

- ▶ Vyměňte desku pro vysunování špiček nezávislého kanálu odpadní stanice na špičky a vyčistěte ji: nastříkejte sprej Deconex® SOLARSEPT (nebo ekvivalentní) přímo na povrch a setřete. Natáhněte na rám nový plastový pytel a znovu jej připevněte. Vraťte čistou desku pro vysunování špiček na místo.
- ▶ Nastříkejte sprej Deconex® SOLARSEPT (nebo ekvivalentní) přímo na povrch schránky na odpad a žlabu pipetovací hlavy CORE 96 a vytřete jej do čista.
- ▶ Namočte hadřík nepouštějící vlákna nebo tampon 70% etanolem. Vytřete okénko laserového skeneru čtečky čárových kódů. Stejným hadříkem nebo tamponem vyčistěte všechny jamky adaptéru desky CPAC. Pokud používáte hadřík, vtačte jej do každé z jamek adaptéru zadní stranou tužky, abyste zajistili řádné vyčištění vnitřku jamky.
- ▶ Vyčistěte nezávislé kanály:
 - ▶ Na nezávislých kanálech vyčistěte objímku pro vysunování špiček (vnější část pipetovacích kanálů) hadříkem nepouštějícím vlákna nasáklým přípravkem Deconex® SOLARSEPT (nebo ekvivalentním). (Viz *Referenční příručka k systému Hamilton Microlab STAR č. 15070074.*)
 - ▶ Vyčistěte zádržný kotouč a O-kroužky pipetovací hlavy (vnější část pipetovacích kanálů) hadříkem nepouštějícím vlákna nasáklým přípravkem Deconex® SOLARSEPT (nebo ekvivalentním).
- ▶ Vyčistěte pipetovací hlavu CORE 96:
 - ▶ Stejným hadříkem nepouštějícím vlákna nasáklým přípravkem Deconex® SOLARSEPT (nebo ekvivalentním) vyčistěte kryt pipetovací hlavy 96 a dolní část zádržných kotoučů.
 - ▶ Stejným hadříkem nebo utrženým proužkem hadříku nasáklého přípravkem Deconex® SOLARSEPT (nebo ekvivalentním) „třením ve stylu použití zubní nitě“ po obou stranách pipetovacích kanálů pipetovací hlavy CORE 96 vyčistěte O-kroužky. Opakujte tento postup pro každý pipetovací kanál hlavy CORE 96.
- ▶ Nastříkejte na přední a boční kryt přípravek Deconex® SOLARSEPT (nebo ekvivalentní) a vytřete je do sucha.
- ▶ Vyčistěte ochranný pás automatického vkládání hadříkem nasáklým přípravkem Deconex® SOLARSEPT (nebo ekvivalentním) a vytřete jej bez použití tlaku.



POZNÁMKA

Nevhodné čištění a údržba systému ML STAR může mít za následek křížovou kontaminaci a špatnou účinnost rozborů.

Kontrola kvality

Vyhodnocením kontrolního materiálu se známými funkčními charakteristikami lze zjistit rozdíly ve zpracování a technických postupech v laboratoři.



POZNÁMKA

Zpracování referenčního vzorku nebo kontrola bez šablony snižuje celkový počet neznámých vzorků od matky, které lze zpracovat s jednotlivými sadami pro přípravné zpracování vzorků.

Nepřekračujte limit 2 vzorků NTC na dávku 48 vzorků, resp. 4 vzorků NTC na dávku 96 vzorků.

Návod k použití

Tipy a techniky

Pokud v protokolu není stanoven bod bezpečného přerušení, přejděte ihned k dalšímu kroku.

Označování desek čárovými kódy

- Čárové kódy pro desky s plným lemem začínají znaky PL.
- Čárové kódy pro desky s hlubokými jamkami začínají znaky DW.
- Čárové kódy lepte na desky s plným lemem a desky s hlubokými jamkami na bok vedle sloupečku 12.
- Pokud chcete umožnit automatizované skenování, vkládejte desky čárovým kódem orientovaným doprava.

Příprava fondu na sekvencování

Příprava

- 1 Připravte následující reagenty:

Položka	Skladování	Pokyny
Zkumavky fondu	-25 až -15 °C	Pokud byly zkumavky dříve skladovány, nechte je rozmrazit při pokojové teplotě. Krátce promíchejte ve vortexové třepačce. Krátce odstředte.

- 2 Připravte systém sekvencování nové generace s následujícím nastavením:

- a Párový-koncový běh se čteními v cyklu 36 x 36.
- b Dvojitě indexování s osmicyklovými čteními indexu.
- c Název běhu je stejný jako název fondu.



POZNÁMKA

Nesprávné konfigurace běhu jsou softwarem pro analýzu zamítnuty a mohou vyžadovat opětovné sekvencování.

Následující postup popisuje správné vložení sloučených knihoven do přístroje pro sekvencování nové generace založeného na zásobnících.

Postup

- 1 Doplněte pufr a fond knihoven přímo do zásobníku vzorků sekvenceru následujícím postupem.
 - ▶ Hybridizační pufr 900 µl
 - ▶ Fond A 450 µl
 - ▶ Použitím pipety promíchejte
- 2 Pokračujte v sekvencování pomocí systému sekvencování nové generace v souladu s pokyny výrobce.
- 3 Když se zobrazí výzva, potvrďte správnou konfiguraci běhu.
- 4 V případě nutnosti opakujte postup pro fond B.

Analýza dat sekvencování

Po dokončení sekvencování jsou data sekvencování automaticky odeslána do softwaru VeriSeq NIPT Assay Software k analýze a vytvoření výkazu. Součástí výkazu jsou klasifikace každého vzorku v dávce a hodnocení všech metrik kontroly kvality běhu. Proces analýzy od dokončení sekvencování až k získání konečných výsledků pro dávku 48 vzorků trvá přibližně 4 hodiny. Podrobné informace o analýze dat a výstupním souboru naleznete v příručce k softwaru *VeriSeq NIPT Solution* (dokument č. 100000001949).

