

# Tờ thông tin sản phẩm VeriSeq NIPT Solution v2

DÙNG CHO CHẨN ĐOÁN TRONG ỐNG NGHIỆM

## Mục đích sử dụng

VeriSeq NIPT Solution v2 là thử nghiệm chẩn đoán *trong ống nghiệm* nhằm mục đích sử dụng như một thử nghiệm sàng lọc để phát hiện các dị tật di truyền của thai nhi trên toàn bộ hệ gen từ các mẫu máu toàn phần ngoại vi của người mẹ ở phụ nữ mang thai ít nhất 10 tuần tuổi thai. VeriSeq NIPT Solution v2 sử dụng phương pháp giải trình tự toàn bộ hệ gen để phát hiện các trường hợp lặp đoạn và mất đoạn một phần đối với tất cả nhiễm sắc thể thường và trạng thái đột biến dị bội của mọi nhiễm sắc thể. Thử nghiệm này đưa ra tùy chọn yêu cầu báo cáo về đột biến dị bội nhiễm sắc thể giới tính (SCA). Không được sử dụng sản phẩm này làm cơ sở duy nhất để chẩn đoán hoặc đưa ra các quyết định khác về quản lý thai kỳ.

VeriSeq NIPT Solution v2 bao gồm: VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 cho VeriSeq NIPT Microlab STAR, các Bộ kit VeriSeq NIPT Sample Prep và VeriSeq Onsite Server v2 cài Phần mềm xét nghiệm VeriSeq NIPT v2. Mục đích sử dụng của VeriSeq NIPT Solution v2 là kết hợp với thiết bị giải trình tự thế hệ mới.

## Tóm tắt và giải thích về xét nghiệm

Những bất thường về nhiễm sắc thể ở thai nhi, cụ thể là số lượng nhiễm sắc thể bất thường được biết đến như đột biến dị bội, là nguyên nhân phổ biến gây vô sinh, dị tật bẩm sinh, chậm phát triển và thiếu năng trí tuệ. Đột biến dị bội ảnh hưởng đến khoảng 1 trong 300 trẻ sinh ra đang sống, và tỷ lệ này cao hơn hẳn ở các trường hợp sảy thai và thai chết lưu.<sup>1,2</sup> Cho đến gần đây, có hai loại xét nghiệm trước sinh cho những rối loạn này: xét nghiệm chẩn đoán hoặc sàng lọc. Xét nghiệm chẩn đoán bao gồm các thủ thuật xâm lấn như chọc dò màng ối qua bụng hoặc sinh thiết gai nhau. Các phương pháp xét nghiệm này được coi là tiêu chuẩn vàng trong việc phát hiện đột biến dị bội ở thai nhi. Tuy nhiên, các phương pháp này đi kèm nguy cơ sảy thai từ 0,11% đến 0,22%.<sup>3</sup> Sàng lọc đa chất chỉ điểm thông thường không có nguy cơ gây sảy thai vì không xâm lấn, nhưng kém chính xác hơn xét nghiệm chẩn đoán. Tỷ lệ phát hiện thể tam nhiễm 21 dao động trong khoảng 69–96% tùy theo loại sàng lọc, tuổi người mẹ và tuổi thai cụ thể khi xét nghiệm.<sup>4</sup> Điều quan trọng là các phương pháp này có tỷ lệ dương tính giả khoảng 5%, từ đó có thể dẫn đến xét nghiệm chẩn đoán xâm lấn để xác nhận và kéo theo nguy cơ sảy thai liên quan đến thủ thuật.<sup>4</sup> Sàng lọc siêu âm cũng có thể phát hiện các bất thường về nhiễm sắc thể, nhưng độ chắc chắn còn thấp hơn các phương pháp khác.

Đột biến dị bội của thai nhi đối với các nhiễm sắc thể 21, 18, 13, X và Y có thể được phát hiện với độ chính xác cao qua xét nghiệm trước sinh không xâm lấn (NIPT) bằng cách giải trình tự toàn bộ hệ gen của DNA ngoại bào (cfDNA) thu được từ huyết tương của người mẹ ở thời điểm thai 10 tuần tuổi trở lên. Một phân tích tổng hợp gần đây từ nhiều nghiên cứu lâm sàng đã cho thấy tính đặc hiệu và tỷ lệ phát hiện đã gộp nhóm có trọng số của thể tam nhiễm 21 và thể tam nhiễm 18 trong các trường hợp thai đơn lần lượt như sau: 99,7% và 99,96% ở thể tam nhiễm 21 và 97,9% và 99,96% ở thể tam nhiễm 18.<sup>5</sup> Theo đề xuất của một nghiên cứu, việc sử dụng NIPT làm phương pháp sàng lọc chính trong tất cả trường hợp mang thai có thể làm giảm 89% số thủ thuật xâm lấn phục vụ mục đích xác nhận.<sup>6</sup>

Với tỷ lệ dương tính giả của NIPT giảm đáng kể so với phương pháp sàng lọc đa chất chỉ điểm thông thường, nhiều tổ chức y tế chuyên nghiệp đã đưa ra tuyên bố về quan điểm ủng hộ một số chỉ định sử dụng NIPT.

Cụ thể, Hiệp hội Chẩn đoán trước sinh quốc tế, Hiệp hội Sản phụ khoa Hoa Kỳ (ACOG)/Hiệp hội Y học cho bà mẹ và thai nhi (SMFM), Hiệp hội Di truyền và bộ gen y học Hoa Kỳ (ACMG) và Hiệp hội Di truyền học ở người tại châu Âu/Hiệp hội Di truyền học ở người tại Hoa Kỳ ủng hộ việc cung cấp NIPT cho tất cả phụ nữ mang thai.<sup>7,8,9</sup> Thai phụ nên được tư vấn trước khi xét nghiệm, chấp thuận có hiểu biết và xét nghiệm chẩn đoán để xác nhận kết quả sàng lọc cfDNA dương tính.<sup>4</sup>

VeriSeq NIPT Solution v2 là một xét nghiệm chẩn đoán trong ống nghiệm (IVD) không xâm lấn sử dụng phương pháp giải trình tự toàn bộ hệ gen của các phân đoạn cfDNA lấy từ mẫu máu toàn phần ngoại vi của phụ nữ mang thai ít nhất 10 tuần tuổi thai. Xét nghiệm này cung cấp hai tùy chọn về loại sàng lọc: cơ bản và toàn bộ hệ gen. Loại sàng lọc cơ bản chỉ cung cấp thông tin về tình trạng đột biến dị bội của các nhiễm sắc thể 21, 18, 13, X và Y.

Loại sàng lọc toàn bộ hệ gen cung cấp thông tin về các trường hợp lặp đoạn và mất đoạn một phần cho tất cả nhiễm sắc thể thường và tình trạng đột biến dị bội của mọi nhiễm sắc thể. Cả hai loại sàng lọc đều cung cấp tùy chọn báo cáo đột biến dị bội nhiễm sắc thể giới tính (SCA) kèm theo hoặc không kèm theo báo cáo giới tính thai nhi. Bạn có thể tắt tùy chọn báo cáo SCA. Nếu bạn tắt tùy chọn báo cáo SCA, giới tính thai nhi cũng sẽ không được báo cáo. Để biết thêm thông tin về tùy chọn báo cáo giới tính, tham khảo *Hướng dẫn về phần mềm VeriSeq NIPT Solution v2 (số tài liệu 100000067940)*.

## Nguyên tắc của quy trình

VeriSeq NIPT Solution v2 là một giải pháp tự động để thử nghiệm NIPT trong phòng thí nghiệm, bao gồm quá trình chuẩn bị mẫu tự động và phân tích dữ liệu giải trình tự. Bộ kit VeriSeq NIPT Sample Prep là thuốc thử chuyên dụng dùng một lần được sử dụng cùng với VeriSeq NIPT Microlab STAR để chuẩn bị các đợt 24, 48 hoặc 96 mẫu nhằm giải trình tự thế hệ mới. Phần mềm xét nghiệm VeriSeq NIPT v2 chuyên dụng phân tích dữ liệu giải trình tự kết đôi toàn bộ hệ gen và tạo báo cáo cung cấp kết quả định tính.

Quy trình công việc bao gồm các quy trình sau: lấy mẫu, tách huyết tương, tách chiết cfDNA, chuẩn bị thư viện, định lượng thư viện, gộp nhóm thư viện, giải trình tự và phân tích. Chi tiết cụ thể hơn như sau:

- ▶ **Lấy mẫu**—7–10 ml máu toàn phần ngoại vi của người mẹ được thu thập trong Ống lấy máu (BCT) DNA ngoại bào Streck, giúp ngăn ngừa sự ly giải tế bào và nhiễm bẩn hệ gen đồng thời ổn định máu toàn phần.
- ▶ **Tách huyết tương**—Trong vòng 5 ngày kể từ ngày lấy máu, huyết tương được tách từ máu toàn phần ngoại vi của người mẹ bằng kỹ thuật ly tâm tiêu chuẩn. VeriSeq NIPT Microlab STAR hút và nhả huyết tương vào một khay giếng sâu 96 giếng để xử lý tiếp. Trong trường hợp yêu cầu thử nghiệm lại, các mẫu sau xử lý có thể được đóng nắp lại và bảo quản ở 4°C thêm 5 ngày (lên tới tổng cộng là 10 ngày sau khi lấy máu).



### THẬN TRỌNG

Việc bảo quản lâu hơn thời gian nói trên có thể tác động tiêu cực đến tỷ lệ lỗi của từng mẫu.

- ▶ **Tách chiết cfDNA**—Việc tinh chế cfDNA từ huyết tương được thực hiện bằng cách hút bám vào khay gắn kết, rửa khay gắn kết để loại bỏ chất gây nhiễm bẩn và rửa giải.
- ▶ **Chuẩn bị thư viện**—Các phân đoạn cfDNA đã tinh chế trải qua quá trình sửa chữa ở đầu để chuyển đổi phần nhô ra 5' và 3' thành đầu bằng. Tiếp theo, một nucleotide deoxyadenosine được thêm vào các đầu 3' để tạo phần nhô ra dài một base duy nhất. Sau đó, các adapter đã lập chỉ thị có chứa phần nhô ra 3' của deoxythymidine dài một base duy nhất được buộc chặt với các phân đoạn cfDNA đã xử lý. DNA đã buộc chặt được tinh chế bằng các hạt cố định ngược pha rắn. Mỗi mẫu trong tập hợp 24, 48 hoặc 96 mẫu đều nhận được một adapter đã lập chỉ thị riêng. Adapter phục vụ 2 mục đích:
  - ▶ Các chỉ thị cho phép xác định mẫu trong quá trình giải trình tự sau đó.
  - ▶ Adapter chỉ thị chứa các trình tự cho phép thu thập thư viện trên bề mặt rắn của tế bào dòng chảy giải trình tự để tạo cụm và giải trình tự sau đó.
- ▶ **Định lượng**—Sản phẩm thư viện được định lượng bằng thuốc nhuộm huỳnh quang có nồng độ được xác định bằng cách so sánh với đường cong tiêu chuẩn DNA.
- ▶ **Gộp nhóm và giải trình tự thư viện**—Các thư viện mẫu được gộp thành các nhóm gộp 24 hoặc 48 mẫu với số lượng được điều chỉnh để giảm thiểu sự biến thiên về phạm vi bao phủ. Sau đó, mỗi nhóm gộp sẽ được giải trình tự bằng thiết bị giải trình tự thế hệ mới.
- ▶ VeriSeq NIPT Solution v2 không bao gồm thiết bị giải trình tự và vật tư tiêu hao.
- ▶ **Phân tích**—Đối với mỗi mẫu, quá trình phân tích bao gồm những hoạt động sau:
  - ▶ Xác định các phân đoạn thư viện theo trình tự chỉ mục và căn chỉnh đoạn đọc kết đôi theo hệ gen tham chiếu của con người.
  - ▶ Ước tính tỷ lệ DNA của thai nhi trong thư viện bằng cách kết hợp thông tin từ sự phân bố cả chiều dài và tọa độ hệ gen của các phân đoạn thư viện.
  - ▶ Sau khi tính toán các sai lệch đã biết, một mô hình thống kê sẽ phát hiện các vùng hệ gen có mức độ đại diện quá ít hoặc quá nhiều trong thư viện theo cách phù hợp với sự bất thường ở mức tỷ lệ DNA ước tính của thai nhi.

- ▶ Báo cáo NIPT cung cấp kết quả tóm tắt cho menu thử nghiệm đã chọn, trong đó kết quả ANOMALY DETECTED (PHÁT HIỆN SỰ BẤT THƯỜNG) hoặc NO ANOMALY DETECTED (KHÔNG PHÁT HIỆN SỰ BẤT THƯỜNG) được liệt kê cùng với tỷ lệ DNA ước tính của thai nhi đối với các mẫu đạt yêu cầu QC.
- ▶ Báo cáo bổ sung cung cấp các số liệu định lượng đặc trưng cho từng điểm bất thường phát hiện được.

## Các giới hạn của quy trình

- ▶ VeriSeq NIPT Solution v2 là một thử nghiệm sàng lọc và bạn không nên xem xét tách biệt với các phát hiện lâm sàng và kết quả thử nghiệm khác. Kết luận về tình trạng thai nhi và các quyết định quản lý thai kỳ không nên chỉ dựa trên kết quả sàng lọc NIPT.<sup>7</sup>
- ▶ VeriSeq NIPT Solution v2 báo cáo các nội dung sau:
  - ▶ Quá trình sàng lọc cơ bản kiểm tra mức độ đại diện quá nhiều của các nhiễm sắc thể 13, 18 và 21
  - ▶ Quá trình sàng lọc toàn bộ hệ gen kiểm tra mức độ đại diện quá ít và quá nhiều của tất cả nhiễm sắc thể thường, bao gồm cả trường hợp mất đoạn và lặp đoạn một phần có kích thước tối thiểu 7 Mb.
  - ▶ Trong các trường hợp thai đơn đã chọn Yes (Có) hoặc SCA làm tùy chọn báo cáo giới tính, các trường hợp bất thường về nhiễm sắc thể giới tính sau sẽ được báo cáo: XO, XXX, XXY và XYY.
  - ▶ Trong các trường hợp thai đơn đã chọn Yes (Có) làm tùy chọn báo cáo giới tính, giới tính thai nhi sẽ được báo cáo.
  - ▶ Sự xuất hiện của nhiễm sắc thể Y ở trường hợp thai đôi.
- ▶ Bảng chứng chứng minh độ nhạy và tính đặc hiệu của thử nghiệm bao gồm các trường hợp thai đơn và thai đôi. Các hướng dẫn sử dụng này không cung cấp dữ liệu về độ nhạy hoặc tính đặc hiệu cho các trường hợp sinh ba hoặc mang thai bậc cao hơn.
- ▶ VeriSeq NIPT Solution v2 không nhằm mục đích phát hiện thể đa bội, chẳng hạn như thể tam bội.
- ▶ VeriSeq NIPT Solution v2 không nhằm mục đích phát hiện sự tái cấu trúc nhiễm sắc thể cân bằng.
- ▶ Xét nghiệm yêu cầu mẫu máu toàn phần ngoại vi của người mẹ từ phụ nữ mang thai ít nhất 10 tuần tuổi thai.
- ▶ Đối với quá trình sàng lọc cơ bản, thử nghiệm VeriSeq NIPT Solution v2 tìm kiếm các trường hợp bất thường về nhiễm sắc thể cụ thể. Các kết quả được báo cáo là NO ANOMALY DETECTED (KHÔNG PHÁT HIỆN SỰ BẤT THƯỜNG) không loại trừ khả năng các nhiễm sắc thể đã thử nghiệm có sự bất thường. Kết quả âm tính không loại trừ khả năng thai kỳ có sự bất thường về nhiễm sắc thể, tình trạng di truyền hoặc dị tật bẩm sinh khác (ví dụ: khuyết tật ống thần kinh hở).
- ▶ Đối với quá trình sàng lọc toàn bộ hệ gen, vùng mất đoạn và lặp đoạn lớn có kích thước nhỏ hơn 75% kích thước nhiễm sắc thể có thể là dấu hiệu của đột biến dị bội toàn bộ nhiễm sắc thể.
- ▶ Khi sàng lọc toàn bộ hệ gen, một số vùng nhất định sẽ bị loại trừ khỏi quá trình phân tích. Danh sách các vùng nằm trong danh sách đen này có trên trang web Hỗ trợ của Illumina. Việc phát hiện sự bất thường ở hệ gen chỉ được thực hiện trên các vùng không bị loại trừ.
- ▶ Việc báo cáo giới tính thai nhi chỉ được thực hiện cho một số vùng do các quy định của địa phương về quản lý việc báo cáo giới tính.
- ▶ Kết quả thử nghiệm có thể bị nhầm lẫn bởi một số yếu tố của người mẹ và thai nhi, bao gồm nhưng không giới hạn ở những yếu tố sau:
  - ▶ Hoạt động truyền máu gần đây của người mẹ
  - ▶ Hoạt động ghép tạng của người mẹ
  - ▶ Hoạt động phẫu thuật của người mẹ
  - ▶ Miễn dịch trị liệu hoặc trị liệu tế bào gốc của người mẹ
  - ▶ U ác tính của người mẹ
  - ▶ Thể khảm của người mẹ
  - ▶ Thể khảm của nhau thai
  - ▶ Thai chết lưu
  - ▶ Thai đôi không có khả năng sống

## Thành phần sản phẩm

VeriSeq NIPT Solution v2 (mã bộ phận 20030577) bao gồm các bộ kit chuẩn bị mẫu sau:

- ▶ Bộ kit VeriSeq NIPT Sample Prep (24 mẫu) (mã bộ phận 20025895)
- ▶ Bộ kit VeriSeq NIPT Sample Prep (48 mẫu) (mã bộ phận 15066801)
- ▶ Bộ kit VeriSeq NIPT Sample Prep (96 mẫu) (mã bộ phận 15066802)

VeriSeq NIPT Solution v2 (mã bộ phận 20030577) bao gồm các thành phần phần mềm sau:

- ▶ Phần mềm xét nghiệm VeriSeq NIPT v2 (mã bộ phận 20047024), được cài đặt sẵn trên VeriSeq Onsite Server v2
  - ▶ VeriSeq Onsite Server v2 (mã bộ phận 20028403 hoặc 20047000) hoặc VeriSeq Onsite Server hiện có (mã bộ phận 15076164 hoặc mã bộ phận 20016240) đã nâng cấp lên v2
- ▶ VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 (mã bộ phận 20044988), được cài đặt sẵn trên VeriSeq NIPT Microlab STAR
  - ▶ VeriSeq NIPT Microlab STAR (mã bộ phận Hamilton Company tại Reno: 95475-01 (115V) & 95475-02 (230V), Hamilton Company tại Bonaduz: 806288)
- ▶ Mô-đun Local Run Manager (Trình quản lý lượt chạy cục bộ) của VeriSeq NIPT (mã bộ phận 20044989)

## Thuốc thử

### Các thuốc thử được cung cấp

Illumina cung cấp các loại thuốc thử sau: Bộ kit VeriSeq NIPT Sample Prep (24 mẫu) (mã bộ phận 20025895), Bộ kit VeriSeq NIPT Sample Prep (48 mẫu) (mã bộ phận 15066801) và Bộ kit VeriSeq NIPT Sample Prep (96 mẫu) (mã bộ phận 15066802). Các bộ kit VeriSeq NIPT Sample Prep được định cấu hình để sử dụng với ML STAR (mã bộ phận 95475-01, 95475-02 hoặc 806288) do Hamilton Company cung cấp.

### VeriSeq NIPT Sample Prep, Hộp tách chiết

Bảng 1 Hộp tách chiết VeriSeq NIPT (24) và (48), Mã bộ phận 20025895 và 15066803

Tên thuốc thử trên nhãn	Số dụng cụ chứa trong bộ kit	Thành phần hoạt tính	Bảo quản
Dung dịch đệm ly giải	1	Guanidine hydrochloride trong dung dịch nước đệm	15°C đến 30°C
Dung dịch đệm rửa I	1	Guanidine hydrochloride và 2-propanol trong dung dịch nước đệm	15°C đến 30°C
Dung dịch đệm rửa II	1	Dung dịch nước đệm có chứa muối	15°C đến 30°C
Dung dịch đệm rửa giải	1	Dung dịch nước đệm	15°C đến 30°C
Dung dịch đệm proteinase	1	Glycerol trong dung dịch nước đệm	15°C đến 30°C
Proteinase K	3	Proteinase K khô lạnh	15°C đến 30°C

Bảng 2 Hộp tách chiết VeriSeq NIPT (96), Mã bộ phận 15066807

Tên thuốc thử trên nhãn	Số dụng cụ chứa trong bộ kit	Thành phần hoạt tính	Bảo quản
Dung dịch đệm ly giải	1	Guanidine hydrochloride trong dung dịch nước đệm	15°C đến 30°C
Dung dịch đệm rửa I	1	Guanidine hydrochloride và 2-propanol trong dung dịch nước đệm	15°C đến 30°C
Dung dịch đệm rửa II	2	Dung dịch nước đệm có chứa muối	15°C đến 30°C

Tên thuốc thử trên nhãn	Số dụng cụ chứa trong bộ kit	Thành phần hoạt tính	Bảo quản
Dung dịch đệm rửa giải	1	Dung dịch nước đệm	15°C đến 30°C
Dung dịch đệm proteinase	1	Glycerol trong dung dịch nước đệm	15°C đến 30°C
Proteinase K	4	Proteinase K khô lạnh	15°C đến 30°C

## VeriSeq NIPT Sample Prep, Hộp chuẩn bị thư viện

Bảng 3 Hộp chuẩn bị thư viện VeriSeq NIPT (24) và (48), Mã bộ phận 20026030 và 15066809

Tên thuốc thử trên nhãn	Số dụng cụ chứa trong bộ kit	Thành phần hoạt tính	Bảo quản
Hỗn hợp sửa chữa ở đầu	1	DNA polymerase và dNTP trong dung dịch nước đệm	-25°C đến -15°C
Hỗn hợp bổ sung đuôi poly A	1	DNA polymerase và dATP trong dung dịch nước đệm	-25°C đến -15°C
Hỗn hợp buộc thắt	1	DNA ligase trong dung dịch nước đệm	-25°C đến -15°C
Dung dịch đệm lai	1	Dung dịch nước đệm	-25°C đến -15°C
Khay adapter DNA VeriSeq NIPT	1	Oligonucleotide trong dung dịch nước đệm	-25°C đến -15°C

Bảng 4 Hộp chuẩn bị thư viện VeriSeq NIPT (96), Mã bộ phận 15066810

Tên thuốc thử trên nhãn	Số dụng cụ chứa trong bộ kit	Thành phần hoạt tính	Bảo quản
Hỗn hợp sửa chữa ở đầu	1	DNA polymerase và dNTP trong dung dịch nước đệm	-25°C đến -15°C
Hỗn hợp bổ sung đuôi poly A	2	DNA polymerase và dATP trong dung dịch nước đệm	-25°C đến -15°C
Hỗn hợp buộc thắt	2	DNA ligase trong dung dịch nước đệm	-25°C đến -15°C
Dung dịch đệm lai	1	Dung dịch nước đệm	-25°C đến -15°C
Khay adapter DNA VeriSeq NIPT	1	Oligonucleotide trong dung dịch nước đệm	-25°C đến -15°C

## VeriSeq NIPT Sample Prep, Hộp phụ kiện

Bảng 5 Hộp phụ kiện VeriSeq NIPT, Mã bộ phận 15066811

Tên thuốc thử trên nhãn	Số dụng cụ chứa trong bộ kit	Thành phần hoạt tính	Bảo quản
Khay Gắn kết DNA	1	Khay vi thể propylene có màng silicon đã điều chỉnh	2°C đến 8°C
Dung dịch đệm tái huyền phù	1	Dung dịch nước đệm	2°C đến 8°C
Hạt tinh chế mẫu	1	Hạt thuận từ pha rắn trong dung dịch nước đệm	2°C đến 8°C
Thuốc thử định lượng DNA	1	Thuốc nhuộm cài xen DNA trong DMSO	2°C đến 8°C
Tiêu chuẩn định lượng DNA	1	Tiêu chuẩn dsDNA trong dung dịch nước đệm	2°C đến 8°C

## VeriSeq NIPT Sample Prep, Ống và nhãn quy trình công việc

Bảng 6 Ống và nhãn quy trình công việc, Mã bộ phận 15071543

Tên vật phẩm trên nhãn	Số vật phẩm trong bộ kit	Bảo quản
Nhãn (LBL)–Mã vạch khay	9	15°C đến 30°C
Nhãn (LBL)–Mã vạch khay giếng sâu	12	15°C đến 30°C
Ống (TB)–Ống gộp nhóm rỗng	5	15°C đến 30°C

### Các thuốc thử không được cung cấp

#### Các thuốc thử cần tự chuẩn bị chứ không được cung cấp

- ▶ Thuốc thử và vật tư tiêu hao giải trình tự cần thiết cho hệ thống giải trình tự thế hệ mới (NGS)
- ▶ Nước không có DNase/RNase
- ▶ Ethanol, 100% (200 proof) cấp sinh học phân tử



#### LƯU Ý

Ethanol không phải cấp sinh học phân tử có thể tác động tiêu cực đến hiệu suất xét nghiệm.

