведіть ідентифікатор партії й ім'я користувача, а потім натисніть **ОК**.
3. Відскануйте бар-коди коробки з приладдям.
4. Уведіть ім'я користувача або ініціали особи, що готує реагенти, і натисніть **ОК**.
5. Завантажте наконечники в тримач для наконечників, як описано далі, і натисніть **ОК**.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48	Наконечник	1–6	Стійка для наконечників 300 мкл	1
			Стійка для наконечників 50 мкл	2
96	Наконечник	1–6	Стійка для наконечників 300 мкл	1
			Стійка для наконечників 50 мкл	2, 3

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

6. Переконайтеся, що бар-коди прикріплено.
7. Якщо необхідно, відкрийте планшет із бібліотеками.
8. Завантажте планшети (бар-код має бути праворуч) на тримач Multiflex, як описано дані, і натисніть **ОК**.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48, 96	Multiflex	19–24	Нові планшети з повною спідницею, з бар-кодом	1
			Новий 384-лунковий планшет, з бар-кодом	2
			Планшет із бібліотеками, зі бар-кодом	3
			Нові 96-лункові планшети з повною спідницею	4, 5

9. Завантажте пробірки з реагентами без кришок на тримач для пробірок, як описано далі, і натисніть **ОК**.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48, 96	Пробірка	46	Стандарт для кількісного визначення ДНК	1
			Реагент для кількісного визначення ДНК	2

10. Завантажте кювети з реагентами на відповідний тримач, як описано далі, і натисніть **ОК**.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48, 96	Реагент	47	Нова кювета для реагенту (порожня)	1
			16 мл Resuspension Buffer	2

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

11. Якщо ви зупините протокол після завершення процедури підготування бібліотеки, завантажте підраховані наконечники в тримачі для наконечників, як описано далі.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48, 96	Наконечник	49–54	Наконечники 1000 мкл	1
			Наконечники 300 мкл	2
			Наконечники 50 мкл	3

12. Укажіть розташування першого й останнього наконечників для кожної стійки для наконечників і натисніть **ОК**.
13. Переконайтеся, що тримачі, лабораторне обладнання й реагенти завантажено відповідно до вказівок, і виберіть **ОК** на екрані Quant Deck Verification (Верифікація платформи кількісного аналізу).
14. Зачекайте завершення автоматичної процедури перевірки об'єму.
15. Спостерігайте за ML STAR під час проходження автоматизованих етапів.
16. У разі виникнення запиту від диспетчера Workflow Manager переконайтеся, що на завантажувальній платформі ML STAR немає жодних перешкод, щоб ML STAR міг вивантажити тримачі з неї.
17. Виберіть **Unload** (Вивантажити), щоб вивантажити платформу.
18. Вивантажте планшет із бібліотеками.
- Перевірте планшет щодо відповідності об'ємів у кожній лунці.
 - Закрийте герметично планшет із бібліотеками й зберігайте за кімнатної температури до завершення аналізу даних флуорометрії.
19. Вивантажте решту 96-лункових планшетів і перевірте щодо відповідності об'ємів у кожній лунці. Похибки за повними об'ємами можуть вказувати на проблеми на етапах піпетування.
20. Вивантажте 384-лунковий планшет і перевірте щодо наявності рідини у відповідних лунках.
21. Закрийте планшет фольговим ущільнювачем.
22. Відцентрифугуйте за 1000 г протягом 20 секунд.
23. Інкубуйте за кімнатної температури протягом 10 хвилин, захищаючи від світла.
24. Вивантажте всі тримачі.
25. Очистіть деку ML STAR, а потім натисніть кнопку **ОК**.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Не викидайте реагенти для кількісного визначення до отримання даних. Ці реагенти будуть потрібні, якщо знадобиться повторне кількісне визначення.

26. Після інкубації видаліть фольгове ущільнення та завантажте 384-лунковий планшет на зчитувач мікропланшетів. Обов'язково використовуйте фіолетовий адаптерний планшет (номер: 0310-4336), наданий Molecular Devices або еквівалент, якщо доречно.
- Переконайтеся, що під час завантаження A1 розташовано в правому верхньому куті.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

27. Двічі натисніть шаблон VeriSeq NIPT, щоб відкрити його в програмі SoftMax Pro.
28. Виберіть **New Experiment** (Новий експеримент) на вкладці Home (Головний екран).
29. Виберіть **Read** (Зчитати).
30. Експортуйте дані як XML, як описано далі.
 - a. Натисніть правою кнопкою миші позначку **Plate** (Планшет), а потім виберіть **Rename** (Перейменувати).
 - b. Відскануйте бар-код на планшеті для кількісного визначення, а потім виберіть **OK**.
 - c. У верхньому лівому куті екрана натисніть позначку планшета, а потім виберіть **Export** (Експортувати) у меню.
 - d. Установіть прапорець **Expt name** (Експортувати назву), зазначте варіант дати для планшета raw, задайте формат вихідних даних XML, а потім виберіть **OK**.
 - e. Зазначте шлях до файлу та його ім'я, а потім натисніть **Save** (Зберегти).Комп'ютеру Hamilton потрібно надати доступ до розташування файлу. У назві файлу та шляху до нього не використовуйте пробіли.

Аналіз

1. У ML STAR уведіть ідентифікатор флуорометра на екрані Scanner Information (Інформація про сканер).
2. Уведіть коментарі щодо прогону флуорометра й натисніть **OK**.
3. Перейдіть у *.xml файл кількісного аналізу, у якому містяться дані флуорометрії, і виберіть **OK**.
4. Перегляньте результати аналізу стандартної кривої та концентрації зразка й виберіть **OK**.
5. Якщо потрібно повторно відсканувати планшет, натисніть **Rescan** (Сканувати повторно). Зразки чутливі до світла та швидко псуються. За потреби невідкладно секвенуйте повторно.
6. Уведіть примітки щодо проблемних лунок і натисніть **OK**.
7. Оцініть результати й продовжуйте роботу, як описано далі.
 - Якщо результати відповідають вимогам, переходьте до отримання [Отримання пулу бібліотек на стор. 42](#). Технічні характеристики див. у таблиці кількісних показників контролю якості та меж у розділі *Посібник із програмного забезпечення системи VeriSeq NIPT Solution версії 2 (документ № 1000000067940)*.
 - Якщо результати не відповідають вимогам, система скасує метод. Повторіть процедури кількісного визначення, починаючи з етапу [Підготування на стор. 37](#).
8. Виконайте один із зазначених етапів.
 - Щоб продовжити [Отримання пулу бібліотек на стор. 42](#), виберіть **Yes** (Так).
 - Щоб зупинитися, натисніть **Exit** (Вихід).

ТОЧКА БЕЗПЕЧНОГО ЗУПИНЕННЯ

Якщо виконуєте зупинення, перед зберіганням герметично закрийте планшет. Планшет для бібліотек стабільний щонайбільше 7 діб сумарного часу зберігання за температури від -25 °C до -15 °C.

Отримання пулу бібліотек

Підготування

1. Приготуйте зазначені далі реагенти:

Реагент	Зберігання	Інструкції
Hybridization Buffer	Від -25 °C до -15 °C	Розморозьте за кімнатної температури. Змішайте на вихровій мішалці. Після використання поверніть у місце зберігання.

2. Якщо планшет Бібліотеки зберігався в замороженому стані, підготуйте його наступним чином.
 - a. Підтвердіть, що планшет не зберігався довше 7 діб і розморозувався за кімнатної температури.
 - b. Змішайте на вихровій мішалці за 1500 об/хв протягом 1 хвилини.
 - c. Відцентрифугуйте за 1000 г протягом 20 секунд.
 - d. Піпетка для змішування.
3. Промаркуйте порожню пробірку для об'єднання в пул як Пул А. Для 96 зразків промаркуйте другу порожню пробірку для об'єднання в пул як Пул В.
4. Збережіть програму денатурації, описану нижче, на термоциклері з кришкою з підігрівом.
 - a. Виберіть варіант із кришкою з попереднім підігрівом і встановіть температуру 102 °C.
 - b. Установіть об'єм реакції 50 мкл.
 - c. Установіть швидкість змінення температури на максимальне значення (≥ 2 °C/секунда).
 - d. Інкубуйте за температури 96 °C протягом 10 хвилин і ще 5 секунд за 4 °C.
 - e. Залишіть за температури 4 °C.

Процедура

1. Помістіть планшет для бібліотек на попередньо запрограмований термоциклер і запустіть програму денатурації.

Не здійснюйте денатурацію для планшета для бібліотек, доки після кількісного визначення не буде отримано підтвердження відповідності показників QC, тому що, можливо, знадобиться виконати повторне кількісне визначення.
2. Відцентрифугуйте планшет для бібліотек за 1000 г протягом 20 секунд.
3. Натисніть **ОК**, щоб запустити бібліотеки пулу.
4. Якщо метод VeriSeq NIPT не відкрито, зробіть наведене далі.
 - a. Відкрийте AppLauncher і виберіть **VeriSeq NIPT Method** (Метод VeriSeq NIPT).
 - b. Уведіть ідентифікатор партії й ім'я користувача, а потім натисніть **ОК**.
5. Виберіть концентрацію пулу й натисніть **ОК**.

Цільова щільність кластера становить 220–260 К/мм².

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

ПРИМІТКА Можливо, для партій 24 зразків потрібно буде збільшити концентрації та/або об'єми пулу, щоб зберегти однакову щільність кластера, отриману для партій з 48/96 зразками.

6. За наявності підказок від Workflow Manager виконайте один з наведених далі кроків.
- Щоб завантажити протокол аналізу, виберіть такий, що пов'язано з партією, і натисніть **Load** (Завантажити).
 - Щоб застосувати значення системи за замовчуванням для решти типів зразків, повідомлення про стать або типу скринінгу, виберіть **Use Default** (Використовувати значення за замовчуванням) для кожного параметра.
Інформацію про створення протоколу аналізу див. у *Посібник із програмного забезпечення системи VeriSeq NIPT Solution версії 2 (документ № 1000000067940)*.

7. Виберіть **Start** (Розпочати), щоб почати відлік етапу денатурації планшета.

8. Завантажте наконечники в тримачі для наконечників, як описано далі.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48, 96	Наконечник	7–12	Наконечники з фільтром 50 мкл	1

9. Завантажте планшет із денатурованою бібліотекою (бар-код має бути праворуч) на тримач Multiflex, як описано дані, і натисніть **OK**.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48, 96	Multiflex	19–24	Планшет із денатурованою бібліотекою (з бар-кодом)	1

10. Завантажте пробірки для об'єднання в пул у тримач для пробірок, як описано далі, і натисніть **OK**.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48	Пробірка	46	Нова пробірка 2 мл, пул А	1
96	Пробірка	46	Нова пробірка 2 мл, пул А	1
			Нова пробірка 2 мл, пул В	2

11. Завантажте кювети з реагентами на відповідний тримач, як описано далі, і натисніть **OK**.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48, 96	Реагент	47	3 мл гібридизаційного буфера	1

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

12. Завантажте наконечники в тримачі для наконечників, як описано далі.