Interpretace výsledků

Test VeriSeq NIPT Solution využívá k určení zastoupení chromozomů v plodu algoritmus založený na několika datových vstupech, mezi které patří pokrytí sekvencování, kvalita čtení sekvencí a odhadovaná fetální frakce.

Software VeriSeq NIPT Assay Software automaticky generuje výsledek ANEUPLOIDY DETECTED (Zjištěna aneuploidie) nebo NO ANEUPLOIDY DETECTED (Aneuploidie nezjištěna) pro chromozomy 21, 18 a 13 pro každý vzorek pacienta. Výsledek ANEUPLOIDY DETECTED (Zjištěna aneuploidie) znamená pozitivitu vzorku na trizomii daného chromozomu.

Výsledky stavu pohlavních chromozomů plodu jsou generovány automaticky a vykazovány volitelně. Pokud není zjištěna žádná aneuploidie pohlavních chromozomů, je ve výkazu stav NO ANEUPLOIDY DETECTED (Aneuploidie nezjištěna) doplněn o klasifikaci pohlaví: XX (vzorek z plodu ženského pohlaví) nebo XY (vzorek z plodu mužského pohlaví). Aneuploidie pohlavních chromozomů jsou ve výkazu označeny stavem ANEUPLOIDY DETECTED (Zjištěna aneuploidie) doplněným konkrétní zjištěnou aneuploidií: XXX, XXY, XYY nebo XO (monozomie chromozomu

X). Ve vzácných případech jsou hodnoty pohlavních chromozomů mimo vykazovatelný rozsah a systém vygeneruje výsledek SEX CHROMOSOMES NOT REPORTABLE (Pohlavní chromozomy nelze určit). Pro takové vzorky lze však přesto určit výsledky autozomální aneuploidie.

Software VeriSeq NIPT Assay Software využívá k určení odhadované fetální frakce jednotlivých vzorků statistiku vytvořenou během sekvencování. Odhadovaná fetální frakce je odhadem složky cfDNA plodu, která je získána rozborem a vykázána jako zaokrouhlená procentní hodnota pro každý vzorek. Průměrná směrodatná odchylka tohoto odhadu přes všechny vzorky je 1,3 %. Odhadovaná fetální frakce není určena během izolace k vyloučení vzorků při vykazování výsledků.

Aby mohl software VeriSeq NIPT Assay Software určit zastoupení chromozomů, využívá individualizovanou zkoušku iFACT (Fetal Aneuploidy Confidence Test). Jde o metriku s dynamickým prahem, která označuje, zda systém s použitým odhadem fetální frakce každého vzorku vytvořil dostatečné pokrytí sekvencování. Systém určí zastoupení chromozomů pouze v případě, že vzorek dosáhne prahové hodnoty zkoušky iFACT. Pokud vzorek této prahové hodnoty nedosáhne, hodnocení kontroly kvality zobrazí zprávu FAILED iFACT (ZKOUŠKA iFACT NEÚSPĚŠNÁ) a systém nevytvoří žádný výsledek. Hodnocení iFACT se použije na všechny vzorky.

Kromě zkoušky iFACT provádí VeriSeq NIPT Assay Software v průběhu analýzy hodnocení několika dalších metrik kontroly kvality. Mezi další metriky patří hodnocení rovnoměrnosti pokrytí referenčních genomických oblastí (DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Data mimo očekávaný rozsah)) a rozdělení délek fragmentů cfDNA (FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Rozdělení velikostí fragmentů mimo očekávaný rozsah)). Hodnocení kontroly kvality zobrazí buď příznak kontroly kvality, nebo chybu kontroly kvality pro každou metriku, která je mimo přípustný rozsah. V případě chyby kontroly kvality vzorku systém nevytvoří výsledek. Pokud vzorek neprojde kontrolou kvality, lze zpracovat druhou poměrnou část plazmy za předpokladu, že ve zkumavce s odebranou krví je dostatečný objem plazmy.

Výkonnostní charakteristiky

Následující data popsaná v částech věnovaných klinické a analytické účinnosti byla vytvořena pomocí protokolů a materiálů popsanych v *Návod k použití* vycházejících z plazmy. Všechna data sekvencování v této části byla vytvořena systémem pro sekvencování Illumina NextSeq 500/550 s následujícími konfiguracemi:

- Řídicí software NextSeq Control Software verze 2.1.0.31
- Sada reagentů pro sekvencování NextSeq 500/550 High Output Kit verze 2 (75 cyklů)
- Běh sekvencování párových konců s 2x 36 bázemi v režimu vysokého výkonu

Klinická studie

Klinická přesnost testu VeriSeq NIPT Solution z hlediska závěrů určených hodnocením podle klinického referenčního standardu byla prokázána vyhodnocením vzorků plazmy těhotných žen s jedním plodem, které byly vyšetřeny na aneuploidie chromozomů plodu. Vzorky byly získány ze vzorků plazmy z banky, zbavených identifikace, které byly předtím zpracovány ze vzorků periferní plné krve.

Testováno bylo celkem 3107 vzorků. 21 (0,68 %, 21/3107) z těchto vzorků neprošlo napoprvé kvalitou kontroly rozboru během analýzy dokončených dat sekvencování:

- ▶ 11 vzorků neprošlo zkouškou iFACT
- ▶ 8 vzorků mělo data mimo očekávaný rozsah
- ▶ 2 vzorky měly rozdělení velikostí fragmentů mimo očekávaný rozsah

Demografie a charakteristika těhotenství

Údaje o věku, etnické příslušnosti, délce těhotenství a trimestru těhotenství matky jsou shrnuty v *Tabulka 7*.