#### Các thuốc thử không bắt buộc, không được cung cấp

- ▶ Nước muối đệm photphat của Dulbecco (DPBS) cho chứng không có khuôn (NTC)

### Bảo quản và xử lý

- 1 Nhiệt độ phòng là khoảng nhiệt độ từ 15°C đến 30°C.
- 2 Tất cả thuốc thử đều là thuốc thử sử dụng một lần. Phải sử dụng thuốc thử ngay sau khi chuẩn bị.
- 3 Nếu bất kỳ bao bì hoặc thành phần nào trong các bộ phận của VeriSeq NIPT Solution bị hỏng hoặc không còn nguyên vẹn, vui lòng liên hệ với Dịch vụ khách hàng của Illumina.
- 4 Thuốc thử ổn định khi được bảo quản theo chỉ định đến ngày hết hạn đã ghi trên nhãn bộ kit. Để biết điều kiện bảo quản, xem cột Bảo quản trong các bảng ở phần *Các thuốc thử được cung cấp trên trang 4*. Không sử dụng thuốc thử hết hạn.
- 5 Những thay đổi về hình thức bên ngoài của thuốc thử được cung cấp có thể cho thấy dấu hiệu vật liệu bị hư hỏng. Nếu có các thay đổi về hình thức bên ngoài (ví dụ: màu sắc của thuốc thử thay đổi rõ ràng hoặc thuốc thử bị vẩn đục rõ ràng do nhiễm vi sinh vật), không được sử dụng thuốc thử.
- 6 Làm theo các biện pháp tối ưu sau đây khi xử lý Hạt tinh chế máu:
  - ▶ Tuyệt đối không cấp đông hạt.
  - ▶ Để hạt đạt nhiệt độ phòng trước khi sử dụng.
  - ▶ Trộn xoáy hạt cho đến khi huyền phù kỹ và màu sắc đồng nhất ngay trước khi sử dụng.
- 7 Dung dịch đệm ly giải, Dung dịch đệm rửa I, Dung dịch đệm rửa II, Dung dịch đệm rửa giải và Dung dịch đệm proteinase có thể tạo thành kết tủa hoặc tinh thể nhìn thấy được. Trước khi sử dụng, hãy trộn xoáy mạnh rồi kiểm tra bằng mắt thường để đảm bảo không có kết tủa.
- 8 Tuyệt đối không cấp đông máu toàn phần sau khi lấy máu.
- 9 Giải trình tự thư viện sớm nhất có thể sau khi gộp nhóm. Các thư viện đã gộp nhóm ổn định trong tối đa 7 ngày ở nhiệt độ từ -25°C đến -15°C. Không cần biến tính thêm nếu bảo quản trong khoảng thời gian này ở các điều kiện này.

## Thiết bị và vật liệu

### Các thiết bị và vật liệu cần tự chuẩn bị chứ không được cung cấp

#### Những thiết bị cần tự chuẩn bị chứ không được cung cấp

Thiết bị	Nhà cung cấp
Ống pipet đơn kênh 20 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Ống pipet đơn kênh 200 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Ống pipet đơn kênh 1000 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Dụng cụ hỗ trợ pipet	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Tủ lạnh, 2°C đến 8°C	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Tủ đông, -25°C đến -15°C	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Ống ly tâm micro	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Máy trộn xoáy	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
<b>Bộ máy ly tâm và rôto cho ống lấy máu</b>	
Khuyến dùng: <ul style="list-style-type: none"> <li>Máy ly tâm dòng Allegra X12R, 1600 g</li> <li>Rôto máy ly tâm Allegra GH-3.8 có gầu</li> <li>Nắp gầu máy ly tâm Allegra, bộ hai chiếc</li> <li>Bộ adapter máy ly tâm Allegra, 16 mm, bộ bốn chiếc</li> </ul>	Beckman Coulter, số vật phẩm 392304 (120 V hoặc 230 V) Beckman Coulter, số vật phẩm 369704 Beckman Coulter, số vật phẩm 392805 Beckman Coulter, số vật phẩm 359150
Tương đương: <ul style="list-style-type: none"> <li>Máy ly tâm lạnh có thể ly tâm ở tốc độ 1600 × g với tùy chọn không phanh</li> <li>Rôto gầu quay có gầu</li> <li>Chén gầu, dung tích 24, 48 hoặc 96 ống, độ sâu tối thiểu 76 mm</li> <li>Adapter chén để đỡ ống lấy máu 16 x 100 mm</li> </ul>	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
<b>Bộ máy ly tâm và rôto cho khay vi thể</b>	
Khuyến dùng: <ul style="list-style-type: none"> <li>Máy ly tâm Sorvall Legend XTR</li> <li>Rôto khay vi thể HIGHPlate 6000</li> <li>Hai chiếc của một trong các loại để đỡ khay vi thể sau:               <ul style="list-style-type: none"> <li>Để đỡ 96 giếng MicroAmp</li> <li>Giá mang khay PCR 96 giếng</li> </ul> </li> </ul>	Thermo Fisher Scientific, số danh mục 75004521 (120 V) hoặc số danh mục 75004520 (230 V) Thermo Fisher Scientific, số danh mục 75003606 Thermo Fisher Scientific, số danh mục 4379590 Thermo Fisher Scientific, số danh mục AB-0563/1000
Tương đương: <ul style="list-style-type: none"> <li>Máy ly tâm có thể ly tâm ở tốc độ 5600 × g</li> <li>Rôto khay quay có giá mang khay 96 giếng, độ sâu tối thiểu 76,5 mm</li> <li>Để đỡ khay vi thể</li> </ul>	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Một trong các thiết bị đọc khay vi thể (hình ảnh quang kế) sau, cài đặt phần mềm SoftMax Pro v6.2.2 trở lên: <ul style="list-style-type: none"> <li>Gemini XPS</li> <li>SpectraMax M2</li> </ul>	Molecular Devices, mã bộ phận XPS Molecular Devices, mã bộ phận # M2
USB tốc độ cao SpectraMax, adapter nối tiếp	Molecular Devices, mã bộ phận 9000-0938

Thiết bị	Nhà cung cấp
<p>Máy luân nhiệt có thông số kỹ thuật như sau:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Nắp đậy gia nhiệt</li> <li>Khoảng nhiệt độ từ 4°C đến 98°C</li> <li>Độ chính xác về nhiệt độ <math>\pm 2^\circ\text{C}</math></li> <li>Tốc độ thay đổi tối thiểu 2°C/giây</li> <li>Tương thích với Khay PCR Twin.tec 96 giếng, gờ đầy đủ</li> </ul>	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
VeriSeq NIPT Microlab STAR	Hamilton, mã bộ phận 95475-01 (115 V), mã bộ phận 95475-02 (230 V) hoặc mã bộ phận 806288 (đối với Hamilton Company tại Bonaduz)
<p>Hệ thống giải trình tự thế hệ mới (NGS) có các chức năng sau:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Giải trình tự kết đôi 2 x 36 bp</li> <li>Tương thích với các adapter chỉ thị kép của Bộ kit VeriSeq NIPT Sample Prep</li> <li>Tự động tạo tệp .BCL</li> <li>Hóa học hai kênh</li> <li>400 triệu đoạn đọc kết đôi mỗi lần chạy</li> <li>Tương thích với Phần mềm xét nghiệm VeriSeq NIPT v2 hoặc Hệ thống giải trình tự NextSeq 550Dx.</li> </ul>	Nhà cung cấp thiết bị hoặc Illumina, mã bộ phận 20005715
<p>Nếu sử dụng Hệ thống giải trình tự NextSeq 550Dx:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Bộ kit thuốc thử hiệu suất cao NextSeq 550Dx v2.5, 75 chu kỳ</li> </ul>	Illumina, mã bộ phận 20028870
VeriSeq Onsite Server v2 hoặc VeriSeq Onsite Server đã nâng cấp	Illumina, mã bộ phận 20028403 hoặc 20047000 (v2) hoặc mã bộ phận 15076164 hoặc mã bộ phận 20016240 (đã nâng cấp)

### Thiết bị không bắt buộc, không được cung cấp

Thiết bị	Nhà cung cấp
Hệ thống mở nắp Pluggo	LGP Consulting, mã bộ phận 4600 4450
Khay xác thực huỳnh quang SpectraMax SpectraTest FL1	Molecular Devices, mã bộ phận 0200-5060
Bộ quay/xoay ống, ống 15 ml, 40 vòng/phút, 100–240 V	Thermo Scientific, số danh mục 88881001 (Hoa Kỳ) hoặc số danh mục 88881002 (châu Âu)

### Các vật liệu cần tự chuẩn bị chứ không được cung cấp

Vật tư tiêu hao	Nhà cung cấp
Đầu lọc không tiết trùng dẫn truyền 1000 $\mu\text{l}$	Hamilton, mã bộ phận 235905
Đầu lọc không tiết trùng dẫn truyền 300 $\mu\text{l}$	Hamilton, mã bộ phận 235903
Đầu lọc không tiết trùng dẫn truyền 50 $\mu\text{l}$	Hamilton, mã bộ phận 235948
<p>Ngăn chứa giếng sâu có thông số kỹ thuật như sau:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Khuôn dạng khay vi thể SLAS 1-2004 có 96 giếng đáy hình kim tự tháp hoặc hình nón và dung tích tối thiểu 240 ml.</li> <li>Polypropylene ưu tiên mức gắn kết DNA thấp cho tất cả các bề mặt tiếp xúc với mẫu.</li> <li>Kích thước bên trong (mức chất lỏng) tương thích với các bước hút và nhả tự động của VeriSeq NIPT Microlab STAR.</li> <li>Kích thước chiều cao tương thích với các chuyển động tự động của VeriSeq NIPT Microlab STAR.</li> </ul>	<p>Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường</p> <p>Ngăn chứa tương thích:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Corning Axygen, mã sản phẩm RES-SW96-HP-SI</li> <li>Agilent, mã sản phẩm 201246-100</li> </ul>



Vật tư tiêu hao	Nhà cung cấp
<p>Bồn thuốc thử có thông số kỹ thuật như sau:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Bồn vừa khít với giá mang của VeriSeq NIPT Microlab STAR có đáy thon và dung tích tối thiểu 20 ml.</li> <li>Polypropylene không có RNase-/DNase.</li> <li>Kích thước bên trong (mức chất lỏng) tương thích với các bước hút và nhà tự động của VeriSeq NIPT Microlab STAR.</li> <li>Kích thước chiều cao tương thích với các chuyển động tự động của VeriSeq NIPT Microlab STAR.</li> </ul>	<p>Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường</p> <p>Các bồn tương thích:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Roche, mã sản phẩm 03004058001</li> </ul>
<p>Khay giếng sâu có thông số kỹ thuật như sau:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Khuôn dạng khay vi thể SLAS 1-2004, 3-2004 và 4-2004 có 96 giếng đáy hình kim tự tháp hoặc hình nón và dung tích giếng tối thiểu 2 ml.</li> <li>Polypropylene ưu tiên mức gắn kết DNA thấp cho tất cả các bề mặt tiếp xúc với mẫu và khung chịu được lực xoắn.</li> <li>Kích thước giếng (mức chất lỏng) tương thích với các bước hút và nhà tự động của VeriSeq NIPT Microlab STAR.</li> <li>Kích thước chiều cao khay tương thích với các chuyển động tự động của VeriSeq NIPT Microlab STAR.</li> </ul>	<p>Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường</p> <p>Các khay tương thích:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Eppendorf, mã bộ phận 0030505301</li> <li>Eppendorf, mã bộ phận 30502302</li> <li>USA Scientific, mã bộ phận 1896-2000</li> </ul>
<p>Khay 384 giếng có thông số kỹ thuật như sau:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Khay vi thể 384 giếng, tối ưu hóa cho thể tích nhỏ, với dung tích giếng tối thiểu 50 µl.</li> <li>Polystyrene có khả năng chắn sáng và mức gắn kết DNA thấp cho tất cả các bề mặt tiếp xúc với mẫu.</li> <li>Kích thước giếng (mức chất lỏng) tương thích với các bước hút và nhà tự động của VeriSeq NIPT Microlab STAR.</li> <li>Kích thước chiều cao khay tương thích với các chuyển động tự động của VeriSeq NIPT Microlab STAR.</li> </ul>	<p>Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường</p> <p>Các khay tương thích:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Corning, mã sản phẩm 3820</li> </ul>
<p>Khay 96 giếng có thông số kỹ thuật như sau:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Khay vi thể có khung chịu được lực xoắn và 96 giếng có đáy thon, gờ nhô cao và dung tích giếng tối thiểu 150 µl.</li> <li>Polypropylene không có RNase-/DNase và có mức gắn kết DNA thấp cho tất cả các bề mặt tiếp xúc với mẫu.</li> <li>Kích thước giếng (mức chất lỏng) tương thích với các bước hút và nhà tự động của VeriSeq NIPT Microlab STAR.</li> <li>Kích thước chiều cao khay tương thích với các chuyển động tự động của VeriSeq NIPT Microlab STAR.</li> </ul>	<p>Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường</p> <p>Các khay tương thích:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Eppendorf, mã bộ phận 0030129512</li> <li>Eppendorf, mã bộ phận 30129580</li> <li>Eppendorf, mã bộ phận 30129598</li> <li>Eppendorf, mã bộ phận 30129660</li> <li>Eppendorf, mã bộ phận 30129679</li> <li>BioRad, mã bộ phận HSP9601</li> </ul>
<p>Một trong các màng dán sau:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Màng nhôm Microseal 'F'</li> <li>Màng dán nhôm</li> </ul>	<p>Bio-Rad, số danh mục MSF1001 Beckman Coulter, số vật phẩm 538619</p>
Ống lấy mẫu máu DNA ngoại bào có nhãn CE	Streck, số danh mục 218997
Nắp đậy	Sarstedt, số đơn hàng 65.802
Ống nắp vận 2 ml	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Đầu lọc 20 µl cho dụng cụ hỗ trợ pipet 20 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Đầu lọc 200 µl cho dụng cụ hỗ trợ pipet 200 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Đầu lọc 1000 µl cho dụng cụ hỗ trợ pipet 1000 µl	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Ống pipet huyết tương 25 ml	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
Ống pipet huyết tương 10 ml	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường
<p>Khuyên dùng:</p> <p>Deconex® SOLARSEPT Deconex® 61 DR</p>	Borer Chemie AG
<p>Tương đương:</p> <p>Dung dịch xịt khử trùng nhanh gốc cồn Dung dịch tẩy khử trùng</p>	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường

## Vật liệu không bắt buộc, không được cung cấp

Vật tư tiêu hao	Nhà cung cấp
Ống, nắp vận, 10 ml (chỉ dành cho mẫu chứng)	Sarstedt, số đơn hàng 60.551
Ống, nắp vận, 50 ml	Nhà cung cấp vật tư phòng thí nghiệm thông thường

## Thu thập, vận chuyển và bảo quản mẫu xét nghiệm



### THẬN TRỌNG

Xử lý tất cả mẫu xét nghiệm như thể đó là tác nhân có khả năng lây nhiễm.

- 1 Phải lấy mẫu máu toàn phần từ 7–10 ml trong BCT DNA ngoại bào Streck.
- 2 Việc vận chuyển máu toàn phần phải tuân thủ toàn bộ quy định quản lý hiện hành về hoạt động vận chuyển các tác nhân gây bệnh. Nên áp dụng phương pháp vận chuyển/giao nhanh.
- 3 Bảo quản ở nhiệt độ từ 4°C đến 30°C trong quá trình vận chuyển. Sau khi nhận được mẫu, bảo quản ở nhiệt độ từ 2°C đến 8°C cho đến khi sẵn sàng tiến hành. Thời gian từ lúc lấy máu đến khi tách huyết tương ban đầu không được quá 5 ngày.
- 4 Trong trường hợp yêu cầu thử nghiệm lại, các mẫu sau xử lý có thể được đóng nắp lại và bảo quản ở 4°C thêm 5 ngày (lên tới tổng cộng là 10 ngày sau khi lấy máu).



### THẬN TRỌNG

Việc bảo quản lâu hơn thời gian nói trên có thể tác động tiêu cực đến tỷ lệ lỗi của từng mẫu.

## Cảnh báo và biện pháp phòng ngừa

- ▶ Xét nghiệm này chứa Proteinase K. Có thể xảy ra thương tích cá nhân nếu hít phải, nuốt phải, tiếp xúc với da và mắt. Sử dụng ở khu vực thông gió tốt, mặc quần áo bảo hộ, tránh hít phải bụi và thải bỏ mọi dụng cụ chứa và thành phần không sử dụng theo các tiêu chuẩn an toàn hiện hành của chính quyền.
- ▶ Xét nghiệm này chứa guanidinium chloride. Có thể xảy ra thương tích cá nhân nếu hít phải, nuốt phải, tiếp xúc với da và mắt. Sử dụng ở khu vực thông gió tốt, mặc quần áo bảo hộ và thải bỏ mọi dụng cụ chứa và thành phần không sử dụng theo các tiêu chuẩn an toàn hiện hành của chính quyền địa phương.
- ▶ Xét nghiệm này chứa 2-propanol, một hóa chất dễ cháy. Để xa nguồn nhiệt và ngọn lửa mở. Có thể xảy ra thương tích cá nhân nếu hít phải, nuốt phải, tiếp xúc với da và mắt. Sử dụng ở khu vực thông gió tốt, mặc quần áo bảo hộ và thải bỏ mọi dụng cụ chứa và thành phần không sử dụng theo các tiêu chuẩn an toàn hiện hành của chính quyền địa phương.
- ▶ Xét nghiệm này chứa dimethyl sulfoxide, một chất lỏng ăn mòn và dễ cháy. Có thể xảy ra thương tích cá nhân nếu hít phải, nuốt phải, tiếp xúc với da và mắt. Sử dụng ở khu vực thông gió tốt, mặc quần áo bảo hộ và thải bỏ mọi dụng cụ chứa và thành phần không sử dụng theo các tiêu chuẩn an toàn hiện hành của chính quyền địa phương.
- ▶ Nhằm ngăn ngừa sự hình thành khí độc hại, không thải bỏ chất thải tách chiết cfDNA (chứa guanidine thiocyanate) với chất thải chứa thuốc tẩy (natri hypochlorit).
- ▶ Xử lý tất cả mẫu xét nghiệm như thể các mẫu đó chứa tác nhân có khả năng lây nhiễm.
- ▶ Sử dụng các biện pháp phòng ngừa thường quy của phòng thí nghiệm. Không dùng pipet bằng miệng. Không ăn uống hoặc hút thuốc trong khu vực làm việc được chỉ định. Đeo găng tay và mặc áo khoác phòng thí nghiệm dùng một lần khi xử lý các mẫu xét nghiệm và thuốc thử xét nghiệm. Rửa tay kỹ càng sau khi xử lý các mẫu xét nghiệm và thuốc thử xét nghiệm.
- ▶ Không sử dụng bất kỳ thành phần xét nghiệm nào khi đã quá ngày hết hạn ghi trên nhãn hộp xét nghiệm. Không trao đổi các thành phần xét nghiệm từ các lô xét nghiệm khác nhau. Các lô xét nghiệm được xác định trên nhãn hộp xét nghiệm. Bảo quản các thành phần xét nghiệm ở nhiệt độ được chỉ định.

- ▶ Để tránh tình trạng suy giảm mẫu hoặc thuốc thử, hãy đảm bảo rằng tất cả hơi natri hypoclorit từ quá trình vệ sinh đã tan hoàn toàn trước khi bắt đầu quy trình.
- ▶ Việc không tuân thủ các quy trình đã nêu có thể dẫn đến kết quả sai hoặc chất lượng mẫu giảm sút đáng kể.
- ▶ Báo cáo ngay mọi sự cố nghiêm trọng liên quan đến sản phẩm này cho Illumina và Cơ quan có thẩm quyền của các quốc gia thành viên nơi người dùng và bệnh nhân cư trú.
- ▶ Để biết thông tin về môi trường, sức khỏe và an toàn, hãy xem bảng dữ liệu an toàn (SDS) tại địa chỉ [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

## Lưu ý về quy trình

### Tránh nhiễm bẩn

- ▶ Sử dụng các đầu và dụng cụ thí nghiệm tiêu hao mới.
- ▶ Sử dụng các đầu chống sol khí để làm giảm nguy cơ tòn đọng và nhiễm bẩn chéo từ mẫu sang mẫu.
- ▶ Do có thể xảy ra hiện tượng nhiễm bẩn, bạn cần hết sức cẩn thận để đảm bảo rằng các thành phần trong giếng vẫn còn đầy đủ trong giếng. Không làm bẩn thành phần. Ly tâm sau mỗi bước trộn xoáy.
- ▶ Tuân thủ các quy định quản lý hiện hành về phương pháp thực hành và vệ sinh thích hợp trong phòng thí nghiệm khi xử lý máu và các dẫn xuất của máu.
- ▶ Không sử dụng thuốc tẩy dạng xịt sol khí khi chuẩn bị thư viện. Việc nhiễm bẩn thuốc tẩy dù chỉ hàm lượng nhỏ cũng có thể dẫn đến lỗi xét nghiệm.