Розмір партії зразків	Тримач Тип	Доріжка	Позиція	Положення
24, 48, 96	Наконечник	49–54	Наконечники з фільтром 1000 мкл	1
			Наконечники з фільтром 300 мкл	2
			Наконечники з фільтром 50 мкл	3

13. Укажіть розташування першого й останнього наконечників для кожної стійки для наконечників і натисніть **OK**.
14. Переконайтеся, що носії, лабораторне обладнання та реагенти завантажені як вказано.
15. На екрані Pooling Deck Verification (верифікація платформи об'єднання в пул) натисніть **кнопку OK**.
16. Спостерігайте за ML STAR під час проходження автоматизованих етапів.
17. Уведіть примітки щодо проблемних лунок і натисніть **OK**.
18. У разі виникнення запиту від диспетчера Workflow Manager переконайтеся, що на завантажувальній платформі ML STAR немає жодних перешкод, щоб ML STAR міг вивантажити тримачі з неї.
19. Виберіть **Unload** (Вивантажити), щоб вивантажити платформу.
20. Вивантажте тримач пробірок.
21. Закрийте кришкою кожну пробірку для отримання пулу, перемішайте на вихровій мішалці й потім нетривалий час відцентрифугуйте.
22. Виберіть **OK**.
23. Після отримання пулу якомога скоріше секвенуйте бібліотеки. Закрийте герметично планшет для бібліотек і зберігайте його за температури від $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом до 7 діб, щоб забезпечити можливість повторного отримання пулу.

ТОЧКА БЕЗПЕЧНОГО ЗУПИНЕННЯ

Якщо виконуєте зупинення, закрийте кришками пробірки для отримання пулу та зберігайте їх за температури від $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ до $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ протягом до 7 діб.

Підготовка об'єднаних у пул бібліотек для секвенування

Підготування

1. Приготуйте зазначені далі реагенти:

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

Реагент	Зберігання	Інструкції
Пробірки для пулів	Від -25 °C до -15 °C	За умови попереднього зберігання розморозьте за кімнатної температури. Недовго змішуйте на вихровій мішалці. Нетривалий час відцентрифугуйте.

2. Підготуйте система секвенування наступного покоління, заповнивши такі поля в Модуль Local Run Manager VeriSeq NIPT модулі:
 - a. Run Name (Назва прогону).
 - b. **[Необов'язково]** Опис прогону
 - c. Pool Barcode (Бар-код пулу).



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Бар-код пулу, уведений у Модуль Local Run Manager, має збігатися з бар-кодом пулу, уведеним у диспетчері робочого процесу Workflow Manager. Неправильні налаштування прогону буде скасовано програмним забезпеченням для аналізу. Може знадобитися повторне секвенування.

Для отримання додаткової інформації щодо використання Модуль Local Run Manager VeriSeq NIPT див. *Посібник із програмного забезпечення системи VeriSeq NIPT Solution версії 2 (документ № 1000000067940)*.

Процедура

1. Додайте до картриджа для реагентів указані витратні розчини, а потім перемішайте піпеткою.
 - Буфер для гібридизації (900 мкл)
 - 450 мкл пулу А (450 мкл)
2. Продовжуйте секвенування за довідковим посібником приладу для секвенування нового покоління. Для отримання інформації NextSeq 550Dx див. *Довідковий посібник до NextSeq 550Dx Instrument (документ № 1000000009513)* (або відповідну інструкцію-вкладиш, як зазначено на сторінці Illumina підтримки www.support.illumina.com).
3. Підтвердіть правильну конфігурацію прогону, коли буде запропоновано.
4. За потреби повторіть цю процедуру для пулу В.
 - Щоб досягти цільового діапазону щільності кластерів, на планшеті бібліотек можна повторно отримати пул, використовуючи іншу концентрацію пулу, встановлену на Hamilton. Повторне отримання пулу анулює початковий пул.
 - Також можна змінювати співвідношення пулу до НТ1 (450 + 900 мкл), щоб досягти цільового діапазону щільності кластерів.

Секвенування наступного покоління

VeriSeq NIPT Solution версії 2 можна використовувати з такою системою секвенування наступного покоління специфікаціями:

- Здатність виконати зчитування 2 × 36 парних кінцевих фрагментів
- Сумісність з адаптерами індексів у Набір VeriSeq NIPT Sample Prep
- Двоканальний хімічний процес
- Автоматичне створення файлів BCL (*.bcl) (необроблені дані з приладу секвенування);
- Зчитування 400 млн парних кінцевих фрагментів на прогін
- Сумісний з VeriSeq NIPT Assay Software версії 2

NextSeq 550Dx сумісний із VeriSeq NIPT Solution версії 2

Аналіз даних секвенування

Після завершення секвенування дані секвенування буде надіслано у VeriSeq NIPT Assay Software версії 2 для аналізу й генерування звіту. Звіт має класифікації для кожного зразка в партії, а також оцінку всіх показників КЯ прогону. Процес аналізу від завершення секвенування до отримання кінцевих результатів займає приблизно 4 години для партії із 48 зразків. Для отримання детальної інформації про аналіз даних і вихідний файл див. *Посібник із програмного забезпечення системи VeriSeq NIPT Solution версії 2 (документ № 1000000067940)*.

Інтерпретація результатів

В алгоритмі VeriSeq NIPT Solution версії 2 застосовано складну статистичну модель, яка поєднує декілька різних типів інформації з колекції парно секвенованих фрагментів бібліотек. Ця модель використовується, щоб виявити ділянки геному, які недостатньо або надмірно представлені в бібліотеці кожного зразка. Важливо відзначити, що ця модель відображає кількісну узгодженість ступеня зменшення або збільшення кількості хромосом з анеуплоїдним явищем у геномі плода на рівні фетальної фракції, обчисленої для бібліотеки.

Для всіх хромосом дані секвенування парних кінцевих сегментів вирівняно за еталонним геномом (HG19). Унікальні недубльовані вирівняні зчитування агрегуються в групи по 100 кб. Відповідні підрахунки груп коригуються з огляду на зміщення GC й згідно з попередньо встановленим геномним охопленням, яке залежить від ділянки. За допомогою таких нормалізованих підрахунків груп виводяться статистичні показники для кожної аутосоми через порівняння ділянок охоплення, які може бути уражено анеуплоїдією, з рештою аутосом. Логарифмічне відношення правдоподібності (log likelihood ratio, LLR) обчислюється для кожного зразка з огляду на ці показники на основі охоплення й обчисленої фетальної фракції. LLR — це ймовірність того, що зразок уражено, зважаючи на отримане охоплення та фетальну фракцію, як порівняти з ймовірністю того, що зразок не уражено з огляду на те саме охоплення. Під час обчислення цього критерію береться до уваги також обчислена непевність у фетальній фракції. Для

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution

версії 2

подальших обчислень застосовується натуральний логарифм відношення. Програмне забезпечення Assay Software оцінює LLR для кожної цільової хромосоми й кожного зразка, щоб установити анеуплоїдію.

Під час створення партії потрібно визначити тип зразка (від одноплідної чи двоплідної вагітності), тип скринінгу (базовий або повногеномний) і повідомлення про статеві хромосоми (Yes (Так), Hi (No) та SCA) для кожного зразка. Разом ці опції становлять інформацію, що має повідомлятися для кожного зразка.

Для всіх типів зразків тип скринінгу визначає, про які аутосомні аномалії буде повідомлено. Для базового типу скринінгу повідомляється лише про повнохромосомну трисомію для хромосом 13, 18 і 21. Для повногеномного типу скринінгу повідомляється про повну або часткову хромосомну делецію або дуплікацію будь-якої аутосомної хромосоми. Довжина найменшої часткової хромосомної делеції або дуплікації, яка підлягає повідомленню, становить 7 млн п. о.

Для зразків від одноплідної вагітності можна вимкнути опцію повідомлення про статеві хромосоми. Також можна виконати налаштування в такий спосіб, щоб під час повідомлення про анеуплоїдії статевих хромосом повідомляти або не повідомляти про стать еуплоїдних зразків.

Що стосується зразків від двоплідних вагітностей, то якщо для повідомлення про статеві хромосоми встановлено опцію Yes (Так), результат обмежується повідомленням про наявність або відсутність Y-хромосоми в бібліотеці. Повідомлення про анеуплоїдію статевих хромосом неможливе для зразків від двоплідних вагітностей.

ПРИМІТКА Якщо всі зразки в партії мають ту саму зареєстровану стать, електронною поштою або сповіщенням про помилку веб-інтерфейсу сповістить користувача застереженням про домішку/забруднення зразка. Партію буде визнано недійсною, і звіт не створюватиметься. (Застосовується для VeriSeq NIPT Solution версії 2 серверного програмного забезпечення версії 2.2 і вище.)

Результат ANOMALY DETECTED (АНОМАЛІЮ ВІЯВЛЕНО) указує на те, що скринінг зразків виявився позитивним щодо однієї чи декількох аномалій і відповідав вибраному типу скринінгу й опції повідомлення про статеві хромосоми. У разі виявлення аномалії у звіті надається її опис у цитогенетичних термінах.

У програмному забезпеченні VeriSeq NIPT Assay Software версії 2 статистичні дані, згенеровані під час секвенування, використовуються, щоб отримати розрахункові показники фетальної фракції (РФФ) для кожного зразка. РФФ — це обчислений компонент кДНК плода, який виділяється в процесі аналізу й повідомляється як округлений відсоток для кожного зразка. Середня стандартна похибка цього розрахункового показника в усіх зразках становить 1,3 %. РФФ не можна використовувати ізольовано, щоб вилучати зразки під час повідомлення результатів.

Щоб розпізнати хромосомні репрезентації, у VeriSeq NIPT Assay Software версії 2 використовується індивідуальний тест на достовірність анеуплоїдії плода (individual Fetal Aneuploidy Confidence Test, iFACT), динамічний пороговий показник, який указує, чи згенерувала система достатнє охоплення секвенування з огляду на розрахунковий показник фетальної фракції для кожного зразка. Негативні

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution **illumina**[®] версії 2

розпізнавання повідомляються, лише якщо зразок відповідає порогу iFACT. Якщо зразок не досягнув цього порогу, під час оцінювання КЯ з'явиться повідомлення FAILED iFACT (НЕВДАЛИЙ iFACT) і система не згенерує результат.

Крім iFACT, під час аналізу VeriSeq NIPT Assay Software версії 2 оцінює декілька інших показників КЯ. Додаткові показники передбачають оцінювання однорідності охоплення на еталонних геномних ділянках і розподіл довжин фрагментів пкДНК. Під час оцінювання КЯ відображається позначка КЯ або помилки КЯ для всіх показників, які виходять за межі прийнятного діапазону. У разі невдалого КЯ система не генерує результат для зразка. Якщо зразок не пройшов КЯ, його буде оброблено повторно за умови, що в пробірці для взяття крові достатній об'єм плазми.

Система VeriSeq NIPT Solution версії 2 генерує дані для використання в остаточному звіті. За допомогою цього методу неможливо згенерувати кінцевий звіт для пацієнта. За оформлення й уміст кінцевого звіту, який буде надано лікарю за місцем лікування, відповідальні замовники. Illumina не несе відповідальності за точність формулювань у кінцевому звіті для замовників.



ЗАСТЕРЕЖЕННЯ

Перевірте розрахункові показники фетальної фракції для всіх зразків. Якщо розрахункові показники фетальних фракцій подібні для всіх зразків у прогоні, можливо, трапилося змішування зразків, що й вплинуло на результати. По допомогу з виправленням несправностей зверніться до служби технічної підтримки Illumina.

Технічні характеристики

Наведені далі дані, викладені в розділах про клінічну й аналітичну ефективність, було згенеровано за допомогою використання протоколів і матеріалів, указаних в інструкції з використання, починаючи з плазми. Усі дані секвенування для цього розділу було згенеровано на системі секвенування NextSeq 500/550 або NextSeq 550Dx, яка має зазначені далі налаштування.

