

## Terméktájékoztató

IN VITRO DIAGNOSZTIKAI HASZNÁLATRA.

## Rendeltetés

A VeriSeq™ NIPT Solution v2 *in vitro* diagnosztikai vizsgálat, amely szűrővizsgálatként szolgál a genomszintű magzati genetikai rendellenességek felismerésére az anya perifériás teljes véréből, legkorábban a 10. gesztációs héten. A VeriSeq NIPT Solution v2 a teljes genom szekvenálásával mindegyik autoszóma részleges deléciójának és duplikációjának, valamint az összes kromoszóma aneuploiditásának kimutatására szolgál. A vizsgálat lehetőséget nyújt a nemi kromoszómák aneuploiditásának (SCA) a meghatározására. A termék nem használható a diagnózis felállításának vagy az egyéb, terhességgel kapcsolatos döntések meghozatalának egyedüli alapjaként.

A VeriSeq NIPT Solution v2 összetevői: a VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 a VeriSeq NIPT Microlab STAR készüléken, a VeriSeq NIPT Sample Prep Kit készlet és a VeriSeq Onsite Server v2 a VeriSeq NIPT Assay Software v2 szoftverrel. A VeriSeq NIPT Solution v2 új generációs szekvenálógéppel való használatra szolgál.

## A vizsgálat összefoglalása és magyarázata

A magzati kromoszóma-rendellenességek, főleg az aneuploiditás, amely a kromoszómák rendellenes számát jelenti, gyakran okoz reprodukciós sikertelenséget, veleszületett rendellenességeket, fejlődési elmaradást és szellemi korlátozottságot. Aneuploiditás fordul elő körülbelül 300-ból 1 élve születés esetén és sokkal nagyobb arányban vetélés és halvaszületés esetén.<sup>1,2</sup> Mostanáig kétféle prenatális szűrési típus létezett: diagnosztikai vizsgálat és szűrővizsgálat. A diagnosztikai vizsgálatok közé tartoznak az invazív eljárások, így az amniocentesis és a chorionboholy-biopszia. Ezek a vizsgálati módszerek képezik a magzati aneuploiditás kimutatásának aranymercéjét. Azonban ezek a terhesség elvesztésének a 0,11% és 0,22% közötti kockázatával járnak.<sup>3</sup> A hagyományos, több markert tartalmazó szűrővizsgálatok esetén nem áll fenn a vetélés kockázata, mivel nem invazív vizsgálatok, azonban ezek kevésbé pontosak, mint a diagnosztikai vizsgálatok. Ezekkel a 21-es triszómia kimutatási aránya 69–96% között változik az aktuális szűrővizsgálattól, az anya életkorától és a gesztációs kortól függően.<sup>4</sup> Fontos, hogy ezeknél az álpozitív eredmények aránya körülbelül 5%, ezért a megerősítés céljából invazív vizsgálatok elvégzése válhat szükségessé, ami a beavatkozással kapcsolatos vetélést okozhat.<sup>4</sup> Ultrahangvizsgálattal végzett szűréssel is kimutathatók kromoszóma-rendellenességek, de még kevésbé megbízhatóan, mint a többi módszerrel.

A 21-es, 18-as, 13-as X- és Y-kromoszóma magzati aneuploiditása nagy pontossággal kimutatható nem invazív prenatális vizsgálattal (NIPT) a 10. gesztációs héten vagy utána vett anyai plazmában lévő sejtmentes DNS (cfDNA) teljes genomra kiterjedő szekvenálásával. Egy új, több klinikai vizsgálat adataiból készült metaanalízisben beszámoltak a 21-es és a 18-as triszómia súlyozott, összesített kimutatási arányairól és specificitásáról egyes terhességekben: 21-es triszómia: 99,7% és 99,96%; 18-as triszómia: 97,9% és 99,96%.<sup>5</sup> Az egyik vizsgálat eredménye szerint, ha minden terhességben NIPT-t használnának elsődleges szűrési módszerként, az 89%-kal csökkentené a megerősítésre szolgáló invazív beavatkozások számát.<sup>6</sup>

Mivel az NIPT esetén jelentősen kisebb az álpozitív eredmények aránya a hagyományos, több markerből álló szűréshez képest, számos orvosi szakmai szervezet kiadott véleménynyilatkozatot, amelyekben támogatják az NIPT használatát többféle javallat esetén.

Az International Society for Prenatal Diagnosis, az American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) /Society for Maternal Fetal Medicine (SMFM), az American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) és a European Society of Human Genetics/American Society of Human Genetics támogatja az NIPT felajánlását minden terhes nőnek.<sup>7,8,9</sup> Javasolt a vizsgálat előtti tanácsadás, tájékozott beleegyezés kérése és a pozitív cfDNS-szűrési eredmény megerősítése diagnosztikai vizsgálattal.<sup>4</sup>

A VeriSeq NIPT Solution v2 nem invazív, in vitro diagnosztikai (IVD) vizsgálat, amelyben az anyának a 10. gesztációs héten vagy utána vett perifériás teljes vérből származó cfDNS-fragmentumok teljes genomra kiterjedő szekvenálása történik. A vizsgálat kétféle szűrési típust kínál: az alapszintű szűrést és a teljes genomon végzett szűrést. Az alapszintű szűrés csak a 21-es, 18-as, 13-as, X és Y kromoszóma aneuploiditási állapotáról ad információt. A teljes genomon végzett szűrés az összes autoszóma részleges duplikációit és delécióit, valamint az összes kromoszóma aneuploiditási állapotát megadja. Mindkét szűrési típusnál lehetőség van a nemikromoszóma-aneuploiditás (SCA) meghatározására a magzat nemének jelentésével vagy a nélkül. Az SCA jelentése kikapcsolható. Ha az SCA jelentése ki van kapcsolva, a magzat neme sem jelenthető. A magzat nemének jelentésével kapcsolatos további információkért lásd a *VeriSeq NIPT Solution v2 szoftverútmutatóját (dokumentumszám: 1000000067940)*.

## Az eljárás működési elve

A VeriSeq NIPT Solution v2 automatizált NIPT vizsgálati megoldás, amely automatizált minta-előkészítésből és a szekvenálási adatok elemzéséből áll. A VeriSeq NIPT Sample Prep Kit készletek speciális egyszer használatos reagensek, amelyek a VeriSeq NIPT Microlab STAR készülékkel együtt használatosak 24, 48 vagy 96 mintát tartalmazó, új generációs szekvenálásra szolgáló sarzok létrehozására. A VeriSeq NIPT Assay Software v2 speciális szoftverrel történik a teljes genomra kiterjedő, páros végű szekvenálási adatok elemzése és a kvalitatív eredményeket tartalmazó jelentés elkészítése.

A munkafolyamat a következő eljárásokból áll: mintagyűjtés, a plazma elválasztása, a cfDNS kivonása, a könyvtárak előkészítése, a könyvtárak mennyiségi értékelése, a könyvtárak összekeverése, szekvenálás és elemzés. Ezek részletesebb ismertetése található alább.

- **Mintagyűjtés** – 7–10 ml anyai perifériás vér vétele történik Streck Cell-Free DNA Blood Collection Tube (BCT) csőbe, amely megakadályozza a sejtek lízisét és a genom szennyeződését, és stabilizálja a teljes vért.
- **A plazma elválasztása** – A vérvétel után 5 napon belül történik a plazma elválasztása az anyai perifériás teljes vérből szokásos centrifugálási módszerrel. A VeriSeq NIPT Microlab STAR felszívja a plazmát és 96 üregű mély üregű lemezbe adagolja a későbbi feldolgozás céljára. Arra az esetre, ha ismételt vizsgálat válik szükségessé, a feldolgozott minták újra lezárhatók kupakkal, és 4 °C-on tárolhatók további 5 napig (a vérvétel után legfeljebb 10 napig).

**FIGYELEM!**

A fenti tárolási időtartamok túllépése hátrányosan befolyásolhatja a minta vizsgálata sikertelenségének arányát.

- **A cfDNS kivonása** – A plazmából származó cfDNS tisztítása történik egy kötőlemezhez való adszorpcióval, a szennyező anyagok eltávolítása céljából a lemez mosásával, majd a minta feloldásával.
- **Könyvtárak előkészítése** – A tisztított cfDNS-fragmentumok 5' és a 3' végein túllógó részek tompa véggé alakítása történik a végjavítási eljárással. Ezután a 3' végekhez egy dezoxiadenozin-nukleotid hozzáadása történik, egy bázisnyi túllógó részt eredményezve. Ezután a cfDNS-fragmentumokhoz a 3' végen egy bázisnyi túllógó dezoxitimidint tartalmazó indexelt adapter ligálása történik. A ligált DNS tisztítása történik szilárd fázisú immobilizációs gyöngyök segítségével. A 24, 48 vagy 96 mintából álló készlet minden tagja egyedileg indexelt adaptert kap. Az adapterek 2 célt szolgálnak:

**FIGYELEM!**

Fokozottan figyeljen arra, hogy elkerülje az indexek keresztszennyeződését, amely hibás eredményekhez vezethet.

- Az indexek teszik lehetővé a minta azonosítását a későbbi szekvenálás során.
- Az indexadapterek olyan szekvenciákat tartalmaznak, amelyek lehetővé teszik a könyvtár befogását a szekvenáló áramlási cella szilárd felszínén klaszterlétrehozás és szekvenálás céljából.
- **Mennyiségi értékelés** – A létrehozott könyvtár mennyiségének meghatározása történik fluoreszcens festékekkel, egy normál görbével való összehasonlítással.
- **A könyvtárak összekeverése és szekvenálása** – A mintakönyvtárak összekeverésre kerülnek 24 vagy 48 mintát tartalmazó keverékekbe, olyan korrigált mennyiségekben, hogy minimálisra csökkenjen az előfordulások közötti különbség. Ezután mindegyik keverék szekvenálásra kerül új generációs szekvenáló rendszerrel.
- A VeriSeq NIPT Solution v2 nem tartalmaz szekvenálási felszerelést vagy fogyóeszközöket.
- **Elemzés** – Minden minta esetén az elemzés a következőket foglalja magában:
  - A könyvtárfragmentumok azonosítása az indexszekvencia alapján és a páros végű beolvasások rendezése egy humán referenciagenom alapján
  - A könyvtár magzati frakciójának becslése a könyvtárfragmentumok hosszúságának és genomikai koordinátáinak eloszlásából származó adatok alapján
  - Az ismert torzító tényezők szerinti korrekció után egy statisztikai modell kimutatja a genom azon területeit, amelyek a becsült magzati frakcióban található rendellenességnek megfelelő mértékben alul vagy túl vannak reprezentálva a könyvtárban.
  - Az NIPT jelentése összefoglaló eredményt ad a kiválasztott vizsgálat menüjében; megjelenik az ANOMALY DETECTED (Rendellenesség detektálva) vagy a NO ANOMALY DETECTED (Nincs rendellenesség detektálva) eredmény, valamint a minőség-ellenőrzésen megfelelt minták alapján becsült magzati frakció.

- A kiegészítő jelentés mennyiségi mérőszámokat tartalmaz minden kimutatott rendellenességről.

## Az eljárás korlátai

### A vizsgálat korlátozásai

- A vizsgálat szenzitivitását és specificitását alátámasztó bizonyítékok egyes és ikerterhességekre terjednek ki. Ezekben az utasításokban nem szerepelnek szenzitivitási és specificitási adatok hármass vagy többes terhességre vonatkozóan.
- A VeriSeq NIPT Solution v2 nem szolgál poliploiditás, például triploiditás kimutatására.
- A VeriSeq NIPT Solution v2 nem szolgál kiegyensúlyozott kromoszóma-átrendeződések kimutatására.
- A vizsgálathoz anyai perifériás teljes vér minta szükséges, és legkorábban a 10. gesztációs héten végezhető.
- Az alapszintű szűrések esetén a VeriSeq NIPT Solution v2 vizsgálat bizonyos kromoszóma-rendellenességeket keres. A NO ANOMALY DETECTED (Rendellenesség nem található) eredmény nem zárja ki a vizsgált kromoszómák rendellenességeit. A negatív eredmény nem zárja ki a terhesség egyéb kromoszómális rendellenességeit, a genetikai betegségeket vagy a születési rendellenességeket (például a velőcsőzáródási zavart).
- A teljes genomra kiterjedő szűrés esetén a nagy méretű, a kromoszóma kevesebb mint 75%-át érintő deléciók és duplikációk a teljes kromoszóma aneuploiditását jelezhetik.
- A teljes genomra kiterjedő szűrés esetén bizonyos területek ki vannak zárva az elemzésből. Az ilyen kizárt területek felsorolása megtalálható az Illumina támogatási honlapján. A genetikai rendellenességek felismerése csak a nem kizárt területeken történik.
- A magzat nemének jelentése nem minden helyen elérhető a nem jelentésével kapcsolatos helyi előírások miatt.
- A szakirodalmi bizonyítékok alapján a sejtmentes DNS alapú szűrés eredményeit bizonyos anyai és magzati tényezők megzavarhatják. Ezek közül néhányat az alábbiakban felsorolunk, de a felsorolás nem kizárólagos:
  - Az anya által a közelmúltban kapott transzfúzió
  - Az anyán végzett korábbi szervátültetés / őssejt-transzplantáció
  - Az anya autoimmun betegsége
  - Az anya daganatos betegsége (jóindulatú vagy rosszindulatú)
  - Az anya mozaicizmusa
  - Az anyát érintő példányszámváltozás
  - Fetoplacentáris mozaicizmus / korlátozott placentáris mozaicizmus
  - Magzati elhalás / iker eltűnése

## VeriSeq NIPT Solution v2 – jelentéskészítés

- A VeriSeq NIPT Solution v2 egy szűrővizsgálat, amelynek az eredménye nem értékelhető önmagában, klinikai adatok és más vizsgálati eredmények nélkül. A magzat állapotára vonatkozó következtetések és a terhességgel kapcsolatos döntések nem hozhatók meg kizárólag az NIPT szűrés eredményei alapján.<sup>7</sup>
- A VeriSeq NIPT Solution v2 eredménye a következőket tartalmazza:
  - Az alapszintű szűrés a 13-as, 18-as és 21-es kromoszóma túlreprezentációját mutatja ki.
  - A teljes genomra kiterjedő szűrés mindegyik autoszóma alul- és túlreprezentációját vizsgálja, beleértve a legalább 7 megabázis hosszúságú részleges deléciókat és duplikációkat is.
  - Egyes terhesség esetén, ha a nemikromoszóma-jelentési opció Yes (Igen) vagy SCA, a nemi kromoszómák következő rendellenességei: XO, XXX, XXY és XYY.
  - Egyes terhesség esetén, ha a nemikromoszóma-jelentési opció Yes (Igen), a vizsgálat jelenti a magzat nemét.
  - Az Y-kromoszóma jelenléte ikerterhesség esetén.

## A termék összetevői

A VeriSeq NIPT Solution v2 a következő minta-előkészítési készleteket tartalmazza:

- VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (24 minta) (cikkszám: 20025895)
- VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (48 minta) (cikkszám: 15066801)
- VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (96 minta) (cikkszám: 15066802)

A VeriSeq NIPT Solution v2 a következő szoftverösszetevőket tartalmazza:

- VeriSeq Onsite Server v2 rendszer telepített VeriSeq NIPT Assay Software v2 szoftverrel (cikkszám: 20047024).
  - VeriSeq Onsite Server v2 (cikkszám: 20028403, 20047000, 20101927) vagy v2 verzióra frissített VeriSeq Onsite Server (cikkszám: 15076164 vagy 20016240).
- VeriSeq NIPT Microlab STAR készülék telepített VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 szoftverrel (cikkszám: 20044988).
  - VeriSeq NIPT Microlab STAR (cikkszámok: Hamilton Company Reno: 95475-01 (115 V), &95475-02 (230 V), Hamilton Company Bonaduz: 806288)
- Local Run Manager VeriSeq NIPT modul (cikkszám: 20044989)

# Reagensek

## Szállított reagensek

Az Illumina a következő reagenseket szállítja: VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (24 minta) (cikkszám: 20025895), VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (48 minta) (cikkszám: 15066801) és VeriSeq NIPT Sample Prep Kit (96 minta) (cikkszám: 15066802). A VeriSeq NIPT Sample Prep Kit készletek a Hamilton Company által gyártott VeriSeq NIPT Microlab STAR (ML STAR) készülékkel (cikkszám: 95475-01, 95475-02 vagy 806288) való használatra készültek.

### VeriSeq NIPT Sample Prep Kit, kivonási eszközöket tartalmazó doboz

1. táblázat VeriSeq NIPT Extraction Box (24) és (48), cikkszám: 20025869 és 15066803

Reagens neve a címkén	Tárolók száma egy készletben	Hatóanyagok	Tárolás
Lizálópuffer	1	Guanidin-hidroklorid pufferelt vizes oldatban	15 °C és 30 °C között
I. mosópuffer	1	Guanidin-hidroklorid és 2-propanol pufferelt vizes oldatban	15 °C és 30 °C között
II. mosópuffer	1	Sókat tartalmazó pufferelt vizes oldat	15 °C és 30 °C között
Tisztítópuffer	1	Pufferelt vizes oldat	15 °C és 30 °C között
Proteinázpuffer	1	Glicerín pufferelt vizes oldatban	15 °C és 30 °C között
Proteináz K	3	Liofilizált proteináz K	15 °C és 30 °C között

2. táblázat VeriSeq NIPT Extraction Box (96), cikkszám: 15066807

Reagens neve a címkén	Tárolók száma egy készletben	Hatóanyagok	Tárolás
Lizálópuffer	1	Guanidin-hidroklorid pufferelt vizes oldatban	15 °C és 30 °C között
I. mosópuffer	1	Guanidin-hidroklorid és 2-propanol pufferelt vizes oldatban	15 °C és 30 °C között
II. mosópuffer	2	Sókat tartalmazó pufferelt vizes oldat	15 °C és 30 °C között
Tisztítópuffer	1	Pufferelt vizes oldat	15 °C és 30 °C között
Proteinázpuffer	1	Glicerín pufferelt vizes oldatban	15 °C és 30 °C között
Proteináz K	4	Liofilizált proteináz K	15 °C és 30 °C között

### VeriSeq NIPT Sample Prep Kit, könyvtár-előkészítési doboz

3. táblázat VeriSeq NIPT Library Prep Box (24) és (48), cikkszám: 20026030 és 15066809

Reagens neve a címkén	Tárolók száma egy készletben	Hatóanyagok	Tárolás
Végjavító keverék	1	DNS-polimeráz és dNTP-k pufferelt vizes oldatban	-25 °C és -15 °C között
A-farok-létrehozási keverék	1	DNS-polimeráz és dATP pufferelt vizes oldatban	-25 °C és -15 °C között
Ligáló keverék	1	DNS-ligáz pufferelt vizes oldatban	-25 °C és -15 °C között
Hibridizációs puffer	1	Pufferelt vizes oldat	-25 °C és -15 °C között
NIPT DNS-adapterlemez	1	Oligonukleotidok pufferelt vizes oldatban	-25 °C és -15 °C között

4. táblázat VeriSeq NIPT Library Prep Box (96), cikkszám: 15066810

Reagens neve a címkén	Tárolók száma egy készletben	Hatóanyagok	Tárolás
Végjavító keverék	1	DNS-polimeráz és dNTP-k pufferelt vizes oldatban	-25 °C és -15 °C között
A-farok-létrehozási keverék	2	DNS-polimeráz és dATP pufferelt vizes oldatban	-25 °C és -15 °C között
Ligáló keverék	2	DNS-ligáz pufferelt vizes oldatban	-25 °C és -15 °C között
Hibridizációs puffer	1	Pufferelt vizes oldat	-25 °C és -15 °C között
NIPT DNS-adapterlemez	1	Oligonukleotidok pufferelt vizes oldatban	-25 °C és -15 °C között

### VeriSeq NIPT Sample Prep Kit, Accessory Box (tartozékok doboza)

5. táblázat VeriSeq NIPT Accessory Box, cikkszám: 15066811

Reagens neve a címkén	Tárolók száma egy készletben	Hatóanyagok	Tárolás
DNS-kötési lemez	1	Propilénből készült mikrolemez módosított szilikonmembránnal	2 °C és 8 °C között
Reszuszpenziós puffer	1	Pufferelt vizes oldat	2 °C és 8 °C között
Mintatisztító gyöngyök	1	Szilárd fázisú paramágneses gyöngyök pufferelt vizes oldatban	2 °C és 8 °C között
DNS mennyiségi értékelési reagens	1	Interkalációs DNS-festék DMSO-ban	2 °C és 8 °C között
DNS mennyiségi értékelési standard	1	dsDNS standard, nem specifikus DNS és nátrium-azid pufferelt vizes oldatban	2 °C és 8 °C között

### VeriSeq NIPT Sample Prep Kit, munkafolyamathoz szükséges kémcsövek és címkék

6. táblázat Workflow Tubes and Labels, cikkszám: 15071543

Termék neve a címkén	Termékek száma egy készletben	Tárolás
Label (LBL)–lemez vonalkódja	9	15 °C és 30 °C között
Label (LBL)–mély üregű lemez vonalkódja	12	15 °C és 30 °C között
Tube (TB)–üres gyűjtőcső	5	15 °C és 30 °C között



# Nem szállított reagensek

## Szükséges, de nem szállított reagensek

- Az új generációs szekvenálási rendszerhez szükséges szekvenálási reagensek és fogyóeszközök
- Hitelesített molekuláris biológiai minőségű DNáz-/RNáz-mentes víz
- Etanol, 100% (200 proof), molekuláris biológiai minőségű

**MEGJEGYZÉS** A nem molekuláris biológiai minőségű etanol használata ronthatja a vizsgálat teljesítményét.

## Opcionális, nem szállított reagensek

- Dulbecco foszfátpufferelt sóoldat (DPBS) sablon nélküli kontrollokhoz (NTC)

# Tárolás és kezelés

1. A szobahőmérséklet a 15 °C és 30 °C közötti hőmérsékletet jelenti.
2. Minden reagens csak egyszeri használatra szolgál. A reagens használatra való előkészítése után azokat azonnal fel kell használni.
3. Ha a VeriSeq NIPT Solution valamelyik összetevőjének csomagolása vagy tartalma megsérült vagy más módon károsodott, forduljon az Illumina ügyfélszolgálatához.
4. A reagens a megadott módon történő tárolás esetén a készlet címkéjén feltüntetett lejárat dátumig stabilak. A tárolási feltételeket lásd a [Reagensek](#) szakaszban található táblázatok Tárolás oszlopában. Ne használjon lejárt szavatosságú reagenset.
5. A szállított reagens fizikai jellemzőinek a megváltozása az anyagok romlását jelezheti. Ne használjon olyan reagenst, amelynek a fizikai jellemzői megváltoznak (például a színe jól látható módon megváltozik, vagy mikrobiológiai szennyeződésre utaló zavarosság látható).
6. A mintatisztító gyöngyök kezelésekor kövesse az alábbi helyes gyakorlatot:
  - Soha ne fagyassza meg a gyöngyöket.
  - Használat előtt várja meg, hogy a gyöngyök szobahőmérsékletre melegedjenek.
  - Közvetlenül a használat előtt vortexelje a gyöngyöket, amíg nem szuszpendálódnak, és a színük homogén nem lesz.
7. A lizálópuffer, az I. mosópuffer, a II. mosópuffer, a tisztítópuffer és a proteinázpuffer tartalmazhat látható csapadékot vagy kristályokat. Használat előtt a reagenst alaposan vortexelje, majd szemrevételezéssel ellenőrizze, hogy nincs csapadék.
8. A levett teljes vért soha ne fagyassza.

