

VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmän pakkausseloste

IN VITRO -DIAGNOSTISEEN KÄYTTÖÖN

Aiottu käyttötarkoitus

VeriSeq NIPT Solution v2 on *in vitro* -diagnostiikkatesti, joka on tarkoitettu käytettäväksi seulontatutkimukseen sikiön genomilaajuisten geneettisten poikkeamien havaitsemiseksi. Tutkimus tehdään vähintään 10 viikkoa raskaana olleen naisen perifeerisestä kokoverinäytteestä. VeriSeq NIPT Solution v2 käyttää koko genomien sekvensointia havaitsemaan kaikkien autosomien osittaiset duplikaatiot ja deleetiot ja kaikkien kromosomien aneuploidiatilan. Testi sisältää mahdollisuuden pyytää sukupuolikromosomien aneuploidioiden (SCA) raportointia. Tätä tuotetta ei tule käyttää ainoana diagnostiikkaperusteena tai raskauteen liittyvien päätösten perustana.

VeriSeq NIPT Solution v2 sisältää: VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 -ohjelmiston VeriSeq NIPT Microlab STAR -tuotteelle, VeriSeq NIPT -näytteenvalmistelupakkaukset ja VeriSeq Onsite Server v2 -palvelimen, jossa on VeriSeq NIPT Assay Software v2 -ohjelmisto. VeriSeq NIPT Solution v2 on tarkoitettu käytettäväksi uuden sukupolven sekvensointilaitteen kanssa.

Määrittämisen yhteenveto ja selitys

Sikiön kromosomipoikkeamat, erityisesti aneuploidia eli kromosomien poikkeava määrä, ovat yleinen syy hedelmöittymisen epäonnistumisen, synnynnäisten poikkeavuuksien, kehitysviiveiden ja älyllisen kehityksen puutteiden taustalla. Aneuploidiaa ilmenee noin yhdellä 300:sta elävänä syntyneestä, ja enemmän keskenmenotapauksissa ja kuolleena syntyneissä.^{1,2} Viime aikoihin asti on ollut kahdentyyppisiä syntyä edeltäviä testejä näihin tiloihin: diagnostinen testaus tai seulonta. Diagnostinen testaus sisältää invasiivisia toimenpiteitä, kuten lapsivesinäyte tai sikiön suonikalvon nukkanäyte. Nämä testausmenetelmät katsotaan sikiön aneuploidian havaitsemisen kultaiseksi standardiksi. Niihin kuitenkin liittyy raskauden keskeytymisen riski 0,11–0,22 %:ssa tapauksista.³ Konventionaalisilla usean markkerin seulonnoilla ei ole raskauden keskeytymisen vaaraa, koska ne ovat kajoamattomia, mutta eivät yhtä tarkkoja kuin diagnostiset testit. Niiden havaitsemisaste trisomian 21 havaitsemisessa vaihtelee välillä 69–96 % käytetyn seulonnan, äidin iän ja testaushetken gestaatioiän perusteella.⁴ Mikä tärkeintä, niiden virheellisten positiivisten tulosten määrä on noin 5 %, mikä voi johtaa invasiiviseen diagnostiseen testaukseen varmistusta varten ja siten toimenpiteeseen liittyvään raskauden keskeytymiseen.⁴ Ultraääniseulonnat voivat myös havaita kromosomipoikkeavuuksia, mutta ne ovat vieläkin epävarmempia kuin nämä muut menetelmät.

Kromosomien 21, 18, 13, X ja Y sikiön aneuploidia voidaan havaita hyvin tarkasti kajoamattomalla syntyä edeltävällä testauksella (noninvasive prenatal testing, NIPT) käyttämällä soluttoman DNA:n koko genomien sekvensointia äidin plasmanäytteestä, joka on otettu 10. gestaatioviikolla tai myöhemmin. Viimeaikaisessa useiden kliinisten tutkimusten meta-analysissä raportoitiin painotetut poolatut havaitsemisasteet ja -tarkkuudet trisomian 21 ja 18 osalta yksösraskauksissa seuraavasti: trisomia 21 99,7 % ja 99,96 % sekä trisomia 18 97,9 % ja 99,96 %.⁵ Yhdessä tutkimuksessa ehdotettiin, että NIPT-testauksen käyttö ensisijaisena seulontana kaikissa raskauksissa voisi vähentää varmistukseksi tehtyjä invasiivisia toimenpiteitä 89 %:lla.⁶

Ottaen huomioon merkittävä virheellisten positiivisten määrän väheneminen NIPT-testauksessa verrattuna konventionaaliseen usean markkerin seulontaan lukuisat ammattimaiset lääketieteelliset organisaatiot ovat julkaisseet mielipidelauselmia, joissa tuetaan useita NIPT-testauksen käytön indikaatioita.

Erityisesti International Society for Prenatal Diagnosis, American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) / Society for Maternal Fetal Medicine (SMFM), American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) ja European Society of Human Genetics / American Society of Human Genetics tukevat NIPT-testauksen tarjoamista kaikille raskaana oleville naisille.^{7,8,9} Testausta edeltävää neuvontaa, tietoista suostumusta ja diagnostista testausta positiivisen cfDNA-seulontatuloksen varmistamiseen suositellaan.⁴

VeriSeq NIPT Solution v2 on kajoamaton in vitro -diagnostinen (IVD) testi, joka hyödyntää cfDNA-fragmenttien koko genomien sekvensointia äidiltä aikaisintaan 10. gestaatioviikolla saaduista perifeerisistä kokoverinäytteistä. Valittavissa on kaksi eri seulontatutkimustyyppiä: basic (perus) ja genomewide (koko genomi). Perusseulonta tutkii aneuploidiat vain kromosomeista 21, 18, 13, X ja Y. Koko genomien laajuisessa seulonnassa selvitetään kaikkien autosomien osittaiset deleetit ja duplikaatiot sekä kaikkien kromosomien aneuploidiat. Molemmissa seulontatyypeissä on mahdollisuus sukupuolikromosomin aneuploidian (SCA) raportoimiseen joko ilman sikiön sukupuolen raportoimista tai sen kanssa. Sukupuolikromosomien aneuploidian raportointivaihtoehto voidaan kytkeä pois. Jos sukupuolikromosomien aneuploidian raportointi kytketään pois, myöskään sikiön sukupuolta ei raportoida. Lisätietoa sukupuolen raportoinnin vaihtoehtoista on *VeriSeq NIPT Solution v2 -ohjelmiston ohjeessa (asiakirjanro 100000067940)*.

Menetelmän periaatteet

VeriSeq NIPT Solution v2 on automaattinen ratkaisu laboratorion NIPT-testaukseen, joka koostuu automaattisesta näytteenvalmistelusta ja sekvensointitietojen analyysistä. VeriSeq NIPT -näytteenvalmistelupakkaukset ovat erityisiä kertakäyttöisiä reagensseja, joita käytetään yhdessä VeriSeq NIPT Microlab STAR -laitteen kanssa valmistelemaan 24, 48 tai 96 näytteen eriä uuden sukupolven sekvensointia varten. Koko genomien paritettujen päiden sekvensointitiedot analysoi erikoisohjelmisto VeriSeq NIPT Assay Software v2, joka luo raportin kvalitatiivisista tuloksista.

Työnkulku koostuu seuraavista toimenpiteistä: näytteenotto, plasman eristys, cfDNA:n eristäminen, kirjaston valmistelu, kirjaston kvantifiointi, kirjaston poolaus, sekvensointi ja analyysi, joista on seuraavassa lisätietoja:

- ▶ **Näytteenotto** – 7–10 ml äidin perifeeristä kokoversta otetaan Streck cell-free DNA Blood Collection Tube (BCT) -verinäyteputkeen, joka estää solujen lysesautumisen ja genomien kontaminaation ja vakauttaa kokoveren.
- ▶ **Plasman eristys** – 5 vuorokauden sisällä näytteenotosta plasma eristetään äidin perifeerisestä kokoverestä käyttämällä tavallisia sentrifugointitekniikoita. VeriSeq NIPT Microlab STAR aspiroi ja jakaa plasman 96-syväkuoppalevyyn myöhempää käsittelyä varten. Mikäli uudelleentestausta tarvitaan, jälkikäsiteltävät näytteet voidaan sulkea korkilla ja asettaa säilytykseen 4 °C:n lämpötilaan vielä 5 vuorokaudeksi (säilytys enintään 10 vuorokautta verinäytteen ottamisen jälkeen).



VAROITUS

Edellä mainittujen säilytysaikojen ylittäminen voi vaikuttaa negatiivisesti yksittäisen näytteen hylkäysasteeseen.

- ▶ **cfDNA:n eristäminen** – cfDNA:n puhdistus plasmasta tehdään adsorptiolla sidontalevyyn, pesemällä sidontalevystä kontaminaatiot ja eluoimalla.
- ▶ **Kirjaston valmistelu** – Puhdistetuille cfDNA-fragmenteille tehdään päidenkorjaus, jossa muutetaan 5'- ja 3'-päät tylpiksi. Seuraavaksi 3'-päihin lisätään deoksiadenosiinukleotidi yhden emäksen ulokkeen luomiseksi. Indeksoidut sovittimet, joissa on yhden emäksen 3'-deoksitymidiniuloke, liitetään sitten käsiteltyihin cfDNA-fragmenteihin. Liitetty DNA puhdistetaan kiinteään faasin käänteisillä immobilisaatorakeilla. Jokainen näyte 24, 48 tai 96 näytteen joukosta saa yksilöllisen indeksoidun sovittimen. Sovittimilla on kaksi tarkoitusta:
 - ▶ Indeksit mahdollistavat näytteen tunnistuksen myöhemmässä sekvensoinnissa.
 - ▶ Indeksisovittimet sisältävät sekvenssejä, jotka mahdollistavat kirjaston kiinnittämisen sekvensoivan virtauskyvetin kiinteälle pinnalle klusterin luomista ja myöhempää sekvensointia varten.
- ▶ **Kvantifiointi** – kirjastotuote kvantifioidaan käyttämällä fluoresenssiväriä, jonka pitoisuus on määritetty vertaamalla DNA-standardikäyrään.
- ▶ **Kirjaston poolaus ja sekvensointi** – Näytekirjastot yhdistetään 24 tai 48 näytteen pooleihin säädettyinä määrinä kattavuuden variaation minimoimiseksi. Jokainen pooli sekvensoidaan sitten käyttämällä uuden sukupolven sekvensointilaitetta.
- ▶ VeriSeq NIPT Solution v2 ei sisällä sekvensointilaitetta tai tarvikkeita.

- ▶ **Analyysi** – Kunkin näytteen analyysi sisältää seuraavat:
 - ▶ kirjastofragmenttien tunnistus indeksisekvenssillä ja paritettujen päiden luentojen kohdistus ihmisen referenssigenomiin
 - ▶ kirjaston sikiöfraktion arviointi yhdistämällä kirjastofragmenttien tiedot sekä pituuksien että genomikoordinaattien jakaumasta
 - ▶ tunnettujen poikkeamien huomioon ottamisen jälkeen tilastollinen malli tunnistaa genomista alueita, jotka ovat ali- tai yliedustettuja kirjastossa ja viittaavat siten poikkeamaan sikiöfraktion arvioidulla tasolla
 - ▶ NIPT-raportissa on yhteenveto valitun testivalikon tuloksista, missä on mainittu ANOMALY DETECTED (Poikkeavuus havaittu) tai NO ANOMALY DETECTED (Poikkeavuutta ei havaittu) sekä sikiöfraktioarvio laadunvalvonnan läpäisseistä näytteistä
 - ▶ lisäraportissa on kvantitatiivisia metriikoita kustakin havaitusta poikkeavuudesta.

Menetelmän rajoitukset

- ▶ VeriSeq NIPT Solution v2 on seulontatesti, eikä sitä pidä huomioida erkseen muista klinisistä löydöksistä ja testituloksista. Johtopäätökset sikiön tilasta ja raskauden hoitopäätökset eivät saa perustua pelkästään NIPT-seulonnan tuloksiin.⁷
- ▶ VeriSeq NIPT Solution v2 raportoi seuraavista:
 - ▶ Perusseulontatestit kromosomien 13, 18 ja 21 yliedustuksesta
 - ▶ Genominlaajuiset seulontatestit kaikkien autosomien ali- ja yliedustuksesta, mukaan lukien vähintään 7 Mb:n osittaiset deletiot ja duplikaatiot.
 - ▶ Yksösraskauksissa, joissa on valittu Yes (Kyllä) tai SCA sukupuolen raportointivaihtoehdoksi, on seuraavat sukupuolikromosomin poikkeavuudet: XO, XXX, XXY ja XYY.
 - ▶ Yksösraskauksissa, joissa on valittu Yes (Kyllä) sukupuolen raportointivaihtoehdoksi, raportoidaan sikiön sukupuoli.
 - ▶ Y-kromosomin läsnäolo kaksosraskauksissa.
- ▶ Testin herkkyys- ja spesifisyystodisteet koskevat yksös- ja kaksosraskauksia. Nämä käyttöohjeet eivät anna herkkyys- tai spesifisyystietoja kolmosista tai useamman sikiön raskauksista.
- ▶ VeriSeq NIPT Solution v2 -tuotetta ei ole tarkoitettu polyploidian, kuten triploidian, havaitsemiseen.
- ▶ VeriSeq NIPT Solution v2 -tuotetta ei ole tarkoitettu tasapainoisten kromosomien uudelleenjärjestäytymisten havaitsemiseen.
- ▶ Määrittäminen edellyttää äidin perifeerisiä kokoverinäytteitä, kun nainen on ollut raskaana vähintään 10 viikkoa.
- ▶ Perusseulonnoissa VeriSeq NIPT Solution v2 -testi etsii tiettyjä kromosomipoikkeavuuksia. Tulokset NO ANOMALY DETECTED (Poikkeavuutta ei havaittu) eivät sulje pois testattujen kromosomien kromosomipoikkeavuuksien mahdollisuutta. Negatiivinen tulos ei sulje pois mahdollisuutta, että raskaudessa on muita kromosomipoikkeavuuksia, geneettisiä tiloja tai syntymävikoja (esim. hermoputken sulkeutumishäiriö).
- ▶ Genominlaajuisissa seulonnoissa suuret deletiot ja duplikaatiot, jotka ovat alle 75 % kromosomin koosta, voivat viitata koko kromosomin aneuploidiaan.
- ▶ Genominlaajuisissa seulonnoissa tietyt alueet suljetaan pois analyysistä. Luettelo sulkulistalla olevista alueista on saatavilla Illuminan tuen verkkosivuilla. Genomisen poikkeavuuden havaitseminen tehdään vain ei-poissuljetuilta alueilta.
- ▶ Sikiön sukupuolen raportointi ei ole saatavilla kaikilla alueilla paikallisten sukupuolen raportointia koskevien säädösten mukaan.
- ▶ Testin tulokset voidaan lisätä tiettyihin äidin ja sikiön tekijöihin, joita ovat mm. seuraavat:
 - ▶ äskettäinen äidin verensiirto
 - ▶ äidin elinsiirto
 - ▶ äidin kirurginen toimenpide
 - ▶ äidin immunoterapia tai kantasoluhoito
 - ▶ äidin maligniteetti

- ▶ äidin mosaikismi
- ▶ fetoplasentaalinen mosaikismi
- ▶ sikiön kuolema
- ▶ elinkyvyn kaksonen

Tuotteen osat

VeriSeq NIPT Solution v2 (osanro 20030577) sisältää seuraavat näytteenvalmistelupakkaukset:

- ▶ VeriSeq NIPT -näytteenvalmistelutarja (24 näytteelle) (osanro 20025895)
- ▶ VeriSeq NIPT -näytteenvalmistelutarja (48 näytteelle) (osanro 15066801)
- ▶ VeriSeq NIPT -näytteenvalmistelutarja (96 näytteelle) (osanro 15066802)

VeriSeq NIPT Solution v2 (osanro 20030577) sisältää seuraavat ohjelmistokomponentit:

- ▶ VeriSeq NIPT Assay Software v2 (osanro 20047024), esiasennettu VeriSeq Onsite Server v2 -palvelimeen
 - ▶ VeriSeq Onsite Server v2 (osanro 20028403 tai 20047000) tai olemassa oleva VeriSeq Onsite Server (osanro 15076164 tai 20016240), joka päivitetään versioon 2
- ▶ VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 (osanro 20044988), esiasennettu VeriSeq NIPT Microlab STAR -laitteeseen
 - ▶ VeriSeq NIPT Microlab STAR (osanro Hamilton Company Reno: 95475-01 (115 V) & 95475-02 (230 V), Hamilton Company Bonaduz: 806288)
- ▶ Local Run Manager VeriSeq NIPT -moduuli (osanro 20044989)

Reagenssit

Mukana tulevat reagenssit

Illumina toimittaa seuraavat reagenssit: VeriSeq NIPT -näytteenvalmistelupakkaus (24 näytteelle) (osanro 20025895), VeriSeq NIPT -näytteenvalmistelupakkaus (48 näytteelle) (osanro 15066801) ja VeriSeq NIPT -näytteenvalmistelupakkaus (96 näytteelle) (osanro 15066802). VeriSeq NIPT -näytteenvalmistelupakkaukset sopivat käytettäväksi ML STAR -laitteen (osanro 95475-01, 95475-02 tai 806288) kanssa, jonka toimittaa Hamilton Company.

VeriSeq NIPT -näytteenvalmistelu, eristämislaitteisto

Taulukko 1 VeriSeq NIPT -eristämislaitteisto (24) ja (48), osanumero 20025869 ja 15066803

Reagenssin nimi etiketissä	Pakkauksessa olevien säiliöiden määrä	Aktiiviset ainesosat	Säilytys
Lyysauspuskuri	1	Guanidiinihydrokloridi puskuroidussa vesiliuoksessa	15–30 °C
Pesupuskuri I	1	Guanidiinihydrokloridi ja 2-propanoli puskuroidussa vesiliuoksessa	15–30 °C
Pesupuskuri II	1	Suoloja sisältävä puskuroitu vesiliuos	15–30 °C
Eluutiopuskuri	1	Puskuroitu vesiliuos	15–30 °C
Proteiinaasipuskuri	1	Glyseroli puskuroidussa vesiliuoksessa	15–30 °C
Proteiinaasi K	3	Kylmäkuivattu proteiinaasi K	15–30 °C

Taulukko 2 VeriSeq NIPT -eristämislaitikko (96), osanumero 15066807

Reagenssin nimi etiketissä	Pakkauksessa olevien säiliöiden määrä	Aktiiviset ainesosat	Säilytys
Lyysauspuskuri	1	Guanidiinihydrokloridi puskuroidussa vesiliuoksessa	15–30 °C
Pesupuskuri I	1	Guanidiinihydrokloridi ja 2-propanoli puskuroidussa vesiliuoksessa	15–30 °C
Pesupuskuri II	2	Suoloja sisältävä puskuroitu vesiliuos	15–30 °C
Eluutiopuskuri	1	Puskuroitu vesiliuos	15–30 °C
Proteinaasipuskuri	1	Glyseroli puskuroidussa vesiliuoksessa	15–30 °C
Proteinaasi K	4	Kylmäkuivattu proteinaasi K	15–30 °C

VeriSeq NIPT -näytteenvalmistelu, kirjastonvalmistelulaatikko

Taulukko 3 VeriSeq NIPT -kirjastonvalmistelulaatikko (24) ja (48), osanumero 20026030 ja 15066809

Reagenssin nimi etiketissä	Pakkauksessa olevien säiliöiden määrä	Aktiiviset ainesosat	Säilytys
Lopun korjausseos	1	DNA-polymeraasi ja dNTP:t puskuroidussa vesiliuoksessa	-25...-15 °C
A-hännänmuodostusseos	1	DNA-polymeraasi ja dATP puskuroidussa vesiliuoksessa	-25...-15 °C
Ligaatioseos	1	DNA-ligaasi puskuroidussa vesiliuoksessa	-25...-15 °C
Hybridisaatiopuskuri	1	Puskuroitu vesiliuos	-25...-15 °C
VeriSeq NIPT -DNA-sovitinlevy	1	Oligonukleotidit puskuroidussa vesiliuoksessa	-25...-15 °C

Taulukko 4 VeriSeq NIPT -kirjastovalmistelulaatikko (96), osanumero 15066810

Reagenssin nimi etiketissä	Pakkauksessa olevien säiliöiden määrä	Aktiiviset ainesosat	Säilytys
Lopun korjausseos	1	DNA-polymeraasi ja dNTP:t puskuroidussa vesiliuoksessa	-25...-15 °C
A-hännänmuodostusseos	2	DNA-polymeraasi ja dATP puskuroidussa vesiliuoksessa	-25...-15 °C
Ligaatioseos	2	DNA-ligaasi puskuroidussa vesiliuoksessa	-25...-15 °C
Hybridisaatiopuskuri	1	Puskuroitu vesiliuos	-25...-15 °C
VeriSeq NIPT -DNA-sovitinlevy	1	Oligonukleotidit puskuroidussa vesiliuoksessa	-25...-15 °C

VeriSeq NIPT -näytteenvalmistelu, lisävarustelaatikko

Taulukko 5 VeriSeq NIPT -lisävarustelaatikko, osanumero 15066811

Reagenssin nimi etiketissä	Pakkauksessa olevien säiliöiden määrä	Aktiiviset ainesosat	Säilytys
DNA:n sidontalevy	1	Propyleenimikrolevy, jossa muokattu silikonikalvo	2–8 °C
Uudelleensuspensiopuskuri	1	Puskuroitu vesiliuos	2–8 °C

Reagenssin nimi etiketissä	Pakkauksessa olevien säiliöiden määrä	Aktiiviset ainesosat	Säilytys
Näytteen puhdistuskuulat	1	Kiinteän faasin paramagneettiset rakeet puskuroidussa vesiliuoksessa	2–8 °C
DNA:n kvantifointireagenssi	1	DNA:n interkalaatioväri DMSO:ssa	2–8 °C
DNA:n kvantifointistandardi	1	dsDNA-standardi puskuroidussa vesiliuoksessa	2–8 °C

VeriSeq NIPT -näytteenvalmistelu, työnkulun putket ja etiketit

Taulukko 6 Työnkulun putket ja etiketit, osanumero 15071543

Tuotteen nimi etiketissä	Tuotteiden määrä pakkauksessa	Säilytys
Etiketti (LBL) – levyn viivakoodi	9	15–30 °C
Etiketti (LBL) – syväkuoppalevyn viivakoodi	12	15–30 °C
Putki (TB) – tyhjä poolausputki	5	15–30 °C

Erikseen hankittavat reagenssit

Erikseen hankittavat pakolliset reagenssit

- ▶ Uuden sukupolven sekvensointijärjestelmään (NGS) tarvittavat sekvensointireagenssit ja tarvikkeet
- ▶ DNase/RNase-vapaa vesi
- ▶ Etanoli, 100 % (200 proof), molekyylibiologialuokka



HUOMAUTUS

Muu kuin molekyylibiologialuokan etanoli saattaa vaikuttaa negatiivisesti kokeen suorituskykyyn.