### Làm sạch bộ của VeriSeq NIPT Microlab STAR

- ▶ Trước khi sử dụng, hãy kiểm tra xem bộ có sạch không. Bảo trì hàng tuần và thực hiện các hướng dẫn làm sạch dưới đây ít nhất mỗi tuần một lần.
- ▶ Tháo tất cả giá mang không nạp được và làm sạch bằng dung dịch xịt khử trùng nhanh gốc cồn (Deconex® SOLARSEPT hoặc tương đương) rồi để khô. Nếu các giá mang quá bẩn thì sau khi xịt, hãy ngâm trong dung dịch tẩy rửa khử trùng (dung dịch làm sạch Deconex® 61 DR hoặc tương đương), rửa sạch bằng chất khử trùng gốc cồn, rồi để khô.
- ▶ Mở nắp trước và lau bộ bằng vải thấm Deconex® SOLARSEPT (hoặc tương đương). Đặc biệt, phải kiểm tra các khối trượt xem có sạch không.
- ▶ Tháo ống góp CVS rồi dùng vải lau sạch ống góp, miếng đệm và các khoang bên trong CVS.
- ▶ Đổ hết chất thải bản ở phía đầu CORE 96 đầu và kênh độc lập.
- ▶ Tháo khay đẩy đầu ở kênh độc lập của trạm đầu thải rồi làm sạch: xịt Deconex® SOLARSEPT (hoặc tương đương) trực tiếp lên bề mặt và lau. Trùm một túi nhựa mới lên trên khung và buộc lại. Đặt khay đẩy đầu sạch về vị trí cũ.
- ▶ Xịt trực tiếp Deconex® SOLARSEPT (hoặc tương đương) lên bề mặt hộp đựng và máng chất thải của pipet CORE 96 đầu rồi lau sạch.
  - ▶ Nếu khó loại bỏ chất tích tụ khỏi đầu thải, hãy lau bằng vải ướt thấm nước không có DNase/RNase cho đến khi chất tích tụ được loại bỏ. Thải bỏ miếng vải theo cách thích hợp. Tiến hành tiệt trùng bằng chất khử trùng gốc cồn.
- ▶ Lấy một miếng vải không xơ hoặc tấm bông, thấm ướt bằng ethanol 70%. Lau cửa sổ bộ quét laze của đầu đọc mã vạch. Dùng chính miếng vải hoặc tấm bông đó lau sạch từng giếng của adapter khay CPAC. Nếu sử dụng vải, hãy dùng đầu kia của bút ấn miếng vải vào từng giếng của adapter để đảm bảo làm sạch bên trong giếng đúng cách.
- ▶ Làm sạch các kênh độc lập:
  - ▶ Trên các kênh độc lập, làm sạch ống bọc đẩy đầu (phần bên ngoài của các kênh pipet) bằng vải không xơ ngâm trong Deconex® SOLARSEPT (hoặc tương đương). (Xem *Hướng dẫn tham khảo dành cho Hamilton Microlab STAR số 15070074*.)
  - ▶ Làm sạch đĩa chặn và vòng chữ O của đầu pipet (phần bên ngoài của các kênh pipet) bằng vải không xơ ngâm trong Deconex® SOLARSEPT (hoặc tương đương).

- ▶ Vệ sinh pipet CORE 96 đầu:
  - ▶ Dùng chính miếng vải không xơ đã ngâm trong Deconex® SOLARSEPT (hoặc tương đương) làm sạch vỏ pipet 96 đầu và đáy của đĩa chặn.
  - ▶ Dùng chính miếng vải đó hoặc một mảnh vải xé ngâm trong Deconex® SOLARSEPT (hoặc tương đương) lau giữa các cạnh của kênh pipet trên pipet 96 đầu để làm sạch vòng chữ O. Lặp lại quy trình này đối với mọi kênh pipet trên pipet 96 đầu.
- ▶ Xịt Deconex® SOLARSEPT (hoặc tương đương) lên nắp mặt trước và mặt bên rồi lau khô.
- ▶ Làm sạch Băng bảo vệ nạp tự động bằng một miếng vải đã ngâm trong Deconex® SOLARSEPT (hoặc tương đương) và lau nhẹ nhàng.
- ▶ Thay giá mang khi bệ và các thành phần đã khô hẳn.



#### LƯU Ý

Việc vệ sinh và bảo trì ML STAR không đúng cách có thể dẫn đến tình trạng nhiễm bẩn chéo và làm giảm hiệu suất xét nghiệm.

## Đối chứng chất lượng

Vật liệu chứng có các đặc điểm hiệu suất đã biết có thể được đánh giá để phát hiện sự khác biệt trong quy trình xử lý và kỹ thuật ở phòng thí nghiệm.



#### LƯU Ý

Việc chạy mẫu chứng hoặc chứng không có khuôn sẽ làm giảm tổng số mẫu không xác định của người mẹ mà mỗi bộ kit chuẩn bị mẫu có thể xử lý.

Không sử dụng quá 2 mẫu NTC mỗi đợt 24 hoặc 48 mẫu hay 4 mẫu NTC mỗi đợt 96 mẫu.

## Hướng dẫn sử dụng

### Mẹo và kỹ thuật

Tiến hành ngay bước tiếp theo nếu không có một điểm dừng an toàn được chỉ định trong quy trình.

#### Gắn mã vạch khay

- Mã vạch cho khay có gờ đầy đủ bắt đầu bằng PL.
- Mã vạch cho khay giếng sâu bắt đầu bằng DW.
- Gắn mã vạch cho các khay có gờ đầy đủ và khay giếng sâu ở phía bên cạnh cột 12.
- Nạp khay sao cho mã vạch quay về bên phải để cho phép quét tự động.

#### Gắn và gỡ màng dán khay

- ▶ Luôn dán kín khay 96 giếng trước khi thực hiện các bước sau trong quy trình:
  - ▶ Bước ly tâm
  - ▶ Bước luân nhiệt
- ▶ Để dán kín khay, hãy đặt lớp phủ kết dính lên khay rồi dán kín.
- ▶ Trước khi gỡ màng dán:
  - ▶ Ly tâm nhanh khay 96 giếng ở tốc độ 1000 x g trong 20 giây.
  - ▶ Đặt khay lên bề mặt phẳng trước khi từ từ gỡ màng dán.

## VeriSeq NIPT Microlab STAR

- ▶ Trước khi sử dụng, hãy thực hiện và lập hồ sơ bảo trì cần thiết theo hướng dẫn của nhà sản xuất.
- ▶ Quan sát ML STAR trong các bước tự động. Theo dõi giao diện phần mềm VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 để xem lời nhắc và hướng dẫn dành cho người vận hành.
- ▶ Cố định nắp trước trong quá trình vận hành.
- ▶ Không đặt bất kỳ vật gì lên bề mặt trong quá trình vận hành.
- ▶ Trong các bước hút chân không khay, nếu có lời nhắc từ VeriSeq NIPT Workflow Manager v2, hãy hỗ trợ thao tác hình thành màng dán giữa khay và ống góp chân không theo cách thủ công.
- ▶ Cho phép hệ thống tự động loại bỏ các đầu khởi adapter. Không tự tháo đầu nếu không có lời nhắc từ phần mềm.
- ▶ Loại bỏ thuốc thử và vật tư tiêu hao đã sử dụng theo lời nhắc của Workflow Manager.
- ▶ Đổ hết các bình đựng chất thải chân không hằng ngày. Bình đựng đầu tiên tuyệt đối không được đầy quá nửa. Chất thải chân không tràn ra có thể làm hỏng bơm chân không và làm giảm chân không đã áp dụng trong hệ thống.

## Xử lý mẫu

### Quy trình

- 1 Hoàn thành các bước sau cho mỗi mẫu chia nhỏ:
  - a Ly tâm mẫu đã gắn mã vạch ở tốc độ 1600 × g trong 10 phút ở 4°C khi phanh đang tắt.
  - b Khi máy ly tâm dừng hẳn, hãy lấy các ống mẫu ra.  
Sau khi ly tâm, bắt đầu tách huyết tương trong vòng 15 phút. Ly tâm lại nếu quá 15 phút.
- 2 Kiểm tra từng ống xem mẫu có phù hợp không, bao gồm cả việc xác minh các yếu tố sau:
  - ▶ Thể tích mẫu đúng như dự kiến.
  - ▶ Mẫu được phân tách đúng trong quá trình ly tâm.
  - ▶ Mức huyết tương cao hơn lớp đệm ít nhất 1,5 ml.
  - ▶ Mẫu không bị tan huyết nhiều (tức là huyết tương không có màu đỏ đậm).
  - ▶ Mẫu không bị tăng lipid huyết (ví dụ: huyết tương không có màu trắng đục hoặc màu sữa mờ).
  - ▶ Mẫu không bị đóng cục.



#### THẬN TRỌNG

Các mẫu được bảo quản hoặc xử lý không đúng cách có thể không phù hợp. Nếu được xử lý trong quy trình công việc, mẫu không phù hợp có thể làm tắc khay gắn kết trong quá trình tách chiết, dẫn đến hiện tượng tràn mẫu sang các giếng lân cận.

- 3 Mở nắp các ống và nạp chúng vào các giá mang ống. Nạp tất cả mẫu và mọi chứng huyết tương của đợt.

## Tách huyết tương

### Chuẩn bị

- 1 Ghi nhãn Huyết tương trung gian cho 1 khay giếng sâu và gắn mã vạch.
- 2 Ghi nhãn Huyết tương cuối cùng cho 1 khay giếng sâu và gắn mã vạch.



#### THẬN TRỌNG

Bạn cần sử dụng đúng loại khay cho khay Huyết tương trung gian và khay Huyết tương cuối cùng. Việc sử dụng ngăn chứa giếng sâu thay cho khay giếng sâu sẽ dẫn đến tình trạng trộn lẫn mẫu và có thể cho kết quả không chính xác.

### Quy trình

- 1 Mở AppLauncher, rồi chọn **VeriSeq NIPT Method** (Phương pháp VeriSeq NIPT).

- 2 Nhập ID đợt và tên người dùng, rồi chọn **OK**.  
Giới hạn của ID đợt là 26 ký tự. Chỉ sử dụng số, chữ cái, dấu gạch dưới (\_) hoặc dấu gạch ngang (-).  
Ví dụ: 2025-10-16\_Dot3.
- 3 Chọn **New Batch** (Đợt mới).
- 4 Sau khi khởi tạo, chọn **OK** để bắt đầu tách huyết tương.
- 5 Thực hiện một trong các bước sau:
  - Để nạp bảng thông tin mẫu hiện có mà bạn đã tạo trước đó, hãy chọn bảng thông tin mẫu liên quan đến đợt, rồi chọn **OK**.
  - Để thực hiện mà không chọn bảng thông tin mẫu, chọn **No Sample Sheet** (Không có bảng thông tin mẫu).  
Để biết thông tin về cách tạo bảng thông tin mẫu hoặc đặt giá trị mặc định, hãy xem *Hướng dẫn về phần mềm VeriSeq NIPT Solution v2 (số tài liệu 100000067940)*.



**LƯU Ý**

Loại mẫu, nghĩa là thai đơn hoặc thai đôi, phải được ghi chính xác cho từng mẫu để đảm bảo phân tích dữ liệu chính xác.

Nếu bạn chọn No Sample Sheet (Không có bảng thông tin mẫu), hãy nhớ đặt các giá trị mẫu mặc định trong Service Tools (Công cụ dịch vụ) của Workflow Manager (Trình quản lý quy trình).

- 6 Chọn kích thước đợt, rồi chọn **OK**.
- 7 Chọn số chứng không có khuôn (NTC), rồi chọn **OK**.



**LƯU Ý**

Vị trí NTC luôn là vị trí được chọn cuối cùng. Ví dụ: khi có hai NTC trong một lần chạy 24 mẫu, thì vị trí 23 và 24 là NTC.

- 8 Xác nhận rằng bạn đã gắn tất cả mã vạch, rồi nạp mẫu, đầu và khay (mã vạch hướng về bên phải) lên giá mang. Chọn **OK** sau mỗi lời nhắc nạp.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48, 96	Đầu	7–12	Đầu 1000 µl	5
			Đầu 1000 µl (chỉ dành cho đợt 96)	4, 5
	Ống	15	Ống mẫu máu đã chuẩn bị 1–24 (cho tất cả kích thước đợt)	1–24
	Ống	16	Ống mẫu máu đã chuẩn bị 25–48 (chỉ dành cho kích thước đợt 48 và 96)	25–48
	Ống	17	Ống mẫu máu đã chuẩn bị 49–72 (chỉ dành cho kích thước đợt 96)	49–72
	Ống	18	Ống mẫu máu đã chuẩn bị 73–96 (chỉ dành cho kích thước đợt 96)	73–96
	Multiflex	19–24	Khay giếng sâu trống cho Huyết tương cuối cùng – đã gắn mã vạch	4
	Multiflex	19–24	Khay giếng sâu trống cho Huyết tương trung gian – đã gắn mã vạch	5
	Thuốc thử	47	<b>[Không bắt buộc]</b> DPBS cho chứng không có khuôn	5

- 9 Đảm bảo rằng giá mang, dụng cụ thí nghiệm và thuốc thử được nạp đúng cách, rồi chọn **OK** trên màn hình Pre-Spin Deck Verification (Xác minh bộ trước khi quay).
- 10 Quan sát ML STAR thực hiện các bước tự động.
- 11 Khi có lời nhắc từ Workflow Manager (Trình quản lý quy trình), hãy đảm bảo bộ nạp của ML STAR không có vật cản nào để ML STAR có thể tháo các giá mang.
- 12 Chọn **Unload** (Tháo) để tháo bộ.
- 13 Tháo khay giếng sâu Huyết tương trung gian.
  - a Kiểm tra khay để đảm bảo có thể tích đồng đều trong mỗi giếng (không có lỗi pipet).  
Thể tích dự kiến là 1000 µl.
  - b Lưu ý và ghi lại mọi điểm không đồng nhất khi quá trình Tách huyết tương hoàn tất.

- c Dán kín khay, nạp sao cho cân bằng và ly tâm ở tốc độ 5600 × g trong 10 phút với phanh tắt hoặc bật ở giá trị cài đặt thấp nhất.
- 14 Chọn **Yes** (Có) để chuyển sang bước Plasma Preparation (Chuẩn bị huyết tương) cuối cùng.
- 15 Gỡ màng dán khay và nạp lại khay lên giá mang.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48, 96	Multiflex	19–24	Khay giếng sâu Huyết tương trung gian	5

- 16 Chọn hộp kiểm **Intermediate Plasma plate has been spun** (Đã quay khay Huyết tương trung gian), rồi chọn **OK**.
- 17 Quan sát ML STAR thực hiện các bước tự động.
- 18 Khi có lời nhắc từ Workflow Manager (Trình quản lý quy trình), hãy đảm bảo bộ nạp của ML STAR không có vật cản nào để ML STAR có thể tháo các giá mang.
- 19 Chọn **Unload** (Tháo) để tháo bộ.
- 20 Khi có lời nhắc từ Workflow Manager (Trình quản lý quy trình), hãy làm trống các giá mang và bộ.
- 21 Tháo khay giếng sâu của Huyết tương cuối cùng.
- 22 Kiểm tra khay để xác nhận:
- ▶ Thể tích đồng đều trong mỗi giếng. Thể tích dự kiến là 900 µl.
  - ▶ Hạt tế bào nhìn thấy được.
  - ▶ Hiện tượng tan huyết mẫu quá mức.
- Nếu bạn quan sát thấy các hạt tế bào nhìn thấy được hoặc hiện tượng tan huyết mẫu quá mức bất thường, hãy loại bỏ mẫu bị ảnh hưởng ở cuối phương pháp Tách huyết tương hoặc sử dụng Batch Manager (Trình quản lý đợt). Để biết thêm thông tin về Batch Manager (Trình quản lý đợt), xem *Hướng dẫn về phần mềm VeriSeq NIPT Solution v2 (số tài liệu 100000067940)*.
- 23 Khi có lời nhắc từ Workflow Manager (Trình quản lý đợt), chọn **OK**.
- 24 Nhập nhận xét về các giếng bị ảnh hưởng, rồi chọn **OK**.
- 25 Thực hiện một trong các bước sau.
- Để chuyển sang bước cfDNA Extraction (Tách chiết cfDNA), chọn **Yes (Có)**.
  - Để dừng lại, chọn **Exit** (Thoát).

## ĐIỂM DỪNG AN TOÀN

Nếu bạn dừng, hãy dán kín khay Huyết tương cuối cùng và bảo quản ở nhiệt độ từ 2°C đến 8°C trong tối đa 7 ngày.

## Tách chiết cfDNA

### Chuẩn bị

- Kiểm tra các Hộp tách chiết và Hộp phụ kiện bằng mắt thường để xác nhận rằng bộ kit chưa hết hạn.
- Chuẩn bị các thuốc thử sau. Ghi tên thuốc thử lên các bồn ngăn chứa và ngăn chứa giếng sâu.

Vật tư	Bảo quản	Hướng dẫn
Khay giếng sâu của Huyết tương cuối cùng	2°C đến 8°C	Nếu đã bảo quản trước đó, hãy để yên trong 30 phút để đưa về nhiệt độ phòng. Ly tâm ở tốc độ 1000 x g trong 20 giây. Gỡ màng dán khay giếng sâu của Huyết tương cuối cùng trước khi sử dụng.

- Thêm từ từ 3,75 ml Dung dịch đệm proteinase vào mỗi lọ thuốc thử Proteinase K.
  - ▶ Chuẩn bị 3 lọ cho 24 và 48 mẫu.
  - ▶ Chuẩn bị 4 lọ cho 96 mẫu.
- Đóng nắp các lọ Proteinase K và trộn xoáy cho đến khi đã tái huyền phù.



**THẬN TRỌNG**

Tránh để nhiễm bẩn nút chặn cao su. Nếu các chất khác bám trên nút chặn cao su, các mẫu sau đó có thể bị nhiễm bẩn.

- 5 Gộp Proteinase K đã chuẩn bị từ tất cả các lọ vào bồn thuốc thử và ghi nhãn là Proteinase K.
- 6 Thêm 100 ml EtOH 100% vào mỗi chai thuốc thử Dung dịch đệm rửa II.
  - ▶ Chuẩn bị 1 chai cho 24 và 48 mẫu.
  - ▶ Chuẩn bị 2 chai cho 96 mẫu.
- 7 Lật ngược các chai Dung dịch đệm rửa II để trộn đều.
- 8 Đánh dấu vào hộp kiểm trên các chai Dung dịch đệm rửa II.
- 9 Ghi nhãn Trung gian cho 1 khay có gờ đầy đủ mới và gắn mã vạch trên khay.
- 10 Ghi nhãn Rửa giải cfDNA cho 1 khay có gờ đầy đủ mới và gắn mã vạch trên khay.
- 11 Ghi nhãn Trung gian tách chiết cho 1 khay giống sâu mới và gắn mã vạch trên khay giống sâu.
- 12 Gắn mã vạch khay cho khay Gắn kết DNA.
- 13 Chuẩn bị dung dịch vệ sinh EtOH 70% (70% EtOH, 30% nước không có DNase/RNase) để vệ sinh hệ thống chân không.
- 14 Chuẩn bị hệ thống chân không.
  - a Tháo ống góp chân không và vệ sinh bằng dung dịch EtOH 70%.
  - b Đổ hết chất thải chân không.
  - c Đảm bảo hệ thống chân không ML STAR đang bật.

Tránh vệ sinh vòng đệm bằng EtOH vì dung dịch này có thể làm vật liệu dễ gãy.

**Quy trình**

- 1 Chọn **OK** để bắt đầu Tách chiết cfDNA.
- 2 Nếu VeriSeq NIPT Method (Phương pháp VeriSeq NIPT) chưa mở:
  - a Mở AppLauncher, rồi chọn **VeriSeq NIPT Method** (Phương pháp VeriSeq NIPT).
  - b Nhập ID đợt và tên người dùng, rồi chọn **OK**.
- 3 Nạp các đầu vào giá mang đầu như sau, rồi chọn **OK**.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24	Đầu	1-6	Đầu 1000 µl	1
		7-12	Đầu 300 µl	1
48	Đầu	1-6	Đầu 1000 µl	1, 2
		7-12	Đầu 300 µl	1
96	Đầu	1-6	Đầu 1000 µl	1, 2, 3, 4
		7-12	Đầu 300 µl	1

- 4 Nạp các đầu đã đếm vào giá mang đầu như sau.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48, 96	Đầu	49-54	Đầu 1000 µl	1
			Đầu 300 µl	2
			Đầu 50 µl	3

- 5 Nhập vị trí đầu đầu tiên và cuối cùng của mỗi giá đỡ đầu, rồi chọn **OK**.



- 6 Quét mã vạch của Hộp tách chiết.
- 7 Nhập tên người dùng hoặc chữ cái viết tắt tên của người chuẩn bị thuốc thử, rồi chọn **OK**.
- 8 Quét mã vạch của Hộp phụ kiện.
- 9 Nhập tên người dùng hoặc chữ cái viết tắt tên của người chuẩn bị thuốc thử, rồi chọn **OK**.
- 10 Xác nhận rằng đã gắn mã vạch.
- 11 Tháo màng dán khay giếng sâu của Huyết tương cuối cùng và nạp các khay (mã vạch hướng về bên phải) lên giá mang khay như sau, rồi chọn **OK**.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48, 96	Multiflex	19–24	Khay có gờ đầy đủ mới, Trung gian – đã gắn mã vạch	1
			Khay có gờ đầy đủ mới, Rửa giải cfDNA – đã gắn mã vạch	2
			Khay giếng sâu mới, Trung gian tách chiết – đã gắn mã vạch	4
			Khay giếng sâu của Huyết tương cuối cùng - đã gắn mã vạch	5

- 12 Xác nhận rằng khay Gắn kết DNA đã được gắn mã vạch, rồi chọn **OK**.
- 13 Đối với các đợt khay chưa hoàn chỉnh, hãy bịt màng dán khay đã cắt lên các giếng không sử dụng (cột 4–12 cho đợt 24 mẫu và cột 7–12 cho đợt 48 mẫu).
- 14 Nạp khay Gắn kết DNA vào ống góp chân không sao cho mã vạch hướng về bên phải.
- 15 Chọn hộp kiểm **Are DNA Binding Plate Columns Sealed?** (Các cột khay Gắn kết DNA đã được dán kín chưa?), rồi chọn **OK**.
- 16 Nạp các bồn thuốc thử vào giá mang thuốc thử như sau, rồi chọn **OK**.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48	Thuốc thử	47	16 ml Dung dịch đệm rửa giải	1
			11 ml Proteinase K	2
96	Thuốc thử	47	16 ml Dung dịch đệm rửa giải	1
			15 ml Proteinase K	2

- 17 Chuyển các thuốc thử được chỉ định vào các ngăn chứa giếng sâu, rồi nạp các ngăn chứa vào giá mang giếng sâu như sau.
- 18 Chọn **OK**.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48	Giếng sâu	39–44	125 ml Dung dịch đệm rửa II	1
			125 ml Dung dịch đệm rửa I	2
			60 ml EtOH 100%	3
			100 ml Dung dịch đệm ly giải	4
			60 ml Nước không có RNase/DNase	5
96	Giếng sâu	39–44	200 ml Dung dịch đệm rửa II	1
			125 ml Dung dịch đệm rửa I	2
			100 ml EtOH 100%	3
			100 ml Dung dịch đệm ly giải	4
			100 ml Nước không có RNase/DNase	5

- 19 Chờ quá trình kiểm tra thể tích thuốc thử tự động hoàn tất.
- 20 Xác nhận rằng chất thải chân không không đầy quá nửa (nên đổ hết), rồi chọn **OK**.

- 21 Xác nhận vị trí của tất cả giá mang, dụng cụ thí nghiệm và thuốc thử, rồi chọn **OK** trên màn hình Extraction Deck Verification (Xác minh bộ tách chiết).
- 22 Quan sát ML STAR trong các bước tự động.



#### THẬN TRỌNG

Bạn phải tự loại bỏ các mẫu tràn mà hệ thống không phát hiện được trước khi các giếng lân cận bị nhiễm bẩn.