9. A könyvtárakat az összekeverés után a lehető leghamarabb szekvenálja. Az összekevert könyvtárak 7 napig stabilak -25 °C és -15 °C között tárolva. Ilyen körülmények között, ennyi ideig tárolva nem szükséges további denaturálást végezni.

## Eszközök és anyagok

### Szükséges, de nem szállított eszközök és anyagok

#### Szükséges, de nem szállított berendezések

Berendezés	Beszállító
Új generációs szekvenálási (NGS) rendszer a következő jellemzőkkel: <ul style="list-style-type: none"> <li>• 2 x 36 bázispáros páros-végű szekvenálás</li> <li>• Kompatibilis a VeriSeq NIPT Prep Kit minta-előkészítési készletben lévő kettős indexadapterekkel</li> <li>• BCL-fájlok automatikus létrehozása</li> <li>• Kétcsatornás kémiai módszer</li> <li>• 400 millió páros-végű kiolvasás futtatásonként</li> <li>• Kompatibilis a VeriSeq NIPT Assay Software v2 szoftverrel vagy a NextSeq 550Dx szekvenáló rendszerrel.</li> </ul>	Műszer szállítója vagy Illumina, cikkszám: 20005715
Fagyasztó, -25 °C és -15 °C között	Általános laboratóriumi beszállító
Mikrocentrifuga	Általános laboratóriumi beszállító
Pipettázó eszköz	Általános laboratóriumi beszállító
Hűtőszekrény, 2 °C és 8 °C között	Általános laboratóriumi beszállító
20 µl-es egycsatornás-pipetták	Általános laboratóriumi beszállító
200 µl-es egycsatornás-pipetták	Általános laboratóriumi beszállító
1000 µl-es egycsatornás-pipetták	Általános laboratóriumi beszállító
Vortexelő	Általános laboratóriumi beszállító
Centrifuga és rotor vérvételi csövek centrifugálására	

Berendezés	Beszállító
<p>Egyenértékű:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Hűtött centrifuga 1600 × g gyorsulással, fékezés nélküli működésmóddal</li> <li>Lengő rotor lapátokkal</li> <li>Legalább 76 mm mélységű csőtartóbetétek</li> <li>Betétadapterek 16 mm x 100 mm méretű vérvételi csövekhez</li> </ul>	Általános laboratóriumi beszállító
<p>Ajánlott:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Allegra X12R sorozatú centrifuga, 1600 g</li> <li>Allegra centrifugához való GH-3.8 rotor lapátokkal</li> <li>Allegra centrifugához való lapátfedelek, 2 db-os készlet</li> <li>Allegra centrifugához való adapterszerelvény, 16 mm, 4 db-os készlet</li> </ul>	<p>Beckman Coulter, cikkszám: 392304 (120 V vagy 230 V)</p> <p>Beckman Coulter, cikkszám: 369704</p> <p>Beckman Coulter, cikkszám: 392805</p> <p>Beckman Coulter, cikkszám: 359150</p>
<b>Centrifuga és rotor mikrolemezek centrifugálására</b>	
<p>Egyenértékű:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Centrifuga 5600 × g gyorsulással</li> <li>Lengő lemezrotor 96 üregű lemezhez való tartóval, mélység legalább 76,5 mm</li> <li>Multifuge X4 Pro-MD 120 V TX-1000BT</li> <li>Sorvall Legend XTR centrifuga</li> </ul>	<p>Általános laboratóriumi beszállító</p> <p>Thermo Fisher Scientific, cikkszám: 75016034</p> <p>Thermo Fisher Scientific, cikkszám: 75004521 (120 V) vagy cikkszám: 75004520 (230 V)</p>
<ul style="list-style-type: none"> <li>HIGHPlate 6000 mikrolemez rotor</li> <li>HIGHPlate 6000 rotor</li> </ul> <p>Mikrolemeztartó</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Ajánlott: <ul style="list-style-type: none"> <li>MicroAmp 96-üregű lemez tartója</li> <li>96 üregű-PCR-lemez tartója</li> </ul> </li> </ul>	<p>Thermo Fisher Scientific, cikkszám: 75003606</p> <p>Thermo Scientific VWR, katalógusszám: 97040-244</p> <p>Thermo Fisher Scientific, cikkszám: 4379590</p> <p>Thermo Fisher Scientific, cikkszám: AB-0563/1000</p>

Berendezés	Beszállító
<p>Az alábbi vagy azokkal egyenértékű mikrolemez-olvasók (fluorométerek) egyike SoftMax Pro v6.2.2–7.1.2 szoftverrel:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Gemini XPS</li> <li>SpectraMax M2, M3, M4 és M5. <ul style="list-style-type: none"> <li>A mikrolemezolvasó lila betétet tartalmaz a munkafolyamatban való használathoz.</li> </ul> </li> </ul>	<p>Molecular Devices, cikkszám: XPS Molecular Devices, cikkszám: M2, M3, M4 és M5</p>
SpectraMax nagy sebességű USB soros adapter	Molecular Devices, cikkszám: 9000-0938
<p>Hőváltóztató inkubátor a következő jellemzőkkel:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Fűtött fedél</li> <li>4–98 °C hőmérséklet-tartomány</li> <li>±2 °C hőmérséklet-mérési pontosság</li> <li>legalább másodpercenként 2 °C hőmérséklet-változtatási sebesség</li> <li>Kompatibilis a Twin.tec 96-üregű, teljes peremmel ellátott PCR-lemezzel</li> </ul>	Általános laboratóriumi beszállító
VeriSeq NIPT Microlab STAR	Hamilton, cikkszám: 95475-01 (115 V), cikkszám: 95475-02 (230 V) vagy cikkszám: 806288 (Hamilton Company Bonaduz esetén)
VeriSeq Onsite Server v2 vagy frissített VeriSeq Onsite Server	illumina, cikkszám: 20028403 vagy 20047000 (v2) vagy 20101927 vagy cikkszám:15076164 vagy cikkszám: 20016240 (frissített)
<p>NextSeq 550Dx szekvenálórendszer használata esetén:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>NextSeq 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 ciklus)</li> </ul>	illumina, cikkszám: 20028870

## Opcionális, nem szállított berendezések

Berendezés	Beszállító
Pluggo kupakeltávolító rendszer	LGP Consulting, cikkszám: 4600 4450
SpectraMax SpectraTest FL1 fluoreszcenciás ellenőrző lemez	Molecular Devices, cikkszám: 0200-5060
Kémcsőfordító/-forgató készülék, 15 ml-es csövekhez, 40 fordulat/perc, 100–240 V	Thermo Scientific, cikkszám: 88881001 (USA) vagy cikkszám: 88881002 (EU)

## Szükséges, de nem szállított anyagok

Fogyóeszköz	Beszállító
1000 µl-es nem steril hővezető szűrőhegy	Hamilton, cikkszám: 235905
300 µl-es nem steril hővezető szűrőhegy	Hamilton, cikkszám: 235903
50 µl-es nem steril hővezető szűrőhegy	Hamilton, cikkszám: 235948
<p>Mély üregű tároló a következő jellemzőkkel:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• SLAS 1-2004 mikrolemez 96 piramis vagy kúpos aljú üreggel és legalább 240 ml kapacitással.</li> <li>• Polipropilén; lehetőleg a mintával érintkező összes felület kis mértékben kösse a DNS-t.</li> <li>• A belső méretek (folyadékszint) kompatibilisek a VeriSeq NIPT Microlab STAR automatikus felszívási és adagolási lépéseivel.</li> <li>• A magasságok kompatibilisek a VeriSeq NIPT Microlab STAR automatikus mozgásaival.</li> </ul>	<p>Általános laboratóriumi beszállító</p> <p>Kompatibilis tárolóedények:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Corning Axygen, cikkszám: RES-SW96-HP-SI</li> <li>• Agilent, cikkszám: 201246-100</li> </ul>
<p>Reagensedény a következő jellemzőkkel:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Kúpos aljú és legalább 20 ml térfogatú edény, amely stabilan, de erőltetés nélkül eltávolítható módon illeszkedik a VeriSeq NIPT Microlab STAR készülék szállítóeszközébe.</li> <li>• RNáz-/DNáz-mentes polipropilén.</li> <li>• Az edény belső méretei olyanok, hogy a vizsgálati reagens térfogatának alkalmazásakor a folyadékszintek kompatibilisek a VeriSeq NIPT Microlab STAR automatikus felszívási és adagolási lépéseivel.</li> <li>• A magasságok kompatibilisek a VeriSeq NIPT Microlab STAR automatikus mozgásaival.</li> </ul>	<p>Kompatibilis edények:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Illumina reagensedény, cikkszám: 20095418</li> </ul>

Fogyóeszköz	Beszállító
<p>Mély üregű lemezek a következő jellemzőkkel:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• SLAS 1-2004, 3-2004 és 4-2004 mikrolemez 96 piramis vagy kúpos aljú, legalább 2 ml kapacitású üregekkel.</li> <li>• Átlátszó polipropilén; lehetőleg a mintával érintkező összes felület anyaga kis mértékben kösse a DNS-t.</li> <li>• A belső méretek olyan folyadékszintet eredményeznek, amely kompatibilis a VeriSeq NIPT Microlab STAR automatikus felszívási és adagolási lépéseivel.</li> <li>• A lemez pereme lehetővé teszi a vonalkódok elhelyezését a megfelelő helyre, biztonságos, lapos felületű tapadással.</li> <li>• Csavarodással szemben ellenálló keret, amely megtartja az alakját legalább 5600 g sebességig.</li> <li>• A lemez magassága kompatibilis a VeriSeq NIPT Microlab STAR automatikus mozgásaival.</li> </ul>	<p>Általános laboratóriumi beszállító</p> <p>Kompatibilis lemezek:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Eppendorf, cikkszám: 0030505301</li> <li>• Eppendorf, cikkszám: 30502302</li> <li>• USA Scientific, cikkszám: 1896-2000</li> </ul>
<p>384 üregű lemez a következő jellemzőkkel:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Kis térfogatokra optimalizált 384 üregű mikrolemez, üregenként legalább 50 µl kapacitással.</li> <li>• Fekete, fényt át nem eresztő polisztirol, a mintával érintkező összes felület kis mértékben köti a DNS-t.</li> <li>• A belső méretek olyan folyadékszintet eredményeznek, amely kompatibilis a VeriSeq NIPT Microlab STAR automatikus felszívási és adagolási lépéseivel.</li> <li>• A lemez magassága kompatibilis a VeriSeq NIPT Microlab STAR automatikus mozgásaival.</li> <li>• A lemez pereme lehetővé teszi a vonalkódok elhelyezését a megfelelő helyre, biztonságos, lapos felületű tapadással.</li> </ul>	<p>Általános laboratóriumi beszállító</p> <p>Kompatibilis lemezek:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Corning, cikkszám: 3820</li> </ul>

Fogyóeszköz	Beszállító
<p>96 üregű lemez a következő jellemzőkkel:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Csavarodással szemben ellenálló keret, amely megtartja az alakját legalább 5600 g sebességig, 96 átlátszó üregű, kúpos aljú, kiemelkedő peremű, legalább 150 µl kapacitású üregekkel.</li> <li>• RNáz-/DNáz-mentes polipropilén, a mintával érintkező összes felület kis mértékben köti a DNS-t.</li> <li>• A belső méretek olyan folyadékszintet eredményeznek, amely kompatibilis a VeriSeq NIPT Microlab STAR automatikus felszívási és adagolási lépéseivel.</li> <li>• A lemez magassága kompatibilis a VeriSeq NIPT Microlab STAR automatikus mozgásaival.</li> </ul> <p><b>MEGJEGYZÉS:</b> A különböző cikkszámú kompatibilis műanyag fogyóeszközöknek, például a különböző gyártók kompatibilis 96 lyukú lemezeinek az egymással való közvetlen felcseréléséhez szükség lehet a VeriSeq NIPT Microlab STAR rendszer Illumina szerviz- és támogató személyzete általi, új alkatrész behelyezése után történő kalibrálására. Ha másféle műanyag fogyóeszközöket kíván használni, forduljon az Illumina ügyfélszolgálatához.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• A lemez pereme lehetővé teszi a vonalkódok elhelyezését a megfelelő helyre, biztonságos, lapos felületű tapadással.</li> <li>• Kompatibilis a denaturáláshoz használatos inkubátorokkal.</li> </ul>	<p>Általános laboratóriumi beszállító</p> <p>Kompatibilis lemezek:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Eppendorf, cikkszám: 0030129512</li> <li>• Eppendorf, cikkszám: 30129580</li> <li>• Eppendorf, cikkszám: 30129598</li> <li>• Eppendorf, cikkszám: 30129660</li> <li>• Eppendorf, cikkszám: 30129679</li> <li>• Bio-Rad, cikkszám: HSP9601</li> </ul>
<p>Az alábbi fedőfóliák egyike:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Microseal „F” fólia</li> <li>• Fedőfóliák</li> </ul>	<p>Bio-Rad, cikkszám: MSF1001 Beckman Coulter, cikkszám: 538619</p>
Cell-Free DNA BCT CE	Streck, cikkszám: 218997
Rápattintható kupakok	Sarstedt, rendelési szám: 65.802
2 ml-es csavaros fedelű kémcsövek	Általános laboratóriumi beszállító
20 µl-es szűrőhegyek 20 µl-es pipettázóhoz	Általános laboratóriumi beszállító
200 µl-es szűrőhegyek 200 µl-es pipettázóhoz	Általános laboratóriumi beszállító
1000 µl-es szűrőhegyek 1000 µl-es pipettázóhoz	Általános laboratóriumi beszállító

Fogyóeszköz	Beszállító
Egyenértékű: <ul style="list-style-type: none"> <li>Alkoholalapú gyors fertőtlenítő spray</li> <li>Fertőtlenítő tisztítószer oldat</li> </ul> Ajánlott: <ul style="list-style-type: none"> <li>Ionmentes víz és 70%-os etanol</li> </ul>	Általános laboratóriumi beszállító

## Opcionális, nem szállított anyagok

Fogyóeszköz	Beszállító
Dulbecco foszfátpufferelt sóoldat (DPBS) sablon nélküli kontrollokhoz (NTC)	Általános laboratóriumi beszállító
10 ml-es csavaros fedelű kémcső (csak kontrollmintákhoz)	Sarstedt, rendelési szám: 60.551
50 ml-es csavaros fedelű kémcső	Általános laboratóriumi beszállító
25 ml-es szerológiai pipetták	Általános laboratóriumi beszállító
10 ml-es szerológiai pipetták	Általános laboratóriumi beszállító

## Mintavétel, -szállítás és -tárolás



### FIGYELEM!

Minden mintát potenciálisan fertőző anyagként kell kezelni.

- 7–10 ml vért kell venni Streck Cell-Free DNA BCT csőbe. Tilos fagyasztani.
- A teljes vér szállítását a kórokozók szállítását szabályozó összes előírásnak megfelelően kell végezni. Ajánlott gyorsított szállítási módszert igénybe venni.
- A szállítás 4–30 °C közötti hőmérsékleten történjen. A mintákat az átvétel után tárolja 2–8 °C hőmérsékleten, amíg készen nem áll a folytatásra. A vérvétel és a kezdeti plazmaelválasztás között ne teljen el több mint 5 nap.
- Arra az esetre, ha ismételt vizsgálat válik szükségessé, a feldolgozott minták újra lezárhatók kupakkal, és 4 °C-on tárolhatók további 5 napig (a vérvétel után legfeljebb 10 napig).



### FIGYELEM!

A fent említett tartományokat meghaladó magas hőmérsékletnek való kitettség negatívan befolyásolhatja az egyes minták vizsgálata sikertelenségének arányát és/vagy a minták teljesítményét.



## Figyelmeztetések és óvintézkedések

- Ez a vizsgálat proteináz K-t tartalmaz. Ennek belélegzése, lenyelése, bőrrel érintkezése és szembe kerülése személyi sérülést okozhat. Használja jól szellőző helyiségben, viseljen védőruházatot, kerülje el a porok belélegzését, és az edényeket, illetve a nem használt összetevőket a hatályos országos előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa.
- Ez a vizsgálat guanidin-kloridot tartalmaz. Belélegzése, lenyelése, bőrrel érintkezése és szembe kerülése esetén személyi sérülést okozhat. Használja jól szellőző helyiségben, viseljen védőruházatot, és az edényeket és a nem használt összetevőket a hatályos országos előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa.
- Ez a vizsgálat 2-propanolt tartalmaz, amely gyúlékony vegyszer. Hőforrástól és nyílt lángtól távol tartandó. Belélegzése, lenyelése, bőrrel érintkezése és szembe kerülése esetén személyi sérülést okozhat. Használja jól szellőző helyiségben, viseljen védőruházatot, és az edényeket és a nem használt összetevőket a hatályos országos előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa.
- Ez a vizsgálat dimetil-szulfoxidot tartalmaz, amely maró hatású és gyúlékony folyadék. Belélegzése, lenyelése, bőrrel érintkezése és szembe kerülése esetén személyi sérülést okozhat. Használja jól szellőző helyiségben, viseljen védőruházatot, és az edényeket és a nem használt összetevőket a hatályos országos előírásoknak megfelelően ártalmatlanítsa.
- Az ártalmas gázok keletkezésének elkerüléséhez ne végezze a cfDNS-kivonási hulladékanyag (guanidin-hidrokloridot tartalmaz) ártalmatlanítását hipót (nátrium-hipokloritot) tartalmazó anyagokkal együtt.
- Minden mintát potenciálisan fertőző anyagként kell kezelni.
- Használja a rutinszerű laboratóriumi óvintézkedéseket. Ne pipetázzon szájjal. Ne étkezzon, igyon vagy dohányozzon a munkaterületként megjelölt területeken. A minták és a vizsgálati reagensek kezelésekor viseljen eldobható kesztyűt és laborköpenyt. A minták és a vizsgálati reagensek kezelését követően alaposan mosson kezet.
- Ne használja a vizsgálat összetevőit a doboz címkéjén feltüntetett lejárat dátum után. Ne használjon különböző tételbe tartozó vizsgálati komponenseket. A tétel a vizsgálat dobozának címkéjén van feltüntetve. A vizsgálat összetevőit tárolja a megadott hőmérsékleten.
- A minta és a reagensek romlásának elkerülése érdekében győződjön meg arról, hogy a nátrium-hipoklorit gőzei teljes mértékben eltávoztak, mielőtt elkezdi a protokollt.
- Az eljárások leírtaktól eltérő módon történő végrehajtása hibás eredményeket eredményezhet, vagy jelentősen csökkentheti a minta minőségét.
- A termékkel kapcsolatos súlyos eseményeket haladéktalanul jelentse az Illumina vállalatnak és a felhasználó és a páciens lakhelye szerinti tagállamok illetékes hatóságainak.
- A környezetvédelmi és munkavédelmi információkért tekintse meg a biztonsági adatlapokat (SDS) a [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html) weboldalon.

# Az eljárással kapcsolatos megjegyzések

## A szennyeződés elkerülése

- Használjon új pipettahegyeket és laboratóriumi fogyóeszközöket.
- Használjon aeroszol-rezisztens pipettahegyeket a mintaátvitel és a minták keresztszennyeződésének megakadályozására.
- A szennyeződés lehetősége miatt különösen ügyeljen arra, hogy az üregek tartalma teljes egészében az üregben maradjon. Ügyeljen, hogy ne loccsanjanak ki a folyadékok. Minden vortexelési lépés után végezzen centrifugálást.
- A vér és a származékai kezelésekor kövesse a megfelelő laboratóriumi gyakorlatot és a higiéniai szabályokat.
- A könyvtárak előkészítése közben ne használjon aeroszolt képző, hipót tartalmazó sprayt. Már a nyomokban jelenlévő hipós szennyeződés is a vizsgálat sikertelenségét okozhatja.
- A lemez védőfóliájának eltávolítása során ügyeljen arra, hogy a lemezt szilárd, sík felületre helyezze, és erősen fogja meg. Lassan távolítsa el a védőfóliát, ügyelve arra, hogy a védőfólia ne érintkezzen a szabadon lévő üregekkel. Vigyázzon, hogy ne érintse meg a szabadon lévő üregeket, és ne zavarja fel azok tartalmát. Az üregek közötti keresztszennyeződés hibás eredményeket eredményezhet.

## A VeriSeq NIPT Microlab STAR fedélzetének tisztítása

- Használat előtt tekintse meg a fedélzetet, hogy tiszta-e. Legalább hetente egyszer végezze el a heti karbantartást, és kövesse ezeket a tisztítási utasításokat.
- Távolítsa el az összes eltávolítható szállítóeszközt, és tisztítsa meg őket alkoholalapú gyors fertőtlenítő spray-vel és ionmentes vízből és 70%-os etanolból álló keverékkel, majd hagyja megszáradni. Ha erősen szennyezettek, utána áztassa őket fertőtlenítő tisztítószeroldatban, öblítse le az alkoholalapú fertőtlenítőszerrel, majd hagyja megszáradni.
- Nyissa ki az elülső fedelet, és törölje át a fedélzetet ionmentes vízzel és 70%-os etanollal átitatott kendővel. Különösen az oldalsó blokkokat kell ellenőrizni tisztaság szempontjából.
- Távolítsa el a BVS (alap vákuumrendszer) csőcsatlakozóját, és tisztítsa meg a csatlakozót, a tömítőgyűrűt és a BVS belső részeit egy kendővel. A tömítőgyűrűt ne tisztítsa etanollal, mert ez törékennyé teszi az anyagát.
- Ürítse ki a CORE 96 fej és a független csatorna hegyeket tartalmazó hulladékgyűjtőjét.
- Távolítsa el a független csatorna hegykiadó lemezét, és tisztítsa meg: permetezzen közvetlenül a felületére ionmentes vízből és 70%-os etanolból álló keveréket, és törölje le. Húzzon a keretre egy új műanyagzsákot, és csatlakoztassa újra. Helyezze vissza a helyére a hegykiadó lemezt.

- Permetezzen ionmentes vízből és 70%-os etanolból álló keveréket közvetlenül a CORE 96 fej hulladékgyűjtő dobozára és csúszdájára, és törölje tisztára.
  - Ha nehéz eltávolítani a lerakódott szennyeződést a hegyek hulladéktárolójáról, törölgesse DNáz-/RNáz-mentes vízzel megnedvesített kendővel a lerakódás sikeres eltávolításáig. Megfelelően ártalmatlanítsa a kendőt. Folytassa az alkoholalapú fertőtlenítőszerrel végzett sterilizálással.
- Nedvesítsen be egy szálmentes kendőt vagy pamut tampont 70%-os etanollal. Törölje le a vonalkódolvasó lézérének ablakát. Ugyanazzal a tamponnal tisztítsa meg a CPAC lemezadapter mindegyik üregét. Ha kendőt használ, egy toll végével nyomja bele a kendőt az adapter mindegyik üregébe, hogy az üreg belsejét is megfelelően kitisztítsa.
- Tisztítsa meg a független csatornákat:
  - A független csatornákon tisztítsa meg a hegykiadó perselyt (a pipettázó csatornák külső részét) ionmentes vízből és 70%-os etanolból álló keverékbe áztatott szálmentes kendővel. (Lásd a *Hamilton Microlab STAR referencia-útmutatót, cikkszám: 15070074.*)
  - Tisztítsa meg a pipettázófej ütközőlemezt és tömítőgyűrűjét (a pipettázó csatornák külső részét) ionmentes vízből és 70%-os etanolból álló keverékbe áztatott szálmentes kendővel.
- Tisztítsa meg a CORE 96 fejet:
  - Ugyanazzal az ionmentes vízből és 70%-os etanolból álló keverékkel átitatott szálmentes ruhával tisztítsa meg a CORE 96 fej burkolatát és az ütközőlemezek alját.
  - Ugyanazt a kendőt, vagy a kendőből letépett, ionmentes vízből és 70%-os etanolból álló keverékbe áztatott csíkot vezesse a CORE 96 fej pipettázó csatornái köré, és a fogselyem használatához hasonlóan a két végét húzva tisztítsa meg a tömítőgyűrűket. Ezt végezze el a 96-os fej minden pipettázó csatornájánál.
- Permetezzen az elülső és az oldalsó fedélre ionmentes vízből és 70%-os etanolból álló keveréket, és törölje szárazra.
- Tisztítsa meg az automatikus betöltő védőszalagját ionmentes vízből és 70%-os etanolból álló keverékbe áztatott kendővel, majd törölje le az oldatot úgy, hogy ne nyomja rá erősen a szalagot.
- Ha a fedélzet és az összetevők teljesen megszáradtak, helyezze vissza a szállítóeszközöket.