Erikseen hankittavat valinnaiset reagenssit

- ▶ Dulbeccon fosfaattipuskuroitu suolaliuos (DPBS) mallineettomaan kontrolliin (NTC)

Säilytys ja käsittely

- 1 Huoneen lämpötilan määritelmänä on 15–30 °C.
- 2 Kaikki reagenssit ovat kertakäyttöisiä. Kun reagenssit on valmisteltu käyttöä varten, ne on käytettävä välittömästi.
- 3 Jos pakkaus tai VeriSeq NIPT Solution -tuotteen osat vaurioituvat tai vaarantuvat, ota yhteyttä Illuminan asiakaspalveluun.
- 4 Reagenssit ovat stabiileja pakkauksen merkinnöissä ilmoitettuun viimeiseen käyttöpäivään asti, kun niitä säilytetään ilmoitetuissa olosuhteissa. Katso säilytysolosuhteet taulukon Säilytys-sarakkeesta kohdasta *Mukana tulevat reagenssit sivulla 4*. Vanhentuneita reagensseja ei saa käyttää.
- 5 Toimitettujen reagenssien fyysisen ulkoasun muutos voi olla osoitus materiaalien huononemisesta. Jos ilmenee fyysisen ulkoasun muutoksia, kuten reagenssin värin ilmielviä muutoksia tai mikrobikontaminaatiolle ominaista sakkaisuutta, älä käytä reagensseja.
- 6 Noudata seuraavia parhaita käytäntöjä, kun käsittelet näytteenpuhdistusrakeita:
 - ▶ Älä koskaan pakasta rakeita.
 - ▶ Anna rakeiden lämmetä huoneenlämpöiseksi ennen käyttöä.
 - ▶ Vorteksoi rakeita juuri ennen käyttöä, kunnes ne ovat hyvin suspendoituneet ja väri vaikuttaa tasaiselta.
- 7 Lyysauspuskuri, pesupuskuri I, pesupuskuri II, eluutiopuskuri ja proteinaasipuskuri voi muodostaa näkyviä saostumia tai kiteitä. Ennen käyttöä vorteksoi voimakkaasti ja tarkista sitten visuaalisesti, ettei näy saostumia.
- 8 Älä koskaan pakasta kokoverta näytteenoton jälkeen.

- 9 Sekvensoi kirjastot mahdollisimman pian poolauksen jälkeen. Poolatut kirjastot ovat stabiileja enintään 7 vuorokautta lämpötilassa $-25...-15\text{ }^{\circ}\text{C}$. Lisädenaturaatiota ei tarvita, jos kirjastoja säilytetään tämä ajanjakso näissä olosuhteissa.

Välineet ja materiaalit

Tarvittavat välineet ja materiaalit, jotka eivät kuulu toimitukseen

Tarvittavat laitteet, jotka eivät kuulu toimitukseen

Laitteet	Toimittaja
20 µl:n yksikanavapipetit	Yleinen laboratoriotoimittaja
200 µl:n yksikanavapipetit	Yleinen laboratoriotoimittaja
1 000 µl:n yksikanavapipetit	Yleinen laboratoriotoimittaja
Pipettiapu	Yleinen laboratoriotoimittaja
Jääkaappi, 2–8 °C	Yleinen laboratoriotoimittaja
Pakastin, $-25...-15\text{ }^{\circ}\text{C}$	Yleinen laboratoriotoimittaja
Mikrosentrifugi	Yleinen laboratoriotoimittaja
Vorteksointilaite	Yleinen laboratoriotoimittaja
Sentrifugi- ja roottorikokoonpano verinäytteenottoputkille	
Suositus:	
<ul style="list-style-type: none"> Allegra X12R Series -sentrifugi, 1 600 g Allegra-sentrifugi GH-3.8, roottori ja kannatinkupit Allegra-sentrifugin kannatinkuppien kannet, kahden kpl:n sarja Allegra-sentrifugin sovitinkokoonpano, 16 mm, neljän kpl:n sarja 	Beckman Coulter, tuotenro 392304 (120 V tai 230 V) Beckman Coulter, tuotenro 369704 Beckman Coulter, tuotenro 392805 Beckman Coulter, tuotenro 359150
Vastaava tuote:	
<ul style="list-style-type: none"> Jäähdyttävä sentrifugi, jonka kapasiteetti on 1 600 × g ja johon kuuluu jarruton vaihtoehto Kääntyvä kauharoottori, joka on varustettu kauhoilla Kauhasisäkkeet, 24, 48 tai 96 putken kapasiteetti, 76 mm:n vähimmäissyvyys Vie sisään sovittimet tukemaan 16 x 100 mm:n verinäytteenottoputkia 	Yleinen laboratoriotoimittaja
Sentrifugi- ja roottorikokoonpano mikrolevyille	
Suositus:	
<ul style="list-style-type: none"> Sorvall Legend XTR -sentrifugi HIGHPlate 6000 -mikrolevyroottori Kaksi jommastakummasta seuraavista tukialustoista mikrolevyille: <ul style="list-style-type: none"> MicroAmp 96 kuopan tukialusta 96 kuopan levyteline 	Thermo Fisher Scientific, kuvastonro 75004521 (120 V) tai kuvastonro 75004520 (230 V) Thermo Fisher Scientific, kuvastonro TSCIR75003606 Thermo Fisher Scientific, kuvastonro 4379590 Thermo Fisher Scientific, kuvastonro AB-0563/1000
Vastaava tuote:	
<ul style="list-style-type: none"> Sentrifugi, jonka kapasiteetti on 5 600 × g Kääntyvä levyroottori 96-kuopan levytelineillä, 76,5 mm:n vähimmäissyvyys Mikrolevyjen tukialusta 	Yleinen laboratoriotoimittaja

Laitteet	Toimittaja
Yksi seuraavista mikrolevylukijoista (fluoresenssimittari) SoftMax Pro v6.2.2:n tai sitä uudemman version kanssa: <ul style="list-style-type: none"> Gemini XPS SpectraMax M2 	Molekyylilaitteet, osanro XPS Molekyylilaitteet, osanro M2
SpectraMax-suurnopeus-USB, sarjasovitin	Molekyylilaitteet, osanro 9000-0938
Lämpöblokki seuraavin tiedoin: <ul style="list-style-type: none"> Lämmitetty kansi 4...98 °C:n lämpötila-alue ±2 °C:n lämpötilatarkkuus Rampin nopeus vähintään 2 °C sekunnissa Yhteensopiva 96-kuoppaisen Twin.tec PCR -levyn kanssa, helmallinen 	Yleinen laboratoriotoimittaja
VeriSeq NIPT Microlab STAR	Hamilton, osanro 95475-01 (115 V), osanro 95475-02 (230 V) tai osanro 806288 (Hamilton Company Bonaduzille)
Seuraavan sukupolven sekvensointijärjestelmä (NGS), jolla on seuraavat ominaisuudet: <ul style="list-style-type: none"> 2 x 36 bp parillisen pään sekvensointi Yhteensopiva VeriSeq NIPT -näytteen valmistelun kaksoisindeksisovittimet .BCL-tiedostojen automaattinen tuotanto Kahden kanavan kemia 400 miljoonaa parillisen pään readia per ajo Yhteensopiva VeriSeq NIPT -määritysohjelmiston v2:n tai NextSeq 550Dx -sekvensointijärjestelmän kanssa. 	Laitteen toimittaja tai Illumina, osanro 20005715
Jos käytössä on NextSeq 550Dx -sekvensointijärjestelmä: <ul style="list-style-type: none"> NextSeq 550Dx -suurtehoreagenssarja v2.5, 75 jaksoa 	Illumina, osanro 20028870
VeriSeq Onsite Server v2 -palvelin tai päivitetty VeriSeq Onsite Server -palvelin	Illumina, osanro 20028403 tai 20047000 (v2) tai #15076164 tai # 20016240 (päivitetty)

Valinnainen laitteisto, ei mukana

Laitteet	Toimittaja
Pluggo-korkinpoistojärjestelmä	LGP Consulting, osanro 4600 4450
SpectraMax SpectraTest FL1 -fluoresenssivalidointilevy	Molekyylilaitteet, osanro 0200-5060
Putkirumpu/pyörityslaite, 15 ml:n putket, 40 rpm, 100–240 V	Thermo Scientific, kuvastonro 88881001 (US) tai kuvastonro 88881002 (EU)

Tarvittavat materiaalit, jotka eivät kuulu toimitukseen

Tarvike	Toimittaja
1 000 µl:n konduktiiviset steriloidut suodatinkärjet	Hamilton, osanro 235905
300 µl:n konduktiiviset steriloidut suodatinkärjet	Hamilton, osanro 235903
50 µl:n konduktiiviset steriloidut suodatinkärjet	Hamilton, osanro 235948

Tarvike	Toimittaja
<p>Syväkuoppasäiliö seuraavin tiedoin:</p> <ul style="list-style-type: none"> • SLAS 1-2004 -mikrolevy malli, jossa on 96 pohjaltaan pyramidin- tai kartionmuotoista kuoppaa ja 240 ml:n vähimmäiskapasiteetti. • Polypropeeni ja mieluiten alhainen DNA:n sitoutuminen kaikkien näytekontaktipintojen kohdalla. • Sisämitat (nestetaso) ovat yhteensopivia automatisoidun aspiraation ja VeriSeq NIPT Microlab STARin annosteluvaiheiden kanssa. • Korkeusmitat ovat yhteensopivia VeriSeq NIPT Microlab STARin automatisoitujen liikkeiden kanssa. 	<p>Yleinen laboratoriotoimittaja</p> <p>Yhteensopivat säiliöt:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Corning Axygen, tuotenro RES-SW96-HP-SI • Agilent, tuotenro 201246-100
<p>Reagenssiputki seuraavin tiedoin:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Suippopohjainen, vähimmäiskapasiteetiltaan 20 ml:n putki, joka sopii tiukasti VeriSeq NIPT Microlab STARin kantokoteloon. • Polypropeenia, joka ei sisällä RNAasia/DNAasia. • Sisämitat (nestetaso) ovat yhteensopivia automatisoidun aspiraation ja VeriSeq NIPT Microlab STARin annosteluvaiheiden kanssa. • Korkeusmitat ovat yhteensopivia VeriSeq NIPT Microlab STARin automatisoitujen liikkeiden kanssa. 	<p>Yleinen laboratoriotoimittaja</p> <p>Yhteensopivat putket:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Roche, tuotenro 03004058001
<p>Syväkuoppalevyt seuraavin tiedoin:</p> <ul style="list-style-type: none"> • SLAS 1-2004-, 3-2004- ja 4-2004-mikrolevy malli, jossa on 96 pohjaltaan pyramidin- tai kartionmuotoista kuoppaa ja 2 ml:n vähimmäiskapasiteetti. • Polypropeeni ja mieluiten alhainen DNA:n sitoutuminen kaikkien näytekontaktipintojen ja väännönkestävän kehyksen kohdalla. • Kuopan mitat (nestetaso) ovat yhteensopivia automatisoidun aspiraation ja VeriSeq NIPT Microlab STARin annosteluvaiheiden kanssa. • Levyn korkeusmitat ovat yhteensopivia VeriSeq NIPT Microlab STARin automatisoitujen liikkeiden kanssa. 	<p>Yleinen laboratoriotoimittaja</p> <p>Yhteensopivat levyt:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Eppendorf, osanro 0030505301 • Eppendorf, osanro 30502302 • USA Scientific, osanro 1896-2000
<p>384 kuopan levy seuraavin tiedoin:</p> <ul style="list-style-type: none"> • 384 kuopan mikrolevy, joka on optimoitu pienille tilavuuksille 50 µl:n vähimmäiskuoppatilavuudella. • Polypropeeni ja valonesto sekä alhainen DNA:n sitoutuminen kaikkien näytekontaktipintojen kohdalla. • Kuopan mitat (nestetaso) ovat yhteensopivia automatisoidun aspiraation ja VeriSeq NIPT Microlab STARin annosteluvaiheiden kanssa. • Levyn korkeusmitat ovat yhteensopivia VeriSeq NIPT Microlab STARin automatisoitujen liikkeiden kanssa. 	<p>Yleinen laboratoriotoimittaja</p> <p>Yhteensopivat levyt:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Corning, tuotenro 3820
<p>96 kuopan levy seuraavin tiedoin:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Mikrolevy, jossa on väännönkestävä kehys ja 96 suippopohjaista kuoppaa, kohotetut reunat ja vähintään 150 µl:n kuoppakapasiteetti. • Polypropeeni, joka ei sisällä RNasea/DNasea ja mieluiten alhainen DNA:n sitoutuminen kaikkien näytekontaktipintojen kohdalla. • Kuopan mitat (nestetaso) ovat yhteensopivia automatisoidun aspiraation ja VeriSeq NIPT Microlab STARin annosteluvaiheiden kanssa. • Levyn korkeusmitat ovat yhteensopivia VeriSeq NIPT Microlab STARin automatisoitujen liikkeiden kanssa. 	<p>Yleinen laboratoriotoimittaja</p> <p>Yhteensopivat levyt:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Eppendorf, osanro 0030129512 • Eppendorf, osanro 30129580 • Eppendorf, osanro 30129598 • Eppendorf, osanro 30129660 • Eppendorf, osanro 30129679 • BioRad, osanro HSP9601

Tarvike	Toimittaja
Yksi seuraavista peittimistä: • Microseal 'F'-.kalvo • Kalvosulut	Bio-Rad, kuvastonro MSF1001 Beckman Coulter, tuotenro 538619
Kuopaton DNA BCT CE	Streck, kuvastonro 218997
Työntökorkit	Sarstedt, tilausno 65.802
2 ml:n ruuvikorkkiputket	Yleinen laboratoriotuottaja
20 µl:n suodatinkärjet 20 µl:n pipettorille	Yleinen laboratoriotuottaja
200 µl:n suodatinkärjet 200 µl:n pipettorille	Yleinen laboratoriotuottaja
1 000 µl:n suodatinkärjet 1 000 µl:n pipettorille	Yleinen laboratoriotuottaja
25 ml:n serologiset pipetit	Yleinen laboratoriotuottaja
10 ml:n serologiset pipetit	Yleinen laboratoriotuottaja
Suositus: Deconex® SOLARSEPT Deconex® 61 DR	Borer Chemie AG
Vastaava tuote: Alkoholipohjainen nopea desinfiointisuihke Desinfiointi-puhdistusaineliuos	Yleinen laboratoriotuottaja

Valinnaiset materiaalit, ei mukana

Tarvike	Toimittaja
Putki, ruuvikorkki, 10 ml (vain kontrollinäytteille)	Sarstedt, tilausno 60.551
Putki, ruuvikorkki, 50 ml	Yleinen laboratoriotuottaja

Näytteiden ottaminen, kuljettaminen ja säilyttäminen



VAROITUS

Kaikkia näytteitä on käsiteltävä mahdollisesti tartuntavaarallisina aineina.

- 7–10 ml:n kokoverinäytteet on otettava Streck Cell-Free DNA BCT -näyteputkiin.
- Kokoveren kuljetuksessa on noudatettava kaikkia sovellettavia säädköksiä etiologisten aineiden kuljetuksesta. Nopeutettua lähetystä/kuljetusta suositellaan.
- Kuljetuksen aikana näytteitä on säilytettävä lämpötilassa 4–30 °C. Kun näytteet on vastaanotettu, niitä on säilytettävä 2–8 °C:ssa, kunnes niiden käsittely aloitetaan. Aika verinäytteen ottamisen ja ensimmäisen plasman erottelun välillä saa olla korkeintaan 5 vuorokautta.
- Mikäli uudelleentestausta tarvitaan, jälkikäsiteltävät näytteet voidaan sulkea korkilla ja asettaa säilytykseen 4 °C:n lämpötilaan vielä 5 vuorokaudeksi (säilytys enintään 10 vuorokautta verinäytteen ottamisen jälkeen).



VAROITUS

Edellä mainittujen säilytysaikojen ylittäminen voi vaikuttaa negatiivisesti yksittäisen näytteen hylkäysasteeseen.

Varoitukset ja varotoimet

- Tämä määräys sisältää proteinaasi K:ta. Aineen hengittäminen, nieleminen, ihokosketus tai silmäkosketus voi aiheuttaa vamman. Käytä hyvin tuuletetulla alueella, käytä suojavaatteita, vältä hengittämästä pölyä ja hävitä säiliöt ja käyttämätön sisältö sovellettavien kansallisten turvallisuusstandardien mukaisesti.

- ▶ Tämä määräys sisältää guanidiinikloridia. Henkilövahinkoja voi aiheutua hengittämisestä, nielemisestä sekä iho- ja silmäkosketuksesta. Käytä hyvin tuuletetulla alueella, käytä suojavaatteita ja hävitä säiliöt ja käyttämätön sisältö sovellettavien kansallisten turvallisuusstandardien mukaisesti.
- ▶ Tämä määräys sisältää 2-propanolia, tulenarkaa kemikaalia. Pidettävä poissa lämmönlähteistä ja avotulesta. Henkilövahinkoja voi aiheutua hengittämisestä, nielemisestä sekä iho- ja silmäkosketuksesta. Käytä hyvin tuuletetulla alueella, käytä suojavaatteita ja hävitä säiliöt ja käyttämätön sisältö sovellettavien kansallisten turvallisuusstandardien mukaisesti.
- ▶ Tämä määräys sisältää dimetyylisulfoksidia, syövyttävää ja syttyvää nestettä. Henkilövahinkoja voi aiheutua hengittämisestä, nielemisestä sekä iho- ja silmäkosketuksesta. Käytä hyvin tuuletetulla alueella, käytä suojavaatteita ja hävitä säiliöt ja käyttämätön sisältö sovellettavien kansallisten turvallisuusstandardien mukaisesti.
- ▶ Haitallisten kaasujen muodostumisen estämiseksi cfDNA:n eristämistä jätettä (sisältää guanidiinitiosyanaattia) ei saa hävittää valkaisuainetta (natriumhypokloriittia) sisältävän jätteen kanssa.
- ▶ Kaikkia näytteitä on käsiteltävä mahdollisesti tartuntavaarallisina aineina.
- ▶ Noudata normaaleja laboratoriotyön varotoimia. Älä pipetoi suun avulla. Älä syö, juo tai tupakoi työhön varatuilla alueilla. Käytä kertakäyttöisiä hansikkaita ja laboratoriotakkeja, kun käsittelet näytteitä tai määritysreagensseja. Pese kädet huolellisesti näytteiden ja koereagenssien käsittelyn jälkeen.
- ▶ Määrityksen komponentteja ei saa käyttää määrityspakkauksen etiketissä mainitun viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen. Eri määrityserien komponentteja ei saa vaihtaa keskenään. Määrityserä on ilmoitettu määrityspakkauksen etiketissä. Määrityksen komponentteja on säilytettävä määrityksessä lämpötilassa.
- ▶ Näytteen tai reagenssin huononemisen estämiseksi on varmistettava, että puhdistuksen jättämät natriumhypokloriittihöyryt ovat haihtuneet täysin ennen protokollan aloittamista.
- ▶ Jos annettuja ohjeita ei noudateta, tuloksena voivat olla virheelliset tulokset tai näytteiden laadun merkittävä heikentyminen.
- ▶ Kaikki tähän tuotteeseen liittyvät vakavat onnettomuudet on välittömästi ilmoitettava Illuminalle ja toimivaltaisille viranomaisille siinä valtiossa, missä käyttäjä ja potilas ovat.
- ▶ Katso ympäristöä, terveyttä ja turvallisuutta koskevia tietoja käyttöturvallisuustiedotteesta (KTT) osoitteessa support.illumina.com/sds.html.