Tabulka 7 Demografie a charakteristika těhotenství \

(N = 3086)	
Věk matky – roky	
Střední hodnota	36,8
Směrodatná odchylka	3,6
Medián	36,7
25. percentil, 75. percentil	35,3, 38,8
Minimum, maximum	18,2, 51,6
Rasa/etnická příslušnost – n (%)^a	
Bělošská	981 (32 %)
Černošská nebo afroamerická	231 (7 %)
Hispánská nebo latinoamerická	1,079 (35 %)
Asijská	706 (23 %)
Původní obyvatelstvo Ameriky	4 (0,1 %)
Míšená	58 (2 %)
Neznámá ^b	27 (1 %)
Délka těhotenství při odběru krve (v týdnech)	
Střední hodnota	12,2
Směrodatná odchylka	2,8
Medián	11
25. percentil, 75. percentil	10, 13
Minimum, maximum	10, 25
Trimestr těhotenství – n (%)	
První (< 14 týdnů)	2,520 (82 %)
Druhý	566 (18 %)
Třetí (≥ 27 týdnů)	0 (0 %)

^a Tato studie byla provedena ve Spojených státech amerických.
^b Vykázáno jako „unknown“ (neznámá).

Klinický výkon při těhotenstvích s jedním plodem

Všechny vzorky studie měly klinické referenční standardní závěry (klinická „pravda“) vztažené na stav aneuploidie a byly založeny na hodnocení cytogenetického testu nebo výsledcích fyzického vyšetření novorozence lékařem nebo genetickým poradcem. Vzorky byly vhodné pro testování, pokud byly klinické závěry zaznamenány pro stav aneuploidie chromozomů 21, 18, 13 plodu nebo výsledky pohlaví plodu včetně sex aneuploidie pohlavních chromozomů plodu (SCA) (monozomie chromozomů X, XXX, XXY nebo XYY). V rámci sady vzorků mělo 3057 vzorků klinická referenční data pro autozomální aneuploidie a 3082 vzorků mělo klinická referenční data pro SCA. Výsledky zjištěné rozbořením VeriSeq NIPT Solution byly porovnány s klinickými referenčními standardními závěry.

Křížová tabulka porovnávající výsledek získaný testem VeriSeq NIPT Solution s klinickým referenčním standardním závěrem pro trizomii chromozomu 21, trizomii chromozomu 18 a trizomii chromozomu 13

Křížová tabulka porovnávající výsledky získané testem VeriSeq NIPT Solution (řádky) s klinickým referenčním standardním závěrem (sloupce) je uvedena v řadách tabulek 2 × 2. Nevyskytly se žádné případy křížového výsledku mezi autozomálními aneuploidiemi (např. test VeriSeq NIPT Solution nedetekoval trizomii chromozomu 18 ve vzorku, jehož závěrem bylo postižení trizomií chromozomu 21).

Tabulka 8 Křížová tabulka výsledků trizomie chromozomu 21

Výsledek testu VeriSeq NIPT Solution	Klinický referenční standardní závěr ^a		
	Postižení trizomií chromozomu 21	Bez postižení trizomií chromozomu 21	Celkem
Zjištěna aneuploidie chromozomu 21	90	1	91
Aneuploidie chromozomu 21 nezjištěna	1	2965	2966
Celkem	91	2966	3057

^a Hodnocení klinického referenčního standardu bylo provedeno pomocí cytogenetických testů a fyzickým vyšetřením novorozence.

Tabulka 9 Křížová tabulka výsledků trizomie chromozomu 18

Výsledek testu VeriSeq NIPT Solution	Klinický referenční standardní závěr ^a		
	Postižení trizomií chromozomu 18	Bez postižení trizomií chromozomu 18	Celkem
Zjištěna aneuploidie chromozomu 18	18	3	21
Aneuploidie chromozomu 18 nezjištěna	2	3034	3036
Celkem	20	3037	3057

^a Hodnocení klinického referenčního standardu bylo provedeno pomocí cytogenetických testů a fyzickým vyšetřením novorozence.

Tabulka 10 Křížová tabulka výsledků trizomie chromozomu 13

Výsledek testu VeriSeq NIPT Solution	Klinický referenční standardní závěr ^a		
	Postižení trizomií chromozomu 13	Bez postižení trizomií chromozomu 13	Celkem
Zjištěna aneuploidie chromozomu 13	8	4	12
Aneuploidie chromozomu 13 nezjištěna	0	3045	3045
Celkem	8	3049	3057

^a Hodnocení klinického referenčního standardu bylo provedeno pomocí cytogenetických testů a fyzickým vyšetřením novorozence.

Citlivost a specifická testu VeriSeq NIPT Solution pro detekci trizomií chromozomů 21, 18 a 13

Tabulka 11 Citlivost a specifická testu VeriSeq NIPT Solution pro detekci trizomií chromozomů 21, 18 a 13

	Trizomie chromozomu 21	Trizomie chromozomu 18	Trizomie chromozomu 13
Citlivost	98,9 % (90/91)	90,0 % (18/20)	100,0 % (8/8)
Oboustranný 95% interval spolehlivosti ^a	(94,0 %, 99,8 %)	(69,9 %, 97,2 %)	(67,6 %, 100,0 %)
Specifická	> 99,9 % (2965/2966)	99,9 % (3034/3037)	99,9 % (3045/3049)
Oboustranný 95% interval spolehlivosti ^a	(99,8 %, 100,0 %)	(99,7 %, 100,0 %)	(99,7 %, 99,9 %)

^a Interval spolehlivosti založený na Wilsonově metodě hodnocení.

Citlivost a specifická testu VeriSeq NIPT Solution u vzorků s odhadovanou fetální frakcí $\leq 4\%$ a $> 4\%$ Vzorky v analýzách účinnosti mají odhadovanou fetální frakci v rozsahu od $< 1\%$ do 30% . Detekce aneuploidií plodu z mateřské cfDNA je z části závislá na fetální frakci vzorku, takže účinnost rozboru může být u nižších fetálních frakcí snížena. Některé metodiky NIPT využívají přísné krajní hodnoty fetální frakce^{9,10,11,12}, přičemž za dolní mez

detekce se považuje hodnota 4 %.^{9,10,11} V následujících tabulkách je uvedena účinnost testu VeriSeq NIPT Solution pro případy, kde je odhadovaná fetální frakce nižší nebo rovna 4 % a vyšší než 4 %. Výsledky klinické studie ukazují, že test VeriSeq NIPT Solution dokáže detekovat aneuploidii plodu pro fetální frakce 4 % nebo nižší.

