

VeriSeq NIPT Çözümü Kullanım Talimatı

İN VİTRO TANI AMAÇLI KULLANIM İÇİNDİR

Kullanım Amacı

VeriSeq NIPT Çözümü, en az 10 haftalık gebeliği olan hamile kadınlardaki maternal periferik tam kan numunelerinden fetal anöploidilerin tespitine yönelik sekanslama tabanlı bir tarama testi olarak kullanım amaçlı bir *in vitro* tanı testidir. VeriSeq NIPT şu kromozomlara ilişkin anöploidi durumu hakkında bilgi sağlar: 21., 18., 13., X ve Y. Bu ürün, tanı ya da diğer gebelik yönetimi kararlarında yegane temel olarak kullanılmamalıdır.

VeriSeq NIPT Çözümü şunları içerir: VeriSeq NIPT Microlab STAR için VeriSeq NIPT İş Akışı Yöneticisi, VeriSeq NIPT Numune Hazırlama Kitleri ve VeriSeq NIPT Test Yazılımı içeren VeriSeq Tesis Sunucusu.

Testin Özeti ve Açıklaması

Başta kromozomların anormal sayısı olan anöploidi olmak üzere fetal kromozom anormallikleri üreme yetersizliğinin, konjenital anomalilerin, gelişme geriliğinin ve zihinsel engellerin ortak nedenidir. Anöploidi 300 canlı doğumdan yaklaşık 1'ini etkilemektedir; düşük ve ölü doğumla ilişkili çok daha yüksek oranlar mevcuttur.^{1,2} Yakın zamana kadar bu bozukluklar için iki tip prenatal test vardı: tanı testleri ve çoklu markör taraması. Tanı testleri amniyosentez veya kronik villus örnekleme gibi invazif prosedürleri içermektedir. Bu test yöntemleri anöploidi tespiti açısından en doğru yöntemler olarak kabul edilmektedir. Ancak, %0,11 ile %0,22 arasında gebelik kaybı riskiyle ilişkilidir.³ Geleneksel çoklu markör taramaları invazif olmadıklarından gebelik kaybı riski yoktur ancak bunlar tanı testlerinden daha az hassastır. Bunların trizomi 21 tespit oranları test sırasındaki belirli tarama, annelik yaşı ve gebelik süresine bağlı olarak %69 ile 96 arasında değişmektedir.⁴ Önemlisi, bunların hatalı pozitif oranları yaklaşık %5'tir ki bu da teyit için invazif tanı testine ve dolayısıyla prosedüre bağlı gebelik kaybı riskine götürebilir.⁴

21, 18, 13, X ve Y kromozomları için fetal anöploidi invazif olmayan prenatal test (NIPT) ile gebeliğin 10. haftasından veya daha sonra maternal plazmadan alınan hücresiz DNA'nın (cfDNA) tam genom sekanslaması kullanılarak yüksek hassasiyet derecesiyle tespit edilebilir. En son çoklu klinik çalışmaların meta analizi ağırlıklı saptama oranları ve trizomi 21 ve trizomi 18 için tekiz gebeliklerde şu şekilde özgünlük raporlamıştır: sırasıyla trizomi 21 %99,2 ve %99,91 ile trizomi 18 %96,3 ve %99,87.⁵

Geleneksel çoklu markör taramasına kıyasla NIPT ile alınan hatalı pozitif oranlarındaki anlamlı azalma göz önünde bulundurulduğunda çok sayıda profesyonel tıp kurumu NIPT kullanımına yönelik bir takım endikasyonları destekleyen görüş beyanları yayınlamıştır.

Özellikle International Society for Prenatal Diagnosis, American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG) /Society for Maternal Fetal Medicine (SMFM), American College of Medical Genetics and Genomics (ACMG) ve European Society of Human Genetics/American Society of Human Genetics tüm hamile kadınlara NIPT teklif edilmesini desteklemektedir.⁶ Test öncesi danışmanlık, bilgilendirilmiş olur ve pozitif cfDNA taraması sonucunu teyit etmek için tanı testi tavsiye edilmektedir.⁷

Bir çalışma tüm gebelik boyunca birincil tarama olarak NIPT kullanımının doğrulayıcı invazif prosedürlerin sayısında %89 azalma sağlayabileceğini önermektedir.⁸

Güncel VeriSeq NIPT Çözümü, 21, 18, 13, X ve Y kromozomlarının fetal anöploidisini tespit etmek için en az 10. gebelik haftasında hamile kadınlarından maternal periferik tam kan numunelerinden türetilen cfDNA parçacıklarının tam genom sekanslamasını kullanan invazif olmayan *in vitro* tanı (IVD) testidir.

Prosedür İlkeleri

VeriSeq NIPT Çözümü, otomatik numune hazırlama ve sekanslama veri analizinden oluşan laboratuvar NIPT testine yönelik otomatik bir çözümdür. VeriSeq NIPT Numune Hazırlama Kitleri yeni nesil sekanslama için 48 veya 96 numunelik seriler hazırlamak için VeriSeq NIPT Microlab STAR ile birlikte kullanılan özel reaktiflerdir. Tüm genom, çift sonlu sekanslama verileri özel bir yazılım olan VeriSeq NIPT Test Yazılımı ile analiz edilir ve bir rapor oluşturulur.

İş akışı ayrıntılı olarak aşağıda açıklanan şu prosedürlerden oluşur: numune toplama, plazma izolasyonu, cfDNA ekstraksiyonu, kitaplık hazırlama, kitaplık miktar tayini, kitaplık havuzlama, sekanslama ve analiz:

- ▶ **Numune Toplama**—7–10 ml maternal periferik tam kan, hücre lizisi ve genom kontaminasyonunu önleyen ve tam kanı oda sıcaklığında sabitleyen bir Streck hücresiz kan toplama tüpüne alınır.
- ▶ **Plazma İzolasyonu**—Numune toplama işleminden sonra 5 gün içerisinde veya 4 °C'de saklanması halinde toplama işleminden sonra 10 gün içerisinde plazma, standart santrifüj teknikleri kullanılarak maternal periferik tam kandan izole edilir. VeriSeq NIPT Microlab STAR plazmayı aspire eder ve daha sonra işlenmek üzere 96 kuyuluk bir derin kuyulu plakaya dağıtır.
- ▶ **cfDNA Ekstraksiyonu**—cfDNA'nın plazmadan saflaştırılması, kirleticilerin temizlenmesi için bağlama plakasının yıkanması ve ayrıştırılmasıyla bir bağlama plakasına adsorpsiyonu yoluyla elde edilir.
- ▶ **Kitaplık Hazırlama**—Saflaştırılmış cfDNA parçacıkları 5' ve 3' çıkıntıları kör uçlara dönüştürmek için bir uç onarımı işlemine tabi tutulur. Daha sonra, tek bazlı çıkıntı oluşturmak için 3' uçlara deoksiadenozin nükleotidi eklenir. Tek bazlı 3' deoksitimidin çıkıntısı içeren dizinlenen adaptörler daha sonra işlenmiş cfDNA parçacıkları üzerine bağlanır. Bağlanan DNA, katı hal ters immobilizasyon kürecikleri kullanılarak saflaştırılır. 48 veya 96'lık setlerdeki her bir numune dizinlenmiş eşsiz bir adaptör alır. Adaptörler 2 amaca hizmet eder:
 - ▶ Dizinler sonrası sekanslama işlemi sırasında numune tanımlamaya olanak sunar.
 - ▶ Dizin adaptörleri, küme oluşturma ve sonrasında sekanslama işlemi için sekanslama akış hücresinin katı yüzeyi üzerinde kitaplık yakalamaya olanak sunan diziler içerir.
- ▶ **Miktar Tayini**—Kitaplık ürünü miktar tayini DNA standart eğrisine kıyasla belirlenen konsantrasyonda floresan boya kullanılarak yapılır.
- ▶ **Kitaplık Havuzlama ve Sekanslama**—48 numunelik seri kitaplıkları kapsanan alandaki varyasyonu en aza indirmek için ayarlanmış miktarlarda bir araya toplanır. 48 numunelik seri havuzları daha sonra yeni nesil sekans cihazı kullanılarak şu spesifikasyonlara göre sekanslanır: 2x36 çift sonlu okumalar yapabilir, VeriSeq NIPT Numune Hazırlama kitindeki dizin adaptörleriyle uyumlu, 2 boya bazlı kimya ve otomatik .BCL dosyası oluşturma (sekanslama cihazından gelen ham veriler). VeriSeq NIPT Çözümü, sekanslama ekipmanı ve sarf malzemeleri içermez.
- ▶ **Analiz**—Nükleotid baz çağrılarını sekanslama işlemi sırasında doğrudan sinyal yoğunluğu ölçümünden yapılır. İkincil analiz şunlardan oluşur:
 - ▶ Dizin sekansları kullanarak okumaları çoğullama
 - ▶ Sekansları bir referans insan genomuna eşleme
 - ▶ 100 kb genom kutusunun her birindeki benzersiz okumaların sayısını hesaplama
 - ▶ Alt kromozal seviyede kapsamı normalleştirme
- ▶ Çift sonlu okuma, kapsama (numune başına referansla eşleşen benzersiz okumaların sayısı) ve numune içerisindeki bağımsız parçacıkların uzunluğunu değerlendirmek için kullanılır. Her bir numunedeki fetal fraksiyon kapsam profiline, boyut dağıtımına ve X kromozomundaki kopya sayısına göre tahmin edilir. Son olarak bu istatistiksel girdiler 21., 18., 13. kromozomların X ve Y kromozomlarının gerçekten az ya da fazla ifade edildiğini belirlemek üzere kullanılır. Sonuçlar, kalite kontrol metriklerinden geçen numuneler için her bir hedef kromozoma yönelik olarak “anöploidi saptandı” veya “anöploidi saptanmadı” ifadelerinin listelendiği bir raporda özetlenir. Fetal fraksiyon tahmini de raporun bir parçası olarak her numuneye dahil edilir.

Prosedür Kısıtlamaları

- ▶ VeriSeq NIPT Çözümü bir tarama testidir ve diğer klinik bulgulardan ve test sonuçlarından bağımsız olarak değerlendirilmemelidir. Gebeliğin sonlandırılması da dahil yönetim kararları tek başına NIPT sonuçlarına dayandırılmamalıdır.⁷
- ▶ Test, en az 10. gebelik haftasında olan hamile kadınlardan alınan maternal periferik tam kan numuneleri gerektirir.
- ▶ Testin sonuçları, aşağıdakiler de dahil olmak ancak bunlarla sınırlı olmamak üzere bir takım maternal ve fetal faktörlerle bozulabilir:
 - ▶ Yakın zamandaki maternal kan transfüzyonu
 - ▶ Maternal organ nakli
 - ▶ Maternal cerrahi prosedür
 - ▶ Maternal immünterapi veya kök hücre tedavisi
 - ▶ Maternal malignite
 - ▶ Maternal mosaisizm
 - ▶ Sınırlı plasental mosaisizm
 - ▶ Fetal ölüm
 - ▶ Kaybolan ikiz
 - ▶ Fetal kısmi trizomi veya kısmi monozomi
 - ▶ Fetal mosaisizm
- ▶ Testin hassasiyetini ve özgünlüğünü destekleyen kanıtlar tekiz ve ikiz gebelikleri kapsamaktadır. Bu kullanım talimatları, üçüz veya daha fazla sayıda gebeliğe ilişkin hassasiyet ya da özgünlük verileri sağlamaz.
- ▶ VeriSeq NIPT Çözümü aşağıdakileri raporlamaktadır:
 - ▶ 21, 18 ve 13 kromozomlarının aşırı ifadesi
 - ▶ Şu cinsiyet kromozal anöploidileri: XO, XXX, XXY ve XYY
- ▶ VeriSeq NIPT Çözümü, triploidi gibi poliploidileri tespit etmeye yönelik değildir.
- ▶ VeriSeq NIPT Çözümü testi belirli kromozom anormalliklerine bakar. Anöploidi Saptanmadı olarak raporlanan sonuçlar test edilen kromozomların kromozal anormallik olasılığını ortadan kaldırmaz. Buna ek olarak, negatif bir sonuç gebeliğin farklı kromozal anormallikleri, genetik durumları veya doğum kusurları (örn. açık nöral tüp defekti) olması olasılığını ortadan kaldırmaz.

Ürün Bileşenleri

VeriSeq NIPT Çözümü aşağıdakilerden oluşur:

- ▶ VeriSeq NIPT Numune Hazırlama Kiti (48 numune) (parça no 15066801)
- ▶ VeriSeq NIPT Numune Hazırlama Kiti (96 numune) (parça no 15066802)
- ▶ VeriSeq Tesis Sunucusu (parça no 15076164)
 - ▶ VeriSeq NIPT Test Yazılımı, önceden VeriSeq Tesis Sunucusu'na kurulmuş
- ▶ VeriSeq NIPT Microlab STAR (parça no Hamilton Company Reno: 95475-01 (115 V) ve 95475-02 (230 V), Hamilton Company Bonaduz: 806288)
 - ▶ VeriSeq NIPT İş Akışı Yöneticisi, VeriSeq NIPT Microlab STAR iş istasyonuna önceden kurulmuş

Reaktifler

Temin Edilen Reaktifler

Illumina şu reaktifleri temin etmektedir: VeriSeq NIPT Numune Hazırlama Kiti (48 numune) (parça no 15066801) ve VeriSeq NIPT Numune Hazırlama Kiti (96 numune) (parça no 15066802). VeriSeq NIPT Numune Hazırlama Kitleri Hamilton Company tarafından temin edilen ML STAR (parça no 806288) ile kullanılmak üzere yapılandırılır.