Toimenpidehuomautukset

Kontaminaation välttäminen

- ▶ Käytä uusia kärkiä ja laboratoriotarvikkeita.
- ▶ Käytä aerosoliresistenttejä kärkiä pienentämään siirtymisen ja näytteiden välisen ristikontaminaation vaaraa.
- ▶ Kontaminaatiopotentiaalin vuoksi ole erittäin varovainen, jotta sisältö pysyy kokonaan kuopassa. Älä läikytä sisältöä. Sentrifugoi vorteksoinnin jälkeen.
- ▶ Noudata sovellettavia säädöksiä oikeanlaisesta laboratorioskäytännöstä ja hygieniasta käsiteltäessä verta ja veripohjaisia valmisteita.
- ▶ Älä käytä valkaisuainesuihkeita, kun valmistelet kirjastoa. Valkaisuainekontaminaatiojäämät voivat saada määrityksen epäonnistumaan.

VeriSeq NIPT Microlab STAR -laitteen alustan puhdistaminen

- ▶ Ennen käyttöä on tarkastettava alustan puhtaus. Viikoittainen kunnossapito on tehtävä vähintään kerran viikossa näiden puhdistusohjeiden mukaisesti.

- ▶ Irrota kaikki ei-poistettavat telineet, puhdista ne alkoholipohjaisella pikadesinfiointisuihkeella (Deconex® SOLARSEPT tai vastaava) ja anna niiden kuivua. Jos likaa on paljon, liota telineitä sen jälkeen desinfiointiaineliuoksessa (Deconex® 61 DR -puhdistusaine tai vastaava), huuhtelee ne alkoholipohjaisella desinfiointiaineella ja anna niiden sitten kuivua.
- ▶ Avaa etukansi ja pyyhi alusta Deconex® SOLARSEPT -aineella kostutetulla liinalla (tai vastaavalla aineella). Erityisesti liukulohkojen puhtaus on tarkistettava.
- ▶ Poista CVS-putkisto ja puhdista putkisto, tiiviste ja CVS:n sisälokerot liinalla.
- ▶ Tyhjennä CORE 96 -pään karkijäte ja erillinen kanava.
- ▶ Irrota karkien jäteaseman erillisen kanavan kärjenpoistolevy ja puhdista se: suihkuta Deconex® SOLARSEPT -ainetta (tai vastaavaa) suoraan levyn pinnalle ja pyyhi. Vedä uusi muovipussi kehyksen yli ja kiinnitä se uudelleen. Aseta puhdas kärjenpoistolevy takaisin paikoilleen.
- ▶ Suihkuta Deconex® SOLARSEPT -ainetta (tai vastaavaa) suoraan CORE 96 -pään jätelaatikon ja jätekourun pinnalle ja pyyhi ne puhtaaksi.
 - ▶ Jos jäämien poistaminen karkijätteestä on vaikeaa, käytä DNAasittomalla/RNAasittomalla vedellä kostutettua liinaa, kunnes jäämät ovat hävinneet. Hävitä liina asianmukaisesti. Jatka sterilointia alkoholipohjaisella desinfiointiaineella.
- ▶ Kostuta nukkaamaton liina tai pumpulipuikko 70-prosenttisella etanolilla. Pyyhi viivakoodinlukijan laserskannerin ikkuna. Puhdista CPAC-levyadapterin jokainen kuoppa samalla liinalla tai pumpulipuikolla. Jos käytät liinaa, paina se adapterin jokaiseen kuoppaan kynän päällä, jotta kuopan sisäpinta tulee varmasti puhdistettua.
- ▶ Erillisten kanavien puhdistaminen:
 - ▶ Puhdista erillisten kanavien kärjenpoistoholkki (pipetointikanavien ulompi osa) nukkaamattomalla liinalla, joka on kostutettu Deconex® SOLARSEPT -aineella (tai vastaavalla). (Katso *Hamilton Microlab STAR -viiteopas nro 15070074*.)
 - ▶ Puhdista pysäytyslevy ja pipetointipään O-renkaat (pipetointikanavien ulompi osa) nukkaamattomalla liinalla, joka on kostutettu Deconex® SOLARSEPT -aineella (tai vastaavalla).
- ▶ CORE 96 -pään puhdistaminen:
 - ▶ Puhdista 96-pään kotelo ja pysäytyslevyjen alapuoli samalla nukkaamattomalla liinalla, joka on kostutettu Deconex® SOLARSEPT -aineella (tai vastaavalla).
 - ▶ Puhdista sitten O-renkaat pyörittämällä samaa liinaa tai liinasta repäistyä kaistaletta, joka on kostutettu Deconex® SOLARSEPT -aineella (tai vastaavalla) 96-pään pipettikanavien sivujen ympärillä. Toista tämä toimenpide 96-pään kaikkien pipettikanavien osalta.
- ▶ Suihkuta etupuoli ja sivusuojus Deconex® SOLARSEPT -aineella (tai vastaavalla) ja pyyhi ne kuivaksi.
- ▶ Puhdista automaattitäytön suojanauha Deconex® SOLARSEPT -aineella (tai vastaavalla) kostutetulla liinalla ja pyyhi painamatta.
- ▶ Kun alusta ja komponentit ovat täysin kuivia, aseta telineet takaisin paikoilleen.



HUOMAUTUS

ML STAR -tuotteen vääränlainen puhdistus ja kunnossapito voi aiheuttaa ristikontaminaatiota ja määrityksen suorituskyvyn huononemista.

Laadunvalvonta

Kontrollimateriaalia, jonka suorituskykyominaisuudet tunnetaan, voidaan arvioida käsittelyerojen ja teknisten toimenpiteiden erojen havaitsemiseksi laboratoriossa.



HUOMAUTUS

Kontrollinäytteen tai mallittoman kontrollin ajaminen vähentää sellaisten tuntemattomien äitinäytteiden kokonaismäärää, joka voidaan käsitellä kullakin näytteenvalmistelupakkauksella.

Yhdessä 24 tai 48 näytteen erässä ei saa olla enempää kuin kaksi NTC-näytettä tai 96 näytteen erässä neljä NTC-näytettä.

Käyttöohjeet

Vinkkejä ja tekniikoita

Ellei turvallista pysähtymispistettä ole määritetty protokollassa, jatka välittömästi seuraavaan vaiheeseen.

Viivakoodien lisääminen levyihin

- Helmallisten levyjen viivakoodit alkavat kirjaimilla PL.
- Syväkuoppalevyjen viivakoodit alkavat kirjaimilla DW.
- Lisää viivakoodit helmallisten levyjen ja syväkuoppalevyjen sivuun sarakkeeseen 12.
- Lisää levyt viivakoodi oikealle suunnattuna, jotta automaattinen skannaus on mahdollista.

Levyn peittäminen ja avaaminen

- ▶ Peitä 96-kuoppalevy aina ennen protokollan seuraavia vaiheita:
 - ▶ sentrifugointivaiheet
 - ▶ lämpöblokkivaiheet
- ▶ Peitä levy applikoimalla liimapeite levyille ja tiivistämällä se.
- ▶ Ennen peittämistä:
 - ▶ Sentrifugoi 96-kuoppalevyä lyhyesti voimalla 1000 × g 20 sekunnin ajan.
 - ▶ Aseta levy tasaiselle pinnalle, ennen kuin poistat peittimen hitaasti.

VeriSeq NIPT Microlab STAR

- ▶ Ennen käyttöä tee ja dokumentoi tarvittava kunnossapito valmistajan ohjeiden mukaisesti.
- ▶ Tarkkaile ML STAR -laitetta automaattisten toimien aikana. Tarkkaile VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 -ohjelmiston käyttöliittymää kehotteiden ja ohjeiden varalta.
- ▶ Pidä etusuojaus paikoillaan käytön aikana.
- ▶ Pidä alusta puhtaana kaikista esineistä toiminnan aikana.
- ▶ Jos levyjen imuvaiheiden aikana VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 niin kehottaa, auta levyn ja imuputkiston välisen tiivistyksen luomisessa manuaalisesti.
- ▶ Anna järjestelmän hävittää kärjet adapterista automaattisesti. Älä poista kärkiä manuaalisesti, ellei ohjelmisto niin neuvo.
- ▶ Poista käytetyt reagenssit ja kulutustarvikkeet työnlulun hallinnan kehotuksen mukaisesti.
- ▶ Tyhjennä imujätepullot päivittäin. Ensimmäinen pullo ei koskaan saa olla enempää kuin puoliksi täynnä. Imujätteen ylivuotaminen voi vahingoittaa imupumppua ja heikentää järjestelmässä syntyvää imua.

Näytteiden käsitleminen

Toimenpide

- 1 Tee seuraavat toimet kaikille alikvooteille:
 - a Sentrifugoi viivakoodillisia näytteitä voimalla 1600 × g 10 minuutin ajan lämpötilassa 4 °C jarru pois kytkettynä.
 - b Kun sentrifugi pysähtyy kokonaan, poista näyteputket. Sentrifugoinnin jälkeen aloita plasman eristys 15 minuutin sisällä. Jos kuluu yli 15 minuuttia, sentrifugoi uudelleen.
- 2 Tarkasta jokainen putki näytteen sopivuuden varalta, mukaan lukien seuraavat:

- ▶ Näytteen määrä on odotetunlainen.
- ▶ Näyte on erottunut oikein sentrifugoinnin aikana.
- ▶ Plasman taso on ainakin 1,5 ml buffy coat -kerroksen yläpuolella.
- ▶ Näyte ei ole voimakkaasti hemolysoitunut (ts. plasma ei näytä syvänpunaiselta).
- ▶ Näyte ei ole lipeeminen (esim. plasma ei ole samean valkoista tai maitomaisen läpinäkymätöntä).
- ▶ Näytteessä ei ole hyytymiä.



VAROITUS

Näytteet, joita on säilytetty tai käsitelty väärin, voivat muuttua epäsopiviksi. Jos työnkululla käsitellään epäsopivia näytteitä, ne voivat tukkia sidontalevyn eristämisen aikana, mikä johtaa näytteen ylivuotamiseen viereisiin kuoppiin.

- 3 Poista putkista korkit ja aseta ne putkitelineisiin. Aseta kaikki erän näytteet ja plasmakontrollit.

Plasman eristäminen

Valmisteleminen

- 1 Merkitse 1 syväkuoppalevy keskiplasmaksi ja lisää viivakoodi.
- 2 Merkitse 1 syväkuoppalevy lopulliseksi plasmaksi ja lisää viivakoodi.



VAROITUS

Muista käyttää oikeaa levytyyppiä keskiplasmalle ja lopulliselle plasmalle. Syväkuoppasäiliön käyttäminen syväkuoppalevyn sijaan johtaa näytteiden yhdistymiseen ja voi tuottaa virheellisiä tuloksia.

Toimenpide

- 1 Avaa AppLauncher (Sovelluksen käynnistin) ja valitse **VeriSeq NIPT Method** (VeriSeq NIPT -menetelmä).
- 2 Anna erätunniste ja käyttäjätunnus ja valitse **OK**.
Erätunnisteessa on 26 merkin raja. Käytä vain numeroita, kirjaimia, alaviivoja (_) tai väliviivoja (-).
Esimerkiksi: 2025-10-16_Batch3.
- 3 Valitse **New Batch** (Uusi erä).
- 4 Aloita plasman eristys käynnistyksen jälkeen valitsemalla **OK**.
- 5 Tee jokin seuraavista:
 - Lisää aiemmin luotu näytearkki valitsemalla erään liittyvä näytearkki ja sitten **OK**.
 - Jatka valitsematta näytearkkia valitsemalla **No Sample Sheet** (Ei näytearkkia).

Lisätietoja näytearkin luomisesta tai oletusarvojen määrittämisestä on *VeriSeq NIPT Solution v2 -ohjelmisto-oppaassa (asiakirjan nro 100000067940)*.



HUOMAUTUS

Näytteen tyyppi, yksönen tai kaksonen, on kirjattava tarkasti kustakin näytteestä, jotta tietojen analyysi on varmasti oikea.

Jos valitset No Sample Sheet (Ei näytearkkia), tarkista, että olet määrittänyt oletusarvoiset näytearvot Workflow Manager (Työnkulun hallinta) -ohjelmiston Service Tools (Huoltotyökalut) -kohdassa.

- 6 Valitse erän koko ja sitten **OK**.
- 7 Valitse mallinneettomien kontrollien (NTC) määrä ja valitse **OK**.



HUOMAUTUS

NTC-paikat ovat aina viimeisimmät valitut paikat. Esimerkiksi kun 24 näytteen ajossa on kaksi NTC:tä, ne ovat paikoissa 23 ja 24.

- 8 Tarkista, että kaikki viivakoodit on kiinnitetty, ja lisää näyttöet, kärjet ja levyt (viivakoodi oikealle päin) telineeseen. Valitse **OK** kunkin lisäysohjetteen jälkeen.

Näytteen eräkkö	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48, 96	Kärki	7-12	1000 µl:n kärjet	5
			1000 µl:n kärjet (vain 96-erä)	4, 5
	Putki	15	Valmistellut verinäyteputket 1-24 (kaikki eräkoot)	1-24
	Putki	16	Valmistellut verinäyteputket 25-48 (vain eräkoot 48 ja 96)	25-48
	Putki	17	Valmistellut verinäyteputket 49-72 (vain eräkkö 96)	49-72
	Putki	18	Valmistellut verinäyteputket 73-96 (vain eräkkö 96)	73-96
	Multiflex	19-24	Tyhjä syväkuoppalevy, lopullinen plasma – viivakoodillinen	4
	Multiflex	19-24	Tyhjä syväkuoppalevy, keskiplasma – viivakoodillinen	5
	Reagenssi	47	[Valinnaista] DPBS mallinettomaan kontrolliin	5

- 9 Tarkista, että telineet, laboratoriotarvikkeet ja reagenssit on lisätty oikein ja valitse **OK** Pre-Spin Deck Verification (Pyöritystä edeltävä alustan tarkistus) -näytössä.
- 10 Tarkkaile, kun ML STAR suorittaa automaattiset toimet.
- 11 Kun työnkulun hallinta niin kehottaa, tarkista, ettei ML STAR -laitteen latausalustalla ole esteitä, jotta ML STAR voi poistaa telineet.
- 12 Tyhjennä alusta valitsemalla **Unload** (Tyhjennä).
- 13 Poista keskiplasman syväkuoppalevy.
- Tarkista, että levyn kussakin kuopassa on sama määrä (ei pipetointivirheitä). Odotettu määrä on 1000 µl.
 - Huomaa epäyhdenmukaisuudet ja kirjaa ne, kun plasman eristys on valmis.
 - Peitä levy, aseta tasapaino ja sentrifugoi voimalla 5600 × g 10 minuutin ajan jarru pois käytöstä tai pienimmällä asetuksella.
- 14 Jatka lopullisen plasman valmisteluun valitsemalla **Yes** (Kyllä).
- 15 Poista levyreitit ja aseta levy uudelleen telineeseen.

Näytteen eräkkö	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48, 96	Multiflex	19-24	Keskiplasman syväkuoppalevy	5

- 16 Valitse **Intermediate Plasma plate has been spun** (Keskiplasmalevy on pyöritetty) -valintaruutu ja sitten **OK**.
- 17 Tarkkaile, kun ML STAR suorittaa automaattiset toimet.
- 18 Kun työnkulun hallinta niin kehottaa, tarkista, ettei ML STAR -laitteen latausalustalla ole esteitä, jotta ML STAR voi poistaa telineet.
- 19 Tyhjennä alusta valitsemalla **Unload** (Tyhjennä).
- 20 Kun työnkulun hallinta niin kehottaa, poista telineet ja alusta.
- 21 Poista lopullisen plasman syväkuoppalevy.
- 22 Tarkasta levy seuraavien varalta:
- ▶ Sama määrä kussakin kuopassa. Odotettu määrä on 900 µl.
 - ▶ Näkyvät solupelletit.
 - ▶ Liiallinen hemolyysi.
- Jos havaitset epänormaaleja näkyviä solupellettejä tai liiallista hemolyysiä, hylkää kyseinen näyte plasman eristysmenetelmän lopussa tai käytä erän hallintaa. Lisätietoa erän hallinnasta on *VeriSeq NIPT Solution v2 -ohjelmiston ohjeessa (asiakirjanro 1000000067940)*.
- 23 Kun työnkulun hallinta niin kehottaa, valitse **OK**.
- 24 Kirjoita huomautuksia kohdekuopista ja valitse sitten **OK**.

25 Tee jokin seuraavista.

- Jatka cfDNA:n eristämiseen valitsemalla **Yes** (Kyllä).
- Lopeta valitsemalla **Exit** (Sulje).

TURVALLINEN PYSÄYTYSKOHTA

Jos pysäytät, peitä lopullisen plasman levy ja aseta se säilytykseen 2–8 °C:seen enintään 7 vuorokaudeksi.

cfDNA:n eristäminen

Valmisteleminen

- 1 Tarkista eristämisen- ja lisävarustelaatikoista, että pakkauksen viimeinen käyttöpäivä ei ole mennyt.
- 2 Valmistele seuraavat reagenssit. Merkitse putkiin ja syväkuoppasäiliöihin reagenssien nimi.

Tuote	Säilytys	Ohjeet
Lopullisen plasman syväkuoppalevy	2–8 °C	Jos tarvikkeet olivat säilytyksessä viileässä, anna niiden lämmetä huoneenlämpöiseksi 30 minuutin ajan. Sentrifugoi voimalla 1000 x g 20 sekunnin ajan. Poista lopullisen plasman syväkuoppalevyn peitin ennen käyttöä.

- 3 Lisää hitaasti 3,75 ml proteinaasipuskuria kuhunkin proteinaasi K:n reagenssipulloon.
 - ▶ Valmistele 3 pulloa 24 ja 48 näytteelle.
 - ▶ Valmistele 4 pulloa 96 näytteelle.
- 4 Aseta korkki proteinaasi K:n pulloihin ja vorteksoi, kunnes se on suspendoitunut uudelleen.



VAROITUS

Älä kontaminoi kumitulppaa. Mikäli kumitulppaan pääsee muita aineita, se voi kontaminoida tulevat näytteet.

- 5 Kaada valmisteltu proteinaasi K kaikista pulloista reagenssisäiliöön ja merkitse se proteinaasi K:ksi.
- 6 Lisää 100 ml 100-prosenttista EtOH:a kuhunkin pesupuskurin II reagenssipulloon.
 - ▶ Valmistele 1 pullo 24 ja 48 näytettä varten.
 - ▶ Valmistele 2 pulloa 96 näytettä varten.
- 7 Sekoita pesupuskuri II -pullot kääntelemällä niitä.
- 8 Merkitse pesupuskuri II -pullojen valintaruudut.
- 9 Merkitse 1 uusi helmallinen levy keskitasoksi ja lisää levyn viivakoodi.
- 10 Merkitse 1 uusi helmallinen levy cfDNA:n eluutioksi ja lisää levyn viivakoodi.
- 11 Merkitse 1 uusi syväkuoppalevy uuton keskitasoksi ja lisää syväkuoppalevyn viivakoodi.
- 12 Lisää levyn viivakoodi DNA:n sidontalevyyn.
- 13 Valmistele 70-prosenttinen EtOH-puhdistusliuos (70 % EtOH, 30 % DNAasitonta/RNAasitonta vettä) imujärjestelmän puhdistamista varten.
- 14 Valmistele imujärjestelmä.
 - a Poista imuputkisto ja puhdistu 70-prosenttisellä EtOH:lla.
 - b Tyhjennä imujäte.
 - c Tarkista, että ML STAR -imujärjestelmään on kytketty virta.

Vältä tiivisteiden puhdistamista EtOH:lla, koska se voi haurastuttaa tiivisteiden materiaalia.

Toimenpide

- 1 Aloita cfDNA:n eristäminen valitsemalla **OK**.
- 2 Jos VeriSeq NIPT Method ei ole vielä auki:
 - a Avaa AppLauncher ja valitse **VeriSeq NIPT Method** (VeriSeq NIPT -menetelmä).
 - b Anna erätunniste ja käyttäjätunnus ja valitse **OK**.

3 Lisää kärkiä kärkitelineisiin seuraavasti ja valitse sitten **OK**.

Näytteen eräkoko	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24	Kärki	1-6	1000 µl:n kärjet	1
		7-12	300 µl:n kärjet	1
48	Kärki	1-6	1000 µl:n kärjet	1, 2
		7-12	300 µl:n kärjet	1
96	Kärki	1-6	1000 µl:n kärjet	1, 2, 3, 4
		7-12	300 µl:n kärjet	1

4 Lisää lasketut kärjet kärkitelineisiin seuraavasti.

Näytteen eräkoko	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48, 96	Kärki	49-54	1000 µl:n kärjet	1
			300 µl:n kärjet	2
			50 µl:n kärjet	3

5 Anna ensimmäisen ja viimeisen kärjen paikka kussakin kärkitelineessä ja valitse **OK**.

6 Skannaa erottelulaatikon viivakoodit.

7 Anna käyttäjätunnus tai reagenssien valmistelijan nimikirjaimet ja valitse **OK**.

8 Skannaa lisävarustelaatikon viivakoodit.

9 Anna käyttäjätunnus tai reagenssien valmistelijan nimikirjaimet ja valitse **OK**.

10 Tarkista, että viivakoodit on kiinnitetty.

11 Poista peitin lopullisesta plasman syväkuoppalevystä ja aseta levyt (viivakoodi oikealle suunnattuna) levytelineeseen seuraavasti ja valitse sitten **OK**.