**MEGJEGYZÉS** Az ML STAR készülék nem megfelelő tisztítása és karbantartása keresztszennyeződést és a vizsgálat teljesítményének romlását okozhatja.

## Minőség-ellenőrzés

Ismert teljesítményjellemzőkkel rendelkező kontrollanyag vizsgálatával kimutathatók a laboratóriumi feldolgozás és technikai eljárások eltérései.

A kontrollminta és a sablon nélküli kontroll (NTC) futtatása csökkenti az egy minta-előkészítési készlettel feldolgozható ismeretlen anyai minták számát.

Az NTC minták száma 24 vagy 48 mintás sarzsok esetén legfeljebb kettő, a 96 mintás sarzsok esetén pedig legfeljebb négy legyen.

# Használati útmutató

## Tippek és módszerek

A felsorolt műveleteket közvetlenül egymás után kell elvégezni; csak a protokollban megjelölt biztonságos megszakítási pontoknál lehet abbahagyni.

### Lemezek vonalkóddal ellátása

- A teljes peremmel ellátott lemezek vonalkódja a „PL” betűkkel kezdődik.
- A mély üregű lemezek vonalkódja a „DW” betűkkel kezdődik.
- A teljes peremmel ellátott lemezekre és a mély üregű lemezekre a 12. oszlop melletti oldalra ragassza a vonalkódot.
- Az automatikus leolvasáshoz a lemezek behelyezésekor a vonalkódnak a jobb oldalon kell lennie.

### A lemez zárófóliával ellátása és a zárófólia eltávolítása

- Fokozottan ügyeljen a keresztzennyeződés elkerülésére – a zárófólia alján nem lehet látható folyadék.
  - Ügyeljen arra, hogy a zárófólia hozzáférhető alsó felülete ne érintkezzen a hozzáférhető üregekkel.
  - Vigyázzon, hogy ne érintse meg a hozzáférhető üregeket.
- A 96 üregű lemezt mindig lássa el zárófóliával a protokoll alábbi típusú lépései előtt:
  - Centrifugálási lépések
  - Hőmérséklet-változtatási lépések
- A lemez lezárásához helyezze a zárófóliát a lemezre, és ragassza rá. Ügyeljen arra, hogy nyomást fejtessen ki a lemez mindegyik részére, és minden egyes üreg köré szorosan rögzüljön a zárófólia.
- A lemez zárófóliájának eltávolítása előtt végezze el a következőket:
  - Röviden, 20 másodpercig centrifugálja a 96 üregű lemezt 1000 g-vel.
  - Helyezze a lemezt vízszintes felületre, majd lassan húzza le a zárófóliát.

### VeriSeq NIPT Microlab STAR

- Használat előtt végezze el és dokumentálja a szükséges karbantartást a gyártó utasításainak megfelelően.
- Figyelje az ML STAR készülék működését az automatikus lépések közben. Figyelje a VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 szoftver felhasználói felületén a felhasználónak szóló üzeneteket és utasításokat.
- A készülék működtetése közben hagyja az elülső fedőlemezt a helyén.
- A készülék működtetése közben ne helyezzen semmit a fedélzetre.

- Ha egy hibakezelési esemény során a rendszer megjeleníti az **Exclude** (Kizárás) lehetőséget, semmiképpen ne válassza ki. Ha a folyamat nem tud továbbhaladni a hibakezelési eseményen, vagy korlátozottak a hibakezelési lehetőségek, szakítsa meg a futtatást.
- A lemezen vákuummal végzett lépések közben, ha a VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 ezt kéri, manuálisan segítsen a lemez és a vákuum-csőcsatlakozó közötti légmentes érintkezés létrehozásában.
- Hagyja, hogy a rendszer automatikusan eltávolítsa a hegyeket az adatterről. Ne távolítsa el manuálisan a hegyeket, csak akkor, ha a szoftver ezt kéri.
- Távolítsa el az elhasznált reagenseket és a használt fogyóeszközöket, ha a Workflow Manager ezt kéri.
- A vákuumrendszer hulladékait tartalmazó palackot naponta ürítse. Az első palack soha ne legyen több mint félig. A vákuumrendszer hulladékainak túlfolyása károsíthatja a vákuumpumpát, és csökkentheti a rendszer által kifejtett vákuum mértékét.
- 24, 48 és 96 mintás tételek esetén a művelet megkezdése előtt adjon hozzá egy teljes állvánnyal a 8 csatornás hegyekből, egyenként megszámlálva azokat.

## Minták feldolgozása

### Eljárás

1. Végezze el a következő lépéseket mindegyik rész minta esetén:
  - a. Centrifugálja a vonalkóddal ellátott mintákat 1600 g-vel 10 percig, 4 °C hőmérsékleten, kikapcsolt fékkel.
  - b. Miután a centrifuga teljesen megállt, vegye ki a mintacsöveket.  
Kezdje el a plazma elválasztását a centrifugálás befejeződését követő 15 percen belül. Ha több mint 15 perc telik el, végezze el újra a centrifugálást.
2. Ellenőrizze az egyes csöveket a minta alkalmassága szempontjából a következő követelmények szerint:
  - A minta térfogata a várhatónak megfelelő.
  - A centrifugálás után egyértelműen elkülönül a minták vörösvérsejt- és plazmarétege.
  - Legalább 1,5 ml plazma van a határréteg felett.
  - A minta nincs nagy mértékben hemolizálva (nem sötétpiros színű).
  - A minta nem lipémiás (nem zavaros, fehér vagy átlátszatlan, tejszerű)
  - A mintában nincs véralvadék.



#### FIGYELEM!

A nem megfelelően tárolt vagy kezelt minták alkalmatlanná válhatnak. Ha alkalmatlan mintákon végzik el a feldolgozási munkafolyamatot, azok eltömíthetik a kötési lemezt az extrakció során, ami a minták túlfolyásához és szomszédos üregekbe jutásához vezet.

3. Távolítsa el a csövek kupakját, és helyezze be őket a csövek szállítóeszközeibe. Helyezze be a sarzshoz tartozó összes mintát és a plazmakontrollokat.



### FIGYELEM!

Ha egy hibakezelési esemény során megjelenik az Exclude (Kizárás) lehetőség, ne válassza ki. Ha a folyamat nem tud továbbhaladni a hibakezelési eseményen, és korlátozottak a hibakezelési lehetőségei, szakítsa meg a futtatást.

## A plazma elválasztása

### Előkészítés

1. Címkézzzen fel egy mély üregű lemezt plazma köztes terméként, és ragasszon rá vonalkódot.
2. Címkézzzen fel egy mély üregű lemezt plazmavégtermékként, és ragasszon rá vonalkódot.
3. A 24, 48 és 96 mintás tételek esetében a művelet megkezdése előtt adjon hozzá egy teljes állvánnyal a 8 csatornás hegyekből, egyenként megszámlálva azokat.



### FIGYELEM!

Ügyeljen arra, hogy a megfelelő típusú lemezt használja a plazma köztes termékhez és a plazmavégtermékhez. A mély üregű lemez helyett mély üregű tároló használata a minták összekeveredéséhez vezet, és helytelen eredményeket okozhat.

### Eljárás

1. Nyissa meg az AppLauncher alkalmazásindítót, majd válassza a **VeriSeq NIPT Method** (VeriSeq NIPT módszer) lehetőséget.
2. Töltse ki a Batch ID (Sarzsazonosító) mezőt egyedi értékkel, majd a User Name (Felhasználónév) mezőt, és válassza az **OK** lehetőséget.  
A Batch ID (Sarzsazonosító) ≤ 26 karakterből állhat. Tartalmazhat számokat, betűket, aláhúzásjeleket (\_) és kötőjeleket (-). Például: 2025-10-16\_Batch3.  
A sarzsazonosító a kis- és nagybetűket nem különbözteti meg. A csak a kisbetűs/nagybetűs karakterekben különböző sarzsazonosítók nem minősülnek egyedinek.  
A sarzsazonosítóknak egyedinek kell lenniük, és nem különbözhetnek csak a kisbetűs/nagybetűs írásmódban. Például a Sarzs01 és a sarzs01 név nem minősül különbözőnek. Ugyanez a szabály érvényes a Sample ID (Mintaazonosító) elnevezésére.
3. Válassza a **New Batch** (Új sarzs) lehetőséget.
4. A létrehozás után válassza az **OK** lehetőséget a plazma elválasztásának megkezdéséhez.
5. Válassza ki a sarzs méretét, majd válassza az **OK** gombot.
6. Válassza ki a sablon nélküli kontrollok (NTC) számát, majd válassza az **OK** gombot.  
Az NTC-k mindig az utolsó helyekre kerülnek. Ha például egy 24 mintás futtatásban két NTC van, azok a 23. és a 24. pozícióba kerülnek.

## 7. Végezze el az alábbi lépések egyikét:

- Egy meglévő mintalap betöltéséhez válassza ki a sarzshoz tartozó mintalapot, majd válassza az **OK** gombot.
- Mintalap választása nélkül való folytatáshoz válassza a **No Sample Sheet** (Nincs mintalap) lehetőséget.

A mintalap létrehozásáról szóló tudnivalókat lásd a *VeriSeq NIPT Solution v2 szoftverútmutatójában* (dokumentumszám: 1000000067940).

**MEGJEGYZÉS** A minta típusát, tehát azt, hogy egyes terhesség vagy ikerterhesség, helyesen meg kell adni az adatok megfelelő elemzésének biztosításához. Ha a **No Sample Sheet** (Nincs mintalap) lehetőséget választja, győződjön meg arról, hogy beállította az alapértelmezett értékeket a Workflow Managerben a Service Tools (Szervizeszközök) alatt. Az LRM modulhoz kapcsolatos további információkért lásd a *VeriSeq NIPT Solution v2 szoftverútmutatóját* (dokumentumszám: 1000000067940).

8. Ellenőrizze, hogy minden vonalkód fel van-e ragasztva, majd helyezze a mintákat, a hegyeket és a lemezeket (a vonalkóddal jobbra) a szállítóeszköze.
9. Minden behelyezési felszólítás után válassza az **OK** gombot.

A mintasarzs mérete	Szállítóeszköz Típus	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48, 96	Hegy	7–12	1000 µl-es hegyek	5
			1000 µl-es hegyek (csak 96 mintás sarzs)	4, 5
	Kémcső	15	Előkészített vérmintát tartalmazó csövek: 1–24 (mindegyik sarzsméret esetén)	1–24
	Kémcső	16	Előkészített vérmintát tartalmazó csövek: 25–48 (csak 48 és 96 mintás sarzsméret esetén)	25–48
	Kémcső	17	Előkészített vérmintát tartalmazó csövek: 49–72 (csak 96 mintás sarzsméret esetén)	49–72
	Kémcső	18	Előkészített vérmintát tartalmazó csövek: 73–96 (csak 96 mintás sarzsméret esetén)	73–96
	Multiflex	19–24	Üres mély üregű lemez, plazmavégtermék, vonalkóddal	4
	Multiflex	19–24	Üres mély üregű lemez, plazma köztes termék, vonalkóddal	5
	Reagens	47	<b>[Opcionális]</b> Dulbecco foszfátpufferelt sóoldat (DPBS) – sablon nélküli kontrollokhoz (NTC) használatos	5

10. Győződjön meg arról, hogy a szállítóeszközök, a laboratóriumi eszközök és a reagensek megfelelően vannak betöltve.
11. A Pre-Spin Deck Verification (Centrifugálás előtti fedélzet-ellenőrzés) képernyőn válassza az **OK** lehetőséget.
12. Figyelje, ahogy az ML STAR készülék elvégzi az automatikus lépéseket.
13. Amikor a Workflow Manager jelzi, az összes szállítóeszköz kiürítése érdekében ellenőrizze, hogy az ML STAR betöltési fedélzete ne legyen eltömődve.
14. A fedélzeten lévő eszközök eltávolításához válassza az **Unload** (Kiadás) lehetőséget.
15. Távolítsa el a plazma köztes termék mély üregű lemezt a következő módon.
  - a. Ellenőrizze, hogy mindegyik üregben egyforma mennyiség található-e (vagyis nem történt pipettázási hiba). A várható mennyiség 1000 µl.
  - b. A plazmaelválasztási lépés befejeződése után jegyezze fel, ha ettől eltérő mennyiséget tapasztal.
  - c. Zárja le a lemezt, helyezzen be ellensúlyt, és centrifugálja 5600 g-vel 10 percig kikapcsolt vagy a legalacsonyabbra beállított fékkel.
16. Válassza a **Yes** (Igen) lehetőséget a plazmavégtermék elkészítéséhez.
17. Távolítsa el a zárófoliát a lemezről, és helyezze vissza a lemezt a szállítóeszközre.

A mintaszarzs mérete	Szállítóeszköz Típus	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48, 96	Multiflex	19–24	Plazma köztes terméket tartalmazó mély üregű lemez	5

18. Jelölje be az **Intermediate Plasma plate has been spun** (Plazma köztes termék lemezének centrifugálása megtörtént) jelölőnégyzetet, majd válassza az **OK** gombot.
19. Figyelje, ahogy az ML STAR készülék elvégzi az automatikus lépéseket.
20. Amikor a Workflow Manager jelzi, az összes szállítóeszköz kiürítése érdekében ellenőrizze, hogy az ML STAR betöltési fedélzete ne legyen eltömődve.
21. A fedélzeten lévő eszközök eltávolításához válassza az **Unload** (Kiadás) lehetőséget.
22. A Workflow Manager jelzése alapján ürítse ki a szállítóeszközöket és a fedélzetet.
23. Távolítsa el a plazmavégtermék mély üregű lemezt.
24. Ellenőrizze a lemezt a következő hibák tekintetében:
  - az egyes üregekben különböző a térfogat. A várható mennyiség 900 µl.
  - Látható sejtes szemcsék
  - Nagy mértékű hemolízis

Ha rendellenes sejtszemcséket vagy nagy mértékű hemolízist tapasztal, érvénytelenítse a mintát a plazmaelválasztási eljárás végén, vagy használja erre a Batch Managert. A Batch Managerrel kapcsolatos további információért lásd a *VeriSeq NIPT Solution v2 szoftverútmutatóját* (dokumentumszám: 1000000067940).



25. A Workflow Manager jelzésekor válassza az **OK** gombot.
26. Írja be az érintett üregekre vonatkozó megjegyzéseket, majd válassza az **OK** lehetőséget.
27. Végezze el az alábbi lépések egyikét:
  - A cfDNS kivonásával való folytatáshoz válassza a **Yes** (Igen) gombot.
  - A leállításhoz válassza az **Exit** (Kilépés) lehetőséget.

### BIZTONSÁGOS MEGSZAKÍTÁSI PONT

Ha abbahagyja az eljárást, zárja le a plazmavégtermék lemezt, és tárolhatja 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb 7 napig.

## cfDNS kivonása

### Előkészítés

1. Tekintse meg a kivonási anyagok dobozát és a tartozékok dobozát, hogy nem jártak-e le a készletek.
2. Készítse el a következő reagenseket: Lásza el a reagensek nevét tartalmazó címkével a tárolóedényt és a mély üregű tárolókat.

Reagens	Tárolás	Utasítások
Plazmavégterméket tartalmazó mély üregű lemez	2 °C és 8 °C között	Ha korábban hűtve tárolták, hagyja állni 30 percig, hogy szobahőmérsékletre melegedjen. Centrifugálja 20 másodpercig 1000 g-vel. Használat előtt távolítsa el a zárófoliát a plazmavégtermék mély üregű lemezről.

3. Lassan adagoljon 3,75 ml proteinázpuffert mindegyik, proteináz K-t tartalmazó reagensüvegbe.
  - 24 és 48 minta esetén készítsen 3 üvegnyi reagenst.
  - 96 minta esetén készítsen 4 üvegnyi reagenst.
4. Helyezzen kupakokat a proteináz K-t tartalmazó üvegekre, és vortexelje azokat, amíg nem szuszpendálódik a reagens.



### FIGYELEM!

Ne hagyja, hogy a gumidugó szennyeződjön. A gumidugóra kerülő idegen anyagok szennyezik a későbbi mintákat.

5. Keverje össze az előkészített proteináz K-t tartalmazó összes üveg tartalmát egy reagensedényben, és lássa el a „Proteináz K” jelöléssel.
6. Adjon 100 ml 100%-os EtOH-t mindegyik II. mosópuffert tartalmazó reagenspalackba.
  - 24 és 48 minta esetén készítsen 1 palacknyi reagenst.
  - 96 minta esetén készítsen 2 palacknyi reagenst.

7. Felfordítással keverje össze a mosópufferes palackok tartalmát.
8. Jelölje be a jelölőnégyzeteket a II. mosópuffert tartalmazó palackokon.
9. Címkézzzen fel egy új, teljes peremmel ellátott lemezt köztes termékként, és ragasszon rá vonalkódot.
10. Címkézzzen fel egy új, teljes peremmel ellátott lemezt cfDNS-tisztító lemezként, és ragasszon rá vonalkódot.
11. Címkézzzen fel egy új mély üregű lemezt köztes termékként, és ragasszon rá mély üregű lemezhez való vonalkódot.
12. Helyezzen vonalkódot a DNS-kötési lemezre.
13. 24 vagy 48 mintával végzett fürdő esetében ragasszon zárófoliát a fel nem használt üregekre.
14. Készítsen 70% EtOH-t tartalmazó tisztítóoldatot (70% EtOH, 30% DNáz-/RNáz-mentes víz) a rendszer vákuumrendszerének tisztításához.
15. Készítse elő a vákuumrendszert az alábbi módon.
  - a. Távolítsa el a vákuum-csőcsatlakozót, és tisztítsa meg 70%-os EtOH-oldattal.  
A tömítőgyűrűt ne tisztítsa EtOH-val, mert ez törékennyé teszi az anyagát.
  - b. Ürítse ki a vákuumrendszer hulladékait.
  - c. Győződjön meg arról, hogy az ML STAR vákuumrendszere be van kapcsolva.

## Eljárás

1. A cfDNS kivonásának kezdéséhez válassza az **OK** gombot.
2. Ha a **VeriSeq NIPT Method** (VeriSeq NIPT módszer) nincs megnyitva:
  - a. Nyissa meg az AppLauncher alkalmazásindítót, majd válassza a **VeriSeq NIPT Method** (VeriSeq NIPT módszer) lehetőséget.
  - b. Töltse ki a Batch ID (Sarzsazonosító) és a User Name (Felhasználónév) mezőt, majd válassza az **OK** lehetőséget.
3. Helyezze a hegyeket a hegyek szállítóeszközére, és válassza az **OK** gombot.



### FIGYELEM!

A 24, 48 és 96 mintás tételek esetében a művelet megkezdése előtt adjon hozzá egy teljes állvánnyal a 8 csatornás hegyekből.

A mintasarzs mérete	Szállítóeszköz típusa	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24	Hegy	1–6	1000 µl-es hegyek	1
		7–12	300 µl-es hegyek	1
48	Hegy	1–6	1000 µl-es hegyek	1, 2
		7–12	300 µl-es hegyek	1
96	Hegy	1–6	1000 µl-es hegyek	1, 2, 3, 4
		7–12	300 µl-es hegyek	1

4. Helyezze a megszámozott hegyeket a hegyek szállítóeszközére.

A mintasarzs mérete	Szállítóeszköz típusa	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48, 96	Hegy	49–54	1000 µl-es hegyek	1
			300 µl-es hegyek	2
			50 µl-es hegyek	3

5. Írja be az első és az utolsó hegyek pozícióját mindegyik hegytartó állvány esetén, majd válassza az **OK** gombot.
6. Olvassa be a kivonási eszközöket tartalmazó doboz vonalkódjait.
7. Írja be a felhasználó nevét vagy a reagensek előkészítését végző személy nevének kezdőbetűit, majd válassza az **OK** lehetőséget.
8. Olvassa be a tartozékokat tartalmazó doboz vonalkódjait.
9. Írja be a felhasználó nevét vagy a reagensek előkészítését végző személy nevének kezdőbetűit, majd válassza az **OK** lehetőséget.
10. Erősítse meg, hogy a vonalkódok fel vannak ragasztva.
11. Távolítsa el a zárófoliát a plazmavégtermék mély üregű lemezről, ha szükséges.
12. Helyezze a lemezeket (a vonalkóddal jobbra) a lemezszállító eszközre az alábbiak szerint, és válassza az **OK** gombot.

A mintasarzs mérete	Szállítóeszköz típusa	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48, 96	Multiflex	19–24	Új teljes peremmel ellátott lemez, köztes termék, vonalkóddal	1
			Új teljes peremmel ellátott lemez, cfDNS tisztítás, vonalkóddal	2
			Új mély üregű lemez, kivonási köztes termék, vonalkóddal	4
			Plazmavégterméket tartalmazó mély üregű lemez, vonalkóddal	5

13. Ellenőrizze, hogy a DNS-kötési lemez el van-e látva vonalkóddal, majd válassza az **OK** lehetőséget.
14. A nem a teljes lemezt elfoglaló sarzsok esetén a nem használt üregeket ragassza le méretre vágott zárófoliával (24 mintás sarzs esetén a 4–12. oszlopokra, 48 mintás sarzs esetén a 7–12. oszlopokra).
15. Helyezze a DNS-kötési lemezt a vákuum-csőcsatlakozóra a vonalkóddal jobbra.
16. Mielőtt a kötési lemezt a BVS-csőcsatlakozóra helyezné, vizuálisan ellenőrizze az üregeket az esetleges eltömődés szempontjából.

Ez akadályozhatja a reagensek áramlását vákuum hatására.

17. Ha 24 vagy 48 mintából álló tételt használ, a fel nem használt üregeket fedje le, és lássa el zárófoliával. Jelölje be az **Are DNA Binding Plate Columns Sealed?** (A DNS-kötő lemez oszlopai szigetelve vannak?) jelölőnégyzetet, majd válassza az **OK** gombot.
18. Helyezze a reagensedényeket a reagensek szállítóeszközére az alábbiak szerint, és válassza az **OK** gombot.

A mintaszám mérete	Szállítóeszköz típusa	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48	Reagens	47	16 ml tisztítópuffer	1
			11 ml proteináz K	2
96	Reagens	47	16 ml tisztítópuffer	1
			15 ml proteináz K	2

19. Adja a megadott reagenseket a mély üregű tárolókhoz, majd helyezze be a tárolókat a mély üregű szállítóeszközökre az alábbiak szerint.
20. Válassza az **OK** lehetőséget.