- 23 Sau bước chân không cuối cùng, hãy tháo khay Gắn kết DNA và vệ sinh bề mặt đáy bằng dung dịch EtOH 70%.
- 24 Dán kín bất kỳ giếng nào chưa được che đậy trên khay Gắn kết DNA rồi đặt khay lên khay giếng sâu trống của Huyết tương cuối cùng.
- 25 Ly tâm bộ khay Gắn kết DNA/khay Huyết tương cuối cùng ở tốc độ 5600 × g trong 10 phút khi phanh đang bật.
- 26 Chọn **OK**.
- 27 Trong quá trình ly tâm khay Gắn kết DNA, hãy hoàn tất việc vệ sinh chân không:
  - a Tháo ống góp chân không, rồi chọn **OK**.
  - b Chờ quá trình thải bỏ chất thải tự động hoàn tất.
  - c Vệ sinh ống góp chân không và bên trong hệ thống chân không bằng dung dịch EtOH 70%, rồi thay ống góp chân không.
  - d Chọn hộp kiểm **Manifold is on Vacuum** (Ống góp ở chế độ chân không) để bắt đầu chuyển khay rửa giải trên ống góp chân không, rồi chọn **OK**.
- 28 Sau khi ly tâm, hãy gỡ màng dán của các giếng chứa mẫu trên khay Gắn kết DNA rồi đặt khay lên trên khay Rửa giải cfDNA.  
Khay Rửa giải cfDNA nằm trên ống góp chân không.
- 29 Nạp khay Gắn kết DNA có mã vạch ở bên phải, rồi chọn **OK**.
- 30 Quan sát ML STAR trong các bước tự động.
- 31 Sau khi ủ, chọn hộp kiểm **Plates are assembled as indicated** (Các khay được lắp ráp theo chỉ dẫn) để xác nhận rằng bộ khay Gắn kết DNA/Rửa giải cfDNA nằm trên đế đỡ (nếu máy ly tâm yêu cầu).
- 32 Dán kín các giếng chưa được che đậy trên khay Gắn kết DNA.
- 33 Ly tâm ở tốc độ 5600 × g trong 2 phút khi phanh đang bật, rồi chọn **OK**.
- 34 Kiểm tra khay Rửa giải cfDNA để đảm bảo có thể tích đồng đều trong mỗi giếng.  
Thể tích dự kiến là khoảng 55 µl.
- 35 Dán kín và giữ lại khay Rửa giải cfDNA để chuẩn bị thư viện.
- 36 Khi có lời nhắc từ Workflow Manager, hãy đảm bảo bộ nạp của ML STAR không có vật cản nào để ML STAR có thể tháo các giá mang
- 37 Chọn **Unload** (Tháo) để tháo bộ.
- 38 Tháo tất cả giá mang và vệ sinh bộ ML STAR, rồi chọn **OK**.
- 39 Nhập nhận xét về các giếng bị ảnh hưởng, rồi chọn **OK**.
- 40 Thực hiện một trong các bước sau:
  - Để chuyển sang bước Prepare Libraries (Chuẩn bị thư viện), chọn **Yes** (Có).
  - Để dừng lại, chọn **Exit** (Thoát).

#### ĐIỂM DỪNG AN TOÀN

Nếu bạn dừng, hãy dán kín khay Rửa giải cfDNA và bảo quản ở nhiệt độ từ -25°C đến -15°C trong tối đa 7 ngày.

## Chuẩn bị thư viện

### Chuẩn bị

- Kiểm tra các Hộp chuẩn bị thư viện và Hộp phụ kiện bằng mắt thường để xác nhận rằng bộ kit chưa hết hạn.
- Chuẩn bị các thuốc thử sau. Ghi tên thuốc thử lên các bồn ngăn chứa và ngăn chứa giống sâu.

Vật tư	Bảo quản	Hướng dẫn
Hỗn hợp sửa chữa ở đầu	-25°C đến -15°C	Rã đông ở nhiệt độ phòng. Trộn xoáy để trộn đều.
Hỗn hợp bổ sung đuôi poly A	-25°C đến -15°C	Rã đông ở nhiệt độ phòng. Trộn xoáy để trộn đều, rồi ly tâm nhanh.
Hỗn hợp buộc thắt	-25°C đến -15°C	Rã đông ở nhiệt độ phòng. Trộn xoáy để trộn đều, rồi ly tâm nhanh.
Dung dịch đệm tái huyền phù	2°C đến 8°C	Trộn xoáy để trộn đều. Bảo quản lại sau khi sử dụng.
Dung dịch đệm lai	-25°C đến -15°C	Rã đông ở nhiệt độ phòng. Trộn xoáy để trộn đều. Bảo quản lại sau khi sử dụng.
Khay adapter DNA VeriSeq NIPT	-25°C đến -15°C	Rã đông ở nhiệt độ phòng. Trộn xoáy để trộn đều. Ly tâm ở tốc độ 1000 x g trong 20 giây. Gắn mã vạch trên khay.
Hạt tinh chế mẫu	2°C đến 8°C	Để yên trong 30 phút để đưa về nhiệt độ phòng. Trộn xoáy mạnh trước mỗi lần sử dụng. Trộn đều bằng cách trộn xoáy hoặc lật ngược cho đến khi tất cả các hạt ở dạng huyền phù và hỗn hợp đồng nhất.
Khay rửa giải cfDNA	-25°C đến -15°C	Nếu đã bảo quản trước đó, hãy xác nhận rằng khay không được bảo quản quá 7 ngày và rã đông ở nhiệt độ phòng. Trộn xoáy ở tốc độ 1500 vòng/phút trong 1 phút. Ly tâm ở tốc độ 1000 x g trong 20 giây.

- Chuẩn bị 50 ml EtOH 80% mới từ 40 ml EtOH 100% và 10 ml nước không có DNase/RNase.  
Lật ngược dung dịch EtOH để trộn đều.
- Ghi nhãn Thư viện cho 1 khay có gờ đầy đủ mới và gắn mã vạch trên khay.
- Đảm bảo tính năng kiểm soát nhiệt của ML STAR đang bật.

### Pha loãng enzym

- Kết hợp hỗn hợp bổ sung đuôi poly A và dung dịch đệm tái huyền phù trong ống có nắp vặn. Trộn xoáy để trộn đều, rồi ly tâm nhanh.

Kích thước đợt mẫu	Hỗn hợp bổ sung đuôi poly A	Dung dịch đệm tái huyền phù
24, 48	900 µl	1200 µl
96	1800 µl	2400 µl

- Kết hợp hỗn hợp buộc thắt và dung dịch đệm tái huyền phù trong ống có nắp vặn. Trộn xoáy để trộn đều, rồi ly tâm nhanh.

Kích thước đợt mẫu	Hỗn hợp buộc thắt	Dung dịch đệm tái huyền phù
24, 48	230 µl	1713 µl
96	440 µl	3278 µl

## Quy trình

- 1 Chọn **OK** để bắt đầu bước Library Preparation (Chuẩn bị thư viện). Nếu VeriSeq NIPT Method (Phương pháp VeriSeq NIPT) chưa mở:
  - a Mở AppLauncher, rồi chọn **VeriSeq NIPT Method (Phương pháp VeriSeq NIPT)**.
  - b Nhập ID đợt và tên người dùng, rồi chọn **OK**.
- 2 Xác nhận rằng các vật tư tiêu hao sau được chuẩn bị theo chỉ định trên màn hình Reagent Preparation (Chuẩn bị thuốc thử):
  - ▶ Hỗn hợp bổ sung đuôi poly A, Hỗn hợp buộc thắt và Dung dịch EtOH 80%.
  - ▶ Hạt tinh chế mẫu, Hỗn hợp sửa chữa ở đầu và Khay adapter DNA VeriSeq NIPT.
- 3 Chọn các hộp kiểm, rồi chọn **OK**.
- 4 Quét mã vạch của Hộp chuẩn bị thư viện.
- 5 Nhập tên người dùng hoặc chữ cái viết tắt tên của người chuẩn bị thuốc thử, rồi chọn **OK**.
- 6 Quét mã vạch của Hộp phụ kiện.
- 7 Nhập tên người dùng hoặc chữ cái viết tắt tên của người chuẩn bị thuốc thử, rồi chọn **OK**.
- 8 Nạp các đầu vào giá mang đầu như sau, rồi chọn **OK** cho từng giá mang.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24	Đầu	1-6	Đầu 50 µl	1
		7-12	Đầu 300 µl	1, 2
48	Đầu	1-6	Đầu 50 µl	1, 2
		7-12	Đầu 300 µl	1, 2, 3, 4
96	Đầu	1-6	Đầu 50 µl	1, 2, 3, 4
		7-12	Đầu 300 µl	1, 2, 3, 4, 5

- 9 Nếu bạn dừng quy trình sau quy trình Tách chiết cfDNA, hãy nạp các đầu tip đã đếm vào các giá mang đầu như sau.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48, 96	Đầu	49-54	Đầu 1000 µl	1
			Đầu 300 µl	2
			Đầu 50 µl	3

- 10 Nhập vị trí đầu đầu tiên của mỗi giá đỡ đầu, rồi chọn **OK**.
- 11 Xác nhận rằng đã gắn mã vạch, nạp khay (mã vạch hướng về bên phải) lên giá mang như sau, rồi chọn **OK**.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48, 96	Multiflex	19-24	Khay Rửa giải cfDNA – đã gắn mã vạch	1
			Khay Adapter DNA – đã gắn mã vạch	2
			Khay có gờ đầy đủ 96 giếng mới, thư viện – đã gắn mã vạch	3
			Khay có gờ đầy đủ 96 giếng mới	4, 5

- 12 Nạp giá mang giếng sâu như sau, rồi chọn **OK**.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48, 96	Giếng sâu	39-44	50 ml EtOH 80% trong ngăn chứa giếng sâu	1
			Khay có gờ đầy đủ 96 giếng mới	2, 3, 4, 5

13 Nạp các bồn thuốc thử vào giá mang thuốc thử như sau, rồi chọn **OK**.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48, 96	Thuốc thử	47	2,5 ml Hỗn hợp sửa chữa ở đầu	1
			Hỗn hợp bổ sung đuôi poly A đã chuẩn bị (tổng thể tích)	2
			Hỗn hợp buộc thắt đã chuẩn bị (tổng thể tích)	3
			10 ml Hạt tinh chế mẫu	4
			12 ml Dung dịch đệm lai	5

- 14 Đảm bảo rằng giá mang, dụng cụ thí nghiệm và thuốc thử được nạp theo chỉ định, rồi chọn **OK** trên màn hình Library Deck Verification (Xác minh bộ thư viện).
- 15 Chờ quá trình kiểm tra thể tích thuốc thử tự động hoàn tất.
- 16 Quan sát ML STAR trong các bước tự động.
- 17 Khi có lời nhắc từ Workflow Manager (Trình quản lý quy trình), hãy đảm bảo bộ nạp của ML STAR không có vật cản nào để ML STAR có thể tháo các giá mang, rồi chọn **Unload (Tháo)** để tháo bộ.
- 18 Kiểm tra khay Thư viện để đảm bảo có thể tích đồng đều trong mỗi giếng.



#### THẬN TRỌNG

Nếu thể tích giếng không đồng đều, các mẫu có thể cho kết quả không chính xác.

- 19 Nếu bảo quản, hãy dán kín và giữ lại khay Thư viện.
- 20 Tháo các giá mang, vệ sinh bộ, rồi chọn **OK**.
- 21 Nhập nhận xét về các giếng bị ảnh hưởng, rồi chọn **OK**.
- 22 Thực hiện một trong các bước sau:
- ▶ Để chuyển sang bước Quantify Libraries (Định lượng thư viện), chọn **Yes (Có)**.
  - ▶ Để dừng lại, chọn **Exit (Thoát)**.
- 23 Nếu bạn không dừng, hãy chuyển sang định lượng ngay.

#### ĐIỂM DỪNG AN TOÀN

Nếu bạn dừng, hãy dán kín khay Thư viện trước khi bảo quản. Khay Thư viện ổn định trong tối đa 7 ngày kể từ ngày chuẩn bị ở nhiệt độ từ -25°C đến -15°C.

## Định lượng thư viện

### Chuẩn bị

#### 1 Chuẩn bị các thuốc thử sau:

Vật tư	Bảo quản	Hướng dẫn
Thuốc thử định lượng DNA	2°C đến 8°C	Tránh ánh sáng. Rã đông ở nhiệt độ phòng trong 30-150 phút. (Nên loại bỏ thuốc thử khi bắt đầu quy trình Chuẩn bị thư viện.) Trộn xoáy để trộn đều, rồi ly tâm nhanh.
Tiêu chuẩn định lượng DNA	2°C đến 8°C	Trộn xoáy để trộn đều, rồi ly tâm nhanh.
Khay thư viện	-25°C đến -15°C	Nếu đã bảo quản trước đó, xác nhận rằng khay không được bảo quản quá 7 ngày và rã đông ở nhiệt độ phòng. Trộn xoáy để trộn đều. Ly tâm ở tốc độ 1000 x g trong 20 giây.
Dung dịch đệm tái huyền phù	2°C đến 8°C	Trộn xoáy để trộn đều.

- Bật huỳnh quang kể 10 phút trước khi sử dụng.
- Gắn mã vạch khay cho khay 384 giếng mới.
- Gắn mã vạch khay cho khay có gờ đầy đủ mới.

### Quy trình

- Chọn **OK** để bắt đầu định lượng.
- Nếu VeriSeq NIPT Method (Phương pháp VeriSeq NIPT) chưa mở:
  - Mở AppLauncher, rồi chọn **VeriSeq NIPT Method** (Phương pháp VeriSeq NIPT).
  - Nhập ID đợt và tên người dùng, rồi chọn **OK**.
- Quét mã vạch của Hộp phụ kiện.
- Nhập tên người dùng hoặc chữ cái viết tắt tên của người chuẩn bị thuốc thử, rồi chọn **OK**.
- Nạp các đầu vào giá mang đầu như sau, rồi chọn **OK**.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48	Đầu	1-6	Giá đỡ đầu 300 µl	1
			Giá đỡ đầu 50 µl	2
96	Đầu	1-6	Giá đỡ đầu 300 µl	1
			Giá đỡ đầu 50 µl	2, 3

- Xác nhận rằng bạn đã gắn mã vạch, rồi gỡ màng dán khay Thư viện nếu cần.
- Nạp các khay (mã vạch hướng về bên phải) lên giá mang Multiflex như sau, rồi chọn **OK**.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48, 96	Multiflex	19-24	Khay có gờ đầy đủ mới – đã gắn mã vạch	1
			Khay 384 giếng mới – đã gắn mã vạch	2
			Khay thư viện – đã gắn mã vạch	3
			Khay có gờ đầy đủ 96 giếng mới	4, 5

- 8 Nạp các ống thuốc thử không có nắp vào giá mang ống như sau, rồi chọn **OK**.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48, 96	Ống	46	Tiêu chuẩn định lượng DNA	1
			Thuốc thử định lượng DNA	2

- 9 Nạp các bồn thuốc thử vào giá mang thuốc thử như sau, rồi chọn **OK**.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48, 96	Thuốc thử	47	Bồn thuốc thử mới (rỗng)	1
			16 ml Dung dịch đệm tái huyền phù	2

- 10 Nếu bạn dừng quy trình sau quy trình Chuẩn bị thư viện, hãy nạp các đầu đã đếm vào các giá mang đầu như sau.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48, 96	Đầu	49–54	Đầu 1000 µl	1
			Đầu 300 µl	2
			Đầu 50 µl	3

- 11 Nhập vị trí đầu đầu tiên và cuối cùng của mỗi giá đỡ đầu, rồi chọn **OK**.
- 12 Đảm bảo rằng giá mang, dụng cụ thí nghiệm và thuốc thử được nạp theo chỉ định, rồi chọn **OK** trên màn hình Quant Deck Verification (Xác minh bộ định lượng).
- 13 Chờ quá trình kiểm tra thể tích thuốc thử tự động hoàn tất.
- 14 Quan sát ML STAR trong các bước tự động.
- 15 Khi có lời nhắc từ Workflow Manager (Trình quản lý quy trình), hãy đảm bảo bộ nạp của ML STAR không có vật cản nào để ML STAR có thể tháo các giá mang.
- 16 Chọn **Unload** (Tháo) để tháo bộ.
- 17 Tháo khay Thư viện.
- Kiểm tra khay để đảm bảo có thể tích đồng đều trong mỗi giếng.
  - Dán kín khay Thư viện và bảo quản ở nhiệt độ phòng cho đến khi hoàn tất quá trình phân tích dữ liệu huỳnh quang.
- 18 Tháo các khay 96 giếng còn lại và kiểm tra xem thể tích trong mỗi giếng có đồng đều không. Lỗi tổng thể tích có thể cho thấy sự cố trong các bước sử dụng pipet.
- 19 Tháo khay 384 giếng và kiểm tra chất lỏng trong các giếng thích hợp.
- 20 Dán kín khay bằng màng nhôm.
- 21 Ly tâm ở tốc độ 1000 x g trong 20 giây.
- 22 Ủ ở nhiệt độ phòng trong 10 phút, tránh ánh sáng.
- 23 Tháo tất cả giá mang và vệ sinh bộ ML STAR, rồi chọn **OK**.



#### LƯU Ý

Không loại bỏ thuốc thử định lượng cho đến khi thu được dữ liệu. Bạn vẫn cần đến thuốc thử nếu phải định lượng lại.

- 24 Sau khi ủ, hãy gỡ màng nhôm và nạp khay 384 giếng lên thiết bị đọc khay vi thể. Đảm bảo rằng A1 nằm ở góc trên cùng bên trái khi tải.
- 25 Nhấp đúp vào mẫu VeriSeq NIPT để mở trong SoftMax Pro.
- 26 Chọn **New Experiment** (Thí nghiệm mới) trong tab Home (Trang chủ).
- 27 Chọn **Read** (Đọc).

28 Xuất dữ liệu dưới dạng XML như sau.

- a Nhấp chuột phải vào **Plate** (Khay), rồi chọn **Rename** (Đổi tên).
- b Quét mã vạch của khay Định lượng, rồi chọn **OK**.
- c Ở góc trên bên trái màn hình, chọn biểu tượng khay, sau đó chọn **Export** (Xuất) từ menu.
- d Chọn hộp kiểm **Expt name** (Tên xuất), đặt tùy chọn ngày của khay thành giá trị thô, đặt định dạng đầu ra là XML, rồi chọn **OK**.
- e Đặt tên và đường dẫn tệp đầu ra, sau đó chọn **Save** (Lưu).

Máy tính Hamilton phải truy cập được vị trí tệp. Không sử dụng dấu cách trong tên tệp hoặc đường dẫn tệp.

### Phân tích

- 1 Trong Workflow Manager (Trình quản lý quy trình), trên màn hình Scanner Information (Thông tin máy quét), hãy nhập ID huỳnh quang kế.
- 2 Nhập nhận xét về lần chạy huỳnh quang kế, rồi chọn **OK**.
- 3 Chuyển đến tệp định lượng XML có chứa dữ liệu huỳnh quang, rồi chọn **OK**.
- 4 Xem lại đường cong tiêu chuẩn và kết quả phân tích nồng độ mẫu, rồi chọn **OK**.
- 5 Nếu bạn phải quét lại khay, chọn **Rescan (Quét lại)**.  
Các mẫu rất nhạy cảm về thời gian và ánh sáng. Hãy Quét lại ngay khi cần.
- 6 Nhập nhận xét về các giếng bị ảnh hưởng, rồi chọn **OK**.
- 7 Đánh giá kết quả và tiến hành như sau.
  - Nếu kết quả đạt thông số kỹ thuật, hãy chuyển sang bước Pool Libraries (Gộp nhóm thư viện). Để biết thông số kỹ thuật, hãy xem số liệu QC định lượng và bảng giới hạn trong *Hướng dẫn về phần mềm VeriSeq NIPT Solution v2 (số tài liệu 100000067940)*.
  - Nếu kết quả không đạt thông số kỹ thuật, hệ thống sẽ hủy bỏ phương pháp. Lập lại các quy trình định lượng từ bước *Chuẩn bị trên trang 22*.
- 8 Thực hiện một trong các bước sau:
  - Để chuyển sang bước Pool Libraries (Gộp nhóm thư viện), chọn **Yes (Có)**.
  - Để dừng lại, chọn **Exit (Thoát)**.

### ĐIỂM DỪNG AN TOÀN

Nếu bạn dừng, hãy dán kín khay Thư viện trước khi bảo quản. Khay Thư viện ổn định trong tối đa 7 ngày bảo quản lữ tích ở nhiệt độ từ -25°C đến -15°C.

## Gộp nhóm thư viện

### Chuẩn bị

- 1 Chuẩn bị các thuốc thử sau:

Vật tư	Bảo quản	Hướng dẫn
Dung dịch đệm lai	-25°C đến -15°C	Rã đông ở nhiệt độ phòng. Trộn xoáy để trộn đều. Bảo quản lại sau khi sử dụng.
Khay thư viện	-25°C đến -15°C	Rã đông ở nhiệt độ phòng nếu đã bảo quản trước đó. Trộn xoáy ở tốc độ 1500 vòng/phút trong 1 phút. Ly tâm ở tốc độ 1000 x g trong 20 giây.

- 2 Ghi nhãn Nhóm gộp A cho ống gộp nhóm rỗng. Đối với 96 mẫu, hãy ghi nhãn Nhóm gộp B cho ống gộp nhóm rỗng thứ hai.



- 3 Lưu chương trình biến tính sau trên máy luân nhiệt có nắp đã gia nhiệt.
  - a Chọn tùy chọn nắp đã gia nhiệt sẵn và đặt ở 102°C.
  - b Đặt thể tích phản ứng là 50 µl.
  - c Đặt tốc độ thay đổi ở mức tối đa ( $\geq 2^{\circ}\text{C}$  mỗi giây).
  - d Ủ ở 96°C trong 10 phút, rồi ủ ở 4°C trong 5 giây.
  - e Duy trì ở 4°C.

## Quy trình

- 1 Đặt khay Thư viện lên máy luân nhiệt đã lập trình sẵn rồi chạy chương trình biến tính.



### LƯU Ý

Không biến tính khay Thư viện trước khi quá trình định lượng đạt số liệu QC, vì bạn có thể cần định lượng lại.

- 2 Ly tâm khay Thư viện ở tốc độ 1000 x g trong 20 giây.
- 3 Chọn **OK** trong Workflow Manager (Trình quản lý quy trình) để bắt đầu gộp nhóm thư viện.
- 4 Nếu VeriSeq NIPT Method (Phương pháp VeriSeq NIPT) chưa mở:
  - a Mở AppLauncher, rồi chọn **VeriSeq NIPT Method (Phương pháp VeriSeq NIPT)**.
  - b Nhập ID đợt và tên người dùng, rồi chọn **OK**.
- 5 Chọn nồng độ nhóm gộp, rồi chọn **OK**.  
Nếu cần, hãy điều chỉnh nồng độ gộp nhóm để đạt được mật độ cụm mục tiêu là 220–260 k/mm<sup>2</sup>.
- 6 Khi có lời nhắc từ Workflow Manager (Trình quản lý quy trình), hãy thực hiện một trong các bước sau:
  - ▶ Để nạp bảng thông tin mẫu, chọn bảng thông tin mẫu liên quan đến đợt, rồi chọn **Load (Nạp)**.
  - ▶ Để sử dụng các giá trị mặc định của hệ thống cho các loại mẫu còn lại, báo cáo về giới tính hoặc loại sàng lọc, chọn **Use Default (Sử dụng giá trị mặc định)** cho mỗi tùy chọn cài đặt.  
Để biết thông tin về cách tạo bảng thông tin mẫu, hãy xem *Hướng dẫn về phần mềm VeriSeq NIPT Solution v2 (số tài liệu 1000000067940)*.



### THẬN TRỌNG

Trước khi chọn tùy chọn Use Default (Sử dụng giá trị mặc định), hãy đảm bảo rằng bạn đã đặt các giá trị mặc định trong Service Tools (Công cụ dịch vụ) của Workflow Manager (Trình quản lý quy trình). Nếu không, các mẫu có thể sẽ không được phân tích hoàn chỉnh.

