



This Apostille does not certify the content of the document for which it is issued.

(Convention de La Haye du 5 Octobre 1961)

Seal



**NextSeq™ 550Dx v2.5 IVD reagent kit, 75 cycles
(NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75
cycles)) for nucleic acid sequencing**

I, Hanadi Ajami, hereby certify
that this is an original document.

263472

State of Maryland, Anne Arundel County, Sect.

I, SCOTT A. POYER, Clerk of the Circuit Court for Anne Arundel County, Maryland,
a court of record, do hereby certify that **Ahmad Miski** was a commissioned/appointed
and qualified Notary Public commencing on the 10th day of May, 2021.

In Testimony Whereof, I have hereunto set my hand and affixed the
seal of the court September 19, 2022

Scott A. Poyer

Scott A. Poyer, Clerk
Circuit Court for Anne Arundel County, Maryland



**NextSeq™ 550Dx v2.5 IVD reagent kit, 75 cycles
(NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75
cycles)) for nucleic acid sequencing**

Addendum for Instructions for Use

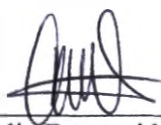
Manufacturer:

Illumina, Inc

Address:

5200 Illumina Way, San Diego, California 92122, USA

On behalf of Illumina, Inc.



Aurelia Brownridge
Sr. Regulatory Affairs Specialist
Illumina, Inc.

Date

September 19, 2022

I, Hanadi Ajami, hereby certify
that this is an original document.


State of Maryland, Anne Arundel County
Subscribed and Sworn to before me by
Hanadi Ajami.
Ahmad Miski
Notary Public
SEP 19 2022
My Commission expires on May 28, 2025



 LEVI P. HOPE
Notary Public - California
San Diego County
Commission # 2377029
My Comm. Expires Sep 30, 2025
SEE ATTACHMENT

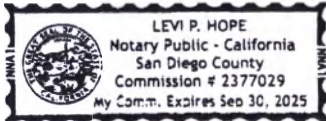
CALIFORNIA ACKNOWLEDGMENT

CIVIL CODE § 1189

A notary public or other officer completing this certificate verifies only the identity of the individual who signed the document to which this certificate is attached, and not the truthfulness, accuracy, or validity of that document.

State of California }
County of SAN DIEGO }
On 09/19/2022 before me, LEVI P HOPE, NOTARY PUBLIC
Date Here Insert Name and Title of the Officer
personally appeared AURELIA BROWN RIDGE
Name(s) of Signer(s)

who proved to me on the basis of satisfactory evidence to be the person~~s~~ whose name~~s~~ is/are subscribed to the within instrument and acknowledged to me that he~~s~~ she~~s~~ they executed the same in his~~r~~ her~~s~~ their authorized capacity~~(ies)~~, and that by his~~r~~ her~~s~~ their signature~~s~~ on the instrument the person~~s~~, or the entity upon behalf of which the person~~s~~ acted, executed the instrument.



I certify under PENALTY OF PERJURY under the laws of the State of California that the foregoing paragraph is true and correct.

WITNESS my hand and official seal.

Place Notary Seal and/or Stamp Above

Signature Levi P Hope
Signature of Notary Public

OPTIONAL

Completing this information can deter alteration of the document or fraudulent reattachment of this form to an unintended document.

Description of Attached Document

Title or Type of Document: ADDEUDUM INSTRUCTION FOR USE
Document Date: _____ Number of Pages: _____
Signer(s) Other Than Named Above: _____

Capacity(ies) Claimed by Signer(s)

Signer's Name: _____	Signer's Name: _____
☐ Corporate Officer – Title(s): _____	☐ Corporate Officer – Title(s): _____
☐ Partner – ☐ Limited ☐ General	☐ Partner – ☐ Limited ☐ General
☐ Individual ☐ Attorney in Fact	☐ Individual ☐ Attorney in Fact
☐ Trustee ☐ Guardian or Conservator	☐ Trustee ☐ Guardian or Conservator
☐ Other: _____	☐ Other: _____
Signer is Representing: _____	Signer is Representing: _____

1. Наименование медицинского изделия

Набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) для секвенирования нуклеиновых кислот, в составе:

1. Картридж с реагентами NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (75 cycles)) – 1 шт.
2. Картридж с буфером NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 (75 cycles)) – 1 шт.
3. Картридж с проточной ячейкой NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (75 cycles)) – 1 шт.
4. Буфер для разведения библиотек (Library Dilution Buffer) (NextSeq™ 550Dx Accessory Box (75 cycles)) – 1 пробирка (12 мл/пробирка).
5. Инструкция по применению – 1 шт.

(В дальнейшем именуемый NextSeq™, набор реагентов NextSeq™, NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kits v2.5, NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 циклов))

2. Назначение медицинского изделия

Набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) для секвенирования нуклеиновых кислот компании «Иллюмина» («Illumina») – это набор реагентов, предназначенный для определения нуклеотидной последовательности участков ДНК путем секвенирования библиотек ДНК, полученных из образцов материнской периферической цельной крови, взятых у беременных женщин на сроке беременности не менее 10 недель, с целью выявления генетических аномалий плода. Набор реагентов предназначен для работы с секвенатором нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx, методом секвенирования нового поколения (NGS), и предустановленным на секвенатор программным обеспечением для анализа данных. Для диагностики in vitro.

3. Описание компонентов медицинского изделия для диагностики in vitro

Компоненты набора реагентов

Каждый компонент набора реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) поставляется в отдельной коробке. Для обеспечения качества рабочих характеристик необходимо хранить компоненты набора при указанной температуре. Далее представлен список компонентов набора реагентов.

Таблица 1. Компоненты набора реагентов

Компонент	Количество	Описание	Условия хранения
Картридж с реагентами NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (75 cycles))	По 1 шт. на каждый набор	Реагенты для кластеризации и секвенирования	От -25°C до -15°C
Картридж с буфером NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 (75 cycles))	По 1 шт. на каждый набор	Буферы и промывочные растворы	От 15°C до 30°C
Картридж с проточной ячейкой NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (75 cycles))	По 1 шт. на каждый набор	Одноразовая для парно-концевого чтения стеклянная проточная ячейка	От 2°C до 8°C
Буфер для разведения библиотек (Library Dilution Buffer) (NextSeq™ 550Dx Accessory Box (75 cycles))	По 1 шт. на каждый набор	Буфер для разведения библиотек	От -25°C до -15°C

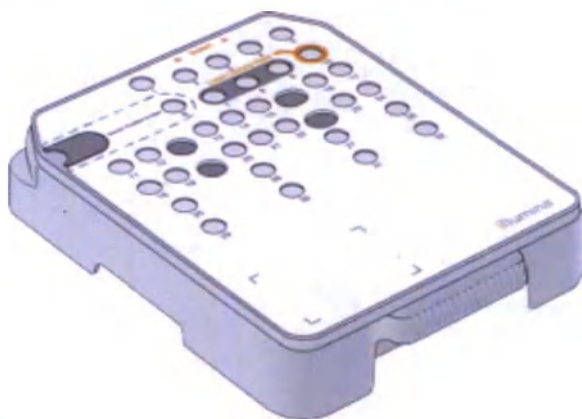
* Картридж с проточной ячейкой NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (75 cycles)) транспортируется при комнатной температуре.

Картридж с реагентами NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (75 cycles))

Картридж с реагентами представляет собой реагенты однократного применения с РЧИД-прослеживанием и запаянными фольгой резервуарами, предварительно наполненными реагентами для кластеризации и секвенирования.

Описание картриджа с реагентами

Рисунок 1. Картридж с реагентами



Картридж с реагентами включает в себя специальный резервуар для загрузки подготовленных библиотек. Как только начинается прогон, перенос библиотек из резервуара в проточную ячейку осуществляется автоматически.

Несколько запасных резервуаров оставлено для автоматической промывки после каждого прогона. Промывочный раствор перекачивается через всю систему из картриджа с буфером в запасные резервуары, а затем в контейнер для использованных реагентов.

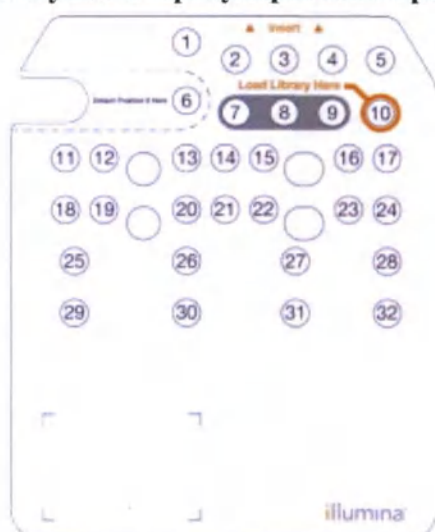


ПРЕДУПРЕЖДЕНИЕ

Данный набор реагентов содержит потенциально опасные химические вещества. Вред для персонала может возникнуть при вдыхании, употреблении внутрь, контакте с кожей и контакте с глазами. Надевайте средства индивидуальной защиты, включая защиту глаз, перчатки и лабораторный халат, в соответствии с риском воздействия. Обращайтесь с использованными реагентами как с химическими отходами и утилизируйте их в соответствии с применимыми региональными, национальными и местными законами и нормативными требованиями. Дополнительная информация о безопасности для здоровья и окружающей среды приводится в паспорте безопасности по ссылке support.illumina.com/sds.html.

Запасные резервуары

Рисунок 2. Пронумерованные резервуары



Позиция	Описание
7, 8 и 9	Запасные резервуары для праймеров по выбору пользователя
10	Загрузка библиотеки

Съемный резервуар в положении № 6

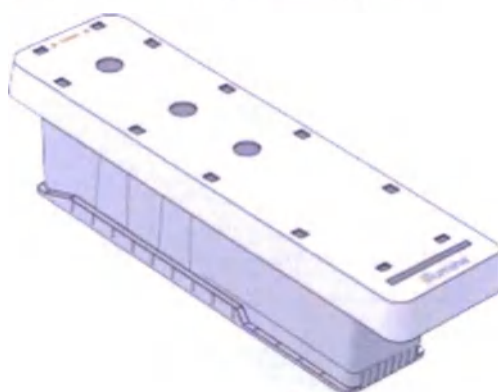
Предварительно наполненный картридж с реагентами включает денатурирующий реагент в позиции 6, содержащий формамид. Для облегчения безопасной утилизации неиспользованных реагентов после прогона секвенирования резервуар в позиции 6 является съемным.

Картридж с буфером NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 (75 cycles))

Описание картриджа с буфером

Картридж с буфером содержит три резервуара, предварительно наполненных буферными растворами и промывочным раствором. Содержимое картриджа с буфером достаточно для проведения секвенирования в одной проточной ячейке.

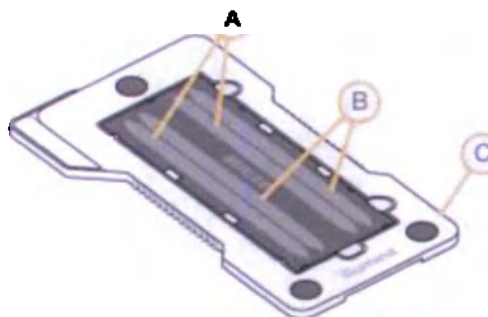
Рисунок 3. Картридж с буфером



Картридж с проточной ячейкой NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (75 cycles))

Описание проточной ячейки

Рисунок 4. Картридж с проточной ячейкой



A Пара дорожек A - дорожки 1 и 3

B Пара дорожек B - дорожки 2 и 4

C Каркас картриджа с проточной ячейкой

Проточная ячейка представляет собой подложку, выполненную из материала на основе стекла, на которой образуются кластеры и проводится реакция секвенирования. Проточная ячейка вложена в картридж для проточной ячейки.

Проточная ячейка содержит 4 дорожки, которые визуализируются попарно.

- Визуализация дорожек 1 и 3, называемых парой дорожек A, осуществляется одновременно.
- Визуализация дорожек 2 и 4, называемых парой дорожек B, осуществляется после получения изображений пары дорожек A.

Хотя проточная ячейка содержит 4 дорожки, на одной проточной ячейке можно выполнить секвенирование только одной библиотеки или группы объединенных библиотек. Библиотеки загружают на картридж с реагентами из одного резервуара, и их перенос на все 4 дорожки проточной ячейки осуществляется автоматически.

Визуализация каждой дорожки осуществляется в виде изображений небольшой площади, называемых блоками.

Буфер для разведения библиотек (Library Dilution Buffer) (NextSeq™ 550Dx Accessory Box (75 cycles))

Описание буфера для разведения библиотек

Буфер для разведения библиотеки находится в коробке с принадлежностями NextSeq™ 550Dx Accessory Box. Используйте буфер по мере необходимости для разведения библиотек в соответствии с инструкциями по разведению библиотек для достижения рекомендуемой плотности кластера.