A mintaszám mérete	Szállítóeszköz típusa	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48	Mély üregű	39–44	125 ml II. mosópuffer	1
			125 ml I. mosópuffer	2
			60 ml 100%-os EtOH	3
			100 ml lizálópuffer	4
			60 ml DNáz-/RNáz-mentes víz	5
96	Mély üregű	39–44	200 ml II. mosópuffer	1
			125 ml I. mosópuffer	2
			100 ml 100%-os EtOH	3
			100 ml lizálópuffer	4
			100 ml DNáz-/RNáz-mentes víz	5

21. Várja meg a reagensek mennyiségének automatikus ellenőrzését.
22. Győződjön meg arról, hogy a vákuumrendszer hulladékgyűjtője üres (ajánlott félig tele lennie), majd válassza az **OK** gombot.
23. Ellenőrizze, hogy a szállítóeszközök, a laboratóriumi eszközök és a reagensek megfelelően lettek-e behelyezve, majd az Extraction Deck Verification (Kivonási fedélzet-ellenőrzés) képernyőn válassza az **OK** gombot.
24. Figyelje az ML STAR készülék működését az automatikus lépések közben.

**FIGYELEM!**

A rendszer által nem érzékelt túlfolyást mutató mintákat manuálisan kell érvénytelenítenie a közeli üregek szennyeződése előtt.

25. A vákuumrendszer utolsó lépése után távolítsa el a DNS-kötési lemezt, és tisztítsa meg az alsó felületét 70%-os EtOH-oldattal.
26. Zárja le a DNS-kötési lemez eddig le nem zárt üregeit, majd helyezze a DNS-kötési lemezt az üres plazmavégtermék mély üregű lemezre.
27. Centrifugálja az egymáshoz rögzített DNS-kötési lemezt és a plazmavégtermék lemezt 5600 × g-vel 10 percig.
28. Válassza az **OK** lehetőséget.
29. A DNS-kötési lemez centrifugálása közben végezze el a vákuumrendszer tisztítását:
  - a. Távolítsa el a vákuum-csőcsatlakozót, majd válassza az **OK** gombot.
  - b. Várja meg a hulladékok automatikus kidobását.
  - c. Tisztítsa meg a vákuum-csőcsatlakozót és a vákuumrendszer belsejét 70%-os EtOH-val, majd helyezze vissza a vákuum-csőcsatlakozót.
  - d. Jelölje be a **Manifold is on Vacuum** (A csőcsatlakozó a vákuumrendszeren van) jelölőnégyzetet, hogy elkezdődjön a tisztítási lemeznek a vákuum-csőcsatlakozóra való átvitele, majd válassza az **OK** gombot.
30. A centrifugálás után nyissa fel a mintákat tartalmazó üregeket a DNS-kötési lemezen.
31. Helyezze a DNS-kötési lemezt a vákuum-csőcsatlakozón található cfDNS-tisztítási lemez tetejére.
32. Helyezze be a DNS-kötési lemezt a vonalkóddal jobbra, majd válassza az **OK** gombot.
33. Figyelje az ML STAR készülék működését az automatikus lépések közben.
34. Az inkubálási lépést követően válassza ki a **Plates are assembled as indicated** (A lemezek a képen látható módon vannak összeszerelve) jelölőnégyzetet. Erősítse meg, hogy az összeszerelt DNS-kötési/cfDNS-tisztítási lemez a tartón van-e (ha a centrifuga igényli).
35. Zárja le a DNS-kötési lemezen található felnyitott üregeket.
36. Centrifugálja 5600 × g-vel 2 percig bekapcsolt fékkel, majd válassza az **OK** gombot.
37. Megtekintéssel ellenőrizze, hogy a cfDNS-tisztító lemez mindegyik üregében egyforma mennyiség található-e.

A várható mennyiség körülbelül 55 µl.
38. Zárja le a cfDNS-tisztítási lemezt, és tegye el a könyvtár-előkészítésre.
39. Amikor a Workflow Manager jelzi, az összes szállítóeszköz kiürítése érdekében ellenőrizze, hogy az ML STAR betöltési fedélzete ne legyen eltömődve.
40. A fedélzeten lévő eszközök eltávolításához válassza az **Unload** (Kiadás) lehetőséget.
41. Ürítse ki a szállítóeszközöket, és tisztítsa meg az ML STAR fedélzetét, majd válassza az **OK** gombot.
42. Írja be az érintett üregekre vonatkozó megjegyzéseket, majd válassza az **OK** lehetőséget.
43. Végezze el az alábbi lépések egyikét:

- A könyvtárak előkészítésével való folytatáshoz válassza a **Yes** (Igen) gombot.
- A leállításhoz válassza az **Exit** (Kilépés) lehetőséget.

#### **BIZTONSÁGOS MEGSZAKÍTÁSI PONT**

Ha abbahagyja az eljárást, zárja le a cfDNS-tisztítási lemezt, és tárolhatja -25 °C és -15 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb 7 napig.

# Könyvtárak előkészítése

## Előkészítés

1. Tekintse meg a könyvtár-előkészítési anyagok dobozát és a tartozékok dobozát, hogy nem jártak-e le a készletek.
2. Készítse el a következő reagenseket: Lassa el a reagensek nevét tartalmazó címkével a tárolóedényeket és a mély üregű tárolókat.

Reagens	Tárolás	Utasítások
A-farok-létrehozási keverék	-25 °C és -15 °C között	Olvassza fel szobahőmérsékleten. Vortexeléssel keverje össze, majd rövid ideig centrifugálja.
cfDNS-tisztítási lemez	-25 °C és -15 °C között	Ha korábban hűtve tárolták, ellenőrizze, hogy a lemezt nem tárolták több mint 7 napig, majd olvassza fel szobahőmérsékleten. Vortexelje 1500 fordulat/perc sebességgel, 1 percig. Centrifugálja 20 másodpercig 1000 g-vel.
Végjavító keverék	-25 °C és -15 °C között	Olvassza fel szobahőmérsékleten. Vortexeléssel keverje össze.
Hibridizációs puffer	-25 °C és -15 °C között	Olvassza fel szobahőmérsékleten. Vortexeléssel keverje össze. <b>Használat után helyezze a vissza tárolási helyre.</b>
Ligáló keverék	-25 °C és -15 °C között	Olvassza fel szobahőmérsékleten. Vortexeléssel keverje össze, majd rövid ideig centrifugálja.
NIPT DNS-adapterlemez	-25 °C és -15 °C között	Olvassza fel szobahőmérsékleten. Vortexeléssel keverje össze. Centrifugálja 20 másodpercig 1000 g-vel.
Reszuszpenziós puffer	2 °C és 8 °C között	Vortexeléssel keverje össze. <b>Használat után helyezze a vissza tárolási helyre.</b>
Mintatisztító gyöngyök	2 °C és 8 °C között	Hagyja állni 30 percig, hogy szobahőmérsékletre melegedjen. Használat előtt mindig alaposan vortexelje. Keverje vortexeléssel vagy felfordítással, amíg az összes gyöngy nem szuszpendálódik, és a keverék homogén nem lesz.

**FIGYELEM!**

Az NIPT DNS-adapterlemez zárófoliájának eltávolításakor rendkívül óvatosan járjon el, hogy elkerülje az üregek közötti, aeroszol útján történő keresztszennyeződést, amely hibás eredményeket okozhat.

3. Ha a cfDNS-tisztítási lemezt fagyasztva tárolták, készítse elő az alábbiak szerint.
  - a. Olvassa fel szobahőmérsékleten.
  - b. Vortexelje 1500 fordulat/perc sebességgel, 1 percig.
  - c. Centrifugálja 20 másodpercig 1000 g-vel.
4. Címkézzen fel egy teljes peremmel ellátott lemezt könyvtárlemezként, és ragasszon rá vonalkódot.
5. Abszolút EtOH-ból készítsen 80%-os EtOH-t. Keverjen össze 40 ml 100%-os EtOH-t és 10 ml DNáz-/RNáz-mentes vizet. Felfordítással keverje össze.
6. Győződjön meg arról, hogy az ML STAR hőmérséklet-szabályozó rendszere be van kapcsolva.

**Az enzimek hígítása**

1. Keverjen össze A-farok-létrehozási keveréket és reszuszenziós puffert egy csavaros kupakkal ellátott csőben. Vortexeléssel keverje össze, majd rövid ideig centrifugálja.

A mintaszrs mérete	A-farok-létrehozási keverék (µl)	Reszuszenziós puffer (µl)
24, 48	900	1200
96	1800	2400

2. Keverjen össze ligáló keveréket és reszuszenziós puffert egy csavaros kupakkal ellátott csőben. Vortexeléssel keverje össze, majd rövid ideig centrifugálja.

A mintaszrs mérete	Ligáló keverék (µl)	Reszuszenziós puffer (µl)
24, 48	230	1713
96	440	3278

**Eljárás**

1. A könyvtár-előkészítés megkezdéséhez válassza az **OK** gombot. Ha a **VeriSeq NIPT Method** (VeriSeq NIPT módszer) még nincs megnyitva:
  - a. Nyissa meg az AppLauncher alkalmazásindítót, és válassza a **VeriSeq NIPT Method** (VeriSeq NIPT módszer) lehetőséget.
  - b. Töltse ki a Batch ID (Sarsazonosító) és a User Name (Felhasználónév) mezőt, majd válassza az **OK** lehetőséget.
2. Ellenőrizze, hogy a következő fogyóanyagok és -eszközök elő vannak-e készítve a Reagent Preparation (Reagens előkészítése) képernyőn megadottaknak megfelelően.
  - A-farok-létrehozási keverék, ligáló keverék és 80%-os EtOH



- Mintatisztító gyöngyök, végjavító keverék és NIPT DNS-adapter lemez
- Jelölje be a jelölőnégyzeteket, majd válassza az **OK** gombot.
  - Olvassa be a könyvtár-előkészítési doboz vonalkódjait.
  - Írja be a felhasználó nevét vagy a reagensek előkészítését végző személy nevének kezdőbetűit, majd válassza az **OK** lehetőséget.
  - Olvassa be a tartozékokat tartalmazó doboz vonalkódjait.
  - Írja be a felhasználó nevét vagy a reagensek előkészítését végző személy nevének kezdőbetűit, majd válassza az **OK** lehetőséget.
  - Helyezze a hegyeket a hegyek szállítóeszközeire, és válassza az **OK** gombot mindegyik szállítóeszköznél.

A mintaszám mérete	Szállítóeszköz típusa	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24	Hegy	1–6	50 µl-es hegyek	1
		7–12	300 µl-es hegyek	1, 2
48	Hegy	1–6	50 µl-es hegyek	1, 2
		7–12	300 µl-es hegyek	1, 2, 3, 4
96	Hegy	1–6	50 µl-es hegyek	1, 2, 3, 4
		7–12	300 µl-es hegyek	1, 2, 3, 4, 5

- Ha megszakította a protokollt a cfDNS-kivonási eljárásnál, helyezze a megszámlolt hegyeket a hegyek szállítóeszközeire az alábbi módon.

A mintaszám mérete	Szállítóeszköz típusa	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48, 96	Hegy	49–54	1000 µl-es hegyek	1
			300 µl-es hegyek	2
			50 µl-es hegyek	3

- Írja be az első hegy pozícióját mindegyik hegytartó állvány esetén, majd válassza az **OK** gombot.

11. Ellenőrizze, hogy a vonalkódok fel vannak-e ragasztva, és helyezze be a lemezeket (a vonalkóddal jobbra) a lemez szállítóeszközére az alábbi módon, majd válassza az **OK** gombot.

A mintasz mérete	Szállítóeszköz típusa	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48, 96	Multiflex	19–24	cfDNS-tisztítási lemez, vonalkóddal	1
			NIPT DNS adapter-lemez, vonalkóddal	2
			Új 96 üregű teljes peremmel ellátott lemez, könyvtárak, vonalkóddal	3
			Új, 96 üregű teljes peremmel ellátott lemezek	4, 5

12. Töltse meg a mély üregű szállítóeszközt az alábbiak szerint, majd válassza az **OK** gombot.

A mintasz mérete	Szállítóeszköz típusa	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48, 96	Mély üregű	39–44	50 ml 80%-os EtOH mély üregű tárolóban	1
			Új, 96 üregű teljes peremmel ellátott lemezek	2, 3, 4, 5

13. Helyezze a reagensedényeket a reagensek szállítóeszközére az alábbiak szerint, és válassza az **OK** gombot.

A mintasz mérete	Szállítóeszköz típusa	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48, 96	Reagens	47	2,5 ml végjavító keverék	1
			Elkészített A-farok-létrehozási keverék (teljes térfogat)	2
			Elkészített ligáló keverék (teljes térfogat)	3
			10 ml mintatisztító gyöngy	4
			12 ml hibridizációs puffer	5

14. A 12 ml hibridizációs puffer (HT1) maradékát tegye félre a tartályban a keveréshez.
15. Győződjön meg arról, hogy a szállítóeszközök, a laboratóriumi eszközök és a reagensek az előírásnak megfelelően be vannak helyezve, majd a Library Deck Verification (Könyvtárkészítési fedélzet-ellenőrzés) képernyőn válassza az **OK** gombot.
16. Várja meg a reagensek mennyiségének automatikus ellenőrzését.

17. Figyelje az ML STAR készülék működését az automatikus lépések közben.
18. Amikor a Workflow Manager jelzi, az összes szállítóeszköz kiürítése érdekében ellenőrizze, hogy az ML STAR betöltési fedélzete ne legyen eltömődve.
19. A fedélzeten lévő eszközök eltávolításához válassza az **Unload** (Kiadás) lehetőséget.
20. Ellenőrizze, hogy a könyvtárlemez mindegyik üregében egyforma mennyiség található-e.



### FIGYELEM!

Ha az üregek térfogata nem egyforma, az veszélyezteti a minták automatikus minőség-ellenőrzését.

21. Ha csak később folytatja a feldolgozást, zárja le a könyvtárlemez, és tegye félre.
22. Ürítse ki a szállítóeszközöket, tisztítsa meg a fedélzetet, majd válassza az **OK** gombot.
23. Írja be az érintett üregekre vonatkozó megjegyzéseket, majd válassza az **OK** lehetőséget.
24. Végezze el az alábbi lépések egyikét:
  - A könyvtárak mennyiségi értékelésével való folytatáshoz válassza a **Yes** (Igen) gombot.
  - A leállításhoz válassza az **Exit** (Kilépés) lehetőséget.

### BIZTONSÁGOS MEGSZAKÍTÁSI PONT

Ha abbahagyja az eljárást, zárja le a könyvtárlemez a tárolás előtt. A könyvtárlemez -25 °C és -15 °C közötti hőmérsékleten az elkészítés után legfeljebb 7 napig stabil.

## Könyvtárak mennyiségi értékelése

### Előkészítés

1. Készítse el a következő reagenseket:

Reagens	Tárolás	Utasítások
DNS mennyiségi értékelési reagens	2 °C és 8 °C között	Fénytől védendő. Hagyja szobahőmérsékleten felolvadni 30-150 percig. (Ajánlott a reagenst a könyvtár-előkészítési eljárás kezdetén kivenni a fagyasztóból.) Vortexeléssel keverje össze, majd rövid ideig centrifugálja.
DNS mennyiségi értékelési standard	2 °C és 8 °C között	Vortexeléssel keverje össze, majd rövid ideig centrifugálja.
Reszuszpenziós puffer	2 °C és 8 °C között	Vortexeléssel keverje össze.

2. Ha a könyvtárlemez fagyasztva tárolták, készítse elő az alábbiak szerint.
  - a. Ellenőrizze, hogy a lemez nem tárolták több mint 7 napig, majd olvassa fel szobahőmérsékleten.
  - b. Vortexeléssel keverje össze

- c. Centrifugálja 1000 g-vel, 1 percig.
3. Kapcsolja be a fluorométert 10 perccel a használat előtt.
4. Helyezzen vonalkódot egy új, 384 üregű lemezre.
5. Helyezzen vonalkódot egy új, teljes peremmel ellátott lemezre.

## Eljárás

1. A mennyiségi értékelés elkezdéséhez válassza az **OK** gombot.
2. Ha a VeriSeq NIPT Method (VeriSeq NIPT módszer) még nincs megnyitva:
  - a. Nyissa meg az AppLauncher alkalmazásindítót, és válassza a **VeriSeq NIPT Method** (VeriSeq NIPT módszer) lehetőséget.
  - b. Töltse ki a Batch ID (Sarzsazonosító) és a User Name (Felhasználónév) mezőt, majd válassza az **OK** lehetőséget.
3. Olvassa be a tartozékokat tartalmazó doboz vonalkódjait.
4. Írja be a felhasználó nevét vagy a reagensek előkészítését végző személy nevének kezdőbetűit, majd válassza az **OK** lehetőséget.
5. Helyezze a hegyeket a hegyek szállítóeszközére, és válassza az **OK** gombot.

A mintaszrs mérete	Szállítóeszköz Típus	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48	Hegy	1–6	300 µl-es hegyek állványa	1
			50 µl-es hegyek állványa	2
96	Hegy	1–6	300 µl-es hegyek állványa	1
			50 µl-es hegyek állványa	2, 3

6. Erősítse meg, hogy a vonalkódok fel vannak ragasztva.
7. Szükség esetén távolítsa el a zárófoliát a könyvtárlemezről.
8. Helyezze a lemezeket (a vonalkóddal jobbra) a Multiflex szállítóeszközre az alábbiak szerint, és válassza az **OK** gombot.

A mintaszrs mérete	Szállítóeszköz Típus	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48, 96	Multiflex	19–24	Új, teljes peremmel ellátott lemezek, vonalkóddal	1
			Új, 384 üregű lemez, vonalkóddal	2
			Könyvtárlemez, vonalkóddal	3
			Új, 96 üregű teljes peremmel ellátott lemezek	4, 5

9. Helyezze a reagenscsöveket kupak nélkül a csövek szállítóeszközére az alábbiak szerint, majd válassza az **OK** gombot.

A mintaszrzs mérete	Szállítóeszköz Típus	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48, 96	Kémcső	46	DNS mennyiségi értékelési standard	1
			DNS mennyiségi értékelési reagens	2

10. Helyezze a reagensedényeket a reagensek szállítóeszközére az alábbiak szerint, és válassza az **OK** gombot.

A mintaszrzs mérete	Szállítóeszköz Típus	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48, 96	Reagens	47	Új reagensedény (üres)	1
			16 ml reszuszpenziós puffer	2

11. Ha megszakította a protokollt a könyvtár-előkészítési eljárásnál, helyezze a megszámlolt hegyeket a hegyek szállítóeszközeire az alábbi módon.

A mintaszrzs mérete	Szállítóeszköz Típus	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48, 96	Hegy	49–54	1000 µl-es hegyek	1
			300 µl-es hegyek	2
			50 µl-es hegyek	3

12. Írja be az első és az utolsó hegyek pozícióját mindegyik hegytartó állvány esetén, majd válassza az **OK** gombot.
13. Győződjön meg arról, hogy a szállítóeszközök, a laboratóriumi eszközök és a reagensek az előírásnak megfelelően be vannak helyezve, majd a Quant Deck Verification (Mennyiségi értékelési fedélzet-ellenőrzés) képernyőn válassza az **OK** gombot.
14. Várja meg a reagensek mennyiségének automatikus ellenőrzését.
15. Figyelje az ML STAR készülék működését az automatikus lépések közben.
16. Amikor a Workflow Manager jelzi, az összes szállítóeszköz kiürítése érdekében ellenőrizze, hogy az ML STAR betöltési fedélzete ne legyen eltömődve.
17. A fedélzeten lévő eszközök eltávolításához válassza az **Unload** (Kiadás) lehetőséget.
18. Vegye ki a könyvtárlemezt.
- Ellenőrizze, hogy a lemez mindegyik üregében egyforma mennyiség található-e.
  - Zárja le a könyvtárlemezt, és tárolja szobahőmérsékleten, amíg a fluorometriás adatok elemzése be nem fejeződik.

19. Vegye ki a megmaradó 96 üregű lemezeket, és ellenőrizze, hogy mindegyik üregben egyforma mennyiség található-e.  
A nagyobb mennyiségi eltérések a pipettázási lépések hibáját jelezhetik.
20. Vegye ki a 384 üregű lemezt, és ellenőrizze, hogy van-e folyadék a megfelelő üregekben.
21. Zárja le a lemezt zárófoliával.
22. Centrifugálja 20 másodpercig 1000 g-vel.
23. Inkubálja fénytől védve szobahőmérsékleten 10 percig.
24. Ürítse ki az összes szállítóeszközt.
25. Tisztítsa meg az ML STAR fedélzetét, majd válassza az **OK** gombot.

**FIGYELEM!**

Ne dobja el a mennyiségi értékelési reagenseket, amíg az adatok el nem készültek. Szükség lesz a reagensekre, ha a mennyiségi értékelést ismét el kell végezni.

26. Az inkubálás után távolítsa el a zárófoliát a 384 üregű lemezről, és helyezze a mikrolemesz-leolvasóra.  
Ügyeljen arra, hogy a Molecular Devices által gyártott lila adapterlemezt (cikkszám: 0310-4336) vagy, ha a használt készülék támogatja, ezzel egyenértékű adapterlemezt használjon.
  - Ügyeljen arra, hogy a behelyezéskor az A1 jelzés a bal felső sarokban legyen.
27. A VeriSeq NIPT sablonra duplán kattintva nyissa meg a SoftMax Pro szoftverben.
28. A Home (Kezdő) lapon válassza a **New Experiment** (Új kísérlet) lehetőséget.
29. Válassza a **Read** (Leolvasás) lehetőséget.
30. Exportálja az adatokat XML-fájlként a következő módon:
  - a. Kattintson a jobb egérgombbal a **Plate** (Lemez) gombra, majd válassza a **Rename** (Átnevezés) lehetőséget.
  - b. Olvassa le a mennyiségi értékelési lemez vonalkódját, majd válassza az **OK gombot**.
  - c. A képernyő bal felső sarkában kattintson a lemez ikonra, majd a menüből válassza az **Export** (Exportálás) lehetőséget.
  - d. Jelölje be az **Expt name** (Exportálási név) jelölőnégyzetet, állítsa a lemezdátum lehetőséget a nyers értékre, állítsa a kimeneti formátumot XML-re, majd válassza az **OK gombot**.
  - e. Adja meg a kimeneti fájl elérési útvonalát és nevét, majd válassza a **Save** (Mentés) lehetőséget.  
A Hamilton számítógépnek hozzáféréssel kell rendelkeznie a fájl helyéhez. Ne használjon szóközt a fájlnevében vagy az elérési útvonalban.

## Elemzés

1. Az ML STAR készüléken a Scanner Information (Fluorométer adatai) képernyőn írja be a fluorométer azonosítóját.
2. Írja be a fluorométerrel végzett futtatásra vonatkozó megjegyzéseket, majd válassza az **OK** lehetőséget.
3. Lépjen a fluorometriai adatokat tartalmazó mennyiségi mérési \*.xml fájlra, majd válassza az **OK gombot**.