	NextSeq 500/550	NextSeq 550Dx
Програмне забезпечення, установлене на приладі	NextSeq Control Software 4.0	NextSeq Operating Software 1.3
Версія набору з реагентами	Набір реагентів із високим виходом NextSeq 500/550 версії 2.5 (75 циклів)	Набір реагентів із високим виходом NextSeq 550Dx версії 2.5 (75 циклів)
Метод секвенування	Прогін секвенування 2 × 36 парних кінцевих фрагментів у режимі високого виходу	Прогін секвенування 2 × 36 парних кінцевих фрагментів у режимі високого виходу

Клінічне дослідження

Клінічну точність VeriSeq NIPT Solution версії 2 було продемонстровано через оцінювання зразків плазми, отриманих від жінок з одноплідною та двоплідною вагітністю. Зразки було отримано з деідентифікованих зразків плазми з відповідного банку, які попередньо було одержано зі зразків периферичної цільної крові. Для додавання в дослідження було розглянуто 45 000 зразків. Ці зразки пройшли попередній пренатальний скринінг щодо наявності хромосомних анеуплоїдій у плода й часткових делецій і дуплікацій 7 млн п. о. чи більше. Усі зразки від вагітних жінок, які виношували плід (плоди) з відхиленнями, і підмножина послідовних зразків від вагітних, які виношували плід (плоди) без відхилень, було визнано придатними для дослідження, якщо були відомі клінічні результати вагітності й дотримані критерії зразків. Разом у множину для аналізу було додано 2335 зразків. 2328 зразків із цієї множини було отримано від жінок з одноплідною вагітністю, а 7 — від жінок із двоплідною вагітністю.

28 із цих зразків (1,2 %, 28/2335) не пройшли КЯ аналізу під час першого проходження в процесі аналізу даних виконаного секвенування:

- 27 невдалих iFACT (один ХО, 26 без відхилень);
- одна помилка для даних поза межами очікуваного діапазону.

Демографічні дані й характеристики вагітності

Дані щодо віку матері, гестаційного віку плода (плодів) і триместру вагітності підсумовано в [Таблиця 7](#) для зразків, проаналізованих у межах повногеномного скринінгу, разом зі зразками з відомим мозаїцизмом. Більшість (98 %) зразків, що тестуються, представляють вагітність у першому триместрі.

Оцінювання демографічних даних здійснено між когортами базового й повногеномного скринінгу: вони не показали статистичних відмінностей. Демографічні дані й характеристики вагітності були подібними, незалежно від того, чи було додано випадки з відомим мозаїцизмом.

Таблиця 7 Демографічні дані й характеристики вагітності

Зведена статистика	Повногеномний (включно з відомими мозаїчними явищами)
Кількість зразків	2307*
Вік матері, років	
Середнє значення	35,08
Стандартна похибка	4,04
Медіана	34,95
25-й перцентиль, 75-й перцентиль	32,31, 37,79
Мінімум, максимум	20,22, 53,02
Гестаційний вік плода (плодів) на момент узяття крові; тижні	
Середнє значення	10,93
Стандартна похибка	1,20
Медіана	10,57
25-й перцентиль, 75-й перцентиль	10,29, 11,14
Мінімум, максимум	10,00, 27,86
Триместр вагітності; n (%)	
< Перший (< 14 тижнів)	2252 (98 %)
Другий	54 (2 %)
Третій (≥ 27 тижнів)	1 (0 %)

* Останні продемонстровані зразки є зразками від 7 двоплідних вагітностей.

Клінічна ефективність

Результати після розпізнавання за допомогою тесту VeriSeq NIPT Solution версії 2 було порівняно з клінічними еталонними стандартними результатами. Для всіх досліджуваних зразків було отримано результати для відповідних клінічних еталонних стандартів (клінічну істину), що свідчили про наявність або відсутність хромосомної анеуплоїдії плода, часткових делецій і дуплікацій розміром 7 млн п. о. чи більше. Результати для клінічних еталонних стандартів, що відповідають зразкам, доданим у це дослідження, базувалися на результатах хромосомного аналізу або медичного огляду новонародженого

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution версії 2

з негативним результатом скринінгового NIPT на основі NGS. Підготовлений персонал, який брав участь у дослідженні, провів класифікацію даних клінічних еталонних стандартів відповідно до документа з медичного кодування від спонсора.

Методи хромосомного аналізу передбачали каріотипування, флуоресцентну гібридизацію in situ (fluorescence in situ hybridization, FISH) або мікроматричну хромосомну порівняльну геномну гібридизацію (chromosome microarray, CMA). Хромосомний аналіз було проведено на периферичній крові чи слині новонароджених або дітей грудного віку, зразках продуктів запліднення (ПЗ), амніоцитах, ворсинах хоріона, плацентарних тканинах або пуповинній крові, отриманій після народження.

Мозаїцизм визначається як наявність двох або більше клітинних ліній різного хромосомного складу в однієї особи. Клітинні лінії походять з однієї зиготи. Різновид і рівень мозаїцизму варіюються та залежать від часу виникнення мозаїчних явищ під час ембріо- й фетогенезу. Різні різновиди мозаїцизму виявляються під час пренатальної діагностики залежно від розподілу аномальних і нормальних клітинних ліній у межах цитотрофобласта, мезенхіми або плода¹⁰. Хоча мозаїцизм можна спостерігати за будь-якої хромосомної аномалії, показник його поширеності в рідкісних випадках трисомії вище, ніж у разі трисомії за хромосомами 21, 18 і 13 (T21, T18 і T13)¹¹. Під час оцінювання ефективності випадки мозаїцизму було додано до повногеномного аналізу, адже метою цього типу скринінгу для цього аналізу є виявлення рідкісних аутосомних анеуплоїдій (PAA).

Ефективність тесту як засобу базового скринінгу

Базовий скринінг передбачав скринінг таких аномалій, як T21, T18 і T13. Разом в аналіз було додано 2243 зразки від одноплідних і двоплідних вагітностей. Усі сім двоплідних вагітностей було правильно розпізнано як вагітності з плодом, ураженим T21, і їх не зазначено в таблиці нижче.

Таблиця 8 Чутливість і специфічність VeriSeq NIPT Solution версії 2 для виявлення трисомій 21, 18 і 13 під час базового скринінгу для одноплідних вагітностей (за винятком відомих випадків мозаїцизму)

	T21	T18	T13
Чутливість	> 99,9 % (130/130)	> 99,9 % (41/41)	> 99,9 % (26/26)
2-сторонній 95%-й ДІ	97,1 %, 100 %	91,4 %, 100 %	87,1 %, 100 %
Специфічність	99,90 % (1982/1984)	99,90 % (1995/1997)	99,90 % (2000/2002)
2-сторонній 95%-й ДІ	99,63 %, 99,97 %	99,64 %, 99,97 %	99,64 %, 99,97 %

Ефективність аналізу для базового скринінгу, як показано в [Таблиця 8](#), обчислено за винятком підмножини із 64 зразків, уражених PAA, аутосомними частковими делеціями чи дуплікаціями або підтвердженим мозаїцизмом. Ці 64 зразки мають вісім мозаїчних явищ T21 і три T18. П'ять із цих 11 зразків було ідентифіковано як уражені аномалією, виявленою за допомогою програмного забезпечення VeriSeq NIPT Assay Software версії 2.

Ефективність повногеномного скринінгу

Для повногеномного скринінгу під будь-якою аномалією розуміють трисомії, моносомії й часткові делеції чи дуплікації розміром 7 млн п. о. або вище. Зразки для повногеномного аналізу — це 36 зразків із підтвердженим мозаїцизмом. Разом було проаналізовано 2307 зразків від одноплідних і двоплідних вагітностей. Усі сім двоплідних вагітностей було правильно розпізнано як такі, що мають аномалію хромосоми 21, і їх не зазначено в таблиці нижче.

Ефективність повногеномного скринінгу для будь-якої аномалії

Таблиця 9 Чутливість і специфічність VeriSeq NIPT Solution версії 2 для виявлення будь-якої аномалії під час повногеномного скринінгу (включно з відомими випадками мозаїцизму)

	Чутливість	Специфічність
Розрахунковий показник % (n/N)	95,5 % (318/333)	99,34 % (1954/1967)
2-сторонній 95%-й ДІ	92,7 %, 97,3 %	98,87 %, 99,61 %

Ефективність повногеномного скринінгу для рідкісної аутосомної анеуплоїдії

Таблиця 10 Чутливість і специфічність VeriSeq NIPT Solution версії 2 стосовно рідкісних аутосомних анеуплоїдій під час повногеномного скринінгу (включно з відомими випадками мозаїцизму)

	Чутливість	Специфічність
Розрахунковий показник % (n/N)	96,4 % (27/28)	99,80 % (2001/2005)
2-сторонній 95%-й ДІ	82,3 %, 99,4 %	99,49 %, 99,92 %

Ефективність повногеномного скринінгу для часткових делецій і дуплікацій

Таблиця 11 Чутливість і специфічність VeriSeq NIPT Solution версії 2 стосовно часткових делецій і дуплікацій розміром 7 млн п. о. під час повногеномного скринінгу (включно з відомими випадками мозаїцизму)

	Чутливість	Специфічність
Розрахунковий показник % (n/N)	74,1 % (20/27)	99,80 % (2000/2004)
2-сторонній 95%-й ДІ	55,3 %, 86,8 %	99,49 %, 99,92 %

Відмінності між ефективністю базового та повногеномного скринінгу

Методологія оцінювання для поширених трисомій і анеуплоїдій статевих хромосом однакова для базового й повногеномного скринінгу. Під час базового скринінгу алгоритм застосовується лише до T21, T18 і T13. Проте в разі використання для повногеномного скринінгу ця методологія розширюється, щоб оцінити всі трисомії та РАА, а також часткові делеції й дуплікації.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution версії 2

Виявлено дві відмінності в ефективності базового та повногеномного скринінгів. По-перше, для повногеномного скринінгу зразки з відомим мозаїцизмом як для поширених трисомій, так і для PAA й часткових делецій і дуплікацій, було додано до показників продуктивності. По-друге, під час повногеномного скринінгу частіше повідомляється про виявлення часткової дуплікації або делеції, аніж про повну трисомію. Наявність повної трисомії додатково до часткової дуплікації або делеції можна виявити, подивившись на оцінку LLR, зазначену в додатковому звіті.

Додавання мозаїчних явищ у повногеномний скринінг

Мозаїцизм указано як обмеження для цього аналізу. За наявності мозаїцизму фетальний сигнал від аномалії зменшується, тому може бути складніше виявити її без зниження загальної специфічності аналізу. Але через те, що мозаїцизм більше відповідає розширеному дизайну дослідження, зразки з мозаїцизмом було додано до повногеномного скринінгу.

З 64 зразків, доданих до повногеномного скринінгу (але не до базового), 36 зразків було ідентифіковано за клінічним еталонним стандартом як такі, що мають мозаїчні явища. Розпізнавання для 23 із цих 36 зразків відповідали даним клінічних еталонних стандартів.

Виявлення часткової делеції або дуплікації проти виявлення повнохромосомної анеуплоїдії

VeriSeq NIPT Solution версії 2 має пункти меню як для базового, так і для повногеномного скринінгу. У разі базового скринінгу результат ANOMALY DETECTED (ВИЯВЛЕНО АНОМАЛІЮ) з'являється, лише коли виявлено повну анеуплоїдію в хромосомах 21, 18 або 13 і якщо дотримано всі показники контролю якості. Під час повногеномного скринінгу система виявляє анеуплоїдію для всіх аутосом, а також часткові делеції та дуплікації розміром не менше 7 млн п. о.

У разі використання повногеномного скринінгу у випадках, коли явище, що пов'язане з хромосомою, а також явище CNV, що пов'язане з тією ж хромосомою, перевищує поріг LLR, система насамперед повідомляє про часткову делецію або дуплікацію, а не про результати розпізнавання повної хромосоми, якщо розмір часткової делеції або дуплікації покриває не більше ніж 75 % хромосоми, у якій виявлено це явище. Якщо виявлено ділянку часткової делеції й дуплікації більше ніж 75 % від розміру хромосоми, явище відзначається як повна трисомія або моносомія всієї хромосоми, якщо поріг LLR одночасно перевищено для всієї хромосоми. Через це доволі великі делеції та дуплікації, які не перевищують або дорівнюють 75 % від розміру хромосоми, можуть указувати на повнохромосомну анеуплоїдію.