Фотографическое изображение



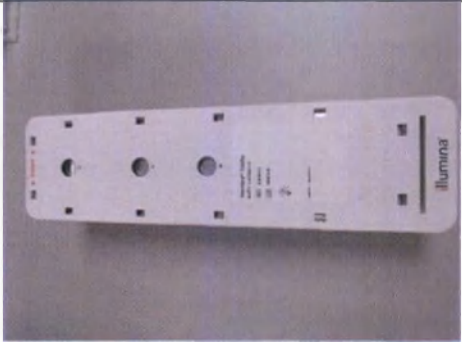
Технические характеристики набора и компонентов набора

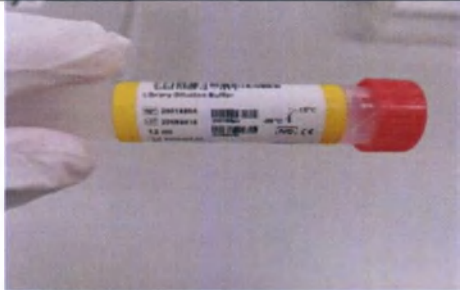
Таблица 2. Технические характеристики набора реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) для секвенирования нуклеиновых кислот, функциональность компонентов и их состав

Компонент/ Каталожный номер (PN)	Фотографии, функциональность и/или состав	Количество, объем, размеры	Описание внешнего вида и физических свойств/ характеристик
Картридж с реагентами NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (75 cycles)) PN 20019560 <i>Состав картриджа с реагентами:</i>	 В процессе производства картриджа с реагентами NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов, все реагенты составляются в нерасфасованном виде, а затем одновременно помещаются в картридж без использования отдельных пробирок или контейнеров. Таким образом, все реагенты описаны как «НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ». Предварительно заполненный одноразовый картридж с реагентами, в котором содержатся реагенты, необходимые для формирования кластеров и секвенирования.	Количество: 1 картридж Объем: Различный Размеры: Длина: 25,6 см ± 10% Ширина: 21,1 см ± 10% Высота: 5 см ± 10% Резервуары: Диаметр: 1,3 см ± 10% Объем приготовленного (разбавленного) образца библиотеки в резервуаре № 10 с маркировкой «Загрузите библиотеку в данный резервуар» (Load Library Here) - 1,3 мл	Реагенты для кластеризации и секвенирования Описание: н/п Физическое состояние: Н/П Цвет: бледно серый Запах: н/п
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ*, ДЕЗИНФИЦИРУЮЩИЙ РАСТВОР (BULK, BLEACH) 0,12% PN 15058107	Чистящий раствор, используемый для промывки линии шаблонов после цикла	Объем: 1,6 мл	Описание: Бесцветная жидкость Физическое состояние: Жидкость Цвет: Бесцветная Запах: Несильный запах хлора
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ*,	Инкорпорационная смесь содержит ДНК-полимеразу, нуклеотиды с присоединенными флуоресцентными метками и буферные растворы,	Объем: 38,2 мл	Описание: Бесцветная жидкость

Компонент/ Каталожный номер (PN)	Фотографии, функциональность и/или состав	Количество, объем, размеры	Описание внешнего вида и физических свойств/ характеристик
ICM, Dx (BULK, ICM, Dx) PN 20005421	используемые для инкорпорации нуклеотид обратимых терминаторов, которые участвуют в секвенировании путем синтеза.		Физическое состояние: Жидкость Цвет: Бесцветная Запах: Без запаха
НЕРАСФАСОВ АННЫЙ ПРОДУКТ*, CMS, Dx (BULK, CMS, Dx) PN 20005422	Раствор смеси для расщепления содержит буферные растворы и химические вещества, которые удаляют сигнал терминаторов и флуоресцентный сигнал из инкорпорированного нуклеотида с флуоресцентной меткой, что позволяет осуществлять инкорпорацию дополнительных нуклеотидов в более поздние раунды реакции секвенирования путем синтеза.	Объем: 32.5 мл	Описание: Бесцветная жидкость Физическое состояние: Жидкость Цвет: Бесцветная Запах: Без запаха
НЕРАСФАСОВ АННЫЙ ПРОДУКТ*, SRM, Dx (BULK, SRM, Dx) PN 20005423	Смесь сканирующих реагентов содержит буферные растворы для вымывания неинкорпорированных нуклеотидов с флуоресцентными метками и стабилизации сигнала, чтобы осуществить сканирование кластеров во время реакции секвенирования путем синтеза.	Объем: 49.1 мл	Описание: Бесцветная жидкость Физическое состояние: Жидкость Цвет: Бесцветная Запах: Без запаха
НЕРАСФАСОВ АННЫЙ ПРОДУКТ*, BMS, Dx (BULK, BMS, Dx) PN 20005424	Смесь для апификации содержит буфер, ДНК-полимеразу и нуклеотиды без меток, которые используются для мостиковой амплификации подготовленной библиотеки во время процесса формирования кластеров.	Объем: 56,8 мл	Описание: Бесцветная жидкость Физическое состояние: Жидкость Цвет: Бесцветная Запах: Без запаха
НЕРАСФАСОВ АННЫЙ ПРОДУКТ*, LDR1, Dx (BULK, LDR1, Dx) PN 20005425	Фармаид - денатурирующее средство во время формирования кластеров.	Объем: 29,0 мл	Описание: Бесцветная жидкость Физическое состояние: Жидкость Цвет: Бесцветная Запах: Без запаха/слабый запах
НЕРАСФАСОВ АННЫЙ ПРОДУКТ*, BP10, Dx (BULK, BP10,	Праймер СПС** для прочтения 1 - олигонуклеотид, используемый для инициации реакции СПС** для прочтения 1.	Объем: 1,7 мл	Описание: Бесцветная жидкость Физическое состояние:

Компонент/ Каталожный номер (PN)	Фотографии, функциональность и/или состав	Количество, объем, размеры	Описание внешнего вида и физических свойств/ характеристик
Dx) PN 20005426			Жидкость Цвет: Бесцветная Запах: Без запаха
НЕРАСФАСОВ АННЫЙ ПРОДУКТ*, BP11, Dx (BULK, BP11, Dx) PN 20005427	Праймер СПС** для прочтения 2 - олигонуклеотид, используемый для инициации реакции СПС** для прочтения 2.	Объем: 1,9 мл	Описание: Бесцветная жидкость Физическое состояние: Жидкость Цвет: Бесцветная Запах: Без запаха
НЕРАСФАСОВ АННЫЙ ПРОДУКТ*, BP14, Dx (BULK, BP14, Dx) PN 20005428	Праймеры СПС**, используемые для инициации множественного секвенирования 1 и 2	Объем: 2,8 мл	Описание: Бесцветная жидкость Физическое состояние: Жидкость Цвет: Бесцветная Запах: Без запаха
НЕРАСФАСОВ АННЫЙ ПРОДУКТ*, BLM1, Dx (BULK, BLM1, Dx) PN 20005429	Смесь для линеаризация 1 содержит фермент и буфер, необходимые для линеаризации кластеров первого прочтения при их подготовке к использованию в реакции СПС**.	Объем: 1,9 мл	Описание: Бесцветная жидкость Физическое состояние: Жидкость Цвет: Бесцветная Запах: Сильный
НЕРАСФАСОВ АННЫЙ ПРОДУКТ*, BLM2, Dx (BULK, BLM2, Dx) PN 20005430	Смесь для линеаризация 2 содержит фермент и буфер, необходимые для линеаризации кластеров второго прочтения при их подготовке к использованию в реакции СПС**.	Объем: 1,9 мл	Описание: Бесцветная жидкость Физическое состояние: Жидкость Цвет: Бесцветная Запах: Без запаха
НЕРАСФАСОВ АННЫЙ ПРОДУКТ*, BRM, Dx (BULK, BRM, Dx)	Смесь для амплификации для прочтения 2 обеспечивает повторное формирование кластеров, содержит буфер, ДНК полимеразу и нуклеотиды без меток, которые используются для мостиковой амплификации противоположной нити библиотеки во время процесса формирования кластеров для прочтения во втором	Объем: 2,2 мл	Описание: Бесцветная жидкость Физическое состояние: Жидкость Цвет: Бесцветная Запах:

Компонент/ Каталожный номер (PN)	Фотографии, функциональность и/или состав	Количество, объем, размеры	Описание внешнего вида и физических свойств/ характеристик
PN 20005431	направлении.		Содержит 2-меркаптоэтанол
Нерасфасованный продукт* BEX, Dx (Bulk, BEX, Dx) PN 20005432	Содержит буфер и фермент, важные для удаления праймеров, не объединенных в кластеры, для снижения отношения сигнал/шум во время визуализации проточных ячеек.	Объем: 2,7 мл	Описание: Бесцветная жидкость Физическое состояние: Жидкость Цвет: Бесцветная Запах: Без запаха
Картридж с буфером NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 (75 cycles)) PN 20019561	  Предварительно заполненный одноразовый картридж с буфером, который содержит водные буферные растворы с солями и денатурирующими средствами, необходимыми для формирования кластеров и секвенирования.	Количество: 1 картридж Объем: Различный Размеры: Длина А: 36,5 см ± 10% Длина В: 29,9 см ± 10% Ширина А: 9,7 см ± 10% Ширина В: 7 см ± 10% Высота: 10,2 см ± 10% Резервуары: Диаметр: 1,7 см ± 10%	Буферные и промывочные растворы Описание: н/п Физическое состояние: н/п Цвет: белый и прозрачный Запах: н/п
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ*, BV4, DX (BULK, BV4, DX) PN 20005434	Промывочный буфер для удаления остаточной смеси для расщепления во время цикла секвенирования.	Объем: 136,6 мл	Описание: Бесцветная жидкость Физическое состояние: Жидкость Цвет: Бесцветная Запах: Без запаха
НЕРАСФАСОВАННЫЙ	Промывочный буфер, используемый для автономного формирования кластеров,	Объем: 665,8 мл	Описание: Бесцветная

Компонент/ Каталожный номер (PN)	Фотографии, функциональность и/или состав	Количество, объем, размеры	Описание внешнего вида и физических свойств/ характеристик
ПРОДУКТ*, BB2, Dx (BULK, BB2, Dx) PN 20005435	секвенирования путем синтеза и повторного синтеза.		жидкость Физическое состояние: Жидкость Цвет: Бесцветная Запах: Без запаха
НЕРАСФАСОВ АННЫЙ ПРОДУКТ*, BB3, Dx (BULK, BB3, Dx) PN 20005436	Буфер, используемый во время формирования кластеров и промывки после цикла.	Объем: 141,3 мл	Описание: Бесцветная жидкость Физическое состояние: Жидкость Цвет: Бесцветная Запах: Без запаха
Картридж с проточной ячейкой NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (75 cycles)) PN 20031098	 Окончательная функциональная сборка проточной ячейки. Одноразовый субстрат из стекла и полимера с ковалентно связанными олигонуклеотидами для захвата и твёрдофазной амплификации и секвенирования мишеней, созданных во время приготовления библиотеки.	Количество: 1 проточная ячейка Объем: Н/П Размеры: Длина: 13,7 см ± 10% Ширина: 8 см ± 10% Высота: 0,8 см ± 10%	Одноразовая для парно-концевого чтения стеклянная проточная ячейка Описание: Н/П Физическое состояние: Н/П Цвет: Н/П Запах: Н/П
Буфер для разведения библиотек (Library Dilution Buffer) (NextSeq™ 550Dx Accessory Box (75 cycles)) PN 20018864	 Буфер, используемый для разведения библиотек перед секвенированием.	Количество: 1 пробирка Объем: 12 мл Размеры: Пробирка: Диаметр: 1,6 см ± 10% Высота: 11,9 см ± 10% Крышка: Диаметр: 2 см ± 10%	Буфер для разведения библиотек Внешний вид: бесцветная жидкость Физическое состояние: жидкость Цвет: Бесцветная Запах: без запаха pH: 8,5

* В процессе производства картриджа с реагентами NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (75 cycles)) и картриджа с буфером NextSeq™ 550Dx v2 (NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2), все реагенты сформированы в нерасфасованном виде, а затем одновременно дозируются в картридж без использования отдельных пробирок или контейнеров для реагентов. Поэтому все реагенты

описываются, как «нерасфасованные».

**** Секвенирование путем синтеза.**

4. Потенциальный пользователь

Набор реагентов NextSeq™ должен использоваться только квалифицированным, обученным (в области клинической лабораторной диагностики) персоналом.

Клиническая лабораторная диагностика. Набор реагентов NextSeq™ предназначен только для профессионального использования в лаборатории.

5. Область применения

Клиническая лабораторная диагностика.

6. Показания

Для диагностики *in vitro*.

Секвенирование библиотек ДНК, полученных из образцов материнской периферической цельной крови, взятых у беременных женщин на сроке беременности не менее 10 недель, как один из этапов выявления генетических аномалий плода путем полногеномного анализа.

7. Противопоказания

Противопоказаний к применению изделия медицинского назначения для диагностики *in vitro* не выявлено.

8. Ожидаемые и прогнозируемые побочные эффекты, связанные с применением изделия медицинского назначения в соответствии с показаниями к применению

Побочных эффектов при использовании изделия медицинского назначения для диагностики *in vitro* не выявлено.

9. Описание принципа процедуры

Принцип процедуры

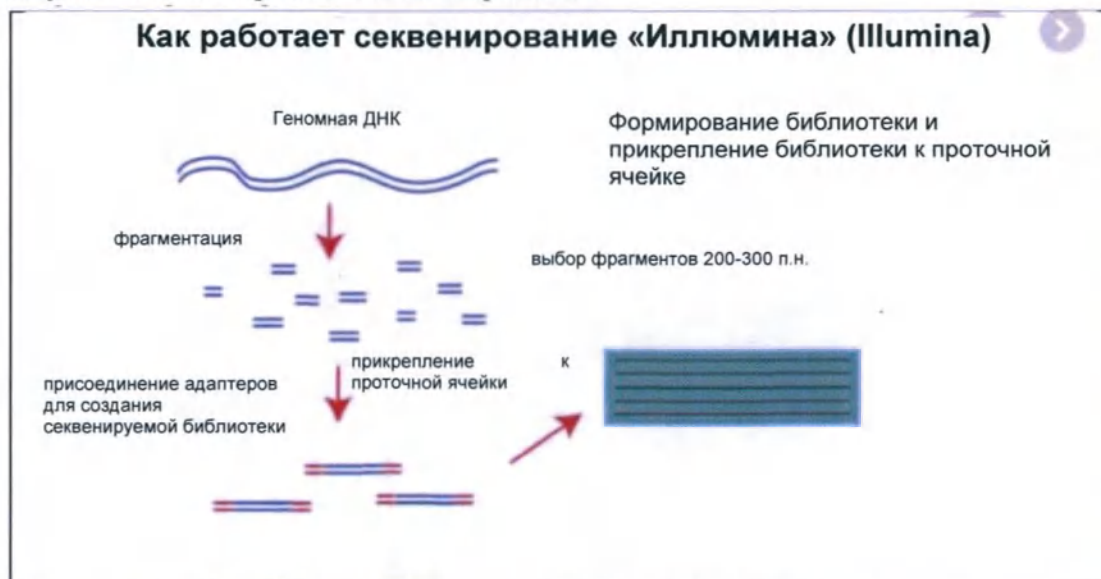
Набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) – это специализированный одноразовый набор реагентов для работы на секвенаторе нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx, методом секвенирования нового поколения (NGS). Для работы набора реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) используются библиотеки, полученные путем добавления к образцам ДНК индексов и последовательностей захвата*.

Молекулы ДНК образца библиотек связываются с поверхностью проточной ячейки и секвенируются на приборе с применением реагентов SBS (от sequencing by synthesis – метод секвенирования путем синтеза). SBS реагенты разработаны на основе метода обратимого терминирования, который используется для обнаружения флуоресцентно-меченных одиночных нуклеотидных оснований по мере их включения в синтезирующиеся цепи ДНК.

Число библиотек в образце для одного запуска зависит от мультиплексирования, поддерживаемого методом приготовления библиотек.