4. Tekintse át a standard görbe és a mintakoncentráció elemzésének eredményeit, majd válassza az **OK** gombot.
5. Ha újra el kell végezni a lemez vizsgálatát, válassza a **Rescan** (Ismételt beolvasás) gombot. A minták idő- és fényérzékenyek. Ha szükséges, azonnal végezze el az ismételt beolvasást.
6. Írja be az érintett üregekre vonatkozó megjegyzéseket, majd válassza az **OK** lehetőséget.
7. Vizsgálja meg az eredményeket, majd folytassa a következőkkel.
  - Ha az eredmények megfelelnek a minőség-ellenőrzési feltételeknek, folytassa a [Könyvtárak összekeverése a\(z\) 39. oldalon](#) fejezettel. A specifikációkat lásd a mennyiségi mérés minőség-ellenőrzési mért adatait és határértékeit tartalmazó táblázatban, a *VeriSeq NIPT Solution v2 szoftverútmutatójában* (dokumentumszám: 1000000067940).
  - Ha az eredmények nem felelnek meg a specifikációknak, a rendszer megszakítja a műveletet. Ismétlje meg a mennyiségi mérést az [Előkészítés a\(z\) 35. oldalon](#).
8. Végezze el az alábbi lépések egyikét:
  - A [Könyvtárak összekeverése a\(z\) 39. oldalon](#) való folytatáshoz válassza a **Yes** (Igen) gombot.
  - A leállításhoz válassza az **Exit** (Kilépés) lehetőséget.

## BIZTONSÁGOS MEGSZAKÍTÁSI PONT

Ha abbahagyja az eljárást, zárja le a könyvtárlemezt a tárolás előtt. A könyvtárlemez -25 °C és -15 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb 7 napig stabil.

# Könyvtárak összekeverése

## Előkészítés

1. Készítse el a következő reagenseket:

Reagens	Tárolás	Utasítások
Hibridizációs puffer	-25 °C és -15 °C között	Olvassa fel szobahőmérsékleten. Vortexeléssel keverje össze. Használat után helyezze a vissza tárolási helyre.

2. Ha a könyvtárlemezt fagyasztva tárolták, készítse elő az alábbiak szerint.
  - a. Ellenőrizze, hogy a lemezt nem tárolták több mint 7 napig, majd olvassa fel szobahőmérsékleten.
  - b. Vortexelje 1500 fordulat/perc sebességgel, 1 percig.
  - c. Centrifugálja 20 másodpercig 1000 g-vel.
  - d. Pipettázással keverje össze.
3. Címkézzen fel egy üres gyűjtőcsövet Pool A („A” keverék) címkével. 96 minta esetén címkézzen fel egy másik üres gyűjtőcsövet Pool B („B” keverék) címkével.

4. Mentse a következő denaturálási programot a fűtött fedelű hőváltoztató inkubátoron.
  - a. Válassza az előfűtött fedél lehetőséget, és állítsa be 102 °C-ra.
  - b. Állítsa a mennyiséget 50 µl-re.
  - c. Állítsa a hőmérséklet-változtatási sebességet maximálisra (másodpercenként  $\geq 2$  °C).
  - d. Inkubálja 96 °C-on 10 percig, majd 4 °C-on 5 másodpercig.
  - e. Tartsa 4 °C-on.

## Eljárás

1. Helyezze a könyvtárlemezt az előre beprogramozott hőváltoztató inkubátorba, és futtassa a denaturálási programot.

Ne denaturálja a könyvtárakat, mielőtt a mennyiségi értékelés minőség-ellenőrzési mérése sikeresen meg nem történt, mert lehetséges, hogy újra el kell végezni a mennyiségi értékelést.
2. Centrifugálja a könyvtárlemezt 1000 g-vel 20 másodpercig.
3. Válassza az **OK** lehetőséget a könyvtárak összekeverésének elindításához.
4. Ha a VeriSeq NIPT Method (VeriSeq NIPT módszer) nincs megnyitva:
  - a. Nyissa meg az AppLauncher alkalmazásindítót, és válassza a **VeriSeq NIPT Method** (VeriSeq NIPT módszer) lehetőséget.
  - b. Töltse ki a Batch ID (Sarzsazonosító) és a User Name (Felhasználónév) mezőt, majd válassza az **OK** lehetőséget.
5. Válassza ki a keverék koncentrációját, majd válassza az **OK** gombot.

A klasztersűrűség célértéke 220–260 K/mm<sup>2</sup>.

**MEGJEGYZÉS** A 24 mintás tételek esetében növelni kell az összekevert minták koncentrációját és/vagy térfogatát, hogy a klasztersűrűségek a 48/96 mintás tételekhez hasonlóak legyenek.

6. Ha felkéri a Workflow Manager, végezze el az alábbi lépések egyikét:
  - Egy mintalap betöltéséhez válassza ki a sarzshoz tartozó mintalapot, majd válassza a **Load** (Betöltés) gombot.
  - A rendszer alapértelmezett értékeinek használatához a maradék mintatípusok, a nem jelentése, illetve a szűrés típusa esetén válassza az egyes beállításoknál a **Use Default** (Alapértelmezett használata) lehetőséget.

A mintalap létrehozásáról szóló tudnivalókat lásd a *VeriSeq NIPT Solution v2 szoftverútmutatójában* (dokumentumszám: 1000000067940).



7. A denaturálási lemez időzítésének megkezdéséhez válassza a **Start** (Indítás) lehetőséget.  
 8. Helyezze a hegyeket a hegyek szállítóeszközére az alábbiak szerint.

A mintasz mérete	Szállítóeszköz Típus	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48, 96	Hegy	7–12	50 µl-es szűrős hegyek	1

9. Helyezze a denaturált könyvtárakat tartalmazó lemezt (a vonalkóddal jobbra) a Multiflex szállítóeszközre az alábbiak szerint, és válassza az **OK** gombot.

A mintasz mérete	Szállítóeszköz Típus	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48, 96	Multiflex	19–24	Denaturált könyvtárlemez (vonalkóddal)	1

10. Helyezze a gyűjtőcsöveket a cső szállítóeszközére az alábbiak szerint, és válassza az **OK** gombot.

A mintasz mérete	Szállítóeszköz Típus	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48	Kémcső	46	Új 2 ml-es cső, „A” keverék	1
96	Kémcső	46	Új 2 ml-es cső, „A” keverék	1
			Új 2 ml-es cső, „B” keverék	2

11. Helyezze a reagensedényeket a reagensek szállítóeszközére az alábbiak szerint, és válassza az **OK** gombot.

A mintasz mérete	Szállítóeszköz Típus	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48, 96	Reagens	47	3 ml hibridizációs puffer	1

12. Helyezze a hegyeket a hegyek szállítóeszközére az alábbiak szerint.

A mintasz mérete	Szállítóeszköz Típus	Pálya	Elem	Hely pozíciója
24, 48, 96	Hegy	49–54	1000 µl-es szűrős hegyek	1
			300 µl-es szűrős hegyek	2
			50 µl-es szűrős hegyek	3

13. Írja be az első és az utolsó hegyek pozícióját mindegyik hegytartó állvány esetén, majd válassza az **OK** gombot.  
 14. Győződjön meg arról, hogy a szállítóeszközök, a laboratóriumi eszközök és a reagensek a megadottaknak megfelelően vannak betöltve.  
 15. A Pooling Deck Verification (Keverési fedélzet-ellenőrzés) képernyőn válassza az **OK** lehetőséget.  
 16. Figyelje az ML STAR készülék működését az automatikus lépések közben.

17. Írja be az érintett üregekre vonatkozó megjegyzéseket, majd válassza az **OK** lehetőséget.
18. Amikor a Workflow Manager jelzi, az összes szállítóeszköz kiürítése érdekében ellenőrizze, hogy az ML STAR betöltési fedélzete ne legyen eltömődve.
19. A fedélzeten lévő eszközök eltávolításához válassza az **Unload** (Kiadás) lehetőséget.
20. Ürítse ki a cső szállítóeszközét.
21. Helyezzen kupakokat a gyűjtőcsövekre, majd röviden centrifugálja őket.
22. Válassza az **OK** gombot.
23. A könyvtárakat az összekeverés után a lehető leghamarabb szekvenálja. Zárja le a könyvtárlemezt, és az összekeverés megismétléséhez tárolhatja -25 °C és -15 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb 7 napig.

### BIZTONSÁGOS MEGSZAKÍTÁSI PONT

Ha abbahagyja az eljárást, zárja le kupakkal a gyűjtőcsöveket, és tárolhatja -25 °C és -15 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb 7 napig.

## Az összekevert könyvtárak előkészítése szekvenáláshoz

### Előkészítés

1. Készítse el a következő reagenseket:

Reagens	Tárolás	Utasítások
Gyűjtőcsövek	-25 °C és -15 °C között	Ha korábban hűtve tárolták, olvassza fel szobahőmérsékleten. Röviden vortexelje. Röviden centrifugálja.

2. Az új generációs szekvenálórendszer előkészítéséhez töltsse ki a következő mezőket a Local Run Manager VeriSeq NIPT Module moduljában:
  - a. Run Name (Futtatás neve)
  - b. **[Opcionális]** Futtatás leírása
  - c. Pool Barcode (Pool vonalkódja)



#### FIGYELEM!

Az LRM (Local Run Manager) modulon megadott pool vonalkódnak egyeznie kell a Workflow Manager alkalmazásban megadott pool vonalkóddal. Ha a futtatási beállítások nem megfelelők, az elemző szoftver visszautasíthatja a futtatást, és a szekvenálás ismételt elvégzése szükséges.

A Local Run Manager VeriSeq NIPT Module használatával kapcsolatos további információkért lásd a *VeriSeq NIPT Solution v2 szoftverútmutatóját* (dokumentumszám: 1000000067940).

## Eljárás

1. Adja a következő anyagokat a reagenspatronba, majd pipettázással keverje össze.
  - Hibridizációs puffer (900 µl)
  - 450 µl „A” keverék (450 µl)
2. Folytassa a szekvenálást az új generációs szekvenálórendszer referencia-útmutatója alapján. A NextSeq 550Dx esetén lásd: *NextSeq 550Dx referencia-útmutató (dokumentumszám: 1000000009513)* (vagy az Illumina Support oldalán ([www.support.illumina.com](http://www.support.illumina.com)) elérhető terméktájékoztató).
3. Kérdés esetén erősítse meg a helyes futtatási konfigurációt.
4. Szükség esetén ezt az eljárást végezze el a „B” keverékkel is.
  - A klasztersűrűség céltartományának eléréséhez a könyvtárlemez tartalmából újra elvégezhető a keverékkészítés a Hamilton készüléken. Az ismételt keverékkészítés érvényteleníti az eredeti keverékkel kapott eredményeket.
  - Másik lehetőségként a keverék és a HT1 aránya (450 µl + 900 µl) módosítható a klasztersűrűség céltartományának eléréséhez.

## Új generációs szekvenálás

A VeriSeq NIPT Solution v2 használható a következő specifikációknak megfelelő új generációs szekvenálórendszerrel:

- 2 x 36 páros végű kiolvasásra alkalmas
- kompatibilitás a VeriSeq NIPT Sample Prep Kit minta-előkészítési készletben lévő indexadapterekkel
- kétcsatornás kémiai módszer
- BCL (\*.bcl) fájlok (a szekvenálókészüléktől kapott nyers adatok) automatikus létrehozása
- 400 millió páros végű kiolvasás futtatásonként
- Kompatibilis a VeriSeq NIPT v2 vizsgálati szoftverrel

A NextSeq 550Dx készülék kompatibilis a VeriSeq NIPT Solution v2 szoftverrel

## Szekvenálási adatok elemzése

A szekvenálás befejeződése után a szekvenálási adatok automatikusan elküldésre kerülnek a VeriSeq NIPT Assay Software v2 részére elemzés és jelentés készítése céljából. A jelentés a sarzsban szereplő minden mintához tartalmaz osztályozási adatokat, és tartalmazza és az összes futtatási minőség-ellenőrzési mérőszámot. Egy 48 mintás sarzs adatainak elemzése a szekvenálás befejeződésétől a végleges eredmények elkészültéig körülbelül 4 órát vesz igénybe. Az adatok elemzéséről és a kimeneti fájlról szóló részletes információkat lásd a *VeriSeq NIPT Solution v2 szoftver útmutatójában (dokumentumszám: 1000000067940)*.

## Az eredmények értelmezése

A VeriSeq NIPT Solution v2 algoritmus a páros-végű szekvenált könyvtárfragmentumokból gyűjtött többféle információ kombinációját felhasználó, kifinomult statisztikai modellt alkalmaz. E modell segítségével kimutathatja az egyes minták könyvtárában alul- vagy túlreprezentált genomiális területeket. E modell fontos jellemzője, hogy azt vizsgálja, hogy a könyvtár esetén a becsült magzati frakció szintjén az alul- vagy túlreprezentáció mennyiségileg megfelel-e egy magzati aneuploiditási eseménynek.

A páros-végű szekvenálási adatokat a rendszer minden kromoszóma esetén illeszti a referenciagenomhoz (HG19). Az egyedi, nem duplikált kiolvasások 100 kb-os gyűjtőkbe kerülnek. A rendszer a vonatkozó gyűjtőszámlálókat a korábban meghatározott régióspecifikus genomlefedettség alapján a GC-eltérés szerint korrigálja. Az ilyen korrigáltgyűjtő-számlálók használata esetén az egyes autoszómákhoz tartozó statisztikai adatokat a rendszer azaneuploiditást befolyásoló lefedettségi régiók és az autoszómák maradék részének az összehasonlítása révén határozza meg. Az LLR (log likelihood ratio, logaritmusos valószínűségi arány) a lefedettségen alapuló értékek és a becsült magzati frakció figyelembevételével minden mintához kiszámításra kerül. Az LLR a megfigyelt lefedettség és a magzati frakció által befolyásolt minta és az ugyanazon megfigyelt lefedettség által nem befolyásolt minta előfordulási valószínűségének a hányadosa. Az arány kiszámításának módszere a magzati frakció becsült bizonytalanságát is figyelembe veszi. A további számításokhoz az arány természetes logaritmusát használja fel a rendszer. Az Assay Software az aneuploiditás meghatározásához minden célkromoszómához és mintához kiszámolja az LLR értéket.

A sarzs létrehozásakor meg kell adnia minden mintához a minta típusát (egyes terhesség vagy ikerterhesség), a szűrés típusát (alapszintű vagy teljes genomra kiterjedő) és a nemi kromoszómák jelentését (igen, nem vagy SCA). Ezek az információk együttesen meghatározzák az egyes minták esetén jelentésre kerülő információkat. Minden mintatípus esetén a szűrés típusa meghatározza, hogy melyik autoszómális rendellenességek jelentése történjen. Az alapszintű szűrési típusnál csak a 13., 18. és 21. teljes kromoszómát érintő triszómiás események jelentése történik. A teljes genomra kiterjedő szűrési típusnál minden autoszóma teljes vagy részleges deléciója vagy duplikációja jelentésre kerül. A részleges kromoszómadeléció vagy -duplikáció csak legalább 7 Mb hosszúság esetén jelenthető.

Egyes terhesség esetén letiltható a nemi kromoszómák jelentése. Beállítható a nemi kromoszómák aneuploiditásának a jelentése az euploid minták nemének jelentésével vagy a nélkül.

Ikerterhesség esetén, ha a nemi kromoszómák jelentésének beállítása Igen, az eredmény csak az Y-kromoszóma jelenlétét vagy hiányát fogja tartalmazni. A nemi kromoszómák aneuploiditása nem jelenthető ikerterhesség esetén.

**MEGJEGYZÉS** Azonos nemű mintákból álló sarzsok esetén e-mail/WebUI hibaüzenet figyelmezteti a felhasználót a minták lehetséges keveredésére/szennyeződésére. A sarzs érvénytelenítésre kerül, és nem készül jelentés. (Ez a VeriSeq NIPT Solution v2 szerverszoftver v2.2 és újabb verzióira érvényes.)

Az ANOMALY DETECTED (Rendellenesség detektálva) eredmény azt jelenti, hogy a minta pozitív a kiválasztott szűrési típusnak és nemi kromoszóma jelentési lehetőségnek megfelelő egy vagy több rendellenesség szempontjából. Ha rendellenesség mutatható ki, a jelentés a rendellenesség leírását tartalmazza citogenetikai jelölésekkel.

A VeriSeq NIPT Assay Software v2 a szekvenálás során nyert statisztikai adatok alapján elvégzi mindegyik minta esetén a magzati frakció becslését (FFE). Az FFE a vizsgálat által kimutatott magzati cfDNS aránya, amely kerekített százalékos értéként kerül jelentésre. Ennek az értéknek az átlagos szórása minden minta esetén 1,3%. Az FFE önmagában nem használható a minták kizárására az eredmények jelentésekor.

A kromoszómák reprezentációjának azonosításához a VeriSeq NIPT Assay Software v2 a Különálló magzati aneuploiditási konfidencia vizsgálatot (iFACT) használja, amely egy dinamikus határérték-mérőszám, amely jelzi, hogy a rendszer létrehozott-e elegendő szekvenálási adatot az egyes mintákra jellemző becsült magzati frakció alapján. A negatív azonosítást csak akkor jelenti a rendszer, ha a minta eléri az iFACT határértéket. Ha a minta nem éri el a határértéket, a minőség-ellenőrzés eredménye FAILED iFACT (Sikertelen iFACT), és a rendszer nem generál eredményt.

Az iFACT meghatározásán kívül a VeriSeq NIPT Assay Software v2 több más minőségi mérőszámot is figyelembe vesz az elemzés során. Ezek közé tartozik a referencia-génterületek lefedettségének egyenletessége és a cfDNS-fragmentumok hosszának eloszlása. Az elfogadható tartományon kívüli eredmények esetén a minőség-ellenőrzési jelölés vagy minőség-ellenőrzési sikertelenség jelzése jelenik meg. A minőség-ellenőrzés sikertelensége esetén a rendszer nem generál eredményt a mintához. A minta sikertelen minőség-ellenőrzése esetén a feldolgozása ismét elvégezhető, ha a vérvételi csőben van elegendő plazma.

A VeriSeq NIPT Solution v2 adatokat generál, amelyek felhasználhatók a végleges leletben. Nem hoz létre végleges leletet. A kezelőorvosnak küldendő végleges lelet kialakításáért és tartalmáért az ügyfél felelős. Az Illumina nem felelős az ügyfél által elkészített végleges lelet megfogalmazásának pontosságáért.



### FIGYELEM!

Minden mintánál ellenőrizze a becsült magzati frakciót. Ha az egy futtatáshoz tartozó összes mintában hasonló a becsült magzati frakció, lehetséges, hogy a minták összekeveredtek, és ez okozta az eredményeket. A hibaelhárításhoz kérjen segítséget az Illumina műszaki ügyfélszolgálatától.

## Teljesítményjellemzők

A következő, a klinikai teljesítményt és az analitikai teljesítményt ismertető fejezetekben bemutatott adatok a használati utasításban szereplő protokollok és anyagok, illetve kiindulási mintaként plazma használatával keletkeztek. Az ebben a fejezetben szereplő minden adat NextSeq 500/550 szekvenálórendszeren vagy NextSeq 550Dx szekvenálórendszeren, a következő beállítások használatával keletkezett:

	NextSeq 500/550	NextSeq 550Dx
A készülék szoftvere	NextSeq Control Software 4.0	NextSeq Operating Software 1.3
A reagenskészlet verziója	NextSeq 500/550 High Output v2.5 (75 ciklus) Reagent Kit	NextSeq 550Dx High Output v2.5 (75 ciklus) Reagent Kit
Szekvenálási módszer	2 x 36 bázis hosszúságú, páros végű szekvenálási futtatás nagy teljesítményű módban	2 x 36 bázis hosszúságú, páros végű szekvenálási futtatás nagy teljesítményű módban

## Klinikai vizsgálat

A VeriSeq NIPT Solution v2 szoftver klinikai pontosságának meghatározása egy magzattal vagy ikrekkel terhes nőktől származó plazmaminták értékelésével történt. Plazmabankból származó, a donor azonosítására alkalmatlan, perifériás teljes vérből korábban készített plazmaminták vizsgálata történt. Több mint 45 000 mintát vettek figyelembe a vizsgálatba való bevonásra. Ezekon a mintákon korábban prenatalis szűrést végeztek magzati kromoszóma-aneuploiditás és legalább 7 Mb hosszúságú részleges deléciók és duplikációk tekintetében. Minden, érintett terhességből származó mintán és a nem érintett terhességekből származó, nem válogatott minták egy részén végeztek vizsgálatot, ha az illető terhesség klinikai eredményei rendelkezésre álltak, és a minta megfelelt a kritériumoknak. A vizsgálatban összesen 2335 minta elemzése történt. Ebből 2328 minta származott egyes terhességből és hét minta ikerterhességből.

Ezek közül 28 (1,2%, 28/2335) minta esetén volt sikertelen a minőség-ellenőrzés az elvégzett szekvenálás adatainak elemzése során:

- 27 sikertelen iFACT-eredmény (egy genotípusa XO, 26 nem érintett)
- Egy sikertelen eredmény a várható tartományon kívül eső adatok miatt

## Demográfiai adatok és a terhességek jellemzői

Az [7. táblázat](#) van összefoglalva az anyai életkor, a gesztációs kor és a terhesség trimesztere a teljes genomra kiterjedő szűrésben szereplő minták esetén, az ismert mozaicizmusokkal együtt. A vizsgálati minták többségét (98%) a terhesség első trimeszterében vették.

Összehasonlították az alapszintű szűrési és a teljes genomra kiterjedő szűrési csoport demográfiai adatait, és nem mutatkozott statisztikai eltérés. A demográfiai adatok és a terhesség jellemzői hasonlóak voltak az ismert mozaicizmusokat tartalmazó és az azokat nem tartalmazó csoportban.

7. táblázat Demográfiai adatok és a terhességek jellemzői

Statisztikai adat	Teljes genomra kiterjedő (az ismert mozaicizmusokkal együtt)
Minták száma	2307*
<b>Anya életkora – év</b>	
Átlag	35,08
Szórás	4,04
Medián	34,95
25. percentilis, 75. percentilis	32,31, 37,79
Minimum, maximum	20,22, 53,02
<b>Gesztációs kor a vérvételkor – hét</b>	
Átlag	10,93
Szórás	1,20
Medián	10,57
25. percentilis, 75. percentilis	10,29, 11,14
Minimum, maximum	10,00, 27,86
<b>Terhesség trimesztere – n (%)</b>	
< első (<14 hét)	2,252 (98%)
Második	54 (2%)
Harmadik (≥ 27 hét)	1 (0%)

\* A végleges bemutatott minták 7 ikerterhességet tartalmaznak.

## Klinikai teljesítmény

A VeriSeq NIPT Solution v2 által adott eredményeket összehasonlították a klinikai viszonyítási alapot jelentő eredményekkel. A vizsgálat minden mintájánál rendelkezésre álltak a magzati kromoszóma-aneuploiditásra és a legalább 7 Mb hosszúságú részleges deléciókra és duplikációkra vonatkozó, klinikai viszonyítási alapot jelentő eredmények („klinikai igazság”). Az ebben a vizsgálatban szereplő mintáknál klinikai viszonyítási alapként a kromoszómavizsgálat eredménye vagy az újszülött fizikális vizsgálata és egy negatív NGS-alapú NIPT-szűrési eredmény szolgált. A klinikai viszonyítási alapot jelentő adatok osztályozását képzett egészségügyi szakemberek végezték a támogató által készített orvosi kódolási dokumentum alapján.

A kromoszóma-vizsgálat kariotipizálási, fluoreszcens in situ hibridizációs (FISH) vagy összehasonlító genomikai hibridizációs kromoszóma-microarray (CMA) módszerrel történt. A kromoszóma-vizsgálatot újszülött- vagy csecsemőkorban vett perifériás vér, nyál, fogamzásból keletkezett szövet (POC), amniocita, chorionboholy, méhlepényszövet vagy posztnatális köldökzsinórvér mintából végezték.