Tabulka 12 Citlivost a specifická u vzorků s odhadovanou fetální frakcí ≤ 4 %

	Trizomie chromozomu 21	Trizomie chromozomu 18	Trizomie chromozomu 13
Citlivost	90,9 % (10/11)	80,0 % (4/5)	Není k dispozici (0/0)
Oboustranný 95% interval spolehlivosti*	(62,3 %, 98,4 %)	(37,6 %, 96,4 %)	Není k dispozici
Specifická	99,7 % (329/330)	100,0 % (336/336)	99,7 % (340/341)
Oboustranný 95% interval spolehlivosti*	(98,3 %, 99,9 %)	(98,9 %, 100 %)	(98,4 %, 99,9 %)

*Interval spolehlivosti založený na Wilsonově metodě hodnocení

Tabulka 13 Citlivost a specifická u vzorků s odhadovanou fetální frakcí > 4%

	Trizomie chromozomu 21	Trizomie chromozomu 18	Trizomie chromozomu 13
Citlivost	100,0 % (80/80)	93,3 % (14/15)	100 % (8/8)
Oboustranný 95% interval spolehlivosti*	(95,4 %, 100,0 %)	(70,2 %, 98,8 %)	(67,6 %, 100,0 %)
Specifická	100,0 % (2636/2636)	99,9 % (2698/2701)	99,9 % (2705/2708)
Oboustranný 95% interval spolehlivosti*	(99,9 %, 100,0 %)	(99,7 %, 100 %)	(99,7 %, 100 %)

*Interval spolehlivosti založený na Wilsonově metodě hodnocení

Detekce aneuploidii pohlavních chromozomů

Výsledky testu pohlavních chromozomů získané rozбором VeriSeq NIPT Solution byly porovnány s klinickým referenčním standardním závěrem a jsou shrnuty v následující tabulce. Procentní shoda byla vypočtena pro každý pohlavní chromozom v každém jednotlivém klinickém referenčním standardním závěru [klasifikace]. Procentní shoda byla vypočtena jako počet vzorků, ve kterých výsledek testu pohlavních chromozomů souhlasil s klasifikací podle klinického referenčního standardu, dělený celkovým počtem vzorků se stejnou klasifikací podle klinického referenčního standardu.

Tabulka 14 Procentní shoda s klasifikací pohlaví plodu

Výsledky testu VeriSeq NIPT Solution pro klasifikaci pohlaví plodu	Klinický referenční standardní závěr								
	Výsledek fyzického vyšetření novorozence [Žádné cytogenetické výsledky]		Cytogenetické výsledky						
	Ženské pohlaví	Mužské pohlaví	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYY	Jiné ^a
Procentní shoda	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)	Není k dispozici

^a 1 vzorek měl výsledek 49, XXXXY, klasifikovaný testem VeriSeq NIPT Solution jako „Sex chromosome not reportable“ (Pohlavní chromozomy nelze určit).

Pozitivní prediktivní hodnota a negativní prediktivní hodnota testu VeriSeq NIPT Solution při detekci trizomie chromozomů 21, 18 a 13 pro řadu prevalencí

Pozitivní prediktivní hodnota (PPH) a negativní prediktivní hodnota (NPH) testu poskytuje informace týkající se schopnosti testu provádět informovaná klinická rozhodnutí založená na citlivosti a specifitě testu a na pravděpodobnosti před testem, že je plod postižený trizomií (prevalence). Protože hodnoty PPH a NPH závisí na prevalenci a prevalence pro tyto aneuploidie může být v různých populacích osob různá, jsou hodnoty PPH a NPH vypočteny na základě citlivosti a specifity pozorované ve studii klinické přesnosti pro trizomii chromozomů 21, 18 a 13. Následující tabulka shrnuje hodnoty PPH a NPH pro různé hodnoty příznivých prevalencí.

Tabulka 15 Pozitivní prediktivní hodnota a negativní prediktivní hodnota testu VeriSeq NIPT Solution při detekci trizomie chromozomů 21, 18 a 13 pro řadu prevalencí

Aneuploidie	Prevalence	PPH	NPH
Trizomie chromozomu 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 %
Trizomie chromozomu 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 %
Trizomie chromozomu 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 %

NPH = negativní prediktivní hodnota, PPH = pozitivní prediktivní hodnota

Výkon při dvoučetném těhotenství

Klinická účinnost

Vzhledem k nízké prevalenci byl pro klinickou studii k dispozici pouze malý počet dvojčat. Byly testovány čtyři vzorky dvojčat s trizomií 21. chromozomu a u všech byla správně označena přítomnost trizomie 21. chromozomu a absence jakékoli jiné anomálie. Za předpokladu, že počet vzorků dvojčat byl příliš nízký, budou míry spolehlivosti pro citlivost a specifitu příliš široké pro praktické použití. Vzorky jako takové nebyly zahrnuty do celkových výpočtů výkonnosti uvedených v [Tabulka 11](#).

Odhad výkonnosti pro trizomii chromozomu 21, 18 a 13

Aby bylo možné přesněji odhadnout výkonnost roztoku VeriSeq NIPT u dvoučetných těhotenství, byly k simulaci populací dvoučetných těhotenství v souladu se zamýšlenou populací použity použity modely *in silico* (na základě počítačové simulace) založené na pozorováních klinických vzorků. Distribuce fetální frakce byla stanovena z přibližně 4 500 vzorků dvoučetných těhotenství a porovnána s distribucí z přibližně 120 000 vzorků jednočetných těhotenství.

Distribuce fetální frakce podmíněné stavem aneuploidie byla určena z jednočetných předpokládaných přiřazení (1 004 trizomií chromozomu 21, 312 trizomií chromozomu 18 a 197 trizomií chromozomu 13). Kombinace těchto dvou distribucí umožnila zjištění interference u aneuploidie u dvojčat. Byly simulovány sady dizygotních a monozygotních dvojčat a při odhadu citlivosti byl použit vážený průměr představující jejich prevalenci v populaci zamýšleného použití (2 dizygotní: 1 monozygotní). Pro specifitu byly simulovány sady nepostižených dvojčat.