Для работы с набором реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5 (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5) используются библиотеки, полученные из ДНК путем добавления к амплифицируемым мишеням индексов и последовательностей захвата. Молекулы ДНК образца библиотек связываются с поверхностью проточной ячейки и секвенируются на приборе с применением реагентов SBS (от sequencing by synthesis – метод секвенирования путем синтеза). SBS реагенты разработаны на основе метода обратимого терминирования, который используется для обнаружения флуоресцентно-меченных одиночных нуклеотидных оснований по мере их включения в синтезирующиеся цепи ДНК. Количество библиотек образцов зависит от мультиплексирования, поддерживаемого методом подготовки исходной библиотеки. Пример секвенирования приведен на **Рисунке 5. Идентификация секвенирования.**

Рисунок 5. Идентификация секвенирования



*Секвенирование библиотек ДНК является одним из этапов процедуры выявления генетических аномалий плода путем полногеномного анализа. При осуществлении этого процесса используются «индексы», или «индексированные последовательности» - искусственные последовательности ДНК, применяющиеся как метки для фрагментов ДНК исследуемого образца, относящихся к одной библиотеке ДНК, а также «последовательности захвата» - искусственные последовательности ДНК, используемые как универсальные праймеры, которые позволяют захватывать библиотеку на твердой поверхности проточной ячейки для секвенирования с целью кластеризации и последующего секвенирования. При этом последовательности захвата не выполняют функцию зондов для обогащения библиотек ДНК, поскольку система VeriSeq™ NIPT Solution v2 не использует обогащение библиотек ДНК для NGS секвенирования. Индексы и последовательности захвата входят в состав адаптеров, которые присоединяются к фрагментированной ДНК, выделенной из образца в процессе создания библиотеки.

Описание всех этапов данной процедуры см. в разделе 13 «Описание аксессуаров и других устройств, включая изделия медицинского назначения, которые предназначены для использования в сочетании с ИВД МИ», подразделе «Система неинвазивного пренатального тестирования для определения множественных врожденных анеуплоидий ИВД VeriSeq™ NIPT Solution v2, анализ нуклеиновых кислот, в вариантах исполнения, номер по каталогу # 20030577», Принцип процедуры.

10. Способ применения ИВД МИ

Для получения полных инструкций см. Руководство по эксплуатации и Руководство справочное для секвенатора нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx, метод секвенирования нового поколения (NGS).

Подготовьте картридж с реагентами

Для успешного секвенирования тщательно следуйте указаниям для картриджа с реагентами.

- 1 Возьмите картридж с реагентами из морозильника при температуре от -25 °C до -15 °C.
- 2 Для размораживания реагентов выберите один из следующих методов: Не затопляйте картридж. После размораживания картриджа высушите его, прежде чем переходить к следующему этапу.

Температура	Время размораживания	Предел стабильности
от 15 °C до 30 °C на водяной бане	60 минут	Не более 6 часов
от 2 °C до 8 °C	7 часов	Не более 5 дней

ПРИМЕЧАНИЕ

Если на одной водяной бане размораживают более одного картриджа, следует предусмотреть дополнительное время для размораживания.

- 3 Переверните картридж 5 раз для перемешивания реагентов.

- 4 Осмотрите дно картриджа, чтобы убедиться, что реагенты разморожены и в них нет осадка. Убедитесь, что позиции 29, 30, 31 и 32 разморожены, поскольку они самые большие и оттаивают дольше всего.
- 5 Осторожно постучите по поверхности рабочего стола для удаления пузырьков воздуха. Для достижения наилучших результатов сразу же перейдите к внесению образца и запуску прогона.

Подготовка проточной ячейки

- 1 Возьмите новую проточную ячейку, хранящуюся при температуре от 2 °C до 8 °C.
- 2 Извлеките упаковку из коробки и оставьте при комнатной температуре на 30 минут.

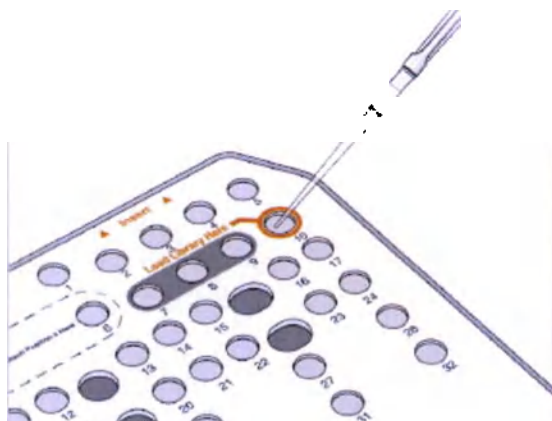
Подготовка библиотек к секвенированию

Денатурируйте и разбавьте библиотеки до вносимого объема 1,3 мл. На практике вносимая концентрация может варьироваться в зависимости от приготовления библиотеки и методов количественной оценки. Разведение библиотек образцов зависит от комплексности наборов олигонуклеотидов. Инструкции по приготовлению библиотек образцов для секвенирования, включая разведение и объединение библиотек, см. в разделе Инструкции по применению соответствующего набора для приготовления библиотек. При работе с секвенатором нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx требуется оптимизация плотности кластеров.

Внесение библиотеки на картридж с реагентами

- 1 Очистите пленку из фольги, покрывающую резервуар № 10 с надписью Load Library Here, безворсовой салфеткой.
- 2 Проколите пленку чистым 1 мл наконечником.
- 3 Внесите 1,3 мл подготовленных библиотек в резервуар № 10, помеченный как Load Library Here. Избегайте прикосновения к фольге при внесении библиотек.

Рисунок 6. Загрузка библиотек



Подготовка к прогону секвенирования

- 1 Войдите в систему секвенатора нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx, используя ваш пароль для Local Run Manager.
- 2 В главном окне программного обеспечения NOS выберите Sequence.
- 3 Выберите прогон из списка, затем выберите Next. Появится ряд окон настройки запуска в следующем порядке: Load Flow Cell, Load Buffer Cartridge, Load Reagent Cartridge и Pre-run Check.
- 4 При появлении окна Load Flow Cell очистите и затем установите проточную ячейку.
 - ▶ Извлеките проточную ячейку из пленочной упаковки.
 - ▶ Вскройте прозрачную пластиковую упаковку и извлеките проточную ячейку.
 - ▶ Очистите стеклянную поверхность проточной ячейки смоченной спиртом безворсовой салфеткой. Высушите стекло лабораторной безворсовой салфеткой.
 - ▶ Убедитесь, что стеклянная поверхность проточной ячейки чистая. При необходимости повторите этап очистки.
 - ▶ Удалите использованную проточную ячейку предыдущего прогона.

- Совместите проточную ячейку с направляющими и установите проточную ячейку в держатель.
- 5 Выберите **Load**.
Дверца автоматически закрывается, на экране появляется идентификатор проточной ячейки, проверяются датчики.
- 6 Следуйте указаниям программного обеспечения: опорожните контейнер с отработанными реагентами, установите картридж с буфером NextSeq™ 550Dx и установите картридж с реагентами NextSeq™ 550Dx.
Когда картриджи с буфером и реагентами NextSeq™ 550Dx установлены, программное обеспечение считывает и записывает сигналы радиочастотной идентификации (RFID). На экране появляются идентификаторы картриджей буфера и реагентов, проверяются датчики.
- 7 После завершения автоматической предварительной проверки выберите **Start**. (Не требуется, если выбрана конфигурация автоматического запуска.)
- 8 При начале прогона открывается экран Sequencing. На этом экране представлена визуальная информация о выполняемом прогоне, включая показатели интенсивности и качества (Q-показатели).

Для более детальной информации обратитесь к Руководству по эксплуатации и к Руководству справочному для секвенатора нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx, методом секвенирования нового поколения (NGS).

11. Принцип калибровки

Данный набор реагентов используется совместно с секвенатором нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx, методом секвенирования нового поколения (NGS) и не должен калиброваться.

12. Описание или полный список различных конфигураций/версий ИВД МИ

Набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) для секвенирования нуклеиновых кислот существует в единственной конфигурации/версии.

13. Описание аксессуаров и других устройств, включая изделия медицинского назначения, которые предназначены для использования в сочетании с ИВД МИ

Секвенатор нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx, методом секвенирования нового поколения (NGS), номер по каталогу # 20005715;

Система неинвазивного пренатального тестирования для определения множественных врожденных анеуплоидий ИВД VeriSeq™ NIPT Solution v2, анализ нуклеиновых кислот, в вариантах исполнения, номер по каталогу # 20030577.

Секвенатор нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx, методом секвенирования нового поколения (NGS), номер по каталогу # 20005715

Назначение

Секвенатор нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx, методом секвенирования нового поколения (NGS) предназначен для секвенирования библиотек ДНК при использовании наборов реагентов для диагностики *in vitro*. Секвенатор нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx используется с наборами реагентов: "Набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 300 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (300 cycles)) для секвенирования нуклеиновых кислот" и "Набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) для секвенирования нуклеиновых кислот" при использовании с медицинскими изделиями, такими как: "Набор для создания «библиотеки» нуклеиновых кислот ИВД TruSeq™ Custom Amplicon Kit Dx, в вариантах исполнения", "Система неинвазивного пренатального тестирования для определения множественных врожденных анеуплоидий ИВД VeriSeq™ NIPT Solution v2, анализ нуклеиновых кислот, в вариантах исполнения" и аналитическим программным обеспечением.

Принцип процедуры

Секвенатор нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx предназначен для секвенирования библиотек ДНК при использовании наборов для диагностики *in vitro*. В качестве входного материала в секвенатор

нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx используются библиотеки, полученные из ДНК при добавлении к амплифицируемой мишени индексных последовательностей и последовательностей захвата. Библиотеки образцов захватываются в проточной ячейке, секвенирование проводится с использованием метода секвенирования путем синтеза (далее SBS, от sequencing by synthesis). В химической технологии SBS для обнаружения отдельных азотистых оснований нуклеотидов по мере их включения в растущие цепи ДНК используют метод обратимых терминаторов. Программное обеспечение анализа в реальном времени (RTA от RealTime Analysis) выполняет анализ изображений и распознавание нуклеотидов и присваивает каждому основанию при каждом цикле секвенирования показатель качества. По завершении первичного анализа прибор может провести вторичный анализ для распознавания оснований. Секвенатор нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx использует различные вторичные модули анализа в зависимости от протокола. Для герминального и соматического модулей обработка данных включает в себя демультиплексирование, генерацию файла FASTQ, выравнивание, распознавание вариантов и создание файлов распознавания вариантов (форматы VCF от variant call format и gVCF от genomic variant call format). Файлы VCF и gVCF содержат информацию о вариантах, обнаруженных в конкретных позициях референтного генома.

Система неинвазивного пренатального тестирования для определения множественных врожденных анеуплоидий ИВД VeriSeq™ NIPT Solution v2, анализ нуклеиновых кислот, в вариантах исполнения, номер по каталогу # 20030577

Назначение

Система неинвазивного пренатального тестирования для определения множественных врожденных анеуплоидий ИВД VeriSeq™ NIPT Solution v2, анализ нуклеиновых кислот, в вариантах исполнения представляет собой диагностический тест in vitro, предназначенный для использования в качестве скринингового теста для выявления генетических аномалий плода путем полногеномного анализа образцов материнской периферической цельной крови, взятых у беременных женщин на сроке беременности не менее 10 недель. В диагностическом тесте VeriSeq™ NIPT Solution v2 применяется полногеномное секвенирование для выявления частичных делеций и дупликаций во всех аутосомах и наличие анеуплоидии для всех хромосом. В случае необходимости, включена возможность отдельной строкой в отчете об исследовании указывать наличие анеуплоидии по половым хромосомам (SCA). Этот диагностический тест нельзя использовать в качестве единственного основания для постановки диагноза или принятия решения о тактике ведения беременности.

Система VeriSeq™ NIPT Solution v2 включает: диспетчер задач VeriSeq™ NIPT v2 (VeriSeq™ NIPT Workflow Manager v2) на USB носителе для станции дозирующей автоматической VeriSeq NIPT Microlab STAR, наборы для приготовления образцов VeriSeq™ NIPT (VeriSeq™ NIPT Sample Prep Kits) на 24, 48, 96 образцов, набор вспомогательных материалов для приготовления образцов VeriSeq™ NIPT (VeriSeq™ NIPT Accessory Box), набор пробирок и этикеток для приготовления образцов VeriSeq™ NIPT (VeriSeq™ NIPT Workflow Tubes and Labels), а также программное обеспечение VeriSeq™ NIPT v2 (VeriSeq™ NIPT Assay Software v2) предустановленное на блок серверный VeriSeq™ v2 (VeriSeq™ Onsite Server v2). Система VeriSeq™ NIPT Solution v2 предназначена для использования с высокопроизводительным секвенатором (NGS), например, таким как секвенатор нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx, методом секвенирования нового поколения (NGS) с программным модулем Local Run Manager VeriSeq™ NIPT (Local Run Manager VeriSeq™ NIPT module) на USB носителе.

Принцип процедуры

Система VeriSeq™ NIPT Solution v2 представляет собой автоматизированное решение для лабораторного анализа НИПТ, которое включает в себя автоматизированные пробоподготовку и анализ данных секвенирования. Наборы для приготовления образцов VeriSeq™ NIPT Sample Prep Kit — это специализированные реагенты для однократного применения, которые используются вместе со станцией дозирующей автоматической VeriSeq NIPT Microlab STAR для подготовки серий из 24, 48 или 96 образцов для секвенирования следующего поколения (NGS). Данные, полученные в результате полногеномного секвенирования парноконцевыми прочтениями, анализируются специальным программным обеспечением VeriSeq™ NIPT v2 (VeriSeq™ NIPT Assay Software v2), с последующим созданием отчета об исследовании, в котором представлены результаты качественного анализа.

Рабочий процесс включает следующие этапы: сбор образцов, отделение плазмы, выделение свободно циркулирующей ДНК (сцДНК), подготовка библиотек, измерение концентрации библиотек, объединение библиотек, секвенирование и анализ, которые подробно описаны ниже:

► **Сбор образцов** — 7–10 мл цельной периферической крови матери собирают в специальную пробирку Streck для забора крови с целью выделения свободно циркулирующей ДНК (сцДНК) «Пробирка вакуумная стерильная для сбора и стабилизации образца цельной крови с целью анализа внеклеточной ДНК (Cell-Free DNA BCT), в вариантах исполнения», которая предотвращает лизис клеток, геномную контаминацию и стабилизирует цельную кровь.