A mozaicizmus definíciója kettő vagy több, különböző kromoszóma-összetételű sejtvonal jelenléte egy egyénben. A sejtvonalak egy zigótából származnak. A mozaicizmus típusa és mértéke attól függ, hogy az azt létrehozó esemény az embriogenezis és a magzati fejlődés során mikor következett be. A prenatális diagnózisokban különböző típusú mozaicizmus jelenik meg attól függően, hogy a kóros és a normális sejtvonal hogyan oszlik el a cytotrophoblastok, a mesenchyma és a magzat szöveteiben.<sup>10</sup> Mozaicizmus előfordul minden kromoszóma-rendellenesség esetén, azonban a ritka triszómiák esetén gyakoribb a mozaicizmus, mint a 21-es, 18-as és 13-as kromoszómák triszómiái (T21, T18 és T13) esetén.<sup>11</sup> A teljesítmény értékelésében a mozaicizmus esetei a teljes genomra kiterjedő elemzés részét képezték, mert e vizsgálat célját képezi a ritka autoszomális aneuploiditások (RAA) kimutatása.

## Az alapszintű szűrés teljesítménye

Az alapszintű szűrés a T21, T18 és T13 rendellenességeket tartalmazza. Az elemzésben 2243 egyes és ikerterhesség mintái szerepelnek. Mind a hét ikerterhesség helyesen azonosításra került T21-ként, és ezek nem szerepelnek a táblázatban.

**8. táblázat** A VeriSeq NIPT Solution v2 szenzitivitása és specificitása a 21-es, 18-as és 13-as triszómiák kimutatásában egyes terhességekben végzett alapszintű szűrés esetén (kivéve az ismert mozaicizmusokat)

	<b>T21</b>	<b>T18</b>	<b>T13</b>
Szenzitivitás	> 99,9% (130/130)	> 99,9% (41/41)	> 99,9% (26/26)
2 oldalas 95%-os konfidencia-intervallum	97,1%, 100%	91,4%, 100%	87,1%, 100%
Specificitás	99,90% (1982/1984)	99,90% (1995/1997)	99,90% (2000/2002)
2 oldalas 95%-os konfidencia-intervallum	99,63%, 99,97%	99,64%, 99,97%	99,64%, 99,97%

Az alapszintű szűrési vizsgálat [8. táblázat](#) bemutatott teljesítményének számításához kizárásra került 64 minta, amelyeknél RAA, autoszomális részleges deléciók vagy duplikációk, illetve ismert mozaicizmus volt jelen. E 64 minta közül nyolc esetben T21 és három esetben T18 mozaicizmus volt jelen. E 11 minta közül ötöt a kimutatott rendellenesség szempontjából érintettként azonosított a VeriSeq NIPT Assay Software v2.

## A teljes genomra kiterjedő szűrés teljesítménye

A teljes genomra kiterjedő szűrés esetén rendellenességnek minősülnek a triszómiák, a monoszómiák és a legalább 7 Mb hosszúságú részleges deléciók és duplikációk. A teljes genomra kiterjedő szűrés mintái között 36



ismert mozaicizmusos minta szerepelt. Az elemzésben 2307 egyes és ikerterhesség mintái szerepeltek. Mind a hét ikerterhesség helyesen azonosításra került a 21-es kromoszóma rendellenességeként, és ezek nem szerepelnek a következő táblázatokban.

## A teljes genomra kiterjedő szűrés teljesítménye bármilyen rendellenesség kimutatásában

9. táblázat A VeriSeq NIPT Solution v2 szenzitivitása és specifitása bármilyen rendellenesség kimutatásában a teljes genomra kiterjedő szűrés esetén (az ismert mozaicizmusokkal együtt)

	Szenzitivitás	Specifitás
Becsült érték – % (n/N)	95,5% (318/333)	99,34% (1954/1967)
2 oldalas 95%-os konfidencia-intervallum	92,7%, 97,3%	98,87%, 99,61%

## A teljes genomra kiterjedő szűrés teljesítménye a ritka autoszomális aneuploiditások kimutatásában

10. táblázat A VeriSeq NIPT Solution v2 szenzitivitása és specifitása a ritka autoszomális aneuploiditások (RAA) kimutatásában a teljes genomra kiterjedő szűrés esetén (az ismert mozaicizmusokkal együtt)

	Szenzitivitás	Specifitás
Becsült érték – % (n/N)	96,4% (27/28)	99,80% (2001/2005)
2 oldalas 95%-os konfidencia-intervallum	82,3%, 99,4%	99,49%, 99,92%

## A teljes genomra kiterjedő szűrés teljesítménye a részleges deléciók és duplikációk kimutatásában

11. táblázat A VeriSeq NIPT Solution v2 szenzitivitása és specifitása a legalább 7 Mb méretű részleges deléciók és duplikációk kimutatásában a teljes genomra kiterjedő szűrés esetén (az ismert mozaicizmusokkal együtt)

	Szenzitivitás	Specifitás
Becsült érték – % (n/N)	74,1% (20/27)	99,80% (2000/2004)
2 oldalas 95%-os konfidencia-intervallum	55,3%, 86,8%	99,49%, 99,92%

## Az alapszintű szűrés és a teljes genomra kiterjedő szűrés teljesítménye közötti különbségek

A gyakori triszómiákra és a nemi kromoszómák aneuploiditására vonatkozó pontozási módszer ugyanaz az alapszintű és a teljes genomra kiterjedő szűrés esetén. Az alapszintű szűrés esetén a szoftver az algoritmust csak a T21, T18 és T13 eltérésre végzi el. A teljes genomra kiterjedő szűrés viszont ugyanezzel a módszerrel vizsgál minden triszómiát, RAA-t, illetve részleges duplikációt és deléciót.

Az alapszintű és a teljes genomra kiterjedő szűrés teljesítményének ismertetett jelentése között két különbség van. Az első, hogy a teljes genomra kiterjedő szűrés esetén a gyakori triszómiák, RAA-k, illetve részleges duplikációk és deléciók szempontjából ismert mozaicizmust mutató mintákat is bevonták a teljesítmény értékelésébe. A második, hogy a teljes genomra kiterjedő szűréssel preferenciálisan leletezhető a részleges duplikáció vagy deléció egy teljes triszómia mellett. A teljes triszómia jelenléte egy részleges duplikáció vagy deléció mellett a kiegészítő jelentésben található LLR-pontszám alapján állapítható meg.

### A mozaicizmus szereplése a teljes genomra kiterjedő szűrésben

A mozaicizmus a vizsgálat korlátozásai között szerepel. Ha mozaicizmus van jelen, a rendellenességre utaló magzati jel kisebb mértékű, és ezért nehezebb lehet kimutatni a vizsgálat teljes specificitásának veszélyeztetése nélkül. Mivel azonban mozaicizmus esetén fontosabbak a genetikai tartalom megnövekedésével járó rendellenességek, a mozaicizmust mutató mintákat is bevonták a teljes genomra kiterjedő szűrésbe.

A teljes genomra kiterjedő szűrésben szereplő, de alapszintű szűrésben nem szereplő 64 minta közül 36 esetben a klinikai referenciamódszerrel mozaicizmust mutattak ki. E 36 mintából 23 esetén az azonosított eltérés megfelelt a klinikai referenciamódszer eredményének.

### A részleges deléció vagy duplikáció megkülönböztetése a teljes kromoszóma aneuploiditásától

A VeriSeq NIPT Solution v2 menüjében választható az alapszintű szűrés vagy a teljes genomra kiterjedő szűrés. Az alapszintű szűrés esetén ANOMALY DETECTED (Rendellenesség detektálva) eredmény csak akkor keletkezik, ha a 21., 18. vagy 13. kromoszóma teljes aneuploiditása mutatható ki, és a minőség-ellenőrzési feltételek teljesülnek. A teljes genomra kiterjedő szűrés esetén a rendszer kimutatja mindegyik autoszóma aneuploiditását és a legalább 7 megabázisnyi részleges deléciókat és duplikációkat.

A teljes genomra kiterjedő szűrés esetén, ha mind egy teljes kromoszómát érintő esemény, mind az érintett kromoszómán elhelyezkedő CNV-esemény meghaladja az LLR-határértéket, a rendszer a részleges deléciók vagy duplikációs eseményeknek prioritást ad a teljes kromoszóma eltérésének jelentésével szemben, ha a részleges deléció vagy duplikáció az illető kromoszóma legfeljebb 75%-át érinti. Ha a kimutatott részleges deléció vagy duplikáció kiterjedése nagyobb mint a kromoszóma 75%-a, a rendszer a teljes kromoszóma triszómiáját vagy monoszómiáját jelenti, amennyiben ezzel egyidejűleg a teljes kromoszóma is meghaladja az LLR-határértéket. Ezért a nagy méretű, de a kromoszóma legfeljebb 75%-át érintő deléciók és duplikációk a teljes kromoszóma aneuploiditását is jelezhetik.

Minden minta esetén a teljes kromoszóma besorolására vonatkozó LLR pontszám megtalálható a kiegészítő jelentésben. Az LLR pontszámot az **95%-os kimutatási valószínűség a VeriSeq NIPT Solution v2 segítségével, átlagos területek esetén, a méret szerint a(z) 62. oldalon** megadott határérték figyelembevételével kell értékelni az eredmény értelmezése előtt. Például egy CNV-azonosítása a határértéket meghaladó kromoszómaszintű LLR pontszámmal együtt még erősebben alátámasztja a teljes kromoszóma aneuploiditásának megfelelő értelmezést, lásd az **12. táblázat** bemutatott példát.

A klinikai vizsgálatban két egyes terhességből származó minta szerepelt, amelyekben a kromoszóma (egyik esetben a 21., a másik esetben a 18. kromoszóma) méretének kevesebb mint 75%-át érintő, nagy méretű duplikáció volt jelen (lásd: **12. táblázat**). Mindkét esemény részleges duplikációként került jelentésre, és nem a kromoszóma teljes triszómiájaként. Ezeknek az eseményeknek az LLR pontszáma a teljes triszómiának megfelelő eredményre utaló határérték fölött volt. A NIPT pozitív eredménye mind a részleges duplikáció, mind a teljes triszómia azonosítása esetén a beteg számára a prenatális diagnosztika felajánlását indokolja az eredmény megerősítése céljából.

12. táblázat A teljes genomra kiterjedő szűréssel azonosított nagy duplikációs események példái

	Klinikai igazság	A rendszer teljes genomra vonatkozó jelentése	A rendellenesség mérete (Mb)	Méret a kromoszóma százalékaként megadva	LLR pontszámok
1. minta	21-es triszómia, egyes terhesség	21-es kromoszóma részleges duplikációja	22,50	48,9	19,43
2. minta	18-as triszómia, egyes terhesség	18-as kromoszóma részleges duplikációja	47,00	60,2	12,99

Az aneuploiditási eredmények jelentésére vonatkozó minőség-ellenőrzési mérőszámokkal kapcsolatos további információkért lásd a *VeriSeq NIPT Solution v2 szoftverútmutatóját* (dokumentumszám: 1000000067940).

## Nemi kromoszómák

A VeriSeq NIPT Solution v2 nemi kromoszómákra vonatkozó eredményeit összehasonlították a klinikai viszonyítási alapot jelentő eredményekkel, és ezek a következő táblázatban vannak összefoglalva. A százalékos egyezési arány mindegyik klinikai viszonyítási alapot jelentő eredmény esetén jelentett nemi kromoszómák szerint van ábrázolva. A százalékos egyezési arány számítása: azoknak a mintáknak a száma, amelyeknél a VeriSeq NIPT Solution v2 által adott eredmény megegyezik a klinikai viszonyítási alap eredményével, osztva a klinikai viszonyítási alap által azonosított összes minta számával.

13. táblázat A magzat nemének százalékos egyezési aránya\*

A magzat nemének besorolása		Fenotípus az újszülött fizikális vizsgálata alapján		Citogenetikai eredmények							
Kimutatás eredménye	Kario-típus	Nő	Férfi	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYY	Egyéb**	Hiányzik
Anomaly Not Detected (Rendellenesség nem detektálható)	XX	997	0	21	0	2	0	0	0	0	0
Anomaly Not Detected (Rendellenesség nem detektálható)	XY	0	966	0	15	0	0	0	0	0	1
Anomaly Detected (Rendellenesség detektálható)	XO	0	0	0	0	19	0	0	1	0	0
Anomaly Detected (Rendellenesség detektálható)	XXX	0	0	0	0	0	17	0	0	1	0
Anomaly Detected (Rendellenesség detektálható)	XXY	0	0	0	0	0	0	23	0	1	0
Anomaly Detected (Rendellenesség detektálható)	XYY	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0

A magzat nemének besorolása		Fenotípus az újszülött fizikális vizsgálata alapján		Citogenetikai eredmények								
		Nő	Férfi	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYY	Egyéb**	Hiányzik	
<b>Kimutató eredménye</b>	<b>Kario-típus</b>											
Összes		997	966	21	15	21	17	23	12	2		1
Százalékos egyezési arány		100	100	100	100	90,5	100	100	91,7	Nem értelmezhető		Nem értelmezhető

\* Öt ikerterhességnél helyesen történt az Y-kromoszóma jelenlétének azonosítása. Két terhesség esetén helyesen történt az Y-kromoszóma hiányának azonosítása.

\*\* Az egyéb citogenetikai eredmények: XXXXX, illetve XXYY.

## A VeriSeq NIPT Solution v2 pozitív prediktív értéke és negatív prediktív értéke

A vizsgálat pozitív prediktív értéke (PPV) és negatív prediktív értéke (NPV) arról tájékoztat, hogy a vizsgálat milyen mértékben alkalmas a klinikai döntésekhez szükséges információk nyújtására a vizsgálat szenzitivitása és specifitása, valamint a magzati triszómia fennállásának a vizsgálat elvégzése előtti valószínűsége (prevalencia) figyelembe vételével. Mivel a PPV és az NPV függ a prevalenciától, és ezen aneuploiditások prevalenciája különböző lehet a különböző alanypopulációkban, a PPV és az NPV kiszámításra került több lehetséges prevalencia esetére a klinikai pontossági vizsgálatban az alapszintű szűrés esetén (ismert mozaicizmusok nélkül) megfigyelt szenzitivitási és specifitási értékek alapján. A [17. táblázat](#) a teljes genomra kiterjedő szűrésre vonatkozó adatokat tartalmazza (az ismert mozaicizmusokkal együtt).

14. táblázat A 21-es triszómia prevalenciája, PPV és NPV értéke az alapszintű szűrés esetén (ismert mozaicizmusok nélkül)

Prevalencia (%)	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

15. táblázat A 18-es triszómia prevalenciája, PPV és NPV értéke az alapszintű szűrés esetén (ismert mozaicizmusok nélkül)

Prevalencia (%)	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

16. táblázat A 13-es triszómia prevalenciája, PPV és NPV értéke az alapszintű szűrés esetén (ismert mozaicizmusok nélkül)

Prevalencia (%)	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

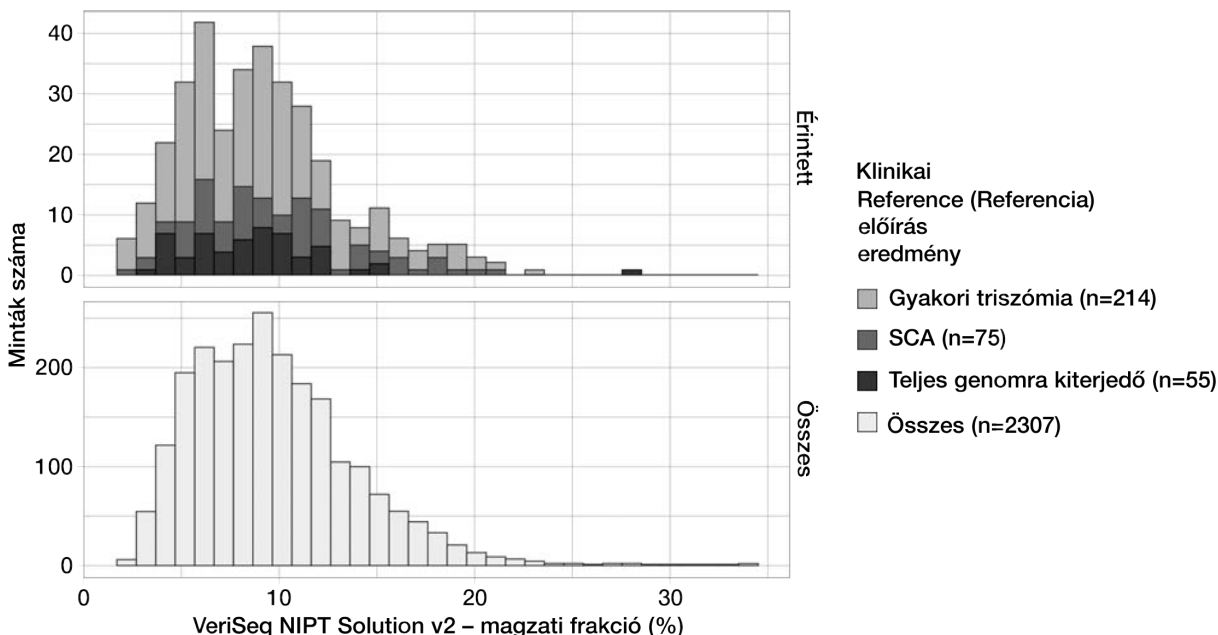
17. táblázat Bármilyen rendellenesség prevalenciája, PPV- és NPV-értéke a teljes genomra kiterjedő szűrés esetén (az ismert mozaicizmusokkal együtt)

Prevalencia (%)	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

## A magzati frakció eloszlása

A VeriSeq NIPT Solution v2 által meghatározott magzati frakció (FF) becsült értékei a teljes genomra kiterjedő szűrés esetén, mozaicizmusokkal együtt, a klinikai viszonyítási alapot jelentő eredmény szerint az **1. ábra** szerepelnek.

1. ábra A magzati frakció eloszlása



5 minta több kategóriában is rendellenességet mutatott.

A gyakori triszómia a 21-es, 18-as és/vagy 13-as kromoszóma triszómiáját jelenti.

A teljes genomra kiterjedő szűrés magában foglalja az RAA-t és a részleges deléciókat és duplikációkat.

Az FF becsült értéke 2% és 34% között változott, medián értéke 9% és interkvartilis (IQ) tartománya 6%–12%. A gyakori triszómiák, illetve a teljes genomra kiterjedő szűréssel azonosított események között az FF medián értéke 8%, az SCA-k esetében pedig 9%. A becsült FF tartománya hasonló volt mindegyik eredmény esetén. Nem látszik eltolódás az FF eloszlásában a gyakori triszómiák, az SCA-k, a teljes genomra kiterjedő szűrés által azonosított események és az összes minta között.

## Teljesítmény ikerterhességek esetén

### A 21-es, 18-as és 13-as triszómia és az Y-kromoszóma kimutatásának teljesítménye ikerterhességek esetén

Mivel a 21-es, 18-as és 13-as triszómia prevalenciája alacsony ikerterhességekben, csak kis számú érintett minta állt rendelkezésre a klinikai vizsgálathoz. A VeriSeq NIPT Solution v2 ikerterhességek esetén elérhető teljesítményének becsléséhez a klinikai mintákon tett megfigyeléseken alapuló *in silico* modellek segítségével történt ikerterhességek szimulálása. Ez a szimuláció konzisztens volt azzal a populációval, amely számára készült a vizsgálat. A magzati frakció eloszlását meghatározták körülbelül 4500 ikerterhességből származó

mintában, és ezt összehasonlítták körülbelül 120 000 egyes terhességből származó mintában tapasztalható eloszlással. A magzati frakció eloszlását az aneuploiditási státusz függvényében meghatározták egyes terhességekben azonosított rendellenességek esetén (1044 esetben 21-es triszómia, 307 esetben 18-as triszómia és 192 esetben 13-as triszómia). A két eloszlás kombinációja lehetővé tette az aneuploiditás kimutatására való következtetést ikerterhességek esetén. Kétpetējű és egypetējű ikerpárok szimulációja történt, és a célpopulációban való előfordulási arányuk súlyozott átlaga (2 kétpetējű terhességre jut 1 egypetējű) alapján történt a szenzitivitás becslése. A specificitás értékeléséhez nem érintett ikrek szimulációja történt.

Az egyes szimulált mintáknak a triszómia által érintett frakciója különböző módon került kiszámításra az egyes mintakategóriákban:

- Az egypetējű ikerpároknál az érintett frakció 1,0-ra van beállítva, mert ilyenkor a triszómia mindkét magzatot érinti.
- Kétpetējű ikrek esetén feltételezték, hogy csak az egyik érintett (két érintett kétpetējű iker rendkívül ritkán fordul elő). Az érintett frakció értékét szimulálták a magzati frakciók ismert eloszlása alapján, amelyet a különböző nemű ikrek klinikai mintái alapján határoztak meg. Konzervatív megközelítést alkalmazva feltételezték, hogy az érintett ikerre a két iker közül mindig az alacsonyabb magzati frakció érvényes. Korrekciós tényezőt alkalmaztak annak figyelembe vételére, hogy 13-as és 18-as triszómiás terhességekben a magzati frakció átlagosan alacsonyabb.
- A nem érintett ikrek esetén az érintett frakciót minden mintánál nullára állították.

A 18-as vagy 13-as triszómia által érintett ikrek esetén a minta érintett frakciójának megfelelő magzati frakciót csökkentették. A csökkentés arányos volt azzal, amennyivel alacsonyabb a magzati frakció a klinikai adatok szerint a 18-as vagy 13-as triszómiás egyes terhességekben az euploid terhességekhez viszonyítva.

A szimulált minták teljes magzati frakciója és érintett frakciója alapján kiszámították az aneuploiditási pontszámot a VeriSeq NIPT Solution v2 standard algoritmusával. A szenzitivitás számításához meghatározták, hogy a szimulált érintett ikrek aneuploiditási pontszáma milyen gyakran volt a megfelelő aneuploiditási határérték fölött. Hasonlóképpen a specificitás számításához meghatározták, hogy a szimulált nem érintett ikrek aneuploiditási pontszáma milyen gyakran volt a megfelelő aneuploiditási határérték alatt (18. táblázat). A 95%-os konfidencia-intervallum becslése az alapján történt, hogy az eredeti adatsorban szereplő tényleges klinikai minták között mennyi iker volt, akiket a megfelelő triszómia által érintettnek, illetve nem érintettnek minősítettek.

Az Y-kromoszóma jelenlétére vonatkozó szenzitivitás becsléséhez XY/XY és XX/XY kromoszómájú ikerpárokat szimuláltak. A becslés a célpopulációban való előfordulási arányuk súlyozott átlaga (1 XY/XY típusra jut 1 XX/XY típus) alapján történt. Az Y-kromoszóma jelenlétére vonatkozó specificitás becsléséhez XX/XX kromoszómájú ikerpárokat szimuláltak. A teljes magzati frakció értékeit a klinikai ikermintákban előforduló magzati frakciók ismert eloszlása alapján szimulálták.

Az XY/XY és XX/XY kromoszómájú ikrek esetében a megfelelő Y-kromoszóma-pontszámokat megbecsülték a fiúként osztályozott klinikai mintákban megfigyelhető, a magzati frakció és az Y-kromoszóma-pontszám közötti ismert összefüggés alapján. Csak az XX/XY ikrek esetén az érintett (férfi) magzati frakció értékét szimulálták a magzati frakcióknak az egy terhességen belül a két iker között tapasztalható eloszlása alapján, amelyet



különböző nemű ikrek klinikai mintái alapján határoztak meg. Konzervatív megközelítést alkalmazva az érintett frakciót a két iker közül a kisebbre vonatkozó arány alapján állapították meg. Minden szimulált XX/XY minta esetén az Y-kromoszóma-pontszámot megszorozták az érintett aránnyal.