VeriSeq NIPT Numune Hazırlama, Ekstraksiyon Kutusu

Tablo 1 VeriSeq NIPT Ekstraksiyon Kutusu (48), Parça No 15066803

Etiket Üzerindeki Reaktif Adı	Kitteki Kapların Sayısı	Etiket Hacmi	Aktif Bileşenler	Depolama
Lizis Tamponu	1	100 ml	Tamponlanmış sulu çözeltide guanidin hidroklorür	15 °C ila 30 °C
Yıkama Tamponu I	1	125 ml	Tamponlanmış sulu çözeltide guanidin hidroklorür ve 2-propanol	15 °C ila 30 °C
Yıkama Tamponu II	1	25 ml	Tuzlar içeren tamponlanmış sulu çözelti	15 °C ila 30 °C
Elüsyon Tamponu	1	30 ml	Tamponlanmış sulu çözelti	15 °C ila 30 °C
Proteinaz Tamponu	1	35 ml	Tamponlanmış sulu çözeltide gliserol	15 °C ila 30 °C
Proteinaz K	3	75 mg	Liyofilize Proteinaz K	15 °C ila 30 °C

Tablo 2 VeriSeq NIPT Ekstraksiyon Kutusu (96), Parça No 15066807

Etiket Üzerindeki Reaktif Adı	Kitteki Kapların Sayısı	Etiket Hacmi	Aktif Bileşenler	Depolama
Lizis Tamponu	1	100 ml	Tamponlanmış sulu çözeltide guanidin hidroklorür	15 °C ila 30 °C
Yıkama Tamponu I	1	125 ml	Tamponlanmış sulu çözeltide guanidin hidroklorür ve 2-propanol	15 °C ila 30 °C
Yıkama Tamponu II	2	25 ml	Tuzlar içeren tamponlanmış sulu çözelti	15 °C ila 30 °C
Elüsyon Tamponu	1	30 ml	Tamponlanmış sulu çözelti	15 °C ila 30 °C
Proteinaz Tamponu	1	35 ml	Tamponlanmış sulu çözeltide gliserol	15 °C ila 30 °C
Proteinaz K	4	75 mg	Liyofilize Proteinaz K	15 °C ila 30 °C

VeriSeq NIPT Numune Hazırlama, Kitaplık Hazırlama Kutusu

Tablo 3 VeriSeq NIPT Kitaplık Hazırlama Kutusu (48), Parça No 15066809

Etiket Üzerindeki Reaktif Adı	Kitteki Kapların Sayısı	Etiket Hacmi	Aktif Bileşenler	Depolama
Uç Onarım Karışımı	1	2,72 ml	Tamponlanmış sulu çözeltide DNA polimeraz ve dNTP'ler	-25 °C ila -15 °C
A-Kuyrukama Karışımı	1	910 µl	Tamponlanmış sulu çözeltide DNA polimeraz ve dATP	-25 °C ila -15 °C
Bağlama Karışımı	1	233 µl	Tamponlanmış sulu çözeltide DNA ligaz	-25 °C ila -15 °C
Hibridizasyon Tamponu	1	12 ml	Tamponlanmış sulu çözelti	-25 °C ila -15 °C
VeriSeq NIPT DNA Adaptörü Plakası	1	Geçerli Değil	Tamponlanmış sulu çözeltide oligonükleotidler	-25 °C ila -15 °C

Tablo 4 VeriSeq NIPT Kitaplık Hazırlama Kutusu (96), Parça No 15066810

Etiket Üzerindeki Reaktif Adı	Kitteki Kapların Sayısı	Etiket Hacmi	Aktif Bileşenler	Depolama
Uç Onarım Karışımı	1	2,72 ml	Tamponlanmış sulu çözeltide DNA polimeraz ve dNTP'ler	-25 °C ila -15 °C
A-Kuyuklama Karışımı	2	910 µl	Tamponlanmış sulu çözeltide DNA polimeraz ve dATP	-25 °C ila -15 °C
Bağlama Karışımı	2	233 µl	Tamponlanmış sulu çözeltide DNA ligaz	-25 °C ila -15 °C
Hibridizasyon Tamponu	1	12 ml	Tamponlanmış sulu çözelti	-25 °C ila -15 °C
VeriSeq NIPT DNA Adaptörü Plakası	1	Geçerli Değil	Tamponlanmış sulu çözeltide oligonükleotidler	-25 °C ila -15 °C

VeriSeq NIPT Numune Hazırlama, Aksesuar Kutusu

Tablo 5 VeriSeq NIPT Aksesuar Kutusu, Parça No 15066811

Etiket Üzerindeki Reaktif Adı	Kitteki Kapların Sayısı	Etiket Hacmi	Aktif Bileşenler	Depolama
DNA Bağlama Plakası	1	Geçerli Değil	Değiştirilmiş silikon membranlı propilen mikroplaka	2 °C ila 8 °C
Yeniden Süspansiyon Tamponu	1	35 ml	Tamponlanmış sulu çözelti	2 °C ila 8 °C
Numune Saflaştırma Kürecikleri	1	10 ml	Tamponlanmış sulu çözeltide katı halde paramanyetik kürecikler	2 °C ila 8 °C
DNA Miktar Tayini Reaktifi	1	294 µl	DMSO'da DNA ekleme boyası	2 °C ila 8 °C
DNA Miktar Tayini Standardı	1	110 µl	dsDNA standardı, spesifik olmayan DNA ve tamponlanmış sulu çözeltide sodyum azit	2 °C ila 8 °C

VeriSeq NIPT Numune Hazırlama, İş Akışı Tüpleri ve Etiketler

Tablo 6 İş Akışı Tüpleri ve Etiketler, Parça No 15071543

Etiket Üzerindeki Parça Adı	Kitteki Parçaların Sayısı	Depolama
Etiket (LBL)–Plaka Barkodu	9	15 °C ila 30 °C
Etiket (LBL)–Derin Kuyulu Plaka Barkodu	12	15 °C ila 30 °C
Tüp (TB)–Boş Havuzlama Tüpü	5	15 °C ila 30 °C

Temin Edilmeyen Reaktifler

Gerekli Reaktifler, Temin Edilmeyen

- ▶ DNaz/RNaz içermeyen su
- ▶ Etanol, moleküler biyoloji için %100 (200 derece)
- ▶ Yeni nesil sekanslama (NGS) sistemi için gerekli sekanslama reaktifleri ve sarf malzemeleri

İsteğe Bağlı Reaktifler, Temin Edilmeyen

- ▶ Şablonsuz kontrol (NTC) için Dulbecco Fosfat Tamponlu Salin (DPBS)

Depolama ve Taşıma

- Oda sıcaklığı 15 °C ila 30 °C olarak tanımlanmıştır.
- Tüm reaktifler yalnızca tek sefer kullanım içindir. Reaktifler kullanılmak üzere hazırlandıktan sonra hemen kullanılmalıdır.
- VeriSeq NIPT Çözümü bileşenlerinin ambalajı veya içerikleri hasar görmüşse veya bozulmuşsa lütfen Illumina Müşteri Hizmetleri ile iletişim kurun.
- Reaktifler belirtilen şekilde saklandıklarında kit etiketlerinde belirtilen son kullanım tarihine kadar stabildir. Depolama koşulları için bkz. *Temin Edilen Reaktifler, sayfa 3*. Son kullanım tarihi geçmiş reaktifleri kullanmayın.
- Temin edilen reaktiflerin fiziksel görünümündeki değişiklikler materyallerin bozulduğunu gösterebilir. Fiziksel görünümde değişiklikler oluşursa (örn. reaktif renginde belirgin değişiklikler veya mikrobiyal kontaminasyonla gözle görünür bulanıklık) reaktifleri kullanmayın.
- Numune Saflaştırma Küreciklerini kullanırken aşağıdaki en iyi uygulamalara uyun:
 - Kürecikleri asla dondurmayın.
 - Kullanmadan önce küreciklerin oda sıcaklığına ulaşmasını sağlayın.
 - Kullanmadan hemen önce, iyice süspansiyon haline gelinceye ve renk homojen görününceye kadar kürecikleri vorteksleyin.
- Lizis Tamponu, Yıkama Tamponu I, Yıkama Tamponu II, Elüsyon Tamponu ve Proteinaz Tamponu görülebilir çökeltiler veya kristaller oluşturabilir. Kullanmadan önce güçlü bir biçimde vorteksleyin ve daha sonra çökelti kalmadığından emin olmak için görsel olarak inceleyin.
- Alındıktan sonra tam kanı asla dondurmayın.
- Havuzlamadan sonra kitaplıkları en kısa sürede sekanslayın. Havuzlanan kitaplıklar -25 °C ila -15 °C'de 7 güne kadar stabildir.

Ekipman ve Materyaller

Gerekli Ekipmanlar ve Materyaller, Temin Edilmeyen

Gerekli Ekipmanlar, Temin Edilmeyen

Ekipman	Tedarikçi
20 µl tek kanallı pipetler	Genel laboratuvar tedarikçisi
200 µl tek kanallı pipetler	Genel laboratuvar tedarikçisi
1000 µl tek kanallı pipetler	Genel laboratuvar tedarikçisi
Pipet Desteği	Genel laboratuvar tedarikçisi
Soğutucu, 2 °C ila 8 °C	Genel laboratuvar tedarikçisi
Dondurucu, -25 °C ila -15 °C	Genel laboratuvar tedarikçisi
Mikrosantrifüj	Genel laboratuvar tedarikçisi
Vorteksleyici	Genel laboratuvar tedarikçisi
Kan toplama tüpleri için santrifüj ve rotor tertibatı	
Tavsiye edilen: <ul style="list-style-type: none"> • Allegra 6 Series Santrifüj, 1600 g • Allegra Santrifüj, Kovalı GH-3.8 Rotor • Allegra Santrifüj Kovası Kapakları, ikili set • Allegra Santrifüj Adaptörü Tertibatı, 16 mm, dörtlü set 	<ul style="list-style-type: none"> • Beckman Coulter, parça no 366830 (120 V) • Beckman Coulter, parça no 360581 • Beckman Coulter, parça no 360585 • Beckman Coulter, parça no 359150

Ekipman	Tedarikçi
Eşdeğeri: <ul style="list-style-type: none"> Fren seçeneği olmayan 1600 x g kapasiteli soğutmalı santrifüj Kovalı salıncak kovalı rotor Kova eklentileri, 48 veya 96 tüp kapasitesi, 76 mm minimum derinlik 16 x 100 mm kan toplama tüpünü destekleyecek eklenti adaptörleri 	Genel laboratuvar tedarikçisi
Mikroplakalar için santrifüj ve rotor tertibatı	
Tavsiye edilen: <ul style="list-style-type: none"> Sorvall Legend XTR Santrifüj HIGHPlate 6000 Mikroplaka Rotoru Mikroplakalar için aşağıdaki destek tabanlarından biri: <ul style="list-style-type: none"> MicroAmp 96 Kuyulu Destek Tabanı 96 Kuyulu PCR Plaka Taşıyıcı 	<ul style="list-style-type: none"> Thermo Fisher Scientific, katalog no 75004521 (120 V) veya katalog no 75004520 (230 V) Thermo Fisher Scientific, katalog no 75003606 Thermo Fisher Scientific, katalog no 4379590 Thermo Fisher Scientific, katalog no AB-0563/1000
Eşdeğeri: <ul style="list-style-type: none"> 5600 x g kapasiteli santrifüj 96 kuyulu plaka taşıyıcılarıyla salıncak plakalı rotor, 76,5 mm minimum derinlik Mikroplakalar için destek tabanı 	Genel laboratuvar tedarikçisi
SoftMax Pro v6.2.2 veya daha yüksek sürümlü aşağıdaki mikroplaka okuyuculardan (florometre) biri: <ul style="list-style-type: none"> Gemini XPS SpectraMax M2 	<ul style="list-style-type: none"> Molecular Devices, parça no XPS Molecular Devices, parça no M2
SpectraMax Yüksek Hızlı USB, Seri Adaptör	Molecular Devices, parça no 9000-0938
Aşağıdaki teknik özelliklerde termal döngüleyici: <ul style="list-style-type: none"> Isıtmalı kapak 4 °C ila 98 °C sıcaklık aralığı ±2 °C sıcaklık hassasiyeti Saniyede 2 °C minimum artış oranı Twin.tec PCR Plakası 96 kuyulu, tam etekli cihaz ile uyumlu 	Genel laboratuvar tedarikçisi
VeriSeq NIPT MicroLab STAR	Hamilton, parça no 95475-01 (115 V) veya parça no 95475-02 (230 V)
Aşağıdaki özelliklere sahip yeni nesil sekanslama sistemi (NGS): <ul style="list-style-type: none"> 2 x 36 bp çift sonlu sekanslama VeriSeq NIPT Numune Hazırlama çift dizin adaptörleriyle uyumlu .BCL dosyalarının otomatik üretimi İki boya bazlı kimya Her çalışmada 400 milyon çift sonlu okuma VeriSeq NIPT Test Yazılımı ile uyumlu 	Cihaz tedarikçisi
VeriSeq Tesis Sunucusu	Illumina, parça no 15076164

İsteğe Bağlı Ekipmanlar Temin Edilmeyen

Ekipman	Tedarikçi
Pluggo Decapper Sistemi	LGP Consulting, parça no 4600 4450
SpectraMax SpectraTest FL1 floresan validasyon plakası	Molecular Devices, parça no 0200-5060
Tüp Döndürücü/Çevirici, 15 ml tüpler, 40 rpm, 100–240 V	Thermo Scientific, katalog no 88881001 (ABD) veya katalog no 88881002 (AB)

Gerekli Materyaller, Temin Edilmeyen

Sarf Malzemesi	Tedarikçi
1000 µl İletken Steril Olmayan Filtre Ucu	Hamilton, parça no 235905
300 µl İletken Steril Olmayan Filtre Ucu	Hamilton, parça no 235903
50 µl İletken Steril Olmayan Filtre Ucu	Hamilton, parça no 235948
Derin Kuyulu Hazne	Corning Axygen, ürün no RES-SW96-HP-SI
MagNA Pure LC Orta Reaktif Tüpü 20, 20 ml	Roche, ürün no 3004058001
Derin Kuyu Plakası 96, 2 ml	Eppendorf, parça no 951033600
Düşük Hacimli 384 Kuyulu Siyah Düz Tabanlı Polistiren Mikroplaka	Corning, ürün no 3820
Twin.tec PCR Plaka 96 kuyulu, tam etekli	Eppendorf, parça no 30129512
Aşağıdaki kapaklardan biri: • Microseal 'F' Folyo • Folyo kapaklar	• Bio-Rad, katalog no MSF1001 • Beckman Coulter, parça no 538619
Hücresiz DNA BCT CE	Streck, katalog no 218997
İtmeli Kapaklar	Sarstedt, sipariş no 65.802
2 ml Vidalı kapaklı tüpler	Genel laboratuvar tedarikçisi
20 µl pipetleyici için 20 µl filtre uçları	Genel laboratuvar tedarikçisi
200 µl pipetleyici için 200 µl filtre uçları	Genel laboratuvar tedarikçisi
1000 µl pipetleyici için 1000 µl filtre uçları	Genel laboratuvar tedarikçisi
25 ml Serolojik Pipetler	Genel laboratuvar tedarikçisi
10 ml Serolojik Pipetler	Genel laboratuvar tedarikçisi
Tavsiye edilen: • Deconex® SOLARSEPT • Deconex® 61 DR	Borer Chemie AG
Eşdeğeri: • Alkol bazlı hızlı dezenfektan sprey • Dezenfektan deterjan çözeltisi	Genel laboratuvar tedarikçisi

İsteğe Bağlı Materyaller, Temin Edilmeyen

Sarf Malzemesi	Tedarikçi
Tüp, vida kapaklı, 10 ml	Sarstedt, sipariş no 60.551
Tüp, vida kapaklı, 50 ml	Genel laboratuvar tedarikçisi

Numune Toplanması, Nakliyesi ve Depolaması

**DİKKAT**

Tüm numuneleri potansiyel olarak bulaşıcı maddelermiş gibi taşıyın.

- 1 Streck Hücresiz DNA BCT'de toplanan 7-10 ml tam kan numuneleri kullanılmalıdır. Dondurmayın.
- 2 Kan toplama tüplerini toplandıktan sonra 5 gün içerisinde 4 °C'de saklayın ve plazma izolasyonunu 10 gün içerisinde tamamlayın.
- 3 Tam kanın taşınması, etiyolojik maddelerin taşınmasına yönelik yürürlükteki tüm yönetmeliklere uygun olmalıdır.

Uyarılar ve Tedbirler

- ▶ Bu test Proteinaz K içerir. Solunması, yutulması, ciltle ve gözle teması halinde kişisel yaralanmaya neden olabilir. İyi havalandırılan bir alanda kullanın, koruyucu kıyafet giyin, tozu solumaktan kaçının ve tüm kapları ve kullanılmayan içerikleri yürürlükteki hükümet güvenlik standartları uyarınca bertaraf edin.
- ▶ Bu test guanidinyum klorür içerir. Solunması, yutulması, ciltle ve gözle teması halinde kişisel yaralanmaya neden olabilir. İyi havalandırılan bir alanda kullanın, koruyucu kıyafet giyin ve tüm kapları ve kullanılmayan içerikleri yürürlükteki yerel hükümet güvenlik standartları uyarınca bertaraf edin.
- ▶ Bu test alevlenebilir bir kimyasal olan 2-propanol içerir. Isıdan ve açık alevden uzak tutun. Solunması, yutulması, ciltle ve gözle teması halinde kişisel yaralanmaya neden olabilir. İyi havalandırılan bir alanda kullanın, koruyucu kıyafet giyin ve tüm kapları ve kullanılmayan içerikleri yürürlükteki yerel hükümet güvenlik standartları uyarınca bertaraf edin.
- ▶ Zararlı gazların oluşmasını önlemek için cfDNA ekstraksiyon atıklarını (guanidin tiosiyanat içerir) ağartıcı içeren atıklarla (sodyum hipoklorit) atmayın.
- ▶ Tüm numuneleri potansiyel olarak bulaşıcı maddeler içeriyormuş gibi taşıyın.
- ▶ Rutin laboratuvar tedbirlerini uygulayın. Ağzınızla pipetlemeyin. Belirlenmiş çalışma alanlarında yemek yemeyin, içecek tüketmeyin veya sigara içmeyin. Numuneleri ve test reaktiflerini kullanırken tek kullanımlık eldiven takın ve laboratuvar önlüğü giyin. Numuneleri ve test reaktiflerini elledikten sonra ellerinizi iyice yıkayın.
- ▶ Test bileşenlerini test kutusu etiketinde belirtilen son kullanma tarihlerinden sonra kullanmayın. Test bileşenlerini farklı test lotlarındaki bileşenlerle değiştirmeyin. Test lotları test kutusu etiketinde tanımlanmıştır. Test bileşenlerini belirtilen sıcaklıkta saklayın.
- ▶ Numune veya reaktif bozunmasını önlemek için temizlikten kaynaklanan tüm sodyum hipoklorit buharlarının protokol başlamadan önce tamamen dağıtıldığından emin olun.
- ▶ Belirtilen prosedürlerin uygulanmaması hatalı sonuçlara veya numune kalitesinde belirgin azalmaya neden olabilir.