Frakce každého simulovaného vzorku postiženého trizomií (tj. „postižená frakce“) byla vypočtena pro každou kategorii vzorků jinak:

- U monozygotních dvojčat byla postižená frakce každého vzorku nastavena na hodnotu 1,0, protože v této situaci trizomie postihuje obě dvojčata.
- U dizygotních dvojčat se předpokládalo, že bylo postiženo pouze jedno dvojče (postižení obou dizygotních dvojčat je extrémně vzácné). Hodnoty postižené frakce byly simulovány s použitím známé distribuce poměrů fetální frakce, jak je stanoveno z klinických vzorků dvoučetných těhotenství s nesouhlasným pohlavím. Kdekoli se předpokládalo, že postižené dvojče vždy mělo nejnižší fetální frakci ze dvou dvojčat, byl přijat konzervativní přístup. Na fetální frakce, které byly v průměru nižší u těhotenství s trizomií chromozomu 13 a 18, byl uplatněn korekční faktor.
- U nepostižených dvojčat je postižená frakce jednotlivých vzorků nastavena na nulu.

U dvojčat postižených buď trizomií chromozomu 18, nebo chromozomu 13, byla fetální frakce odpovídající postižené frakci vzorku, redukována poměrně vzhledem k průměrné redukci ve fetální frakci pozorované v klinických datech v trizomii chromozomu 18 nebo chromozomu 13 u jednočetných těhotenství vzhledem k euploidním jednočetným těhotenstvím.

Jak celková fetální frakce, tak postižená frakce každého simulovaného vzorku byla pak použita k výpočtu skóre aneuploidie pomocí standardního algoritmu roztoku VeriSeq NIPT. Citlivost byla vypočtena stanovením toho, jak často byla skóre aneuploidie u simulovaných postižených dvojčat nad příslušnou krajní hodnotou aneuploidie. Specifita byla podobně vypočtena stanovením toho, jak často byla skóre aneuploidie u simulovaných nepostižených dvojčat pod příslušnou krajní hodnotou aneuploidie (Tabulka 16). Intervaly 95% spolehlivosti byly odhadnuty na základě počtu skutečných klinických vzorků dvojčat v původní sadě dat, které byly klasifikovány buď jako postižené, nebo nepostižené odpovídající trizomií.

Tabulka 16 Odhady pro trizomii chromozomu 21, 18 a 13 v simulované populaci dvoučetných těhotenství

	Trizomie chromozomu 21	Trizomie chromozomu 18	Trizomie chromozomu 13
Citlivost	97,1 %	95,8 %	95,1 %
Oboustranný 95% interval spolehlivosti*	(87,9 %, 99,2 %)	(66,7 %, 99,5 %)	(67,7 %, 99,3 %)
Specifita	99,9 %	> 99,9 %	> 99,9 %
Oboustranný 95% interval spolehlivosti	(99,7 %, 99,9 %)	(99,9 %, > 99,9 %)	(99,9 %, 99,9 %)

*Interval spolehlivosti založený na Wilsonově metodě hodnocení

Bodové odhady a odhadované 95% intervaly spolehlivosti v Tabulka 16 pro citlivost a specifitu roztoku VeriSeq NIPT určeného k detekci trizomie chromozomu 21, 18 a 13 byly určeny na základě simulované populace dvoučetných těhotenství v souladu se zamýšlenou populací použití. Intervaly spolehlivosti byly odhadnuty na základě počtu klinických vzorků dvojčat, které úspěšně prošly kontrolou kvality jako postižené nebo nepostižené odpovídající trizomií. Výpočet citlivosti předpokládá, že dvě třetiny postižených dvoučetných těhotenství jsou dizygotní s jedním postiženým dvojčetem, zatímco jedna třetina postižených dvoučetných těhotenství je monozygotní s postiženými oběma dvojčaty.

Odhady uvedené v Tabulka 16 se týkají pouze dvoučetných těhotenství. Vzhledem k nízké prevalenci byla data pro vícečetná těhotenství (trojčata a vyšší) nedostatečná pro stanovení vhodných statistických modelů, z nichž by bylo možné odhadnout přesnost detekce aneuploidie.

Analytická účinnost

Přesnost

Za účelem hodnocení přesnosti testu VeriSeq NIPT Solution byly provedeny dvě studie:

- ▶ Multicentrická interní studie reprodukovatelnosti, která se skládala z 9 běhů na 3 pracovištích využívajících 3 pracovníky obsluhy a jednu šarži reagentů.
- ▶ Studie vnitrolaboratorní přesnosti, která se skládala ze 12 běhů na jednom pracovišti s využitím dvou pracovníků obsluhy, 2 přístrojových systémů a 3 dávek reagentů.

Spojením cfDNA extrahované z krevní plazmy těhotných žen (s plodem postiženým trizomií chromozomu 21) a cfDNA extrahované z krevní plazmy žen, které nebyly těhotné, byl vytvořen fond trizomie chromozomu 21 s fetální frakcí 5 %. Byla také testována sloučená cfDNA extrahovaná z krevní plazmy těhotné matky s nepostiženým mužským plodem (plod XY) a nepostiženým ženským plodem (plod XX). Testování probíhalo po dobu 10 dní a zahrnovalo celkem 21 běhů v obou 2 studiích celkem.

Z 903 vzorků, které byly součástí analýz v obou 2 studiích, bylo dosaženo 100% shody 84/84 u trizomie chromozomu 21, 399/399 u klasifikace pohlaví XX a 420/420 u klasifikace pohlaví XY. Distribuce vzorků mezi pracovišti byla následující: pracoviště 1 – T21 (12), XX (57), XY(60); pracoviště 2 – T21 (12), XX (57), XY(60); pracoviště 3 – T21 (60), XX (285), XY(300).