► **Отделение плазмы** — в течение 5 дней после забора крови плазма отделяется от других компонентов путем центрифугирования стандартными методами. Станция дозирующая автоматическая VeriSeq NIPT Microlab STAR аспирирует и распределяет плазму по 96-лункам глубоководного планшета для последующей обработки. Если требуется повторное тестирование, то прошедшие обработку образцы в закрытых планшетах можно хранить при температуре 4°C в течение 5 дней (суммарно не более 10 дней после забора крови).



ВНИМАНИЕ!

Превышение вышеобозначенных сроков хранения может негативно повлиять на частоту неудачных результатов тестирования отдельных образцов.

► **Выделение свободно циркулирующей ДНК (сцДНК)** — очистка сцДНК из плазмы достигается путем адсорбции на ДНК-связывающем планшете и промывания ДНК-связывающего планшета для удаления контаминантов и элюирования.

► **Подготовка библиотек** — очищенные фрагменты сцДНК проходят процесс восстановления концов, путем преобразования «липких» 5' и 3' в тупые концы. Затем к концам 3' добавляют нуклеотид дезоксиаденозин для создания «липкого» конца, состоящего из одного основания. Индексированные адаптеры, содержащие «липкий» конец из одного основания 3'-дезокситимидина, затем лигируют с обработанными фрагментами сцДНК. Лигированную ДНК очищают с помощью твердофазных микросфер с обратной иммобилизацией. Каждый образец в наборе из 24, 48 или 96 получает уникальный индексированный адаптер.

Адаптеры служат для двух целей:

► Индексы позволяют идентифицировать образцы при последующем секвенировании.

► Индексированные адаптеры содержат последовательности, которые позволяют захватывать библиотеку на твердой поверхности проточной ячейки для секвенирования с целью кластеризации и последующего секвенирования.

► **Измерение концентрации** — количественную оценку полученной библиотеки оценивают с помощью флуоресцентного красителя с концентрацией, определенной по сравнению со стандартной кривой ДНК.

► **Объединение библиотек и секвенирование** — библиотеки объединяют вместе в пулы из 24 или 48 образцов в нормализованных количествах для минимизации вариаций в покрытии. Каждый пул затем секвенируют с использованием секвенатора нового поколения.

► Система VeriSeq™ NIPT Solution v2 не включает оборудование и расходные материалы для секвенирования.

► **Анализ** — для каждого образца анализ включает в себя следующие этапы:

► Идентификацию фрагментов библиотек по индексированным последовательностям и выравнивание парноконцевых прочтений на референсный геном человека.

► Оценка фетальной фракции библиотеки путем объединения информации о распределении длин фрагментов и геномных координат.

► После учета известных отклонений статистическая модель определяет области генома, которые недостаточно или чрезмерно представлены в библиотеке в соответствии с аномалией на рассчитанном уровне фетальной фракции.

► Отчет НИПТ представляет суммарные результаты для выбранного теста в меню, где для образцов, прошедших контроль качества (КК), указывается ANOMALY DETECTED (ОБНАРУЖЕНА АНОМАЛИЯ) или NO ANOMALY DETECTED (АНОМАЛИЙ НЕ ОБНАРУЖЕНО) с рассчитанным значением фетальной фракции.

► В дополнительном отчете приводятся количественные показатели, характеризующие каждую из обнаруженных аномалий. Использование дополнительного отчета не является обязательным.

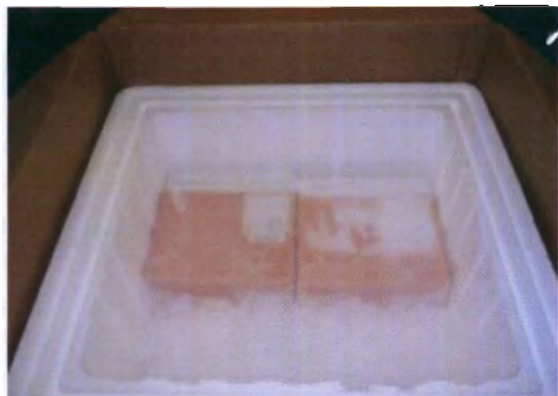
14. Описание упаковки медицинского изделия для диагностики in vitro

14.1. Транспортная упаковка

Транспортная упаковка содержит следующую информацию:

- Торговое наименование и полное наименование изделия;
- Наименование и адрес производителя изделия;
- Торговую марку;
- Требования в отношении условий хранения и транспортировки изделия;
- Номер партии (серии);
- Предупреждения и меры предосторожности для изделия, которым необходимо следовать, этикетки обслуживания
- Количество единиц потребительской упаковки товаров в групповой упаковке, многооборотной упаковке или транспортной упаковке;
- Вес нетто и брутто на групповой упаковке товаров, многооборотных контейнерах или транспортных контейнерах;
- Номер заказа;
- Масса нетто сухого льда (для упаковки с сухим льдом).

Каждая коробка предназначена для определенной температуры хранения и отправлена в одном из транспортных контейнеров.

Коробка	Описание	Фотографии
Коробки Хранение при (от -25 °C до -15 °C)	Коробка помещается в контейнер с сухим льдом (Dry Ice), а контейнер помещается в коробку из гофрированного картона.	 

Коробка Хранение при (от 15 °C до 30 °C)	Коробка, хранящиеся при комнатной температуре и не требующая хранения в холоде. помещена в коробку из гофрированного картона.	
Коробка Хранение при: (от 2 °C до 8 °C)	Коробка помещаются в гофрированную картонную коробку с синими упаковками охлаждающего льда/геля (Blue Ice/Gel).	

Маркировка:

Этикетка с номером заказа:

ORDER NUMBER :

NUMBER OF PIECES :

_____ of _____

TOTAL GROSS WEIGHT :

НОМЕР ЗАКАЗА:

КОЛИЧЕСТВО

ЕДИНИЦ:

_____ ИЗ _____

ОБЩИЙ ВЕС БРУТТО:

Shippers Declaration not Required.

Part B is Required

Dry Ice amount must be in kilograms

Note 2 lbs. = 1 kg.

Airwaybills/Airbills must have the following:

1. "Dangerous Goods - Shippers Declaration not required"
2. Dry Ice/9; UN1845;
3. _____ x _____ Kg III
(Number/Net) (Vol)

DRY ICE
_____ kg.

Shippers Name and Address
ILLUMINA, INC.
5200 Illumina Way
San Diego, CA 92122
USA

UN1845

9

Consignee Name and Address

Транспортная коробка с этикеткой для сухого льда:

Декларация грузоотправителя не требуется.

Часть В требуется

Массу сухого льда следует указать в килограммах

Примечание 2 фунта = 1 кг

Авианакладные должны содержать следующую информацию:

1. «Опасный груз - декларация грузоотправителя не требуется»
2. Сухой лед; 9; ООН1845;
3. _____ x _____ Кг III
[Количество упаковок]
[растворим в воде]

СУХОЙ ЛЕД
_____ кг.

Наименование и адрес отправителя
«ИЛЛЮМИНА, ИНК.» (ILLUMINA, INC.)
5200, Иллюмина Уэй (5200 Illumina Way)
Сан-Диего, Калифорния, 92122

ООН1845

Наименование и адрес получателя

Интерпретация символов

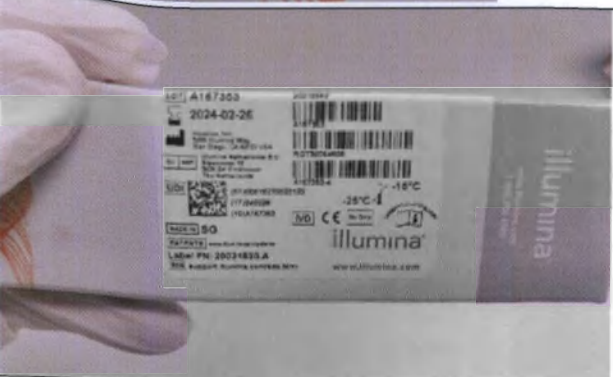
Символ	Определение
	Верх

	Хрупкое, обращаться осторожно
	Беречь от влаги
	Хранить замороженным
	Класс 9. Прочие опасные вещества и изделия
	Температурный диапазон
«Иллюмина®» (Illumina®)	Логотип компании

Каждый набор будет состоять из картриджа с реагентом, картриджа с буфером, коробки с принадлежностями (буфер для разведения библиотек) и картриджа с проточной ячейкой. Каждый набор будет состоять из четырех коробок. На коробках набора будет изображена графика Illumina Dx (в сером и белом цвете). Вся маркировка набора будет размещена на бирках Dx (серых и белых) с соответствующими шаблонами.

14.2. Вторичная упаковка

Коробка	Фотографии	Размеры коробки Длина (Д) Ширина (Ш) Высота (В)
Картридж с реагентами NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (75 cycles))		Размеры Д: 31,9 см ± 10% Ш: 26 см ± 10% В: 7,5 см ± 10% Масса: 1,288 кг ± 10%

Коробка	Фотографии	Размеры коробки Длина (Д) Ширина (Ш) Высота (В)
Картридж с буфером NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 (75 cycles))		Размеры Д: 37,5 см ± 10% Ш: 10,9 см ± 10% В: 10,9 см ± 10% Масса: 1,477 кг ± 10%
Картридж с проточной ячейкой NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (75 cycles))		Размеры картонной коробки Д: 16,5 см ± 10% Ш: 22 см ± 10% В: 2,5 см ± 10% Масса: 0,188 кг ± 10%
Буфер для разведения библиотек (Library Dilution Buffer) (NextSeq™ 550Dx Accessory Box (75 cycles))		Размеры Д: 12,5 см ± 10% Ш: 4 см ± 10% В: 2,5 см ± 10% Масса: 0,056 кг ± 10%

14.3. Маркировка на упаковке

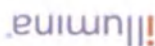
Таблица 3. Значения символов

Символ	Определение
	Обратитесь к инструкции по применению
	Изготовитель
	Предел температуры
	Использовать до/дата истечения срока годности (ГГГГ-ММ-ДД)
	Медицинское изделие для диагностики <i>in vitro</i>
	Код партии (номер серии)

REF	Номер по каталогу
SN	Серийный номер
CE	Соответствие требованиям Европейского Союза
EC REP	Уполномоченный представитель в Европейском сообществе
Rx Only	Только по рецепту
UDI	Идентификатор уникального прибора (Unique Device Identification)
MADE IN SG	Произведено в Сингапуре
PATENTS www.illumina.com/patents	ПАТЕНТЫ
SDS support.illumina.com/sds.html	Паспорт безопасности (Safety Data Sheet)
	Запрет на повторное применение
	Не допускать воздействия солнечного света
	Предупреждение о токсичности
	Осторожно!

Таблица 4. Этикетки на упаковке

№ по каталогу (PN)	Описание компонента	Образец этикетки
Этикетки на вторичной упаковке		
20019560	Картридж с реагентами NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (75 cycles))	

		EN: Next-generation sequencing (NGS) reagents FR: Réactifs de séquençage nouvelle génération (SNG) IT: Reagenti per il sequenziamento di nuova generazione (Next-Generation Sequencing, NGS) DE: NGS-Reagenzien (Next-Generation Sequencing, Sequenzierung der nächsten Generation) ES: Reactivos para secuenciación de nueva generación (NGS) Label PN: 20051329.A illumina
20019561	Картридж с буфером NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 (75 cycles))	 2022-07-21 LOT A000006 REF 20019561 75 cycles NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 15°C 30°C NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 75 cycles REF 20019561 LOT A000006 2022-07-21 illumina, inc. 6200 Illumina Way San Diego, CA 92122 USA illumina Netherlands B.V. Blauwoven 19 8426 DK Eindhoven The Netherlands EC REP CE IVD Rx Only MADE IN SG PATENTS www.illumina.com/patents Label PN: 20021627.A SOS support.illumina.com/eds.html 20019561 A000006 RGT23251611 A000006-2 15°C 30°C (01)00816270020132 (17)220721 (10)A000006 illumina www.illumina.com

		EN: Next-generation sequencing (NGS) reagents FR: Réactifs de séquençage nouvelle génération (SNG) IT: Reagenti per il sequenziamento di nuova generazione (Next-Generation Sequencing, NGS) DE: NGS-Reagenzien (Next-Generation Sequencing, Sequenzierung der nächsten Generation) ES: Reactivos para secuenciación de nueva generación (NGS) Label PN: 20051329.A illumina
20031098	Картридж с проточной ячейкой NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (75 cycles))	 NextSeq™ 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 75 cycles REF 20031098 LOT A000006 2022-07-22 Illumina, Inc. 5200 Illumina Way San Diego, CA 92161 USA EC REP Illumina Instruments S. r. l. Via Sesto 18 36060 Di Biadene della Battaglia (VI) Italia No Only CE IVD UDI MADE IN SG PATENTS www.illumina.com/patents Label PN: 20031282.A SDS 20031098 A000006 R0723251742 A000006 (01)00818270020132 (17)220722 (10)A000006 2°C 8°C illumina www.illumina.com

20019563	Буфер для разведения библиотек (Library Dilution Buffer) (NextSeq™ 550Dx Accessory Box (75 cycles))	EN: Next-generation sequencing (NGS) reagents FR: Réactifs de séquençage nouvelle génération (SNG) IT: Reagenti per il sequenziamento di nuova generazione (Next-Generation Sequencing, NGS) DE: NGS-Reagenzien (Next-Generation Sequencing, Sequenzierung der nächsten Generation) ES: Reactivos para secuenciación de nueva generación (NGS) Label PN: 20051329.A
Этикетки на первичной упаковке		
20005419	Картридж с реагентами NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (75 cycles))	

		NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 75 cycles REF 20005419 LOT 1234567890 2030-10-01 Label PN: 20021024.B DX2010157-REAGT -28°C -18°C LDR1 CE IVD illumina
200019561	Картридж с буфером NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 (75 cycles))	NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 75 cycles REF 20019561 LOT A000006 2022-07-21 15°C 30°C illumina
20005420	Картридж с буфером NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 (75 cycles))	NextSeq® 550Dx Buffer Cartridge v2 REF 20005420 LOT LidLabel10 NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 REF 20005420 LOT Test 20005 2023-01-10 BB2 BB4 1-800-803-4366 www.illumina.com Label PN: 20021029.A illumina DX2009864-BUFFR 15°C 30°C CE IVD support.illumina.com

20026363	Картридж с проточной ячейкой NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (75 cycles))	NextSeq™ 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 REF 20026363 LOT 25252525 SN H0000NSDX 2019-06-08 2°C 8°C CE IVD Made in Singapore illumina, inc. 8200 Illumina Way San Diego, CA 92122 USA Label PN: 20028288.02 HIGH NextSeq™ 550Dx v2.5 Label PN: 20028287.A
20018864	Буфер для разведения библиотек (Library Dilution Buffer) (NextSeq™ 550Dx Accessory Box (75 cycles))	DX2008812 – HT1 Library Dilution Buffer REF 20018864 LOT 1234567890 2030-10-01 12 ml -25°C -15°C IVD CE illumina Label PN: 20018908.02

14.3. Дополнительная маркировка для Российской Федерации

Этикетка для Российской Федерации

Набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) для секвенирования нуклеиновых кислот, в составе:
Картридж с реагентами NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (75 cycles)) – 1 шт.