Prosedür Notları

Kontaminasyonun Önlenmesi

- ▶ Yeni uçlar ve yeni laboratuvar sarf malzemeleri kullanın.
- ▶ Numuneleri bir pipetle karıştırın. Aerosole dayanıklı uçların kullanımı taşıma ve numuneden numuneye çapraz kontaminasyon riskini azaltır. Vorteksleme işleminden sonra santrifüjleyin.
- ▶ Kontaminasyon potansiyeli nedeniyle, kuyu içeriklerinin tamamen kuyuda kaldığından emin olmak için çok dikkat edin. İçerikleri sıçratmayın.
- ▶ Kan ve kan türevleri kullanırken, doğru laboratuvar uygulaması ve hijyen bakımından yürürlükteki yönetmelikleri izleyin.

VeriSeq NIPT Microlab STAR Tablası Temizliği

- ▶ Kullanmadan önce, temizlik bakımından tablayı inceleyin. En az haftada bir kez haftalık bakım gerçekleştirin ve bu temizlik talimatlarını izleyin.
- ▶ Tüm taşıyıcıları alkol bazlı hızlı dezenfektan spreyle (Deconex® SOLARSEPT veya eşdeğeri) temizleyin ve kurumaya bırakın. Ağır bir şekilde kirlenmişlerse daha sonra bunları dezenfektan deterjan çözeltisine (Deconex® 61 DR temizlik sıvısı veya eşdeğeri) batırın.
- ▶ Ön kapağı açın ve tablayı Deconex® SOLARSEPT (veya eşdeğeri) ile doygun bir bezle silin. Özellikle kaydırma bloklarının temizliği kontrol edilmelidir.
- ▶ CVS manifoldunu sökün ve CVS manifoldunu, contasını ve iç haznelerini bezle temizleyin. CORE 96 başlı için uç atık kutusunu ve bağımsız kanalı boşaltın.

- ▶ Atık uç istasyonunun bağımsız kanal uç çıkarma plakasını sökün ve temizleyin: yüzeye doğrudan Deconex® SOLARSEPT (veya eşdeğeri) püskürtün ve silin. Çerçeve üzerine yeni bir plastik torba çekin ve yeniden tutturun. Temiz uç çıkarma plakasını yerine geri koyun.
- ▶ CORE 96 başlı atık kutusunun ve kanalın yüzeyine doğrudan Deconex® SOLARSEPT (veya eşdeğeri) püskürtün ve silerek temizleyin.
- ▶ Hav bırakmayan bir bezi veya pamuklu çubuğu %70 etanolla ıslatın. Barkod okuyucunun lazer tarayıcı penceresini temizleyin. Aynı bezi veya çubuğu kullanarak CPAC plaka adaptörünün her bir kuyusunu temizleyin. Bir bez kullanıyorsanız, kuyunun iç kısmının düzgün temizlendiğinden emin olmak için bir kalemin arkasını kullanarak adaptörün her bir kuyusuna bezi bastırın.
- ▶ Bağımsız kanalları temizleyin:
 - ▶ Bağımsız kanallarda uç çıkarma manşonunu (pipetleme kanallarının dış kısmı) Deconex® SOLARSEPT (veya eşdeğeri) ile ıslatılmış hav bırakmayan bir bezle temizleyin. (Bkz. *Hamilton Microlab STAR Referans Kılavuzu no 15070074.*)
 - ▶ Durdurma diskini ve pipetleme başının O halkalarını (pipetleme kanallarının dış kısmı) Deconex® SOLARSEPT (veya eşdeğeri) ile ıslatılmış hav bırakmayan bir bezle temizleyin.
- ▶ CORE 96 başlı atık kutusunu temizleyin:
 - ▶ Deconex® SOLARSEPT (veya eşdeğeri) ile ıslatılmış aynı bezi kullanarak 96 başlı kutunun muhafazasını ve durdurma disklerinin alt kısmını temizleyin.
 - ▶ Aynı bezi veya Deconex® SOLARSEPT (veya eşdeğeri) ile ıslatılmış bezden yırtılmış bir şerit parçayı kullanarak bezi 96 başlı kutunun pipet kanallarının yanlarından 'ip gibi geçirerek' o halkalarını temizleyin. Bu prosedürü 96 başlı kutunun tüm pipet kanalları için tekrarlayın.
- ▶ Ön ve yan kapağa Deconex® SOLARSEPT (veya eşdeğeri) püskürtün ve silerek kurutun.
- ▶ Otomatik yükleme bandını Deconex® SOLARSEPT (veya eşdeğeri) ile ıslatılmış bir bezle temizleyin ve basınç uygulamadan silin.



NOT

ML STAR cihazının hatalı temizliği veya bakımı çapraz kontaminasyona veya kötü test performansına neden olabilir.

Kalite Kontrol

Bilinen performans özelliklerine sahip kontrol malzemesi laboratuvarındaki işleme ve teknik prosedürlerdeki farklılıkları tespit etmek için değerlendirilebilir.



NOT

Bir referans numunenin çalışılması veya şablonuz kontrol, her bir numune hazırlama kitiyle işlenebilecek bilinmeyen maternal numunelerin toplam sayısını azaltır.

48 numunelik her bir seri için iki NTC numunesini ve 96 numunelik her bir seri için dört NTC numunesini aşmayın.

Kullanım Talimatları

İpuçları ve Teknikler

Protokolde güvenli durma noktası belirtilmedikçe, derhal bir sonraki adıma devam edin.

Plakaların Barkodlanması

- PL ile başlayan tam etekli plakalar için barkodlar.
- DW ile başlayan derin kuyulu plakalar için barkodlar.
- Tam etekli plakalar ve derin kuyulu plakalar için barkodları 12. sütunun yanındaki tarafa yapıştırın.

- Otomatik taramayı etkinleştirmek için plakaları barkod sağ tarafa bakacak şekilde yükleyin.

Plakayı Kapatma ve Açma

- ▶ Protokoldeki aşağıda verilen adımlardan önce 96 kuyulu plakayı daima kapatın:
 - ▶ Santrifüj adımları
 - ▶ Termal döngüleme adımları
- ▶ Plakayı kapatmak için plakaya yapışkanlı kapağı yapıştırın ve daha sonra kapatın.
- ▶ Açmadan önce:
 - ▶ 96 kuyulu plakayı 20 saniye boyunca 1000 x g'de kısa süre santrifüjleyin.
 - ▶ Kapağı yavaşça çıkarmadan önce plakayı düz bir yüzeye yerleştirin.

VeriSeq NIPT Microlab STAR

- ▶ Kullanmadan önce, üretici talimatlarına göre gerekli bakımı gerçekleştirin ve belgelendirin.
- ▶ Otomatik adımlar sırasında ML STAR'ı gözlemleyin. Komutlar ve kullanıcı talimatları için VeriSeq NIPT İş Akışı Yöneticisi yazılımı arayüzünü takip edin.
- ▶ Çalışma sırasında ön kapağı yerinde tutun.
- ▶ Çalışma sırasında tüm nesnelere tabladan uzak tutun.
- ▶ Plaka vakum adımları sırasında:
 - ▶ VeriSeq NIPT İş Akışı Yöneticisi tarafından komut gelirse plaka ve vakum manifoldu arasında sızdırmazlık sağlamak için manuel olarak destek olun.
 - ▶ Ekipman arızası durumunda, İş Akışı Yöneticisi yazılımı tarafından komut verildiğinde vakumu manuel olarak kapatın ve açın.
- ▶ Sistemin adaptörden uçları otomatik olarak atmasına olanak sunun. Uçları manuel olarak çıkarmayın.
- ▶ Kullanılan reaktifleri ve sarf malzemelerini İş Akışı Yöneticisi tarafından bildirildiği şekilde çıkarın.
- ▶ Vakum atık damacanelerini her gün boşaltın. İlk damacana asla ½ dolu seviyeyi aşmamalıdır. Vakum atığının aşırı akımı vakum pompasına zarar verebilir.

Kan Numunelerinin İşlenmesi

Prosedür

- 1 Barkodlanmış kan numunelerini 1600 x g'de 10 dakika boyunca 4 °C sıcaklıkta fren kapalı olarak santrifüjleyin.
- 2 Santrifüjün durmasını bekleyin ve ardından numune tüplerini çıkarın.
Santrifüj işleminden sonra 15 dakika içerisinde plazma izolasyonuna başlayın. 15 dakikadan daha fazla süre geçerse santrifüjleme prosedürünü tekrarlayın.
- 3 Beyaz kan hücresi tabakasının üzerinde en az 1,5 ml plazma bulunduğunu teyit etmek için her bir tüpü görsel olarak inceleyin.



NOT

Alınan her alikot için 1-3. adımları gerçekleştirin.

- 4 Tüplerin kapaklarını açın ve tüp taşıyıcılara yerleştirin. Seri için tüm numuneleri ve tüm plazma kontrollerini yükleyin.

Plazma İzolasyonu

Hazırlık

- 1 1 derin kuyulu plakayı Ara Plazma olarak etiketleyin ve barkod yapıştırın.
- 2 1 derin kuyulu plakayı Nihai Plazma olarak etiketleyin ve barkod yapıştırın.

Prosedür

- 1 AppLauncher uygulamasını açın ve ardından VeriSeq NIPT Method (VeriSeq NIPT Yöntemi) ögesine tıklayın.
 - 2 Seri Numarasını ve kullanıcı adını girerek **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
Seri numarasının 26 karakter sınırı vardır. Yalnızca sayıları, harfleri, alt çizgileri () ve tireleri (-) kullanın. Örneğin: 2025-10-16_Batch3.
 - 3 **New Batch** (Yeni Seri) ögesine tıklayın ve başladıktan sonra, plazma izolasyonunu başlatmak için **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
 - 4 Aşağıdakilerden birini gerçekleştirin.
 - Mevcut numune sayfasını yüklemek için seriyle ilişkili numune sayfasını seçin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
 - Numune sayfası seçmeden devam etmek için **No Sample Sheet** (Numune Sayfası Yok) ögesine tıklayın.
- Numune sayfası oluşturma hakkında bilgi için bkz. *VeriSeq NIPT Çözümü Yazılım Kılavuzu (belge no 100000001949)*.



NOT

Tekiz veya ikiz numune türü, uygun şekilde veri analizi yapılabilmesi adına her bir numune için doğru şekilde kaydedilmelidir.

- 5 Seri boyutunu seçin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 6 Şablonsuz kontrollerin sayısını (NTC'ler) seçin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 7 Tüm barkodların yapılandırılmış olduğunu teyit edin ve numuneleri, uçları ve (barkod sağa dönük olarak) plakaları taşıyıcıya yükleyin. Her yükleme komutundan sonra **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48	Uç	7-12	1000 µl uçlar	5
	Tüp	15	Hazırlanan kan numunesi tüpleri 1-24	1-24
	Tüp	16	Hazırlanan kan numunesi tüpleri 25-48	25-48
	Multiflex	19-24	Boş derin kuyulu plaka, Nihai Plazma - barkodlu	4
	Multiflex	19-24	Boş derin kuyulu plaka, Ara Plazma - barkodlu	5
	Reaktif	47	[İsteğe bağlı] Şablonsuz kontrol için DPBS	5
96	Uç	7-12	1000 µl uçlar	4, 5
	Tüp	15	Hazırlanan kan numunesi tüpleri 1-24	1-24
	Tüp	16	Hazırlanan kan numunesi tüpleri 25-48	25-48
	Tüp	17	Hazırlanan kan numunesi tüpleri 49-72	49-72
	Tüp	18	Hazırlanan kan numunesi tüpleri 73-96	73-96
	Multiflex	19-24	Boş derin kuyulu plaka, Nihai Plazma - barkodlu	4
	Multiflex	19-24	Boş derin kuyulu plaka, Ara Plazma - barkodlu	5
	Reaktif	47	[İsteğe bağlı] Şablonsuz kontrol için DPBS	5

- 8 Taşıyıcıların, laboratuvar donanımının ve reaktiflerin doğru biçimde yüklendiğinden emin olun ve ardından Pre-Spin Deck Verification (Döndürme Öncesi Tabla Doğrulama) ekranından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 9 Otomatik adımlar gerçekleştirirken ML STAR'ı gözlemleyin.
- 10 İş Akışı Yöneticisi tarafından uyarı verildiğinde, ML STAR yükleme tablasının civarında ML STAR'ın taşıyıcıları boşaltması için hiçbir engel bulunmadığından emin olun ve ardından **Unload** (Boşalt) ögesine tıklayarak tablayı boşaltın.

- 11 Ara Plazma derin kuyulu plakasını çıkarın.
 - a Her bir kuyuda tutarlı hacimler olması için plakayı görsel olarak inceleyin (pipet hataları yok). Beklenen hacim 1000 µl'dir.
 - b Tüm tutarsızlıkları not edin ve Plazma İzolasyonu prosedürü sonunda kaydedin.
 - c Plakayı kapatın, dengeli bir şekilde yükleyin ve 5600 × g'de 10 dakika boyunca fren kapalı olarak ve en düşük ayardayken santrifüjleyin.
- 12 Son Plazma Hazırlama prosedürüne ilerlemek için **Yes** (Evet) ögesine tıklayın.
- 13 Plaka kapağını açın ve plakayı tekrar taşıyıcıya yükleyin.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48, 96	Multiflex	19-24	Ara Plazma derin kuyulu plakası	5

- 14 **Intermediate Plasma plate has been spun** (Ara Plazma plakası döndürüldü) onay kutusunu seçin ve **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 15 Otomatik adımlar gerçekleştirirken ML STAR'ı gözlemleyin.
- 16 İş Akışı Yöneticisi tarafından uyarı verildiğinde, ML STAR yükleme tablasının civarında ML STAR'ın taşıyıcıları boşaltması için hiçbir engel bulunmadığından emin olun ve ardından **Unload** (Boşalt) ögesine tıklayarak tablayı boşaltın.
- 17 İş Akışı Yöneticisi tarafından uyarıldığında, taşıyıcıları ve tablayı boşaltın.
- 18 Nihai Plazma derin kuyulu plakasını çıkarın.
- 19 Aşağıdakiler bakımından plakayı görsel olarak inceleyin:
 - ▶ Her bir kuyuda tutarlı hacimler olduğunu. Beklenen hacmin 900 µl olduğunu.
 - ▶ Görünür hücre tanecikleri
 - ▶ Aşırı hemoliz
 Görünür hücre taneciği veya aşırı hemoliz gözlemlerseniz, Plazma İzolasyonu yönteminin sonunda etkilenen numuneyi geçersiz kılın veya Seri Yöneticisi'ni kullanın. Seri Yöneticisi hakkında daha fazla bilgi için bkz. *VeriSeq NIPT Çözümü Yazılım Kılavuzu (belge no 1000000001949)*.
- 20 İş Akışı Yöneticisi tarafından uyarıldığında **OK** (Tamam) ögesini tıklayın.
- 21 Etkilenen kuyular hakkındaki yorumları girin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 22 Aşağıdakilerden birini gerçekleştirin.
 - cfDNA Ekstraksiyonuna devam etmek için **Yes** (Evet) ögesine tıklayın.
 - Durmak için **Exit** (Çık) ögesine tıklayın.