Az XX/XX ikrek esetén az Y-kromoszóma-pontszámokat a nőneműként azonosított egyes terhességekben megfigyelt klinikai minták alapján becsülték meg. Ezután az Y-kromoszóma-pontszám és a teljes magzati frakció alapján osztályozták mindegyik szimulált mintát Y-kromoszómát tartalmazóként vagy azt nem tartalmazóként a VeriSeq NIPT Solution v2 standard algoritmusával.

A szenzitivitás számításához meghatározták, hogy a szimulált XY/XY vagy XX/XY kromoszómájú ikreket milyen gyakran azonosították helyesen Y-kromoszómát tartalmazóként. A specificitás számításához meghatározták, hogy a szimulált XX/XX kromoszómájú ikreket milyen gyakran azonosították helyesen Y-kromoszómát nem tartalmazóként. A 95%-os konfidencia-intervallum becslése az alapján történt, hogy az eredeti adatsorban szereplő tényleges klinikai minták között mennyi iker volt, akiket Y-kromoszómát tartalmazóként vagy azt nem tartalmazóként azonosítottak.

18. táblázat A 13-es, 18-as és 21-es triszómiára vonatkozó becsült értékek a szimulált ikerterhességek csoportjában

	21-es triszómia	18-as triszómia	13-as triszómia	Y-kromoszóma jelenléte
Szenzitivitás	96,4%	95,7%	93,6%	> 99,9%
2 oldalas 95%-os konfidencia-intervallum	(86,4%, 98,9%)	(68,3%, 99,4%)	(64,1%, 98,9%)	(99,9%, > 99,9%)
Specificitás	99,9%	> 99,9%	> 99,9%	> 99,9%
2 oldalas 95%-os konfidencia-intervallum	(99,8%, > 99,9%)	(99,9%, > 99,9%)	(99,9%, > 99,9%)	(99,7%, > 99,9%)

A 18. táblázat tartalmazza a VeriSeq NIPT Solution v2 szenzitivitásának és specificitásának becsült értékeit és 95%-os konfidencia-intervallumait a 21-es, 18-as és 13-as triszómia és az Y-kromoszóma jelenlétének kimutatásában a célpopulációnak megfelelő szimulált ikerterhességek csoportjában. A konfidencia-intervallumok becslése azon klinikai, a minőség-ellenőrzési feltételeknek megfelelő ikerminták száma alapján történt, akiket a megfelelő triszómia által érintettnek, illetve nem érintettnek minősítettek. A szenzitivitás számításához feltételezték, hogy az érintett ikerterhességek kétharmada kétpetéjű, egy érintett magzattal, illetve egyharmaduk egytetéjű, ahol mindkét magzat érintett.

Az 18. táblázat felsorolt becslések csak 2 ikerből álló terhességekre vonatkoznak. A hármas vagy többes terhességek még alacsonyabb prevalenciája miatt az ezekre vonatkozó adatok nem voltak elégségesek az aneuploiditás kimutatása pontosságának meghatározására szolgáló, megfelelő statisztikai modellek megállapításához.

# Analitikai teljesítmény

## Precizitás

A vizsgálat precizitásának meghatározásához és mennyiségi értékeléséhez a VeriSeq NIPT Solution v2 elemzési folyamatot kezelő szoftverrel végzett két korábbi vizsgálat adatainak ismételt elemzése történt:

- Több helyszínen végzett reprodukálhatósági vizsgálat, amely egyetlen reagenstétellel, három kezelő által három helyszínen végzett három futtatásból, összesen kilenc futtatásból állt
- Laboratóriumon belüli reprodukálhatósági vizsgálat, amely egy helyszínen, két ML STAR készüléken, két szekvenálórendszeren és három szekvenálási reagenskészlettel végzett 12 futtatásból állt

A precizitási vizsgálat célkitűzése a vizsgálat precizitásának és a különböző készülékek, könyvtár-előkészítési reagenskészletek és szekvenálási reagenskészletek közötti variabilitásának meghatározása volt a 21-es triszómia (T21) és az Y-kromoszóma jelenlétének kimutatásában. A fentiekben nem ismertetett körülményekre vonatkozó reprodukálhatóságot nem értékelték a vizsgálatok részeként.

5%-os magzati frakciójú 21-es triszómiás keveréket készítettek terhes nők (akik magzata 21-es triszómiás volt) és nem terhes nők plazmájából kivont cfDNS keverésével. Készítettek egy 10%-os magzati frakciójú, fiúval (XY kromoszómájú magzat) terhes nőt szimuláló cfDNS-keveréket is. Mindkét vizsgálatban mindegyik futtatásban mintapanel 4 példányt tartalmazott az 5%-os magzati frakciójú 21-es triszómiás plazmakeverékből és 20 példányt a 10%-os magzati frakciójú, fiúval terhes nőt szimuláló cfDNS-keverékből. A két vizsgálatban együtt 10 nap alatt összesen 21 futtatás történt.

A 21-es triszómiát és az Y-kromoszómát azért választották az értékelésre, mert reprezentatívak a klinikai állapotokra és az anomália kimutatásának összetettségére. A legkisebb humán autoszóma, a 21-es kromoszóma mérete közvetlenül befolyásolja a 21-es triszómia kimutatásának a szenzitivitását, főleg alacsony magzati frakciók, így a vizsgálatban használt érték esetén. Az anyai plazmában jelen lévő Y-kromoszóma kizárólag magzati eredetű, ezért könnyebb a kimutatása.

A 21-es kromoszómára vonatkozó LLR pontszám és az Y-kromoszóma normalizált kromoszóma értékének (NCV) megfigyelt átlaga és szórása azt mutatta, hogy a variabilitás legnagyobb forrása a replikátum szórása (SD). Ehhez a helyszínek, a készülékek és a reagenstételek közötti eltérések csak jelentéktelen mennyiségű variabilitást adtak hozzá; ez látható a teljes szórás és a replikátumok szórása közötti különbségből az [19. táblázat](#) és a [20. táblázat](#).

19. táblázat A több helyszínen végzett (reprodukálhatósági) szekvenálási eredmények szórása (SD)

Eredmény	N	Átlag	Replikátum szórása	Teljes reprodukálhatósági SD*
21-es kromoszóma LLR pontszáma	36	34,43	11,36	11,36
Y-kromoszóma NCV értéke	180	190,56	7,96	10,20

\* A teljes SD magában foglalja a helyszínt, a kezelőt, a futtatást, a nap és a replikátum szerinti szórást.

20. táblázat A laboratóriumon belüli szekvenálási eredmények precizitásának összefoglalása

Eredmény	N	Átlag	Replikátum szórása	Teljes laboratóriumon belüli SD*
21-es kromoszóma LLR pontszáma	48	36,01	9,07	10,25
Y-kromoszóma NCV értéke	240	198,68	7,63	7,82

\* A teljes SD magában foglalja a szekvenálókészülék, a tétel, a kezelő, a futtatás, a nap és a replikátum szerinti szórást.

Egy további vizsgálatban összehasonlították a VeriSeq NIPT Solution v2 szekvenálási pontosságát (teljes szórás) az áramlási cella 2.0-s verziójával és 2.5-ös verziójával. A vizsgálatban kombinációnként két áramlási cellát (v2.0 és v2.5), három szekvenálókészlet-tételt, négy készüléket és két szekvenálási futtatást, összesen tehát 48 futtatást hasonlítottak össze. Egy szekvenálási keveréket készítettek manuálisan elkészített cfDNS-lemezek tartalmából. A mintapanel 4 példányt tartalmazott az 5%-os magzati frakciójú 21-es triszómiás plazmakeverékből és 20 példányt a 10%-os magzati frakciójú, fiúval terhes nőt (XY magzat) szimuláló cfDNS-keverékből. A vizsgálat eredményei a [21. táblázat](#) láthatók, és alátámasztják, hogy a v2.0 és a v2.5 áramlási cella szekvenálási precizitása nem különbözik.

21. táblázat A v2.0 és a v2.5 áramlási cella szekvenálási eredményei precizitásának összefoglalása

Eredmény	Megfigyelések száma verzióként	v2.0 – teljes szórás*	v2.5 – teljes szórás*	Statisztikai eredmény**
21-es kromoszóma LLR pontszáma	96	9,56	8,44	Statisztikailag egyenértékű (p=0,25)
Y-kromoszóma NCV értéke	480	7,74	7,38	Statisztikailag egyenértékű (p=0,38)

\* A teljes SD magában foglalja a szekvenálókészülék, a tétel, a futtatás, a nap és a replikátum szerinti szórást.

\*\*A varianciák egyenlőségére vonatkozó F-teszt (a szórások négyzete) alapján

## Keresztszennyeződés

Vizsgálták a keresztszennyeződés előfordulását a VeriSeq NIPT Solution használatával végzett minta-előkészítési munkafolyamat során. Nem terhes nőkből (XX) és felnőtt férfiaktól (XY) származó plazmaminta-keverékeket vizsgáltak 4 db 96 üregű lemezen felváltva elosztott mintákkal. N = 48 a női és a férfi minták esetén lemezenként, összesen 192 női és 192 férfi minta. A női minták egyikében sem mutatkozott az Y-kromoszómának a becsült háttérnél magasabb előfordulása, ami azt jelenti, hogy nem történt keresztszennyeződés a férfi mintákból egy lemezen belül. Nem találtak kimutatható keresztszennyeződést a VeriSeq NIPT Solution használata esetén.

## Potenciálisan zavaró anyagok

A VeriSeq NIPT Solution működését potenciálisan zavaró anyagok hatásának értékelése történt a vizsgálatnak az ilyen anyagok jelenlétében tapasztalt teljesítménye értékelésével.

Nem érintett, leánymagzattal terhes (XX magzat) anyai plazmaminta-keverékekhez hozzáadtak (endogén) albumint, bilirubint, hemoglobint és triglicerideket. Mindegyik vizsgált anyagot két koncentrációban vizsgálták (n=16 mindkettő esetében). Nem tapasztaltak a vizsgálat teljesítményére kifejtett zavaró hatást.

22. táblázat Potenciálisan zavaró (endogén) anyagok

Vizsgált anyag	Alacsonyabb vizsgált koncentráció (mg/mL)	Magasabb vizsgált koncentráció (mg/mL)
Albumin	35	50
Bilirubin	0,01	0,15
Hemoglobin	100	200
Triglicerid	1,5	5

A plazmában természetesen előforduló genomikus DNS (gDNS) is potenciálisan zavarhatja a vizsgálat teljesítményét, mert a magzati cfDNS-sel együtt kivonásra kerülhet. Genomikus DNS-t adtak a nem érintett, leánymagzattal terhes (XX magzat) anyai plazmából kivont cfDNS-hez mintánként 1,6, 3,3 és 4,9 ng mennyiségben (ez a teljes vér 7 napi tárolása után várható átlagos gDNS-koncentráció plusz a szórás 1-szerese, 2-szerese és 3-szorosa<sup>12</sup>). Ezután a mintákat vizsgálták a VeriSeq NIPT Solution segítségével (n=16 mindegyik koncentráció esetén). A magasabb koncentrációjú gDNS jelenlétében nem tapasztaltak a vizsgálat teljesítményére kifejtett zavaró hatást.

A terhesség közben gyakran használt vagy rendelt gyógyszerekből származó (exogén) 20 potenciálisan zavaró anyagot vizsgáltak az EP7-A2 (Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline-Second Edition) dokumentumban leírtak szerint. A 20 potenciálisan zavaró anyagból négy keveréket készítettek, és ezeket nem érintett, leánymagzattal terhes (XX magzat) anyai plazmához adták, majd vizsgálták a VeriSeq NIPT Solution segítségével (N=16 mindegyik keverék esetén). Ezen exogén anyagok jelenlétében nem tapasztaltak a vizsgálat teljesítményére kifejtett zavaró hatást.

23. táblázat Potenciálisan zavaró (exogén) anyagok

1. keverék	2. keverék	3. keverék	4. keverék
Acetaminophen	Diphenhydramin	Albuterol	Cetirizin
Acetilcisztein	Erythromycin	Bupropion	Dextromethorphan
Bisoprolol	Guaifenesin	Koffein	L-aszorbinsav
Citalopram	Heparin	Sertralín	Metoprolol
Desloratadin	Lidokain	Nátrium-fluorid	Nadolol

## Kimutatási határérték

A kimutatási határérték (LOD) definíció szerint az a magzati frakció, amely a vizsgált állapot, például a 21-es triszómia kimutatása 95%-os valószínűségének felel meg. A VeriSeq NIPT Solution v2 használatával a különböző gyakori állapotokra vonatkozó kimutatási határérték (LOD) meghatározásához vizsgálatok és statisztikai elemzések történtek.

A VeriSeq NIPT Solution v2 rendszerrel feldolgozott érintett mintából egy vizsgált állapot kimutatása leginkább három tényezőtől függ:

- magzati frakció
- szekvenálási mélység
- a vizsgált genomikus terület mérete és összetettsége

Állandó szekvenálási mélységet feltételezve egy adott rendellenesség könnyebben kimutatható egy magasabb magzati frakciójú, mint egy alacsonyabb magzati frakciójú mintából. Hasonlóképpen, állandó magzati frakciót feltételezve, egy adott rendellenesség könnyebben kimutatható egy nagyobb szekvenálási mélységű, mint egy kisebb szekvenálási mélységű mintából. Végül, állandó magzati frakciót és szekvenálási mélységet feltételezve, a kisebb vagy kevésbé összetett genomikai területeken található rendellenességek nehezebben mutathatók ki, mint a nagyobb vagy kevésbé összetett rendellenességek.

A 21-es triszómia kimutatási határértékének (LOD) meghatározásához kevert 21-es triszómiás mintákból és kevert nem érintett mintákból készült keverékek vizsgálata történt. A kétféle anyagból titrációs sorozattal hét különböző (0%, 2%, 3%, 4%, 5%, 6% és 10%) magzati frakciót eredményező keveréket állítottak elő. Mindegyik szintet 10 példányban vizsgálták.

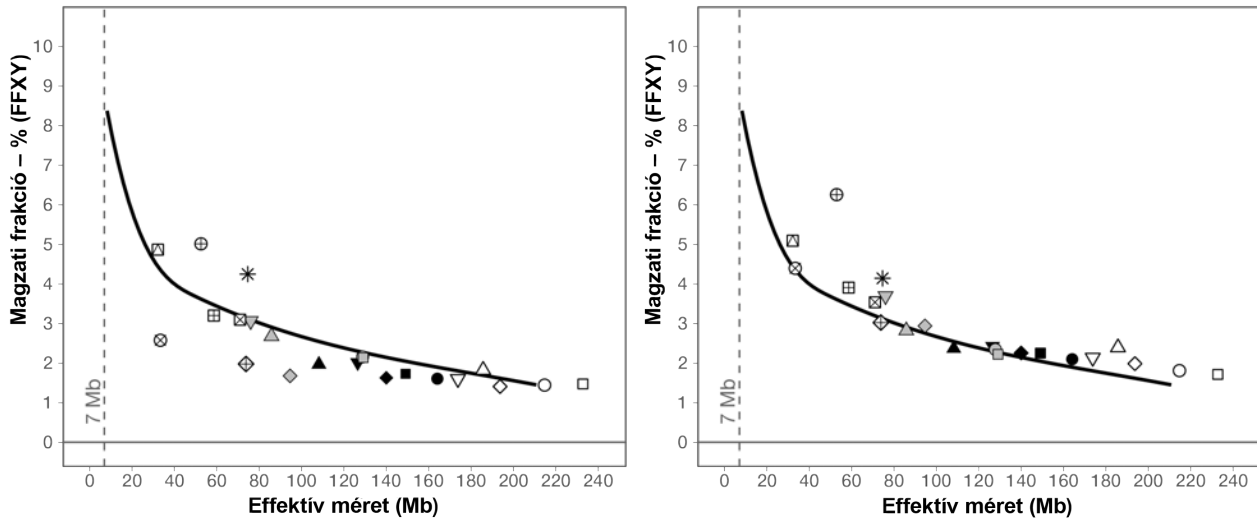
A magzati frakció LOD-meghatározása felbontásának növelése céljából a vizsgálat adatait kiegészítették egy in silico hígításból nyert adatokkal. A kísérleti hígítás és titrálás hatásainak szimulálására a szekvenálási adatok szabályozott keverését végezték. Ennek az in silico titrálásnak az adatai 14 magzatifrakció-szintet fedtek le (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% és 4,50%), szintenként 32 példánnyal. A keletkezett adatokat probit elemzéssel vizsgálták a 21-es triszómia kimutatási határértékének (LOD) meghatározásához.

Ettől függetlenül kifejlesztettek egy statisztikai modellt, amely előre jelezte bármilyen mintában bármilyen rendellenesség kimutatásának a valószínűségét a magzati frakció, a szekvenálási mélység és a genomikai méret/összettség alapján. Ezt a modellt 1405 XY mintából származó adatok alapján hozták létre. A 21-es triszómiának az ezzel a modellel előre jelzett kimutatási határértéke (LOD) megfelelt a feljebb leírt probit alapú becslés eredményének. E statisztikai modell segítségével megbecsülték a kimutatási határértékeket (LOD) mindegyik autoszóma aneuploiditása és a részleges deléciók és duplikációk esetében.

A [2. ábra](#) mutatja az átlagos területek 95%-os kimutatási valószínűségét a méret szerint, illetve az összes autoszóma esetében a triszómiák és a monoszómiák kimutatási határát. CNV LLR határérték: 15,1.

2. ábra 95%-os kimutatási valószínűség a VeriSeq NIPT Solution v2 segítségével, átlagos területek esetén, a méret szerint

A szimbólumok az autoszómális triszómiák kimutatásának határértékét mutatják. A szimbólumok az autoszómális monoszómiák kimutatásának határértékét mutatják.



Kromoszóma	Szimbólum	Triszómia		Monoszómia	
		LLR határérték	LoD (%)	LLR határérték	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

Kromoszóma	Szimbólum	Triszómia		Monoszómia	
		LLR határérték	LoD (%)	LLR határérték	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

# Hibaelhárítás

## VeriSeq NIPT Solution v2 – hibaelhárítás

Hibamód	Lehetséges eredmény	Értelmezés	Ajánlott művelet	Megjegyzések
Insufficient input plasma (Nem elegendő bemenő plazma)	Sample QC failure (Minta minőség-ellenőrzése sikertelen)	Nem elegendő a plazma térfogata.	Vegyen újabb mintát.	A plazmatérfogat vizuális ellenőrzése alapján
Blood tube failure (Vércső hibája)	A vér nincs szétválvá rétegekre	Nem történt meg a minta centrifugálása.	Győződjön meg arról, hogy a centrifuga elindult, és megfelelő erővel történt a centrifugálás. Vegyen újabb mintát.	
		A minta helytelen tárolása vagy szállítása (hemolízis).	Vegyen újabb mintát.	A fagyasztott minta nem választható el. A nem megfelelő szállítási vagy tárolási körülmények a minták hemolíziséhez vezethetnek.

Hibamód	Lehetséges eredmény	Értelmezés	Ajánlott művelet	Megjegyzések
Sample clog or slow flow (Minta eltömődése vagy lassú áramlása)	Plasma contamination (A plazma szennyeződése)	Egyes minták eltömődést okozhatnak a kötési lemezen, ha a minta jelentős mértékű szennyeződése történt.	Vizsgálja meg a mintát. Ha a csőben maradt plazma piros vagy tejszerű megjelenésű, törölje a mintát, és kérjen új mintavételt. Ha a minta normális megjelenésű, végezze el újra a minta vizsgálatát.	
	A minta túlfolyása	Az egyes csövek nem megfelelő vizuális ellenőrzése a minta alkalmassága szempontjából.	Érvénytelenítse a közelben elhelyezkedő, a túlfolyás által érintett üregekben lévő mintákat.	A minták feldolgozás előtti nem megfelelő szállítására vagy tárolására utalhat. Az alkalmatlan mintákat zárja ki a feldolgozásból.
	Hardware malfunction (Hardver működési hibája)	Az anyagok nem megfelelő emésztése a kivonás során.	Végezze el újra a minta vizsgálatát. Ha a probléma megismétlődik ugyanabban az üregpozícióban másik mintával, forduljon az Illumina műszaki ügyfélszolgálatához.	



Hibamód	Lehetséges eredmény	Értelmezés	Ajánlott művelet	Megjegyzések
Individual Sample Analysis QC failure (Egyedi minta elemzésének minőség-ellenőrzése sikertelen)	Sequencing QC failure (Szekvenálás minőség-ellenőrzése sikertelen)	A lehetséges okok a következők: <ul style="list-style-type: none"> <li>Nem elegendő genetikai anyag</li> <li>Hibás átvitel mintakezelés során</li> <li>Szekvenálási reagens hibája</li> </ul>	Ellenőrizze a mintához tartozó megjegyzést. Ellenőrizze, hogy nem történt-e korábban hasonló eredmény ugyanabban a pozícióban. Végezze el újra a minta vizsgálatát.	Vagy nem elegendő minta bevitelét, vagy az ML STAR által végzett hibás átvitelt jelez. Nem elegendő genetikai anyag lehetséges, ha nincs elég sejtmentes DNS a plazmában, vagy a sejtekből származó DNS miatt a minta túl nagy mértékben kerül hígításra a szekvenáláshoz.
	Low FF or non-excluded sites (NES) count [Alacsony FF vagy nem kizárt területek száma (NES)]	Nem keletkezett elegendő adat a pontos eredmény jelentéséhez.	Ismételje meg a vizsgálatot a plazmától kezdve.	

Hibamód	Lehetséges eredmény	Értelmezés	Ajánlott művelet	Megjegyzések
Quantification QC failure (Mennyiségi mérés minőség-ellenőrzése sikertelen)	Failed quantification run (Sikertelen mennyiségi mérési futtatás). Sarzs medián értéke a határérték alatt	A folyamat hozama nem volt megfelelő.	Ismételje meg a mennyiségi mérést. Ha az ismételt mérés is sikertelen, forduljon az Illumina műszaki ügyfélszolgálatához.	A standard görbe sikertelensége vagy a könyvtár előkészítésével kapcsolatos problémákra (pl. nem biológiai minőségű etanol használata) vagy a mennyiségi meghatározás folyamatával kapcsolatos problémákra utal.
	Failed quantification run (Sikertelen mennyiségi mérési futtatás)	A standard görbe hibája.	Ismételje meg a mennyiségi mérést. Ha az ismételt mérés is sikertelen, forduljon az Illumina műszaki ügyfélszolgálatához.	
Pooling Failure (Keverési hiba)	Failure to complete sample pooling (A minták összekeverése nem fejezhető be)	A keverési elemzés nem tudja kiszámítani a megfelelő keverési térfogatokat.	Ismételje meg a keverék célkoncentrációjának értékelését. Futtassa újra a keverési elemzést.	