Кат. № 20019560

Регистрационное удостоверение

№ РЗН 2022/17461 от 02 июня 2022 года

Условия хранения, номер партии, срок годности и графические символы см. на оригинальной упаковке.

Только для диагностики in vitro.

Для профессионального применения.

Производитель:

«Иллюмина, Инк.», США, (Illumina, Inc.)

5200 Illumina Way, San Diego, California 92122, USA

Уполномоченный представитель производителя:

ООО «Р-Фарм Интернешнл»

Россия, 123154, г. Москва, ул. Берзарина, д. 19, корпус 1, этаж 1, помещение V, комната 9

Телефон: +7 (495) 956-79-37, Факс: +7 (495) 956-79-38

e-mail: info@rpharm.ru

Произведено в Сингапуре

Набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) для секвенирования нуклеиновых кислот, в составе:
Картридж с буфером NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 (75 cycles)) – 1 шт.

Кат. № 20019561

Регистрационное удостоверение

№ РЗН 2022/17461 от 02 июня 2022 года

Условия хранения, номер партии, срок годности и графические символы см. на оригинальной упаковке.

Только для диагностики ин витро.

Для профессионального применения.

Производитель:

«Иллюмина, Инк.», США, (Illumina, Inc.)

5200 Illumina Way, San Diego, California 92122, USA

Уполномоченный представитель производителя:

ООО «Р-Фарм Интернешнл»

Россия, 123154, г. Москва, ул. Берзарина, д. 19, корпус 1, этаж 1, помещение V, комната 9

Телефон: +7 (495) 956-79-37, Факс: +7 (495) 956-79-38

e-mail: info@rpharm.ru

Произведено в Сингапуре

Набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) для секвенирования нуклеиновых кислот, в составе:

Картридж с проточной ячейкой NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (75 cycles)) – 1 шт.

Кат. № 20031098

Регистрационное удостоверение

№ РЗН 2022/17461 от 02 июня 2022 года

Условия хранения, номер партии, срок годности и графические символы см. на оригинальной упаковке.

Только для диагностики ин витро.

Для профессионального применения.

Производитель:

«Иллюмина, Инк.», США, (Illumina, Inc.)

5200 Illumina Way, San Diego, California 92122, USA

Уполномоченный представитель производителя:

ООО «Р-Фарм Интернешнл»

Россия, 123154, г. Москва, ул. Берзарина, д. 19, корпус 1, этаж 1, помещение V, комната 9

Телефон: +7 (495) 956-79-37, Факс: +7 (495) 956-79-38

e-mail: info@rpharm.ru

Произведено в Сингапуре

Набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) для секвенирования нуклеиновых кислот, в составе:

Буфер для разведения библиотек (Library Dilution Buffer) (NextSeq™ 550Dx Accessory Box (75 cycles)) – 1 пробирка (12 мл/пробирка).

Кат. № 20019563

Регистрационное удостоверение

№ РЗН 2022/17461 от 02 июня 2022 года

Условия хранения, номер партии, срок годности и графические символы см. на оригинальной упаковке.

Только для диагностики ин витро.

Для профессионального применения.

Производитель:

«Иллюмина, Инк.», США, (Illumina, Inc.)

5200 Illumina Way, San Diego, California 92122, USA

Уполномоченный представитель производителя:

ООО «Р-Фарм Интернешнл»

Россия, 123154, г. Москва, ул. Берзарина, д. 19, корпус 1, этаж 1, помещение V, комната 9

Телефон: +7 (495) 956-79-37, Факс: +7 (495) 956-79-38

e-mail: info@rpharm.ru

Произведено в Сингапуре

15. Описание компонентов медицинского изделия для ИВД

Набор реагентов содержит:

Наименование компонента набора	Химический компонент (CAS #)	Масса, %
Картридж с реагентами NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (75 cycles)):		
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ, ОТБЕЛИВАТЕЛЬ (BULK, BLEACH) 0,12%	Натрия гипохлорит (7681-52-9)	1-1
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ, ICM, Dx (BULK, ICM, Dx)	Пропан-1,2,3-триол (56-81-5)	5 – 10
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ, CMS, Dx (BULK, CMS, Dx)	-	-
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ, SRM, Dx (BULK, SRM, Dx)	-	-
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ, BMS, Dx (BULK, BMS, Dx)	Диметилсульфоксид (67-68-5)	1-5
	Полиэтиленгликоль трет-октилфениловый эфир (Polyethylene glycol tertoctylphenyl ether) (9002-83-1)	1-1
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ, LDR1, Dx (BULK, LDR1, Dx)	Формамид (75-12-7)	60 - 100
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ, BP10, Dx (BULK, BP10, Dx)	-	-
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ, BP11, Dx (BULK, BP11, Dx)	-	-
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ, BP14, Dx (BULK, BP14, Dx)	-	-
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ, BLM1, Dx (BULK, BLM1, Dx)	Сахароза (Пыль сахара) (57-50-1)	5-10
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ, BLM2, Dx (BULK BLM2, Dx)	Сахароза (Пыль сахара) (57-50-1)	7-13
	Пропан-1,2,3-триол (56-81-5)	1-5
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ, BRM, Dx (BULK BRM, Dx)	Сахароза (57-50-1)	5-10
	Пропан-1,2,3-триол (56-81-5)	1-5
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ ВЕХ, Dx (BULK ВЕХ, Dx)	-	-
Картридж с буфером NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 (75 cycles)):		
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ, BB4, Dx (BULK BB4, Dx)	2-Метил-5-хлор-(2H)-изотиазол-3-он с 2-метил-(2H)-изотиазол-3-оном (55965-84-9)	<0,1
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ, BB2, Dx (BULK BB2, Dx)	2-Метил-5-хлор-(2H)-изотиазол-3-он с 2-метил-(2H)-изотиазол-3-оном (55965-84-9)	<0,1
НЕРАСФАСОВАННЫЙ ПРОДУКТ, BB3, Dx (BULK BB3, Dx)	-	-
Картридж с проточной ячейкой NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (75 cycles)):		
Одноразовая для парно-концевого чтения стеклянная проточная ячейка	Классифицировано как изделие, а не химическое соединение, поэтому не применимо	Н/П
Буфер для разведения библиотек (Library Dilution Buffer) (NextSeq™ 550Dx Accessory Box (75 cycles)):		

БУФЕР ДЛЯ РАЗВЕДЕНИЯ БИБЛИОТЕК (Library Dilution Buffer)	-	-
---	---	---

Точный процентный состав (концентрация), а также состав и концентрация некоторых компонентов является коммерческой тайной.

16. Информация о квалификации производителем материалов, используемых для производства готового продукта, включая принципы и методы квалификации

Продукт не содержит сырья человеческого и животного происхождения.

17. Аналитические данные

17.1. Количественные показатели и показатели контроля качества и предельные значения/метрики качества

Количественные показатели контроля качества и предельные значения / метрики качества

Показатель	Описание	Контрольное условие для верхней и нижней границы значений показателя Н/П – не применимо		Обоснование
		Нижняя граница	Верхняя граница	
standard_r_squared	Величина достоверности аппроксимации модели стандартной кривой.	0,980	Н/П	Стандартные модели кривой, показывающие плохую линейность в логарифмическом пространстве, не являются хорошими предсказателями истинных концентраций образцов.
standard_slope	Наклон модели стандартной кривой.	0,95	1,15	Стандартные модели кривой, которые наклонены за пределами ожидаемых диапазонов, указывают на ненадежную модель.
ccn_library_pg_ul	Максимально допустимая концентрация образца.	Н/П	1000 пг/мкл	Образцы с расчетными концентрациями ДНК, которые превышают спецификации, указывают на избыточное содержание геномной ДНК.
median_ccn_pg_ul	Среднее рассчитанное значение концентрации для всех образцов в партии.	16 пг/мкл	Н/П	Пул секвенирования соответствующего объема не может иметь чрезмерное количество слишком сильно разбавленных образцов. Партии с большим числом разбавленных образцов указывают на неудачный процесс подготовки.

Показатели контроля качества и предельные значения / метрики качества для этапа секвенирования

Показатель	Описание	Контрольное условие для верхней и нижней	Обоснование
------------	----------	--	-------------

		границы значений показателя Н/П – не применимо		
		Нижняя граница	Верхняя граница	
cluster__ density	Плотность кластера секвенирования.	152 000 на мм ²	338 000 на мм ²	Проточная ячейка с низкой плотностью кластера не формирует достаточного количества измерений. Проточные ячейки с чрезмерно высокой плотностью кластера обычно производят данные секвенирования низкого качества.
pct_pf	Процент показаний, прошедших фильтр достоверности.	≥ 50%	Н/П	Проточные ячейки с крайне низким %, прошедшим фильтр (PF), могут иметь аномальное представление основания и, вероятно, будут иметь проблемы с прошедшими фильтр показателями.
prephasing	Доля предварительного фазирования.	Н/П	≤ 0,003	Эмпирически оптимизированные рекомендации для системы VeriSeq™ NIPT Solution v2.
phasing	Доля фазирования.	Н/П	≤ 0,004	Эмпирически оптимизированные рекомендации для системы VeriSeq™ NIPT Solution v2.
predicted_aligned_reads	Расчетное среднее число однозначно картированных фрагментов на образец.	≥ 4 000 000	Н/П	Определяется как минимальное наблюдаемое NES (абсолютное содержание нейтрофилов) в нормальной популяции.

При использовании в работе с секвенатором нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx, методом секвенирования нового поколения (NGS), в режиме цикла 2 x 38 пар оснований (п. о.) набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) способен обеспечивать:

- ▶ Производительность секвенирования ≥ 22,5 гигабаз (Gb)
- ▶ 80% оснований с оценкой качества по шкале Phred ≥ 30

17.2. Рабочие характеристики

Набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) компании «Иллюмина» — это набор реагентов, предназначенный для определения нуклеотидной последовательности участков ДНК (секвенирования) образца библиотек. Рабочие характеристики к данной продукции не применимы. Рабочие характеристики конкретной методики соответствуют документации по подготовке библиотек. Требования к изделию см. в разделе 22 в п. «Количественные показатели контроля качества и предельные значения / метрики качества для контроля качества на производстве (выходной контроль)».

Рабочие характеристики системы неинвазивного пренатального тестирования для определения множественных врожденных анеуплоидий ИВД VeriSeq™ NIPT Solution v2, анализ нуклеиновых кислот, в вариантах исполнения.

Следующие данные, приведенные в разделах, посвященных клиническим и аналитическим характеристикам, были получены с использованием протоколов и материалов, описанных в инструкциях по применению, начиная с полученной плазмы. Все данные секвенирования для данного раздела были получены с использованием секвенаторов нуклеиновых кислот NextSeq™ 500/550 или секвенаторов нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx методом секвенирования нового поколения (NGS) при следующих параметрах:

	NextSeq™ 500/550	NextSeq™ 550Dx
Встроенное ПО	NextSeq Control Software 4.0	NextSeq Operating Software 1.3
Версия набора реагентов	Набор реагентов ИВД NextSeq™ 500/550 v2.5, 75 циклов	Набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов
Метод секвенирования	Парно-концевое секвенирование 2×36 в режиме высокого выхода	Парно-концевое секвенирование 2×36 в режиме высокого выхода

Клиническое исследование

Клиническая точность результатов исследования системы неинвазивного пренатального тестирования для определения множественных врожденных анеуплоидий ИВД VeriSeq™ NIPT Solution v2, анализ нуклеиновых кислот была показана путем оценки образцов плазмы, собранных у беременных женщин с одноплодными и двуплодными беременностями. Обезличенные образцы плазмы были получены из биобанка, где материал сохранялся после отделения из образцов периферической цельной крови. В исследование было включено 45000 образцов от пациентов, прошедших пренатальный скрининг на хромосомные анеуплоидии плода и частичные делеции и дупликации размером не менее 7 МБ. Все образцы от беременностей с патологией плода и ряд последующих образцов от беременностей без патологии подходили для тестирования при наличии доступных клинических исходов и соответствии критериям для выборки. В общей сложности были проанализированы свыше 2335 образцов. Из них 2328 образцов относились к одноплодной беременности, а семь остальных — к двуплодной.

Из этих образцов 28 (1,2%, 28/2335) не прошли КК по результатам анализа данных, полученных при первом секвенировании:

27 не прошли оценку iFACT (один с ХО, 26 - без патологий)

В одном образце значения данных выходили за пределы ожидаемого диапазона

Демографические показатели и показатели беременности

Возраст женщины, срок и триместр беременности для образцов полногеномного скрининга (включая известные мозаичные образцы) приведены в таблице 5.

Оценка демографических показателей проводилась среди базовых и полногеномных когорт и не показала статистически значимого расхождения. Демографические показатели и показатели беременности были сходными независимо от того, были включены известные мозаичные образцы или нет.

Таблица 5. Демографические показатели и показатели беременности

Сводные статистические данные	Полногеномный (включая известные мозаичные образцы)
Количество образцов	2307*
Возраст женщины - годы	
Среднее	35,08
Стандартное отклонение	4,04
Медиана	34,95
25-й процентиль, 75-й процентиль	32,31; 37,79
Минимум, максимум	20,22; 53,02
Срок беременности в момент взятия крови - недели	
Среднее	10,93
Стандартное отклонение	1,20
Медиана	10,57
25-й процентиль, 75-й процентиль	10,29; 11,14
Минимум, максимум	10,00; 27,86
Триместр беременности - п (%)	

Первый (< 14 недель)	2,252 (98%)
Второй	54 (2%)
Третий (> 27 недель)	1 (0%)

* Финальный выборка содержала 7 двуплодных беременностей.

Клинические характеристики

Результаты, полученные с помощью системы VeriSeq™ NIPT Solution v2, сравнивали с результатами стандартной клинической оценки исходов беременности. Для всех исследуемых образцов имелись результаты стандартной клинической оценки (клиническая «истина») в отношении хромосомной анеуплоидии плода и частичной делеции и дупликации не менее 7 МБ. Стандартная клиническая оценка для включенных в исследование образцов зависела от результатов хромосомного анализа или физического обследования новорожденных с отрицательными результатами НИПТ, основанного на секвенировании NGS. Подготовленный исследовательский персонал выполнил классификацию данных стандартной клинической оценки в соответствии с документацией по медицинскому кодированию, предоставленной спонсором.