GÜVENLİ DURMA NOKTASI

Duruyorsanız Nihai Plazma plakasını kapatın ve 2 °C ila 8 °C'de maksimum 7 gün boyunca saklayın.

cfDNA Ekstraksiyonu

Hazırlık

- 1 Kitin son kullanım tarihinin geçmediğini onaylamak için Ekstraksiyon ve Aksesuar Kutularını görsel olarak inceleyin.
- 2 Aşağıdaki reaktifleri hazırlayın. Hazne tüplerini ve derin kuyulu haznelerini reaktiflerin adlarıyla etiketleyin.

Kalem	Depolama	Talimatlar
Nihai Plazma derin kuyulu plaka, <i>Plazma İzolasyonu, sayfa 11.</i>	2 °C ila 8 °C	Daha önce depolanmışsa oda sıcaklığına gelmesi için 30 dakika bekletin. Kullanmadan önce Nihai Plazma derin kuyulu plakasını açın.
Proteinaz K	15 °C ila 30 °C	Yavaşça 3,75 ml Proteinaz Tamponunu her bir reaktif flakonuna ekleyin. <ul style="list-style-type: none"> • 48 numune için 3 flakon hazırlayın. • 96 numune için 4 flakon hazırlayın. Flakonun kapatın ve tekrar süspansiyon olana dek vorteksleyin. Tüm flakonlardan hazırlanan reaktif tüpünde toplayın.

Kalem	Depolama	Talimatlar
Yıkama Tamponu II	15 °C ila 30 °C	Her bir reaktif şişesine 100 ml %100 EtOH ekleyin. • 48 numune için 1 şişe hazırlayın. • 96 numune için 2 şişe hazırlayın. Karıştırmak için ters yüz edin. Şişe üzerindeki onay kutusunu işaretleyin.

- 3 1 yeni tam etekli plakayı Ara olarak etiketleyin ve bir plaka barkodu yapıştırın.
- 4 1 yeni tam etekli plakayı cfDNA Elüsyonu olarak etiketleyin ve bir plaka barkodu yapıştırın.
- 5 1 yeni derin kuyulu plakayı Ekstraksiyon Ara olarak etiketleyin ve bir derin kuyulu plaka barkodu yapıştırın.
- 6 DNA Bağlama plakasına bir plaka barkodu yapıştırın.
- 7 Vakum sisteminin temizliği için %70 EtOH temizleme çözeltisi (%70 EtOH, %30 DNaz/RNaz içermeyen su) hazırlayın.
- 8 Vakum sistemini hazırlayın.
 - a Vakum manifoldunu çıkarın ve %70 EtOH ile temizleyin.
 - b Vakum atık kutusunu boşaltın.
 - c ML STAR vakum sisteminin açık olduğundan emin olun.

Prosedür

- 1 cfDNA Ekstraksiyonu başlatmak için **OK** (Tamam) ögesine tıklayın. VeriSeq NIPT Yöntemi halihazırda açık değilse:
 - a AppLauncher uygulamasını açın ve **VeriSeq NIPT Method** (VeriSeq NIPT Yöntemi) ögesine tıklayın.
 - b Seri Numarasını ve kullanıcı adını girerek **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 2 Uçları aşağıdaki gibi uç taşıyıcılarına yükleyin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48	Uç	1-6	1000 µl uçlar	1, 2
		7-12	300 µl uçlar	1
96	Uç	1-6	1000 µl uçlar	1, 2, 3, 4
		7-12	300 µl uçlar	1

- 3 Sayılı uçları aşağıdaki gibi uç taşıyıcısına yükleyin.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48, 96	Uç	49-54	1000 µl uçlar	1
			300 µl uçlar	2
			50 µl uçlar	3

- 4 Her bir uç rafı için ilk ve son ucun konumunu girin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

- 5 Ekstraksiyon Kutusu barkodlarını tarayın.
- 6 Kullanıcı adını veya reaktifi hazırlayan kişinin baş harflerini girin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 7 Aksesuar Kutusu barkodlarını tarayın.
- 8 Kullanıcı adını veya reaktifi hazırlayan kişinin baş harflerini girin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 9 Barkodların takılı olduğunu teyit edin, gerekirse Nihai Plazma derin kuyulu plakasını açın ve plakaları aşağıdaki gibi plaka taşıyıcısına yerleştirerek (barkod sağa dönük olarak) **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48, 96	Multiflex	19-24	Yeni tam etekli plaka, Ara - barkodlu	1
			Yeni tam etekli plaka, cfDNA Elüsyonu - barkodlu	2
			Yeni derin kuyulu plaka, Ekstraksiyon Ara - barkodlu	4
			Nihai Plazma derin kuyulu plakası - barkodlu	5

- 10 DNA Bağlama plakasının barkodlu olduğunu teyit edin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 11 48 numunelik seri boyutu için bir contayı yarı genişliğinde kesin ve vakum manifolduna yüklemeye başlamadan önce plakanın kullanılmamış 7-12 kolonlarının üzerine uygulayın.
- 12 DNA Bağlama plakasını vakum manifolduna barkod sağa bakacak şekilde yükleyin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 13 Reaktif tüplerini aşağıdaki gibi reaktif taşıyıcısına yükleyin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48	Reaktif	47	16 ml Elüsyon Tamponu	1
			11 ml Proteinaz K	2
96	Reaktif	47	16 ml Elüsyon Tamponu	1
			15 ml Proteinaz K	2

- 14 Belirtilen reaktifleri derin kuyulu haznelere aktarın ve ardından hazneleri aşağıdaki gibi derin kuyulu taşıyıcılara yükleyerek **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48	Derin kuyu	39-44	125 ml Yıkama Tamponu II	1
			125 ml Yıkama Tamponu I	2
			60 ml %100 EtOH	3
			100 ml Lizis Tamponu	4
			60 ml DNaz/RNaz içermeyen su	5
96	Derin kuyu	39-44	200 ml Yıkama Tamponu II	1
			125 ml Yıkama Tamponu I	2
			100 ml %100 EtOH	3
			100 ml Lizis Tamponu	4
			100 ml DNaz/RNaz içermeyen su	5

- 15 Otomatik reaktif hacmi kontrolünün tamamlanmasını bekleyin.
- 16 Vakum atığının yarıdan fazla dolu olmadığını teyit edin (boş olması tavsiye edilir) ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 17 Tüm taşıyıcıların, laboratuvar teçhizatının ve reaktiflerin yerleşimini teyit edin ve ardından Extraction Deck Verification (Ekstraksiyon Tablası Doğrulama) ekranından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 18 Otomatik adımlar sırasında ML STAR'ı gözlemleyin.

- 19 Nihai vakum adımından sonra, DNA Bağlama plakasını santrifüjleyin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
 - a DNA Bağlama plakasını çıkarın ve alt yüzeyi %70 EtOH ile temizleyin.
 - b DNA Bağlama plakasındaki kapatılmayan tüm kuyuları kapatın ve bunu boş Nihai Plazma derin kuyulu plakasına yerleştirin.
 - c DNA Bağlama plakası/Nihai Plazma plakası tertibatını fren açık olarak 5600 × g'de 10 dakika boyunca santrifüjleyin.
- 20 DNA Bağlama plakası santrifüjü sırasında vakum temizliğini tamamlayın.
 - a Otomatik atık bertarafının tamamlanmasını bekleyin.
 - b Vakum manifoldunu ve vakum sisteminin içini %70 EtOH ile temizleyin ve ardından vakum manifoldunu değiştirin.
 - c Vakum manifoldunda elüsyon plakası aktarımını başlatmak için **Manifold is on Vacuum** (Manifold Vakumda) onay kutusunu seçin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 21 Vakum manifoldunu çıkarın ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 22 Santrifüj işleminden sonra DNA Bağlama plakasındaki numune içeren kuyuları açın ve cfDNA Elüsyon plakasına yerleştirin. cfDNA Elüsyon plakası vakum manifoldu üzerindedir. DNA Bağlama plakasını barkod sağda olacak şekilde yükleyin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 23 Otomatik adımlar sırasında ML STAR'ı gözlemleyin.
- 24 İnkübasyon adımından sonra **Plates are assembled as indicated** (Plakalar belirtilen şekilde takıldı) onay kutusunu seçerek DNA Bağlama/cfDNA Elüsyon plakası tertibatının bir destek tabanı üzerinde olduğunu teyit edin (santrifüj için gerekliyse).
- 25 DNA Bağlama plakası üzerindeki kapatılmamış kuyuları kapatın ve fren açık olarak 5600 × g'de 2 dakika boyunca santrifüjleyin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 26 Görsel olarak her bir kuyudaki cfDNA Elüsyon plakasında uygun hacimler olduğunu inceleyin. Beklenen hacim yaklaşık 55 µl'dir.
- 27 Kapatın ve kitaplık hazırlığı için cfDNA Elüsyon plakasını tutun.
- 28 İş Akışı Yöneticisi tarafından uyarı verildiğinde, ML STAR yükleme tablasının civarında ML STAR'ın taşıyıcıları boşaltması için hiçbir engel bulunmadığından emin olun ve ardından **Unload** (Boşalt) ögesine tıklayarak tablayı boşaltın.
- 29 Tüm taşıyıcıları boşaltın ve ML STAR tablasını temizleyerek **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 30 Etkilenen kuyular hakkındaki yorumları girin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 31 Aşağıdakilerden birini gerçekleştirin:
 - Kitaplıkları Hazırlamaya devam etmek için **Yes** (Evet) ögesine tıklayın.
 - Durmak için **Exit** (Çık) ögesine tıklayın.

GÜVENLİ DURMA NOKTASI

Duruyorsanız cfDNA Elüsyon plakasını kapatın ve -25 °C ila -15 °C'de maksimum 7 gün boyunca saklayın.

Kitaplıkları Hazırlama

Hazırlık

- 1 Kitlerin son kullanım tarihinin geçmediğini onaylamak için Kitaplık Hazırlama ve Aksesuar kutularını görsel olarak inceleyin.
- 2 Aşağıdaki reaktifleri hazırlayın. Hazne tüplerini ve derin kuyu haznelerini reaktif adlarıyla etiketleyin.

Kalem	Depolama	Talimatlar
Uç Onarım Karışımı	-25 °C ila -15 °C	Oda sıcaklığında çözündürün. Karıştırmak için vorteksleyin.
A-Kuyrukama Karışımı	-25 °C ila -15 °C	Oda sıcaklığında çözündürün. Karıştırmak için vorteksleyin ve ardından kısa süre santrifüjleyin.
Bağlama Karışımı	-25 °C ila -15 °C	Oda sıcaklığında çözündürün. Karıştırmak için vorteksleyin ve ardından kısa süre santrifüjleyin.
Yeniden Süspansiyon Tamponu	2 °C ila 8 °C	Karıştırmak için vorteksleyin. Kullandıktan sonra tekrar depolayın.
Hibridizasyon Tamponu	-25 °C ila -15 °C	Oda sıcaklığında çözündürün. Karıştırmak için vorteksleyin. Kullandıktan sonra tekrar depolayın.
VeriSeq NIPT DNA Adaptörü Plakası	-25 °C ila -15 °C	Oda sıcaklığında çözündürün. Karıştırmak için vorteksleyin. 1000 x g'de 20 saniye boyunca santrifüjleyin. Bir plaka barkodu yapıştırın.
Numune Safaştırma Kürecikleri	2 °C ila 8 °C	Oda sıcaklığına gelmesi için 30 dakika bekletin. Her kullanımdan önce kuvvetlice vorteksleyin. Tüm kürecikler süspansiyonda ve karışım homojen oluncaya kadar vorteksleyerek veya ters yüz ederek karıştırın.
%80 EtOH	2 °C ila 8 °C	Taze hazırlayın. 40 ml %100 EtOH ve 10 ml DNaz/RNaz içermeyen suyu birleştirin. Karıştırmak için ters yüz edin.
cfDNA Ekstraksiyonundan <i>cfDNA Ekstraksiyonu, sayfa 13.</i>	-25 °C ila -15 °C	Daha önce depolanmışsa plakanın 7 günden fazla saklanmadığını teyit edin ve oda sıcaklığında çözündürün. 1 dakika boyunca 1500 rpm'de vorteksleyin. 1000 x g'de 20 saniye boyunca santrifüjleyin.

- 3 1 yeni tam etekli plakayı Kitaplıklar olarak etiketleyin ve bir plaka barkodu yapıştırın.
- 4 ML STAR termal kontrolünün açık olduğundan emin olun.

Enzimleri Seyreltme

- 1 A-Kuyrukama Karışımı ve Yeniden Süspansiyon Tamponunu vidalı kapaklı bir tüpte birleştirin. Karıştırmak için vorteksleyin ve ardından kısa süre santrifüjleyin.

Numune Serisi Boyutu	A-Kuyrukama Karışımı	Yeniden Süspansiyon Tamponu
48	900 µl	1200 µl
96	1800 µl	2400 µl

- 2 Bağlama Karışımı ve Yeniden Süspansiyon Tamponunu vidalı kapaklı bir tüpte birleştirin. Karıştırmak için vorteksleyin ve ardından kısa süre santrifüjleyin.

Numune Serisi Boyutu	Bağlama Karışımı	Yeniden Süspansiyon Tamponu
48	230 µl	1713 µl
96	440 µl	3278 µl

Prosedür

- 1 Kitaplık Hazırlığını başlatmak için **OK** (Tamam) ögesine tıklayın. VeriSeq NIPT Yöntemi halihazırda açık değilse:
 - a AppLauncher uygulamasını açın ve **VeriSeq NIPT Method** (VeriSeq NIPT Yöntemi) ögesine tıklayın.
 - b Seri Numarasını ve kullanıcı adını girerek **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 2 Aşağıdakilerin Reagent Preparation (Reaktif Hazırlama) ekranında belirtildiği gibi hazırlandığını teyit edin:
 - ▶ A-Kuyuklama Karışımı, Bağlama Karışımı ve %80 EtOH
 - ▶ Numune Saflaştırma Kürecikleri, Uç Onarım Karışımı ve VeriSeq NIPT DNA Adaptörü Plakası
- 3 Onay kutularını seçin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 4 Kitaplık Hazırlık Kutusu barkodlarını tarayın.
- 5 Kullanıcı adını veya reaktifi hazırlayan kişinin baş harflerini girin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 6 Aksesuar Kutusu barkodlarını tarayın.
- 7 Kullanıcı adını veya reaktifi hazırlayan kişinin baş harflerini girin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 8 Uçları aşağıdaki gibi uç taşıyıcısına yükleyin ve ardından her bir taşıyıcı için **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48	Uç	1-6	50 µl uçlar	1, 2
		7-12	300 µl uçlar	1, 2, 3, 5
96	Uç	1-6	50 µl uçlar	1, 2, 3, 4
		7-12	300 µl uçlar	1, 2, 3, 4, 5

- 9 cfDNA Ekstraksiyonu prosedüründen sonra protokolü durdurduysanız sayılan uçları aşağıdaki gibi uç taşıyıcısına yükleyin.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48, 96	Uç	49-54	1000 µl uçlar	1
			300 µl uçlar	2
			50 µl uçlar	3

- 10 Her bir uç rafı için ilk ucun konumunu girin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 11 Barkodların yapıştırılmış olduğunu teyit edin ve plakaları aşağıdaki gibi plaka taşıyıcısına yükleyip (barkodlar sağa dönük olarak) **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48, 96	Multiflex	19-24	cfDNA Elüsyon plakası - barkodlu	1
			DNA Adaptörü plakası - barkodlu	2
			Yeni 96 kuyulu tam etekli plaka, kitaplıklar - barkodlu	3
			Yeni 96 kuyulu tam etekli plaka	4, 5

- 12 Derin kuyu taşıyıcısını aşağıdaki gibi yükleyin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48, 96	Derin kuyu	39-44	Derin kuyu haznesinde 50 ml %80 EtOH	1
			Yeni 96 kuyulu tam etekli plaka	2, 3, 4, 5

13 Reaktif tüplerini aşağıdaki gibi reaktif taşıyıcısına yükleyin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48, 96	Reaktif	47	2,5 ml Uç Onarım Karışımı	1
			Hazırlanan A-Kuyrukama Karışımı (toplam hacim)	2
			Hazırlanan Bağlama Karışımı (toplam hacim)	3
			10 ml Numune Safılaştırma Kürecikleri	4
			12 ml Hibridizasyon Tamponu	5

- 14 Taşıyıcıların, laboratuvar donanımının ve reaktiflerin belirtilen biçimde yüklendiğinden emin olun ve ardından Library Deck Verification (Kitaplık Tablası Doğrulama) ekranından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 15 Otomatik reaktif hacmi kontrolünün tamamlanmasını bekleyin.
- 16 Otomatik adımlar sırasında ML STAR'ı gözlemleyin.
- 17 İş Akışı Yöneticisi tarafından uyarı verildiğinde, ML STAR yükleme tablasının civarında ML STAR'ın taşıyıcıları boşaltması için hiçbir engel bulunmadığından emin olun ve ardından **Unload** (Boşalt) ögesine tıklayarak tablayı boşaltın.
- 18 Görsel olarak her bir kuyudaki Kitaplıklar plakasında uygun hacimler olduğunu inceleyin.
- 19 Kitaplıklar plakasını kapatıp muhafaza edin.
- 20 Taşıyıcıları boşaltın ve tablayı temizleyerek **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 21 Etkilenen kuyular hakkındaki yorumları girin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 22 Aşağıdakilerden birini gerçekleştirin:
- Kitaplık Miktar Tayini prosedürüne devam etmek için **Yes** (Evet) ögesine tıklayın.
 - Durmak için **Exit** (Çık) ögesine tıklayın.