Для всіх зразків оцінку LLR для класифікації всієї хромосоми можна знайти в додатковому звіті. Перш ніж інтерпретувати результат, оцінку LLR слід переглянути щодо граничного значення, вказаного на [95%-ві ймовірності виявлення для середніх за розміром зон для VeriSeq NIPT Solution версії 2 на стор. 65](#).

Приклад розпізнавання CNV, де показники LLR на рівні хромосоми перевищують порогове значення, надають додаткову підтримку для інтерпретації, що відповідає анеуплоїдії всієї хромосоми, наведено в [Таблиця 12](#).

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

У клінічному дослідженні було два зразки одноплідних вагітностей з доволі значними дуплікаціями (однією на хромосомі 21 й однією на хромосомі 18), які охоплювали менше ніж 75 % від відносного розміру хромосоми (див. [Таблиця 12](#)). Обидва явища відзначено як часткові дуплікації, а не повна трисомія цієї хромосоми. Оцінки LLR для цих явищ перевищували граничне значення, що відповідало результату, який свідчить про ураження хромосоми повною трисомією. У разі розпізнавання часткової дуплікації або повної трисомії подальше ведення пацієнток із позитивними результатами розпізнавання під час NIPT пропонує підтверджувальне тестування за допомогою пренатальної діагностики.

Таблиця 12 Приклади випадків великої дуплікації, ідентифікованої під час повногеномного скринінгу

	Клінічна істина	Вихід тестування за допомогою повногеномної системи	Розмір аномалії (млн п. о.)	% хромосоми	Оцінки LLR
Зразок 1	Трисомія 21, одноплідна вагітність	Часткова дуплікація хромосоми 21	22,50	48,9	19,43
Зразок 2	Трисомія 18, одноплідна вагітність	Часткова дуплікація хромосоми 18	47,00	60,2	12,99

Додаткову інформацію щодо показників контролю якості, використаних для звіту про результати виявлення анеуплоїдії, див. в *Посібник із програмного забезпечення системи VeriSeq NIPT Solution версії 2 (документ № 1000000067940)*.

Статеві хромосоми

Результати щодо статевих хромосом для VeriSeq NIPT Solution версії 2 було порівняно з результатами для клінічних еталонних стандартів і підсумовано в таблиці нижче. Відсоток конкордантності було обчислено для кожної статевої хромосоми в межах діапазону результатів для кожного клінічного еталонного стандарту. Відсоток конкордантності обчислювали як кількість зразків, у яких розпізнавання статевих хромосом за допомогою тесту VeriSeq NIPT Solution версії 2 відповідало класифікації за клінічними еталонними стандартами, поділену на загальну кількість зразків із відповідністю класифікації за клінічними еталонними стандартами.

Таблиця 13 Відсоток конкордантності для класифікації статі плода*

Класифікація статі плода	Каріотип	Фенотип із медичного огляду новонародженого		Цитогенетичні результати							
		Жіночий	Чоловічий	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYY	Інше**	Немає
Виявлено	Каріотип	Жіночий	Чоловічий	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYY	Інше**	Немає
Аномалію не виявлено	XX	997	0	21	0	2	0	0	0	0	0

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

Класифікація статі плода	Каріотип	Фенотип із медичного огляду новонародженого		Цитогенетичні результати								
		Жіночий	Чоловічий	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYY	Інше**	Немає	
Аномалію не виявлено	XY	0	966	0	15	0	0	0	0	0	0	1
Аномалію виявлено	XO	0	0	0	0	19	0	0	0	1	0	0
Аномалію виявлено	XXX	0	0	0	0	0	17	0	0	0	1	0
Аномалію виявлено	XXY	0	0	0	0	0	0	23	0	0	1	0
Аномалію виявлено	XYY	0	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0
Загалом		997	966	21	15	21	17	23	12	2		1
Відсоток конкордантності		100	100	100	100	90,5	100	100	91,7	Не застосовно	Не застосовно	

* П'ять двоплідних вагітностей було правильно класифіковано як вагітність плодом із наявністю Y-хромосоми. Дві вагітності було правильно класифіковано як вагітність плодом із відсутністю Y-хромосоми.

** Іншими цитогенетичними результатами були XXXXX та XYY.

Прогностична цінність позитивного результату та прогностична цінність негативного результату тесту VeriSeq NIPT Solution версії 2

Прогностична цінність позитивного результату (ПЦПР) і прогностична цінність негативного результату (ПЦНР) тесту несуть інформацію щодо його здатності надавати дані для ухвалення клінічних рішень на основі чутливості й специфічності тесту, а також відомої до проведення тесту ймовірності ураження плода трисомією (поширеності). Через те що ПЦПР і ПЦНР залежать від поширеності, а поширеність цих анеуплоїдій може варіюватися поміж різними популяціями пацієнтів, ПЦПР і ПЦНР було обчислено для ряду можливих значень поширеності, які базувалися на показниках чутливості й специфічності, одержаних під час базового скринінгу (за відсутності даних про мозаїцизм) у клінічному дослідженні точності. [Таблиця 17](#) базується на даних повногеномного скринінгу (включно з відомими випадками мозаїцизму).

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution версії 2

Таблиця 14 Поширеність трисомії 21, ПЦПР і ПЦНР у разі базового скринінгу (за винятком відомих випадків мозаїцизму)

Поширеність (%)	ПЦПР (%)	ПЦНР (%)
0,05	33,17	> 99,99
0,10	49,82	> 99,99
0,20	66,53	> 99,99
0,50	83,29	> 99,99
1,00	90,93	> 99,99
1,50	93,79	> 99,99
2,00	95,29	> 99,99

Таблиця 15 Поширеність трисомії 18, ПЦПР і ПЦНР у разі базового скринінгу (за винятком відомих випадків мозаїцизму)

Поширеність (%)	ПЦПР (%)	ПЦНР (%)
0,03	23,06	> 99,99
0,05	33,31	> 99,99
0,10	49,99	> 99,99
0,20	66,68	> 99,99
0,30	75,03	> 99,99
0,40	80,04	> 99,99
0,50	83,38	> 99,99

Таблиця 16 Поширеність трисомії 13, ПЦПР і ПЦНР у разі базового скринінгу (за винятком відомих випадків мозаїцизму)

Поширеність (%)	ПЦПР (%)	ПЦНР (%)
0,01	9,10	> 99,99
0,02	16,68	> 99,99
0,05	33,37	> 99,99
0,10	50,05	> 99,99
0,20	66,73	> 99,99

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

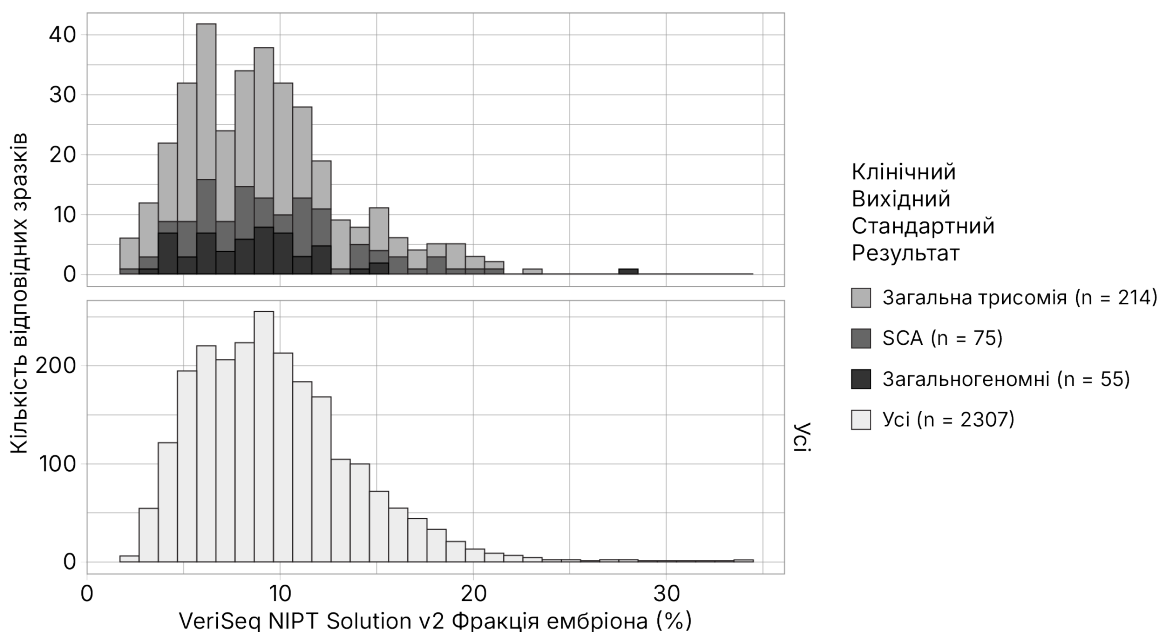
Таблиця 17 Поширеність будь-якої аномалії, ПЦПР і ПЦНР у разі повногеномного скринінгу (з відомими випадками мозаїцизму включно)

Поширеність (%)	ПЦПР (%)	ПЦНР (%)
0,01	1,42	> 99,99
0,02	2,81	> 99,99
0,05	6,74	> 99,99
0,10	12,64	> 99,99
0,20	22,45	99,99
0,50	42,07	99,98
1,00	59,34	99,95
1,50	68,75	99,93
2,00	74,68	99,91

Розподіл фетальної фракції

Розрахункові показники розподілу фетальної фракції (ФФ) за результатами повногеномного скринінгу з мозаїчними явищами включно, отримані за допомогою VeriSeq NIPT Solution версії 2, показано за категорією результатів клінічних еталонних стандартів на [Рисунок 1](#).

Рисунок 1 Розподіл фетальної фракції



5 зразків мали аномалії в різних категоріях.
Загальна трисомія включає зразки з трисомією 21, 18 та/або 13.
Загальногеномний діапазон включає зразки з PAA або частковими видаленнями та/або дублюваннями.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

Розрахункові показники ФФ загалом варіюються від 2 % до 34 % із медіаною 9 % та інтерквартильним (ІК) діапазоном 6–12 %. Медіанний розрахунковий показник ФФ для поширених трисомій і явищ, виявлених під час повногеномного скринінгу, становить 8 %. Для SCA цей показник становить 9 %. Діапазон розрахункових показників ФФ був відповідним для всіх результатів. Помітного зсуву в розподілі ФФ для поширених трисомій, SCA, явищ, виявлених під час повногеномного скринінгу, а також усіх зразків, залучених до повногеномного аналізу, виявлено не було.

Ефективність у разі двоплідних вагітностей

Оцінювання ефективності у виявленні трисомій 13, 18, 21, а також наявності Y-хромосоми в разі двоплідної вагітності

Через низький показник поширеності трисомій 21, 18 і 13 у разі двоплідної вагітності для клінічного дослідження була доступна незначна кількість уражених зразків від жінок із двоплідними вагітностями. Для оцінювання ефективності VeriSeq NIPT Solution версії 2 в разі двоплідної вагітності було використано віртуальні (*in silico*) моделі на основі клінічних зразків, щоб змодельовати популяції зразків від жінок із двоплідними вагітностями. Це моделювання відповідало популяції цільового використання. Розподіл фетальної фракції було визначено приблизно з 4500 зразків від жінок із двоплідними вагітностями й порівняно з розподілом у вибірці, що нараховувала приблизно 120 000 зразків від жінок із двоплідними вагітностями. Розподіл фетальної фракції залежно від наявності анеуплоїдії було визначено з передбачуваних розпізнавань (1044 випадки трисомії 21, 307 випадків трисомії 18 і 192 випадки трисомії 13) для зразків від жінок з одноплідними вагітностями. Об'єднання двох розподілів дало змогу зробити висновки про виявлення анеуплоїдії в близнюків. Було змодельовано множини дизиготних і монозиготних близнюків, і для оцінювання чутливості було прийнято середньозважене значення, яке відтворює їхню поширеність (дизиготні : монозиготні = 2 : 1) у популяції цільового використання. Для оцінювання специфічності було змодельовано множини неуражених близнюків.