Tabulka 17 Reprokovatelnost a vnitrolaboratorní přesnost (spojená data)

Očekávaná hodnota	Počet pokusů	Pozorovaný výsledek				
		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

Křížová kontaminace

Křížová kontaminace byla vyhodnocena v rámci pracovního postupu přípravy vzorků testu VeriSeq NIPT Solution. Fondy plazmy z netěhotných žen (XX) a dospělých mužů (XY) byly testovány na šachovnicovém principu se 4 deskami s 96 jamkami (N=48 na každé desce pro ženské i mužské vzorky; celkem 192 ženských a 192 mužských vzorků). Žádný z ženských vzorků neukázal pokrytí chromozomu Y, které by bylo statisticky vyšší, než je odhadovaný základ, což naznačuje, že nedošlo ke křížové kontaminaci od mužských vzorků ze stejné desky. V testu VeriSeq NIPT Solution nebyla pozorována žádná detekovatelná křížová kontaminace.

Potenciálně interferující látky

Aby bylo možno vyhodnotit vliv interferujících látek na test VeriSeq NIPT Solution, byla vyhodnocena účinnost rozboru v přítomnosti potenciálně interferujících látek.

Do fondů plazmy matky s nepostiženým ženským plodem (plod XY) byl vpraven albumin, bilirubin, hemoglobin nebo triglyceridy (endogenní) a tyto látky byly testovány ve 2 koncentracích pro každou testovanou látku (n=16 pro každou látku). Nebylo pozorováno žádné ovlivnění účinnosti rozboru.

Tabulka 18 Potenciálně interferující látky (endogenní)

Testovaná látka	Nízká koncentrace testu (mg/ml)	Vysoká koncentrace testu (mg/ml)
Albumin	35	50
Bilirubin	0,01	0,15
Hemoglobin	100	200
Triglycerid	1,5	5

Účinnost rozboru může potenciálně ovlivňovat také přirozeně se vyskytující genomická DNA (gDNA) matky v plazmě, protože může být extrahována společně s cfDNA plodu. Úrovně genomické DNA 1,6, 3,3 a 4,9 ng na vzorek (odpovídající 1, 2 a 3 směrodatným odchylkám nad střední hodnotou očekávané koncentrace gDNA po 7 dnech skladování plné krve¹³) byly přidány k cfDNA extrahované z plazmy matky s nepostiženým ženským plodem (plod XY). Vzorky byly poté otestovány rozbohem VeriSeq NIPT Solution (n=16 pro každou koncentraci). V přítomnosti zvýšených úrovní gDNA nebylo pozorováno žádné ovlivnění účinnosti rozboru.

Podle protokolu EP7-A2 (Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline-Second Edition) bylo otestováno dvacet potenciálně interferujících látek (exogenních) založených na lécích, které jsou běžně používány nebo předepisovány v těhotenství. 20 potenciálních interferujících látek bylo zkombinováno do 4 fondů, vpraveno do plazmy matky s nepostíženým ženským plodem (plod XY) a testováno rozbohem VeriSeq NIPT Solution (n=16 pro každý fond). V přítomnosti těchto exogenních látek nebylo pozorováno žádné ovlivnění účinnosti rozboru.

Tabulka 19 Potenciálně interferující látky (exogenní)

Fond 1	Fond 2	Fond 3	Fond 4
Acetaminofen	Difenhydramin	Albuterol	Cetirizin
Acetylcystein	Erytromycin	Bupropion	Dextrometorfan
Bisoprolol	Guaifenesin	Kofein	Kyselina L-askorbová
Citalopram	Heparin	Sertralin	Metoprolol
Desloratadin	Lidokain	Fluorid sodný	Nadolol

Řešení problémů

Řešení problémů s testem VeriSeq NIPT Solution

Poruchový režim	Možný výsledek	Výklad	Doporučený postup	Komentář
Insufficient input plasma (Nedostatek plazmy na vstupu)	Chyba kontroly kvality vzorku	Nedostatečný objem plazmy	Zopakujte odběr.	Na základě vizuální kontroly objemu plazmy.
Blood tube failure (Chyba zkumavky na krev)	Nedochází k separaci krve do vrstev.	Vzorek nebyl odstředěn.	Zkontrolujte, zda se odstředivka spustila a zda se zkumavka otáčela při správném zrychlení. Zopakujte odběr vzorku.	
		Nesprávné skladování nebo přeprava vzorku (lýza vzorku)	Zopakujte odběr vzorku.	Zmrazené vzorky se neoddělují.
Sample clog / Slow flow (Ucpání vzorkem / pomalý proud)	Kontaminace plazmy	Jednotlivé vzorky mohou ucpat vazebnou desku, pokud vzorek plazmy obsahuje významnou kontaminaci.	Prohlédněte vzorek. Pokud je zbylá plazma ve zkumavce červená nebo mléčná, vyřaďte vzorek a požádejte o opakování odběru. Pokud se zdá vzorek v pořádku, zopakujte testování vzorku.	
	Hardwarová porucha	Nedostatečné zpracování materiálu během extrakce	Zopakujte test vzorku. Pokud problém trvá ve stejné jamce i u jiných vzorků, obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina.	

Poruchový režim	Možný výsledek	Výklad	Doporučený postup	Komentář
Individual Sample Analysis QC failure (Neúspěšná kontrola kvality analýzy jednotlivého vzorku)	Chyba kontroly kvality sekvencování	Nedostatek vstupního genetického materiálu nebo chybný přenos během manipulace se vzorkem	Zkontrolujte poznámky na vzorku. Zkontrolujte, zda se na stejné pozici na desce nevyskytují u předchozích vzorků stejné výsledky. Zopakujte test vzorku.	Označuje buď chybný vstupní materiál vzorku, nebo chybný přenos v systému ML STAR. Příčinou nedostatku genetického materiálu může být nedostatek mimobuněčné DNA v plazmě nebo buněčná DNA, která způsobuje nadměrné zředění vzorku pro sekvencování.
	Nízký počet FF nebo NES	Nedostatek generovaných dat k vytvoření přesného výkazu	Zopakujte test z plazmy.	
Quantification QC failure (Chyba kontroly kvality kvantifikace)	Neúspěšný běh kvantifikace – medián dávky je pod minimální hodnotou	Nedostatečný zisk ze zpracování	Zopakujte kvantifikaci. Pokud se nezdaří ani opakovaný pokus, obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina.	Úspěšné splnění metrik standardní křivky ukazuje na problém s přípravou knihovny.
	Neúspěšný běh kvantifikace	Chyba standardní křivky v důsledku chybné kvantifikace	Zopakujte kvantifikaci. Pokud se nezdaří ani opakovaný pokus, obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina.	
Pooling Failure (Chyba slučování do fondu)	Nepodařilo se dokončit slučování vzorků do fondu.	Analýza slučování nemůže vypočítat správné objemy ve fondu.	Znovu vyhodnoťte cílovou koncentraci ve fondu a spusťte analýzu slučování.	