Хромосомный анализ был проведен методами стандартного цитогенетического кариотипирования, флуоресцентной гибридизацией in situ (FISH) или хромосомным микроматричным анализом (ХМА). В качестве материала для хромосомного анализа были использованы образцы периферической цельной крови или слюны новорожденных и младенцев, образцы продукты зачатия (РОС), амниоцитов, ворсин хориона, плацентарной ткани или послеродовой пуповинной крови.

Мозаицизм определяется как представленность двух или более клеточных линий, каждая из которых имеет отличный от других хромосомный набор. Клеточные линии происходят из одной и той же зиготы. Тип и уровень мозаицизма бывают разные и зависят от сроков возникновения мозаичного события во время эмбриогенеза и развития плода. Различные типы мозаицизма обнаруживаются в ходе пренатальной диагностики в зависимости от распределения аномальных клеточных линий относительно нормальных в клетках трофобласта, мезенхиме или плода.¹ Хотя мозаицизм можно обнаружить в любой хромосоме, он чаще встречается среди редких аутосомных анеуплоидий (РАА), чем при трисомии по 21, 18 и 13 хромосомам (Т21, Т18 и Т13).² При проведении оценки характеристик теста случаи мозаицизма были включены в полногеномный анализ, поскольку данный тип скрининга позволяет обнаружить РАА.

1 Grati, et al. "Fetoplacental mosaicism: potential implications for false-positive and false-negative noninvasive prenatal screening results." *Genetics in Medicine* 16 (2014): 620-624.

2 Brison, et al. "Predicting fetoplacental chromosomal mosaicism during non-invasive prenatal testing." *Prenat Diagn.* 2018 Mar;38(4):258-266. doi: 10.1002/pd.5223. Epub 2018 Feb 19.

Характеристики базового скрининга

Режим базового скрининга включает выявление аномалий Т21, Т18 и Т13. Анализ был проведен в общей сложности на 2243 образцах, отобранных при одноплодной и двуплодной беременности. Во всех семи случаях двуплодной беременности были правильно определены случаи трисомии по хромосоме 21 (Т21), которые не указаны в следующей таблице.

Таблица 6. Чувствительность и специфичность системы VeriSeq™ NIPT Solution v2 в отношении выявления трисомии по хромосомам 21, 18 и 13 при базовом скрининге для одноплодной беременности (за исключением известных случаев мозаицизма)

	T21	T18	T13
Чувствительность	> 99,9% (130/130)	> 99,9% (41/41)	> 99,9% (26/26)
2-сторонний 95% ДИ	97,1%; 100%	91,4%; 100%	87,1%; 100%
Специфичность	99,90% (1982/1984)	99,90% (1995/1997)	99,90% (2000/2002)
2-сторонний 95% ДИ	99,63%; 99,97%	99,64%; 99,97%	99,64%; 99,97%

Характеристики анализа на основном экране, как показано в табл. 6, рассчитаны без учета набора из 64 образцов с РАА, частичными аутосомальными делециями или дупликациями или известными типами мозаицизма. Эти 64 образца включали восемь случаев мозаицизма Т21 и три - Т18. Пять из

этих 11 образцов были идентифицированы программным обеспечением VeriSeq™ NIPT v2 (VeriSeq™ NIPT Assay Software v2) как образцы с аномалиями.

Характеристики полногеномного скрининга

Для полногеномного скрининга в число отклонений входят трисомии, моносомии, а также частичные делеции или дупликации не менее 7 МБ. Среди образцов для полногеномного скрининга было 36 образцов с известными случаями мозаицизма. Анализ был проведен в общей сложности на 2307 образцах, отобранных при одноплодной и двуплодной беременности. Во всех семи случаях двуплодной беременности были правильно выявлены отклонения в хромосоме 21, которые не указаны в следующих таблицах.

Характеристики полногеномного скрининга для любых аномалий

Таблица 7. Чувствительность и специфичность системы VeriSeq™ NIPT Solution v2 в отношении выявления любых аномалий при полногеномном скрининге (включая известные случаи мозаицизма)

	Чувствительность	Специфичность
Оценка % (n/N)	95,5% (318/333)	99,34% (1954/1967)
2-сторонний 95% ДИ	92,7%; 97,3%	98,87%; 99,61%

Характеристики полногеномного скрининга для редких аутосомных анеуплоидий (РАА)

Таблица 8. Чувствительность и специфичность системы VeriSeq™ NIPT Solution v2 в отношении редких аутосомных анеуплоидий (РАА) при полногеномном скрининге (включая известные случаи мозаицизма)

	Чувствительность	Специфичность
Оценка % (n/N)	96,4% (27/28)	99,80% (2001/2005)
2-сторонний 95% ДИ	82,3%; 99,4%	99,49%; 99,92%

Характеристики полногеномного скрининга для частичных делеций и дупликаций

Таблица 9. Чувствительность и специфичность системы VeriSeq™ NIPT Solution v2 в отношении частичных делеций и дупликаций размером от 7 МБ при полногеномном скрининге (включая известные случаи мозаицизма)

	Чувствительность	Специфичность
Оценка % (n/N)	74,1% (20/27)	99,80% (2000/2004)
2-сторонний 95% ДИ	55,3%; 86,8%	99,49%; 99,92%

Различия характеристик режимов базового и полногеномного скрининга

Методология оценки для общих трисомий и анеуплоидий половых хромосом одинакова в режиме базового и полногеномного скрининга. При базовом скрининге применяется только алгоритм выявления T21, T18 и T13. При полногеномном скрининге та же методология распространяется на все случаи трисомии и РАА, а также на частичные дупликации и делеции.

Существует два основных различия между описанными характеристиками базового и полногеномного скрининга. Во-первых, при полногеномном скрининге оценивались показатели образцов с известными мозаицизмами как для общих трисомий, так и для РАА и частичных делеций и дупликаций. Во-вторых, в режиме полногеномного скрининга могут преимущественно выявляться частичные дупликации, а не полные трисомии. Наличие полной трисомии в дополнение к частичной дупликации или делеции можно уточнить по значениям LLR, приведенным в дополнительном отчете

Включение случаев мозаицизма в режим полногеномного скрининга

Мозаицизм включен в список ограничений методики анализа. При наличии мозаицизма сигнал от плодной ДНК при аномалии уменьшается, и, следовательно, его может быть сложнее обнаружить без ущерба для общей специфичности анализа. Однако, поскольку мозаицизм актуален для расширенного спектра образцов, образцы с мозаицизмом были включены в анализ в режиме

полногеномного скрининга.

Из 64 образцов, включенных в анализ в полногеномном режиме, без использования базового скрининга, 36 образцов были идентифицированы по клиническому эталонному стандарту диагностики как имеющие мозаицизм. Для 23 из этих 36 образцов результат скрининга совпал с эталонной клинической оценкой.

Выявление частичной делеции или дупликации в сравнении с выявлением полнохромосомных анеуплоидий

В меню системы VeriSeq™ NIPT Solution v2 есть параметры для базового и полногеномного скрининга. При выполнении базового скрининга результат ANOMALY DETECTED (ОБНАРУЖЕНА АНОМАЛИЯ) сообщается только в том случае, когда полная анеуплоидия обнаруживается для 21, 18 или 13 хромосом и при этом все показатели КК соблюдены. При полногеномном скрининге система обнаруживает анеуплоидии во всех аутосомах и в случаях частичных делеций и дупликаций размером от 7 МБ.

При полногеномном скрининге система задает приоритет сообщения о случаях частичной делеции или дупликации при анализе всей хромосомы, если размер частичной делеции или дупликации охватывает не более 75% размера хромосомы, в которой обнаружен такой случай. Если обнаруженная область частичной делеции или дупликации составляет более 75% размера хромосомы, то такой случай указывается как полная трисомия или моносомия всей хромосомы. Поэтому очень большие частичные делеции и дупликации, размер которых составляет менее 75% от размера хромосомы, могут указывать на анеуплоидию всей хромосомы.

Для всех образцов в дополнительном отчете отражен показатель LLR для классификации всей хромосомы. Перед интерпретацией результатов необходимо проанализировать показатель LLR в отношении заданного порогового значения (Рисунок 8.). Показатели LLR, относящиеся к хромосомному уровню, превышающие пороговое значение, способствуют последующей интерпретации в пользу анеуплоидии всей хромосомы.

В ходе клинического исследования было обнаружено два образца одноплодной беременности с дупликациями значительными размера (одна на 21-й хромосоме и одна на 18-й), которые составляли менее 75% относительного размера хромосомы (см. таблицу 10.). Оба случая были указаны как частичные дупликации, а не как полная трисомия соответствующей хромосомы. Показатели LLR для этих случаев превышали предел, соответствующий результатам для полной трисомии. В случае положительного результата НИПТ как для частичной дупликации, так и при полной трисомии хромосомы, следует предложить пациенту пройти подтверждающую пренатальную диагностику.

Таблица 10. Примеры значительных частичных дупликаций, обнаруженных при полногеномном скрининге

	Клиническая «истина»	Результат полногеномного скрининга	Размер аномалии (МБ)	% хромосомы LLR	Показатели
Образец 1	Трисомия по 21 хромосоме, однопл.дн.	Частичная дупликация 21 хромосомы	22,50	48,9	19,43
Образец 2	Трисомия по 18 хромосоме, однопл.дн.	Частичная дупликация 18 хромосомы	47,00	60,2	12,99

Дополнительные сведения о показателях КК, используемых для формирования отчета по результатам обнаружения анеуплоидии, см. в «Руководстве для программного обеспечения» (документ № 1000000067940).

Половые хромосомы

Результаты, полученные с помощью системы VeriSeq™ NIPT Solution v2 для половых хромосом, были проанализированы в сравнении со стандартными клиническими результатами исходов беременности и объединены в таблице ниже. Процент совпадений был рассчитан для каждой половой хромосомы в рамках результата каждого клинического исхода беременности. Процент совпадений рассчитывали, как число образцов, в которых результаты для половых хромосом, полученные посредством системы VeriSeq™ NIPT Solution v2, совпадали с результатами стандартной клинической оценки, деленное на общее число образцов с такими же результатами стандартной

клинической оценки.

Таблица 11. Процент совпадений для классификации пола плода*

Классификация пола плода	Фенотип в результате осмотра новорожденного	Результаты цитогенетического исследования								
		Женский пол	Мужской пол	XX	XY	XO	XXX	XXY	XYY	Прочее**
Обнаружение анеуплоидии	Кариотип									
Аномалий не обнаружено	997	0	21	0	2	0	0	0	0	0
Аномалий не обнаружено	0	966	0	15	0	0	0	0	0	1
Аномалия обнаружена	XO	0	0	0	0	19	0	0	1	0
Аномалия обнаружена	XXX	0	0	0	0	0	17	0	0	1
Аномалия обнаружена	XXY	0	0	0	0	0	0	23	0	1
Аномалия обнаружена	XYY	0	0	0	0	0	0	0	11	0
Итого	997	966	21	15	21	17	23	12	2	1
Процент совпадений	100	100	100	100	90,5	100	100	91,7	Не применимо	Не применимо

* В пяти случаях двуплодной беременности было правильно установлено наличие Y-хромосомы. В двух случаях было правильно установлено отсутствие Y-хромосомы.

** Другими результатами цитогенетического исследования были XXXXX и XXYY.

Прогностическая ценность положительного и отрицательного результата системы VeriSeq™ NIPT Solution v2

Прогностическая ценность положительного результата (PPV) и прогностическая ценность отрицательного результата (NPV) дают информацию по возможности принимать клинические решения на основании чувствительности и специфичности исследования и вероятности до тестирования, что у плода имеется трисомия (распространенность). Поскольку PPV и NPV зависят от распространенности, а распространенность этих анеуплоидий может различаться в разных популяциях, PPV и NPV рассчитывали на основе чувствительности и специфичности, наблюдавшихся при базовом скрининге (без известных случаев мозаицизма) в исследовании клинической точности. Таблица 12. составлена на основе данных полногеномного скрининга (без известных случаев мозаицизма).

Таблица 12. Распространенность, PPV и NPV для трисомии по 21 хромосоме при базовом скрининге (без известных случаев мозаицизма)

Распространенность (%)	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

Таблица 13. Распространенность, PPV и NPV для трисомии по 18 хромосоме при базовом скрининге (без известных случаев мозаицизма)

Распространенность (%)	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

Таблица 14. Распространенность, PPV и NPV для трисомии по 13 хромосоме при базовом скрининге (без известных случаев мозаицизма)

Распространенность (%)	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

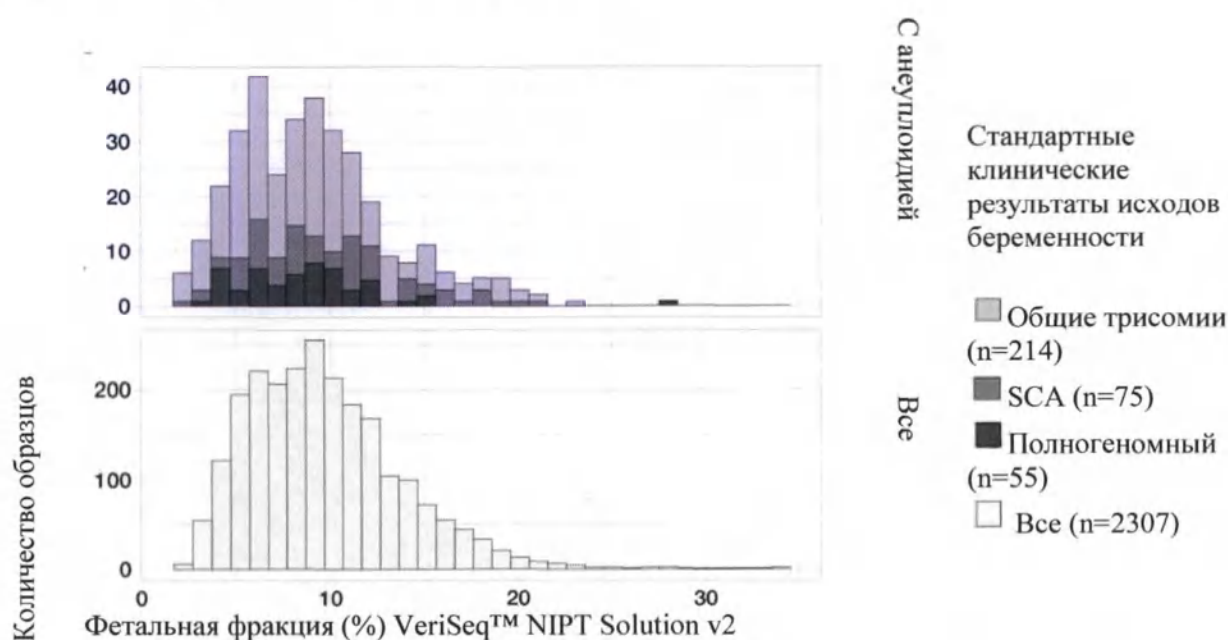
Таблица 15. Распространенность, PPV, NPV и любой другой аномалии при полногеномном скрининге (включая известные случаи мозаицизма)

Распространенность (%)	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

Распределение фетальной фракции

Распределение рассчитанной фетальной фракции, полученное с помощью системы VeriSeq™ NIPT Solution v2 для полногеномного скрининга, включая образцы с известным мозаицизмом, отражено с данными стандартных клинических результатов исходов беременности на рисунке 7.