Näytteen eräkoko	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48, 96	Multiflex	19-24	Uusi helmallinen levy, keskitaso – viivakoodillinen	1
			Uusi helmallinen levy, cfDNA:n eluutio – viivakoodillinen	2
			Uusi syväkuoppalevy, erottelukeskitaso – viivakoodillinen	4
			Lopullisen plasman syväkuoppalevy – viivakoodillinen	5

12 Tarkista, että DNA:n sidontalevyssä on viivakoodi ja valitse sitten **OK**.

13 Osittaisissa levyerissä aseta leikattu levypeitin käyttämättömien kuoppien päälle (sarakkeet 4-12 käytettäessä 24 näytteen erää ja sarakkeet 7-12 käytettäessä 48 näytteen erää).

14 Aseta DNA:n sidontalevy imuputkiston päälle viivakoodi oikealle suunnattuna.

15 Valitse **Are DNA Binding Plate Columns Sealed?** (Onko DNA:n sidontalevyn sarakkeet peitetty?) - valintaruutu ja valitse sitten **OK**.16 Aseta reagenssiputket reagenssitelineeseen seuraavasti ja valitse **OK**.

Näytteen eräkoko	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48	Reagenssi	47	16 ml eluutiopuskuria	1
			11 ml proteinaasi K:ta	2
96	Reagenssi	47	16 ml eluutiopuskuria	1
			15 ml proteinaasi K:ta	2

- 17 Siirrä määritetyt reagenssit syväkuoppasäiliöihin ja aseta säiliöt syväkuoppatelineisiin seuraavasti.
18 Valitse **OK**.

Näytteen eräkkö	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48	Syväkuoppa	39-44	125 ml pesupuskuria II	1
			125 ml pesupuskuria II	2
			60 ml 100 % EtOH	3
			100 ml lyysauspuskuri	4
			60 ml DNAasia/RNAasia sisältämätöntä vettä	5
96	Syväkuoppa	39-44	200 ml pesupuskuria II	1
			125 ml pesupuskuria II	2
			100 ml 100 % EtOH	3
			100 ml lyysauspuskuri	4
			100 ml DNAasia/RNAasia sisältämätöntä vettä	5

- 19 Odota, että automaattinen reagenssimäärän tarkistus päättyy.
20 Tarkista, että imujäte ei ole yli puoliksi täynnä (tyhjää suositellaan), ja valitse **OK**.
21 Tarkista kaikkien telineiden, laboratoriotarvikkeiden ja reagenssien sijoitus ja valitse sitten **OK** Extraction Deck Verification (Erottelualueen tarkistus) -näytössä.
22 Tarkkaile ML STAR -laitetta automaattisten toimien aikana.



VAROITUS

Sinun on manuaalisesti kumottava näytteen ylivuodot, joita järjestelmä ei havaitse, ennen läheisten kuoppien kontaminaatiota.

- 23 Lopullisen imuvaiheen jälkeen poista DNA:n sidontalevy ja puhdista alapinta 70 %:n EtOH:lla.
24 Peitä kaikki peittämättömät kuopat DNA:n sidontalevyssä ja aseta levy tyhjän lopullisen plasman syväkuoppalevyn päälle.
25 Sentrifugoi DNA:n sidontalevyn ja lopullisen plasman levyn kokoonpanoa nopeudella 5600 × g 10 minuutin ajan jarru käytössä.
26 Valitse **OK**.
27 DNA:n sidontalevyn sentrifugoinnin aikana tee imupuhdistus:
- Poista imuputkisto ja valitse **OK**.
 - Odota, että automaattinen jätteenhävitys päättyy.
 - Puhdista imuputkisto ja imujärjestelmän sisäpuoli 70 %:n EtOH:lla ja aseta sitten imuputkisto takaisin paikoilleen.
 - Käynnistä eluutiolevyn siirto imuputkistossa valitsemalla **Manifold is on Vacuum** (Putkistossa on imu) -valintaruutu ja valitse sitten **OK**.
- 28 Sentrifugoinnin jälkeen peitä kuopat, joissa on näytteitä DNA:n sidontalevyssä, ja aseta levy cfDNA:n eluutiolevyn päälle.
cfDNA:n eluutiolevy on imuputkiston päällä.
29 Aseta DNA:n sidontalevy viivakoodi suunnattuna oikealle ja valitse sitten **OK**.
30 Tarkkaile ML STAR -laitetta automaattisten toimien aikana.
31 Vahvasta inkuboinnin jälkeen, että DNA:n sidonta- / cfDNA:n eluutiolevy on tukialustalla, valitsemalla **Plates are assembled as indicated** (Levyt on koottu ohjeiden mukaan) -valintaruutu (jos sentrifugi niin edellyttää).
32 Peitä DNA:n sidontalevyn peittämättömät kuopat.
33 Sentrifugoi voimalla 5600 × g 2 minuutin ajan jarru käytössä ja valitse sitten **OK**.
34 Tarkista, että cfDNA:n eluutiolevyissä on sama määrä kussakin kuopassa.
Odotettu määrä on noin 55 µl.

- 35 Peitä ja säilytä cfDNA-eluutiolevy kirjaston valmistelua varten.
- 36 Kun työnkulun hallinta niin kehottaa, tarkista, ettei ML STAR -laitteen latausalustalla ole esteitä, jotta ML STAR voi poistaa telineet.
- 37 Tyhjennä alusta valitsemalla **Unload** (Tyhjennä).
- 38 Poista kaikki telineet ja puhdista ML STAR -laitteen alusta. Valitse sitten **OK**.
- 39 Kirjoita huomautuksia kohdekuopista ja valitse sitten **OK**.
- 40 Tee jokin seuraavista:
 - Jatka kirjastojen valmistelemista valitsemalla **Yes** (Kyllä).
 - Lopeta valitsemalla **Exit** (Sulje).

TURVALLINEN PYSÄYTYSKOHTA

Jos pysäytät, peitä cfDNA-eluutiolevy ja aseta se säilytykseen $-25...-15\text{ °C}$:seen enintään 7 vuorokaudeksi.

Kirjastojen valmistelu

Valmisteleminen

- 1 Tarkista kirjastonvalmistelu- ja lisävarustelaatikoista, että pakkauksen viimeinen käyttöpäivä ei ole ohittunut.
- 2 Valmistele seuraavat reagenssit. Merkitse säiliöputkiin ja syväkuoppasäiliöihin reagenssien nimi.

Tuote	Säilytys	Ohjeet
Lopun korjausseos	$-25...-15\text{ °C}$	Sulata huoneenlämmössä. Sekoita vorteksoimalla.
A-hännänmuodostusseos	$-25...-15\text{ °C}$	Sulata huoneenlämmössä. Sekoita vorteksoimalla ja sentrifugoi sitten lyhyesti.
Ligaatioseos	$-25...-15\text{ °C}$	Sulata huoneenlämmössä. Sekoita vorteksoimalla ja sentrifugoi sitten lyhyesti.
Uudelleensuspensiopuskuri	$2-8\text{ °C}$	Sekoita vorteksoimalla. Palauta säilytykseen käytön jälkeen.
Hybridisaatiopuskuri	$-25...-15\text{ °C}$	Sulata huoneenlämmössä. Sekoita vorteksoimalla. Palauta säilytykseen käytön jälkeen.
VeriSeq NIPT -DNA-sovitinlevy	$-25...-15\text{ °C}$	Sulata huoneenlämmössä. Sekoita vorteksoimalla. Sentrifugoi voimalla $1000 \times g$ 20 sekunnin ajan. Lisää levyn viivakoodi.
Näytteen puhdistuskuulat	$2-8\text{ °C}$	Anna lämmitä huoneenlämpöiseksi 30 minuutin ajan. Vorteksoi voimakkaasti ennen jokaista käyttökertaa. Sekoita vorteksoimalla tai kääntelemällä ylösalaisin, kunnes kaikki rakeet ovat suspensiossa ja seos on homogeenistä.
cfDNA:n eluutiolevy	$-25...-15\text{ °C}$	Jos levy on ollut aiemmin säilytyksessä, tarkista, ettei sitä ole säilytetty yli 7 vuorokautta, ja anna sen sulaa huoneenlämmössä. Vorteksoi nopeudella 1500 r/min 1 minuutin ajan. Sentrifugoi voimalla $1000 \times g$ 20 sekunnin ajan.

- 3 Valmistele tuoretta 80 %:n EtOH:ta 50 ml 40 ml:sta 100 %:n EtOH:a ja 10 ml DNAasitonta/RNAasitonta vettä. Sekoita EtOH kääntämällä putkea.
- 4 Merkitse 1 uusi helmallinen levy kirjastoksi ja lisää levyn viivakoodi.
- 5 Tarkista, että ML STAR -tuotteen lämpöohjaus on käytössä.

Entsyymien laimentaminen

- 1 Yhdistä A-hännänmuodostusseos ja uudelleensuspensiopuskuri kierrekorkkiputkesta. Sekoita vorteksoimalla ja sentrifugoi sitten lyhyesti.

Näytteen eräkoko	A-hännänmuodostusseos	Uudelleensuspensiopuskuri
24, 48	900 µl	1200 µl
96	1800 µl	2400 µl

- 2 Yhdistä ligaatioseos ja uudelleensuspensiopuskuri kierrekorkkiputkesta. Sekoita vorteksoimalla ja sentrifugoi sitten lyhyesti.

Näytteen eräkoko	Ligaatioseos	Uudelleensuspensiopuskuri
24, 48	230 µl	1713 µl
96	440 µl	3278 µl

Toimenpide

- Aloita kirjaston valmistelu valitsemalla **OK**. Jos VeriSeq NIPT Method ei ole vielä auki:
 - Avaa AppLauncher (Sovelluksen käynnistin) ja valitse **VeriSeq NIPT Method** (VeriSeq NIPT -menetelmä).
 - Anna erätunniste ja käyttäjätunnus ja valitse **OK**.
- Tarkista, että seuraavat kulutustarvikkeet on valmisteltu Reagent Preparation (Reagenssin valmistelu) -näytön ohjeiden mukaisesti:
 - ▶ A-hännänmuodostusseos, ligaatioseos ja 80 %:n EtOH.
 - ▶ Näytteenpuhdistusrakeet, loppukorjausseos ja VeriSeq NIPT DNA -sovitinlevy.
- Valitse valintaruudut ja sitten **OK**.
- Skannaa kirjastonvalmistelulaatikon viivakoodit.
- Anna käyttäjätunnus tai reagenssien valmistelijan nimikirjaimet ja valitse **OK**.
- Skannaa lisävarustelaatikon viivakoodit.
- Anna käyttäjätunnus tai reagenssien valmistelijan nimikirjaimet ja valitse **OK**.
- Lisää kärkiä kärkitelineisiin seuraavasti ja valitse sitten **OK** kunkin telineen osalta.

Näytteen eräkoko	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24	Kärki	1–6	50 µl:n kärjet	1
		7–12	300 µl:n kärjet	1, 2
48	Kärki	1–6	50 µl:n kärjet	1, 2
		7–12	300 µl:n kärjet	1, 2, 3, 4
96	Kärki	1–6	50 µl:n kärjet	1, 2, 3, 4
		7–12	300 µl:n kärjet	1, 2, 3, 4

- 9 Jos pysäytit protokollan cfDNA:n eristämisen jälkeen, lisää lasketut kärjet kärkitelineisiin seuraavasti.

Näytteen eräkoko	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48, 96	Kärki	49–54	1000 µl:n kärjet	1
			300 µl:n kärjet	2
			50 µl:n kärjet	3

- 10 Anna ensimmäisen kärjen paikka kussakin kärkitelineessä ja valitse **OK**.

- 11 Tarkista, että viivakoodit on kiinnitetty, ja lisää levyt (viivakoodi oikealle päin) levytelineeseen seuraavasti. Valitse sitten **OK**.

Näytteen eräkoko	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48, 96	Multiflex	19–24	cfDNA:n eluutiolevy – viivakoodillinen	1
			DNA-sovitinlevy – viivakoodillinen	2
			Uusi helmallinen 96-kuoppalevy, kirjastot – viivakoodilliset	3
			Uudet helmalliset 96-kuoppalevyt	4, 5

- 12 Lisää syväkuoppalevyteline seuraavasti ja valitse sitten **OK**.

Näytteen eräkoko	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48, 96	Syväkuoppa	39–44	50 ml 80 %:n EtOH:a syväkuoppasäiliössä	1
			Uudet helmalliset 96-kuoppalevyt	1, 2, 3, 4

- 13 Aseta reagenssiputket reagenssitelineeseen seuraavasti ja valitse **OK**.

Näytteen eräkoko	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48, 96	Reagenssi	47	2,5 ml lopun korjauseesta	1
			Valmisteltu A-hännänmuodostusseos (kokonaismäärä)	2
			Valmisteltu ligaatioseos (kokonaismäärä)	3
			10 ml:n näytteen puhdistusrakeet	4
			12 ml:n hybridisaatiopuskuri	5

- 14 Tarkista, että telineet, laboratoriotarvikkeet ja reagenssit on lisätty ohjeiden mukaan ja valitse **OK** Library Deck Verification (Kirjastoalustan tarkistus) -näytössä.
- 15 Odota, että automaattinen reagenssimäärän tarkistus päättyy.
- 16 Tarkkaile ML STAR -laitetta automaattisten toimien aikana.
- 17 Kun työnkulun hallinta niin kehottaa, tarkista, ettei ML STAR -laitteen latausalustalla ole esteitä, jotta ML STAR voi poistaa telineet. Tyhjennä sitten alusta valitsemalla **Unload** (Tyhjennä).
- 18 Tarkista, että kirjastolevyssä on sama määrä kussakin kuopassa.



VAROITUS

Jos kuoppien määrät eivät ole samat, näytteet voivat tuottaa virheellisiä tuloksia.

- 19 Jos kirjastolevy on tarkoitus säilyttää, peitä ja säästä se.
- 20 Poista telineet ja puhdista alusta. Valitse sitten **OK**.
- 21 Kirjoita huomautuksia kohdekuopista ja valitse sitten **OK**.
- 22 Tee jokin seuraavista:
- ▶ Jatka kirjastojen kvantifioimista valitsemalla **Yes** (Kyllä).
 - ▶ Lopeta valitsemalla **Exit** (Sulje).
- 23 Ellet lopeta, jatka kvantifiointia välittömästi.

TURVALLINEN PYSÄYTYSKOHTA

Jos pysäytät, peitä kirjastolevy ennen sen asettamista säilytykseen. Kirjastolevy on stabiili enintään 7 vuorokautta valmistelupäivästä, kun sitä säilytetään lämpötilassa –25...–15 °C.

Kirjastojen kvantifioiminen

Valmisteleminen

1 Valmistele seuraavat reagenssit:

Tuote	Säilytys	Ohjeet
DNA:n kvantifointireagenssi	2–8 °C	Suojattava valolta. Sulata huoneenlämpötilassa 30–150 minuuttia. (Reagenssin poistamista kirjastojen valmistelun alussa suositellaan.) Sekoita vorteksoimalla ja sentrifugoi sitten lyhyesti.
DNA:n kvantifointistandardi	2–8 °C	Sekoita vorteksoimalla ja sentrifugoi sitten lyhyesti.
Kirjastolevy	–25...–15 °C	Jos levy on ollut aiemmin säilytyksessä, tarkista, ettei sitä ole säilytetty yli 7 vuorokautta, ja anna sen sulaa huoneenlämmössä. Sekoita vorteksoimalla. Sentrifugoi voimalla 1000 × g 20 sekunnin ajan.
Uudelleensuspensiopuskuri	2–8 °C	Sekoita vorteksoimalla.

2 Kytke fluoromittariin virta 10 minuuttia ennen käyttöä.

3 Lisää levyn viivakoodi uuteen 384-kuoppalevyyn.

4 Lisää levyn viivakoodi uuteen helmalliseen levyyn.

Toimenpide

1 Aloita kvantifointi valitsemalla **OK**.

2 Jos VeriSeq NIPT Method ei ole vielä auki:

a Avaa AppLauncher ja valitse **VeriSeq NIPT Method** (VeriSeq NIPT -menetelmä).

b Anna erätunniste ja käyttäjätunnus ja valitse **OK**.

3 Skannaa lisävarustelaatikon viivakoodit.

4 Anna käyttäjätunnus tai reagenssien valmistelijan nimikirjaimet ja valitse **OK**.

5 Lisää kärkiä kärkitelineisiin seuraavasti ja valitse sitten **OK**.

Näytteen eräkkö	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48	Kärki	1–6	300 µl:n kärkien teline	1
			50 µl:n kärkien teline	2
96	Kärki	1–6	300 µl:n kärkien teline	1
			50 µl:n kärkien teline	2, 3

6 Tarkista, että viivakoodit on kiinnitetty, ja sitten tarvittaessa avaa kirjastolevy.

7 Lisää levyt (viivakoodi oikealle suunnattuna) Multiflex-telineeseen seuraavasti ja valitse sitten **OK**.

Näytteen eräkkö	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48, 96	Multiflex	19–24	Uudet reunalliset levyt – viivakoodilliset	1
			Uusi 384-kuoppalevy – viivakoodillinen	2
			Kirjastolevy – viivakoodillinen	3
			Uudet helmalliset 96-kuoppalevyt	4, 5

- 8 Lisää korkittomia reagenssiputkia putkitelineeseen seuraavasti ja valitse sitten **OK**.

Näytteen eräkoko	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48, 96	Putki	46	DNA:n kvantifointistandardi	1
			DNA:n kvantifointireagenssi	2

- 9 Aseta reagenssiputket reagenssitelineeseen seuraavasti ja valitse **OK**.

Näytteen eräkoko	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48, 96	Reagenssi	47	Uusi reagenssiputki (tyhjä)	1
			16 ml uudelleensuspensiopuskuria	2

- 10 Jos pysäytit protokollan kirjaston valmistelun jälkeen, lisää lasketut kärjet kärkitelineisiin seuraavasti.

Näytteen eräkoko	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48, 96	Kärki	49–54	1000 µl:n kärjet	1
			300 µl:n kärjet	2
			50 µl:n kärjet	3

- 11 Anna ensimmäisen ja viimeisen kärjen paikka kussakin kärkitelineessä ja valitse **OK**.
 12 Tarkista, että telineet, laboratoriotarvikkeet ja reagenssit on lisätty ohjeiden mukaan ja valitse **OK Pooling Deck Verification (Poolauspakan tarkistus) -näytössä**.
 13 Odota, että automaattinen reagenssimäärän tarkistus päättyy.
 14 Tarkkaile ML STAR -laitetta automaattisten toimien aikana.
 15 Kun työnkulun hallinta niin kehottaa, tarkista, ettei ML STAR -laitteen latausalustalla ole esteitä, jotta ML STAR voi poistaa telineet.
 16 Tyhjennä alusta valitsemalla **Unload** (Tyhjennä).
 17 Poista kirjastolevy.

- a Tarkista, että levyssä on sama määrä kussakin kuopassa.
- b Peitä kirjastolevy ja säilytä sitä huoneenlämmössä, kunnes fluorometrianalyysi on valmis.

- 18 Poista loput 96-kuoppalevyt ja tarkista, että määrä on sama kussakin kuopassa.

Bruttomäärän virheet voivat olla merkki ongelmasta pipetointivaiheessa.

- 19 Poista 384-kuoppalevy ja tarkista, että tarvittavissa kuopissa on nestettä.

- 20 Peitä levy foliopeittimellä.

- 21 Sentrifugoi voimalla 1000 × g 20 sekunnin ajan.

- 22 Inkuboi huoneenlämmössä 10 minuuttia suojattuna valolta.

- 23 Poista kaikki telineet ja puhdista ML STAR -laitteen alusta. Valitse sitten **OK**.



HUOMAUTUS

Älä hävitä kvantifointireagensseja, ennen kuin olet saanut tietoja. Tarvitset reagensseja vielä, jos kvantifointi täytyy tehdä uudelleen.

- 24 Poista foliopeitin inkuboinnin jälkeen ja aseta 384-kuoppalevy mikrolevylukijaan. Tarkista, että A1 on vasemmassa yläkulmassa, kun asetat levyä.

- 25 Avaa VeriSeq NIPT -malli SoftMax Pro -ohjelmistossa kaksoisnapsauttamalla.

- 26 Valitse Home (Aloitus) -välilehdestä **New Experiment** (Uusi testi).

- 27 Valitse **Read** (Lue).

- 28 Vie tiedot XML-muotoon seuraavasti.

- a Napsauta **Plate** (Levy) -kohtaa hiiren kakkospainikkeella ja valitse sitten **Rename** (Nimeä uudelleen).

- b Skannaa kvantifiointilevyn viivakoodi ja valitse sitten **OK**.
- c Valitse näytön vasemmasta yläkulmasta levykuvake ja sitten valikosta **Export** (Vie).
- d Valitse **Expt name** (Vie nimi) -valintaruutu, aseta levyn päivämäärävalinta raa'aksi, aseta tuottomuoto XML:ksi ja valitse sitten **OK**.
- e Määritä tuotettavan tiedoston polku ja nimi ja valitse **Save** (Tallenna).