Řešení problémů se systémem VeriSeq NIPT Microlab STAR

Krok procesu	Kód chyby	Chybová zpráva	Popis	Uživatelské řešení
Vytvoření dávky	EM0044	The Batch ID entered contains forbidden characters. (Zadané ID dávky obsahuje zakázané znaky.)	Test VeriSeq NIPT Solution umožňuje zadat ve všech datových polích pouze čísla, písmena, podtržítka a pomlčky.	Přejmenujte dávku názvem, který neobsahuje žádné zvláštní textové znaky.
Vytvoření dávky	EM0051	The Batch ID is greater than 26 characters in length. (ID dávky obsahuje více než 26 znaků.)	V testu VeriSeq NIPT Solution je omezena délka názvu dávky na 26 znaků nebo méně.	Přejmenujte dávku názvem, který obsahuje méně než 26 znaků.

Krok procesu	Kód chyby	Chybová zpráva	Popis	Uživatelské řešení
Vytvoření dávky	EM0076	Unable to connect to VeriSeq Onsite Server (Nelze se připojit k místnímu serveru VeriSeq)	Místní server VeriSeq neodpovídá na datové požadavky softwaru Workflow Manager.	Zkontrolujte splnění následujících podmínek: 1. Systém ML STAR je připojen k síti. 2. Místní server VeriSeq je zapnutý. 3. Systém ML STAR se může připojit k místnímu serveru VeriSeq (odesláním příkazu Ping). 4. Pokud výše uvedené kroky problém nevyřeší, kontaktujte e-mailem technickou podporu společnosti Illumina.
Vytvoření dávky	EM0118	This batch has been failed and cannot be further processed. (Zpracování této dávky nebylo úspěšné a dávku již nelze zpracovat.)	Zpracování uvedené dávky již selhalo a dávku nelze dále zpracovat.	Záznam dávky na místním serveru VeriSeq označuje, že zpracování vybrané dávky nebylo úspěšné. Není povoleno žádné další zpracování. Vytvořte další dávku s požadovanými vzorky.
Vytvoření dávky	Není k dispozici	This batch has already completed processing. Would you like to repool? (Zpracování této dávky již bylo dokončeno. Chcete zopakovat sloučení do fondu?)	Uvedená dávka byla zpracována prostřednictvím sloučení do fondu. Jediné přípustné zpracování je opětovné sloučení do fondu.	Chcete-li provést opětovné sloučení do fondu, klikněte na příkaz Re-Pool (Znovu sloučit do fondu). NEBO Přerušete provádění metody a důkladně zkontrolujte název dávky.
Izolace plazmy	WP0087	Duplicate sample barcodes loaded. (Byly načteny duplicitní čárové kódy vzorků.)	Do systému byly načteny vzorky s identickými čárovými kódy.	1. Podle pokynů softwaru Workflow Manager určete, které vzorky jsou duplicitní. 2. Odeberte tyto vzorky a buď změňte jejich označení, nebo je vyměňte. 3. Znovu načtete vzorky.
Izolace plazmy	EP0102	Samples specified in the Sample Sheet were not loaded. (Vzorky uvedené v seznamu vzorků nebyly načteny.)	Vzorky uvedené v seznamu vzorků nebyly obsaženy v načtených čárových kódech.	1. Podle pokynů softwaru Workflow Manager určete chybějící vzorky. 2. Doplňte chybějící vzorky do dávky a znovu načtete vzorky. NEBO Přerušete prováděnou metodu, upravte seznam vzorků podle potřeby a znovu spusťte metodu
Vložení desky	Není k dispozici	Venus Barcode Mask Error (Chyba masky čárového kódu Venus)	Software Workflow Manager vynucuje správné přidružení desky k dávce pomocí masek čárového kódu Venus.	1. Kontrolou umístění desky ověřte, že má deska správné uspořádání. 2. Zkontrolujte, zda je vložená deska správnou deskou pro uvedenou dávku.
Extrakce cfDNA	WE0150	Pressure in the vacuum chamber is too low. (Tlak ve vakuové komoře je příliš nízký.)	Software Workflow Manager nebude pokračovat, pokud snímač ve vakuovém potrubí zjistí klidový tlak nižší než 400 torrů.	1. Podívejte se, zda vakuové potrubí není zauzlováno nebo zda v něm nejsou jiné překážky. 2. Otevřete uvolňovací spony odpadního potrubí, uvolněte tlak a zcela zavřete uvolňovací spony potrubí. 3. Zkontrolujte, zda je zapnutý regulátor vakua a pumpa. 4. Pokud potíže trvají, obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina.