NOT

Güvenli durma noktasında saklanmadıkça hemen miktar tayini ile devam edin.

GÜVENLİ DURMA NOKTASI

Duruyorsanız, Kitaplıklar plakasını depolamadan önce kapatın. Kitaplıklar plakası toplam 7 gün 25 °C ila 15 °C'de depolandığında stabildir.

Kitaplık Miktar Tayini

Hazırlık

1 Aşağıdaki reaktifleri hazırlayın:

Kalem	Depolama	Talimatlar
DNA Miktar Tayini Reaktif	2 °C ila 8 °C	Işıktan koruyun. Oda sıcaklığında çözdüren. Karıştırmak için vorteksleyin ve ardından kısa süre santrifüjleyin.
DNA Miktar Tayini Standardı	2 °C ila 8 °C	Karıştırmak için vorteksleyin ve ardından kısa süre santrifüjleyin.
Kitaplıklar plakası, <i>Kitaplıkları Hazırlama, sayfa 17</i>	-25 °C ila -15 °C	Daha önce depolanmışsa plakanın 7 günden fazla saklanmadığını teyit edin ve oda sıcaklığında çözdüren. Karıştırmak için vorteksleyin. 1000 x g'de 20 saniye boyunca santrifüjleyin.
Yeniden Süspansiyon Tamponu	2 °C ila 8 °C	Karıştırmak için vorteksleyin.

- 2 Kullanmadan 10 dakika önce florometreyi çalıştırın.
- 3 Yeni 384 kuyulu plakaya barkod yapıştırın.
- 4 Yeni tam etekli plakaya barkod yapıştırın.

Prosedür

- 1 Miktar tayinini başlatmak için **OK** (Tamam) ögesine tıklayın. VeriSeq NIPT Yöntemi halihazırda açık değilse:
 - a AppLauncher uygulamasını açın ve **VeriSeq NIPT Method** (VeriSeq NIPT Yöntemi) ögesine tıklayın.
 - b Seri Numarasını ve kullanıcı adını girerek **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 2 Aksesuar Kutusu barkodlarını tarayın.
- 3 Kullanıcı adını veya reaktifini hazırlayan kişinin baş harflerini girin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 4 Uçları aşağıdaki gibi uç taşıyıcısına yükleyin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48	Uç	1-6	300 µl uç rafı	1
			50 µl uç rafı	2
96	Uç	1-6	300 µl uç rafı	1
			50 µl uç rafı	2, 3

- 5 Barkodların yapıştırılmış olduğunu teyit edin, Kitaplıklar plakasını açın ve plakaları aşağıdaki gibi (barkod sağa dönük olarak) Multiflex taşıyıcısına yükleyip **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48, 96	Multiflex	19-24	Yeni tam etekli plakalar - barkodlu	1
			Yeni 384 kuyulu plaka - barkodlu	2
			Kitaplıklar plakası - barkodlu	3
			Yeni 96 kuyulu tam etekli plaka	4, 5

- 6 Başlıksız reaktif tüplerini aşağıdaki gibi tüp taşıyıcısına yükleyin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48, 96	Tüp	46	DNA Miktar Tayini Standardı	1
			DNA Miktar Tayini Reaktif	2

- 7 Reaktif tüplerini aşağıdaki gibi reaktif taşıyıcısına yükleyin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48, 96	Reaktif	47	Yeni reaktif tüpleri	1
			16 ml Yeniden Süspansiyon Tamponu	2

- 8 Kitaplık Hazırlama prosedüründen sonra protokolü durdurduysanız sayılan uçları aşağıdaki gibi uç taşıyıcısına yükleyin.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48, 96	Uç	49-54	1000 µl uçlar	1
			300 µl uçlar	2
			50 µl uçlar	3

- 9 Her bir uç rafı için ilk ve son ucun konumunu girin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 10 Taşıyıcıların, laboratuvar donanımının ve reaktiflerin belirtilen biçimde yüklendiğinden emin olun ve ardından Quant Deck Verification (Miktar Tayini Tablası Doğrulama) ekranından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 11 Otomatik reaktif hacmi kontrolünün tamamlanmasını bekleyin.

- 12 Otomatik adımlar sırasında ML STAR'ı gözlemleyin.
- 13 İş Akışı Yöneticisi tarafından uyarı verildiğinde, ML STAR yükleme tablasının civarında ML STAR'ın taşıyıcıları boşaltması için hiçbir engel bulunmadığından emin olun ve ardından **Unload** (Boşalt) ögesine tıklayarak tablayı boşaltın.
- 14 Kitaplıklar plakasını boşaltın.
 - a Görsel olarak her bir kuyudaki plakada uygun hacimler olduğunu inceleyin.
 - b Kitaplıklar plakasını kapatın ve florometrik veri analizi tamamlanana kadar oda sıcaklığında saklayın.
- 15 Kalan 96 kuyulu plakaları boşaltın ve her bir kuyuda tutarlı hacimler olduğunu görsel olarak inceleyin. Hacimdeki büyük hatalar pipetleme adımlarıyla ilgili bir sorunu belirtebilir.
- 16 384 kuyulu plakayı boşaltın ve uygun kuyulardaki sıvıları görsel olarak inceleyin.
 - a Plakayı folyoyla kapatın.
 - b 1000 x g'de 20 saniye boyunca santrifüjleyin.
 - c Oda sıcaklığında, ışıktan korunmuş olarak 10 dakika boyunca inkübe edin.
- 17 Tüm taşıyıcıları boşaltın ve ML STAR tablasını temizleyerek **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 18 İnkübasyon sonrasında, folyo kapamayı açın ve 384 kuyulu plakayı mikrolaka okuyucuya yükleyin. A1'in üst sol köşede olduğundan emin olun ve **Read** (Oku) ögesine tıklayın.
- 19 Verileri XML olarak aşağıdaki gibi dışa aktarın:
 - a **Barcode** (Barkod) ögesine sağ tıklayın, yeniden adlandırmayı seçin, Miktar Tayini plakasının barkodunu tarayın ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
 - b Sol üst köşede plaka simgesine tıklayın ve ardından menüden **Export** (Dışa Aktar) ögesini seçin.
 - c **Expt1** onay kutusunu seçin, çıktı formatını XML olarak ayarlayın ve **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
 - d Çıktı dosyası yolunu ve dosya adını belirleyin ve ardından **Save** (Kaydet) ögesine tıklayın.



NOT

Dosya konumunun Hamilton bilgisayarı tarafından erişilebilir olduğundan emin olun. Dosya adında veya dosya yolunda boşluk kullanmayın.

Analiz

- 1 ML STAR iş istasyonunda Scanner Information (Tarayıcı Bilgisi) ekranından florometre numarasını girin.
- 2 Florometre çalışması hakkındaki yorumları girin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 3 Florometrik verileri içeren .XML miktar tayini dosyasına ilerleyin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 4 Standartlar eğrisi ve numune konsantrasyonu analiz sonuçlarını inceleyin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 5 Plakayı yeniden çalışmanız gerekirse **Rescan** (Yeniden Tara) ögesine tıklayın.



NOT

Numuneler zamana ve ışığa karşı duyarlıdır. Gerektiğinde hemen Yeniden Tarama gerçekleştirin.

- 6 Etkilenen kuyular hakkındaki yorumları girin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 7 Sonuçları değerlendirin ve aşağıdaki gibi devam edin.
 - ▶ Sonuçlar spesifikasyonu geçerse, Havuz Kitaplıklarına ilerleyin.
 - ▶ Sonuçlar spesifikasyonu karşılamazsa sistem yöntemi iptal eder. **Hazırlık, sayfa 19** ile başlayarak miktar tayini prosedürlerini tekrarlayın.
- 8 Aşağıdakilerden birini gerçekleştirin:
 - Havuz Kitaplıkları prosedürüne devam etmek için **Yes** (Evet) ögesine tıklayın.
 - Durmak için **Exit** (Çık) ögesine tıklayın.

GÜVENLİ DURMA NOKTASI

Duruyorsanız, Kitaplıklar plakasını depolamadan önce kapatın. Kitaplıklar plakası toplam 7 gün -25 °C ila -15 °C'de depolandığında stabildir.

Havuz Kitaplıkları

Hazırlık

- 1 Aşağıdaki reaktifleri hazırlayın:

Kalem	Depolama	Talimatlar
Hibridizasyon Tamponu	-25 °C ila -15 °C	Oda sıcaklığında çözündürün. Karıştırmak için vorteksleyin. Kullandıktan sonra tekrar depolayın.
Kitaplıklar plakası, <i>Miktar Tayini Prosedür, sayfa 20.</i>	-25 °C ila -15 °C	Daha önce depolanmışsa oda sıcaklığında çözündürün. 1 dakika boyunca 1500 rpm'de vorteksleyin. 1000 x g'de 20 saniye boyunca santrifüjleyin.

- 2 Boş havuzlama tüpünü Havuz A olarak etiketleyin. 96 numune için ikinci bir boş havuzlama tüpünü Havuz B olarak etiketleyin.
- 3 Aşağıdaki denşirme programını ısıtmalı kapağı olan termal döngüleyiciye kaydedin.
 - ▶ Önceden ısıtılmış kapak seçeneğini seçin ve 102 °C'ye ayarlayın.
 - ▶ Reaksiyon hacmini 50 µl olarak ayarlayın.
 - ▶ Artış değerini saniyede 4 °C olarak ayarlayın.
 - ▶ 96 °C'de 10 dakika boyunca ve sonra 0 °C'de 5 saniye boyunca inkübe edin.
 - ▶ 4 °C'de tutun.

Prosedür

- 1 Kitaplıklar plakasını önceden programlanmış termal döngüleyiciye yerleştirin ve denşirme programını çalıştırın.
- 2 Kitaplıkları havuzlamaya başlamak için **OK** (Tamam) ögesine tıklayın. VeriSeq NIPT Yöntemi halihazırda açık değilse:
 - a AppLauncher uygulamasını açın ve **VeriSeq NIPT Method** (VeriSeq NIPT Yöntemi) ögesine tıklayın.
 - b Seri Numarasını ve kullanıcı adını girerek **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 3 Havuz konsantrasyonunu seçin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
Hedef küme yoğunluğu 220–260 k/mm²'dir. Gerekirse havuzlama konsantrasyonunu ayarlayarak hedef küme yoğunluğuna ulaşın.
- 4 İş Akışı Yöneticisi tarafından uyarıldığında aşağıdakilerden 1'ini gerçekleştirin.
 - Bir numune sayfası yüklemek için seriyle ilişkili numune sayfasını seçin ve ardından **Load** (Yükle) ögesine tıklayın.
 - Kalan numune tipleri veya cinsiyet raporlaması için sistem varsayılan değerlerini kullanmak üzere her ayar için **Use Default** (Varsayılanı Kullan) ögesine tıklayın.

Numune sayfası oluşturma hakkında bilgi için bkz. *VeriSeq NIPT Test Yazılımı Kılavuzu* (belge no 1000000001949).
- 5 Denşirme plakası için zamanlayıcı çalıştırmak üzere **Start** (Başlat) ögesine tıklayın.
- 6 Uçları aşağıdaki gibi uç taşıyıcısına yükleyin.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48, 96	Uç	7-12	50 µl filtrelili uçlar	1

- 7 Denşirilen Kitaplık plakasını aşağıdaki gibi (barkod sağa dönük olarak) Multiflex taşıyıcısına yükleyin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48, 96	Multiflex	19-24	Denşirilen Kitaplık plakası (barkodlu)	1

- 8 Havuzlama tüplerini aşağıdaki gibi tüp taşıyıcısına yükleyin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48	Tüp	46	Yeni 2 ml tüp, Havuz A	1
96	Tüp	46	Yeni 2 ml tüp, Havuz A	1
			Yeni 2 ml tüp, Havuz B	2

- 9 Reaktif tüplerini aşağıdaki gibi reaktif taşıyıcısına yükleyin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48	Reaktif	47	3 ml Hibridizasyon Tamponu	1
96	Reaktif	47	3 ml Hibridizasyon Tamponu	1

- 10 Uçları aşağıdaki gibi uç taşıyıcısına yükleyin.

Numune Serisi Boyutu	Taşıyıcı Türü	İzleme	Kalem	Alan Konumu
48, 96	Uç	49-54	1000 µl filtreli uçlar	1
			300 µl filtreli uçlar	2
			50 µl filtreli uçlar	3

- 11 Her bir uç rafı için ilk ve son ucun konumunu girin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 12 Taşıyıcıların, laboratuvar donanımının ve reaktiflerin belirtilen biçimde yüklendiğinden emin olun ve ardından Pooling Deck Verification (Havuzlama Tablası Doğrulama) ekranından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 13 Otomatik adımlar sırasında ML STAR'ı gözlemleyin.
- 14 İş Akışı Yöneticisi tarafından uyarı verildiğinde, ML STAR yükleme tablasının civarında ML STAR'ın taşıyıcıları boşaltması için hiçbir engel bulunmadığından emin olun ve ardından **Unload** (Boşalt) ögesine tıklayarak tablayı boşaltın.
- 15 Tüp taşıyıcısını boşaltın. Her bir havuzlama tüpünü kapatın, vorteksleyin ve ardından kısaca santrifüjleyin.
- 16 Havuzlamadan sonra kitaplıkları en kısa sürede sekanslayın. Gerekirse yeniden havuzlama için Kitaplıklar plakasını 7 güne kadar -25 °C ila -15 °C'de saklayın. Kitaplıklar plakası toplam 7 gün -25 °C ila -15 °C'de depolandığında stabildir.
- 17 **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 18 Etkilenen kuyular hakkındaki yorumları girin ve ardından **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.
- 19 Pooling Complete (Havuzlama Tamamlandı) ekranında **OK** (Tamam) ögesine tıklayın.

GÜVENLİ DURMA NOKTASI

Duruyorsanız, havuzlama tüplerini kapatın ve -25 °C ila -15 °C'de maksimum 7 gün boyunca saklayın.

Sekanslama için Havuz Hazırlama

Hazırlık

- 1 Aşağıdaki reaktifleri hazırlayın:

Kalem	Depolama	Talimatlar
Havuz tüpleri	-25 °C ila -15 °C	Daha önce depolanmışsa oda sıcaklığında çözdürün. Kısa süre vorteksleyin. Kısa süre santrifüjleyin.