Hamilton-tietokoneella täytyy olla pääsy tiedostosijaintiin. Älä käytä tiedoston nimessä tai tiedostopolussa välilyöntejä.

Analyysi

- 1 Anna fluorometrin tunniste työnkulun hallinnan Scanner Information (Skannerin tiedot) -näyttöön.
- 2 Kirjoita huomautuksia fluoromittarin ajosta ja valitse sitten **OK**.
- 3 Siirry XML-kvantifiointitiedostoon, joka sisältää fluorometriatiedot, ja valitse **OK**.
- 4 Tarkastele standardikäyrää ja näytteen pitoisuusanalyysin tuloksia ja valitse sitten **OK**.
- 5 Jos levy on skannattava uudelleen, valitse **Rescan** (Skannaa uudelleen).
Näytteet ovat aika- ja valoherkkiä. Uusintaskannaus on tarvittaessa tehtävä välittömästi.
- 6 Kirjoita huomautuksia kohdekuopista ja valitse sitten **OK**.
- 7 Arvioi tulokset ja jatka seuraavasti.
 - Jos tulokset läpäisevät määrittymisen, jatka kirjastojen poolaukseen. Katso määrittymiset kvantitoinnin laadunvalvontametriikoiden ja -rajojen taulukosta *VeriSeq NIPT Solution v2 -ohjelmisto-oppaasta (asiakirjanro 1000000067940)*.
 - Jos tulokset eivät läpäise määrittymistä, järjestelmä keskeyttää menetelmän. Toista kvantifiointitoimenpiteet alkaen kohdasta *Valmisteleminen sivulla 22*.
- 8 Tee jokin seuraavista:
 - Jatka kirjastojen poolaamista valitsemalla **Yes** (Kyllä).
 - Lopeta valitsemalla **Exit** (Sulje).

TURVALLINEN PYSÄYTYSKOHTA

Jos pysäytät, peitä kirjastolevy ennen sen asettamista säilytykseen. Kirjastolevy on stabiili säilytettynä enintään 7 vuorokautta lämpötilassa –25...–15 °C.

Poolikirjastot

Valmisteleminen

- 1 Valmistele seuraavat reagenssit:

Tuote	Säilytys	Ohjeet
Hybridisaatiopuskuri	–25...–15 °C	Sulata huoneenlämmössä. Sekoita vorteksoimalla. Palauta säilytykseen käytön jälkeen.
Kirjastolevy	–25...–15 °C	Jos ollut aiemmin säilytyksessä, sulatettava huoneenlämmössä. Vorteksoi nopeudella 1500 r/min 1 minuutin ajan. Sentrifugoi voimalla 1000 × g 20 sekunnin ajan.

- 2 Merkitse tyhjä poolausputki pooliksi A. 96 näytteestä merkitse toinen tyhjä poolausputki pooliksi B.
- 3 Tallenna seuraava denaturointiohjelma lämpöblokkiin, jossa on lämmitetty kansi.
 - a Valitse esilämmitetyn kannen vaihtoehto ja aseta lämpötilaksi 102 °C.
 - b Aseta reaktiutilavuudeksi 50 µl.
 - c Aseta nostonopeus maksimiin (≥ 2 °C sekunnissa).
 - d Inkuboi lämpötilassa 96 °C 10 minuutin ajan ja sitten lämpötilassa 4 °C 5 sekunnin ajan.
 - e Pidä lämpötilassa 4 °C.

Toimenpide

- 1 Aseta kirjastolevy esiohjelmoidun lämpöblokin päälle ja aja denaturointiohjelma.



HUOMAUTUS

Älä denaturoi kirjastolevyä, ennen kuin kvantifiointi on läpäissyt laadunvalvontametriikat, koska saatat haluta tehdä kvantifioinnin uudelleen.

- 2 Sentrifugoi kirjastolevyä voimalla 1000 × g 20 sekunnin ajan.
- 3 Aloita kirjastojen poolaus valitsemalla **OK** työnkulun hallinnassa.
- 4 Jos VeriSeq NIPT Method ei ole vielä auki:
 - a Avaa AppLauncher ja valitse **VeriSeq NIPT Method** (VeriSeq NIPT -menetelmä).
 - b Anna erätunniste ja käyttäjätunnus ja valitse **OK**.
- 5 Valitse poolin pitoisuus ja sitten **OK**.
Säädä tarvittaessa poolauspitoisuutta, jotta saavutat klusterin kohditiheyden 220–260 k/mm².
- 6 Mikäli työnkulun hallinta niin kehottaa, tee jokin seuraavista:
 - ▶ Lisää näytearkki valitsemalla erään liittyvä näytearkki ja sitten **Load** (Lisää).
 - ▶ Käytä muille näytetyypeille, sukupuolen raportointiin tai seulonnan tyyppiin järjestelmän oletusarvoja valitsemalla kullekin asetukselle **Use Default** (Käytä oletusta).

Lisätietoja näytearkin luomisesta on *VeriSeq NIPT Solution v2 -ohjelmisto-oppaassa (asiakirjan nro 1000000067940)*.



VAROITUS

Ennen kuin valitset Use Default (Käytä oletusta) -vaihtoehdon, tarkista, että olet asettanut oletusarvot työnkulun hallinnan huoltotyökaluissa. Muuten näytteiden analyysi voi olla epätäydellinen.

- 7 Aloita denaturointilevyn ajoitus valitsemalla **Start** (Aloita).
- 8 Lisää kärjet kärkitelineisiin seuraavasti.

Näytteen eräkoko	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48, 96	Kärki	7–12	50 µl:n suodatinkärjet	1

- 9 Lisää denaturoitu kirjastolevy (viivakoodi oikealle suunnattuna) Multiflex-telineeseen seuraavasti ja valitse sitten **OK**.

Näytteen eräkoko	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48, 96	Multiflex	19–24	Denaturoitu kirjastolevy (viivakoodillinen)	1

- 10 Lisää poolausputkia putkitelineeseen seuraavasti ja valitse sitten **OK**.

Näytteen eräkoko	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48	Putki	46	Uusi 2 ml:n putki, pooli A	1
96	Putki	46	Uusi 2 ml:n putki, pooli A	1
			Uusi 2 ml:n putki, pooli B	2

- 11 Aseta reagenssiputket reagenssitelineeseen seuraavasti ja valitse **OK**.

Näytteen eräkoko	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48, 96	Reagenssi	47	3 ml:n hybridisaatiopuskuri	1

12 Lisää kärjet kärkitelineisiin seuraavasti.

Näytteen eräkkö	Teline Tyyppi	Rata	Tuote	Paikka
24, 48, 96	Kärki	49–54	1000 µl:n suodatinkärjet	1
			300 µl:n suodatinkärjet	2
			50 µl:n suodatinkärjet	3

- 13 Anna ensimmäisen ja viimeisen kärjen paikka kussakin kärkitelineessä ja valitse **OK**.
- 14 Tarkista, että telineet, laboratoriotarvikkeet ja reagenssit on lisätty ohjeiden mukaan ja valitse **OK** Pooling Deck Verification (Poolausalustan tarkistus) -näytössä.
- 15 Tarkkaile ML STAR -laitetta automaattisten toimien aikana.
- 16 Kirjoita huomautuksia kohdekuopista ja valitse sitten **OK**.
- 17 Kun työnkulun hallinta niin kehottaa, tarkista, ettei ML STAR -laitteen latausalustalla ole esteitä, jotta ML STAR voi poistaa telineet.
- 18 Tyhjennä alusta valitsemalla **Unload** (Tyhjennä).
- 19 Poista putkiteline.
- 20 Aseta korkki kuhunkin poolausputkeen, vorteksoi ja sentrifugoi lyhyesti.
- 21 Valitse **OK**.
- 22 Sekvensoi kirjastot mahdollisimman pian poolauksen jälkeen. Peitä kirjastolevy tarvittaessa ja säilytä sitä lämpötilassa -25...-15 °C enintään 7 vuorokautta, jotta uudelleenpoolaus on mahdollista.

TURVALLINEN PYSÄYTYSKOHTA

Jos pysäytät, aseta poolausputkiin korkit ja aseta ne säilytykseen -25...-15 °C:seen enintään 7 vuorokaudeksi.

Poolattujen kirjastojen valmistelu sekvensointia varten

Valmisteleminen

1 Valmistele seuraavat reagenssit:

Tuote	Säilytys	Ohjeet
Poolausputket	-25...-15 °C	Jos ollut aiemmin säilytyksessä, sulatettava huoneenlämmössä. Vorteksoi lyhyesti. Sentrifugoi lyhyesti.

2 Valmistele seuraavan sukupolven sekvensointijärjestelmä täyttämällä seuraavat kentät Local Run Manager VeriSeq NIPT -moduulissa:

- a Run Name (Ajon nimi)
- b Run Description (Ajon kuvaus) (valinnainen)
- c Pool Barcode (Poolin viivakoodi)

Lisätietoa Local Run Manager VeriSeq NIPT -moduulin käytöstä on *VeriSeq NIPT Solution v2 -ohjelmiston ohjeessa (asiakirjanro 1000000067940)*.

**VAROITUS**

Local Run Manager -moduuliin määritetyn poolin viivakoodin on oltava sama kuin Workflow Manageriin määritetty viivakoodi. Analyysiohjelmisto hylkää virheelliset ajomääritykset ja saattaa edellyttää uutta sekvensointia.

Seuraava toimenpide kuvaa oikeanlaisen poolattujen kirjastojen lisäämisen kasettipohjaiseen uuden sukupolven sekvensointilaitteeseen.

Toimenpide

- Lisää seuraavat tarvikkeet reagenssikasettiin ja sekoita pipetoimalla.
 - 900 µl hybridisaatiopuskuria
 - 450 µl poolia A
- Jatka sekvensointia uuden sukupolven sekvensointijärjestelmällä.
Sekvensointiohjeita on uuden sukupolven sekvensointilaitteen viiteoppaassa. NextSeq 550Dx -laitteen osalta katso ohjeita *NextSeq 550Dx -laitteen viiteoppaasta (asiakirjanro 100000009513)* tai *NextSeq 550Dx -laitteen pakkausselosteesta (asiakirjanro 100000043133)*.
- Toista tämä toimenpide tarvittaessa poolille B.
 - Kohdeklusterin tiheysalueen saavuttamiseksi kirjastolevy voidaan poolata uudelleen käyttämällä eri poolauspitoisuutta Hamiltonissa. Uudelleenpoolaus mitätöi alkuperäisen poolin.
 - Vaihtoehtoisesti poolauksen suhdetta HT1:een (450 + 900 ul) voi muokata, jotta saavutetaan kohdeklusterin tiheysalue.

Uuden sukupolven sekvensointi

VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmää voi käyttää uuden sukupolven sekvensointilaitteen kanssa, kun laitteen tekniset tiedot ovat seuraavat:

- kykenee 2 x 36:een paritetun pään luentaan
 - yhteensopiva VeriSeq NIPT -näytteenvalmisteluserjan indeksisovittimien kanssa
 - kahden kanavan kemia
 - automaattinen .BCL-tiedostojen tuotanto (raakatiedot sekvensointilaitteesta)
 - 400 miljoonaa parillisen pään lukua per ajo
 - yhteensopiva VeriSeq NIPT Assay Software v2 -ohjelmiston kanssa.
- NextSeq 550Dx on yhteensopiva VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmän kanssa.

Sekvensoinnin tietanalyysi

Kun sekvensointi on valmis, sekvensointitiedot siirtyvät automaattisesti VeriSeq NIPT Assay Software v2 -ohjelmistoon analyysiä ja raportin generointia varten. Raportti sisältää luokitukset kaikista erän näytteistä sekä arvion kaikista ajon laadunvalvontametriikoista. Analyysiprosessi sekvensoinnista lopullisten tulosten saamiseen vie noin 4 tuntia 48 näytteen erässä. Lisätietoja tietojen analysoimisesta ja tuotetusta tiedostosta luomisesta on *VeriSeq NIPT Solution v2 -ohjelmisto-oppaassa (asiakirjan nro 1000000067940)*.

Tulosten tulkinta

VeriSeq NIPT Solution v2 -algoritmi soveltaa edistynyttä tilastollista mallia, joka yhdistää useita erityyppisiä tietoja paritettujen päiden sekvensoitujen kirjastofragmenttien kokoelmasta. Tätä mallia käytetään havaitsemaan genomien alueita, jotka ovat ali- tai yliedustettuja kunkin näytteen kirjastossa. Mikä tärkeintä, tämä malli selittää, onko ali- tai yliedustuksen aste kvantitatiivisesti yhdenmukainen sikiön genomien aneuploidiatapahtumassa kirjastosta arvioidun sikiöfraktion tasolla.

Kaikkien kromosomien paired-end-sekvensointitiedot kohdistetaan viitegenomiin (HG19). Yksilölliset ja duplikoitumattomat kohdistetut readit kootaan 100 kt:n säilöihin. Vastaavien säilöjen määriä säädetään GC-painotuksen ja aiemmin määritetyn aluekohtaisen genomisen kattavuuden perusteella. Tällä tavoin normalisoituja säilömääriä käytettäessä tilastolliset tulokset kullekin autosomille saadaan vertaamalla muihin autosomeihin niitä kattavuusalueita, jotka ovat mahdollisia aneuploidien kohdealueita. Jokaiselle näytteelle lasketaan todennäköisyysuhde eli LLR (Log-Likelihood Ratio) -arvo ottamalla huomioon nämä kattavuuteen perustuvat arvot ja arvioitu sikiöfraktio. LLR edustaa todennäköisyyttä, jolla näyte on uskottava, kun siihen kohdistuvat havaittu kattavuus ja sikiöfraktio, verrattuna siihen todennäköisyyteen, että se ei ole uskottava, kun

siihen kohdistuu sama havaittu kattavuus. Tämän suhteen laskennassa otetaan huomioon myös sikiöfraktion arvioitu epävarmuus. Myöhemmissä laskennoissa käytetään tämän suhteen luonnollista logaritmia. Määrittäsohjelmisto arvioi kunkin kohdekromosomin ja kunkin näytteen LLR-arvon aneuploidiamääritystä varten. Erän luonnin aikana on määritettävä kustakin näytteestä näytteen tyyppi (yksönen vai kaksonen), seulontatyyppi (perus vai genomilaajuinen) ja sukupuolikromosomin raportointi (kyllä, ei tai SCA). Yhdessä nämä vaihtoehdot määrittävät kustakin näytteestä raportoitavat tiedot.

Kaikkien näytetyyppien osalta seulontatyyppi määrittää, mitkä autosomaaliset poikkeamat raportoidaan. Perusseulontatyyppissä raportoidaan vain koko kromosomin trisomiatapahtumat kromosomeissa 13, 18 ja 21. Genomilaajuisessa seulontatyyppissä raportoidaan täydellinen tai osittainen kromosomin deleetio tai duplikaatio kaikista autosomaalisista kromosomeista. Pienimmän raportoitavissa olevan osittaisen kromosomin deleetion tai duplikaation pituus on 7 Mb.

Yksösnäytteissä sukupuolikromosomin raportointi voidaan poistaa käytöstä. Voit myös valita raportoitavaksi sukupuolikromosomien aneuploidiat joko euploidinäytteiden sukupuolen raportoinnin kanssa tai ilman sitä.

Jos kaksosnäytteissä valitaan Yes (Kyllä) sukupuolikromosomin raportointiin, tulos on rajoitettu Y-kromosomin läsnäolon tai puuttumisen raportointiin kirjastossa. Sukupuolikromosomian aneuploidiaa ei voi raportoida kaksosnäytteistä.

Tulos ANOMALY DETECTED (Poikkeavuus havaittu) osoittaa, että näytteestä on seulottu yksi tai useampi valittua seulontatyyppiä ja sukupuolikromosomin raportointivaihtoehtoa vastaava poikkeavuus. Kun poikkeavuus havaitaan, raportissa on kuvaus poikkeavuudesta sytogeneettisessä huomautuksessa.

VeriSeq NIPT Assay Software v2 käyttää sekvensoinnin aikana luotuja tilastoja tuottamaan sikiöfraktioarvion (FFE) kustakin näytteestä. FFE on arvioitu sikiön cfDNA:n komponentti, jonka määrittäminen löytää ja raportoi pyöristettynä prosenttilukuna kustakin näytteestä. Tämän arvion keskimääräinen keskihajonta kaikissa näytteissä on 1,3 %. FFE:tä ei tule käyttää yksinään näytteiden poissulkemiseen tuloksia raportoidessa.

Kromosomiedustus päätösten tekemisessä VeriSeq NIPT Assay Software v2 käyttää yksilöllistä sikiön aneuploidian luottamustestiä (individualized Fetal Aneuploidy Confidence Test, iFACT). Se on dynaaminen kynnysmetriikka, joka osoittaa, onko järjestelmä generoinut riittävän sekvensointikattavuuden ottaen huomioon kunkin näytteen sikiöfraktioestimaatin. Negatiivisia päätöksiä raportoidaan vain, jos näyte täyttää iFACT-kynnyksen. Jos näyte ei saavuta tätä kynnystä, laadunvalvonta-arvio näyttää ilmoituksen FAILED iFACT (iFACT epäonnistui) ja järjestelmä ei generoi tulosta.

iFACT:n lisäksi VeriSeq NIPT Assay Software v2 arvioi useita muita laadunvalvontametriikoita analyysin aikana. Lisämetriikka sisältää arviot kattavuuden yhdenmukaisuudesta genomien viitealueella ja cfDNA-fragmenttien pituuksien jakaumasta. Laadunvalvonta-arvio näyttää joko laadunvalvontamerkin tai laadunvalvonnan hylkäyksen hyväksyttävän alueen ulkopuolella olevista metriikoista. Laadunvalvonnan hylkäyksen tapauksessa järjestelmä ei generoi tulosta näytteestä. Jos näyte ei läpäise laadunvalvontaa, näyte voidaan käsitellä uudelleen, kunhan verinäyteputkessa on riittävästi plasmata.

VeriSeq NIPT Solution v2 generoi tietoja käytettäväksi loppuraportissa. Se ei generoi loppuraporttia potilaalle. Asiakkaat ovat vastuussa terveydenhuoltopisteen lääkärille toimitettavan loppuraportin mallista ja sisällöstä. Illumina ei ole vastuussa loppuraportin antaman viestin tarkkuudesta.



VAROITUS

Tarkista kaikkien näytteiden sikiöfraktioestimaatit. Jos sikiöfraktioestimaatit ovat samankaltaisia kaikissa ajon näytteissä, näytteet ovat mahdollisesti yhdistyneet, mikä on vaikuttanut tuloksiin. Ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen, jos tarvitset apua vianmäärityksessä.

Suorituskykyominaisuudet

Seuraavat kliinisen suorituskyvyn ja analyttisen suorituskyvyn osioiden tiedot laadittiin käyttämällä käyttöohjeissa mainittuja protokollia ja materiaaleja alkaen plasmasta. Kaikki tämän osion sekvensointitiedot luotiin NextSeq 500/550 -sekvensointijärjestelmällä tai NextSeq 550Dx -sekvensointijärjestelmällä, jonka kokoonpano oli seuraavanlainen:

	NextSeq 500/550	NextSeq 550Dx
Laitteen ohjelmisto	NextSeq Control Software 4.0	NextSeq Operating Software 1.3
Reagenssipakkauksen versio	NextSeq 500/550 -suurtehoreagenssisarja v2.5 (75 jaksoa)	NextSeq 550Dx -suurtehoreagenssisarja v2.5 (75 jaksoa)
Sekvensointimenetelmä	2 x 36 paritetun pään sekvensointiajoa suurtehotilassa	2 x 36 paritetun pään sekvensointiajoa suurtehotilassa

Kliininen tutkimus

VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmän kliininen tarkkuus osoitettiin arvioimalla plasmanäytteitä yksös- tai kaksosraskauksissa. Näytteet saatiin näytepankissa olevista plasmanäytteistä, jotka oli aiemmin käsitelty perifeerisistä kokoverinäytteistä ja joista oli tunnistetiedot poistettu. Tutkimukseen otettiin mukaan yli 45 000 näytettä. Näille näytteille tehtiin aiempi prenataalin seulonta sikiön kromosomianeuploidioiden ja vähintään 7 Mb:n osittaisten deleetioiden ja duplikaatioiden varalta. Kaikki näytteet kyseisistä raskauksista ja myöhempien näytteiden alijoukko muista raskauksista kelpuutettiin testaukseen, jos kliiniset tulokset olivat saatavilla ja näytekriteerit täyttyivät. Testausanalyysijoukossa oli yhteensä 2 335 näytettä. Tästä näytejoukosta 2 328 näytettä oli yksös- tai kaksosraskauksista ja seitsemän kaksosraskauksista.

Näistä näytteistä 28 (1,2 %, 28/2335) hylättiin määrityksen laadunvalvonnassa valmiiden sekvensointitietojen ensimmäisellä analyysikierroksella:

- 27 iFACT-hylkäystä (yksi XO, 26 kohdetta sisältämätöntä)
- Yksi hylkäys odotetun alueen ulkopuolisten tietojen vuoksi

Väestötiedot ja raskauden ominaisuudet

Äidin ikä, gestatioikä ja raskauskolmannes on esitetty [Taulukko 7](#) genomilaajuiseen seulontaan sisällytetyistä näytteistä (mosaikisminäytteet mukaan luettuina).