Фракцію кожного змодельованого зразка, ураженого трисомією (тобто фракцію ураження), для кожної категорії зразків було обчислено по-різному.

- Для монозиготних близнюків фракцію ураження кожного зразка було встановлено на 1.0, адже в цьому разі трисомія вражає обох близнюків.
- Для дизиготних близнюків було припущено, що ураженим є лише один близнюк (ураження обох дизиготних близнюків трапляється надзвичайно рідко). Значення фракції ураження було змодельовано з використанням відомого розподілу співвідношень фетальної фракції, визначених для клінічних зразків від різностатевих близнюків. За основу було прийнято консервативний метод, згідно з яким припускалося, що уражений близнюк завжди мав нижчу поміж двох близнюків фетальну фракцію. Коригувальний коефіцієнт було застосовано для фетальних фракцій, які в середньому виявилися нижчими в разі вагітності плодом із трисомією 13 або 18.
- Для неуражених близнюків фракцію ураження кожного зразка було встановлено на нуль.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution

версії 2

У близнюків із трисомією 18 або 13 фетальна фракція зменшувалася на величину, що відповідала ураженій фракції зразка. Зменшення було пропорційним до середнього зменшення фетальної фракції, зареєстрованого в клінічних спостереженнях у разі одноплідної вагітності плодом із трисомією 18 або 13 порівняно з еуплоїдною одноплідною вагітністю.

Згодом як загальну фетальну фракцію, так і фракцію ураження кожного змодельованого зразка було використано, щоб обчислити показник анеуплоїдії за допомогою стандартного VeriSeq NIPT Solution версії 2 алгоритму. Чутливість обчислювали, визначивши, наскільки часто показники анеуплоїдії для змодельованих уражених близнюків були вище відповідного граничного значення анеуплоїдії. Відповідно специфічність обчислювали, визначивши, наскільки часто показники анеуплоїдії для змодельованих неуражених близнюків були нижче відповідного граничного значення анеуплоїдії (Таблиця 18). Було обчислено 95%-ві довірчі інтервали на основі кількості реальних клінічних зразків від близнюків у первинному наборі даних, класифікованих як уражені або неуражені відповідною трисомією.

Щоб обчислити чутливість методу стосовно Y-хромосоми в зразках від близнюків, було змодельовано множини близнюків XY/XY і XX/XY. Було прийнято середньозважене значення, яке відтворює поширеність типів близнюків у популяції цільового використання (XY/XY : XX/XY = 1 : 1). Щоб обчислити специфічність методу стосовно Y-хромосоми в близнюків, було змодельовано множину близнюків XX/XX. Значення загальної фетальної фракції було змодельовано відповідно до відомого розподілу фетальної фракції в клінічних зразках від близнюків.

У близнюків XY/XY і XX/XY відповідні показники Y-хромосоми було обчислено з використанням відомого відношення між фетальною фракцією та показниками Y-хромосоми в клінічних одноплідних зразках, класифікованих як чоловічі. Лише в близнюків XX/XY значення фракції ураження (тобто плодів чоловічої статі) було змодельовано з використанням відомого розподілу співвідношень фетальної фракції поміж близнюками від однієї вагітності, визначених із клінічних зразків від різностатевих близнюків. За основу було взято консервативний принцип, згідно з яким фракція ураження вибирається в такий спосіб, щоб відповідати меншій поміж двох близнюків. У кожному змодельованому зразку XX/XY показник Y-хромосоми було помножено на уражену фракцію.

У близнюків каріотипу XX/XX показники Y-хромосоми було дібрано з показників, зареєстрованих у клінічних зразках від одноплідних вагітностей і класифікованих як вагітність плодом жіночої статі. Потім показник Y-хромосоми й загальну фетальну фракцію було використано, щоб класифікувати кожний змодельований зразок як такий, що має Y-хромосому, або як такий, що не має її, за допомогою стандартного VeriSeq NIPT Solution версії 2 алгоритму.

Чутливість обчислювали, визначивши, наскільки часто змодельованих близнюків XY/XY або XX/XY було правильно класифіковано як такі, що мають Y-хромосому. Специфічність обчислювали, визначивши, наскільки часто змодельованих близнюків XX/XX було правильно класифіковано як такі, що не мають Y-хромосоми. Було обчислено 95%-ві довірчі інтервали на основі кількості реальних клінічних зразків від близнюків у первинному наборі даних, які було класифіковано як такі, що мають або не мають Y-хромосоми.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution версії 2

Таблиця 18 Розрахункові показники для трисомій 21, 18 і 13 у змодельованій популяції двоплідних вагітностей

	Трисомія 21	Трисомія 18	Трисомія 13	Наявність Y-хромосоми
Чутливість	96,4 %	95,7 %	93,6 %	> 99,9%
2-сторонній 95%-й ДІ	(86,4 %, 98,9 %)	(68,3 %, 99,4 %)	(64,1 %, 98,9 %)	(99,9%, > 99,9%)
Специфічність	99,9 %	> 99,9%	> 99,9%	> 99,9%
2-сторонній 95%-й ДІ	(99,8%, > 99,9%)	(99,9%, > 99,9%)	(99,9%, > 99,9%)	(99,7%, > 99,9%)

У [Таблиця 18](#) представлено точкове оцінювання та розраховано 95%-ві довірчі інтервали для показників чутливості й специфічності методу VeriSeq NIPT Solution версії 2 стосовно виявлення трисомій 21, 18 і 13, а також наявності Y-хромосоми в змодельованій популяції двоплідних вагітностей, що відповідає популяції цільового використання. Довірчі інтервали було обчислено на основі кількості клінічних зразків від близнюків, які пройшли КЯ та класифіковані як уражені або неурражені відповідним різновидом трисомії. Під час обчислення чутливості було припущено, що дві третини уражених двоплідних вагітностей дизиготні з одним ураженим близнюком, а одна третина — монозиготні з обома ураженими близнюками.

Розрахункові показники, зазначені в [Таблиця 18](#), стосуються лише двоплідних вагітностей. Через ще нижчий показник поширеності даних щодо багатоплідних вагітностей (триплодових і більше) було недостатньо для формування відповідних статистичних моделей із метою обчислення точності виявлення анеуплоїдії.

Аналітична ефективність

Прецизійність

Щоб оцінити й здійснити кількісне визначення прецизійності аналізу, за допомогою програмного забезпечення аналітичного процесу VeriSeq NIPT Solution версії 2 було повторно проаналізовано дані, одержані з двох попередніх досліджень із VeriSeq NIPT Solution:

- багатоцентрового дослідження відтворюваності, яке складалося з трьох прогонів, виконуваних трьома операторами в трьох центрах дослідження, з використанням однієї серії реагентів загалом дев'яти прогонів;
- внутрішньолaboratorного дослідження прецизійності, що складалося з 12 прогонів в одному центрі, з використанням двох ML STAR, двох інструментальних систем секвенування та трьох серій реагентів для секвенування.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution

версії 2

Метою дослідження прецизійності було кількісне визначення прецизійності аналізу щодо трисомії за хромосомою 21 (Т21) та Y-хромосоми, а також обчислення варіабельності між різними приладами, наборами підготування бібліотек і серіями реагентів для секвенування. Відтворюваність для станів, не описаних вище, не оцінювалася в рамках досліджень.

Фетальну фракцію 5 % пулу Т21 було створено внаслідок об'єднання пкДНК, екстрагованої з плазми материнської крові вагітних жінок (у плодів яких виявлено Т21), і пкДНК, екстрагованої з плазми крові невагітних жінок. Також було створено фетальну фракцію пулу пкДНК від матерів, вагітних плодом чоловічої статі (плід ХУ), яка становила 10 %. Панель зразків для кожного дослідження й для кожного прогону мала 4 повторності 5%-ї фетальної фракції пулу зразків, уражених Т21, і 20 повторностей 10%-ї фетальної фракції пулу пкДНК від матерів, вагітних плодом чоловічої статі. Тестування проводилося протягом 10 днів: загалом 21 прогін для комбінації двох досліджень.

Т21 і наявність Y-хромосоми було вибрано для оцінювання на підставі репрезентативності клінічних станів і складності виявлення аномалій. Через те що хромосома 21 є найменшою людською аутосомою, її розмір безпосередньо впливає на чутливість виявлення Т21, зокрема за умови низьких показників фетальної фракції, на кшталт тих, які було використано в цьому дослідженні. Y-хромосома, якщо вона є в плазмі материнської крові, за походженням є виключно фетальною, і тому її легше виявити під час аналізу.

Одержані середня та стандартна похибка для оцінювання LLR хромосоми 21 і нормалізованих хромосомних значень (НХЗ) Y-хромосоми показали, що стандартна похибка (СП) повторності є найбільш суттєвою причиною варіабельності. Варіації між центрами дослідження, приладами та серіями реагентів внесли невелику додаткову частку до значення варіабельності, про що свідчить різниця між загальною СП та СП повторностей у [Таблиця 19](#) і [Таблиця 20](#).

Таблиця 19 Зведені дані зі стандартної похибки (СП) значень відповіді в процесі багатоцентрового секвенування (дослідження відтворюваності)

Відповідь	N	Середнє значення	СП повторності	Загалом; СП відтворюваності*
Оцінка LLR хромосоми 21	36	34,43	11,36	11,36
НХЗ Y-хромосоми	180	190,56	7,96	10,20

* Значення «загалом» передбачає частку варіабельності, зумовлену різницею між центрами, операторами, прогонами, днями та повторностями.

Таблиця 20 Зведені дані з внутрішньолабораторної прецизійності відповіді секвенування

Відповідь	N	Середнє значення	СП повторності	Загалом; внутрішньолабораторна СП*
Оцінка LLR хромосоми 21	48	36,01	9,07	10,25
НХЗ Y-хромосоми	240	198,68	7,63	7,82

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

* Значення «загалом» передбачає частку варіабельності, зумовлену різницею між приладами секвенування, серіями реагентів, операторами, прогонами, днями та повторностями.

Для порівняння прецизійності секвенування (загальна стандартна похибка) з використанням VeriSeq NIPT Solution версії 2 було проведено додаткове дослідження, під час якого порівнювали результати, отримані з використанням проточних кювет версії 2.0 і версії 2.5. Дослідження передбачало два типи проточних кювет (версії 2.0 і 2.5), три серії реагентів для секвенування, чотири системи приладів і два прогони секвенування на кожну комбінацію вищезазначених факторів загальною кількістю 48 прогонів в одному центрі. Один пул секвенування було сформовано з матеріалу планшетів пкДНК, підготовлених уручну. Панель зразків мала 4 повторності 5%-ї фетальної фракції пулу зразків, уражених Т21, і 20 повторностей 10%-ї фетальної фракції пулу пкДНК від матерів, вагітних плодом чоловічої статі (плід каріотипу XY). Результати дослідження надано в [Таблиця 21](#) Вони підтверджують відсутність різниці в прецизійності секвенування з використанням проточної кювети версії 2.0 порівняно з версією 2.5.

Таблиця 21 Зведені дані з прецизійності відповіді секвенування з проточною кюветою версії 2.0 порівняно з проточною кюветою версії 2.5

Відповідь	Кількість спостережень на версію	Загалом; СП для версії 2.0*	Загалом; СП для версії 2.5*	Статистичний результат**
Оцінка LLR хромосоми 21	96	9,56	8,44	Статистично еквівалентно (р-значення = 0,25)
НХЗ Y-хромосоми	480	7,74	7,38	Статистично еквівалентно (р-значення = 0,38)

* Значення «загалом» передбачає частку варіабельності, зумовлену різницею між приладами секвенування, серіями реагентів, прогонами, днями, повторностями.