## VeriSeq NIPT Microlab STAR – hibaelhárítás

Művelet lépése	Hibakód	Hibaüzenet	Leírás	Felhasználó általi megoldás
Sarzs létrehozása	EM0044	The Batch ID entered contains forbidden characters. (A megadott sarzsazonosító tiltott karaktereket tartalmaz.)	A VeriSeq NIPT Solution v2 csak számokat, betűket, aláhúzásjelet és kötőjelet fogad el mindegyik adatmezőben.	Használjon a sarzs átnevezéséhez olyan nevet, amely nem tartalmaz speciális karaktereket.
Sarzs létrehozása	EM0051	The Batch ID is greater than 36 characters in length. (A sarzsazonosító több mint 36 karakter hosszúságú.)	A VeriSeq NIPT Solution v2 a sarzsnevek hosszúságát 36 karakterre korlátozza.	Használjon a sarzs átnevezéséhez olyan nevet, amely legfeljebb 36 karaktert tartalmaz.
Sarzs létrehozása	EM0076	Unable to connect to VeriSeq Onsite Server v2 (Nem sikerül a csatlakozás a VeriSeq Onsite Server v2 kiszolgálóhoz)	A VeriSeq Onsite Server v2 nem reagál a Workflow Manager által küldött adatkérésekre.	<ol style="list-style-type: none"> <li>Győződjön meg arról, hogy az ML STAR csatlakoztatva van a hálózathoz.</li> <li>Győződjön meg arról, hogy a VeriSeq Onsite Server v2 be van kapcsolva.</li> <li>Győződjön meg arról, hogy az ML STAR tud csatlakozni a VeriSeq Onsite Server v2 kiszolgálóhoz (pingkéréssel).</li> <li>Ha a fenti lépések nem oldják meg a problémát, forduljon e-mailben az Illumina műszaki ügyfélszolgálatához.</li> </ol>
Sarzs létrehozása	EM0118	This batch has been failed and cannot be further processed. (Ez a sarzs sikertelen, és nem lehet tovább feldolgozni.)	A megadott sarzs feldolgozása sikertelenül véget ért, és nem lehet tovább feldolgozni.	A VeriSeq Onsite Server v2 sarzsjelentésén látható, hogy a kiválasztott sarzs sikertelen. Nem engedélyezett a további feldolgozás. Hozzon létre új sarzsot a szükséges mintákkal.

Művelet lépése	Hibakód	Hibaüzenet	Leírás	Felhasználó általi megoldás
Sarzs létrehozása	Nincs	This batch has already completed processing. Would you like to repool? (Ennek a sarzsnak a feldolgozása befejeződött. Kíván ismét keveréket készíteni?)	A jelzett sarzs esetén megtörtént a feldolgozás keverékkészítéssel. Az egyetlen megengedett feldolgozás az ismételt keverékkészítés.	Végezzel el az ismételt keverékkészítést az alábbiak szerint. <ul style="list-style-type: none"> <li>Válassza a <b>Re-Pool</b> (Ismételt keverékkészítés) lehetőséget.</li> <li>Szakítsa meg a módszert, és az ismételt keverékkészítés előtt győződjön meg arról, hogy a sarzsnév helyes.</li> </ul>
Plazma elválasztása	WP0087	Duplicate sample barcodes loaded. (Egyforma mintavonalkódok vannak behelyezve.)	Egyforma vonalkódú minták vannak behelyezve a rendszerbe.	<ol style="list-style-type: none"> <li>Kövesse a Workflow Manager felszólításait annak azonosításához, hogy melyik minták azonosak.</li> <li>Távolítsa el az azonos mintákat, és vagy lássa el új címkéssel, vagy cserélje ki őket.</li> <li>Helyezze be a mintákat.</li> </ol>
Plazma elválasztása	EP0102	Samples specified in the Sample Sheet were not loaded. (A mintalapon megadott minták nincsenek behelyezve.)	A mintalapon megadott valamelyik minták nem szerepelnek a behelyezett vonalkódok között.	<ol style="list-style-type: none"> <li>Kövesse a Workflow Manager felszólításait a hiányzó minták azonosításához.</li> <li>Válassza a következő lehetőségek egyikét:                     <ul style="list-style-type: none"> <li>Adja hozzá a sarzshoz a hiányzó mintákat, és helyezze be újra a mintákat.</li> <li>Szakítsa meg a műveletet, és megfelelően módosítsa a mintalapot. Indítsa el újra a műveletet.</li> </ul> </li> </ol>

Művelet lépése	Hibakód	Hibaüzenet	Leírás	Felhasználó általi megoldás
Lemez behelyezése	Nincs	Venus Barcode Mask Error (Venus vonalkódmaszk-hiba)	A Workflow Manager megköveteli a lemeznek a sarzshoz való társítását Venus vonalkódmaszk használatával.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ellenőrizze a lemez behelyezését, és győződjön meg arról, hogy a lemez megfelelő kialakítású.</li> <li>2. Győződjön meg arról, hogy a behelyezett lemez a megadott sarzshoz megfelelő lemez.</li> </ol>
cfDNS kivonása	WE0150	Pressure in the vacuum chamber is too low. (Túl alacsony a vákuumkamra nyomása.)	A Workflow Manager nem folytatja a műveletet, ha a vákuumcső nyugalmi nyomása < 400 Torr.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Ellenőrizze a vákuumcső megtöretését vagy más okból történt elzáródását.</li> <li>2. Nyissa ki a hulladékcső kioldókapcsait, engedje a nyomást kiegyenlítődni, majd teljesen zárja vissza a cső kapcsait.</li> <li>3. Ellenőrizze, hogy a vákuumszabályozó és a szivattyú be van-e kapcsolva.</li> <li>4. Ellenőrizze a vákuumrendszer hulladékgyűjtőjét. Ha a hulladékgyűjtő több mint félig van, ürítse ki.</li> <li>5. Ha a probléma továbbra is fennáll, forduljon az Illumina műszaki ügyfélszolgálatához.</li> </ol>
cfDNS kivonása	WE0153	Pressure in the vacuum chamber is too high. (Túl magas a vákuumkamra nyomása.)	Ha a vákuum mért értéke túl magas a nyomásszabályozás indítása előtt, lehetséges, hogy a rendszer meghibásodott.	Ellenőrizze, hogy a szabályozó hátulján található vákuumcsatlakozások és csövek biztonságosan vannak-e csatlakoztatva.

Művelet lépése	Hibakód	Hibaüzenet	Leírás	Felhasználó általi megoldás
cfDNS kivonása	WE0996	Vacuum failed to seal. (Nem sikerült a vákuum légmentes csatlakoztatása.)	A folytatás előtt meg kell szüntetni a tömítés hibáját.	<p>Az <b>OK</b> lehetőség kiválasztása előtt ellenőrizze, hogy a tömítés hibája megszűnt-e.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Gondoskodjon arról, hogy a kötési lemez egy vonalban legyen a vákuumelosztóval. Gumikesztyűs kézzel nyomja le erősen a kötési lemezt.</li> <li>Hallgassa meg a vákuum zümmögését, és figyelje meg a víz áramlását a kötési lemezen keresztül.</li> <li>Nyissa meg a Workflow Manager követési nézetét. Miután a mért tényleges nyomásérték eléri a környezeti nyomásnál legalább 50 egységgel alacsonyabb értéket, válassza az <b>OK</b> lehetőséget a cfDNS extrakció folytatásához.</li> <li>Ha a nyomás a megadott idő alatt nem éri el a kívánt értéket, válassza az <b>OK</b> lehetőséget az első lizátum betöltésével való folytatásához.</li> <li>A lizátum kötési lemezre adagolása után szüneteltesse a műveletet. Illessze be újra, és nyomja le erősen a kötési lemezt.</li> <li>Ha a lizátum nem folyik át a lemezen, forduljon az Illumina műszaki ügyfélszolgálatához.</li> </ol>

Művelet lépése	Hibakód	Hibaüzenet	Leírás	Felhasználó általi megoldás
cfDNS kivonása	WM0219	If Vacuum is on, manually rest the pump. (Ha a vákuum be van kapcsolva, manuálisan indítsa újra a szivattyút.)	A vákuum bekapcsolva maradhat, ha a kivonás közben meg kell szakítani a műveletet.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. A vákuum kikapcsolásához nyomja meg a vákuumszabályozón található <b>Power</b> (Bekapcsoló) gombot.</li> <li>2. Várjon 10 másodpercig, majd a vákuum visszakapcsolásához újra nyomja meg a <b>Power</b> (Bekapcsoló) gombot.</li> </ol>
cfDNS kivonása	EE0477	An error has occurred while moving a plate. (iSWAP error) (Hiba történt egy lemez mozgatása közben (iSWAP-hiba).)	Ha iSWAP hiba (lemez elejtése, a felemelés sikertelensége stb.) történt, a rendszer felszólítja Önt, hogy manuálisan fejezze be a lemezmozgatási műveletet.	<p>Ellenőrizze, hogy a lemez használható állapotban van-e (nem ömlött-e ki anyag).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Ha a lemez nem használható, szakítsa meg a futtatást.</li> <li>• Ha a lemez használható, a kijelzett utasítások követésével helyezze át a lemezt manuálisan.</li> </ul>
cfDNS kivonása	EE0519	Scanned barcode does not match Binding Plate barcode on record. (A kötési lemez beolvasott vonalkódja nem felel meg a mentett vonalkódnak.)	A behelyezett lemez vonalkódja nem felel meg az eltávolított lemez vonalkódjának.	Ügyeljen arra, hogy a behelyezett lemez vonalkódja megegyezzen a tárolt vonalkóddal (a tárolt vonalkódot lásd a követési naplóban).

Művelet lépése	Hibakód	Hibaüzenet	Leírás	Felhasználó általi megoldás
API	EA0372	Unable to connect to the data server. (Nem sikerül a csatlakozás az adatkiszolgálóhoz.)	A VeriSeq Onsite Server v2 nem reagál a Workflow Manager által küldött adatkérésekre.	<ol style="list-style-type: none"> <li>Győződjön meg arról, hogy az ML STAR csatlakoztatva van a hálózathoz.</li> <li>Győződjön meg arról, hogy a VeriSeq Onsite Server v2 be van kapcsolva.</li> <li>Győződjön meg arról, hogy az ML STAR tud csatlakozni a VeriSeq Onsite Server v2 kiszolgálóhoz (pingkéréssel).</li> </ol>
	EA0774	Connection Error (Csatlakozási hiba). Nem sikerült az API kiszolgálóhoz való csatlakozás hitelesítése.	A VeriSeq Onsite Server v2 már nem reagál a Workflow Manager által küldött adatkérésekre.	<p>Ügyeljen a következőkre:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Győződjön meg arról, hogy az ML STAR csatlakoztatva van a hálózathoz.</li> <li>Győződjön meg arról, hogy az ML STAR tud csatlakozni a VeriSeq Onsite Server v2 kiszolgálóhoz (pingkéréssel).</li> <li>Győződjön meg arról, hogy a VeriSeq Onsite Server v2 be van kapcsolva.</li> </ol>
	EA0780	403: Invalid Request (403: Érvénytelen kérés) Az aktuális tranzakció nem érvényes.	A küldött adat megsérti a rendszer munkafolyamati logikáját.	További információért lásd a hiba részleteit. Gyakori ok, hogy a bemenő adatok túl hosszúak, vagy nem elfogadható karaktereket tartalmaznak.



## Hivatkozások

1. Nagaoka S, Hassold T, Hunt P. Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem. *Nat Rev Genet.* 2012;13(7):493-504. doi:10.1038/nrg3245.
2. Garnder RJ, Sutherland GR, Schaffer LG. *Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling.* 4th edition. New York (NY): Oxford University Press; 2012.
3. Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, Ogilvie C, D'Antonio F. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015 Jan;45(1):16-26. doi: 10.1002/uog.14636.
4. American College of Obstetricians and Gynecologists. Screening for fetal aneuploidy. Practice Bulletin No. 163. *Obstet Gynecol.* 2016; 127(5):e123-137.
5. Gil MM, Accurti V, Santacruz B, Plana MN, Nicolaides KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017 Apr 11. doi: 10.1002/uog.17484.
6. Bianchi D, Parker R, Wentworth J et al. DNA Sequencing versus Standard Prenatal Aneuploidy Screening. *N Engl J Med.* 2014;370(9):799-808. doi:10.1056/nejmoa1311037.
7. Benn P, Borrell A, Chiu RW, et al. "Position statement from the Chromosome Abnormality Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis." *Prenat Diagn* 35 (2015): 725-34.
8. Gregg AR, Skotko BG, Benkendorf JL, et al. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med.* 2016; doi:10.1038/gim.2016.97.
9. Dondorp W, de Wert G, Bombard Y, et al. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: challenges of responsible innovation in prenatal screening. *Eur J Hum Genet.* 2015 Nov;23(11):1438-50.
10. Grati, et al. "Fetoplacental mosaicism: potential implications for false-positive and false-negative noninvasive prenatal screening results." *Genetics in Medicine* 16 (2014): 620-624.
11. Wellesley, et al. "Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe." *European Journal of Human Genetics* 20 (2012): 521-526.
12. Norton S, Lechner J, Williams T, Fernando M et al. A Stabilizing Reagent Prevents Cell-free DNA Contamination by Cellular DNA in Plasma During Blood Sample Storage and Shipping as Determined by Digital PCR. *Clin. 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.

## Módosítási előzmények

Dokumentum	Dátum	Módosítások leírása
Dokumentumszám: 1000000078751 v09	2024. április	<p>Eltávolítás</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Elavult, cikkszám: 20030577.</li> <li>Maximális csőkapacitási szükséglet vérvételicső-centrifugához.</li> </ul> <p>Hozzáadás</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Új cikkszám: 20101927, VeriSeq Onsite Server v2 szerver.</li> <li>Méretmértékegység a 10 ml-es vérvételi csövekhez.</li> <li>A SoftMax Pro kompatibilis verzióinak tisztázása.</li> <li>Pontosító megjegyzés, mely szerint a VeriSeq NIPT Microlab STAR készülékkel való felcserélhetőség biztosítása érdekében csak kompatibilis műanyag fogyóeszközöket szabad használni.</li> <li>A mintakeverék szennyeződésére vonatkozó figyelmeztetés hozzáadása Az eredmények értelmezése című szakaszhoz.</li> <li>Arra vonatkozó figyelmeztetés, hogy ne fagyassza le a Streck Cell-Free DNA BCT csőbe vett teljes vérmintát.</li> <li>A minta magas hőmérsékletnek való kitettsége az elkerülésére vonatkozó figyelmeztetés.</li> <li>A vizsgálat korlátaival és a reprodukálhatósági feltételekkel kapcsolatos pontosítás.</li> <li>A CNV LLR határértékének pontosítása a 2. ábrán a Kimutatási határérték című szakaszban.</li> </ul> <p>Frissítés</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Kompatibilis reagensedény: Roche reagensedény helyett Illumina reagensedény, és új cikkszám hozzáadása.</li> <li>Thermo Fisher Multifuge X4 Pro-MD cikkszám: 75016034.</li> <li>Arra vonatkozó figyelmeztetés, hogy az üregek nem egyforma térfogata miatt előfordulhat, hogy a minták nem felelnek meg automatikus minőség-ellenőrzéskor.</li> <li>Hivatkozás a készülékek terméktájékoztatójára.</li> </ul>
Dokumentumszám: 1000000078751 v08	2022. augusztus	<p>A munkafolyamat cikkszámának frissítése</p> <p>A fagyasztott könyvtárlemez esetén pipettázással végzett összekeverésre vonatkozó utasítás törlése.</p>

Dokumentum	Dátum	Módosítások leírása
Dokumentumszám: 1000000078751 v07	2022. május	<p>Az eljárás korlátai című fejezetben az első két listaelem különválasztása VeriSeq NIPT Solution v2 jelentés készítése címmel. A többi szöveg az új, Az eljárás korlátai című szakaszba került.</p> <p>Eltávolítás</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>A VeriSeq név minden reagens címkeszövegéből.</li> <li>A VeriSeq NIPT adapterlemez vonalkóddal való ellátása a Könyvtárak készítése részben.</li> </ul> <p>Hozzáadás</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>„Igazoltan” a DNáz-/RNáz-mentes vízhez.</li> <li>„Az alábbi vagy azokkal egyenértékű mikrolemez-leolvasók”, „SpectraMax M2, M3, M4, M5” és egy megjegyzés.</li> <li>A hibakezelési esemény esetén elvégzendő teendőket ismertető szakasz a VeriSeq NIPT Microlab STAR fejezethez.</li> <li>Az üregek vizuális ellenőrzésére vonatkozó megjegyzés.</li> <li>A 24 és a 48 mintás sarzsokra vonatkozó utasítások a protokollt ismertető szakaszokban.</li> <li>A lila adapterlemez vagy az egyenértékű adapterlemez használatára vonatkozó lépések.</li> <li>A terhesség első trimeszterében kapott eredményekre vonatkozó megjegyzés a Demográfiai adatok és a terhességek jellemzői szakaszhoz.</li> <li>A csavarodással szemben ellenálló tulajdonságot tartalmazó listaelem a mély üregű lemezek jellemzőinek felsorolásához.</li> </ul> <p>Frissítés</p>
		<ul style="list-style-type: none"> <li>Az egyedi sarzsnevekről szóló rész megfogalmazása és egy példa említése.</li> <li>A Megjegyzés, a Figyelem és a Vigyázat szimbólumok és formátumuk.</li> <li>A vizsgálatra vonatkozó allisták eredményei.</li> <li>„Guanidin-tiocianát” helyett „guanidin-hidroklorid”.</li> <li>„CVS” helyett „BVS” (alap vákuumrendszer).</li> <li>A teljes genomra kiterjedő szűrés és az LLR-pontszám használatáról szóló részek megfogalmazása.</li> <li>Specifikációk: A reagensedények, a mély üregű lemezek, a 384 üregű lemezek és a 96 üregű lemezek specifikációi.</li> </ul>
Dokumentumszám: 1000000078751 v06	2021. augusztus	Az európai uniós meghatalmazott képviselő címének frissítése.

Dokumentum	Dátum	Módosítások leírása
<p>Dokumentumszám: 1000000078751 v05</p>	<p>2020. december</p>	<p>Az eljárás működési elve, a Figyelmeztetések és óvintézkedések és A termék címkéi fejezetek frissítése további magyarázatokkal a szabályozó hatóságok kéréseinek teljesítése céljából.</p> <p>A protokoll tartalmának kisebb frissítései az Illumina aktuális stílusának és szerkezetének tükrözésére.</p> <p>Az Analitikai teljesítmény fejezet Precizitás szakaszában a 21-es kromoszóma leírásának javítása: „második legkisebb humán autoszóma” helyett „legkisebb humán autoszóma”.</p> <p>A plazma elválasztása – Előkészítés és Az eredmények értelmezése fejezetek kiegészítése a tárolók nem megfelelő használatára és a minták keveredésének kockázatára vonatkozó óvintézkedésekkel.</p> <p>Új kiszolgáló- és szoftvercikkszámok hozzáadása az új kiszolgálótípus bevezetése és a szoftvercikkszámok frissítése miatt.</p> <p>A protokoll és a hibaelhárítási információk kiegészítése a mintatúlfolyásra és annak megelőzésére vonatkozó óvintézkedésekkel.</p> <p>A tartozékdobozban található DNS mennyiségi értékelési standard reagens hatóanyagainak frissítése a Biztonsági adatlappal való összehangolás céljából.</p> <p>A Local Run Manager VeriSeq NIPT modul elnevezési szabályának frissítése a többi dokumentációval való konzisztencia céljából.</p> <p>Módosítási előzmények hozzáadása.</p>
<p>Dokumentumszám: 1000000078751 v04</p>	<p>2020. október</p>	<p>Kisebb javítások.</p>
<p>Dokumentumszám: 1000000078751 v03</p>	<p>2020. szeptember</p>	<p>Az anyagok listájának frissítése a laboratóriumi eszközök specifikációinak és az ismert kompatibilis lehetőségek bemutatására.</p>

Dokumentum	Dátum	Módosítások leírása
Dokumentumszám: 1000000078751 v02	2020. február	<p>A klinikai teljesítményre vonatkozó adatok bemutatásának frissítése, hogy világosabban megjelenjenek az alapszintű és a teljes genomra kiterjedő szűrés közötti különbségek.</p> <p>Új, Az alapszintű szűrés és a teljes genomra kiterjedő szűrés teljesítménye közötti különbségek című fejezet hozzáadása.</p> <p>A kiegészítő jelentés opcionális voltára vonatkozó ellentmondásos információk eltávolítása Az eljárás működési elve fejezetből.</p> <p>A VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 szoftver elnevezési szabályának frissítése az egész dokumentumban a konzisztens stílus érdekében.</p> <p>Az Illumina Netherlands és az ausztráliai szponzor címének frissítése, hogy tükrözze a közelmúltbeli változásokat.</p>
Dokumentumszám: 1000000078751 v01	2019. augusztus	<p>A kiadványszerkesztő szoftver hibája miatt kétszer szereplő lépés eltávolítása A cfDNS kivonása fejezetből.</p>
Dokumentumszám: 1000000078751 v00	2019. május	Első kiadás.

## Szabadalmak és védjegyek

A jelen dokumentum és annak tartalma az Illumina, Inc. és annak leányvállalatai (a továbbiakban „Illumina”) tulajdonát képezi, és kizárólag a jelen dokumentumban ismertetett termék(ek) szerződésszerű működtetéséhez használható. Egyéb célokra nem használható. A dokumentum és annak tartalma az Illumina előzetes írásos engedélye nélkül ettől eltérő célokra nem használható és nem forgalmazható, továbbá semmilyen formában nem kommunikálható, hozható nyilvánosságra vagy reprodukálható. Az Illumina a jelen dokumentummal nem biztosít licencet a termék vásárlójának a harmadik felek szabadalmi, védjegyjogi, szerzői jogi, szokásjogi vagy egyéb oltalom alatt álló jogosultságaihoz.

A jelen dokumentumban szereplő utasításokat a kvalifikált és megfelelően képzett személyzetnek szigorúan be kell tartania az itt ismertetett termék(ek) megfelelő és biztonságos használata érdekében. A termék(ek) használata előtt a felhasználó köteles átolvasni és értelmezni a jelen dokumentumban leírtakat.

AZ ITT SZEREPLŐ INFORMÁCIÓK ELOLVASÁSÁNAK VAGY AZ UTASÍTÁSOK BETARTÁSÁNAK ELMULASZTÁSA ESETÉN A TERMÉK(EK) MEGSÉRÜLHETNEK, ILLETVE SZEMÉLYI SÉRÜLÉS KÖVETKEZHET BE, IDEÉRTVE A FELHASZNÁLÓKAT ÉS MÁSOKAT IS, ILLETVE EGYÉB ANYAGI KÁROK KÖVETKEZHETNEK BE. EZENFELÜL ILYEN ESETEKBE A TERMÉK(EK)RE VONATKOZÓ GARANCIA ÉRVÉNYÉT VESZTI.

AZ ILLUMINA SEMMIFÉLE FELELŐSSÉGET NEM VÁLLAL AZ ITT BEMUTATOTT TERMÉK(EK) HELYTELEN HASZNÁLATÁBÓL FAKADÓ KÁROKÉRT (AZ ALKATRÉSZEKET ÉS A SZOFTVERT IS IDEÉRTVE).

© 2023 Illumina, Inc. Minden jog fenntartva.

Minden védjegy az Illumina, Inc., illetve az adott tulajdonosok tulajdonát képezi. A védjegyekkel kapcsolatos információkat lásd a [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html) weboldalon.

## Elérhetőségek



Illumina, Inc.  
5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122 U.S.A.  
+1.800.809.ILMN (4566)  
+1.858.202.4566 (Észak-Amerikán kívül)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com



### Ausztrál szponzor

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

## Termékcímke

A terméken és a csomagolásán megjelenő címkéken látható szimbólumok teljes magyarázatát megtekintheti a [support.illumina.com](http://support.illumina.com) honlapon az Ön készletére vonatkozó *Documentation* (Dokumentáció) lapon található szimbólum ikonra kattintva.

A Biztonságosságra és a teljesítőképességre vonatkozó összefoglaló (SSP) a

<https://ec.europa.eu/tools/eudamed> címen található az Orvostechikai eszközök európai adatbázisának (Eudamed) elindítását követően. Az alapvető UDI-DI azonosítóhoz (0081627002NIPTRP) kapcsolódik.