Väestötiedot arvioitiin perus- ja genomilaajuisten kohorttien välillä, ja niissä ei ollut tilastollista eroa.

Väestötiedot ja raskauden ominaisuudet olivat samanlaisia, otettiinpa mukaan tunnetut mosaikismit tai ei.

Taulukko 7 Väestötiedot ja raskauden ominaisuudet

Yhteenvetotilasto	Genominlaajuinen (mosaikismit mukaan luettuina)
Näytteiden määrä	2307*
Äidin ikä – vuotta	
Keskiarvo	35,08
Keskihajonta	4,04
Mediaani	34,95
25. persentiili, 75. persentiili	32,31; 37,79
Minimi, maksimi	20,22; 53,02
Gestaatioikä verinäytteen ottohetkellä – viikkoa	
Keskiarvo	10,93
Keskihajonta	1,20
Mediaani	10,57
25. persentiili, 75. persentiili	10,29; 11,14
Minimi, maksimi	10,00; 27,86
Raskauskolmannes – n (%)	
< Ensimmäinen (< 14 viikkoa)	2252 (98 %)
Toinen	54 (2 %)
Kolmas (≥ 27 viikkoa)	1 (0 %)

* Lopulliset esitetyt näytteet sisälsivät seitsemät kaksoset.

Kliininen suorituskyky

VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmän tuottamia tuloksia verrattiin kliinisen referenssistandardin tuloksiin. Kaikilla tutkimusnäytteillä oli kliiniset referenssistandardin tulokset (kliininen totuus) sikiön kromosomianeuploidiatilasta, osittaisista deleetioista ja vähintään 7 Mb:n duplikaatioista. Tähän tutkimukseen otettujen näytteiden kliiniset referenssistandarditulokset määräytyivät kromosomianalyysin tulosten tai vastasyntyneen lääkärintarkastuksen ja NGS-pohjaisen NIPT-negatiivisen seulonnan perusteella. Koulutettu tutkimushenkilöstö luokitteli kliiniset referenssistandarditiedot toimeksiantajan lääketieteellisen koodauksen asiakirjan mukaisesti.

Kromosomin analyysimenetelmät sisälsivät karyotyypityksen, fluoresenssin in situ -hybridisaation (FISH) tai komparatiivisen genomisen hybridisaation kromosomimikroryhmän (CMA). Kromosomianalyysi tehtiin vastasyntyneen tai vauvan äärisverestä tai syljestä, hedelmöitystulosten (POC) näytteistä, amniosyyteistä, sikiön suonikalvon nukkalisäkkeestä, istukkakudoksista tai postnataalisesta napanuoraverestä.

Mosaikismiksi määritetään eri kromosomikoostumuksen kahden tai useamman solulinjan läsnäolo yksilössä. Solulinjat ovat peräisin samasta tsygootista. Mosaikismin tyyppi ja taso vaihtelevat ja riippuvat mosaiikitapahtumien ajoituksesta embryogeneesin ja sikiön kehityksen aikana. Erityyppistä mosaikismia ilmenee prenataaleissa diagnooseissa epänormaalien versus normaalien solulinjojen jakauman perusteella sytotrofoblastissa, mesenkyymissä tai sikiössä.¹⁰ Vaikka mosaikismia voi esiintyä minkä tahansa kromosomipoikkeavuuden yhteydessä, mosaikismin esiintyvyyden harvinaisissa trisomioissa on suurempaa kuin kromosomien 21, 18 ja 13 trisomioissa (T21, T18 ja T13).¹¹ Suorituskyvyn arvioinnissa mosaiikismitapaukset otettiin mukaan genomilaajuiseen analyysiin, koska tämän seulontatyyppin tarkoitus tässä määrittämisessä on havaita harvinaiset autosomaaliset aneuploidiat (RAA:t).

Perusseulonnan suorituskyky

Perusseulonnessa poikkeavuudet ovat T21, T18 ja T13. Analyysiin otettiin yhteensä 2 243 yksös- ja kaksosnäytettä. Kaikki seitsemän kaksosraskautta havaittiin oikein T21:ksi, eikä niitä ole raportoitu seuraavassa taulukossa.

Taulukko 8 VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmän herkkyys ja spesifisyys havaita trisomiat 21, 18 & 13 yksös- ja kaksosraskauksien perusseulonnessa (pois lukien tunnetut mosaikismit)

	T21	T18	T13
Herkkyys	> 99,9 % (130/130)	> 99,9 % (41/41)	> 99,9 % (26/26)
2-puolinen 95 %:n CI	97,1 %, 100 %	91,4 %; 100 %	87,1 %; 100 %
Spesifisyys	99,90 % (1982/1984)	99,90 % (1995/1997)	99,90 % (2000/2002)
2-puolinen 95 %:n CI	99,63 %; 99,97 %	99,64 %; 99,97 %	99,64 %; 99,97 %

Määrityksen suorituskyky perusseulonnessa **Taulukko 8** mukaisesti on laskettu pois lukien 64 näytteen alijoukko, joissa oli harvinaisia autosomaalisia aneuploidioita (RAA), autosomaalisia osittaisia deleetioita tai duplikaatioita tai tunnettua mosaikismia. Nämä 64 näytettä sisälsivät kahdeksan T21- ja kolme T18-mosaikkia. Viiden näistä 11 näytteestä tunnistettiin sisältävän VeriSeq NIPT Assay Software v2 -ohjelmiston havaitseman poikkeavuuden.

Genominlaajuisen seulonnan suorituskyky

Genominlaajuisessa seulonnassa kaikki poikkeavuudet sisältävät trisomiat, monosomiat ja osittaiset deleetiot tai duplikaatiot kooltaan vähintään 7 Mb. Genominlaajuinen seulonta sisälsi 36 näytettä, joissa oli tunnetusti mosaikismia. Yhteensä 2307 yksös- ja kaksosnäytettä testattiin. Kaikki seitsemän kaksosraskautta havaittiin oikein kromosomin 21 poikkeavuudeksi, eikä niitä ole raportoitu seuraavassa taulukossa.

Genominlaajuisen seulonnan suorituskyky kaikissa poikkeavuuksissa

Taulukko 9 VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmän herkkyys ja spesifisyys havaita kaikki poikkeavuudet genominlaajuisessa seulonnassa (mukaan lukien tunnetut mosaikismit)

	Herkkyys	Spesifisyys
Arvio % (n/N)	95,5 % (318/333)	99,34 % (1954/1967)
2-puolinen 95 %:n CI	92,7 %; 97,3 %	98,87 %; 99,61 %

Genominlaajuisen seulonnan suorituskyky harvinaisissa autosomaalisissa aneuploidioissa

Taulukko 10 VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmän herkkyys ja spesifisyys havaita harvinaisen autosomaalinen aneuploidia (RAA) genominlaajuisessa seulonnassa (mukaan lukien tunnetut mosaikismit)

	Herkkyys	Spesifisyys
Arvio % (n/N)	96,4 % (27/28)	99,80 % (2001/2005)
2-puolinen 95 %:n CI	82,3 %; 99,4 %	99,49 %; 99,92 %

Genominlaajuisten seulonnan suorituskyky osittaisten deleetioiden ja duplikaatioiden osalta

Taulukko 11 VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmän herkkyys ja spesifisyys havaita vähintään 7 Mb:n osittaiset deleetiot ja duplikaatiot genominlaajuisessa seulonnassa (mukaan lukien tunnetut mosaikismit)

	Herkkyys	Spesifisyys
Arvio % (n/N)	74,1 % (20/27)	99,80 % (2000/2004)
2-puolinen 95 %:n CI	55,3 %; 86,8 %	99,49 %; 99,92 %

Perus- ja genominlaajuisten seulontojen väliset suorituskykyerot

Yleisten trisosomioiden ja sukupuolikromosomien aneuploidioiden pisteytysmenetelmä on sama sekä perus- että genominlaajuisissa seulonnoissa. Perusseulonta käyttää algoritmia vain T21:een, T18:aan ja T13:een. Genominlaajuinen seulonta kuitenkin laajentaa tätä menetelmää kaikkien trisomioiden ja harvinaisten autosomaalisten aneuploidioiden sekä osittaisten duplikaatioiden ja deleetioiden arvioimista varten.

Perus- ja genominlaajuisten seulontojen välisessä suorituskykyraportoinnissa on kaksi eroa. Ensinnäkin genominlaajuisessa seulonnassa näytteet, joissa oli tunnettua mosaikismia sekä yleisten trisomioiden että harvinaisten autosomaalisten aneuploidioiden ja osittaisten deleetioiden ja duplikaatioiden osalta, poissuljettiin suorituskykyometriikasta. Toiseksi genominlaajuinen seulonta voi preferentiaalisesti raportoida osittaisen duplikaation tai deleetion havainnon täyden trisomian sijaan. Täyden trisomian läsnäolo osittaisen duplikaation tai deleetion lisäksi voidaan huomata tarkistamalla lisäraportissa ilmoitetut LLR-pisteet.

Mosaikkien sisällyttäminen genominlaajuiseen seulontaan

Mosaikismi on mainittu tämän määrittelyn rajoituksena. Kun näytteessä on mosaikismia, poikkeavuuden sikiösignaali heikkenee ja siten voi olla haastavampaa havaita se vaarantamatta määrittelyn kokonaisspesifisyyttä. Koska mosaikismi on kuitenkin relevantimpaa laajennetussa sisällössä, mosaikismia sisältäviä näytteitä sisällytettiin genominlaajuiseen seulontaan.

Genominlaajuiseen seulontaan, mutta ei perusseulontaan, sisällytetyistä 64 näytteestä 36 näytteen tunnistettiin kliinisen referenssistandardin avulla sisältävän mosaikismia. Näistä 36 näytteestä 23 päätöstä vastasi kliinistä referenssistandardia.

Osittainen deleetio tai duplikaatio versus koko kromosomin aneuploidian havaitseminen

VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmässä on valikkovaihtoehtoja sekä perusseulonnalle että genominlaajuiselle seulonnalle. Perusseulonnassa ohjelmisto raportoi ANOMALY DETECTED (Poikkeavuus havaittu) -tuloksen vain, kun kromosomeissa 21, 18 tai 13 havaitaan täysi aneuploidia ja jos kaikki laadunvalvontametriikat täyttyvät. Genominlaajuisessa seulonnassa järjestelmä havaitsee aneuploidian kaikissa autosomeissa ja osittaisen deleetion ja duplikaation vähintään 7 Mb:n laajuisena.

Käytettäessä genominlaajuista seulontaa järjestelmä raportoi ensisijaisesti osittaisen deleetion tai duplikaation koko kromosomia koskevan päätöksen sijaan, jos osittaisen deleetion tai duplikaation koko kattaa enintään 75 % siitä kromosomissa, missä tapahtuma havaittiin. Jos havaittu osittaisen deleetion ja duplikaation alue on suurempi kuin 75 % kromosomin koosta, ohjelmisto raportoi tapahtuman täytenä trisomiana tai koko kromosomin monosomiana. Siksi merkittävän suuret deleetiot ja duplikaatiot, jotka ovat alle 75 % kromosomin koosta, voivat viitata koko kromosomin aneuploidiaan.

Kaikissa näytteissä koko kromosomin luokituksen LLR-pisteet ovat saatavilla lisäraportissa. LLR-pisteitä on tarkasteltava suhteessa kuvassa [Kuva 2 sivulla 40](#) määritettyyn rajaan ennen tuloksen tulkitsemista. Kromosomitasoiset LLR-pisteet, jotka ovat yli rajan, antavat lisätukea koko kromosomin aneuploidiaan viittaavalle tulkinnalle.

Kliinisessä tutkimuksessa oli kaksi yksösraskausnäytettä, joissa oli merkittävän laajat duplikaatiot (yksi kromosomissa 21 ja yksi kromosomissa 18), kuitenkin alle 75 % kromosomin suhteellisesta koosta (katso [Taulukko 12](#)). Molemmat tapahtumat raportoitiin osittaisina duplikaatioina eikä kyseisen kromosomin täytenä trisomiana. Näiden tapahtumien LLR-pisteet olivat rajan yläpuolella, mikä viittasi täyden trisomian tulokseen. Osittaisen duplikaation tai täyden trisomian päätöksen osalta positiivisen NIPT-päätöksen seurantahoito tarjoaa potilaalle varmistustestauksen prenataalisen diagnoosin kautta.

Taulukko 12 Esimerkkejä genomilaajuudessa seulonnassa tunnistetuista suurista duplikaatioista

	Kliininen totuus	Genomilaajuinen järjestelmätulos	Poikkeavuuden koko (Mb)	% kromosomista	LLR-pisteet
Näyte 1	Trisomia 21 yksönen	Osittainen duplikaatio 21:ssa	22,50	48,9 %	19,43
Näyte 2	Trisomia 18 yksönen	Osittainen duplikaatio 18:ssa	47,00	60,2	12,99

Katso VeriSeq NIPT Solution v2 -ohjelmisto-oppaasta (asiakirjan nro 100000067940) lisätietoja laadunvalvontametriikoista, joilla raportoidaan aneuploidiatuloksia.

Sukupuolikromosomit

VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmän sukupuolikromosomituloksia verrattiin kliinisen referenssistandardin tuloksiin, ja tästä on esitetty yhteenveto seuraavassa taulukossa. Yhtäpitävyysprosentti laskettiin kunkin sukupuolikromosomin osalta kunkin kliinisen referenssistandardin tuloksen sisällä. Yhtäpitävyysprosentti laskettiin niiden näytteiden määränä, joissa VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmän kromosomipäätös vastasi kliinisen referenssistandardin luokitusta jaettuna niiden näytteiden kokonaismäärällä, joilla oli sama kliinisen referenssistandardin luokitus.

Taulukko 13 Sikiön sukupuolen luokituksen yhtäpitävyysprosentti*

Sikiön sukupuolen luokitus		Fenotyyppi vastasyntyneen lääkärintarkastuksessa		Sytogeneettiset tulokset							
Havaittu	Karyotyyppi	Nainen	Mies	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYY	Muu**	Puuttuu
Poikkeavuutta ei havaittu	XX	997	0	21	0	2	0	0	0	0	0
Poikkeavuutta ei havaittu	XY	0	966	0	15	0	0	0	0	0	1
Poikkeavuus havaittu	XO	0	0	0	0	19	0	0	1	0	0
Poikkeavuus havaittu	XXX	0	0	0	0	0	17	0	0	1	0
Poikkeavuus havaittu	XXY	0	0	0	0	0	0	23	0	1	0
Poikkeavuus havaittu	XYY	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0
Yhteensä		997	966	21	15	21	17	23	12	2	1
Yhtäpitävyysprosentti		100	100	100	100	90,5	100	100	91,7	Ei sovelleta.	Ei sovelleta.

* Viisi kaksosraskautta luokiteltiin oikein Y-kromosomin sisältäväksi. Kaksi raskautta luokiteltiin oikein ei sisältävän Y-kromosomia.

** Muut sytogeneettiset tulokset olivat XXXXX ja XXYY.

VeriSeq NIPT Solution v2 -ohjelmiston positiivisen tuloksen ennustearvo ja negatiivisen tuloksen ennustearvo

Testin positiivisen tuloksen ennustearvo (PPV) ja negatiivisen tuloksen ennustearvo (NPV) antavat tietoa testin kyvystä ilmoittaa kliinisistä päätöksistä testin herkkyyden ja spesifisyyden perusteella sekä testiä edeltävän todennäköisyyden, että sikiöllä on trisomia (esiintyvyys). Koska positiivisen ja negatiivisen tuloksen ennustearvo riippuvat esiintyvyydestä ja näiden aneuploidoiden esiintyvyys voi vaihdella eri kohdeväestöissä, kliinisen

tarkkuuden tutkimuksessa ennustearvot laskettiin lukuisille uskottaville esiintyvyyksisarvoille perusseulonnassa (ilman tunnettuja mosaikismeja) havaittujen herkkyys- ja spesifisyysarvojen perusteella. **Taulukko 17** perustuu genomilaajuiseen seulontaan (johon sisältyvät tunnetut mosaikismit).

Taulukko 14 Trisomian 21 esiintyvyys, PPV ja NPV perusseulonnassa (ilman tunnettuja mosaikismeja)

Esiintyvyys (%)	PPV (%)	NPV (%)
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

Taulukko 15 Trisomian 18 esiintyvyys, PPV ja NPV perusseulonnassa (ilman tunnettuja mosaikismeja)

Esiintyvyys (%)	PPV (%)	NPV (%)
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

Taulukko 16 Trisomian 13 esiintyvyys, PPV ja NPV perusseulonnassa (ilman tunnettuja mosaikismeja)

Esiintyvyys (%)	PPV (%)	NPV (%)
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

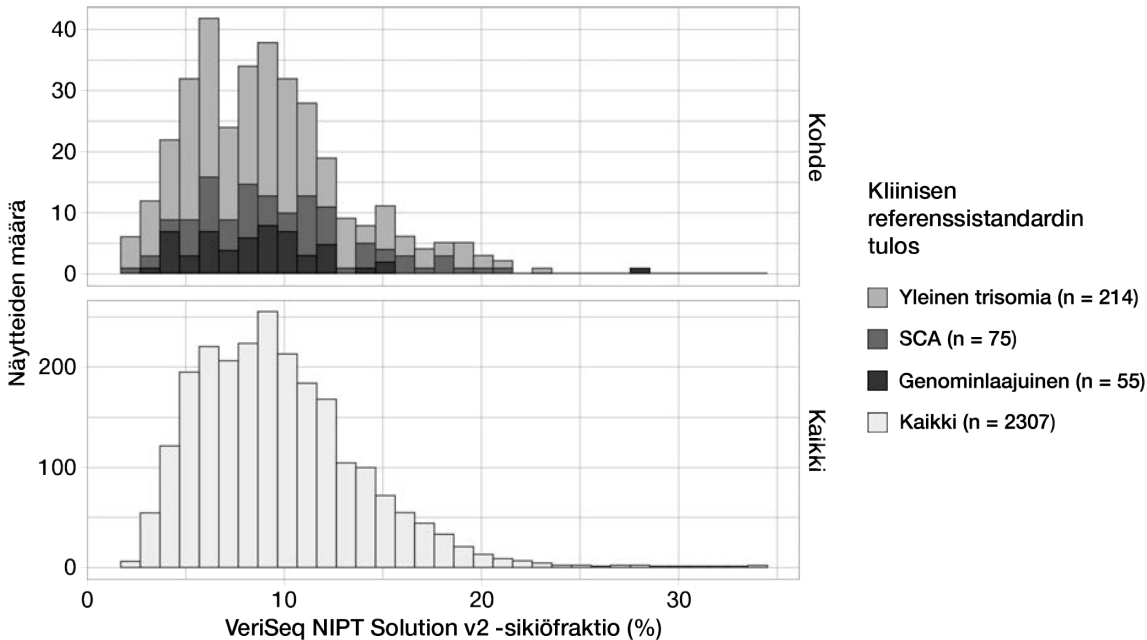
Taulukko 17 Minkä tahansa poikkeavuuden esiintyvyys, PPV ja NPV genomilaajuisessa seulonnassa (mukaan lukien tunnetut mosaikismit)

Esiintyvyys (%)	PPV (%)	NPV (%)
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

Sikiöfraktion jakauma

Kuva 1 esittää VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmän sikiöfraktion (FF) arviot kliinisen referenssistandardin tulosluokan mukaan genomilaajuisesta seulonnasta, johon sisältyi mosaikismeja.

Kuva 1 Sikiöfraktion jakauma



Viidessä näytteessä oli poikkeavuuksia useissa luokissa. Yleinen trisomia sisältää näytteet, joissa on trisomia 21, 18 ja/tai 13. Genominlaajuinen sisältää näytteet, joissa on harvinainen autosomaalinen aneuploidia tai osittaisia deleetioita ja/tai duplikaatioita.

Sikiöfraktioarviot olivat yhteensä 2–34 %, mediaani 9 % ja kvartiilien välinen (IQ) alue 6–12 %. Yleisten trisomioiden ja tapahtumien mediaani sikiöfraktioarvio oli genomilaajuisessa seulonnassa 8 % ja sukupuolikromosomien aneuploidiassa 9 %. Sikiöfraktioarvioiden vaihteluväli oli yhdenmukainen kaikkien tulosten osalta. Sikiöfraktioiden jakaumassa ei ole ilmeistä siirtymää yleisissä trisomioissa, sukupuolikromosomien aneuploidioissa, genomilaajuisen seulonnan havaitsemisissa tapahtumissa tai kaikissa näytteissä genomilaajuisessa analyysissä.