2 Yeni nesil sekanslama sistemini aşağıdaki ayarlarla hazırlayın:

- a 36 x 36 döngülü okumalarla çift sonlu çalışma.
- b 8 döngülü dizin okumasıyla çift dizinleme.
- c Çalışma Adı Havuz Adı ile aynı.



NOT

Hatalı çalışma yapılandırılmaları analiz yazılımı tarafından reddedilir ve yeniden sekanslama gerektirebilir.

Aşağıdaki prosedür havuzlanan kitaplıkların kartuş tabanlı yeni nesil sekanslama cihazına doğru yüklemesini açıklamaktadır.

Prosedür

- 1 Tamponu ve kitaplık havuzunu aşağıdaki gibi doğrudan sekans cihazı numune kartuşuna ekleyin.
 - ▶ 900 µl Hibridizasyon Tamponu
 - ▶ 450 µl Havuz A
 - ▶ Karıştırmak için pipetleyin
- 2 Üretici talimatlarına göre yeni nesil sekanslama sistemi kullanarak sekanslamaya ilerleyin.
- 3 Komut geldiğinde doğru çalışma yapılandırmasını teyit edin.
- 4 Gerekirse prosedürü Havuz B için tekrar edin.

Sekans Verileri Analizi

Sekanslama işlemi tamamlandıktan sonra sekanslama verileri analiz ve rapor oluşturma için otomatik olarak VeriSeq NIPT Test Yazılımı'na gönderilir. Rapor serideki her bir numune için sınıflandırmalar ve tüm çalışma KK ölçümlerinin bir değerlendirilmesini içerir. Sekanslamanın tamamlanmasından nihai sonuçlara kadar olan analiz süreci 48 numunelik bir seri için yaklaşık 4 saat sürer. Veri analizi ve çıktı dosyası hakkında ayrıntılı bilgi için bkz. *VeriSeq NIPT Çözümü Yazılım Kılavuzu (belge no 100000001949)*.

Sonuçların Yorumlanması

VeriSeq NIPT Çözümü, fetal kromozal ifadeyi belirlemek için sekanslama kapsamı, sekans okuma kalitesi ve tahmini fetal fraksiyon da dahil birden çok veri girişine dayanan bir algoritma kullanır.

VeriSeq NIPT Test Yazılımı her hasta numunesinin 21, 18 ve 13 kromozomları için ANÖPLOİDİ SAPTANDI veya ANÖPLOİDİ SAPTANMADI sonucunu otomatik olarak oluşturur. ANÖPLOİDİ SAPTANDI sonucu, numunenin belirtilen kromozomun trizomisi bakımından pozitif olarak tarandığını ifade eder.

Fetal cinsiyet kromozomu durumu hakkındaki sonuçlar otomatik olarak oluşturulur ve isteğe bağlı olarak raporlanır. Cinsiyet kromozal anöploidisi saptanmadığında, rapor cinsiyet sınıflandırması eklenerek ANÖPLOİDİ SAPTANMADI sonucunu belirtecektir: XX (kız fetal numunesi) veya XY (erkek fetal numunesi). Cinsiyet kromozomu anöploidileri ANÖPLOİDİ SAPTANDI olarak raporlanacak ve saptanan özel anöploidisi eklenecektir: XXX, XXY, XYY veya XO (monozomi X). Nadiren, cinsiyet kromozomu değerleri raporlanabilir aralığın dışında kalır ve sistem CİNSİYET KROMOZOMLARI RAPOR EDİLEMEZ sonucu oluşturur. Bu numuneler için otozomal anöploidide yönelik sonuçlar yine de rapor edilebilir.

VeriSeq NIPT Test Yazılımı, her bir numune için fetal fraksiyon tahmini (FFE) sağlamak üzere sekanslama sırasında oluşturulan istatistikleri kullanır. FFE, test tarafından değerlendirilen ve her numune için yuvarlanmış yüzde olarak rapor edilen tahmini fetal cfDNA bileşenidir. Bu tahminin tüm numuneler genelindeki ortalama standart sapması %1,3'tür. FFE, sonuçlar raporlanırken numunelerin hariç tutulması için izolasyon amaçlı kullanılmaz.

VeriSeq NIPT Test Yazılımı, kromozal ifade kararları vermek üzere her numune için fetal fraksiyon tahmini göz önünde bulundurularak sistemin yeterli sekanslama kapsamı oluşturup oluşturmadığını belirten dinamik bir eşik ölçümü olan kişiselleştirilmiş Fetal Anöploidi Güven Testi (iFACT) kullanır. Sistem ancak numune iFACT eşiğini karşılıyorsa kromozomal ifade kararları verir. Numune bu eşiğe ulaşmazsa, KK değerlendirmesi BAŞARISIZ iFACT mesajı görüntüler ve sistem bir sonuç oluşturmaz. iFACT değerlendirmesi tüm numunelere uygulanır.

VeriSeq NIPT Test Yazılımı, iFACT'e ek olarak, analiz sırasında bir takım farklı KK metriklerini daha değerlendirir. Ek ölçümler referans genom bölgelerindeki kapsam tekdüzeliğine dair değerlendirmeleri (BEKLENEN ARALIĞIN DIŞINDA VERİ) ve cfDNA parçacık uzunluklarının dağılımını (BEKLENEN ARALIĞIN DIŞINDA PARÇACIK BOYUTU DAĞILIMI) içerir. KK değerlendirmesi, kabul edilebilir aralık dışındaki tüm ölçümler için KK işareti veya KK hatası görüntüler. KK hatası durumunda, sistem numune için bir sonuç oluşturmaz. Numunenin KK değerlendirmesinin başarısız olması durumunda, kan toplama tüpünde yeterli plazma hacmi olması koşuluyla ikinci bir plazma alikotu işlenebilir.

Performans Özellikleri

Klinik performans ve analitik performans bölümlerinde özetlenen aşağıdaki veriler plazma ile başlayarak *Kullanım Talimatları* bölümünde ana hatlarıyla verilen protokoller ve materyaller kullanılarak oluşturulmuştur. Bu bölüme yönelik tüm sekanslama verileri aşağıdaki yapılandırmalara sahip Illumina NextSeq 500/550 sekanslama sistemiyle oluşturulmuştur.

- NextSeq kontrol yazılımı v2.1.0.31
- NexSeq 500/550 Yüksek Çıktı Kiti v2 (75 döngü) sekanslama reaktifleri kiti
- Yüksek çıktı modunda 2x36 çift sonlu sekanslama çalışması

Klinik Çalışma

VeriSeq NIPT Çözümünün klinik referans standardı değerlendirmesiyle belirlenen sonuçları bakımından klinik doğruluğu fetal kromozom anöploidileri için prenatal tarama yaptıran tekiz gebeliği olan gebe kadınlardan alınan plazma numuneleri değerlendirilerek gösterilmiştir. Numuneler, periferik tam kan numunelerinden daha önce işlenmiş, kimliksizleştirilen depolanmış plazma numunelerinden elde edilmiştir.

Toplam 3.107 numune test edilmiştir. Bu numuneler arasında 21 numune (%0,68, 21/3107) tamamlanan sekanslama verilerinin analizi sırasında ilk geçişte test KK çalışmasında başarısız oldu:

- ▶ 11 başarısız iFACT
- ▶ 8 numune beklenen aralığın dışında verilere sahipti
- ▶ 2 numune beklenen aralığın dışında parçacık boyutu dağılımına sahipti.

Demografikler ve Gebelik Özellikleri

Annelik yaşı, etnik köken, gebelik süresi ve gebelik trimesteri *Tablo 7*'de özetlenmektedir.

Tablo 7 Demografikler ve Gebelik Özellikleri

(N = 3086)	
Annelik yaşı - yaş	
Ortalama	36,8
Standart Sapma	3,6
Medyan	36,7
25. persentil, 75. persentil	35,3, 38,8
Minimum, maksimum	18,2, 51,6
Irk/etnik köken - n (%) ^a	
Beyaz veya Kafkas	981 (%32)

(N = 3086)	
Siyahi veya Afrikan Amerikan	231 (%7)
Hispanik veya Latin	1.079 (%35)
Asyalı	706 (%23)
Kızılderili	4 (%0,1)
Çoklu	58 (%2)
Bilinmiyor ^b	27 (%1)
Kan alımı sırasındaki gebelik süresi - hafta	
Ortalama	12,2
Standart Sapma	2,8
Medyan	11
25. persentil, 75. persentil	10, 13
Minimum, maksimum	10, 25
Gebelik trimesteri - n (%)	
Birinci (<14 hafta)	2.520 (%82)
İkinci	566 (%18)
Üçüncü (≥27 hafta)	0 (%0)

^a Bu çalışma Amerika Birleşik Devletleri'nde gerçekleştirildi.
^b "Bilinmiyor" olarak rapor edildi.

Tekiz Gebeliklerde Klinik Performans

Tüm çalışma numunelerinin anöploidi durumuyla ilgili klinik referans standardı sonuçları (klinik "gerçek") vardı ve bunlar tıp doktorunun veya genetik danışmanının sitojenik testlere veya yenidoğan fiziksel muayene sonuçlarına dayanmaktaydı. 21, 18, 13 kromozomlarının fetal anöploidi durumu veya fetal cinsiyet kromozomu anöploidisi (SCA) (monozomi X, XXX, XXY veya XYY) de dahil fetal cinsiyet sonuçları için klinik sonuçlar kaydedilmişse numuneler test için uygundu. Numune seti içerisinde 3.057 numunenin otozomal anöploidiler bakımından klinik referans verileri vardı ve 3.082 numunenin SCA bakımından klinik referans verileri bulunuyordu. VeriSeq NIPT Çözümü testi tarafından karar verilen sonuçlar klinik referans standardı sonuçlarıyla karşılaştırıldı.

Trizomi 21, Trizomi 18 ve Trizomi 13 için VeriSeq NIPT Çözümü Sonucuna Karşı Klinik Referans Standardı Sonucunun Çapraz Tabloları

VeriSeq NIPT Çözümü sonuçlarına (satırlar) karşı klinik referans standardı sonuçlarının (sütunlar) çapraz tabloları 2 x 2 tablo serisi olarak verilmektedir. Otozomal anöploidiler arasında çapraz çağrışım oluşumları yoktu (ör. VeriSeq NIPT Çözümü, trizomi 21 etkilenen sonucu olan bir numunede trizomi 18 tespit etmedi).

Tablo 8 Trizomi 21 Sonuçlarının Çapraz Tabloları

VeriSeq NIPT Çözümü Sonucu	Klinik Referans Standardı Sonucu ^a		Toplam
	Trizomi 21 (Etkilenmiş)	Trizomi 21 (Etkilenmemiş)	
Kromozom 21 Anöploidisi Saptandı	90	1	91
Kromozom 21 Anöploidisi Saptanmadı	1	2965	2966
Toplam	91	2966	3057

^a Klinik referans standardı değerlendirmesi sitojenik testlerle veya yenidoğan fiziksel muayenesiyle gerçekleştirildi.

Tablo 9 Trizomi 18 Sonuçlarının Çapraz Tablolaması

VeriSeq NIPT Çözümü Sonucu	Klinik Referans Standardı Sonucu ^a		Toplam
	Trizomi 18 (Etkilenmiş)	Trizomi 18 (Etkilenmemiş)	
Kromozom 18 Anöploidisi Saptandı	18	3	21
Kromozom 18 Anöploidisi Saptanmadı	2	3034	3036
Toplam	20	3037	3057

^a Klinik referans standardı değerlendirmesi sitojenik testlerle veya yenidoğan fiziksel muayenesiyle gerçekleştirildi.

Tablo 10 Trizomi 13 Sonuçlarının Çapraz Tablolaması

VeriSeq NIPT Çözümü Sonucu	Klinik Referans Standardı Sonucu ^a		Toplam
	Trizomi 13 (Etkilenmiş)	Trizomi 13 (Etkilenmemiş)	
Kromozom 13 Anöploidisi Saptandı	8	4	12
Kromozom 13 Anöploidisi Saptanmadı	0	3045	3045
Toplam	8	3049	3057

^a Klinik referans standardı değerlendirmesi sitojenik testlerle veya yenidoğan fiziksel muayenesiyle gerçekleştirildi.

21, 18 ve 13 Trizomilerinin Tespiti İçin VeriSeq NIPT Çözümü'nün Hassasiyeti ve Özgünlüğü

Tablo 11 21, 18 ve 13 Trizomilerinin Tespiti İçin VeriSeq NIPT Çözümü'nün Hassasiyeti ve Özgünlüğü

	Trizomi 21	Trizomi 18	Trizomi 13
Hassasiyet	%98,9 (90/91)	%90,0 (18/20)	%100,0 (8/8)
2 taraflı %95 GA ^a	(%94,0, %99,8)	(%69,9, %97,2)	(%67,6, %100,0)
Özgünlük	>%99,9 (2965/2966)	%99,9 (3034/3037)	%99,9 (3045/3049)
2 taraflı %95 GA ^a	(%99,8, %100,0)	(%99,7, %100,0)	(%99,7, %99,9)

^a GA, Wilson skoru yöntemine dayanmaktadır.

≤ %4 ve > %4 Fetal Fraksiyon Tahmini olan Numunelerde VeriSeq NIPT Çözümü'nün Hassasiyeti ve Özgünlüğü

Performans analizlerindeki numuneler, <%1 ile %30 arasında değişen fetal fraksiyonlar tahmin etti. Maternal cfDNA'dan fetal anöploidilerin tespit edilmesi kısmen her bir numuneye yönelik fetal fraksiyona bağlıdır, yani testin performansı düşük fetal fraksiyonlarda azalabilir. Bazı NIPT yöntemleri %4 alt tespit sınırı olarak kabul edilerek katı bir fetal fraksiyon eşiği^{9,10,11,12} kullanır.^{9,10,11} Aşağıdaki tablolar VeriSeq NIPT Çözümü'nün %4'ten az veya %4'e eşit ve %4'ten büyük fetal fraksiyon tahminindeki performansını göstermektedir. Klinik çalışmaların sonuçları VeriSeq NIPT Çözümü'nün %4 seviyesindeki veya altındaki fetal fraksiyonlarda fetal anöploidiyi tespit edebildiğini göstermektedir.

Tablo 12 ≤%4 Fetal Fraksiyon Tahmini Olan Numunelerdeki Hassasiyet ve Özgünlük

	Trizomi 21	Trizomi 18	Trizomi 13
Hassasiyet	%90,9 (10/11)	%80,0 (4/5)	Geçerli değil (0/0)
2 taraflı %95 GA*	(%62,3, %98,4)	(%37,6, %96,4)	Geçerli Değil

	Trizomi 21	Trizomi 18	Trizomi 13
Özgünlük	%99,7 (329/330)	%100,0 (336/336)	%99,7 (340/341)
2 taraflı %95 GA*	(%98,3, %99,9)	(%98,9, %100)	(%98,4, %99,9)

*GA, Wilson skoru yöntemine dayanmaktadır

Tablo 13 >%4 Fetal Fraksiyon Tahmini Olan Numunelerdeki Hassasiyet ve Özgünlük

	Trizomi 21	Trizomi 18	Trizomi 13
Hassasiyet	%100,0 (80/80)	%93,3 (14/15)	%100 (8/8)
2 taraflı %95 GA*	(%95,4, %100,0)	(%70,2, %98,8)	(%67,6, %100,0)
Özgünlük	%100,0 (2636/2636)	%99,9 (2698/2701)	%99,9 (2705/2708)
2 taraflı %95 GA*	(%99,9, %100,0)	(%99,7, %100)	(%99,7, %100)

*GA, Wilson skoru yöntemine dayanmaktadır

Cinsiyet Kromozomu Anöploidilerinin Tespiti

VeriSeq NIPT Çözümü cinsiyet kromozomu sonuçları klinik referans standardı sonuçlarıyla karşılaştırıldı ve karşılaştırma aşağıdaki tabloda özetlenmektedir. Yüzde uyumu her bir klinik standardı sonucu [sınıflandırma] dahilinde her bir cinsiyet için hesaplandı. Yüzde uyumu, VeriSeq NIPT Çözümü cinsiyet kromozomu kararının klinik referans standart sınıflandırmasıyla eşleştiği numunelerin sayısının, aynı klinik referans standart sınıflandırmasına sahip toplam numune sayısına bölünmesiyle hesaplandı.