- 7 Chọn **Start (Bắt đầu)** để bắt đầu định giờ cho khay biến tính.
- 8 Nạp các đầu vào giá mang đầu như sau.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48, 96	Đầu	7–12	Đầu lọc 50 µl	1

- 9 Nạp khay Thư viện đã biến tính (mã vạch hướng về bên phải) lên giá mang Multiflex như sau, rồi chọn **OK**.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48, 96	Multiflex	19–24	Khay Thư viện đã biến tính (có gắn mã vạch)	1

- 10 Nạp các ống gộp nhóm vào giá mang ống như sau, rồi chọn **OK**.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48	Ống	46	Ống 2 ml mới, Nhóm gộp A	1
96	Ống	46	Ống 2 ml mới, Nhóm gộp A	1
			Ống 2 ml mới, Nhóm gộp B	2

11 Nạp các bồn thuốc thử vào giá mang thuốc thử như sau, rồi chọn **OK**.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48, 96	Thuốc thử	47	3 ml Dung dịch đệm lai	1

12 Nạp các đầu vào giá mang đầu như sau.

Kích thước đợt mẫu	Loại giá mang	Rãnh	Vật tư	Vị trí khu vực
24, 48, 96	Đầu	49-54	Đầu lọc 1000 µl	1
			Đầu lọc 300 µl	2
			Đầu lọc 50 µl	3

13 Nhập vị trí đầu đầu tiên và cuối cùng của mỗi giá đỡ đầu, rồi chọn **OK**.

14 Đảm bảo rằng giá mang, dụng cụ thí nghiệm và thuốc thử được nạp theo chỉ định, rồi chọn **OK** trên màn hình Pooling Deck Verification (Xác minh bộ gộp nhóm).

15 Quan sát ML STAR trong các bước tự động.

16 Nhập nhận xét về các giếng bị ảnh hưởng, rồi chọn **OK**.

17 Khi có lời nhắc từ Workflow Manager (Trình quản lý quy trình), hãy đảm bảo bộ nạp của ML STAR không có vật cản nào để ML STAR có thể tháo các giá mang.

18 Chọn **Unload (Tháo)** để tháo bộ.

19 Tháo giá mang ống.

20 Đóng nắp từng ống gộp nhóm, trộn xoáy rồi ly tâm nhanh.

21 Chọn **OK**.

22 Giải trình tự thư viện sớm nhất có thể sau khi gộp nhóm. Nếu cần, hãy dán kín khay Thư viện và bảo quản ở nhiệt độ từ -25°C đến -15°C trong tối đa 7 ngày để có thể gộp nhóm lại.

### ĐIỂM DỪNG AN TOÀN

Nếu bạn dừng, hãy đậy nắp ống gộp nhóm và bảo quản ở nhiệt độ từ -25°C đến -15°C trong tối đa 7 ngày.

## Chuẩn bị thư viện đã gộp nhóm để giải trình tự

### Chuẩn bị

1 Chuẩn bị các thuốc thử sau:

Vật tư	Bảo quản	Hướng dẫn
Ống nhóm gộp	-25°C đến -15°C	Rã đông ở nhiệt độ phòng nếu đã bảo quản trước đó. Trộn xoáy nhanh. Ly tâm nhanh.

2 Hoàn thành các trường sau trong mô-đun Local Run Manager (Trình quản lý lượt chạy cục bộ) của VeriSeq NIPT để chuẩn bị hệ thống giải trình tự thể hệ mới :

- a Run Name (Tên lần chạy)
- b Run Description (Thông tin mô tả lần chạy) (không bắt buộc)
- c Pool Barcode (Mã vạch của nhóm gộp)

Để biết thêm thông tin về cách sử dụng mô-đun Local Run Manager (Trình quản lý lượt chạy cục bộ) của VeriSeq NIPT, tham khảo *Hướng dẫn về phần mềm VeriSeq NIPT Solution v2 (số tài liệu 1000000067940)*.



### THẬN TRỌNG

Mã vạch nhóm gộp bạn nhập trong mô-đun Local Run Manager (Trình quản lý lượt chạy cục bộ) phải khớp với Mã vạch nhóm gộp bạn nhập trong Workflow Manager (Trình quản lý quy trình). Phần mềm phân tích sẽ từ chối các cấu hình lượt chạy không đúng và có thể yêu cầu giải trình tự lại.

Quy trình sau đây mô tả cách nạp đúng các thư viện đã gộp nhóm vào thiết bị giải trình tự thế hệ mới theo hộp.

## Quy trình

- 1 Thêm các vật tư tiêu hao sau vào hộp thuốc thử, sau đó dùng pipet để trộn.
  - ▶ 900 µl Dung dịch đệm lai
  - ▶ 450 µl Nhóm gộp A
- 2 Tiếp tục giải trình tự trên một hệ thống giải trình tự thế hệ mới. Để biết hướng dẫn giải trình tự, hãy xem hướng dẫn tham khảo cho thiết bị giải trình tự thế hệ mới của bạn. Đối với NextSeq 550Dx, tham khảo *Hướng dẫn tham khảo về thiết bị NextSeq 550Dx (số tài liệu 100000009513)* hoặc *Tờ thông tin sản phẩm của thiết bị NextSeq 550Dx (số tài liệu 1000000043133)*.
- 3 Hãy lặp lại quy trình này cho Nhóm gộp B nếu cần.
  - ▶ Để đạt được phạm vi mật độ cụm mục tiêu, bạn có thể gộp nhóm lại khay thư viện với nồng độ gộp nhóm khác trên Hamilton. Thao tác gộp nhóm lại sẽ làm mất hiệu lực của nhóm gộp ban đầu.
  - ▶ Ngoài ra, bạn cũng có thể sửa đổi tỷ lệ của nhóm gộp thành HT1 (450+900ul) để đạt được phạm vi mật độ cụm mục tiêu.

## Giải trình tự thế hệ mới

Có thể sử dụng VeriSeq NIPT Solution v2 với máy giải trình tự thế hệ mới có các thông số kỹ thuật sau:

- ▶ có thể thực hiện 2x36 đoạn đọc kết đôi.
  - ▶ tương thích với các adapter chỉ thị trong Bộ kit VeriSeq NIPT Sample Prep.
  - ▶ hóa học hai kênh.
  - ▶ tự động tạo tệp .BCL (dữ liệu thô từ thiết bị giải trình tự).
  - ▶ 400 triệu đoạn đọc kết đôi mỗi lần chạy.
  - ▶ tương thích với Phần mềm xét nghiệm VeriSeq NIPT v2.
- NextSeq 550Dx tương thích với VeriSeq NIPT Solution v2.

## Phân tích dữ liệu trình tự

Sau khi giải trình tự xong, dữ liệu giải trình tự sẽ tự động được gửi đến Phần mềm xét nghiệm VeriSeq NIPT v2 để phân tích và tạo báo cáo. Báo cáo bao gồm cả việc phân loại từng mẫu trong đợt cũng như đánh giá tất cả số liệu QC của lần chạy. Quá trình phân tích từ lúc giải trình tự xong cho đến khi có kết quả cuối cùng mất khoảng 4 giờ cho một đợt 48 mẫu. Để biết thông tin chi tiết về việc phân tích dữ liệu và tệp đầu ra, hãy xem *Hướng dẫn về phần mềm VeriSeq NIPT Solution v2 (số tài liệu 1000000067940)*.

## Diễn giải kết quả

Thuật toán VeriSeq NIPT Solution v2 sử dụng một mô hình thống kê phức tạp kết hợp nhiều loại thông tin khác nhau từ tập hợp các phân đoạn thư viện kết đôi đã giải trình tự. Mô hình này được sử dụng để phát hiện các vùng hệ gen có lượng đại diện quá ít hoặc quá nhiều trong thư viện của mỗi mẫu. Điều quan trọng là mô hình này lý giải việc mức độ đại diện quá ít hoặc quá nhiều có phù hợp về mặt định lượng với trường hợp đột biến dị bội trong hệ gen của thai nhi ở mức tỷ lệ DNA của thai nhi đã ước tính cho thư viện hay không.

Đối với tất cả nhiễm sắc thể, dữ liệu giải trình tự kết đôi được căn chỉnh với hệ gen tham chiếu (HG19). Các đoạn đọc duy nhất đã căn chỉnh và không lặp đoạn được tổng hợp vào các vùng nhỏ 100 kb. Các số lượng vùng nhỏ tương ứng được điều chỉnh theo độ lệch GC và theo phạm vi bao phủ hệ gen từng vùng đã thiết lập trước đó. Nhờ số lượng vùng nhỏ chuẩn hóa này, các điểm số thống kê được tính toán cho mỗi nhiễm sắc thể thường bằng cách so sánh các vùng bao phủ có thể bị ảnh hưởng bởi đột biến dị bội với các nhiễm sắc thể thường còn lại. Tỷ số hợp lý theo lôgarit (LLR) được tính cho mỗi mẫu bằng cách xem xét các điểm số dựa trên phạm vi bao phủ này và tỷ lệ DNA ước tính của thai nhi. LLR là xác suất một mẫu bị ảnh hưởng trong phạm vi bao phủ đã quan sát và tỷ lệ DNA của thai nhi so với xác suất một mẫu không bị ảnh hưởng trong cùng phạm vi bao phủ đã quan sát. Việc tính toán tỷ số này cũng tính đến độ bất định ước tính về tỷ lệ DNA của thai nhi. Các phép tính tiếp theo sẽ sử dụng lôgarit tự nhiên của tỷ số. Phần mềm xét nghiệm đánh giá LLR của từng nhiễm sắc thể mục tiêu và từng mẫu để xác định đột biến dị bội.

Trong quá trình tạo đột, bạn phải xác định loại mẫu (thai đơn hoặc thai đôi), loại sàng lọc (cơ bản hoặc toàn bộ hệ gen) và báo cáo nhiễm sắc thể giới tính (Yes (Có), No (Không) và SCA) mong muốn cho mỗi mẫu. Sự kết hợp của các tùy chọn này sẽ xác định thông tin báo cáo cho từng mẫu.

Đối với tất cả các loại mẫu, loại sàng lọc xác định những trường hợp bất thường nào trên nhiễm sắc thể thường sẽ được báo cáo. Đối với loại sàng lọc cơ bản, chỉ các trường hợp tam nhiễm toàn bộ nhiễm sắc thể liên quan đến nhiễm sắc thể 13, 18 và 21 được báo cáo. Đối với loại sàng lọc toàn bộ hệ gen, trường hợp mất đoạn hoặc lặp đoạn toàn bộ hoặc một phần nhiễm sắc thể của mọi nhiễm sắc thể thường đều được báo cáo. Độ dài của đoạn nhiễm sắc thể mất đoạn hoặc lặp đoạn một phần nhỏ nhất có thể báo cáo là 7 Mb.

Đối với các mẫu thai đơn, bạn có thể tắt tính năng báo cáo nhiễm sắc thể giới tính. Bạn cũng có thể định cấu hình để báo cáo đột biến dị bội nhiễm sắc thể giới tính, dù có hay không báo cáo giới tính của các mẫu chỉnh bội.

Đối với các mẫu thai đôi, nếu bạn chọn Yes (Có) cho tùy chọn báo cáo nhiễm sắc thể giới tính, kết quả sẽ giới hạn ở việc báo cáo nhiễm sắc thể Y có hay không có trong thư viện. Không thể báo cáo đột biến dị bội nhiễm sắc thể giới tính đối với các mẫu thai đôi.

Kết quả ANOMALY DETECTED (PHÁT HIỆN SỰ BẤT THƯỜNG) cho biết quá trình sàng lọc mẫu cho kết quả dương tính đối với một hoặc nhiều trường hợp bất thường phù hợp với loại sàng lọc và tùy chọn báo cáo nhiễm sắc thể giới tính đã chọn. Khi phát hiện sự bất thường, báo cáo sẽ cung cấp thông tin mô tả về trường hợp bất thường trong ghi chú kết quả di truyền học tế bào.

Phần mềm xét nghiệm VeriSeq NIPT v2 sử dụng số liệu thống kê được tạo ra trong quá trình giải trình tự để ước tính tỷ lệ DNA của thai nhi (FFE) cho mỗi mẫu. FFE là thành phần cfDNA của thai nhi ước tính được phục hồi bằng xét nghiệm và báo cáo dưới dạng tỷ lệ phần trăm làm tròn cho mỗi mẫu. Độ lệch chuẩn trung bình của giá trị ước tính này trên tất cả các mẫu là 1,3%. Không được sử dụng riêng FFE để loại trừ mẫu khi báo cáo kết quả.

Để phát hiện sự xuất hiện của nhiễm sắc thể, Phần mềm xét nghiệm VeriSeq NIPT v2 sử dụng Xét nghiệm độ tin cậy về đột biến dị bội ở thai nhi cá nhân hóa (iFACT), một số liệu ngưỡng động cho biết liệu hệ thống đã tạo đủ phạm vi giải trình tự hay chưa, với giá trị ước tính về tỷ lệ DNA của thai nhi cho mỗi mẫu. Các kết quả phát hiện âm tính chỉ được báo cáo nếu mẫu đáp ứng ngưỡng iFACT. Nếu một mẫu không đạt ngưỡng này, đánh giá QC sẽ hiển thị FAILED iFACT (KHÔNG ĐẠT iFACT) và hệ thống sẽ không tạo ra kết quả.

Ngoài iFACT, Phần mềm xét nghiệm VeriSeq NIPT v2 cũng đánh giá một vài số liệu QC khác trong quá trình phân tích. Các số liệu bổ sung bao gồm số liệu đánh giá về tính đồng nhất của phạm vi bao phủ trên các vùng hệ gen tham chiếu và sự phân bố độ dài phân đoạn cfDNA. Đánh giá QC hiển thị cờ QC hoặc lỗi QC đối với bất kỳ số liệu nào nằm ngoài phạm vi có thể chấp nhận. Trong trường hợp lỗi QC, hệ thống không tạo ra kết quả cho mẫu. Nếu một mẫu không đạt yêu cầu QC, mẫu có thể được xử lý lại với điều kiện có đủ thể tích huyết tương trong ống lấy máu.

VeriSeq NIPT Solution v2 sẽ tạo dữ liệu để sử dụng trong báo cáo cuối cùng. Báo cáo cuối cùng cho bệnh nhân sẽ không được tạo. Khách hàng chịu trách nhiệm về thiết kế và nội dung của báo cáo cuối cùng sẽ được chuyển đến điểm của bác sĩ chăm sóc. Illumina không chịu trách nhiệm về tính chính xác của từ ngữ trong báo cáo cuối cùng cho khách hàng.



#### THẬN TRỌNG

Kiểm tra giá trị ước tính tỷ lệ DNA của thai nhi ở tất cả các mẫu. Nếu các giá trị ước tính tỷ lệ DNA của thai nhi giống nhau đối với tất cả các mẫu trong một lần chạy, tình trạng trộn lẫn mẫu có thể đã xảy ra và ảnh hưởng đến kết quả. Hãy liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina để được trợ giúp khắc phục sự cố.

## Đặc điểm hiệu suất

Dữ liệu sau đây trong phần hiệu suất lâm sàng và hiệu suất phân tích được tạo bằng các quy trình và tài liệu đã nêu trong Hướng dẫn sử dụng bắt đầu với huyết tương. Tất cả dữ liệu giải trình tự cho phần này được tạo trên hệ thống giải trình tự NextSeq 500/550 hoặc hệ thống giải trình tự NextSeq 550Dx có cấu hình như sau:

	NextSeq 500/550	NextSeq 550Dx
Phần mềm trên thiết bị	Phần mềm điều khiển NextSeq 4.0	Phần mềm vận hành NextSeq 1.3
Phiên bản bộ kit thuốc thử	Bộ kit thuốc thử hiệu suất cao NextSeq 500/550 v2.5 (75 chu kỳ)	Bộ kit thuốc thử hiệu suất cao NextSeq 550Dx v2.5 (75 chu kỳ)
Phương pháp giải trình tự	Chạy giải trình tự kết đôi 2x36 ở chế độ công suất cao	Chạy giải trình tự kết đôi 2x36 ở chế độ công suất cao

## Nghiên cứu lâm sàng

Độ chính xác về mặt lâm sàng của VeriSeq NIPT Solution v2 đã được chứng minh bằng cách đánh giá mẫu huyết tương của phụ nữ mang thai đơn và thai đôi. Mẫu được lấy từ các mẫu huyết tương trong ngân hàng đã được xóa nhận dạng và được xử lý trước đó từ các mẫu xét nghiệm máu toàn phần ngoại vi. Hơn 45.000 mẫu đã được xem xét để đưa vào nghiên cứu. Những mẫu này đã trải qua quá trình sàng lọc trước sinh để tìm đột biến dị bội nhiễm sắc thể ở thai nhi cũng như trường hợp mất đoạn và lặp đoạn một phần có kích thước từ 7 Mb trở lên. Tất cả các mẫu từ thai kỳ bị ảnh hưởng và một tập con của các mẫu liên tiếp từ thai kỳ không bị ảnh hưởng đều đủ điều kiện đưa vào thử nghiệm nếu có kết quả lâm sàng và đáp ứng các tiêu chí về mẫu. Có tổng cộng 2.335 mẫu trong tập hợp phân tích thử nghiệm. Tập hợp này gồm 2.328 mẫu từ các trường hợp thai đơn và 7 mẫu từ các trường hợp thai đôi.

Trong số các mẫu này, có 28 (1,2%, 28/2335) mẫu không đạt yêu cầu đối chứng chất lượng (QC) xét nghiệm ở lần đầu tiên trong quá trình phân tích dữ liệu giải trình tự đã hoàn thành:

- 27 mẫu không đạt xét nghiệm iFACT (một XO, 26 mẫu không bị ảnh hưởng)
- 1 mẫu không đạt vì dữ liệu nằm ngoài khoảng dự kiến

### Thông tin nhân khẩu học và đặc điểm thai kỳ

Tuổi người mẹ, tuổi thai và kỳ 3 tháng trong thai kỳ được tóm tắt trong [Bảng 7](#) cho các mẫu trong quá trình sàng lọc toàn bộ hệ gen, bao gồm cả các mẫu khám đã biết.

Thông tin nhân khẩu học được đánh giá giữa nhóm thuần tập cơ bản và toàn bộ hệ gen và cho thấy không có sự khác biệt về mặt thống kê. Các thông tin nhân khẩu học và đặc điểm thai kỳ đều giống nhau dù có bao gồm thể khám đã biết hay không.

Bảng 7 Thông tin nhân khẩu học và đặc điểm thai kỳ

Số liệu thống kê tóm tắt	Toàn bộ hệ gen (bao gồm thể khảm đã biết)
Số mẫu	2307*
<b>Tuổi người mẹ – năm</b>	
Trung bình	35,08
Độ lệch chuẩn	4,04
Trung bình	34,95
Phân vị thứ 25, phân vị thứ 75	32,31, 37,79
Tối thiểu, tối đa	20,22, 53,02
<b>Tuổi thai khi lấy máu – tuần</b>	
Trung bình	10,93
Độ lệch chuẩn	1,20
Trung bình	10,57
Phân vị thứ 25, phân vị thứ 75	10,29, 11,14
Tối thiểu, tối đa	10,00, 27,86
<b>Kỳ 3 tháng của thai kỳ – n (%)</b>	
< Thứ nhất (<14 tuần)	2.252 (98%)
Thứ hai	54 (2%)
Thứ ba ( $\geq$ 27 tuần)	1 (0%)

\* Các mẫu cuối cùng được trình bày có 7 cặp song sinh.

## Hiệu suất lâm sàng

Các kết quả do VeriSeq NIPT Solution v2 phát hiện được so sánh với các kết quả tiêu chuẩn tham chiếu lâm sàng. Tất cả các mẫu nghiên cứu đều có kết quả tiêu chuẩn tham chiếu lâm sàng (chân lý lâm sàng) liên quan đến tình trạng đột biến dị bội nhiễm sắc thể của thai nhi cũng như các trường hợp mất đoạn và lặp đoạn một phần có kích thước từ 7 Mb trở lên. Kết quả tiêu chuẩn tham chiếu lâm sàng của các mẫu trong nghiên cứu này phụ thuộc vào kết quả phân tích nhiễm sắc thể hoặc khám sức khỏe trẻ sơ sinh với quá trình sàng lọc NIPT âm tính dựa trên NGS. Nhân viên nghiên cứu được đào tạo đã phân loại dữ liệu tiêu chuẩn tham chiếu lâm sàng theo tài liệu Mã hóa y tế từ nhà tài trợ.

Các phương pháp phân tích nhiễm sắc thể bao gồm kiểu hình nhân, lai tại chỗ phát huỳnh quang (FISH) hoặc lai so sánh hệ gen dựa trên microarray của nhiễm sắc thể (CMA). Quá trình phân tích nhiễm sắc thể được thực hiện trên máu hoặc nước bọt ngoại vi của trẻ sơ sinh hoặc trẻ nữ nhi, mẫu phôi thụ thai (POC), tế bào ối, gai nhau, mô nhau thai hoặc máu dây rốn sau sinh.

Theo định nghĩa, thể khảm là sự hiện diện của hai hoặc nhiều dòng tế bào có thành phần nhiễm sắc thể khác nhau trong một cá thể. Các dòng tế bào có nguồn gốc từ cùng một hợp tử. Loại và mức độ khảm sẽ khác nhau và phụ thuộc vào thời gian của các trường hợp khảm trong quá trình hình thành phôi và phát triển của thai nhi. Các loại thể khảm khác nhau xuất hiện trong các chẩn đoán trước sinh tùy thuộc vào sự phân bố của các dòng tế bào bất thường so với bình thường trên đơn bào nuôi, trung mô hoặc bào thai.<sup>10</sup> Tuy có thể thấy thể khảm ở bất kỳ nhiễm sắc thể bất thường nào, nhưng tỷ lệ phổ biến của thể khảm ở các thể tam nhiễm hiếm gặp cao hơn các thể tam nhiễm của nhiễm sắc thể 21, 18 và 13 (T21, T18 và T13).<sup>11</sup> Khi đánh giá hiệu suất, các trường hợp khảm đã được đưa vào phân tích toàn bộ hệ gen, vì mục đích của loại sàng lọc xét nghiệm này là phát hiện đột biến dị bội nhiễm sắc thể thường hiếm gặp (RAA).

## Hiệu suất sàng lọc cơ bản

Đối với quá trình sàng lọc cơ bản, trường hợp bất thường bao gồm T21, T18 và T13. Quá trình phân tích gồm tổng cộng 2.243 mẫu thai đơn và thai đôi. Cả 7 trường hợp thai đôi được phát hiện chính xác là T21 và không được báo cáo trong bảng sau.

Bảng 8 Độ nhạy và tính đặc hiệu của VeriSeq NIPT Solution v2 trong việc phát hiện thể tam nhiễm 21, 18 & 13 trong quá trình sàng lọc thai đơn cơ bản (ngoại trừ thể khảm đã biết)

	T21	T18	T13
Độ nhạy	> 99,9% (130/130)	> 99,9% (41/41)	> 99,9% (26/26)
Khoảng tin cậy 95% ở 2 phía	97,1%, 100%	91,4%, 100%	87,1%, 100%
Tính đặc hiệu	99,90% (1982/1984)	99,90% (1995/1997)	99,90% (2000/2002)
Khoảng tin cậy 95% ở 2 phía	99,63%, 99,97%	99,64%, 99,97%	99,64%, 99,97%

Hiệu suất xét nghiệm trong quá trình sàng lọc cơ bản trong **Bảng 8** được tính toán khi loại trừ một tập con gồm 64 mẫu bị ảnh hưởng bởi RAA, các trường hợp mất đoạn hoặc lặp đoạn một phần nhiễm sắc thể thường, hoặc thể khảm đã biết. 64 mẫu này bao gồm 8 thể khảm T21 và 3 thể khảm T18. 5 trong số 11 mẫu này được xác định là bị ảnh hưởng bởi sự bất thường do Phần mềm xét nghiệm VeriSeq NIPT v2 phát hiện.