Suorituskyky kaksosraskauksissa

Trisomian 12, 18 ja 21 sekä Y-kromosomin suorituskyvyn arvioiminen kaksosraskauksissa Kaksosraskauksien trisomian 21, 18 ja 13 matalan esiintyvyyden vuoksi vain pieni määrä kyseisiä kaksosnäytteitä oli saatavilla kliiniseen tutkimukseen. Jotta voitiin arvioida VeriSeq NIPT Solution v2 -tuotteen suorituskykyä kaksosraskauksissa, kaksosraskauksien simuloimiseen käytettiin *in silico* -malleja, jotka perustuivat havaintoihin kliinisistä näytteistä. Tämä simulaatio oli käyttötarkoituksiryhmän mukainen. Sikiöfraktion jakauma määritettiin noin 4 500 kaksosnäytteestä, ja sitä verrattiin noin 120 000 yksösnäytteen jakaumaan. Sikiöfraktion jakauma aneuploidiatilan mukaan määritettiin yksösiä koskevista otaksutuista päätöksistä (1 044 trisomiaa 21, 307 trisomiaa 18 ja 192 trisomiaa 13). Kahden jakauman yhdistäminen mahdollisti aneuploidian tunnistuksen päättelyn kaksosilla. Sama- ja erimunaisia kaksosia simuloitiin ja herkkyuden arvioinnissa käytettiin painotettua keskiarvoa, joka edusti niiden esiintymistä kohderyhmässä (2 erimunaisia; 1 samamunainen). Spesifisyyttä varten simuloitiin ei-kohdekaksosjoukkoja.

Kunkin simuloitun trisomianäytteen fraktio (ts. kohdefraktio) laskettiin eri tavalla kussakin näyteluokassa:

- ▶ Samamunaisilla kaksosilla kunkin näytteen kohdefraktioksi määritettiin 1,0, koska tässä tilanteessa trisomia on molemmilla kaksosilla.
- ▶ Erimunaisilla kaksosilla oletettiin, että vain toisella kaksosella oli trisomia (on erittäin harvinaista, että molemmilla erimunaisilla kaksosilla olisi trisomia). Kohdefraktioarvoja simuloitiin käyttämällä tunnettuja sikiöfraktioasteen jakaumia, jotka määritettiin ei-sukupuolikohtaisista kliinisistä kaksosnäytteistä. Lähestymistapa oli konservatiivinen, eli oletettiin, että trisomiakaksosella oli aina pienempi sikiöfraktio kahdesta kaksosesta. Sikiöfraktioihin käytettiin korjauskerrointa, joka oli keskimäärin pienempi trisomia 13- ja 18-raskauksissa.
- ▶ Ei-trisomiakaksosten osalta kunkin näytteen kohdefraktio asetettiin nollaan.

Trisomia 18- tai 13 -kaksosilla näytteen kohdefraktiota vastaava sikiöfraktio oli pienempi. Pienennys oli suhteessa keskimääräiseen sikiöfraktion pienemään, joka havaittiin kliinisissä tiedoissa trisomiassa 18 tai 13 yksösissä verrattuna euploidisiin yksösiin.

Sikiöfraktiota yhteensä sekä kunkin simuloidun näytteen kohdefraktiota käytettiin laskemaan aneuploidiapisteet käyttämällä VeriSeq NIPT Solution v2 -vakioalgoritmia. Herkkyys laskettiin määrittämällä, kuinka usein simuloitujen kohdekaksosten aneuploidiapisteet olivat vastaavan aneuploidiarajan yläpuolella. Spesifisyys laskettiin vastaavasti määrittämällä, kuinka usein simuloitujen ei-kohdekaksosten aneuploidiapisteet olivat alle vastaavan aneuploidiarajan (**Taulukko 18**). 95 %:n luottamusvälit arvioitiin alkuperäisen tietojoukon todellisten kliinisten kaksosnäytteiden määrän perusteella. Näytteet luokiteltiin joko asianomaisen trisomian sisältäväksi tai sisältämättömäksi.

Y-kromosomin herkkyuden arvioimiseksi kaksosnäytteistä simuloitiin XY/XY- ja XX/XY-kaksosten joukkoja. Laskettiin painotettu keskiarvo, joka edusti niiden esiintyvyyttä kohdeväestössä (1 XY/XY: 1 XX/XY). Kaksosten Y-kromosomin spesifisyyden arvioimiseksi simuloitiin XX/XX-kaksosten joukko. Sikiöfraktion kokonaisarvot simuloitiin kliinisten kaksosnäytteiden sikiöfraktion tunnetun jakauman mukaan.

XY/XY- ja XX/XY-kaksosten osalta vastaavat Y-kromosomipisteet arvioitiin käyttämällä tunnettua suhdetta sikiöfraktion ja Y-kromosomipisteiden välillä miehiksi luokitelluista kliinisistä yksösnäytteistä. XX/XY-kaksosten osalta kohdesikiöfraktion arvot (ts. miesten) simuloitiin käyttämällä tunnettuja sikiöfraktioasteen jakaumia, joita oli havaittu saman raskauden kaksosten välillä määritettynä erisukupuolisten kaksosten kliinisistä näytteistä. Tutkimuksessa käytettiin konservatiivista lähestymistapaa, jossa kohdefraktio valittiin niin, että se vastasi kahdesta kaksosesta pienempää. Kunkin simuloidun XX/XY-näytteen osalta Y-kromosomipisteet kerrottiin kohdefraktiolla.

XX/XX-kaksosten osalta Y-kromosomipisteet poimittiin naisiksi luokiteltujen kliinisten yksösnäytteiden pisteistä. Y-kromosomipisteitä ja kokonaissikiöfraktiota käytettiin sitten luokittelemaan kukin simuloitu näyte Y-kromosomin sisältäväksi tai Y-kromosomi puuttuvaksi VeriSeq NIPT Solution v2 -vakioalgoritmin avulla. Herkkyys laskettiin määrittämällä, kuinka usein simuloidut XY/XY- tai XX/XY-kaksoset luokiteltiin oikein Y-kromosomin sisältäviksi. Spesifisyys laskettiin määrittämällä, kuinka usein simuloidut XX/XX-kaksoset luokiteltiin oikein Y-kromosomipuutteisiksi. 95 %:n luottamusvälit arvioitiin alkuperäisen tietojoukon sellaisten todellisten kliinisten kaksosnäytteiden määrän perusteella, jotka oli luokiteltu joko Y-kromosomin sisältäviksi tai ei sisältäviksi.

Taulukko 18 Trisomia 21:n, 18:n ja 13:n arviot simuloiduissa kaksosraskauksissa

	Trisomia 21	Trisomia 18	Trisomia 13	Y:n läsnäolo
Herkkyys	96,4 %	95,7 %	93,6 %	> 99,9 %
2-puolinen 95 %:n CI	(86,4 %; 98,9 %)	(68,3 %; 99,4 %)	(64,1 %; 98,9 %)	(99,9 %; > 99,9 %)
Spesifisyys	99,9 %	> 99,9 %	> 99,9 %	> 99,9 %
2-puolinen 95 %:n CI	(99,8 %; > 99,9 %)	(99,9 %; > 99,9 %)	(99,9 %; > 99,9 %)	(99,7 %; > 99,9 %)

Taulukko 18 on esitetty piste-estimaatit ja arvioidut 95 %:n luottamusvälit VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmän herkkyudesta ja spesifisyydestä havaita trisomia 21, 18, 13 sekä Y-kromosomi simuloiduissa kaksosraskauksissa, jotka vastaavat kohdeväestöä. Luottamusvälit arvioitiin sen määrän perusteella, jonka

laadunvalvonta hyväksyi asianomaisen trisomian sisältäväksi tai sisältämättömäksi kliiniseksi kaksosnäytteeksi. Herkkyysslaskennassa oletetaan, että kaksi kolmannelta kohdekaksosraskauksista ovat kaksimunaisia ja sisältävät yhden kohdekaksosen, kun taas kolmannes kohdekaksosraskauksista on yksimunaisia ja molemmat kaksoset ovat kohdekaksosia.

Taulukko 18 luetellut arviot koskevat vain kaksosraskauksia. Vielä pienemmän esiintyvyyden vuoksi useamman sikiön raskauksien (kolmosten tai sitä suuremman määrän) tiedot eivät riittäneet määrittämään sopivia tilastomalleja aneuploidian tunnistustarkkuuden arvioimiseen.

Analyttinen suorituskyky

Tarkkuus

Määrittystarkkuuden arviointia ja kvantifiointia varten tehtiin uusinta-analyysi käyttämällä VeriSeq NIPT Solution v2 -analyysiohjelmistoa kahdesta aiemmasta VeriSeq NIPT Solution -tutkimuksesta:

- ▶ toistettavuuden monikeskustutkimus, joka koostui kolmen käyttäjän tekemästä kolmesta ajosta kolmessa laitoksessa käyttämällä yhtä reagenssierää eli yhteensä yhdeksästä ajosta.
- ▶ laboratorion sisäinen tarkkuustutkimus, joka koostui 12 ajosta yhdessä laitoksessa kahdella ML STAR -laitteella, kahdella sekvensointijärjestelmällä ja kolmella sekvensointireagenssierällä.

Tarkkuustutkimuksen tavoitteena oli kvantifioida määrittelyn tarkkuus trisomian 21 (T21) ja kromosomin Y osalta ja arvioida eri laitteiden, kirjastonvalmistelupakkausten ja sekvensointireagenssierien välinen vaihtelevuus. 5 %:n sikiöfraktio-T21-pooli luotiin yhdistämällä raskaana olevien naisten (joilla oli T21-sikiö) plasmasta uutettu cfDNA ja ei raskaana olleiden naisten plasmasta uutettu cfDNA. Myös 10 %:n sikiöfraktio äiti-mies (XY-sikiö) cfDNA-pooli luotiin. Kunkin tutkimuksen kunkin ajon näytepaneeliin sisältyi 4 replikaattia 5 %:n sikiöfraktiosta T21-näytepoolista ja 20 replikaattia 10 %:n sikiöfraktion äiti-mies-cfDNA-poolista. Testaus tehtiin 10 vuorokauden aikana niin, että kahdessa tutkimuksessa tehtiin yhteensä 21 ajoa.

T21:n ja Y-kromosomin läsnäolo valittiin arvioitavaksi kliinisten olosuhteiden ja poikkeavuudentunnistuksen monimutkaisuuden edustavuuden perusteella. Pienimpänä ihmisen autosomina kromosomin 21 koolla on suora vaikutus T21:n tunnistamiseen, erityisesti matalilla sikiöfraktioarvoilla, kuten tässä tutkimuksessa käytetyillä. Äidin plasmassa esiintyvä Y-kromosomi on peräisin ainoastaan sikiöstä ja siten määrittelyn on helpompi havaita se.

Kromosomin 21 LLR-pisteiden ja Y-kromosomin normalisoitujen kromosomiarvojen (NCV) havaittu keskiarvo ja keskihajonta osoittivat, että replikaatin keskihajonta (SD) oli suurin vaihtelevuuden lähde. Laitosten, laitteiden ja reagenssierien välinen vaihtelu lisäsi merkityksettömän määrän vaihtelevuutta, minkä osoitti ero kokonaiskeskihajonnan ja replikaatin keskihajonnan välillä; katso **Taulukko 19** ja **Taulukko 20**.

Taulukko 19 Yhteenveto useiden laitosten (toistettavuus-) sekvensointivasteen keskihajonnasta (SD)

Vaste	N	Keskiarvo	Replikaatin SD	Toistettavuuden SD yhteensä*
Kromosomin 21 LLR-pisteet	36	34,43	11,36	11,36
Y-kromosomi NCV	180	190,56	7,96	10,20

* Kokonaismäärä sisältää laitoksen, käyttäjän, ajon, päivän ja replikaatin aiheuttaman vaihtelevuuden.

Taulukko 20 Yhteenveto laboratorion sisäisestä sekvensointivasteen tarkkuudesta

Vaste	N	Keskiarvo	Replikaatin SD	Laboratorion sisäinen SD yhteensä*
Kromosomin 21 LLR-pisteet	48	36,01	9,07	10,25
Y-kromosomi NCV	240	198,68	7,63	7,82

* Kokonaismäärä sisältää sekvensointilaitteen, reagenssierän, käyttäjän, ajon, päivän ja replikaatin aiheuttaman vaihtelevuuden.

VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmän sekvensointitarkkuutta (keskihajonta yhteensä) virtauskyvetin version 2.0 ja version 2.5 välillä vertailtiin lisätutkimuksessa. Tutkimukseen otettiin kahdentyyppisiä virtauskyvettöjä (v2.0 ja v2.5), kolme sekvensointipakkauserää ja neljä laitejärjestelmää. Tutkimuksessa tehtiin kaksi sekvensointiajoa

yhdistelmää kohti niin, että yhdessä laitoksessa tehtiin 48 ajoa. Yksi sekvensointipooli oli manuaalisesti valmistelluista cfDNA-levyistä. Näytepaneeliin sisältyi 4 replikaattia 5 %:n sikiöfraktiosta T21-näytepoolista ja 20 replikaattia 10 %:n sikiöfraktion äiti-mies-cfDNA-poolista (XY-sikiö). Tutkimuksen tulokset on esitetty **Taulukko 21**, ja ne tukevat johtopäätöstä, että sekvensointitarkkuudessa ei ole eroa käytettäessä virtauskyvettä v2.0 tai v2.5.

Taulukko 21 Yhteenvedo sekvensointivasteen tarkkuudesta käytettäessä virtauskyvettä v2.0 versus v2.5

Vaste	Havaintomäärä versiota kohti	v2.0:n keskihajonta yhteensä*	v2.5:n keskihajonta yhteensä*	Tilastollinen tulos**
Kromosomin 21 LLR-pisteet	96	9,56	8,44	Tilastollisesti vastaava (p-arvo = 0,25)
Y-kromosomi NCV	480	7,74	7,38	Tilastollisesti vastaava (p-arvo = 0,38)

* Kokonaismäärä sisältää sekvensointilaitteen, reagenssierän, ajon, päivän ja replikaatin aiheuttaman vaihtelevuuden.

** Perustuu varianssin yhtäsuuruuden F-testiin (keskihajonnan neliö)

Ristikontaminaatio

Ristikontaminaatiota arvioitiin VeriSeq NIPT Solution -tuotteen näytteenvalmistelutyönkulussa. Ei-raskaana olevien naisten (XX) ja aikuisten miesten (XY) plasmapoolit testattiin ruudukkokuviolla 96-kuoppalevyn muodossa neljällä levyllä. N = 48 sekä naisten että miesten näytteiden osalta per levy; yhteensä 192 naisten näytettä ja 192 miesten näytettä. Mikään naisten näytteistä ei osoittanut Y-kromosomin kattavuusastetta, joka oli tilastollisesti korkeampi kuin arvioitu tausta, mikä osoitti, ettei ristikonaminaatiota samalla levyllä olevista miesten näytteistä ollut. VeriSeq NIPT Solution -tuotteessa ei todettu havaittavaa ristikonaminaatiota.

Mahdollisesti häiritsevät aineet

Mahdollisesti häiritsevien aineiden vaikutusta VeriSeq NIPT Solution -järjestelmässä arvioitiin testaamalla määrityksen suorituskykyä sellaisten aineiden läsnäollessa.

Albumiinia, bilirubiinia, hemoglobiinia ja triglyseridejä (endogeenisiä) lisättiin kutakin sellaisten äitien plasmapooleihin, joilla ei ollut naispuolista kohdesikiötä (XX-sikiö). Niitä testattiin kahdella pitoisuudella kutakin testiainetta kohden (n = 16 kutakin). Häiriöitä määrityksen suorituskyvyssä ei havaittu.

Taulukko 22 Mahdollisesti häiritsevät aineet (endogeeniset)

Testattu aine	Pieni testipitoisuus (mg/ml)	Suuri testipitoisuus (mg/ml)
Albumiini	35	50
Bilirubiini	0,01	0,15
Hemoglobiini	100	200
Triglyseridi	1,5	5

Plasmassa luontaisesti ilmenevä äidin genomisen DNA (gDNA) voi myös mahdollisesti häiritä määrityksen suorituskykyä, koska se voidaan eristää sikiön cfDNA:n ohella. Genomista DNA:ta lisättiin ei-kohdesikiön (XX-sikiö) äidin plasmasta eristettyyn cfDNA:han tasoilla 1,6, 3,3 ja 4,9 ng per näyte (mikä vastaa 1, 2 ja 3 keskihajontaa yli odotettua gDNA-pitoisuutta 7 vuorokauden kokoverinäytteen säilytyksen jälkeen¹²). Näytteet testattiin sitten VeriSeq NIPT Solution -järjestelmällä (n = 16 kunkin pitoisuuden osalta). Häiriöitä määrityksen suorituskyvyssä ei havaittu kohonneiden gDNA-tasojen läsnäollessa.

20 lääkepoijaista mahdollista häiritsevää ainetta (eksogeenisiä), joita käytetään tai määrätään yleisesti raskauden aikana, testattiin yhtä EP7-A2:ta kohden (häiritsevien aineiden testaus kliinisessä kemiassa, hyväksytty ohje, toinen painos [Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline-Second Edition]). 20 mahdollista häiritsevää ainetta yhdistettiin neljäksi pooliksi, joihin lisättiin ei-kohdesikiöjen (XX-sikiö) äidin plasmaa, ja ne testattiin VeriSeq NIPT Solution -järjestelmällä (N = 16 kunkin poolin osalta). Häiriöitä määrityksen suorituskyvyssä ei havaittu näiden eksogeenisten aineiden läsnäollessa.

Taulukko 23 Mahdollisesti häiritsevät aineet (eksogeeniset)

Pooli 1	Pooli 2	Pooli 3	Pooli 4
Asetaminofeeni	Difenhydramiini	Albuteroli	Setiritsiini
Asetylikysteiniini	Erytromysiini	Bupropioni	Dekstrometorfaani
Bisoprololi	Guaifenesiini	Kofeiini	L-askorbiinihappo
Sitalopraami	Hepariini	Sertraliini	Metoprololi
Desloratadiini	Lidokaiini	Natriumfluoridi	Nadololi

Määrittämisen tunnistusraja

Määrittämisen tunnistusraja (LOD) on se sikiöfraktion taso, joka vastaa 95 %:a kohdetilan, kuten T21:n, tunnistuksen todennäköisyydestä. VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmän tunnistusrajan arvioimiseksi erilaisissa yleisissä tiloissa tehtiin tutkimuksia ja tilastollisia analyysejä.

Kohdetilan tunnistuksen todennäköisyys VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmällä käsitellystä kohdenäytteestä määräytyy ensisijaisesti kolmen tekijän perusteella:

- ▶ sikiöfraktio
- ▶ sekvensointisyvyys
- ▶ genomisen mielenkiintoalueen koko ja monimutkaisuus

Kun oletetaan sekvensointisyvyyden olevan vakio, tietty poikkeama on helpompi tunnistaa näytteestä, jossa on suurempi sikiöfraktioprosentti, kuin näytteestä, jossa sikiöfraktioprosentti on pienempi. Sitä vastoin kun oletetaan sikiöfraktion olevan vakio, tietty poikkeama on helpompi tunnistaa näytteestä, jossa on suurempi sekvensointisyvyys, kuin näytteestä, jossa sekvensointisyvyys on pienempi. Poikkeamat pienemmillä tai monimutkaisemmilla genomialueilla ovat vaikeampia tunnistaa kuin poikkeamat suuremmilla tai vähemmän monimutkaisilla genomialueilla, jos sikiöfraktio ja sekvensointisyvyys oletetaan vakioksi.

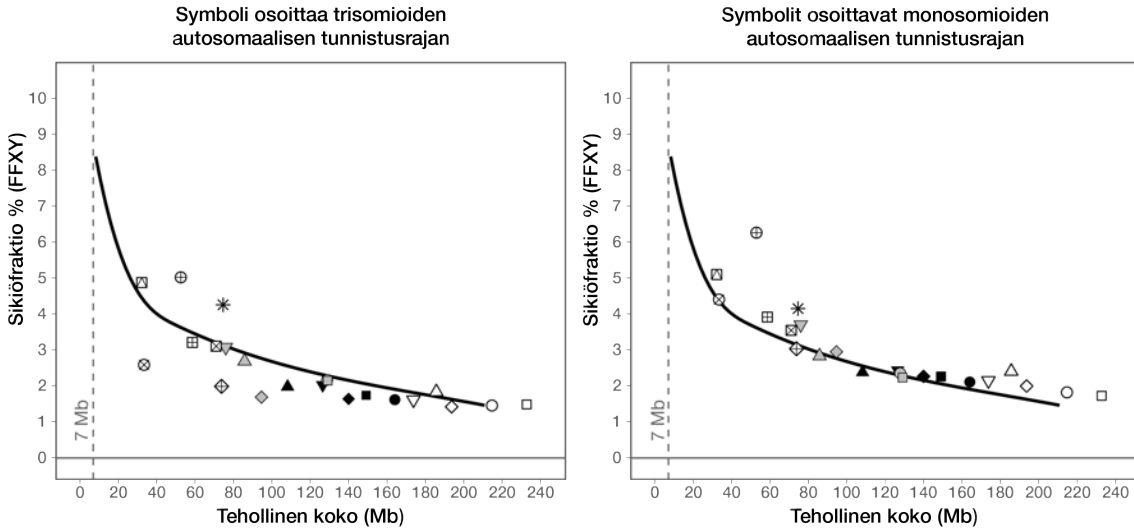
T21:n tunnistuksen tunnistusrajan (LOD) määrittämistä varten analysoitiin näytteitä, jotka koostuivat poolatuista T21-näytteistä ja poolatuista ei-kohdenäytteistä. Kahdentyyppiset analyytit sekoitettiin titraussarjassa, jotta saatiin luotua seitsemän sikiöfraktiotasoa (0, 2, 3, 4, 5, 6 ja 10 %). Kutakin tasoa edusti yhteensä 10 replikaattia.