Рисунок 7. Распределение фетальной фракции



У 5 образцов наблюдались отклонения в нескольких категориях.

Образцы общей трисомии включают в себя образцы с трисомиями по 21, 18 и/или 13 хромосомам.

Полногеномные образцы включают в себя образцы с РАА или частичными делециями и/или дупликациям.

Оценки фетальной фракции в диапазоне от 2% до 34% с медианой 9%, а также в вероятностном диапазоне от 6% до 12%. Медиана оценки фетальной фракции для общих трисомий и случаев, обнаруженных при полногеномном скрининге, составляет 8%, а для SCA — 9%. Диапазон оценок фетальной фракции соответствовал всем результатам. Отсутствуют какие-либо видимые сдвиги в распределении фетальной фракции среди случаев общей трисомии, SCA, случаев, обнаруженных при полногеномном скрининге, или всех образцов при полногеномном анализе.

Характеристики при двуплодной беременности

Оценка трисомии по 13, 18 и 21 хромосомам и характеристики Y-хромосомы при двуплодной беременности

Из-за низкой распространенности трисомии по 21, 18 и 13 хромосомам при двуплодной беременности, только незначительное число аномальных образцов были доступны для проведения клинического исследования. Для оценки характеристик системы VeriSeq™ NIPT Solution v2 при двуплодной беременности использовались *in silico* модели, основанные на результатах исследованных клинических образцов, позволившие имитировать популяцию с двуплодной беременностью. Моделирование соответствовало популяции для которой предполагалось применение. Распределение фетальной фракции было определено с использованием примерно 4500 образцов двуплодной беременности и было сравнено с распределением для примерно 120000 образцов одноплодной беременности. Распределение фетальной фракции, обусловленное анеуплоидией, было определено на основе предполагаемых результатов для одноплодной беременности (1044 случая трисомии по 21 хромосоме, 307 случаев трисомии по 18 хромосоме и 192 случая трисомии по 13 хромосоме). Объединение двух распределений позволило сделать выводы об обнаружении анеуплоидии при двуплодной беременности. Моделировались наборы dizиготных и монозиготных близнецов, и для оценки чувствительности было взято средневзвешенное значение, представляющее их распространенность в предполагаемой популяции (2 dizиготных: 1 монозиготный). Для оценки специфичности были смоделированы наборы близнецов без отклонений в хромосомном наборе.

Фракция каждого смоделированного образца с трисомией (т. е. пораженная фракция) рассчитывалась отдельно для каждой категории образцов:

► В случае монозиготных близнецов для пораженной фракции каждого образца задавалось значение 1,0, поскольку в такой ситуации трисомия поражала обоих близнецов.

► В случае dizиготных близнецов предполагалось, что отклонения наблюдались только у одного из близнецов (крайне редко поражаются оба dizиготных близнеца). Были смоделированы значения пораженной фракции с использованием известного распределения отношений фетальной фракции, рассчитанной на основе клинических образцов разнополой двойни. Использовался консервативный подход, который подразумевал, что у пораженного близнеца фетальная фракция всегда ниже, чем у второго близнеца. В случае беременности плодами с трисомией по 13 и 18 хромосомам фетальная фракция в среднем была ниже, поэтому применялся поправочный коэффициент.

► Для близнецов без отклонений был задан нулевой показатель пораженной фракции каждого образца.

Для близнецов, пораженных трисомией по 18 или 13 хромосоме, был уменьшен показатель фетальной фракции, соответствующий пораженной фракции образца. Уменьшение было пропорционально среднему уменьшению показателя фетальной фракции, наблюдавшемуся в клинических данных при трисомии по хромосоме 18 или 13 по отношению к эуплоидной одноплодной беременности.

И полная фетальная фракция, и пораженная фракция каждого смоделированного образца использовались для расчета показателя анеуплоидии с применением стандартного алгоритма системы VeriSeq™ NIPT Solution v2. Чувствительность рассчитывали путем определения того, как часто значения анеуплоидии для имитированных пораженных близнецов были выше соответствующего порога анеуплоидии. Соответственно, специфичность рассчитывали, определяя, как часто показатели анеуплоидии у симулированных незатронутых близнецов были ниже соответствующего порога анеуплоидии (таблица 16). 95% доверительные интервалы оценивались на основе числа реальных клинических образцов двуплодной беременности в наборе исходных данных, которые попадали под категорию пораженных или не пораженных соответствующей трисомией.

Для оценки чувствительности выявления Y-хромосомы в образцах двоен были смоделированы наборы XY/XY и XX/XY для двуплодной беременности. Было взято средневзвешенное значение (1 XY/XY:1 XX/XY), отображающее их распространенность в популяции, для которой предполагалось применение. Для оценки специфичности Y-хромосомы в случае двойни был смоделирован набор XX/XX для двуплодной беременности. Общие значения фетальной фракции были смоделированы согласно известному распределению фетальной фракции в клинических образцах двуплодной беременности.

Для двуплодной беременности XY/XY и XX/XY была проведена оценка соответствующих показателей Y-хромосом с применением известного соотношения между фетальной фракцией и показателями Y-хромосомы в клинических образцах одноплодной беременности мужского пола. Только для двуплодной беременности XX/XY были смоделированы значения пораженной (т. е. мужского пола) фетальной фракции с использованием известного распределения отношений фетальных фракции, которые наблюдались между близнецами одной и той же беременности и были клинически определены как образцы разнополой двойни. Использовался консервативный подход, при котором выбиралась пораженная фракция, соответствующая меньшему из двух близнецов. Для каждого смоделированного образца XX/XY показатель Y-хромосомы умножался на значение пораженной фракции.

Для двуплодной беременности XX/XX показатели Y-хромосомы отбирались из показателей, которые наблюдались в клинических образцах одноплодной беременности женского пола. Показатель Y-хромосомы и общая фетальная фракция использовались для классификации каждого смоделированного образца относительно наличия или отсутствия Y-хромосомы с применением стандартного алгоритма системы VeriSeq™ NIPT Solution v2.

Расчет чувствительности проводился путем определения того, насколько часто смоделированные образцы двуплодной беременности XY/XY или XX/XY правильно классифицировались относительно наличия Y-хромосомы. Расчет специфичности проводился путем определения того, насколько часто смоделированные образцы двуплодной беременности XX/XX правильно классифицировались относительно отсутствия Y-хромосомы. 95% доверительные интервалы оценивались на основе числа реальных клинических образцов двуплодной беременности в наборе исходных данных, которые классифицировались относительно наличия или отсутствия Y-хромосомы.

Таблица 16. Оценка трисомии по 21, 18 и 13 хромосомам в смоделированных группах двуплодной беременности

	Трисомия по 21 хромосоме	Трисомия по 18 хромосоме	Трисомия по 13 хромосоме	Наличие Y-хромосомы
Чувствительность	96,4%	95,7%	93,6%	> 99,9%
2-сторонний 95% ДИ	(86,4%; 98,9%)	(68,3%; 99,4%)	(64,1%; 98,9%)	(99,9%; > 99,9%)
Специфичность	99,9%	> 99,9%	> 99,9%	> 99,9%
2-сторонний 95% ДИ	(99,8%; > 99,9%)	(99,9%; > 99,9%)	(99,9%; > 99,9%)	(99,7%; > 99,9%)

В таблице 16 указаны расчетные показатели и предполагаемые 95% доверительные интервалы для чувствительности и специфичности системы VeriSeq™ NIPT Solution v2 при выявлении трисомии по 21, 18 и 13 хромосомам и наличия Y-хромосомы в смоделированной группе двуплодной беременности, соответствующей популяции предполагаемого применения. Оценка доверительных интервалов проводилась на основе числа клинических образцов двуплодной беременности, прошедших КК и попавших в категорию образцов, которые поражены или не поражены соответствующей трисомией. Расчет чувствительности предполагает, что две трети пораженных образцов двуплодной беременности относятся к dizygotным с одним пораженным плодом, а оставшаяся треть — к monozygotным с двумя пораженными плодами.

Приведенная в таблице 16 оценка относится только к двуплодным беременностям. Вследствие низкой распространенности многоплодной беременности с более высоким количеством плодов (три плода и более) данных для создания соответствующих статистических моделей оценки точности выявления анеуплоидии было недостаточно.

Аналитические характеристики

Воспроизводимость

Для оценки и количественного определения воспроизводимости теста, с помощью программного обеспечения VeriSeq™ v2 (VeriSeq™ Assay Software v2) был проведен повторный анализ данных из двух предыдущих исследований, полученных с использованием системы VeriSeq™ NIPT Solution:

► Исследование воспроизводимости на нескольких лабораторных площадках, включавшее 3 запуска, которые проводили 3 оператора на 3-х лабораторных площадках, используя одну и ту же партию реагентов суммарно для 9 запусков.

► Внутрिलाбораторное изучение воспроизводимости результатов, включавшее 12 запусков в одном центре, которые проводились с использованием двух станций дозирующих автоматических VeriSeq NIPT MicroLab STAR, двух систем секвенирования и трех партий реагентов.

Целью исследования воспроизводимости было количественное определение точности анализа в отношении трисомии 21 (T21) и хромосомы Y и оценка вариабельности между различными инструментами, комплектами для подготовки библиотек и партиями реагентов для секвенирования. Был получен пул ДНК с 5% долей ДНК плода с трисомией по 21 хромосоме, для чего объединили сцДНК из плазмы беременных (с плодом, имеющим трисомию по 21 хромосоме) и сцДНК из плазмы не беременных женщин. Также был создан пул сцДНК для 10% фетальной фракции плода мужского пола (плод XY). Панель образцов каждого исследования и каждого запуска включала в себя 4 реплики из пула образцов, пораженных T21, с 5% фетальной фракции и 20 реплик из пула сцДНК с 10% фетальной фракцией плода мужского пола. Анализ проводили в течение 10 дней (в общей сложности 21 запуск для 2 исследований в совокупности).

Для определения качества, основанного на репрезентативности клинических условий и сложности выявления отклонений, были выбраны T21 и обнаружение Y-хромосомы. Хотя 21 хромосома является второй из самых маленьких аутосом человека, ее размер непосредственно влияет на чувствительность выявления T21, особенно при низких значениях фетальной фракции, таких как в данном исследовании. Y-хромосома, присутствующая в плазме беременной женщины, является исключительно плодной по своему происхождению, и поэтому ее легче обнаружить во время анализа. Наблюдаемое среднее и стандартное отклонения показателя LLR для 21 хромосомы и нормализованных хромосомных значений (NCV) для Y-хромосомы показали, что стандартное отклонение (SD) реплики являлось наибольшим источником изменчивости. Разница между лабораторными площадками, приборами и партиями реагентов добавили незначительную вариабельность, о чем свидетельствует разница между общим SD и SD реплики указанным в таблице 17 и таблице 18.

Таблица 17. Сводные данные стандартного отклонения (SD) воспроизводимости результата секвенирования на нескольких лабораторных площадках

Реакция	N	Среднее	SD реплики	Общее SD воспроизводимости*
Показатель LLR для 21				
хромосомы	36	34,43	11,36	11,36
NCV Y-хромосомы	180	190,56	7,96	10,20

* Общее значение включает изменчивость, связанную с центром, оператором, анализом, днем и репликой.

Таблица 18. Сводные данные внутрिलाбораторной воспроизводимости результата секвенирования

Реакция	N	Среднее	SD реплики	Общее SD по лаборатории*
Показатель LLR для 21				
хромосомы	48	36,01	9,07	10,25
NCV Y-хромосомы	240	198,68	7,63	7,82

* Общее значение включает изменчивость, связанную с прибором для секвенирования, партией реагентов, оператором, анализом, днем и репликой.

Было проведено дополнительное исследование для сравнения воспроизводимости секвенирования системы VeriSeq™ NIPT Solution v2 (общее стандартное отклонение) с использованием проточной ячейки версии 2.0 в сравнении с версией 2.5. Во время исследования использовалось два типа проточных ячеек (версий 2.0 и 2.5), три партии наборов для секвенирования, четыре прибора, на которых проведено по два запуска секвенирования для каждой комбинации, что в итоге дало 48

запусков для одной лабораторной площадки. Один пул секвенирования был подготовлен с использованием планшетов сцДНК, подготовленных вручную. Панель образцов включает в себя 4 реплики из пула образцов с T21, с 5% фетальной фракции и 20 реплик из пула сцДНК с 10% фетальной фракции плода мужского пола (плод XY). Результаты исследования представлены в таблице 22 и свидетельствуют об отсутствии разницы между точностью секвенирования при использовании проточных ячеек версии 2.0 и версии 2.5.

Таблица 19. Сводные данные по воспроизводимости реакции секвенирования при использовании проточных ячеек версии 2.0 и версии 2.5

Реакция	Кол-во наблюдений для версии	Общий SD в. 2.0*	Общий SD в. 2.5*	Статистический результат**
21 Хромосома Показатель LLR	96	9,56	8,44	Статистически эквивалентный (значение $p=0,25$)
NCV Y-хромосомы	480	7,74	7,38	Статистически эквивалентный (значение $p=0,38$)

* Общее значение включает изменчивость, связанную с прибором для секвенирования, партией реагентов, анализом, днем и повтором.