Tablo 14 Fetal Cinsiyet Sınıflandırması için Yüzde Uyumu

Fetal Cinsiyet Sınıflandırması için VeriSeq NIPT Çözümü Sonuçları	Klinik Referans Standardı Sonucu									
	Yenidoğan Fiziksel Muayene Sonucu [Sitojenik Sonuç Yok]		Sitojenik Sonuçlar							Diğer ^a
	Kız	Erkek	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYY		
Yüzde Uyumu	%99,9 (1371/1373)	%99,9 (1420/1422)	%97,4 (147/151)	%100,0 (118/118)	%100,0 (6/6)	%80,0 (4/5)	%100,0 (5/5)	%100,0 (1/1)	Geçerli Değil	

^a 1 numune 49 idi, XXXXY VeriSeq NIPT Çözümü tarafından "Cinsiyet kromozomu rapor edilemez" olarak sınıflandırıldı.

Prevalans Aralığı Açısından Trizomi 21, 18 ve 13'ün Tespit Edilmesi için VeriSeq NIPT Çözümü'nün Pozitif Tahmini Değeri ve Negatif Tahmini Değeri

Testin pozitif tahmini değeri (PPV) ve negatif tahmini değeri (NPV), test hassasiyetine, özgünlüğüne ve test öncesinde fetusun trizomiden etkilenmiş olma olasılığına (prevalans) dayanılarak testin klinik kararları bildirme yeteneği hakkında bilgi sağlar. PPV ve NPV prevalansa bağlı olduğundan ve bu anöploidiler için prevalans farklı gönüllü popülasyonlarında değişiklik gösterebileceğinden, PPV ve NPV Trizomi 21, 18 ve 13 için klinik doğruluk çalışmasında görülen gözlemlenen hassasiyete ve özgünlüğe bağlı olarak hesaplanmıştır. Aşağıdaki tablo bir dizi olası prevalans değerinin aralığı bakımından PPV ve NPV'yi özetlemektedir.

Tablo 15 Prevalans Aralığı Açısından Trizomi 21, 18 ve 13'ün Tespit Edilmesi için VeriSeq NIPT Çözümü'nün Pozitif Tahmini Değeri ve Negatif Tahmini Değeri

Anöploidi	Prevalans	PPV	NPV
Trizomi 21	%0,05	%59,48	%100,00
	%0,10	%74,60	%100,00
	%0,20	%85,47	%100,00
	%0,50	%93,65	%99,99
	%1,00	%96,74	%99,99
	%1,50	%97,81	%99,98
	%2,00	%98,36	%99,98
Trizomi 18	%0,03	%21,48	%100,00
	%0,05	%31,32	%99,99
	%0,10	%47,71	%99,99
	%0,20	%64,62	%99,98
	%0,30	%73,28	%99,97
	%0,40	%78,54	%99,96
	%0,50	%82,08	%99,95
Trizomi 13	%0,01	%7,09	%100,00
	%0,02	%13,23	%100,00
	%0,05	%27,61	%100,00
	%0,10	%43,29	%100,00
	%0,20	%60,44	%100,00

NPV = negatif tahmini değer, PPV = pozitif tahmini değer

İkiz Gebeliklerde Performans

Klinik Performans

Düşük prevalans nedeniyle klinik çalışma için yalnızca az sayıda ikiz numunesi kullanılabilmiştir. Dört adet trizomi 21 ikiz numunesi test edilmiştir ve tümü, trizomi 21 varlığı açısından ve ayrıca başka hiçbir anomalinin olmadığını açısından doğru şekilde aranmıştır. Ancak ikiz numunelerinin sayısının çok düşük olması nedeniyle hassasiyet ve özgünlüğe ilişkin güven düzeyleri, pratik kullanım için fazlasıyla geniş olacaktır. Dolayısıyla bu numuneler Tablo 11'de raporlanan genel performans hesaplamalarına dahil edilmemiştir.

Trizomi 21, 18 ve 13 Performansı Tahmini

VeriSeq NIPT Çözümünün ikiz gebeliklerdeki performansını daha doğru şekilde tahmin etmek için amaçlanan kullanım popülasyonu ile tutarlı bir şekilde ikiz gebelik popülasyonlarını simüle etmek üzere klinik numunelerden elde edilen gözlemlere dayalı *in silico* modeller kullanılmıştır. Fetal fraksiyon dağıtımı, yaklaşık 4.500 ikiz numuneden tayin edilmiş ve yaklaşık 120.000 tekiz numuneden elde edilen dağıtım ile karşılaştırılmıştır. Anöploidi durumuna koşullu olarak fetal fraksiyon dağıtımı, tekiz olduğu farz edilen aramalardan tayin edilmiştir (1004 trizomi 21, 312 trizomi 18 ve 197 trizomi 13). İki dağıtımın bir araya getirilmesi, ikizlerde anöploidi saptama enterferanslarına olanak sağlamıştır. Dizigotik ve monozigotik ikiz kümeleri simüle edilmiş ve hassasiyet tahmininin yapılması için, amaçlanan kullanım popülasyonundaki prevalanslarını temsil eden ağırlıklı ortalama alınmıştır (2 dizigotik: 1 monozigotik). Hassasiyet için etkilenmeyen ikizlerden oluşan kümeler simüle edilmiştir.

Trizomiden etkilenen her bir simüle edilmiş numune fraksiyonu (yani "etkilenen fraksiyon") her bir numune kategorisi için farklı şekilde hesaplanmıştır:

- Monozigotik ikizlerde; bu durumda trizomi her iki ikizi etkilediğinden her bir numunenin etkilenen fraksiyonu 1,0 olarak ayarlanmıştır.

- Dizigotik ikizlerde; yalnızca tek bir ikizin etkilendiği varsayılmıştır (her iki dizigotik ikizin etkilenmesi çok nadir görülür). Cinsiyetle uyumsuz klinik ikiz numunelerinden tayin edildiğinden etkilenen fraksiyon değerleri bilinen fetal fraksiyon dağıtım oranları kullanılarak simüle edilmiştir. Etkilenen ikizin her durumda iki ikizin en düşük fetal fraksiyonuna sahip olduğunun varsayıldığı ölçülü bir yaklaşım benimsenmiştir. Trizomi 13 ve 18 gebeliklerinde ortalamanın alt değerlerine sahip fetal fraksiyonlar için bir düzeltme faktörü uygulanmıştır.
- Etkilenmeyen ikizlerde; her bir numunenin etkilenen fraksiyonu sıfır olarak ayarlanmıştır.

Trizomi 18 ya da 13'ten etkilenen ikizlerde; numunenin etkilenen fetal fraksiyonuna karşılık gelen fetal fraksiyon, Trizomi 18 veya 13 tekizleri – öploid tekizleri karşılaştırmasında elde edilen klinik verilerde gözlemlenen fetal fraksiyondaki ortalama azalma ile orantılı olarak azaltılmıştır.

Ardından, simüle edilen her numunenin hem etkilenen fraksiyonu hem genel fetal fraksiyonu standart VeriSeq NIPT Çözümü algoritması ile bir anöploidi skoru hesaplamak üzere kullanılmıştır. Hassasiyet, simüle edilen etkilenen ikizlerin anöploidi skorlarının karşılık gelen anöploidi eşiğinin üzerinde olma sıklığı tayin edilerek hesaplanmıştır. Buna bağlı olarak özgünlük simüle edilen etkilenmeyen ikizlerin anöploidi skorlarının karşılık gelen anöploidi eşiğinin altında olma sıklığı tayin edilerek hesaplanmıştır (Tablo 16). %95 güven aralıkları, ilgili trizomiye göre etkilenen ya da etkilenmeyen olarak sınıflandırılan orijinal veri kümesindeki gerçek klinik ikiz numunelerinin sayısına göre belirlenmiştir.

Tablo 16 Simüle Edilen İkiz Gebeliklerinde Trizomi 21, 18 ve 13 Tahminleri

	Trizomi 21	Trizomi 18	Trizomi 13
Hassasiyet	%97,1	%95,8	%95,1
2 Taraflı %95 GA*	(%87,9, %99,2)	(%66,7, %99,5)	(%67,7, %99,3)
Özgünlük	%99,9	> %99,9	> %99,9
2 Taraflı %95 GA	(%99,7, %99,9)	(%99,9, > %99,9)	(%99,9, %99,9)

*GA, Wilson skoru yöntemine dayanmaktadır

Tablo 16'de; VeriSeq NIPT Çözümünün Trizomi 21, 18 ve 13 saptama hassasiyeti ve özgünlüğüne ilişkin tahmini %95 güven aralıkları ve nokta tahminleri amaçlanan kullanım popülasyonu ile tutarlı bir şekilde simüle edilen ikiz gebelik popülasyonlarından tayin edilmiştir. Güven aralıkları, ilgili trizomiye göre etkilenen ya da etkilenmeyen olarak sınıflandırılan KK başarılı klinik ikiz numunelerinin sayısına göre belirlenmiştir. Hassasiyet hesaplamasında, etkilenen ikiz gebeliklerin üçte ikisinin bir etkilenen ikiz ile dizigotik olduğu ve etkilenen ikiz gebeliklerin üçte birinin etkilenen her iki ikiz ile monozigotik olduğu varsayılmaktadır.

Tahminler, yalnızca ikiz gebeliklere ilişkin Tablo 16'de listelenmektedir. Daha da düşük prevalans nedeniyle daha üst sıralardaki gebeliklere (üçüz veya daha fazla) ilişkin veriler anöploidi saptama doğruluğunun tahmin edilebileceği uygun istatistik modelleri oluşturmak için yetersiz olmuştur.

Analitik Performans

Kesinlik

VeriSeq NIPT Çözümü'nün kesinliğini değerlendirmek için iki çalışma yürütüldü:

- ▶ 3 kullanıcı ve tek bir reaktif lotu kullanarak 3 merkez genelindeki 9 çalışmadan oluşan çok merkezli dahili Tekrarlanabilirlik çalışması
- ▶ İki kullanıcı, 2 cihaz sistemi ve 3 reaktif lotu kullanarak tek bir merkezde yapılan 12 çalışmadan oluşan Laboratuvar İçi Kesinlik çalışması

Hamile kadınlardan (trizomi 21'den etkilenen fetusu olan) alınan maternal plazmadan ekstrakte edilen cfDNA ile hamile olmayan kadınlardan alınan plazmadan ekstrakte edilen cfDNA birleştirilerek %5'lik fetal fraksiyon trizomi 21 havuzu oluşturuldu. Etkilenmeyen erkek (XY fetus) ve etkilenmeyen kız (XX fetus) gebeliklerinden alınan maternal plazmadan ekstrakte edilen havuzlanmış cfDNA da test edildi. Testler birleştirilmiş 2 çalışma için 10 gün boyunca toplam 21 işlem yapılarak gerçekleştirildi.

2 çalışmadaki analizlere dahil edilen 903 numunede 84/84 ile trizomi 21 için, 399/399 ile XX cinsiyet sınıflandırması için ve 420/420 ile XY cinsiyet sınıflandırması için %100 uyum vardı. Numunelerin merkeze göre dağılımı şöyledi: 1. Merkez - T21 (12), XX (57), XY(60); 2. Merkez - T21 (12), XX (57), XY(60); 3. Merkez - T21 (60), XX (285), XY(300).

Tablo 17 Tekrarlanabilirlik ve Laboratuvar İçi Kesinlik (Birleştirilmiş Veriler)

Beklenen	Denenen	Gözlemlenen				
		T21	T18	T13	XX	XY
T21 (XY)	84	84	0	0	0	84
XX	399	0	0	0	399	0
XY	420	0	0	0	0	420

Çapraz Kontaminasyon

Çapraz kontaminasyon VeriSeq NIPT Çözümü numune hazırlama iş akışında değerlendirildi. Gebe olmayan kadınlardan (XX) ve yetişkin erkeklerden (XY) alınan plazma havuzları 96 kuyulu plaka formatında 4 plakada dama tahtası deseninde test edildi (her biri her plaka başına kadın ve erkek numuneler için N=48; toplam 192 kadın ve 192 erkek numune). Kadın numunelerden hiçbir tahmini arka plandan istatistiksel olarak daha yüksek Y kromozomu kapsamı göstermedi; bu da aynı plaka içerisindeki erkek numunelerden çapraz kontaminasyon olmadığını gösterir. VeriSeq NIPT Çözümü'nde tespit edilebilir çapraz kontaminasyon gözlemlenmedi.

Potansiyel Olarak Enterferan Maddeler

VeriSeq NIPT Çözümü'ne enterferan maddelerin etkisini değerlendirmek için testin performansı potansiyel enterferan varlığında değerlendirildi.

Albumin, bilirubin, hemoglobin ve trigliseritlerin (endojen) her biri etkilenmemiş kız (XX fetus) gebeliklerinden maternal plazma havuzlarına eklendi ve her bir test maddesi için 2 konsantrasyonda test edildi (her biri için n=16). Testin gerçekleştirilmesinde hiç bir enterferans gözlemlenmedi.

Tablo 18 Potansiyel Olarak Enterferan Maddeler (endojen)

Test Maddesi	Düşük Test Konsantrasyonu (mg/ml)	Yüksek Test Konsantrasyonu (mg/ml)
Albumin	35	50
Bilirubin	0,01	0,15
Hemoglobin	100	200
Trigliserit	1,5	5

Plazmada doğal olarak görülen maternal genomik DNA (gDNA) fetal cfDNA ile birlikte ekstrakte edilebileceğinden test performansına potansiyel olarak enterferans oluşturabilir. Her numune için 1,6, 3,3 ve 4,9 ng genomik DNA seviyesi (tam kanın 7 gün boyunca saklanması sonrası ortalama beklenen gDNA konsantrasyonunun üzerinde 1, 2 ve 3 standart sapmaya denk gelir¹³) etkilenmemiş kız (XX fetus) gebeliklerinden alınan maternal plazmadan ekstrakte edilen cfDNA'ya eklendi. Daha sonra numuneler VeriSeq NIPT Çözümü ile test edildi (her bir konsantrasyon için n=16). Yüksek gDNA seviyelerinin varlığında test performansında hiç enterferans gözlemlenmedi.

Gebelik sırasında sıklıkla kullanılan veya reçete edilen yirmi ilaç tabanlı potansiyel olarak enterferan maddeler (eksojen) EP7-A2 (Klinik Kimyada Enterferans Testi; Onaylı Kılavuz - İkinci Baskı) uyarınca test edildi. 20 potansiyel enterferan 4 havuzda birleştirildi, etkilenmemiş kız (XX fetus) gebeliklerinden alınan maternal plazmaya eklendi ve VeriSeq NIPT Çözümü ile test edildi (her havuz için N=16). Bu eksojen maddelerin varlığında test performansında hiç enterferan gözlemlenmedi.