## Hiệu suất sàng lọc toàn bộ hệ gen

Đối với quá trình sàng lọc toàn bộ hệ gen, trường hợp bất thường bao gồm thể tam nhiễm, thể đơn nhiễm và trường hợp mất đoạn hoặc lặp đoạn một phần có kích thước từ 7 Mb trở lên. Các mẫu sàng lọc toàn bộ hệ gen chứa 36 mẫu có thể khảm đã biết. Tổng cộng 2.307 mẫu thai đơn và thai đôi đã được thử nghiệm. Cả 7 trường hợp thai đôi được phát hiện chính xác là có nhiễm sắc thể T21 bất thường và không được báo cáo trong các bảng sau.

### Hiệu suất sàng lọc toàn bộ hệ gen trong việc phát hiện trường hợp bất thường

Bảng 9 Độ nhạy và tính đặc hiệu của VeriSeq NIPT Solution v2 trong việc phát hiện trường hợp bất thường khi sàng lọc toàn bộ hệ gen (bao gồm cả thể khảm đã biết)

	Độ nhạy	Tính đặc hiệu
% ước tính (n/N)	95,5% (318/333)	99,34% (1954/1967)
Khoảng tin cậy 95% ở 2 phía	92,7%, 97,3%	98,87%, 99,61%

### Hiệu suất sàng lọc toàn bộ hệ gen trong việc phát hiện đột biến dị bội nhiễm sắc thể thường hiếm gặp

Bảng 10 Độ nhạy và tính đặc hiệu của VeriSeq NIPT Solution v2 trong việc phát hiện đột biến dị bội nhiễm sắc thể thường hiếm gặp (RAA) khi sàng lọc toàn bộ hệ gen (bao gồm cả thể khảm đã biết)

	Độ nhạy	Tính đặc hiệu
% ước tính (n/N)	96,4% (27/28)	99,80% (2001/2005)
Khoảng tin cậy 95% ở 2 phía	82,3%, 99,4%	99,49%, 99,92%

### Hiệu suất sàng lọc toàn bộ hệ gen trong việc phát hiện trường hợp mất đoạn và lặp đoạn một phần

Bảng 11 Độ nhạy và tính đặc hiệu của VeriSeq NIPT Solution v2 trong việc phát hiện trường hợp mất đoạn và lặp đoạn một phần có kích thước từ 7 Mb trở lên khi sàng lọc toàn bộ hệ gen (bao gồm cả thể khảm đã biết)

	Độ nhạy	Tính đặc hiệu
% ước tính (n/N)	74,1% (20/27)	99,80% (2000/2004)
Khoảng tin cậy 95% ở 2 phía	55,3%, 86,8%	99,49%, 99,92%

## Sự khác biệt về hiệu suất giữa quá trình sàng lọc cơ bản và sàng lọc toàn bộ hệ gen

Phương pháp tính điểm cho các thể tam nhiễm thông thường và đột biến dị bội nhiễm sắc thể giới tính là giống nhau đối với cả quá trình sàng lọc cơ bản và sàng lọc toàn bộ hệ gen. Quá trình sàng lọc cơ bản chỉ áp dụng thuật toán cho T21, T18 và T13. Tuy nhiên, quá trình sàng lọc toàn bộ hệ gen mở rộng dựa trên phương pháp này để đánh giá tất cả các thể tam nhiễm và RAA cũng như các trường hợp lặp đoạn và mất đoạn một phần.

Có hai điểm khác biệt giữa báo cáo hiệu suất được mô tả trong quá trình sàng lọc cơ bản và sàng lọc toàn bộ hệ gen. Thứ nhất, đối với quá trình sàng lọc toàn bộ hệ gen, các mẫu có thể khả năng đã biết cho cả thể tam nhiễm thông thường và RAA cũng như các trường hợp mất đoạn và lặp đoạn một phần đã được đưa vào số liệu về hiệu suất. Thứ hai, quá trình sàng lọc toàn bộ hệ gen có thể ưu tiên báo cáo việc phát hiện lặp đoạn hoặc mất đoạn một phần hơn thể tam nhiễm hoàn toàn. Ngoài trường hợp lặp đoạn hoặc mất đoạn một phần, có thể thấy sự hiện diện của thể tam nhiễm hoàn toàn khi tham chiếu điểm số LLR được cung cấp trong báo cáo bổ sung.

## Bao gồm thể khảm trong quá trình sàng lọc toàn bộ hệ gen

Thể khảm được liệt kê là một hạn chế của xét nghiệm này. Khi có thể khảm, dấu hiệu bất thường của thai nhi sẽ giảm và do đó có thể khó phát hiện hơn mà không ảnh hưởng đến tính đặc hiệu tổng thể của xét nghiệm. Tuy nhiên, vì thể khảm phù hợp hơn với thành phần mở rộng nên các mẫu có thể khả năng đã được đưa vào quá trình sàng lọc toàn bộ hệ gen.

Trong 64 mẫu được đưa vào quá trình sàng lọc toàn bộ hệ gen thay vì sàng lọc cơ bản, 36 mẫu được xác định là có thể khảm theo tiêu chuẩn tham chiếu lâm sàng. Trong 36 mẫu này, 23 kết quả phát hiện phù hợp với tiêu chuẩn tham chiếu lâm sàng.

## Khả năng phát hiện trường hợp mất đoạn hoặc lặp đoạn một phần so với phát hiện đột biến dị bội toàn bộ nhiễm sắc thể

VeriSeq NIPT Solution v2 có các tùy chọn menu cho cả quy trình sàng lọc cơ bản và sàng lọc toàn bộ hệ gen.

Trong sàng lọc cơ bản, kết quả ANOMALY DETECTED (ĐÃ PHÁT HIỆN SỰ BẤT THƯỜNG) chỉ được báo cáo khi phát hiện đột biến dị bội hoàn toàn trên nhiễm sắc thể 21, 18 hoặc 13 và nếu đáp ứng tất cả các số liệu về đối chứng chất lượng. Trong sàng lọc toàn bộ hệ gen, hệ thống phát hiện đột biến dị bội trên tất cả nhiễm sắc thể thường và các trường hợp mất đoạn và lặp đoạn một phần có kích thước tối thiểu 7 Mb.

Trong khi sàng lọc toàn bộ hệ gen, hệ thống ưu tiên báo cáo trường hợp mất đoạn hoặc lặp đoạn một phần hơn kết quả phát hiện toàn bộ nhiễm sắc thể nếu kích thước vùng mất đoạn hoặc lặp đoạn một phần nhỏ hơn hoặc bằng 75% kích thước nhiễm sắc thể mà trường hợp được phát hiện. Nếu vùng mất đoạn và lặp đoạn một phần phát hiện được lớn hơn 75% kích thước nhiễm sắc thể, trường hợp sẽ được báo cáo là thể tam nhiễm hoặc thể đơn nhiễm hoàn toàn của toàn bộ nhiễm sắc thể. Do đó, vùng mất đoạn và lặp đoạn lớn đáng kể có kích thước nhỏ hơn 75% kích thước nhiễm sắc thể có thể là dấu hiệu của đột biến dị bội toàn bộ nhiễm sắc thể.

Trong tất cả các mẫu, điểm số LLR để phân loại toàn bộ nhiễm sắc thể sẽ có trong báo cáo bổ sung. Cần xem xét điểm số LLR theo ngưỡng được xác định trong [Hình 2 trên trang 40](#) trước khi diễn giải kết quả. Điểm số LLR ở cấp độ nhiễm sắc thể vượt quá ngưỡng sẽ hỗ trợ thêm cho việc diễn giải phù hợp với đột biến dị bội của toàn bộ nhiễm sắc thể.

Trong nghiên cứu lâm sàng, có hai mẫu thai đơn có vùng lặp đoạn lớn đáng kể (một mẫu trên nhiễm sắc thể 21 và một mẫu trên nhiễm sắc thể 18) nhỏ hơn 75% kích thước tương đối của nhiễm sắc thể (tham khảo [Bảng 12](#)). Cả hai trường hợp đều được báo cáo là lặp đoạn một phần thay vì thể tam nhiễm hoàn toàn của nhiễm sắc thể đó. Điểm số LLR cho những trường hợp này cao hơn ngưỡng phù hợp với kết quả bị ảnh hưởng của thể tam nhiễm hoàn toàn. Đối với kết quả phát hiện lặp đoạn một phần hay thể tam nhiễm hoàn toàn, việc quản lý theo dõi kết quả phát hiện NIPT dương tính sẽ tạo cơ hội thực hiện thử nghiệm xác nhận cho bệnh nhân thông qua chẩn đoán trước sinh.



Bảng 12 Ví dụ về các trường hợp lặp đoạn lớn được xác định trong quá trình sàng lọc toàn bộ hệ gen

	Chân lý lâm sàng	Đầu ra hệ thống toàn bộ hệ gen	Kích thước trường hợp bất thường (Mb)	% của nhiễm sắc thể	Điểm số LLR
Mẫu 1	Thai đơn thể tam nhiễm 21	Lặp đoạn một phần trên nhiễm sắc thể 21	22,50	48,9%	19,43
Mẫu 2	Thai đơn thể tam nhiễm 18	Lặp đoạn một phần trên nhiễm sắc thể 18	47,00	60,2	12,99

Tham khảo *Hướng dẫn về phần mềm VeriSeq NIPT Solution v2 (số tài liệu 1000000067940)* để biết thêm thông tin về các số liệu Đối chứng chất lượng được sử dụng để báo cáo kết quả đột biến dị bội.

### Nhiễm sắc thể giới tính

Kết quả nhiễm sắc thể giới tính của VeriSeq NIPT Solution v2 được so sánh với kết quả tiêu chuẩn tham chiếu lâm sàng và được tóm tắt trong bảng sau. Phần trăm tương hợp đã được tính toán cho mỗi nhiễm sắc thể giới tính trong từng kết quả tiêu chuẩn tham chiếu lâm sàng. Phần trăm tương hợp được tính bằng số mẫu trong đó kết quả phát hiện nhiễm sắc thể giới tính của VeriSeq NIPT Solution v2 khớp với phân loại tiêu chuẩn tham chiếu lâm sàng, chia cho tổng số mẫu có cùng phân loại tiêu chuẩn tham chiếu lâm sàng.

Bảng 13 Phần trăm tương hợp để phân loại giới tính thai nhi\*

Phân loại giới tính thai nhi		Kiểu hình từ hoạt động khám sức khỏe trẻ sơ sinh		Kết quả di truyền học tế bào							
Kết quả phát hiện	Kiểu hình nhân	Nữ	Nam	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYY	Khác**	Thiếu
Không phát hiện sự bất thường	XX	997	0	21	0	2	0	0	0	0	0
Không phát hiện sự bất thường	XY	0	966	0	15	0	0	0	0	0	1
Phát hiện sự bất thường	XO	0	0	0	0	19	0	0	1	0	0
Phát hiện sự bất thường	XXX	0	0	0	0	0	17	0	0	1	0
Phát hiện sự bất thường	XXY	0	0	0	0	0	0	23	0	1	0
Phát hiện sự bất thường	XYY	0	0	0	0	0	0	0	11	0	0
Tổng		997	966	21	15	21	17	23	12	2	1
Phần trăm tương hợp		100	100	100	100	90,5	100	100	91,7	Không áp dụng	Không áp dụng

\* Năm trường hợp thai đôi được phân loại chính xác là có Y. Hai trường hợp thai đôi được phân loại chính xác là không có Y.

\*\* Các kết quả di truyền học tế bào khác là XXXXX và XXYY.

### Giá trị dự đoán dương tính và âm tính của VeriSeq NIPT Solution v2

Giá trị dự đoán dương tính (PPV) và giá trị dự đoán âm tính (NPV) của thử nghiệm cung cấp thông tin liên quan đến khả năng của thử nghiệm trong việc hỗ trợ thông tin cho các quyết định lâm sàng dựa trên độ nhạy, tính đặc hiệu của thử nghiệm và xác suất trước khi thử nghiệm rằng thai nhi chịu ảnh hưởng của thể tam nhiễm (tỷ lệ phổ biến). Vì PPV và NPV phụ thuộc vào tỷ lệ phổ biến và tỷ lệ phổ biến của các đột biến dị bội này có thể khác nhau trên các quần thể đối tượng khác nhau, nên PPV và NPV đã được tính toán cho một khoảng giá trị phổ biến hợp lý dựa trên các giá trị độ nhạy và tính đặc hiệu quan sát được khi sàng lọc cơ bản (không có thể khảm đã biết) của nghiên cứu độ chính xác lâm sàng. **Bảng 17** dựa trên quá trình sàng lọc toàn bộ hệ gen (có thể khảm đã biết).

Bảng 14 Tỷ lệ phổ biến, PPV và NPV của thể tam nhiễm 21 trong sàng lọc cơ bản (không bao gồm thể khảm đã biết)

Tỷ lệ phổ biến (%)	PPV (%)	NPV (%)
0,05	33,17	> 99,99
0,10	49,82	> 99,99
0,20	66,53	> 99,99
0,50	83,29	> 99,99
1,00	90,93	> 99,99
1,50	93,79	> 99,99
2,00	95,29	> 99,99

Bảng 15 Tỷ lệ phổ biến, PPV và NPV của thể tam nhiễm 18 trong sàng lọc cơ bản (không bao gồm thể khảm đã biết)

Tỷ lệ phổ biến (%)	PPV (%)	NPV (%)
0,03	23,06	> 99,99
0,05	33,31	> 99,99
0,10	49,99	> 99,99
0,20	66,68	> 99,99
0,30	75,03	> 99,99
0,40	80,04	> 99,99
0,50	83,38	> 99,99

Bảng 16 Tỷ lệ phổ biến, PPV và NPV của thể tam nhiễm 13 trong sàng lọc cơ bản (không bao gồm thể khảm đã biết)

Tỷ lệ phổ biến (%)	PPV (%)	NPV (%)
0,01	9,10	> 99,99
0,02	16,68	> 99,99
0,05	33,37	> 99,99
0,10	50,05	> 99,99
0,20	66,73	> 99,99

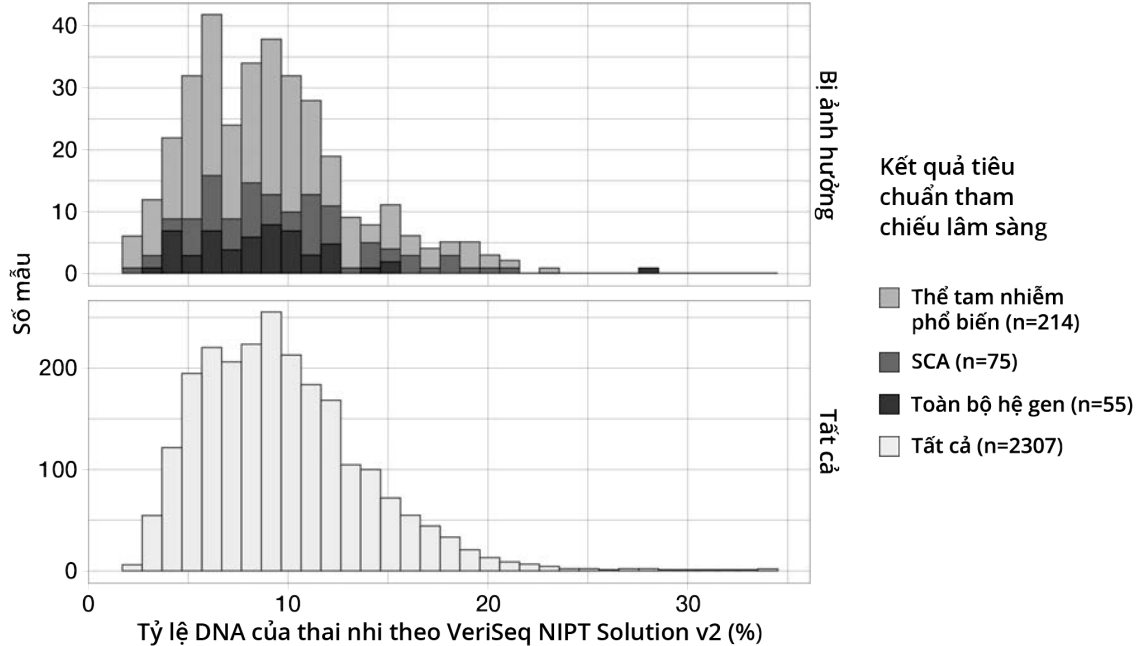
Bảng 17 Tỷ lệ phổ biến, PPV và NPV của trường hợp bất thường bất kỳ trong sàng lọc toàn bộ hệ gen (bao gồm thể khảm đã biết)

Tỷ lệ phổ biến (%)	PPV (%)	NPV (%)
0,01	1,42	> 99,99
0,02	2,81	> 99,99
0,05	6,74	> 99,99
0,10	12,64	> 99,99
0,20	22,45	99,99
0,50	42,07	99,98
1,00	59,34	99,95
1,50	68,75	99,93
2,00	74,68	99,91

## Sự phân bố tỷ lệ DNA của thai nhi

Sự phân bố Tỷ lệ DNA của thai nhi (FF) do VeriSeq NIPT Solution v2 ước tính từ quá trình sàng lọc toàn bộ hệ gen có thể khảm được hiển thị theo danh mục kết quả Tiêu chuẩn tham chiếu lâm sàng trong Hình 1.

Hình 1 Sự phân bố tỷ lệ DNA của thai nhi



5 mẫu có điểm bất thường thuộc nhiều loại.

Thể tam nhiễm phổ biến gồm các mẫu có thể tam nhiễm 21, 18 và/hoặc 13.

Toàn bộ hệ gen gồm các mẫu có RAA hoặc tình trạng mất đoạn và/hoặc lặp đoạn một phần.

Giá trị ước tính FF tổng thể dao động từ 2% đến 34% với mức trung bình là 9% và khoảng tứ phân vị (IQ) là từ 6% đến 12%. Giá trị ước tính FF trung bình đối với các trường hợp và thể tam nhiễm thông thường được phát hiện nhờ sàng lọc toàn bộ hệ gen là 8% và đối với SCA là 9%. Khoảng giá trị ước tính FF nhất quán đối với tất cả kết quả. Không có sự thay đổi rõ rệt nào về sự phân bố FF giữa các trường hợp, SCA và thể tam nhiễm thông thường được phát hiện nhờ sàng lọc toàn bộ hệ gen, hoặc tất cả mẫu trong kết quả phân tích toàn bộ hệ gen.

## Hiệu suất đối với trường hợp thai đôi

Ước tính hiệu suất của thể tam nhiễm 13, 18 và 21 và nhiễm sắc thể Y trong các trường hợp thai đôi

Do tỷ lệ phổ biến của thể tam nhiễm 21, 18 và 13 trong các trường hợp thai đôi thấp, nên chỉ có một số lượng nhỏ các mẫu thai đôi bị ảnh hưởng được sử dụng cho nghiên cứu lâm sàng. Để ước tính hiệu suất của VeriSeq NIPT Solution v2 trong các trường hợp thai đôi, các mô hình *mô phỏng trên máy tính* dựa trên kết quả quan sát từ các mẫu lâm sàng đã được sử dụng để mô phỏng các quần thể thai đôi. Việc mô phỏng này phù hợp với quần thể dự kiến sử dụng. Sự phân bố tỷ lệ DNA của thai nhi được xác định từ khoảng 4.500 mẫu thai đôi và so sánh với sự phân bố từ khoảng 120.000 mẫu thai đơn. Sự phân bố tỷ lệ DNA của thai nhi có điều kiện về tình trạng đột biến dị bội được xác định từ các phát hiện giả định thai đơn (1.044 thể tam nhiễm 21, 307 thể tam nhiễm 18 và 192 thể tam nhiễm 13). Việc kết hợp hai sự phân bố cho phép đưa ra suy luận về phát hiện đột biến dị bội ở các trường hợp song sinh. Các tập hợp song sinh từ hai hợp tử và đơn hợp tử được mô phỏng, và một giá trị trung bình có trọng số đại diện cho tỷ lệ phổ biến của chúng trong quần thể dự kiến sử dụng được xác định (2 hai hợp tử: 1 đơn hợp tử) để ước tính độ nhạy. Để xác định tính đặc hiệu, các tập hợp song sinh không bị ảnh hưởng đã được mô phỏng.

Tỷ lệ của mỗi mẫu mô phỏng bị ảnh hưởng bởi thể tam nhiễm (tức là tỷ lệ bị ảnh hưởng) được tính toán khác nhau cho từng loại mẫu:

- ▶ Đối với trường hợp song sinh đơn hợp tử, tỷ lệ bị ảnh hưởng của mỗi mẫu được thiết lập ở mức 1,0 vì thể tam nhiễm ảnh hưởng đến cả hai trẻ song sinh trong tình huống này.
- ▶ Đối với trường hợp song sinh hai hợp tử, người ta cho rằng chỉ có một trong hai trẻ song sinh bị ảnh hưởng (trường hợp cả hai trẻ song sinh hai hợp tử bị ảnh hưởng là cực kỳ hiếm). Các giá trị tỷ lệ bị ảnh hưởng được mô phỏng bằng sự phân bố tỷ lệ DNA của thai nhi đã biết như được xác định từ các mẫu song sinh lâm sàng khác biệt về giới tính. Một phương pháp tiếp cận thận trọng đã được thực hiện, theo đó giả định rằng trẻ song sinh bị ảnh hưởng luôn có tỷ lệ DNA của thai nhi thấp hơn trong số hai trẻ song sinh. Hệ số điều chỉnh được áp dụng cho các tỷ lệ DNA của thai nhi thấp hơn mức trung bình ở các trường hợp mang thai thể tam nhiễm 13 và 18.

▶ Đối với các cặp song sinh không bị ảnh hưởng, tỷ lệ bị ảnh hưởng của mỗi mẫu được thiết lập ở mức 0. Đối với các cặp song sinh bị ảnh hưởng bởi thể tam nhiễm 18 hoặc 13, tỷ lệ DNA của thai nhi tương ứng với tỷ lệ mẫu bị ảnh hưởng đã giảm. Mức độ giảm tương xứng với mức giảm trung bình về tỷ lệ DNA của thai nhi quan sát được trong dữ liệu lâm sàng ở trường hợp thai đơn thể tam nhiễm 18 hoặc 13 so với thai đơn chỉnh bội.

Sau đó, cả tỷ lệ DNA tổng thể của thai nhi và tỷ lệ bị ảnh hưởng của mỗi mẫu mô phỏng được sử dụng để tính điểm số đột biến dị bội bằng thuật toán VeriSeq NIPT Solution v2 tiêu chuẩn. Độ nhạy được tính toán bằng cách xác định tần suất điểm số đột biến dị bội của các cặp song sinh bị ảnh hưởng đã mô phỏng cao hơn ngưỡng đột biến dị bội tương ứng. Do đó, tính đặc hiệu được tính toán bằng cách xác định tần suất điểm số đột biến dị bội của các cặp song sinh không bị ảnh hưởng đã mô phỏng thấp hơn ngưỡng đột biến dị bội tương ứng (Bảng 18). Khoảng tin cậy 95% được ước tính dựa trên số lượng mẫu song sinh lâm sàng thực tế trong tập hợp dữ liệu ban đầu, vốn được phân loại là bị ảnh hưởng hoặc không bị ảnh hưởng bởi thể tam nhiễm liên quan.

Để ước tính độ nhạy của nhiễm sắc thể Y trong các mẫu song sinh, các tập hợp song sinh XY/XY và XX/XY đã được mô phỏng. Giá trị trung bình có trọng số đại diện cho tỷ lệ phổ biến của chúng trong quần thể dự kiến sử dụng đã được xác định (1 XY/XY: 1 XX/XY). Để ước tính tính đặc hiệu của nhiễm sắc thể Y ở các cặp song sinh, một tập hợp các cặp song sinh XX/XX đã được mô phỏng. Các giá trị tỷ lệ DNA tổng thể của thai nhi được mô phỏng theo sự phân bố đã biết của tỷ lệ DNA của thai nhi trong các mẫu song sinh lâm sàng.