** На основі F-критерію для рівності похибок (квадрат стандартних похибок).

Перехресне забруднення

Перехресне забруднення було оцінено в робочому процесі приготування зразків для аналізу VeriSeq NIPT Solution. Пули плазми від невагітних жінок (XX) і дорослих чоловіків (XY) було проаналізовано в шаховому порядку на 96-лунковому планшеті для всіх 4 планшетів. N = 48 зразків на планшет (як для жінок, так і для чоловіків), загалом 192 жіночих і 192 чоловічих зразка. Жодний із жіночих зразків не продемонстрував покриття Y-хромосоми, що статистично вище розрахункових фонових значень і свідчить про відсутність перехресного забруднення від чоловічих зразків із того ж планшета. Для VeriSeq NIPT Solution не спостерігалось перехресного забруднення, що піддавалося б виявленню.

Потенційно інтерферентні речовини

Вплив потенційно інтерферентних речовин було оцінено для VeriSeq NIPT Solution за допомогою оцінювання ефективності аналізу за наявності таких речовин.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution версії 2

Альбумін, білірубін, гемоглобін і тригліцериди (ендогенні) вносили по черзі в пули материнської плазми від жінок, вагітних плодом (плодами) без хромосомних уражень (плід (плоди) каріотипу XX). Їх було перевірено у двох концентраціях для кожної з тестових речовин (n = 16 для кожної). Впливу на ефективність аналізу не було помічено.

Таблиця 22 Потенційно інтерферентні речовини (ендогенні)

Тестова речовина	Низька випробувальна концентрація (мг/мл)	Висока випробувальна концентрація (мг/мл)
Альбумін	35	50
Білірубін	0,01	0,15
Гемоглобін	100	200
Тригліцериди	1,5	5

Наявна в нормі ДНК материнського геному (гДНК) у плазмі також потенційно може впливати на ефективність аналізу, бо її можна екстрагувати разом із пкДНК плода. Рівні геномної ДНК в концентрації 1,6, 3,3 і 4,9 нг на зразок (що відповідає 1, 2 і 3 стандартним похибкам понад середню очікувану концентрацію гДНК через 7 днів зберігання цільної крові¹²) було додано до пкДНК, екстрагованої з материнської плазми від жінок, вагітних неуразеним плодом жіночої статі (плід каріотипу XX). Потім зразки було проаналізовано за допомогою VeriSeq NIPT Solution (n = 16 для кожної концентрації). Впливу на ефективність аналізу не було помічено за наявності підвищених рівнів гДНК.

Двадцять потенційно інтерферентних речовин (екзогенних) на основі лікарських препаратів, які зазвичай застосовують або призначають під час вагітності, було випробувано відповідно до EP7-A2: Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline-Second Edition (Випробування на інтерференцію в клінічній біохімії; затверджений посібник, друге видання). 20 потенційних інтерферентів було об'єднано в чотири пули, унесено в материнську плазму від жінок, вагітних неуразеним плодом (плід каріотипу XX) і перевірено за допомогою VeriSeq NIPT Solution (N = 16 для кожного пулу). Впливу на ефективність аналізу не було помічено за наявності цих екзогенних речовин.

Таблиця 23 Потенційно інтерферентні речовини (екзогенні)

Пул 1	Пул 2	Пул 3	Пул 4
Ацетамінофен	Дифенгідрамін	Альбутерол	Цетиризин
Ацетилцистеїн	Еритроміцин	Бупропіон	Декстрометорфан
Бісопролол	Гвайфенезин	Кофеїн	L-аскорбінова кислота
Циталопрам	Гепарин	Сертралін	Метопролол
Дезлоратадин	Лідокаїн	Фторид натрію	Надолол

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

Межа виявлення

Межа виявлення (МВ) визначається як рівень фетальної фракції, який відповідає ймовірності виявлення досліджуваного стану, наприклад Т21, яка дорівнює 95 %. Щоб оцінити МВ для VeriSeq NIPT Solution версії 2 щодо різних поширених станів, було проведено дослідження й статистичні аналізи.

Ймовірність виявлення досліджуваного стану в зразку з похибками, який обробляється за допомогою VeriSeq NIPT Solution версії 2, здебільшого залежить від трьох чинників:

- фетальна фракція;
- глибина секвенування;
- розмір і складність досліджуваної геномної зони.

Якщо припустити, що глибина секвенування є постійною, задану аберацію легше виявити в зразку з вищим відсотком фетальної фракції, ніж у зразку з нижчим відсотком фетальної фракції. І навпаки: якщо припустити, що постійною є фетальна фракція, задану аберацію легше виявити в зразку з більшою глибиною секвенування, ніж у зразку з меншою глибиною секвенування. Нарешті, аберації в менших або складніших геномних зонах важче виявити, ніж аберації в більших або менш складних геномних зонах, якщо припустити, що фетальна фракція та глибина секвенування є постійними.

Щоб визначити МВ для виявлення Т21, було проаналізовано зразки, що складаються із сумішей об'єднаних у пули зразків із Т21 і об'єднаних у пули зразків без похибок. Два типи аналітів було змішано в процесі серії титрувань, через що було створено множину із сімома рівнями фетальної фракції (0, 2, 3, 4, 5, 6 і 10 %). Кожен рівень було репрезентовано загалом 10 повторностями.

Щоб ще більше підвищити роздільну здатність сітки фетальної фракції для аналізу МВ, дані із цього дослідження було доповнено даними, одержаними з віртуального розведення. Ефекти експериментального розведення та титрування було змодельовано в процесі контрольованого змішування даних секвенування. Дані з цього віртуального титрування охопили множину з 14 рівнями фетальної фракції (1,25, 1,50, 1,75, 2,00, 2,25, 2,50, 2,75, 3,00, 3,25, 3,50, 3,75, 4,00, 4,25 і 4,50 %) і 32 повторностями на кожному рівні. Для визначення МВ для Т21 до одержаних даних було застосовано пробіт-аналіз.

Незалежно від вищезазначеного було розроблено статистичну модель із використанням фетальної фракції, глибини секвенування та розміру/складності зони геному для прогнозування ймовірності виявлення будь-якої аберації в будь-якому зразку. Цю модель створено на основі даних, які відповідають множині з 1405 зразків XY. За прогнозом, складеним із цієї моделі, було встановлено, що МВ для Т21 узгоджується з описаним вище підрахунком на основі пробіт-аналізу. Цю статистичну модель було використано для обчислення значень МВ для анеуплоїдій за всіма аутосомами та для часткових делецій і дуплікацій.

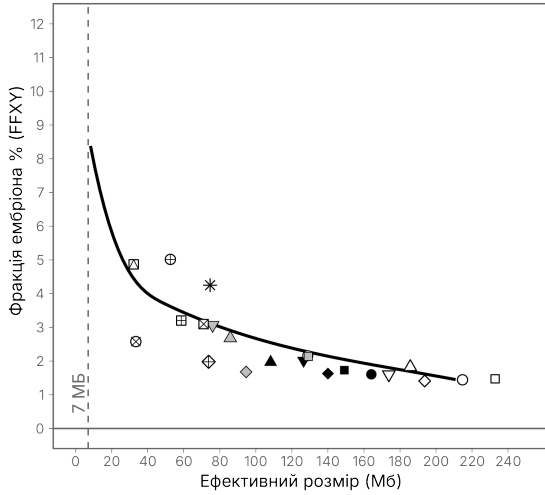
На [Рисунок 2](#) показано 95%-ву ймовірність виявлення для середніх за розміром зон і меж виявлення для аутосом щодо всіх трисомій і всіх моносомій. Граничне значення CNV LLR 15.1.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

Рисунок 2 95%-ві ймовірності виявлення для середніх за розміром зон для VeriSeq NIPT Solution версії 2

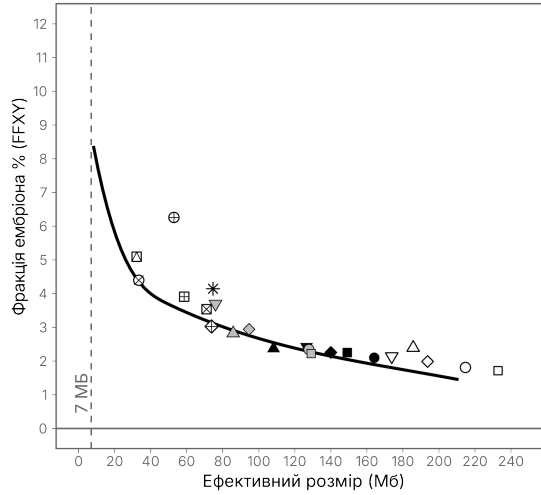
95% ймовірність виявлення для середніх областей за розміром

Символи показують аутосомну межу виявлення трисомії



95% ймовірність виявлення для середніх областей за розміром

Символи показують аутосомну межу виявлення моносомії



Хр	Символ	Трисомія		Моносомія	
		Граничне значення	МВ (%)	Граничне значення	МВ (%)
1	○	7	1,44	13,2	1,80
2	□	9	1,47	13,6	1,71
3	◇	5	1,41	13,8	1,99
4	△	7	1,82	15,2	2,39
5	▽	7,6	1,60	17	2,14
6	●	7,3	1,60	15,4	2,09
7	■	6,6	1,73	14	2,25
8	◆	5,8	1,63	14,8	2,25
9	▲	8	1,97	13,6	2,37
10	▼	8,8	2,01	14,7	2,42
11	○	12,2	2,14	15,7	2,35

Хр	Символ	Трисомія		Моносомія	
		Граничне значення	МВ (%)	Граничне значення	МВ (%)
12	■	11,6	2,14	12,8	2,22
13	◇	3	1,68	16,5	2,94
14	△	12,7	2,68	14,7	2,82
15	▽	9,8	3,07	16,4	3,69
16	⊠	10,7	3,10	15,3	3,54
17	*	16,8	4,25	15,7	4,14
18	◇	3	1,98	11,3	3,02
19	⊕	15,5	5,01	27,5	6,26
20	⊞	10,6	3,20	18,2	3,91
21	⊗	2,5	2,58	13,2	4,40
22	⊠	13,5	4,87	15,3	5,09

Виправлення несправностей

Виправлення несправностей під час проведення аналізу за допомогою тесту VeriSeq NIPT Solution версії 2

Характер помилки	Можливий результат	Інтерпретація	Рекомендовані дії	Коментарі
Недостатньо вхідної плазми	Помилка КЯ зразка	Недостатній об'єм плазми	Візьміть повторний зразок	На основі візуального огляду об'єму плазми.
Помилка пробірки з кров'ю	Кров не відсепаровано на шари	Зразок не відцентрифуговано	Переконайтеся, що центрифугу запущено й пробірка крутилася з належною швидкістю. Візьміть зразок повторно.	
		Неналежне зберігання або транспортування зразка (гемоліз зразка)	Візьміть зразок повторно.	Заморожені зразки не сепаруються. Неналежні умови транспортування чи зберігання можуть призвести до гемолізу зразків.

Характер помилки	Можливий результат	Інтерпретація	Рекомендовані дії	Коментарі
Утворення згустку зі зразка / повільний потік	Забруднення плазми	Окремі зразки можуть утворювати згустки й закупорювати планшет для зв'язування, якщо зразок плазми сильно забруднений.	Перевірте зразок. Якщо залишки плазми в пробірці мають червоний або молочний колір, скасуйте обробку зразка та замовте повторне взяття. Якщо зразок видається нормальним, виконайте тест повторно.	
	Переповнення лунки зразком	Неналежний візуальний огляд кожної пробірки щодо придатності зразка.	Анулюйте всі зразки в лунках, сусідніх із переповненою.	Може вказувати на те, що зразки транспортувалися або зберігалися неналежним чином перед обробкою. Вилучити непридатні зразки з обробки.
	Несправність апаратури	Неналежний гідроліз матеріалу під час екстракції.	Проаналізуйте зразок повторно. Якщо проблема не зникає в разі внесення інших зразків у цю саму лунку, зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.	