Jotta voitiin lisätä sikiöfraktiomatriisin tarkkuutta tunnistusrajan analyysiä varten, tämän tutkimuksen tietoihin lisättiin in silico -laimennuksesta saadut tiedot. Kokeellisen laimennuksen ja titrauksen vaikutuksia simuloitiin kontrolloidulla sekvensointitietojen sekoituksella. Tiedot tästä in silico -titrauksesta kattoivat 14 sikiöfraktiotasoa (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 ja 4,50 %) ja 32 replikaattia kullakin tasolla. Probit-analyysiä käytettiin saatuihin tietoihin T21:n tunnistusrajan määrittämiseksi.

Minkä tahansa näytteen minkä tahansa poikkeaman tunnistustodennäköisyyden ennustamiseen kehitettiin erikseen tilastollinen malli käyttämällä sikiöfraktiota, sekvensointisyvyyttä ja genomien kokoa/monimutkaisuutta. Tämä malli määritettiin tiedoista, jotka vastasivat 1 405 XY-näytteen joukkoa. Tämän mallin ennustaman T21:n tunnistusrajan määritettiin olevan yhtäpitävä edellä kuvatun probit-pohjaisen arvion kanssa. Tällä tilastollisella mallilla arvioitiin tunnistusraja-arvot kaikkien autosomien aneuploidioiden ja osittaisten deleetioiden ja duplikaatioiden osalta.

Kuva 2 esittää 95 %:n tunnistustodennäköisyyden keskimääräisillä alueilla koon mukaan ja autosomaaliset tunnistusrajat kaikista trisomioista ja kaikista monosomioista.

Kuva 2 95 %:n tunnistustodennäköisyys keskimääräisillä alueilla koon mukaan käytettäessä VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmää



Krom.	Symboli	Trisomia		Monosomia	
		LLR-raja	LoD (%)	LLR-raja	LoD (%)
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

Krom.	Symboli	Trisomia		Monosomia	
		LLR-raja	LoD (%)	LLR-raja	LoD (%)
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

Vianmääritys

VeriSeq NIPT Solution v2 -järjestelmän vianmääritys

Vikatila	Mahdollinen tulos	Tulkinta	Suosittelu toimenpide	Huomautuksia	
Riittämätön lähdeplasman määrä	Näytteen laadunvalvontavika	Riittämätön plasman määrä	Ota näyte uudelleen	Perustuu plasman määrän visuaaliseen tarkastukseen.	
Veriputken vika	Ei veren erottumista kerroksiin	Näytettä ei sentrifugoitu	Tarkista, että sentrifugi käynnistyi ja putkea pyöritettiin oikealla voimalla. Ota näyte uudelleen.		
		Virheellinen näytteen säilytys tai kuljetus (näytteen hemolyysi)	Ota näyte uudelleen.	Pakastetut näytteet eivät erkaannu. Virheelliset kuljetus- tai säilytysolosuhteet saattavat johtaa näytteiden hemolyysiin.	
Näytetukos / hidas virtaus	Plasmakontaminaatio	Yksittäiset näytteet voivat tukkia sidontalevyn, jos plasmanäytteessä on merkittävästi kontaminaatiota	Tarkasta näyte, jos putkeen jäänyt plasma on punaista tai maitomaista, peruuta näyte ja pyydä uusi näyte. Jos näyte vaikuttaa normaalilta, testaa se uudelleen.		
		Näytteen ylivuoto	Riittämätön kunkin putken näytteen sopivuuden visuaalinen tarkastus.	Hylkää kaikki ylivuodon vaikutuksen alaiset näytteet läheisistä kuopista.	Saattaa osoittaa näytteen virheellisiä kuljetus- tai säilytysolosuhteita ennen käsittelyä. Älä sisällytä sopimattomia näytteitä käsittelyyn.
		Laitteiston toimintahäiriö	Riittämätön materiaalin käyttö uuton aikana	Testaa näyte uudelleen. Jos ongelma ei häviä muiden näytteiden kuoppasijainnin osalta, ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.	

Vikatila	Mahdollinen tulos	Tulkinta	Suosittelut toimenpiteet	Huomautuksia
Kvantifioinnin laadunvalvontavika	Kvantifiointiajo epäonnistui – erän mediaani minimin alapuolella	Riittämätön prosessin tuotto	Toista kvantifiointi. Jos toistokin epäonnistuu, ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.	Vakiokäyrämetriikan ohittaminen on merkki kirjaston valmistelun ongelmasta.
	Kvantifiointiajo epäonnistui	Vakiokäyrän vika	Toista kvantifiointi. Jos toistokin epäonnistuu, ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.	Yleisiä vakiokäyrän vian syitä ovat riittämättömästi sulatetut kvantifiointireagenssit, kuoppien sisältämät eri määrät läikkymisen vuoksi ja DNA:n kvantifiointireagenssin pilaantuminen (esimerkiksi valoaltistuksen vuoksi).
Poolausvika	Näytteen poolauksen epäonnistuminen	Poolausanalyysi ei pysty laskemaan oikeita poolausmääriä	Arvioi kohdepoolin pitoisuus uudelleen, aja poolausanalyysi uudelleen.	Voi ilmetä, kun erän kaikissa näytteissä on matalat kvantifiointiarvot, kun on asetettu suuri poolipitoisuus (yleensä suurempi kuin 3–5 pm).
Yksittäisen näytteen analyysin laadunvalvontavika	Sekvensoinnin laadunvalvontavika	Riittämätön geneettinen lähdemateriaali TAI siirtovirhe näytteen käsittelyssä TAI sekvensointireagenssin vika	Tarkista näytemerkintä. Tarkista, oliko aiempien näytteiden suorituskyky samanlaista suhteellisessa levysijainnissa. Testaa näyte uudelleen.	Osoittaa joko huonoa näytteen syöttöä tai siirtovirhettä ML STAR-laitteessa. Riittämätön geneettinen materiaali voi olla peräisin riittämättömästi soluttomasta DNA:sta plasmassa tai solupohjaisesta DNA:sta, mikä aiheuttaa sekvensoitavan näytteen ylilaimennuksen.
	Matala sikiöfraktio tai ei-poissuljetut paikat (NES) -määrä	Tietoja generoitu riittämättömästi tarkkaa raportointia varten	Testaa plasmasta uudelleen.	

VeriSeq NIPT Microlab STAR -tuotteen vianmääritys

Prosessin vaihe	Virhekoodi	Virheikkuna	Kuvaus	Käyttäjän toimet
Erän luonti	EM0044	The Batch ID entered contains forbidden characters. (Annettu erätunniste sisältää kiellettyjä merkkejä.)	VeriSeq NIPT Solution v2 hyväksyy kaikkiin tietokenttiin vain numeroita, kirjaimia, alaviivoja ja väliviivoja.	Nimeä erä uudelleen käyttämällä nimeä, jossa ei ole erikoismerkkejä.
Erän luonti	EM0051	The Batch ID is greater than 26 characters in length. (Erätunniste on yli 26 merkkiä pitkä.)	VeriSeq NIPT Solution v2 rajoittaa erän nimien pituudeksi korkeintaan 26 merkkiä.	Nimeä erä uudelleen käyttämällä nimeä, jossa on korkeintaan 26 merkkiä.
Erän luonti	EM0076	Unable to connect to VeriSeq Onsite Server v2 (Ei voi muodostaa yhteyttä VeriSeq Onsite -palvelimeen)	VeriSeq Onsite Server v2 ei vastaa työnkulun hallinnan tietopyyntöihin.	Varmista seuraavat seikat: 1. ML STAR on yhdistetty verkkoon. 2. VeriSeq Onsite Server v2 -palvelimeen on kytketty virta. 3. ML STAR voi yhdistää VeriSeq Onsite Server v2 -palvelimeen (pingaamalla). 4. Jos edellä olevat toimet eivät ratkaise ongelmaa, lähetä sähköpostia Illuminan tekniseen tukeen. 5. Tarkista, onko imujätepullo yli puoliksi täynnä. Jos on, tyhjennä se.
Erän luonti	EM0118	This batch has been failed and cannot be further processed. (Tämä erä on epäonnistunut, eikä sitä voi käsitellä enempää.)	Määritetty erä on jo epäonnistunut, eikä sitä voi käsitellä enempää.	VeriSeq Onsite Server v2 -palvelimessa oleva erätietue osoittaa, että valittu erä on epäonnistunut. Lisäkäsittely ei ole sallittu. Luo toinen erä halutuilla näytteillä.
Erän luonti	-	Tämän erän käsittely on jo päättynyt. Haluaisitko poolata uudelleen?	Ilmoitettu erä on käsitelty poolaamalla. Ainoa sallittu käsittely on uudelleenpoolaus.	Poolaa uudelleen valitsemalla Re-Pool (Poolaa uudelleen). TAI Keskeytä menetelmä ja tarkista erän nimi.
Plasman eristäminen	WP0087	Duplicate sample barcodes loaded. (Näytteillä sama viivakoodi.)	Järjestelmään on lisätty näytteitä, joilla on identtiset viivakoodit.	1. Noudata työnkulun hallinnan ohjeita, jotta tunnistat, millä näytteillä on sama viivakoodi. 2. Poista kyseiset näytteet ja merkitse ne uudelleen tai vaihda ne. 3. Lisää näytteet uudelleen.

Prosessin vaihe	Virhekoodi	Virheikkuna	Kuvaus	Käyttäjän toimet
Plasman eristäminen	EP0102	Samples specified in the Sample Sheet were not loaded. (Näytearkissa määritettyjä näytteitä ei lisätty.)	Näytearkiin sisällytettyjä näytteitä ei sisällytetty lisättyihin viivakodeihin.	<ol style="list-style-type: none"> Noudata työnkulun hallinnan ohjeita, jotta tunnistat puuttuvat näytteet. Lisää puuttuvat näytteet erään ja lisää näytteet uudelleen. TAI Keskeytä menetelmä, muokkaa näytearkkia tarpeen mukaan ja käynnistä menetelmä uudelleen.
Levyn lisäys	-	Venus Barcode Mask Error (Venus-viivakoodin peitevirhe)	Työnkulun hallinta valvoo oikeaa levyn ja erän yhteyttä käyttämällä Venus-viivakoodipeitteitä.	<ol style="list-style-type: none"> Tarkista levyn sijoituksesta, että levyn asettelu on oikein. Tarkista, että lisätty levy on kyseiselle erälle oikea levy.

Prosessin vaihe	Virhekoodi	Virheikkuna	Kuvaus	Käyttäjän toimet
cfDNA:n eristäminen	WE0150	Pressure in the vacuum chamber is too low. (Paine imukammiossa on liian pieni.)	Työnkulun hallinta ei etene, jos imuletkun tunnistama lepopaine on < 400 Torr.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Tarkista, onko imuletkussa mutkia tai muita tukoksia. 2. Avaa jäteletkun vapautuskiinnikkeet, anna paineen vapautua, sulje kiinnikkeet ja avaa ne uudelleen. 3. Tarkista, että imu ohjaimen ja pumppuun on kytketty virta. 4. Jos ongelma jatkuu, ota yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.
	WE0153	Pressure in the vacuum chamber is too high. (Paine imukammiossa on liian suuri.)	Jos mitattu imupaine on liian suuri ennen paineohjauksen käynnistämistä, järjestelmässä voi olla toimintahäiriö.	Tarkista ohjaimen takaa, että kaikki imuliitännät ja -letkut ovat tiukasti kiinni.
	WE0996	Vacuum failed to seal. (Imu ei sulkeutunut.)	Järjestelmä ei kykene luomaan imutiivistystä sidontalevyyn.	<p>HUOMAA: älä valitse OK, ennen kuin tiivistysvika on ratkaistu kokonaan.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Tarkista, että sidontalevy on tasaisesti imuputkistoa vasten. Paina sidontalevyä alaspäin voimakkaasti käsine kädessä. 2. Jatka cfDNA:n eristämistä valitsemalla OK. 3. Jos tämä virheilmoitus näkyy yli kolme kertaa ajon aikana, ota sähköpostilla yhteyttä Illuminan tekniseen tukeen.
	WM0219	If Vacuum is on, manually rest the pump. (Jos imu on käytössä, aseta pumppu lepoon manuaalisesti.)	Imu voi pysyä käynnissä, kun menetelmä on keskeytetty eristämisen aikana.	<ol style="list-style-type: none"> 1. Sammuta imu painamalla imuohjaimesta virtapainiketta. 2. Odota 10 sekuntia ja kytke imu uudelleen käyntiin painamalla virtapainiketta uudelleen.
	EE0477	An error has occurred while moving a plate. (Levyn siirtämisen aikana on ilmennyt virhe.) (iSWAP-virhe)	Jos esiintyy iSWAP-virhe (levyn putoaminen, poimimisen epäonnistuminen jne.), järjestelmä kehottaa käyttäjää siirtämään levyä manuaalisesti.	<p>Tarkista, että levyä voidaan käyttää (materiaalia ei ole läikkynyt).</p> <ul style="list-style-type: none"> - Jos ei voi, keskeytä ajo. - Jos voi, siirrä levy manuaalisesti näkyviin tulevien ohjeiden mukaan.
	EE0519	Scanned barcode does not match binding plate barcode on record. (Skannattu viivakoodi ei vastaa tiedoissa olevaa sidontalevyn viivakoodia.)	Lisätty sidontalevy ei vastaa poistetun levyn viivakoodia.	Varmista, että lisättävä levy vastaa kirjattua viivakoodia (katso odotettu viivakoodi jäljityslokista).

Prosessin vaihe	Virhekoodi	Virheikkuna	Kuvaus	Käyttäjän toimet
API	EA0372	Unable to connect to the data server. (Ei voi muodostaa yhteyttä datapalvelimeen.)	VeriSeq Onsite Server v2 ei vastaa työnkulun hallinnan tietopyyntöihin.	Varmista seuraavat seikat: 1. ML STAR on yhdistetty verkkoon. 2. ML STAR voi yhdistää VeriSeq Onsite Server v2 -palvelimeen (pingaamalla). 3. VeriSeq Onsite Server v2 -palvelimeen on kytketty virta.
	EA0774	Connection Error (Yhteysvirhe) API-palvelimen yhteyttä ei voitu todentaa.	VeriSeq Onsite Server v2 ei vastaa työnkulun hallinnan tietopyyntöihin.	Varmista seuraavat seikat: 1. ML STAR on yhdistetty verkkoon. 2. ML STAR voi yhdistää VeriSeq Onsite Server v2 -palvelimeen (pingaamalla). 3. VeriSeq Onsite Server v2 -palvelimeen on kytketty virta.
	EA0780	403: Invalid Request The current transaction is not valid. (403: Epäkelpoinen pyyntö. Nykyinen toimenpide ei kelpaa.)	Lähetetyt tiedot ovat järjestelmän työnkulun logiikan vastaisia.	Katso lisätietoja virheen tiedoista. Yleisiä syitä ovat liian pitkät syötetyt tiedot tai sellaiset, joissa on käytetty ei-hyväksytyjä merkkejä.

Lähdeviitteet

- 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, Nicolaidis 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. 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.

Versiohistoria

Asiakirja	Päivämäärä	Muutoksen kuvaus
Asiakirjanro 1000000078751 v06	Elokuu 2021	Päivitetty valtuutetun EU-edustajan osoite.
Asiakirjanro 1000000078751 v05	Joulukuu 2020	<ul style="list-style-type: none"> Päivitetty toimenpiteen periaatteet, varoitukset ja varotoimet sekä tuotemerkinnät lisäselvennyksillä viranomaispyyntöjen täyttämiseksi. Pieniä sisältöpäivityksiä vastaamaan nykyistä Illuminan tyyliä ja organisaatiota. Korjattu kromosomin 21 kuvaus toiseksi pienimmästä ihmisen autosomista pienimmäksi ihmisen autosomiksi analyttisen suorituskyvyn Tarkkuus-osiossa. Lisätty varoituksia vääränlaisesta säiliöiden käytöstä ja näytteen yhdistymisestä Plasman eristämisen valmisteleminen- ja Tulosten tulkinta -osioihin. Lisätty uuden palvelimen ja ohjelmiston osanumerot uuden palvelinmallin ja ohjelmiston julkaisua varten. Lisätty varoituksia protokolla- ja vianmäärittämissä näytteiden ylivuodon hoitamisesta ja estämisestä. Päivitetty lisävarustelaatikon sisältämän reagenssin vaikuttavat aineet DNA:n kvantifointistandardiin käyttöturvallisuustiedotteen mukaisesti. Päivitetty Local Run Manager VeriSeq NIPT -moduulin nimeämiskäytänteet yhdenmukaisiksi muun dokumentaation kanssa. Lisätty versiohistoria.
Asiakirjanro 1000000078751 v04	Lokakuu 2020	<ul style="list-style-type: none"> Pieniä korjauksia.
Asiakirjanro 1000000078751 v03	Syyskuu 2020	<ul style="list-style-type: none"> Päivitetty materiaaliluetteloon laboratoriotarvikkeiden tekniset tiedot ja tunnetut yhteensopivat vaihtoehdot.
Asiakirjanro 1000000078751 v02	Helmikuu 2020	<ul style="list-style-type: none"> Päivitetty kliinisten suorituskykytietojen esitys, jotta perus- ja genomilaajuksen seulonnan väliset erot tulevat paremmin selville. Lisätty uusia eroja perus- ja genomilaajuksen seulonnan suorituskykytietoihin. Poistettu ristiriitaisia tietoja lisäraportin valinnaisuudesta Toimenpiteen periaatteet -osioista. Päivitetty VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 -ohjelmiston nimeämiskäytänteet eri puolilla asiakirjaa tyylin yhdenmukaistamiseksi. Päivitetty Australian ja Illuminan Alankomaiden osoitteisiin viimeaikaiset muutokset.
Asiakirjanro 1000000078751 v01	Elokuu 2019	Poistettu tuplavaihe cfDNA:n eristämisestä, mikä aiheutti julkaisuohjelmiston virhe.
Asiakirjanro 1000000078751 v00	Toukokuu 2019	Ensimmäinen versio.

Patentit ja tavaramerkit

Tämä asiakirja ja sen sisältö ovat Illumina, Inc:n ja sen tytäryhtiöiden ("Illumina") omaisuutta, ja ne on tarkoitettu ainoastaan Illuminan asiakkaiden sopimuskäyttöön tässä kuvattujen tuotteiden käyttöön liittyen eikä mihinkään muuhun tarkoitukseen. Tätä asiakirjaa ja sen sisältöä ei saa käyttää tai jakaa missään muussa tarkoituksessa ja/tai välittää, paljastaa tai jäljentää millään muulla tavoin ilman Illuminalta ennakkoon saatua kirjallista lupaa. Illumina ei tällä asiakirjalla luovuta mitään käyttöoikeuksia sen patenti-, tavaramerkki-, tekijänoikeus- tai tapaoikeuksien nojalla eikä vastaavien kolmansien osapuolten oikeuksien nojalla.

Tässä kuvattuja tuotteita saa käyttää vain pätevä ja asianmukaisesti koulutettu henkilökunta noudattamalla täsmällisesti tässä asiakirjassa annettuja ohjeita, jotta tuotteiden asianmukainen ja turvallinen käyttö voidaan taata. Asiakirjan sisältö on luettava ja ymmärrettävä kokonaisuudessaan ennen näiden tuotteiden käyttöä.

MIKÄLI TÄSSÄ ANNETTUJA OHJEITA EI LUETA JA TÄSMÄLLISESTI NOUDATETA, SEURAUKSENA VOI OLLA TUOTTEIDEN VAURIOITUMINEN, HENKILÖVAHINKOJA JOKO KÄYTTÄJILLE TAI MUILLE JA MUITA OMAISUUSVAHINKOJA, MINKÄ LISÄKSI TUOTTEITA MAHDOLLISESTI KOSKEVAT TAKUUT MITÄTÖITYVÄT.

ILLUMINA EI OLE VASTUUSSA TÄSSÄ KUVATTUJEN TUOTTEIDEN VÄÄRINKÄYTÖSTÄ (MUKAAN LUKIEN TUOTTEEN OSAT JA OHJELMISTO).

© 2021 Illumina, Inc. Kaikki oikeudet pidätetään.

Kaikki tavaramerkit ovat Illumina, Inc:n tai niiden vastaavien omistajien omaisuutta. Tarkemmat tavaramerkkitiedot annetaan osoitteessa www.illumina.com/company/legal.html.

Yhteystiedot



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.
+1 800 809.ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (Pohjois-Amerikan ulkopuolella)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

CE
2797



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
The Netherlands

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

Tuotteiden merkinnät

Katso tuotteen pakkauksessa ja merkinnöissä käytettyjen symbolien selitykset osoitteesta support.illumina.com.

Yhteenveto turvallisuudesta ja suorituskyvystä (Summary of Safety and Performance, SSP) on osoitteessa <https://ec.europa.eu/tools/eudamed> eurooppalaisen lääkinnällisten laitteiden tietokannan (Eudamed) käyttöönoton jälkeen, missä se on linkitetty UDI-DI-perustunnisteeseen (0081627002NIPTRP).