Đối với các cặp song sinh XY/XY và XX/XY, điểm số nhiễm sắc thể Y tương ứng được ước tính bằng mối quan hệ đã biết giữa tỷ lệ DNA của thai nhi và điểm số nhiễm sắc thể Y trong các mẫu thai đơn lâm sàng được phân loại là nam giới. Riêng đối với các cặp song sinh XX/XY, các giá trị tỷ lệ DNA của thai nhi bị ảnh hưởng (tức là nam giới) được mô phỏng bằng sự phân bố tỷ lệ DNA của thai nhi đã biết quan sát được ở các cặp song sinh từ cùng một thai kỳ, như được xác định từ các mẫu song sinh lâm sàng khác biệt về giới tính. Một phương pháp tiếp cận thận trọng đã được thực hiện, theo đó tỷ lệ bị ảnh hưởng được chọn sao cho tương ứng với giá trị nhỏ hơn trong hai trẻ song sinh. Đối với mỗi mẫu XX/XY đã mô phỏng, điểm số nhiễm sắc thể Y được nhân với tỷ lệ bị ảnh hưởng.

Đối với các cặp song sinh XX/XX, điểm số nhiễm sắc thể Y được lấy mẫu từ điểm số quan sát được trong các mẫu thai đơn lâm sàng được phân loại là nữ. Sau đó, điểm số nhiễm sắc thể Y và tỷ lệ DNA tổng thể của thai nhi được sử dụng để phân loại từng mẫu đã mô phỏng là có hay không có nhiễm sắc thể Y bằng thuật toán VeriSeq NIPT Solution v2 tiêu chuẩn.

Độ nhạy được tính toán bằng cách xác định tần suất các cặp song sinh XY/XY hoặc XX/XY đã mô phỏng được phân loại chính xác là có nhiễm sắc thể Y. Tính đặc hiệu được tính toán bằng cách xác định tần suất các cặp song sinh XX/XX đã mô phỏng được phân loại chính xác là không có nhiễm sắc thể Y. Khoảng tin cậy 95% được ước tính dựa trên số lượng mẫu song sinh lâm sàng thực tế trong tập hợp dữ liệu ban đầu được phân loại là có hay không có nhiễm sắc thể Y.

Bảng 18 Giá trị ước tính cho thể tam nhiễm 21, 18 và 13 trong quần thể thai đôi được mô phỏng

	<b>Thể tam nhiễm 21</b>	<b>Thể tam nhiễm 18</b>	<b>Thể tam nhiễm 13</b>	<b>Sự xuất hiện của Y</b>
Độ nhạy	96,4%	95,7%	93,6%	> 99,9%
Khoảng tin cậy 95% ở 2 phía	(86,4%, 98,9%)	(68,3%, 99,4%)	(64,1%, 98,9%)	(99,9%, > 99,9%)
Tính đặc hiệu	99,9%	> 99,9%	> 99,9%	> 99,9%
Khoảng tin cậy 95% ở 2 phía	(99,8%, > 99,9%)	(99,9%, > 99,9%)	(99,9%, > 99,9%)	(99,7%, > 99,9%)

**Bảng 18** cung cấp giá trị ước tính điểm và khoảng tin cậy ước tính 95% cho độ nhạy và tính đặc hiệu của VeriSeq NIPT Solution v2 trong việc phát hiện thể tam nhiễm 21, 18, 13 và sự xuất hiện của Y trong quần thể thai đôi đã mô phỏng phù hợp với quần thể dự kiến sử dụng. Khoảng tin cậy được ước tính dựa trên số lượng mẫu song sinh lâm sàng đạt yêu cầu QC được phân loại là bị ảnh hưởng hoặc không bị ảnh hưởng bởi thể tam nhiễm liên quan. Phép tính độ nhạy giả định rằng 2/3 số trường hợp thai đôi bị ảnh hưởng là hai hợp tử với một trẻ song sinh bị ảnh hưởng, trong khi 1/3 số trường hợp thai đôi bị ảnh hưởng là đơn hợp tử với cả hai trẻ song sinh bị ảnh hưởng.

Các giá trị ước tính trong **Bảng 18** chỉ liên quan đến trường hợp thai đôi. Do tỷ lệ phổ biến còn thấp hơn nữa, nên dữ liệu về các trường hợp mang thai bậc cao hơn (sinh ba trở lên) không đủ để thiết lập các mô hình thống kê thích hợp nhằm ước tính độ chính xác của việc phát hiện đột biến dị bội.

## Hiệu suất phân tích

### Độ chụm

Để đánh giá và định lượng độ chụm của xét nghiệm, hoạt động phân tích lại dữ liệu bằng phần mềm quy trình phân tích VeriSeq NIPT Solution v2 từ hai nghiên cứu trước đó của VeriSeq NIPT Solution đã được thực hiện:

- ▶ Nghiên cứu về Độ tái lập đa vị trí gồm 3 lần chạy bởi 3 người vận hành tại 3 vị trí bằng 1 lô thuốc thử duy nhất trong tổng số 9 lần chạy.
- ▶ Nghiên cứu về Độ chụm trong phòng thí nghiệm gồm 12 lần chạy tại một vị trí duy nhất bằng 2 ML STAR, 2 hệ thống thiết bị giải trình tự và 3 lô thuốc thử giải trình tự.

Mục tiêu của nghiên cứu về độ chụm là định lượng độ chụm của xét nghiệm liên quan đến thể tam nhiễm 21 (T21) và Nhiễm sắc thể Y, cũng như ước tính độ biến thiên giữa các thiết bị, bộ kit chuẩn bị thư viện và các lô thuốc thử giải trình tự khác nhau.

Nhóm gộp T21 có tỷ lệ DNA của thai nhi là 5% đã được tạo bằng cách kết hợp cfDNA tách chiết từ huyết tương người mẹ của các thai phụ (có thai nhi bị ảnh hưởng bởi T21) và cfDNA tách chiết từ huyết tương của phụ nữ không mang thai. Nhóm gộp cfDNA nam (bào thai XY) từ huyết tương người mẹ có tỷ lệ DNA của thai nhi là 10% cũng được tạo. Bảng mẫu của mỗi nghiên cứu cho mỗi lần chạy bao gồm 4 mẫu lặp của nhóm gộp mẫu bị ảnh hưởng T21 có tỷ lệ DNA của thai nhi là 5% và 20 mẫu lặp của nhóm gộp cfDNA nam từ huyết tương người mẹ có tỷ lệ DNA của thai nhi là 10%. Thử nghiệm được thực hiện trong 10 ngày với tổng số 21 lần chạy cho cả hai nghiên cứu.

T21 và sự xuất hiện của nhiễm sắc thể Y được chọn để đánh giá dựa trên tính đại diện của các tình trạng lâm sàng và mức độ phức tạp của việc phát hiện trường hợp bất thường. Là nhiễm sắc thể thường nhỏ nhất ở người, kích thước của nhiễm sắc thể 21 có tác động trực tiếp đến độ nhạy của việc phát hiện T21, đặc biệt là ở các giá trị tỷ lệ DNA ở thai nhi thấp như giá trị được sử dụng trong nghiên cứu này. Nhiễm sắc thể Y, xuất hiện trong huyết tương người mẹ, có nguồn gốc hoàn toàn từ bào thai, do đó dễ phát hiện hơn khi xét nghiệm.

Giá trị độ lệch trung bình và tiêu chuẩn quan sát được đối với Điểm số LLR của Nhiễm sắc thể 21 và các giá trị nhiễm sắc thể chuẩn hóa (NCV) của Nhiễm sắc thể Y cho thấy độ lệch chuẩn (SD) của mẫu lặp là nguồn biến thiên lớn nhất. Sự thay đổi giữa các vị trí, thiết bị và lô thuốc thử đã khiến tính biến thiên tăng không đáng kể, với bằng chứng là sự chênh lệch giữa Tổng SD và SD của mẫu lặp trong **Bảng 19** và **Bảng 20**.

Bảng 19 Bản tóm tắt về Độ lệch chuẩn (SD) của phản hồi giải trình tự (độ tái lập) đa vị trí

Phản hồi	N	Trung bình	SD của mẫu lặp	Tổng SD tái lập*
Điểm số LLR của Nhiễm sắc thể 21	36	34,43	11,36	11,36
NCV của Nhiễm sắc thể Y	180	190,56	7,96	10,20

\* Tổng số bao gồm độ biến thiên do vị trí, người vận hành, lần chạy, ngày và mẫu lặp.

Bảng 20 Bản tóm tắt về Độ chụm của phản hồi giải trình tự trong phòng thí nghiệm

Phản hồi	N	Trung bình	SD của mẫu lặp	Tổng SD trong phòng thí nghiệm*
Điểm số LLR của Nhiễm sắc thể 21	48	36,01	9,07	10,25
NCV của Nhiễm sắc thể Y	240	198,68	7,63	7,82

\* Tổng số bao gồm độ biến thiên do thiết bị giải trình tự, lô thuốc thử, người vận hành, lần chạy, ngày và mẫu lặp.

Một nghiên cứu bổ sung đã được thực hiện để so sánh độ chụm của phương pháp giải trình tự VeriSeq NIPT Solution v2 (tổng độ lệch chuẩn) bằng phiên bản 2.0 của tế bào dòng chảy với phiên bản 2.5. Nghiên cứu bao gồm 2 loại tế bào dòng chảy (v2.0 và v2.5), 3 lô bộ kit giải trình tự, 4 hệ thống thiết bị và 2 lần chạy giải trình tự cho mỗi tổ hợp với tổng số 48 lần chạy tại một vị trí. Một nhóm gộp giải trình tự đã được chuẩn bị từ các khay cfDNA được chuẩn bị theo cách thủ công. Bảng mẫu bao gồm 4 mẫu lập của nhóm gộp mẫu bị ảnh hưởng T21 có tỷ lệ DNA của thai nhi là 5% và 20 mẫu lập của nhóm gộp cfDNA nam (bào thai XY) từ huyết tương người mẹ có tỷ lệ DNA của thai nhi là 10%. Kết quả của nghiên cứu được trình bày trong **Bảng 21** và chứng minh cho kết luận rằng không có sự khác biệt về độ chụm trong giải trình tự khi sử dụng tế bào dòng chảy v2.0 so với tế bào dòng chảy v2.5.

Bảng 21 Bản tóm tắt về độ chụm của phản hồi giải trình tự khi dùng tế bào dòng chảy v2.0 so với tế bào dòng chảy v2.5

Phản hồi	Số lượng quan sát mỗi phiên bản	Tổng SD của phiên bản v2.0*	Tổng SD của phiên bản v2.5*	Kết quả thống kê**
Điểm số LLR của Nhiễm sắc thể 21	96	9,56	8,44	Giá trị tương đương về mặt thống kê (trị số p=0,25)
NCV của Nhiễm sắc thể Y	480	7,74	7,38	Giá trị tương đương về mặt thống kê (trị số p=0,38)

\* Tổng số bao gồm độ biến thiên do thiết bị giải trình tự, lô thuốc thử, lần chạy, ngày và mẫu lập

\*\*Dựa trên kiểm định F về sự bằng nhau của các phương sai (bình phương độ lệch chuẩn)

## Nhiễm bản chéo

Hiện tượng nhiễm bản chéo đã được đánh giá trong quy trình công việc chuẩn bị mẫu của VeriSeq NIPT Solution. Nhóm gộp huyết tương của phụ nữ không mang thai (XX) và nam giới trưởng thành (XY) đã được thử nghiệm theo mô hình bàn cờ ở khuôn dạng khay 96 giếng trên 4 khay. N = 48 cho mỗi mẫu nữ và nam trên mỗi khay, tổng cộng 192 mẫu nữ và 192 mẫu nam. Không có mẫu nữ nào thể hiện phạm vi bao phủ của nhiễm sắc thể Y cao hơn về mặt thống kê so với cơ sở ước tính, cho thấy không có sự lây nhiễm chéo từ các mẫu nam trong cùng một khay. Không quan sát thấy sự lây nhiễm chéo có thể phát hiện được trong VeriSeq NIPT Solution.

## Các chất có thể gây trở ngại

Ảnh hưởng của các chất có thể gây trở ngại được đánh giá trong VeriSeq NIPT Solution bằng cách đánh giá hiệu suất xét nghiệm khi có các chất đó.

Albumin, bilirubin, hemoglobin và triglyceride (nội sinh) đã lần lượt được thêm vào nhóm gộp huyết tương của người mẹ trong trường hợp mang thai giới tính nữ (bào thai XX) không bị ảnh hưởng. Mỗi chất thử nghiệm được xét nghiệm ở hai nồng độ (n = 16 cho mỗi chất). Không quan sát thấy tình trạng gây trở ngại cho hiệu suất xét nghiệm.

Bảng 22 Các chất có thể gây trở ngại (nội sinh)

Chất thử nghiệm	Nồng độ thử nghiệm thấp (mg/mL)	Nồng độ thử nghiệm cao (mg/mL)
Albumin	35	50
Bilirubin	0,01	0,15
Hemoglobin	100	200
Triglyceride	1,5	5

DNA hệ gen của người mẹ (gDNA) xuất hiện tự nhiên trong huyết tương cũng có thể gây trở ngại cho hiệu suất xét nghiệm, vì có thể được tách chiết cùng với cfDNA của thai nhi. DNA hệ gen ở mức 1,6, 3,3 và 4,9 ng trên mỗi mẫu (tương ứng với độ lệch chuẩn 1, 2 và 3 ở trên nồng độ gDNA trung bình dự kiến sau 7 ngày bảo quản máu toàn phần<sup>12</sup>) đã được thêm vào cfDNA tách chiết từ huyết tương của người mẹ trong trường hợp mang thai giới tính nữ (bào thai XX) không bị ảnh hưởng. Sau đó, các mẫu được thử nghiệm trong VeriSeq NIPT Solution (n=16 cho mỗi nồng độ). Không quan sát thấy tình trạng gây trở ngại cho hiệu suất xét nghiệm khi có mức gDNA tăng cao.

20 chất có thể gây trở ngại dựa trên thuốc (ngoại sinh) thông dụng hoặc được kê đơn trong thai kỳ đã được thử nghiệm theo EP7-A2 (Thử nghiệm mức độ gây trở ngại trong hóa học lâm sàng; Hướng dẫn được phê duyệt - Ấn bản thứ hai).

20 chất có thể gây trở ngại được kết hợp thành bốn nhóm gộp, thêm vào huyết tương của người mẹ trong trường hợp mang thai giới tính nữ (bào thai XX) không bị ảnh hưởng và thử nghiệm trong VeriSeq NIPT Solution (N=16 cho mỗi nhóm gộp). Không quan sát thấy tình trạng gây trở ngại cho hiệu suất xét nghiệm khi có các chất ngoại sinh này.

Bảng 23 Các chất có thể gây trở ngại (ngoại sinh)

Nhóm gộp 1	Nhóm gộp 2	Nhóm gộp 3	Nhóm gộp 4
Acetaminophen	Diphenhydramine	Albuterol	Cetirizine
Acetylcysteine	Erythromycin	Bupropion	Dextromethorphan
Bisoprolol	Guaifenesin	Caffeine	Axit L-Ascorbic
Citalopram	Heparin	Sertraline	Metoprolol
Desloratadine	Lidocaine	Natri florua	Nadolol

## Giới hạn phát hiện

Theo định nghĩa, Giới hạn phát hiện (LOD) là tỷ lệ DNA của thai nhi tương ứng với xác suất phát hiện 95% của một tình trạng quan tâm, chẳng hạn như T21. Các nghiên cứu và phân tích thống kê đã được thực hiện để đánh giá LOD của VeriSeq NIPT Solution v2 đối với nhiều tình trạng thường gặp.

Xác suất phát hiện tình trạng quan tâm trong mẫu bị ảnh hưởng được xử lý bởi VeriSeq NIPT Solution v2 chủ yếu phụ thuộc vào ba yếu tố:

- ▶ tỷ lệ DNA của thai nhi
- ▶ độ sâu giải trình tự
- ▶ kích thước và độ phức tạp của vùng hệ gen quan tâm.

Giả sử độ sâu giải trình tự không đổi, mẫu có tỷ lệ phần trăm DNA của thai nhi cao hơn sẽ dễ phát hiện quang sai nhất định hơn mẫu có tỷ lệ phần trăm DNA của thai nhi thấp hơn. Ngược lại, giả sử tỷ lệ DNA của thai nhi không đổi, mẫu có độ sâu giải trình tự cao hơn sẽ dễ phát hiện quang sai nhất định hơn mẫu có độ sâu giải trình tự thấp hơn. Cuối cùng, giả sử độ sâu giải trình tự và tỷ lệ DNA của thai nhi không đổi, quang sai ở các vùng hệ gen nhỏ hơn hoặc phức tạp hơn sẽ khó phát hiện hơn quang sai ở các vùng hệ gen lớn hơn hoặc ít phức tạp hơn.

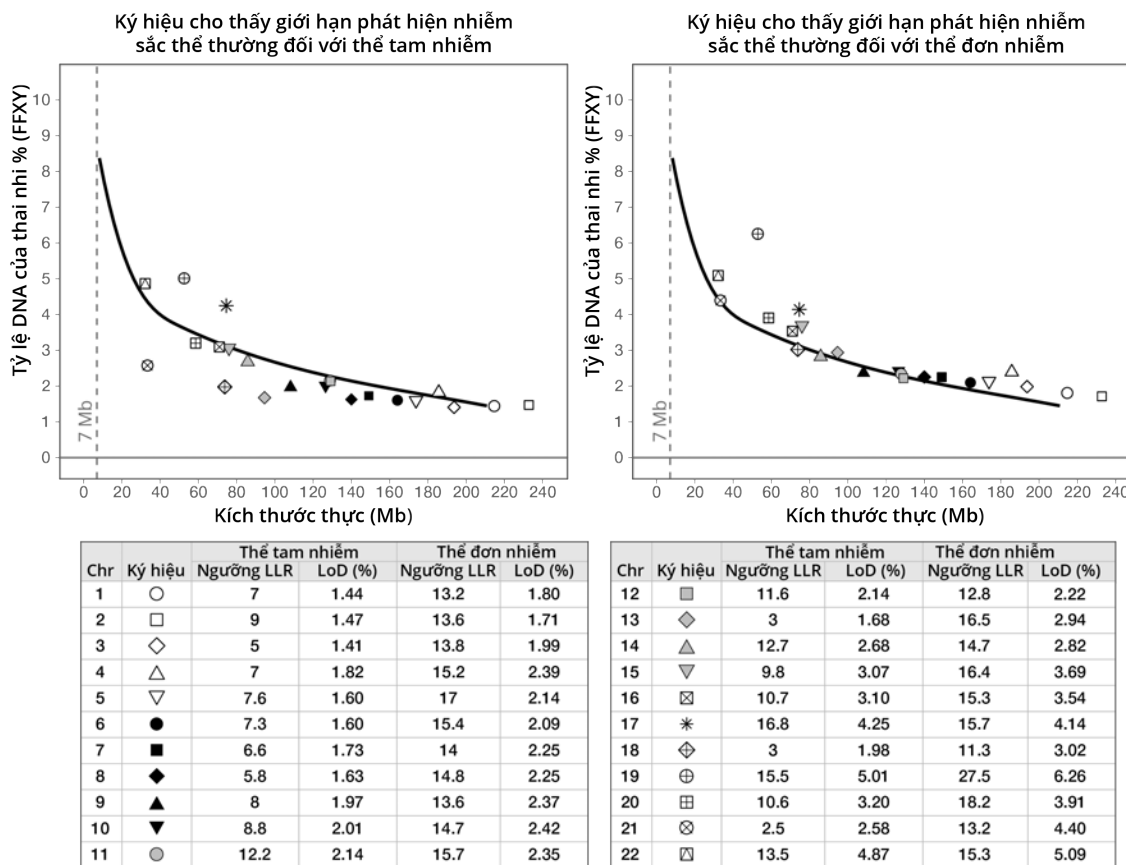
Để xác định LOD nhằm phát hiện T21, các mẫu bao gồm hỗn hợp của mẫu T21 đã gộp và mẫu không bị ảnh hưởng đã gộp được phân tích. Hai loại chất phân tích được trộn trong một chuỗi chuẩn độ để tạo ra một tập hợp gồm bảy mức tỷ lệ DNA của thai nhi (0, 2, 3, 4, 5, 6 và 10%). Mỗi mức được đại diện bởi tổng cộng 10 mẫu lặp.

Để tăng thêm độ phân giải của lưới tỷ lệ DNA của thai nhi cho quy trình phân tích LOD, dữ liệu từ nghiên cứu này đã được bổ sung dữ liệu thu được từ phương pháp pha loãng mô phỏng trên máy tính. Ảnh hưởng của việc pha loãng và chuẩn độ thử nghiệm được mô phỏng bằng cách trộn dữ liệu giải trình tự có kiểm soát. Dữ liệu từ thao tác này trong quá trình chuẩn độ mô phỏng trên máy tính bao gồm một tập hợp 14 mức tỷ lệ DNA của thai nhi (1,25, 1,50, 1,75, 2,00, 2,25, 2,50, 2,75, 3,00, 3,25, 3,50, 3,75, 4,00, 4,25 và 4,50%) với 32 mẫu lặp cho mỗi mức. Phương pháp phân tích xác suất đã được áp dụng cho dữ liệu kết quả để xác định LOD cho T21.

Một mô hình thống kê sử dụng tỷ lệ DNA của thai nhi, độ sâu giải trình tự và kích thước/độ phức tạp của hệ gen đã được phát triển độc lập để dự đoán xác suất phát hiện quang sai bất kỳ trong mẫu bất kỳ. Mô hình này được thiết lập từ dữ liệu tương ứng với tập hợp 1.405 mẫu XY. LOD cho T21, theo dự đoán của mô hình này, được xác định là phù hợp với mức ước tính dựa trên xác suất mô tả ở trên. Mô hình thống kê này được sử dụng để ước tính giá trị LOD cho đột biến dị bội trên tất cả nhiễm sắc thể thường và cho các trường hợp mất đoạn và lặp đoạn một phần.

**Hình 2** cho thấy xác suất phát hiện 95% đối với các vùng trung bình theo kích thước và các giới hạn phát hiện nhiễm sắc thể thường đối với tất cả thể tam nhiễm và tất cả thể đơn nhiễm.

Hình 2 Xác suất phát hiện 95% đối với các vùng trung bình theo kích thước cho VeriSeq NIPT Solution v2



## Khắc phục sự cố

### Khắc phục sự cố liên quan đến VeriSeq NIPT Solution v2

Chế độ lỗi	Kết quả có thể xảy ra	Diễn giải	Hành động khuyến nghị	Chú thích
Huyết tương đầu vào không đủ	Lỗi QC mẫu	Thể tích huyết tương không đủ	Lấy mẫu lại	Dựa trên việc kiểm tra thể tích huyết tương bằng mắt thường.
Lỗi ống máu	Không phân tách máu thành từng lớp	Mẫu không được ly tâm  Bảo quản hoặc vận chuyển mẫu không đúng cách (mẫu bị tan huyết)	Cần khởi động quá trình ly tâm và quay ống với lực thích hợp. Lấy mẫu lại.  Lấy mẫu lại.	Mẫu đông lạnh sẽ không phân tách. Điều kiện vận chuyển hoặc bảo quản không phù hợp có thể dẫn đến hiện tượng mẫu bị tan huyết.