Характер помилки	Можливий результат	Інтерпретація	Рекомендовані дії	Коментарі
Невдалий КЯ аналізу окремого зразка	Помилка КЯ секвенування	Можливі причини: <ul style="list-style-type: none"> Недостатньо генетичних даних Неправильне перенесення під час роботи зі зразком Помилка реагенту для секвенування 	Див. анотацію до зразка. Перевірте, чи були подібними характеристики попередніх зразків у відповідному положенні на планшеті. Проаналізуйте зразок повторно.	Указує на неналежне введення зразка або на неправильне перенесення в ML STAR. Недостатня кількість генетичного матеріалу може пояснюватися недостатньою кількістю позаклітинної ДНК у плазмі або тим, що клітинна ДНК спричиняє надмірне розведення зразка для секвенування.
	Низька ФФ або низька кількість невилучених ділянок (Non-Excluded Sites, NES)	Згенеровано недостатньо даних для отримання точного звіту	Проаналізуйте повторно зразок з плазми.	

Характер помилки	Можливий результат	Інтерпретація	Рекомендовані дії	Коментарі
Невдалий КЯ кількісного аналізу	Невдалий прогін кількісного аналізу. Медіана партії нижче мінімального значення	Недостатній вихід процесу.	Повторіть кількісний аналіз. Якщо повтор не вдасться, зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.	Непрохідні показники кривої проходження стандартів свідчать про проблему з підготуванням бібліотеки (тобто використання небіологічного етанолу) або проблеми з процесом кількісного визначення.
	Невдалий прогін кількісного аналізу	Помилка стандартної кривої	Повторіть кількісний аналіз. Якщо повтор не вдасться, зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.	
Помилка об'єднання в пул	Невдале завершення об'єднання зразків у пул	Під час аналізу об'єднання в пул неможливо обчислити правильні об'єми пулів	Переоцінити концентрацію цільового пулу. Повторити аналіз пулу.	

VeriSeq NIPT Microlab STAR Виправлення несправностей

Крок процесу	Код помилки	Діалогове вікно з помилкою	Опис	Рішення користувача
Створення партії	EM0044	The Batch ID entered contains forbidden characters (Уведений ідентифікатор партії містить заборонені символи).	Для всіх полів даних VeriSeq NIPT Solution версії 2 прийнятними є цифри, літери, підкреслення й дефіси.	Змініть назву партії на таку, що не містить жодних спеціальних символів.
Створення партії	EM0051	The Batch ID is greater than 36 characters in length (Довжина ідентифікатора партії більше ніж 36 символів).	VeriSeq NIPT Solution версії 2 обмежує довжину назв партії до 36 символів.	Змініть назву партії на таку, довжина якої менше ніж 36 символів.
Створення партії	EM0076	Неможливо підключитися до VeriSeq Onsite Server версії 2	Локальний сервер VeriSeq Onsite Server версії 2 не відповідає на запити даних від диспетчера Workflow Manager.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Переконайтеся, що ML STAR підключено до мережі. 2. Переконайтеся, що VeriSeq Onsite Server версії 2 ввімкнено . 3. Перевірте, чи ML STAR може підключитися до VeriSeq Onsite Server версії 2 (за допомогою запиту ping). 4. Якщо попередні кроки не допомагають вирішити проблему, зверніться до служби технічної підтримки Illumina.

Крок процесу	Код помилки	Діалогове вікно з помилкою	Опис	Рішення користувача
Створення партії	EM0118	This batch has been failed and cannot be further processed (У цій партії сталася помилка, і її неможливо далі обробити).	В указаній партії сталася помилка, і її неможливо далі обробити.	Запис партії на VeriSeq Onsite Server версії 2 вказує, що в указаній партії сталася помилка. Подальша обробка неможлива. Створіть іншу партію з потрібними зразками.
Створення партії	Не застосовно	This batch has already completed processing. Would you like to repool? (Обробку цієї партії вже завершено. Отримати пул повторно?).	Указану партію оброблено через об'єднання в пул. Єдиний дозволений варіант обробки — отримати повторний пул.	Створіть повторний пул наступним чином. <ul style="list-style-type: none"> Виберіть Re-Pool (Повторний пул). Перервати метод і переконатися, що назва партії правильна перед створенням повторного пулу.
Виділення плазми	WP0087	Duplicate sample barcodes loaded (Завантажено дубльовані бар-коди зразків).	У систему завантажено зразки з ідентичними бар-кодами.	<ol style="list-style-type: none"> Дотримуючись запитів диспетчера Workflow Manager, визначте, які зразки дублюються. Видаліть дублікати та промаркуйте або замініть їх. Перезавантажте зразки.

Крок процесу	Код помилки	Діалогове вікно з помилкою	Опис	Рішення користувача
Виділення плазми	EP0102	Samples specified in the Sample Sheet were not loaded (Зразки, вказані в протоколі аналізу зразка, не завантажено).	Зразки, вказані в протоколі аналізу зразка, не додано в завантажені бар-коди.	<ol style="list-style-type: none"> Дотримуючись запитів диспетчера Workflow Manager, визначте зразки, яких немає. Виберіть одну із цих опцій: <ul style="list-style-type: none"> Додайте зразки, яких немає, до партії та перезавантажте зразки. Припиніть виконання методу, змініть протокол аналізу зразка, . Метод перезапуску.
Завантаження планшета	Не застосовно	Venus Barcode Mask Error (Помилка маскування бар-коду Venus).	Диспетчер Workflow Manager потребує правильного пов'язування планшета з партією за допомогою маскувань бар-кодів Venus.	<ol style="list-style-type: none"> Перевірте розташування планшета, щоб переконатися, що планшет розміщено правильно. Переконайтеся, що ви завантажили правильний для вказаної партії планшет.

Крок процесу	Код помилки	Діалогове вікно з помилкою	Опис	Рішення користувача
Екстракція пкДНК	WE0150	Pressure in the vacuum chamber is too low (Тиск у вакуумній камері занижкий).	Диспетчер Workflow Manager припинить операцію, якщо тиск у вакуумній лінії в стані спокою < 400 мм рт. ст.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Перевірте вакуумну лінію щодо наявності перекручувань або інших перешкод. 2. Відкрийте затискачі вивільнення лінії залишків, скиньте тиск, а потім повністю закрийте затискачі. 3. Переконайтеся, що вакуумний контролер і насос увімкнено. 4. Перевірте вакуумну пляшку для залишків. Якщо пляшку для залишків заповнена більш ніж наполовину, спорожніть її. 5. Якщо проблема не зникне, зв'яжіться зі службою технічної підтримки Illumina.
Екстракція пкДНК	WE0153	Pressure in the vacuum chamber is too high (Тиск у вакуумній камері зависокий).	Якщо перед початком контролю над тиском величина тиску вакууму буде зависокою, може виникнути несправність системи.	Переконайтеся, що всі під'єднання та лінії вакуумного відсіку надійно закріплено на задній частині контролера.

Крок процесу	Код помилки	Діалогове вікно з помилкою	Опис	Рішення користувача
Екстракція пкДНК	WE0996	Vacuum failed to seal (Не вдалося створити вакуум).	Перш ніж продовжити, необхідно усунути проблему з ущільненням.	<p>Перш ніж натиснути ОК, переконайтеся, що проблему з ущільненням усунено.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Переконайтеся, що планшет для зв'язування прилягає впритул до вакуумного колектора. Надіньте рукавичку й сильно натисніть на планшет для зв'язування. 2. Слухайте вакуумний шум і спостерігайте за потоком води через планшет для зв'язування. 3. Відкрийте режим відслідковування в диспетчері робочих процесів. Після того, як фактичне значення тиску стане принаймні на 50 одиниць тиску менше, ніж значення навколишнього середовища, натисніть кнопку ОК, щоб продовжити екстракцію пкДНК. 4. Якщо необхідний показник тиску не досягається протягом виділеного часу, натисніть кнопку ОК, щоб продовжити перше завантаження лізату. 5. Призупиніть метод після розподілу лізату на планшеті для зв'язування. Повторно встановіть і з силою натисніть на планшет для зв'язування. 6. Якщо лізат не протікає через планшет, зверніться до служби технічної підтримки Illumina.

Крок процесу	Код помилки	Діалогове вікно з помилкою	Опис	Рішення користувача
Екстракція пкДНК	WM0219	If Vacuum is on, manually rest the pump (Якщо вакуум увімкнено, перезавантажте насос уручну).	Вакуум може лишитися ввімкненим після переривання виконання методу під час екстракції.	<ol style="list-style-type: none"> Натисніть кнопку Power (живлення) вакуумного контролера, щоб вимкнути вакуум. Зачекайте 10 секунд і ще раз натисніть кнопку Power (живлення), щоб увімкнути вакуум.
Екстракція пкДНК	EE0477	An error has occurred while moving a plate (iSWAP error) (Помилка під час переміщення планшета. Помилка iSWAP).	У разі виникнення помилки iSWAP (падіння планшета, його не вдалося підняти тощо) система попросить вас вручну перемістити планшет.	<p>Переконайтеся, що планшет можна відновити (матеріал не розлився).</p> <ul style="list-style-type: none"> Якщо планшет неможливо відновити, припиніть прогін. Якщо планшет можна відновити, дотримуйтеся відображуваних інструкцій і завершіть перенесення планшета вручну.
Екстракція пкДНК	EE0519	Scanned barcode does not match binding plate barcode on record (Відсканований бар-код не відповідає бар-коду планшета для зв'язування, указаному в записі).	Завантажений планшет для зв'язування не відповідає бар-коду витягнутого планшета.	Переконайтеся, що завантажуваний планшет відповідає зареєстрованому бар-коду (його можна подивитися в журналі трасування).

Крок процесу	Код помилки	Діалогове вікно з помилкою	Опис	Рішення користувача
API	EA0372	Unable to connect to the data server (Неможливо під'єднатися до сервера даних).	Локальний сервер VeriSeq Onsite Server версії 2 не відповідає на запити даних від диспетчера Workflow Manager.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Переконайтеся, що ML STAR підключено до мережі. 2. Переконайтеся, що VeriSeq Onsite Server версії 2 ввімкнено . 3. Перевірте, чи ML STAR може підключитися до VeriSeq Onsite Server версії 2 (за допомогою запиту ping).
	EA0774	Connection Error The API server connection failed to validate (Помилка з'єднання. Не вдалося перевірити з'єднання із сервером API).	Локальний сервер VeriSeq Onsite Server версії 2 припинив відповідати на запити даних від диспетчера Workflow Manager.	<p>Переконайтеся в наведеному далі.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Переконайтеся, що ML STAR підключено до мережі. 2. Перевірте, чи ML STAR може підключитися до VeriSeq Onsite Server версії 2 (за допомогою запиту ping). 3. Переконайтеся, що VeriSeq Onsite Server версії 2 ввімкнено .
	EA0780	403: Invalid Request The current transaction is not valid (Поточна транзакція неприпустима).	Надіслані дані порушують логіку робочого процесу системи.	Для додаткової інформації дивіться подробиці помилки. Зазвичай причиною є занадто великий обсяг уведених даних або наявність заборонених символів (зазначено в списку).