Krok procesu	Kód chyby	Chybová zpráva	Popis	Uživatelské řešení
	WE0153	Pressure in the vacuum chamber is too high. (Tlak ve vakuové komoře je příliš vysoký.)	Pokud je před zahájením regulace tlaku změřen příliš vysoký tlak vakua, může jít o poruchu systému.	Všechny vakuové spojky a hadice na zadní části regulátoru musí být řádně připojeny.
	WE0996	Vacuum failed to seal. (Utěsnění vakuem selhalo.)	Systému se nezdařilo vytvořit vakuové těsnění na desce pro vazbu.	POZNÁMKA: Neklikejte na tlačítko OK, dokud není zcela odstraněna porucha utěsnění. 1. Zkontrolujte, zda je vazebná deska zarovnána s vakuovým sběrným potrubím. S nasazenou rukavicí silou zatlačte na vazebnou desku. 2. Kliknutím na OK pokračujte v extrakci cfDNA. 3. Pokud se tato chybová zpráva zobrazí více než třikrát během jednoho běhu, kontaktujte e-mailem technickou podporu společnosti Illumina.
	WM0219	If Vacuum is on, manually rest the pump. (Pokud je zapnuto vakuum, ručně vypněte pumpu.)	Vakuum může zůstat zapnuto po přerušení metody během extrakce.	1. Stisknutím vypínače na regulátoru vakua vypněte vakuum. 2. Počkejte 10 sekund a následně stisknutím vypínače opět zapněte vakuum.
	EE0477	An error has occurred while moving a plate. (Při pohybu desky došlo k chybě.) (iSWAP error) (Chyba iSWAP)	Došlo k chybě iSWAP (pád desky, neúspěšné uchopení atd.). Systém požádá uživatele o dokončení pohybu desky ručně.	Zkontrolujte, zda lze desku znovu použít (nesmí na ní být rozlitý materiál). - Pokud ji použít nelze, přerušte běh. - Pokud ji použít lze, podle zobrazených pokynů dokončete přenos desky ručně.
	EE0519	Scanned barcode does not match binding plate barcode on record. (Naskenovaný čárový kód neodpovídá čárovému kódu vazebné desky v záznamu.)	Vložená vazebná deska neodpovídá čárovému kódu vyjmuté vazebné desky.	Zajistěte, aby vkládaná deska odpovídala zaznamenanému čárovému kódu (viz protokol sledování pro očekávaný čárový kód).
API	EA0372	Unable to connect to data server. (Nelze se připojit k datovému serveru.)	Místní server VeriSeq neodpovídá na datové požadavky softwaru Workflow Manager.	Zkontrolujte splnění následujících podmínek: 1. Systém ML STAR je připojen k síti. 2. Systém ML STAR se může připojit k místnímu serveru VeriSeq (odesláním příkazu Ping). 3. Místní server VeriSeq je zapnutý.
	EA0774	Connection Error The API server connection failed to validate. (Chyba připojení. Nepodařilo se ověřit připojení k serveru API.)	Místní server VeriSeq přestal reagovat na datové požadavky softwaru Workflow Manager.	Zkontrolujte splnění následujících podmínek: 1. Systém ML STAR je připojen k síti. 2. Systém ML STAR se může připojit k místnímu serveru VeriSeq (odesláním příkazu Ping). 3. Místní server VeriSeq je zapnutý.
	EA0780	403: Invalid Request The current transaction is not valid. (Neplatný požadavek. Aktuální transakce není platná.)	Odeslaná data porušují logiku pracovního postupu systému.	Další informace naleznete v podrobnostech o chybě. Mezi běžné příčiny této chyby patří zadané hodnoty, které jsou příliš dlouhé nebo které obsahují nepovolené znaky.

Odkazy

- 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. Chem. Biochem.* 2013;46: 1561–1565. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2013.06.002.

Patenty a ochranné známky

Tento dokument a jeho obsah je vlastnictvím společnosti Illumina, Inc. a jejích přidružených společností (dále jen „Illumina“). Slouží výlučně zákazníkovi ke smluvním účelům v souvislosti s použitím zde popsaných produktů a k žádnému jinému účelu. Tento dokument a jeho obsah nesmí být používán ani šířen za žádným jiným účelem ani jinak sdělován, zveřejňován či rozmnožován bez předchozího písemného souhlasu společnosti Illumina. Společnost Illumina nepředává tímto dokumentem žádnou licenci na svůj patent, ochrannou známku, autorské právo či práva na základě zvykového práva ani žádná podobná práva třetích stran.

Pokyny v tomto dokumentu musí být důsledně a výslovně dodržovány kvalifikovaným a řádně proškoleným personálem, aby bylo zajištěno správné a bezpečné používání zde popsaných produktů. Veškerý obsah tohoto dokumentu musíte před použitím takových produktů beze zbytku přečíst a pochopit.

NEDODRŽENÍ POŽADAVKU NA PŘEČTENÍ CELÉHO TEXTU A NEDŮSLEDNÉ DODRŽOVÁNÍ ZDE UVEDENÝCH POKYNŮ MŮŽE VÉST K POŠKOZENÍ PRODUKTŮ, PORANĚNÍ OSOB, AŽ UŽ UŽIVATELŮ ČI JINÝCH OSOB, A POŠKOZENÍ JINÉHO MAJETKU A POUVEDE KE ZNEPLATNĚNÍ JAKÉKOLI ZÁRUKY VZTAHUJÍCÍ SE NA PRODUKT.

SPOLEČNOST ILLUMINA NA SEBE NEBERE ŽÁDNOU ODPOVĚDNOST VYPLÝVAJÍCÍ Z NESPRÁVNÉHO POUŽITÍ ZDE POPSANÝCH PRODUKTŮ (VČETNĚ DÍLŮ TĚCHTO PRODUKTŮ NEBO SOFTWARE).

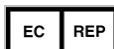
© 2020 Illumina, Inc. Všechna práva vyhrazena.

Všechny ochranné známky jsou vlastnictvím společnosti Illumina, Inc. nebo jejich příslušných vlastníků. Informace o konkrétních ochranných známkách naleznete na adrese www.illumina.com/company/legal.html.

Kontaktní údaje



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, Kalifornie 92122 U.S.A.
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (mimo Severní Ameriku)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Freddy van Riemsdijkweg 15
5657 EE Eindhoven
Nizozemsko



Australský sponzor

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

Štítky na produktech

Úplné reference k symbolům, které se mohou objevit na balení a označení produktu, naleznete v klíči symbolů na adrese support.illumina.com na kartě *Documentation and Literature* (Dokumentace a literatura) příslušné sady.