Chế độ lỗi	Kết quả có thể xảy ra	Diễn giải	Hành động khuyến nghị	Chú thích
Tắc mẫu/Dòng chảy chậm	Nhiễm bẩn huyết tương	Các mẫu riêng lẻ có thể làm tắc khay gắn kết nếu có hiện tượng nhiễm bẩn đáng kể trong mẫu huyết tương	Kiểm tra mẫu, nếu huyết tương còn lại trong ống có màu đỏ hoặc trắng đục thì hủy mẫu và yêu cầu lấy mẫu lại. Nếu hình thức của mẫu bình thường, hãy thử nghiệm lại mẫu.	
	Tràn mẫu	Kiểm tra từng ống bằng mắt thường không đủ chính xác để xác định độ phù hợp của mẫu.	Loại bỏ mọi mẫu trong các giếng lân cận bị ảnh hưởng bởi hiện tượng tràn.	Có thể cho thấy điều kiện vận chuyển hoặc bảo quản mẫu không phù hợp trước khi xử lý. Bạn nên loại trừ các mẫu không phù hợp khỏi quá trình xử lý.
	Sự cố phần cứng	Phân hủy vật liệu chưa hết trong quá trình tách chiết	Thử nghiệm lại mẫu. Nếu vấn đề vẫn tiếp diễn ở vị trí giếng với các mẫu khác, hãy liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.	
Lỗi QC định lượng	Chạy định lượng không thành công - Giá trị trung bình theo đợt dưới mức tối thiểu	Năng suất quy trình không đủ	Định lượng lại. Nếu quá trình lặp lại cũng không thành công, hãy liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.	Các chỉ số vượt qua đường cong tiêu chuẩn cho thấy sự cố trong quá trình chuẩn bị thư viện.
	Chạy định lượng không thành công	Lỗi đường cong tiêu chuẩn	Định lượng lại. Nếu quá trình lặp lại cũng không thành công, hãy liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.	Các nguyên nhân phổ biến gây ra lỗi đường cong tiêu chuẩn bao gồm thuốc thử định lượng không được rửa đồng hoàn toàn, thể tích không nhất quán trong giếng do bị tràn và thuốc thử định lượng DNA suy giảm chất lượng (ví dụ: do tiếp xúc với ánh sáng).
Lỗi gộp nhóm	Không thể hoàn thành việc gộp nhóm mẫu	Quá trình phân tích gộp nhóm không thể tính toán khối lượng nhóm gộp thích hợp	Đánh giá lại nồng độ nhóm gộp mục tiêu, chạy lại quá trình phân tích gộp nhóm.	Có thể xảy ra khi tất cả các mẫu trong một đợt có giá trị định lượng thấp trong khi bạn đã đặt nồng độ nhóm gộp cao (thường cao hơn 3 đến 5 pm).
Lỗi QC phân tích mẫu riêng lẻ	Lỗi QC giải trình tự	Đầu vào di truyền không đủ HOẶC Chuyển nhầm trong quá trình xử lý mẫu HOẶC Lỗi thuốc thử giải trình tự	Kiểm tra tệp chú giải mẫu. Kiểm tra hiệu suất tương tự trên các mẫu trước đó ở vị trí khay liên quan. Thử nghiệm lại mẫu.	Cho biết đầu vào mẫu không hợp lệ hoặc chuyển nhầm trên ML STAR. Vật liệu di truyền không đủ có thể do thiếu DNA ngoại bào trong huyết tương hoặc DNA dựa trên tế bào khiến mẫu dùng để giải trình tự bị pha loãng quá mức.
	Tỷ lệ DNA của thai nhi (FF) hoặc số vị trí không loại trừ (NES) thấp	Dữ liệu tạo ra không đủ để báo cáo chính xác	Thử nghiệm lại từ huyết tương.	

## Khắc phục sự cố liên quan đến VeriSeq NIPT Microlab STAR

Bước quy trình	Mã lỗi	Hộp thoại lỗi	Mô tả	Giải pháp của người dùng
Tạo đợt	EM0044	The Batch ID entered contains forbidden characters. (ID đợt bạn nhập chứa các ký tự không được phép.)	VeriSeq NIPT Solution v2 chỉ chấp nhận số, chữ cái, dấu gạch dưới và dấu gạch ngang cho tất cả các trường dữ liệu.	Đổi tên đợt thành tên không chứa ký tự văn bản đặc biệt nào.
Tạo đợt	EM0051	The Batch ID is greater than 26 characters in length. (ID đợt dài hơn 26 ký tự.)	VeriSeq NIPT Solution v2 giới hạn độ dài của tên đợt là 26 ký tự trở xuống.	Đổi tên đợt thành tên có ít hơn 26 ký tự.
Tạo đợt	EM0076	Unable to connect to VeriSeq Onsite Server v2 (Không thể kết nối với VeriSeq Onsite Server v2)	VeriSeq Onsite Server v2 không phản hồi yêu cầu dữ liệu từ Workflow Manager (Trình quản lý quy trình).	Đảm bảo rằng: 1. ML STAR đã kết nối mạng. 2. VeriSeq Onsite Server v2 đang bật. 3. ML STAR có thể kết nối với VeriSeq Onsite Server v2 (qua yêu cầu ping). 4. Nếu các bước trên không giải quyết được sự cố, hãy gửi email cho bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina. 5. Kiểm tra chai chất thải chân không xem có đầy quá nửa không. Nếu có, hãy đổ hết chai chất thải.
Tạo đợt	EM0118	This batch has been failed and cannot be further processed. (Đợt này đã gặp lỗi và không thể xử lý tiếp.)	Đợt được chỉ định đã gặp lỗi và không thể xử lý tiếp.	Bản ghi của đợt trên VeriSeq Onsite Server v2 cho biết đợt được chọn đã gặp lỗi. Bạn không được xử lý tiếp. Hãy tạo đợt khác với các mẫu mong muốn.
Tạo đợt	Không áp dụng	This batch has already completed processing. Would you like to repool? (Đợt này đã xử lý xong. Bạn có muốn gộp nhóm lại không?)	Đợt được chỉ định đã được xử lý thông qua quá trình gộp nhóm. Bước xử lý duy nhất được phép là gộp nhóm lại.	Để gộp nhóm lại, chọn <b>Re-Pool (Gộp nhóm lại)</b> . HOẶC Hủy bỏ phương pháp và kiểm tra kỹ Tên đợt.
Tách huyết tương	WP0087	Duplicate sample barcodes loaded. (Mã vạch mẫu đã nạp bị trùng lặp.)	Các mẫu có mã vạch giống nhau đã được nạp lên hệ thống.	1. Làm theo lời nhắc của Workflow Manager (Trình quản lý quy trình) để xác định các mẫu trùng lặp. 2. Loại bỏ các mẫu đó rồi ghi nhãn lại hoặc thay thế chúng. 3. Nạp lại mẫu.
Tách huyết tương	EP0102	Samples specified in the Sample Sheet were not loaded. (Các mẫu được chỉ định trong Bảng thông tin mẫu đã không được nạp.)	Các mẫu có trong bảng thông tin mẫu không có trong mã vạch đã nạp.	1. Làm theo lời nhắc của Workflow Manager (Trình quản lý quy trình) để xác định các mẫu bị thiếu. 2. Thêm các mẫu bị thiếu vào đợt rồi nạp lại mẫu HOẶC Hủy bỏ phương pháp, sửa đổi bảng thông tin mẫu nếu cần, khởi động lại phương pháp.
Nạp khay	Không áp dụng	Venus Barcode Mask Error (Lỗi nguy trang mã vạch Venus)	Workflow Manager (Trình quản lý quy trình) thực thi liên kết chính xác khay với đợt bằng cách sử dụng tính năng nguy trang mã vạch Venus.	1. Kiểm tra vị trí khay để xác nhận đã bố trí khay đúng. 2. Đảm bảo rằng khay đã nạp đúng là khay cho đợt được chỉ định.

Bước quy trình	Mã lỗi	Hộp thoại lỗi	Mô tả	Giải pháp của người dùng
Tách chiết cfDNA	WE0150	Pressure in the vacuum chamber is too low. (Áp suất trong khoang chân không quá thấp.)	Workflow Manager (Trình quản lý quy trình) sẽ không tiếp tục hoạt động nếu cảm biến được áp suất đường chân không ở trạng thái nghỉ thấp hơn 400 Torr.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Kiểm tra xem có chỗ gấp khúc hoặc vật cản khác trong đường chân không hay không.</li> <li>2. Mở các kẹp xả đường chất thải, để áp lực xả ra, đóng hoàn toàn các kẹp đường xả.</li> <li>3. Đảm bảo rằng bộ điều khiển chân không và bơm đang bật.</li> <li>4. Nếu vấn đề vẫn tiếp diễn, hãy liên hệ với bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.</li> </ol>
	WE0153	Pressure in the vacuum chamber is too high. (Áp suất trong khoang chân không quá cao.)	Nếu áp suất chân không đo được quá cao trước khi bắt đầu kiểm soát áp suất, hệ thống có thể gặp trục trặc.	Hãy đảm bảo rằng tất cả các kết nối và đường chân không ở mặt sau của bộ điều khiển đều chắc chắn.
	WE0996	Vacuum failed to seal. (Không bịt kín được chân không.)	Hệ thống không tạo được lớp bịt chân không trên Khay gắn kết.	<p><b>LƯU Ý: Không chọn OK cho đến khi lớp bịt được khắc phục hoàn toàn.</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Đảm bảo rằng khay gắn kết nằm dựa vào ống góp chân không. Đeo găng tay rồi ấn mạnh khay gắn kết xuống.</li> <li>2. Chọn <b>OK</b> để tiếp tục bước cfDNA Extraction (Tách chiết cfDNA).</li> <li>3. Nếu thông báo lỗi này hiển thị quá ba lần trong một lần chạy, hãy gửi email cho bộ phận Hỗ trợ kỹ thuật của Illumina.</li> </ol>
	WM0219	If Vacuum is on, manually rest the pump. (Nếu Chân không đang bật, hãy cho bơm nghỉ theo cách thủ công.)	Chân không có thể duy trì sau khi hủy bỏ phương pháp trong quá trình tách chiết.	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Nhấn nút Power (Nguồn) trên Bộ điều khiển chân không để tắt chân không.</li> <li>2. Chờ 10 giây, rồi nhấn lại nút Power (Nguồn) để bật chân không.</li> </ol>
	EE0477	An error has occurred while moving a plate. (Đã xảy ra lỗi khi di chuyển khay.) (lỗi iSWAP)	Nếu gặp lỗi iSWAP (rơi khay, không nhặt lên được, v.v.), hệ thống sẽ nhắc người dùng hoàn tất việc di chuyển khay theo cách thủ công.	<p>Đảm bảo rằng khay có thể phục hồi được (vật liệu không tràn).</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Nếu không, hãy hủy lần chạy.</li> <li>- Nếu có, hãy làm theo hướng dẫn hiển thị để hoàn tất việc chuyển khay theo cách thủ công.</li> </ul>
	EE0519	Scanned barcode does not match binding plate barcode on record. (Mã vạch đã quét không khớp với mã vạch của khay gắn kết trong bản ghi.)	Khay Gắn kết đã nạp không khớp với mã vạch của khay đã tháo ra.	Đảm bảo rằng khay được nạp khớp với mã vạch đã ghi (xem nhật ký theo dõi để biết mã vạch dự kiến).

Bước quy trình	Mã lỗi	Hộp thoại lỗi	Mô tả	Giải pháp của người dùng
API	EA0372	Unable to connect to the data server. (Không thể kết nối với máy chủ dữ liệu.)	VeriSeq Onsite Server v2 không phản hồi yêu cầu dữ liệu từ Workflow Manager (Trình quản lý quy trình).	Đảm bảo rằng: 1. ML STAR đã kết nối mạng. 2. ML STAR có thể kết nối với VeriSeq Onsite Server v2 (qua yêu cầu ping). 3. VeriSeq Onsite Server v2 đang bật.
	EA0774	Connection Error The API server connection failed to validate. (Lỗi kết nối. Không xác thực được kết nối máy chủ API.)	VeriSeq Onsite Server v2 đã ngừng phản hồi yêu cầu dữ liệu từ Workflow Manager (Trình quản lý quy trình).	Đảm bảo rằng: 1. ML STAR đã kết nối mạng. 2. ML STAR có thể kết nối với VeriSeq Onsite Server v2 (qua yêu cầu ping). 3. VeriSeq Onsite Server v2 đang bật.
	EA0780	403: Invalid Request The current transaction is not valid. (403: Yêu cầu không hợp lệ. Giao dịch hiện tại không hợp lệ.)	Dữ liệu đã gửi vi phạm logic quy trình công việc của hệ thống.	Hãy tham khảo chi tiết lỗi để biết thêm thông tin. Các nguyên nhân phổ biến liên quan đến dữ liệu đầu vào quá dài hoặc vi phạm danh sách ký tự được chấp nhận.

## Tài liệu tham khảo

- 1 Nagaoka S, Hassold T, Hunt P. Human aneuploidy: mechanisms and new insights into an age-old problem. *Nat Rev Genet.* 2012;13(7):493-504. doi:10.1038/nrg3245.
- 2 Garnder RJ, Sutherland GR, Schaffer LG. *Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling.* 4th edition. New York (NY): Oxford University Press; 2012.
- 3 Akolekar R, Beta J, Picciarelli G, Ogilvie C, D'Antonio F. Procedure-related risk of miscarriage following amniocentesis and chorionic villus sampling: a systematic review and meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2015 Jan;45(1):16-26. doi: 10.1002/uog.14636.
- 4 American College of Obstetricians and Gynecologists. Screening for fetal aneuploidy. Practice Bulletin No. 163. *Obstet Gynecol.* 2016; 127(5):e123-137.
- 5 Gil MM, Accurti V, Santacruz B, Plana MN, Nicolaidis KH. Analysis of cell-free DNA in maternal blood in screening for fetal aneuploidies: updated meta-analysis. *Ultrasound Obstet Gynecol.* 2017 Apr 11. doi: 10.1002/uog.17484.
- 6 Bianchi D, Parker R, Wentworth J et al. DNA Sequencing versus Standard Prenatal Aneuploidy Screening. *N Engl J Med.* 2014;370(9):799-808. doi:10.1056/nejmoa1311037.
- 7 Benn P, Borrell A, Chiu RW, et al. "Position statement from the Chromosome Abnormality Screening Committee on behalf of the Board of the International Society for Prenatal Diagnosis." *Prenat Diagn* 35 (2015): 725-34.
- 8 Gregg AR, Skotko BG, Benkendorf JL, et al. Noninvasive prenatal screening for fetal aneuploidy, 2016 update: a position statement of the American College of Medical Genetics and Genomics. *Genet Med.* 2016: doi:10.1038/gim.2016.97.
- 9 Dondorp W, de Wert G, Bombard Y, et al. Non-invasive prenatal testing for aneuploidy and beyond: challenges of responsible innovation in prenatal screening. *Eur J Hum Genet.* 2015 Nov;23(11):1438-50.
- 10 Grati, et al. "Fetoplacental mosaicism: potential implications for false-positive and false-negative noninvasive prenatal screening results." *Genetics in Medicine* 16 (2014): 620–624.
- 11 Wellesley, et al. "Rare chromosome abnormalities, prevalence and prenatal diagnosis rates from population-based congenital anomaly registers in Europe." *European Journal of Human Genetics* 20 (2012): 521-526.
- 12 Norton S, Lechner J, Williams T, Fernando M et al. A Stabilizing Reagent Prevents Cell-free DNA Contamination by Cellular DNA in Plasma During Blood Sample Storage and Shipping as Determined by Digital PCR. *Clin. Biochem.* 2013;46: 1561–1565. doi: 10.1016/j.clinbiochem.2013.06.002.
- 13 Bianchi D W, et al. "Genome-wide fetal aneuploidy detection by maternal plasma DNA sequencing." *Obstet Gynecol* 119 (2012): 890-901.
- 14 Ehrich M, et al. "Genome-wide cfDNA screening: clinical laboratory experience with the first 10,000 cases." *Genet Med* 19 (2017): 1332-1337.
- 15 Fiorentino F, et al. "The clinical utility of genome-wide cfDNA screening." *Prenat Diagn* 37 (2017): 593-601.
- 16 Pertile, MD, et al. "Rare autosomal trisomies, revealed by maternal plasma DNA sequencing, suggest increased risk of fetoplacental disease." *Sci Transl Med* 9 (2017): ean1240.

## Lịch sử sửa đổi

Tài liệu	Ngày	Mô tả thay đổi
Tài liệu số 1000000079751 v06	Tháng 8 năm 2021	Đã cập nhật việc ghi nhãn địa chỉ của Illumina Hà Lan.
Tài liệu số 1000000079751 v05	Tháng 12 năm 2020	<ul style="list-style-type: none"> <li>Đã cập nhật các phần Nguyên tắc về quy trình, Cảnh báo và biện pháp phòng ngừa cũng như Thông tin trên nhãn sản phẩm với nội dung giải thích bổ sung để đáp ứng yêu cầu theo quy định.</li> <li>Cập nhật nhỏ về nội dung trong quy trình cho phù hợp với phong cách và tổ chức Illumina hiện tại.</li> <li>Đã sửa thông tin mô tả về nhiễm sắc thể 21 là "nhiễm sắc thể thường nhỏ thứ hai ở người" thành "nhiễm sắc thể thường nhỏ nhất ở người" trong phần Độ chụm của Hiệu suất phân tích.</li> <li>Đã bổ sung các tuyên bố thận trọng về việc sử dụng ngăn chứa không đúng cách và rủi ro khi trộn lẫn mẫu vào các phần Chuẩn bị tách huyết tương và Diễn giải kết quả.</li> <li>Đã bổ sung mã bộ phận phần mềm và máy chủ mới cho việc phát hành các bản cập nhật mã bộ phận phần mềm và mẫu máy chủ mới.</li> <li>Đã bổ sung các điểm cần thận trọng vào thông tin về quy trình và cách khắc phục sự cố để giải quyết và tránh hiện tượng tràn mẫu.</li> <li>Đã cập nhật thành phần hoạt tính trong Tiêu chuẩn định lượng DNA của thuốc thử trong Hộp phụ kiện cho phù hợp với Bảng dữ liệu an toàn.</li> <li>Đã cập nhật quy ước đặt tên của mô-đun Local Run Manager (Trình quản lý lượt chạy cục bộ) của VeriSeq NIPT cho nhất quán với các tài liệu khác.</li> <li>Đã bổ sung lịch sử sửa đổi.</li> </ul>
Tài liệu số 1000000079751 v04	Tháng 10 năm 2020	<ul style="list-style-type: none"> <li>Chỉnh sửa nhỏ.</li> </ul>
Tài liệu số 1000000079751 v03	Tháng 9 năm 2020	<ul style="list-style-type: none"> <li>Đã cập nhật danh sách vật liệu để trình bày thông số kỹ thuật của dụng cụ thí nghiệm cùng với các tùy chọn tương thích đã biết.</li> </ul>
Tài liệu số 1000000079751 v02	Tháng 2 năm 2020	<ul style="list-style-type: none"> <li>Đã cập nhật bản trình bày thông tin Hiệu suất lâm sàng để truyền đạt tốt hơn sự khác biệt giữa loại sàng lọc cơ bản và loại sàng lọc toàn bộ hệ gen.</li> <li>Đã bổ sung phần mới: Sự khác biệt về hiệu suất giữa quá trình sàng lọc cơ bản và sàng lọc toàn bộ hệ gen.</li> <li>Đã loại bỏ thông tin mâu thuẫn về tính tùy chọn của báo cáo bổ sung khỏi phần Nguyên tắc về quy trình.</li> <li>Đã cập nhật quy ước đặt tên của phần mềm VeriSeq NIPT Workflow Manager v2 trong toàn bộ tài liệu cho nhất quán về phong cách.</li> <li>Đã cập nhật việc ghi nhãn địa chỉ của Úc và Illumina Hà Lan để phản ánh các thay đổi gần đây.</li> </ul>
Tài liệu số 1000000079751 v01	Tháng 8 năm 2019	Đã loại bỏ bước trùng lặp trong quá trình Tách chiết cfDNA do lỗi phát hành phần mềm.
Tài liệu số 1000000079751 v00	Tháng 5 năm 2019	Phát hành lần đầu.

## Bảng sáng chế và nhãn hiệu

Tài liệu này và nội dung trong đó thuộc quyền sở hữu của Illumina, Inc. và các công ty liên kết của Illumina, Inc. ("Illumina") và chỉ dành cho việc sử dụng theo hợp đồng với khách hàng của Illumina liên quan đến việc sử dụng (các) sản phẩm được mô tả trong tài liệu này và không dành cho mục đích nào khác. Tài liệu này và nội dung trong đó sẽ không được sử dụng hay phân phối vì bất kỳ mục đích nào khác và/hoặc không được truyền tải, tiết lộ hay sao chép dưới bất kỳ hình thức nào khác mà không có sự cho phép trước bằng văn bản của Illumina. Illumina không chuyển nhượng bất kỳ giấy phép nào theo các bằng sáng chế, nhãn hiệu, bản quyền hoặc các quyền theo thông luật cũng như các quyền tương tự của bất kỳ bên thứ ba nào thông qua tài liệu này.

Các hướng dẫn nêu trong tài liệu này phải được tuân thủ nghiêm ngặt và rõ ràng bởi cá nhân được đào tạo phù hợp và có đủ trình độ nhằm đảm bảo sử dụng an toàn và đúng cách (các) sản phẩm được mô tả trong tài liệu này. Phải đọc và hiểu hoàn toàn tất cả nội dung của tài liệu này trước khi sử dụng (các) sản phẩm đó.

VIỆC KHÔNG ĐỌC TOÀN BỘ VÀ TUÂN THỦ RÕ RÀNG TẤT CẢ CÁC HƯỚNG DẪN NÊU TRONG TÀI LIỆU NÀY CÓ THỂ DẪN ĐẾN GÂY HƯ HỎNG (CÁC) SẢN PHẨM, GÂY TỔN THƯƠNG CHO CON NGƯỜI, BAO GỒM NGƯỜI DÙNG HOẶC NHỮNG NGƯỜI KHÁC VÀ GÂY THIẾT HẠI TÀI SẢN KHÁC, VÀ SẼ LÀM MẤT HIỆU LỰC BẢO HÀNH ÁP DỤNG CHO (CÁC) SẢN PHẨM ĐÓ.

ILLUMINA KHÔNG CHỊU BẤT KỲ TRÁCH NHIỆM NÀO PHÁT SINH TỪ VIỆC SỬ DỤNG KHÔNG ĐÚNG CÁCH (CÁC) SẢN PHẨM ĐƯỢC MÔ TẢ TRONG TÀI LIỆU NÀY (BAO GỒM CẢ CÁC BỘ PHẬN CỦA SẢN PHẨM HOẶC PHẦN MỀM).

© 2021 Illumina, Inc. Bảo lưu mọi quyền.

Tất cả các nhãn hiệu đều là tài sản của Illumina, Inc. hoặc các chủ sở hữu tương ứng. Để biết thông tin cụ thể về nhãn hiệu, hãy xem trang web [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## Thông tin liên hệ



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122 U.S.A.  
+1.800.809.ILMN (4566)  
+1.858.202.4566 (ngoài khu vực Bắc Mỹ)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com



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

### Nhà bảo trợ tại Úc

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

## Thông tin trên nhãn sản phẩm

Để có thông tin tham khảo đầy đủ về các ký hiệu có thể xuất hiện trên bao bì và nhãn sản phẩm, hãy tham khảo bản chú giải ký hiệu cho bộ kit của bạn tại địa chỉ [support.illumina.com](http://support.illumina.com).

Bản tóm tắt về an toàn và hiệu suất (SSP) có tại <https://ec.europa.eu/tools/eudamed>, sau khi Cơ sở dữ liệu châu Âu về thiết bị y tế (Eudamed) ra mắt. Tại đây, tài liệu được liên kết với UDI-DI cơ bản (0081627002NIPTRP).