Tablo 19 Potansiyel Olarak Enterferan Maddeler (eksojen)

Havuz 1	Havuz 2	Havuz 3	Havuz 4
Asetaminofen	Difenhidramin	Albuterol	Setirizin
Asetilsistein	Eritromisin	Bupropion	Dekstrometorfan

Havuz 1	Havuz 2	Havuz 3	Havuz 4
Bizoprolol	Guaifenesin	Kafein	L-Askorbik asit
Sitalopram	Heparin	Sertralin	Metoprolol
Dezloratadin	Lidokain	Sodyum florür	Nadolol

Sorun Giderme

VeriSeq NIPT Çözümü Sorun Giderme

Arıza Modu	Olası Sonuç	Yorum	Tavsiye Edilen Eylem	Yorumlar
Yetersiz plazma girdisi	Başarısız numune KK	Yetersiz plazma hacmi	Yeniden çekin	Plazma hacminin görsel incelemesine göre.
Kan tüpü hatası	Kan katmanlara ayrılmamış	Numuneye santrifüj uygulanmamış	Santrifüjün başlatıldığından ve tüpün doğru kuvvette döndürüldüğünden emin olun. Numuneyi yeniden çekin.	
		Hatalı numune depolama veya taşıma (numunenin lizisi)	Numuneyi yeniden çekin.	Dondurulmuş numuneler ayrılmayacaktır.
Numune pıhtısı / Yavaş akış	Plazma kontaminasyonu	Plazma numunesinde önemli ölçüde kontaminasyon varsa bağımsız numuneler bağlama plakasını tıkayabilir	Numuneyi inceleyin, tüpte kalan numune kırmızıysa veya süte benzerse, numuneyi iptal edin ve yeniden kan alma talep edin. Numune normal görünüyorsa numuneyi tekrar test edin.	
	Donanım arızası	Ekstraksiyon sırasında materyalin yetersiz parçalanması	Numuneyi tekrar test edin. Kuyu konumundaki diğer numunelerle sorun devam ederse Illumina Teknik Destek ile iletişim kurun.	
Bağımsız Numune Analizi KK hatası	Başarısız sekanslama KK	Yetersiz genetik girdi VEYA Numune taşınması sırasında hatalı aktarım	Numune Açıklamasını kontrol edin. İlgili plaka konumundaki önceki numunelerin benzer performansı olup olmadığını kontrol edin. Numuneyi tekrar test edin.	Kötü numune girdisini veya ML STAR iş istasyonunda hatalı aktarımı gösterir. Yetersiz genetik materyal, yetersiz plazmadaki hücre DNA'dan veya hücre bazlı DNA'dan kaynaklanabilir ve numunenin sekanslama için aşırı seyrelmesine neden olur.
	Düşük FF veya NES sayımı	Doğru raporlama yapmak için yetersiz veri oluşturma	Plazmadan yeniden test edin.	

Arıza Modu	Olası Sonuç	Yorum	Tavsiye Edilen Eylem	Yorumlar
Başarısız miktar tayini KK	Başarısız miktar tayini çalışması - Seri medyanı minimum değerinin altında	Yetersiz işlem verimi	Miktar tayini işlemini tekrarlayın. Tekrarlanan işlem de başarısız olursa Illumina Teknik Destek ile iletişim kurun.	Başarılı standartlar eğrisi ölçümleri kitaplık hazırlanmasıyla ilgili sorunu gösterir.
	Başarısız miktar tayini çalışması	Yanlış miktar tayini nedeniyle standart eğri hatası	Miktar tayini işlemini tekrarlayın. Tekrarlanan işlem de başarısız olursa Illumina Teknik Destek ile iletişim kurun.	
Başarısız Havuzlama	Numune havuzlaması tamamlanmadı	Havuzlama Analizi doğru havuz hacimlerini hesaplamıyor	Hedef havuz konsantrasyonunu yeniden değerlendirin, havuzlama analizini yeniden çalıştırın.	

VeriSeq NIPT Microlab STAR Sorun Giderme

İşlem Adımı	Hata Kodu	Hata İletişimi	Açıklama	Kullanıcı Çözümü
Seri Oluşturma	EM0044	Girilen Seri No yasaklı karakterler içermektedir.	VeriSeq NIPT Çözümü tüm veri alanları için yalnızca sayıları, harfleri, alt çizgileri ve kesik çizgileri kabul eder.	Herhangi bir özel metin karakteri içermeyen bir isim kullanarak seriyi yeniden adlandırın.
Seri Oluşturma	EM0051	Seri Numarasının uzunluğu 26 karakterden fazladır.	VeriSeq NIPT Çözümü seri isimlerinin uzunluğunu 26 karakter veya daha azıyla sınırlandırır.	26 karakterden daha kısa bir isim kullanarak seriyi yeniden adlandırın.
Seri Oluşturma	EM0076	VeriSeq Tesis Sunucusuna bağlanamıyor	VeriSeq Tesis Sunucusu İş Akışı Yöneticisi'nden gelen veri taleplerine yanıt vermiyor.	Aşağıdakilerden emin olun: 1. ML STAR ağa bağlıdır. 2. VeriSeq Tesis Sunucusu açıktır. 3. ML STAR VeriSeq Tesis Sunucusu'na bağlanabilir (ping talebi aracılığıyla). 4. Yukarıdaki adımlar sorunu çözmezse, Illumina Teknik Destek bölümüne e-posta gönderin.
Seri Oluşturma	EM0118	Bu seri başarısız oldu ve daha fazla işlenemez.	Belirtilen seri halihazırda başarısız oldu ve daha fazla işlenemez.	VeriSeq Tesis Sunucusu'ndaki seri kaydı seçili serinin başarısız olduğunu belirtiyor. Daha fazla işlemeye izin verilmez. İstenen numunelerle bir başka seri oluşturun.
Seri Oluşturma	Geçerli Değil	Bu seri halihazırda işlemeyi tamamladı. Yeniden havuzda toplamak ister misiniz?	Belirtilen seri havuzlama yoluyla işlenmiş. İzin verilen tek işleme yeniden havuzda toplamaktır.	Yeniden havuzda toplamak için, Re-Pool (Yeniden Havuzlama) ögesine tıklayın. VEYA Yöntemi iptal edin ve Seri Adını tekrar kontrol edin.
Plazma İzolasyonu	WP0087	Tekrarlayan numune barkodları yüklenmiş.	Aynı barkoda sahip numuneler sisteme yüklenmiş.	1. Hangi numunelerin tekrarladığını tanımlamak için İş Akışı Yöneticisi komutlarını izleyin. 2. Bu numuneleri çıkarın ve yeniden etiketleyin veya bunları değiştirin. 3. Numuneleri yeniden yükleyin.

İşlem Adımı	Hata Kodu	Hata İletişimi	Açıklama	Kullanıcı Çözümü
Plazma İzolasyonu	EP0102	Numune Sayfasında belirtilen numuneler yüklenmemiş.	Numune sayfasında yer alan numuneler yüklenen barkodlara dahil değil.	1. Eksik numuneleri tanımlamak için İş Akışı Yöneticisi komutlarını izleyin. 2. Eksik numuneleri seriye ekleyin ve numuneleri tekrar yükleyin VEYA Yöntemi iptal edin, numune sayfasını gerektiği gibi değiştirin, yöntemi yeniden başlatın.
Plaka Yükleme	Geçerli Değil	Venus Barkod Maskesi Hatası	İş Akışı Yöneticisi Venus barkod maskelerini kullanarak doğru plaka-seri ilişkisinin kurulmasını gerektirir.	1. Plaka yerleşiminin doğru olduğunu teyit etmek için plaka yerleşimini kontrol edin. 2. Yüklenen plakanın belirtilen seri için doğru plaka olduğundan emin olun.
cfDNA Ekstraksiyonu	WE0150	Vakum haznesindeki basınç çok düşük.	Dingin vakum hattı basınç algısı <400 Torr ise İş Akışı Yöneticisi devam etmeyecektir.	1. Vakum hattındaki dolaşıklıkları veya diğer tıkanıklıkları kontrol edin. 2. Atık hattı tahliye kelepçesini açın, basıncın boşalmasını sağlayın, tahliye hattı kelepçesini tamamen kapatın. 3. Vakum kontrol cihazının ve pompanın açık olduğundan emin olun. 4. Sorun devam ederse, Illumina Teknik Destek bölümüyle iletişim kurun.
	WE0153	Vakum haznesindeki basınç çok yüksek.	Basınç kontrolünü başlatmadan önce ölçülen vakum basıncı çok yüksekse sistem arızalanmış olabilir.	Kontrol cihazının arkasındaki tüm vakum bağlantılarının ve hatlarının güvenli olduğundan emin olun.
	WE0996	Vakum kapatılamadı.	Sistem Bağlama Plakasında vakumlu kapatma sağlayamadı.	NOT Conta arızası tamamen çözümlenene dek OK (Tamam) ögesini seçmeyin. 1. Bağlama plakasının vakum manifolduna yanaştırıldığından emin olun. Elinizde eldiven varken, kuvvetli bir biçimde bağlama plakasına bastırın. 2. cfDNA Ekstraksiyonuna devam etmek için OK (Tamam) ögesine tıklayın. 3. Bu hata mesajı bir çalışmada üç kereden fazla görüntülenirse Illumina Teknik Destek'e e-posta gönderin.
	WM0219	Vakum açıksa, manuel olarak pompayı duraklatın.	Ekstraksiyon işlemi sırasında bir yöntem iptalinden sonra vakum açık kalabilir.	1. Vakum Kontrol Cihazından vakumu kapatmak için Power (Güç) düğmesine basın. 2. 10 saniye bekleyin ve ardından tekrar basarak vakumu çalıştırın.
	EE0477	Plaka taşınırken bir hata oluştu. (iSWAP hatası)	iSWAP hatasıyla (plakanın düşmesi, alınamaması ve benzeri) karşılaşılması halinde sistem plaka taşıma işlemi manuel olarak tamamlaması için kullanıcıyı yönlendirecektir.	Plakanın kurtarılabılır olduğundan (dökülen malzeme olmadığından) emin olun. - Kurtarılabılır değilse, çalışmayı iptal edin. - Kurtarılabılırsa, plaka aktarımını manuel olarak tamamlamak için görüntülenen talimatları izleyin.

İşlem Adımı	Hata Kodu	Hata İletişimi	Açıklama	Kullanıcı Çözümü
	EE0519	Taranan barkod kayıttaki bağlama plakası barkoduyla eşleşmiyor.	Yüklenen Bağlama plakası, çıkarılan plakanın barkoduyla eşleşmiyor.	Yüklenen barkodun kayıtlı barkodla eşleştiğinden emin olun (beklenen barkodun izleme günlüğüne bakın).
API	EA0372	Veri sunucusuna bağlanamıyor.	VeriSeq Tesis Sunucusu İş Akışı Yöneticisi'nden gelen veri taleplerine yanıt vermiyor.	Aşağıdakilerden emin olun: 1. ML STAR ağa bağlıdır. 2. ML STAR VeriSeq Tesis Sunucusu'na bağlanabilir (ping talebi aracılığıyla). 3. VeriSeq Tesis Sunucusu açıktır.
	EA0774	Bağlantı Hatası API sunucusu bağlantısı doğrulanamadı.	VeriSeq Tesis Sunucusu İş Akışı Yöneticisi'nden gelen veri taleplerine yanıt vermeyi durdurdu.	Aşağıdakilerden emin olun: 1. ML STAR ağa bağlıdır. 2. ML STAR VeriSeq Tesis Sunucusu'na bağlanabilir (ping talebi aracılığıyla). 3. VeriSeq Tesis Sunucusu açıktır.
	EA0780	403: Geçersiz Talep Mevcut işlem geçerli değil.	Gönderilen veri sistem iş akışı mantığını ihlal ediyor.	Daha fazla bilgi için hata ayrıntılarına bakın. Yaygın nedenler girdilerin çok uzun olmasını veya kabul edilebilir karakter listesinin ihlalini içerir.

Referanslar

- 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 ACOG Practice Bulletin #163.
- 5 Gil M M, Quezada M S, Revello R, Akolekar R, and Nicolaides K H (2015), Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol,* 45: 249–266. doi:10.1002/uog.14791
- 6 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.
- 7 2. ACOG Committee on Genetics. "Committee Opinion No. 640: Cell-Free DNA Screening For Fetal Aneuploidy." *Obstet Gynecol* 126 (2015): e31-7.
- 8 Bianchi D, Parker R, Wentworth J et al. DNA Sequencing versus Standard Prenatal Aneuploidy Screening. *N Engl J Med.* 2014;370(9):799-808. doi:10.1056/nejmoa1311037.
- 9 Mccullough RM, Almasri EA, Guan X, et al. Non-invasive prenatal chromosomal aneuploidy testing – clinical experience: 100 000 clinical samples. *PLoS One.* 2014; 9(10):e109173.
- 10 Norton ME, Brar H, Weiss J, et al. Non-Invasive Chromosomal Evaluation (NICE) Study: results of a multicenter prospective cohort study for detection of fetal trisomy 21 and trisomy 18. *J Obstet Gynecol.* 2012;207:137.e1-8.
- 11 Norton ME, Jacobsson B, Swamy GK, et al. Cell-free DNA analysis for noninvasive examination of trisomy. *New Engl J Med.* 2015; 372(17):1589-97.
- 12 Ryan A, Hunkapiller N, Banjevic M, et al. Validation of an enhanced version of a single-nucleotide polymorphism-based noninvasive prenatal test for detection of fetal aneuploidies. *Fetal Diagn Ther.* 2016;doi:10.1159/000442931.

- 13 Norton S, Lechner J, Williams T, Fernando M et al. A Stabilizing Reagent Prevents Cell-free DNA Contamination by Cellular DNA in Plasma During Blood Sample Storage and Shipping as Determined by Digital PCR. *Clin. I Biochem.* 2013;46: 1561–1565. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2013.06.002.

Patentler ve Ticari Markalar

Bu belge ve içindekiler Illumina, Inc. ve bağlı şirketlerinin ("Illumina") mülkiyetinde olup yalnızca işbu belgede açıklanan ürünün/ürünlerin kullanımıyla bağlantılı olarak müşterisinin sözleşmeye ilişkin kullanımı içindir. Bu belge ve içindekiler Illumina'nın önceden yazılı izni olmaksızın başka hiçbir amaçla kullanılamaz veya dağıtılamaz ve/veya hiçbir şekilde iletilemez, ifşa edilemez ya da kopyalanamaz. Illumina bu belge ile patenti, ticari markası, telif hakkı veya genel hukuk hakları ya da üçüncü tarafların benzer hakları kapsamında hiçbir lisansı devretmez.

Bu belgede açıklanan ürünün/ürünlerin uygun ve güvenli bir şekilde kullanılması için nitelikli ve uygun eğitim almış çalışanlar bu belgedeki talimatları tam olarak ve açık bir şekilde uygulamalıdır. Söz konusu ürün/ürünler kullanılmadan önce bu belgedeki tüm bilgiler tam olarak okunmalı ve anlaşılmalıdır.

BU BELGEDE YER ALAN TÜM TALİMATLARIN TAMAMEN OKUNMAMASI VE AÇIK BİR ŞEKİLDE UYGULANMAMASI, ÜRÜNÜN/ÜRÜNLERİN HASAR GÖRMESİNE, KULLANICI VEYA BAŞKALARI DAHİL OLMAK ÜZERE KİŞİLERİN YARALANMASINA VE DİĞER MALLARIN ZARAR GÖRMESİNE NEDEN OLABİLİR VE ÜRÜN/ÜRÜNLER İÇİN GEÇERLİ OLAN HER TÜRLÜ GARANTİYİ GEÇERSİZ KILACAKTIR.

ILLUMINA BU BELGEDE AÇIKLANAN ÜRÜNÜN/ÜRÜNLERİN (ÜRÜNÜN PARÇALARI VE YAZILIMI DAHİL) YANLIŞ KULLANIMINDAN DOĞAN DURUMLARDAN SORUMLU TUTULAMAZ.

© 2019 Illumina, Inc. Tüm hakları saklıdır.

Tüm ticari markalar Illumina, Inc. veya ilgili sahiplerinin malıdır. Özel ticari marka bilgileri için bkz. www.illumina.com/company/legal.html.

İletişim Bilgileri



Illumina

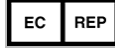
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 ABD

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (Kuzey Amerika dışından)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com



Illumina Cambridge Limited
Chesterford Research Park, Little Chesterford
Saffron Walden, CB10 1XL
BİRLEŞİK KRALLIK

Avustralya Sponsoru

Illumina Australia
1 International Court
Scoresby, Victoria, 3179
Avustralya

Ürün Etiketi

Ürün ambalajı ve etiketinde görülebilecek sembollere dair eksiksiz referans için support.illumina.com adresinden kitinize yönelik *Documentation and Literature* (Belgeler ve Literatür) sekmesindeki sembol anahtarına bakın.