Використана література

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 RJ, Sutherland GR, Schaffer LG. *Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling*. 4th edition. 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. American College of Obstetricians and Gynecologists. Screening for fetal aneuploidy. *Practice Bulletin No. 163*. *Obstet Gynecol*. 2016; 127(5):e123-137.
5. Gil MM, Accurti V, Santacruz B, Plana MN, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol*. 2017 Apr 11. doi: 10.1002/uog.17484.
6. Bianchi D, Parker R, Wentworth J et al. DNA Sequencing versus Standard Prenatal Aneuploidy Screening. *N Engl J Med*. 2014;370(9):799-808. doi:10.1056/nejmoa1311037.
7. Benn P, Borrell A, Chiu RW, et al. "Position statement from the Chromosome Abnormality Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis." *Prenat Diagn* 35 (2015): 725-34.
8. Gregg AR, Skotko BG, Benkendorf JL, et al. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med*. 2016: doi:10.1038/gim.2016.97.
9. Dondorp W, de Wert G, Bombard Y, et al. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: challenges of responsible innovation in prenatal screening. *Eur J Hum Genet*. 2015 Nov;23(11):1438-50.
10. Grati, et al. "Fetoplacental mosaicism: potential implications for false-positive and false-negative noninvasive prenatal screening results." *Genetics in Medicine* 16 (2014): 620-624.
11. Wellesley, et al. "Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe." *European Journal of Human Genetics* 20 (2012): 521-526.
12. Norton S, Lechner J, Williams T, Fernando M et al. 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.
13. Bianchi D W, et al. "Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing." *Obstet Gynecol* 119 (2012): 890-901.
14. Ehrich M, et al. "Genome-wide cfDNA screening: clinical laboratory experience with the first 10,000 cases." *Genet Med* 19 (2017): 1332-1337.

15. Fiorentino F, et al. "The clinical utility of genome-wide cfDNA screening." *Prenat Diagn* 37 (2017): 593-601.
16. Pertile, MD, et al. "Rare autosomal trisomies, revealed by maternal plasma DNA sequencing, suggest increased risk of feto-placental disease." *Sci Transl Med* 9 (2017): eaan1240.

Історія редакцій

Документ	Дата	Опис зміни
Документ № 1000000078751 версії 09	Квітень 2024 р.	<p>Видалено</p> <ul style="list-style-type: none">Застаріла частина № 20030577.Вимоги до максимальної ємності пробірки для пробіркової центрифуги для забору крові. <p>Додано</p> <ul style="list-style-type: none">Нова частина № 20101927 для VeriSeq Onsite Server v2.Одиниця розміру для пробірок для забору крові на 10 мл.Пояснення щодо сумісних версій SoftMax Pro.Пояснювальна примітка про те, що для забезпечення взаємозамінності з VeriSeq NIPT Microlab STAR слід використовувати лише сумісний пластиковий посуд.Примітка щодо попередження про забруднення суміші зразків до розділу Інтерпретація результатів.Застереження: не заморожуйте зразки цільної крові, зібрані в Streck Cell-Free DNA BCT.Застереження щодо уникнення впливу високих температур на зразок.Пояснення щодо обмежень аналізу та умов відтворюваності.Роз'яснення щодо відсічення CNV LLR на малюнку 2 у розділі «Межа виявлення». <p>Оновлено</p> <ul style="list-style-type: none">Посилання на сумісну ємність з реагентами від Roche Reagent Tub до Illumina Reagent Tub і додано новий номер деталі.Каталожний номер Thermo Fisher Multifuge X4 Pro-MD № 75016034.Застереження про те, що різні об'єми лунок можуть призвести до того, що зразки не пройдуть автоматизований контроль якості.Посилання на аркуші-вкладиші в упаковці приладу.
Документ № 1000000078751, версія 08	Серпень 2022 р.	<p>Оновити номер частини робочого процесу</p> <p>Видалено інструкцію щодо перемішування піпеткою, якщо бібліотечний планшет був заморожений.</p>

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution

версії 2

Документ	Дата	Опис зміни
Документ № 1000000078751, версія 07	Травень 2022 р.	<p>Розділіть обмеження процедури на звіті VeriSeq NIPT Solution v2 і включіть перші два пункти. Залишковий текст у новому заголовку Обмеження аналізу.</p> <p>Видалено</p> <ul style="list-style-type: none"> • VeriSeq з маркування всіх реагентів. • Нанесіть бар-код планшета на планшет адаптера VeriSeq NIPT у підготовці Prepare Libraries. <p>Додано</p> <ul style="list-style-type: none"> • Слово, сертифіковане для води без ДНКаз/РНКаз. • Один із наведених нижче пристроїв для зчитування мікропланшетів або їх еквівалент, а також SpectraMax M2, M3, M4, M5 і примітка. • До розділу VeriSeq NIPT Microlab STAR, щоб пояснити, що робити під час процедури обробки помилок. • Примітка щодо візуального огляду лунок. • Інструкції щодо партій з 24 та 48 зразками у всіх розділах протоколу. • Інструкції щодо використання фіолетового адаптерного планшета або його еквівалента. • Розділ «Демографія та характеристики вагітності» для включення результатів першого триместру вагітності. • Пункт до специфікацій планшета Deep Well, включаючи стійкість до крутного моменту. <p>Оновлено</p> <ul style="list-style-type: none"> • Формулювання для унікальних імен партій для ясності та додайте приклад. • Символи та форматування для приміток, застережень та попереджень. • Результати тестових підпунктів. • Гуанідин тіоціанат до гуанідину гідрохлориду. • CVS до BVS (базова вакуумна система) • Формулювання для використання повногеномного екрана та оцінки LLR. • Специфікації: Характеристики ємності з реагентами, планшети з глибокими лунками, планшети з 384 лунками, планшети з 96 лунками
Документ № 1000000078751, версія 06	Серпень 2021 р.	Оновлено адресу уповноваженого представника в Європейському Союзі.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina®

версії 2

Документ	Дата	Опис зміни
Документ № 1000000078751 версії 05	Грудень 2020 р.	<p>Оновлено розділи «Принципи проведення процедури», «Застереження» та «Маркування виробу» з додаванням пояснень, які відповідають вимогам нормативних документів. Незначні оновлення вмісту протоколу для відповідності поточному стилю й організації компанії Illumina.</p> <p>Виправлено опис хромосоми 21 як «другої найменшої людської аутосоми» на «найменшу людську аутосому» в пункті «Прецизійність» розділу «Аналітична ефективність».</p> <p>До розділів «Підготування до виділення плазми» й «Інтерпретація результатів» додано попередження, які стосуються неправильного використання резервуарів і ризиків змішування зразків.</p> <p>Додано нові номери артикулів сервера та програмного забезпечення для випуску нової моделі сервера й оновлення номерів артикулів програмного забезпечення.</p> <p>Додано попередження до протоколу й інформацію про виправлення несправностей стосовно запобігання переповнень зразків.</p> <p>Оновлено активні фармацевтичні складники в реагенті стандарту кількісного визначення ДНК в коробці з приладдям для відповідності паспорту безпеки продукції.</p> <p>Оновлено угоди про назви модуля Local Run Manager VeriSeq NIPT для узгодженості з іншою документацією.</p> <p>Додано історію редакцій.</p>
Документ № 1000000078751, версія 04	Жовтень 2020 р.	Незначні виправлення.
Документ № 1000000078751, версія 03	Вересень 2020 р.	Оновлено список матеріалів для надання характеристик лабораторного обладнання разом із відомими сумісними варіантами.

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution illumina® версії 2

Документ	Дата	Опис зміни
Документ № 1000000078751, версія 02	Лютий 2020 р.	<p>Оновлено надання інформації про клінічну ефективність для кращого пояснення відмінностей між базовим і повногеномним типом скринінгу.</p> <p>Додано новий розділ «Відмінності між ефективністю базового та повногеномного скринінгу».</p> <p>Вилучено суперечливу інформацію про необов'язковість додаткового звіту з розділу «Принципи проведення процедури».</p> <p>Оновлено угоду про назви диспетчера VeriSeq NIPT Workflow Manager версії 2 для стилістичної узгодженості в усьому документі.</p> <p>Оновлено маркування адрес компанії Illumina в Австралії та Нідерландах, що відобразатиме нещодавні зміни.</p>
Документ №1000000078751, версія 01	Серпень 2019 р.	<p>Вилучено дубльований етап у розділі «Екстракція пкДНК», спричинений помилкою програмного забезпечення для видавничих систем.</p>
Документ № 1000000078751, версія 00	Травень 2019 р.	<p>Початкова редакція.</p>

Інструкція з використання тесту VeriSeq NIPT Solution

версії 2

Патенти й товарні знаки

Цей документ і його зміст є власністю компанії Illumina, Inc. і її філій (надалі — Illumina). Він призначений лише для того, щоб користувач використовував вироби тільки за угодою в цілях, описаних у цьому документі. Цей документ і його зміст не слід використовувати або поширювати з будь-якою іншою метою та/або для іншого обговорення, розкриття або відтворення тим або іншим чином без попередньої письмової згоди компанії Illumina. Цим документом компанія Illumina не надає жодного дозволу на свій патент, товарний знак, авторське право або загальноприйняті права, а також на подібні права будь-яких третіх сторін.

Щоб гарантувати правильне та безпечне використання виробів, описаних у цьому документі, кваліфікований і належним чином навчений персонал повинен суворо та чітко дотримуватись інструкцій, описаних у цьому документі. Перед використанням цих виробів потрібно повністю прочитати й зрозуміти весь уміст цього документа.

НЕПОВНЕ ВИВЧЕННЯ ВСІХ ЗАЗНАЧЕНИХ У ЦЬОМУ ДОКУМЕНТІ ВКАЗІВОК І ЇХНЄ НЕЧІТКЕ ДОТРИМАННЯ МОЖЕ ПРИЗВОДИТИ ДО ПОШКОДЖЕННЯ ЦИХ ВИРОБІВ, ТРАВМУВАННЯ ЛЮДЕЙ, ЗОКРЕМА КОРИСТУВАЧІВ АБО ІНШИХ ОСІБ, І ПОШКОДЖЕННЯ ІНШОЇ ВЛАСНОСТІ, А ТАКОЖ ПРИЗВЕДЕ ДО ВТРАТИ БУДЬ-ЯКИХ ГАРАНТІЙНИХ ЗОБОВ'ЯЗАНЬ, ЗАСТОСОВНИХ ДО ЦИХ ВИРОБІВ.

КОМПАНІЯ ILLUMINA НЕ НЕСЕ ЖОДНОЇ ВІДПОВІДАЛЬНОСТІ, ЩО ВИНΙΚАЄ ВНАСЛІДОК НЕНАЛЕЖНОГО ВИКОРИСТАННЯ ВИРОБІВ, ОПИСАНИХ У ЦЬОМУ ДОКУМЕНТІ (ВКЛЮЧНО З ЙОГО ЧАСТИНАМИ АБО ПРОГРАМНИМ ЗАБЕЗПЕЧЕННЯМ).

© 2024 Illumina, Inc. Усі права застережено.

Усі товарні знаки — власність компанії Illumina, Inc. або їхніх відповідних власників. Конкретну інформацію про товарні знаки зазначено на сторінці www.illumina.com/company/legal.html.

Контактна інформація



Illumina, Inc.
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A. (США)
+1 800 809.ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (за межами Північної Америки)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Австралійський спонсор
Illumina Australia Pty Ltd
Nursing Association Building
Level 3, 535 Elizabeth Street
Melbourne, VIC 3000
Australia (Австралія)

Маркування виробу

Повний список символів, які може бути зображено на упаковці або маркуванні виробу, див. у поясненні символів на вебсайті support.illumina.com на вкладці *Documentation* (Документи) для вашого набору.

Зведену інформацію з гарантування безпеки й функціональних характеристик (SSP, Summary of Safety and Performance) можна знайти за адресою <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> після запуску Європейської бази даних медичних виробів Eudamed. Вона містить посилання на базовий ідентифікатор UDI-DI (0081627002NIPTRP).