** На основе F-критерия для дисперсионного равенства (стандартные отклонения в квадрате)

Перекрестная контаминация

Перекрестную контаминацию оценивали в процессе подготовки образцов для системы VeriSeq™ NIPT Solution v2. Пулы плазмы, взятой у не беременных женщин (XX) и взрослых мужчин (XY), анализировали в шахматном порядке в планшетах на 96 лунок в 4 планшетах. N=48 для образцов плазмы женщин и мужчин в каждом планшете; в общей сложности 192 женских и 192 мужских образца. Ни в одном из женских образцов не было данных о наличии Y хромосомы, статистически значимо превышавших фон определения, что говорит об отсутствии перекрестной контаминации от мужских образцов в том же планшете. В системе VeriSeq™ NIPT Solution v2 не наблюдалось детектируемой перекрестной контаминации.

Потенциально интерферирующие вещества

Для оценки влияния интерферирующих веществ на работу системы VeriSeq™ NIPT Solution v2 характеристики системы оценивали в присутствии потенциально интерферирующих веществ.

В пулы материнской плазмы, взятой у беременных с плодами женского пола (XX) без отклонений, по отдельности добавляли альбумин, билирубин, гемоглобин и триглицериды (эндогенные) в двух концентрациях для каждого анализируемого вещества ($n = 16$ в каждом случае). Влияния этих веществ на характеристики анализа выявлено не было.

Таблица 20. Потенциальные интерферирующие вещества (эндогенные)

Исследуемое	Низкая концентрация (мг/мл)	Высокая концентрация (мг/мл)
Альбумин	35	50
Билирубин	0,01	0,15
Гемоглобин	100	200
Триглицерид	1,5	5

Естественным образом присутствующая в плазме материнская геномная ДНК тоже потенциально может влиять на проведение анализа, поскольку может быть выделена вместе с сцДНК плода. Геномную ДНК в количестве 1,6; 3,3 и 4,9 нг на образец (что соответствует превышению средней ожидаемой концентрации геномной ДНК после 7 дней хранения на 1, 2 и 3 стандартных отклонения¹²) добавляли к сцДНК, выделенной из материнской плазмы беременных с плодами женского пола (XX) без отклонений. После этого образцы анализировали системой VeriSeq™ NIPT Solution v2 ($n=16$ для каждой концентрации). В присутствии повышенного уровня геномной ДНК изменений в характеристиках анализа выявлено не было.

В соответствии с EP7-A2 (Оценка мешающих влияний в клинической химии; одобренное руководство - второе издание) была проведена оценка двадцати потенциальных интерферирующих веществ (экзогенных), часто используемых или назначаемых во время беременности. Двадцать потенциальных интерферирующих веществ были объединены в 4 пула, затем внесены в материнскую

плазму, полученную у беременных с плодами женского пола (XX) без отклонений, и проанализированы в системе VeriSeq™ NIPT Solution v2 (N=16 для каждого пула). Изменений в характеристиках анализа в присутствии этих экзогенных веществ выявлено не было.

Таблица 21. Потенциальные интерферирующие вещества (экзогенные)

Пул 1	Пул 2	Пул 3	Пул 4
Парацетамол	Дифенгидрамин	Альбутерол	Цетиризин
Ацетилцистеин	Эритромицин	Бупропион	Декстрометорфан
Бисопролол	Гвайфенезин	Кофеин	Аскорбиновая кислота
Циталопрам	Гепарин	Сертралин	Метопролол
Дезлоратадин	Лидокаин	Натрия фторид	Надолол

Предел обнаружения

Предел обнаружения (LOD) определяется как уровень фетальной фракции, который соответствует 95% вероятности обнаружения интересующего состояния, как, например, T21. Чтобы оценить предел обнаружения системы VeriSeq™ NIPT Solution v2 для различных широко распространенных состояний, были проведены исследования и статистический анализ.

Вероятность обнаружения интересующего состояния в пораженном образце, обработанном с помощью системы VeriSeq™ NIPT Solution v2 главным образом зависит от трех факторов:

- ▶ фетальной фракции;
- ▶ глубины секвенирования;
- ▶ размера и сложности интересующей геномной области.

При условии постоянной глубины секвенирования заданную aberrацию легче обнаружить в образце с более высоким процентным отношением фетальной фракции, чем в образце с более низким. И наоборот, при условии постоянной фетальной фракции заданную aberrацию легче обнаружить в образце с большей глубиной секвенирования, чем в образце с меньшей глубиной секвенирования. И наконец, aberrации в более мелких или более сложных геномных областях обнаружить тяжелее, чем в более крупных или менее сложных геномных областях, но при этом фетальная фракция и глубина секвенирования должны быть постоянными.

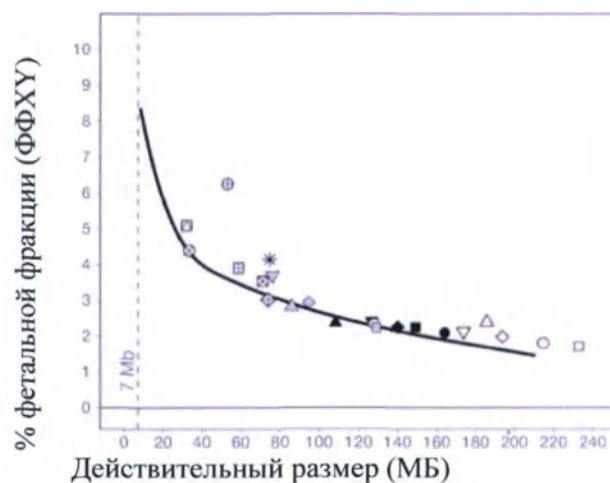
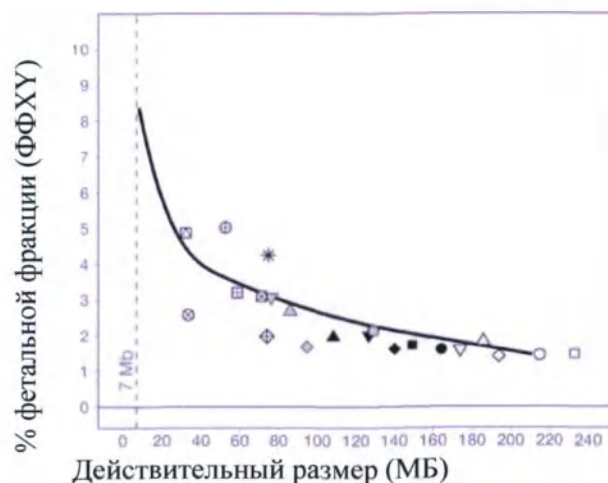
Чтобы определить предел обнаружения T21, был проведен анализ образцов, содержащих смеси объединенных образцов с T21 и образцов без отклонений. Для создания ряда из семи уровней фетальной фракции (0, 2, 3, 4, 5, 6 и 10%) путем титрования было смешано два типа анализируемых веществ. Каждый уровень был представлен в общей сложности 10 репликами.

Чтобы увеличить разрешающую способность модулятора фетальной фракции для анализа предела обнаружения, данные этого исследования были дополнены данными, полученными путем разбавления *in silico*. Результаты экспериментального разбавления и титрования были смоделированы путем контролируемого смешивания данных секвенирования. Данные этого *in silico* титрования охватывали 14 уровней фетальной фракции (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 и 4,50%) с 32 репликами для каждого уровня. К полученным данным был применен пробит-анализ с целью определения предела обнаружения для T21. Независимо от этого, была разработана статистическая модель, в которой использовалась фетальная фракция, глубина секвенирования и размер/сложность геномной области, предназначенная для прогнозирования вероятности обнаружения любых aberrаций в образцах. Эта модель была создана с использованием данных, соответствующих набору из 1405 образцов ХУ. Предел обнаружения для T21, прогнозируемый этой моделью, оказался соответствующим оценке на основе вышеописанного пробит-анализа. Данная статистическая модель использовалась для оценки значений предела обнаружения для анеуплоидии во всех аутосомах, а также для частичных делеций и дупликаций.

На рисунке 8 указана 95% вероятность обнаружения для средних областей по размеру и пределы обнаружения аутосом для всех видов трисомии и моносомии.

Рисунок 8. 95% вероятность обнаружения для средних областей по размеру для системы VeriSeq™ NIPT Solution v2

Символ отображает предел обнаружения аутосом для трисомии Символ отображает предел обнаружения аутосом для моносомии



Хр.	Символ	Трисомия		Моносомия	
		Предел LLR	LoD (%)	Предел LLR	LoD (%)
1	○	7	1,44	13,2	1,80
2	□	9	1,47	13,6	1,71
3	◇	5	1,41	13,8	1,99
4	△	7	1,82	15,2	2,39
5	▽	7,6	1,60	17	2,14
6	●	7,3	1,60	15,4	2,09
7	■	6,6	1,73	14	2,25
8	◆	5,8	1,63	14,8	2,25
9	▲	8	1,97	13,6	2,37
10	▼	8,8	2,01	14,7	2,42
11	⊙	12,2	2,14	15,7	2,35

Хр.	Символ	Трисомия		Моносомия	
		Предел LLR	LoD (%)	Предел LLR	LoD (%)
12	■	11,6	2,14	12,8	2,22
13	◇	3	1,68	16,5	2,94
14	△	12,7	2,68	14,7	2,82
15	▽	9,8	3,07	16,4	3,69
16	⊠	10,7	3,10	15,3	3,54
17	*	16,8	4,25	15,7	4,14
18	◇	3	1,98	11,3	3,02
19	⊕	15,5	5,01	27,5	6,26
20	⊞	10,6	3,20	18,2	3,91
21	⊗	2,5	2,58	13,2	4,40
22	⊠	13,5	4,87	15,3	5,09

18. Научная релевантность анализируемых веществ

Неприменимо, данное медицинское изделие не выполняет обнаружение каких-либо анализируемых веществ.

Набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) – это одноразовый набор реагентов для работы на секвенаторе нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx, методом секвенирования нового поколения (NGS). Для работы набора реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) используются библиотеки, полученные путем добавления к образцам ДНК индексов и последовательностей захвата. Молекулы ДНК образца библиотек связываются с поверхностью проточной ячейки и секвенируются на приборе с применением реагентов SBS (от sequencing by synthesis – метод секвенирования путем синтеза). SBS реагенты разработаны на основе метода обратимого терминирования, который используется для обнаружения флуоресцентно-меченных одиночных нуклеотидных оснований по мере их включения в синтезирующиеся цепи ДНК.

Число библиотек в образце для одного запуска зависит от мультиплексирования, поддерживаемого методом приготовления библиотек.

19. Гарантия от производителя

Производитель гарантирует стабильную работу медицинского изделия до истечения срока годности при соблюдении условий транспортировки, хранения и использования, указанных в инструкции.

Производитель гарантирует безопасность медицинского изделия, отсутствие недопустимого риска причинения вреда жизни, здоровью человека и окружающей среде при использовании медицинского изделия по прямому назначению и соблюдению условий, предусмотренных производителем.

20. Срок годности

Набор реагентов стабилен до указанного на упаковке срока. Не используйте набор реагентов по

истечению срока годности. Срок годности набора реагентов составляет 18 месяцев.

Стабильность после вскрытия упаковки

Компонент	Количество циклов замораживания/оттаивания/использования	Температура
Картридж с реагентами NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (75 cycles))	Стабилен до указанной даты истечения срока годности в течение не более чем одного цикла оттаивания до комнатной температуры Картридж с реагентами стабилен в течение 6 часов после оттаивания на водяной бане при комнатной температуре. Также картридж с реагентами можно оттаивать при температуре от 2 °C до 8 °C в течение до 5 дней перед использованием <i>Только для однократного использования</i>	от -25 °C до -15 °C
Картридж с буфером NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 (75 cycles))	Необходимо использовать сразу после вскрытия. <i>Только для однократного использования</i>	от 15 °C до 30 °C
Картридж с проточной ячейкой NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (75 cycles))	Необходимо использовать сразу после вскрытия. <i>Только для однократного использования</i>	от 2 °C до 8 °C
Буфер для разведения библиотек (Library Dilution Buffer) (NextSeq™ 550Dx Accessory Box (75 cycles))	Стабилен до указанной даты истечения срока годности в течение не более чем одного цикла оттаивания до комнатной температуры <i>Только для однократного использования</i>	от -25 °C до -15 °C

Стабильность при транспортировке

Стабильность при транспортировке в течение 72 часов для реагентов с температурой хранения от 2 °C до 8 °C и от -25 °C до -15 °C.

21. Защита окружающей среды

При правильном использовании, транспортировке, хранении и утилизации данное медицинское изделие не наносит вреда окружающей среде.

Индивидуальные меры защиты, такие как средства индивидуальной защиты:

Набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) для секвенирования нуклеиновых кислот содержит потенциально опасные химические вещества. Повреждения могут возникнуть при вдыхании, проглатывании, попадании на кожу и в глаза. Используйте средства индивидуальной защиты, включая средства защиты глаз, перчатки и лабораторный халат, соответствующий риску воздействия. Использованные реагенты классифицируются как химические отходы, их следует утилизировать в соответствии с применимыми региональными, национальными и местными законами и постановлениями.

22. Процедура контроля качества

Спецификация производимых компонентов для Набора реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) для секвенирования нуклеиновых кислот # 20028870

Критерии приемки испытаний

Четыре коробки, которые составляют Набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5 (75 cycles)) для секвенирования нуклеиновых кислот # 20028870 должны быть протестированы вместе как набор одной серии.

Четыре коробки, которые входят в состав изделия 20028870, необходимо тестировать вместе, как единый набор.

Набор	
Описание содержимого коробки	№ изделия
Картридж с реагентами NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (75 cycles)) – 1 шт.	20019560
Картридж с буфером NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 (75 cycles)) – 1 шт.	20019561
Картридж с проточной ячейкой NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (75 cycles)) – 1 шт.	20031093
Буфер для разведения библиотек (Library Dilution Buffer) (NextSeq™ 550Dx Accessory Box (75 cycles)) – 1 пробирка (12 мл/пробирка).	20019563

Количественные показатели контроля качества и предельные значения / метрики качества для контроля качества на производстве (выходной контроль)

Требования к изделию		
Анализируемый показатель	Спецификация	Методика тестирования
Плотность необработанного кластера (1000 кластеров/мм ²)	$160 \leq X \leq 230$	Протестировано на секвенаторе нуклеиновых кислот NextSeq™ 550Dx, методом секвенирования нового поколения (NGS), в конфигурации 2x38 с помощью PhiX следующего комплекта реагентов для контроля качества секвенирования 1000000029065 WI NextSeq 550DX
Прошедшие фильтр считывания на проточную ячейку (M)	≥ 400	
Считывание 1 % $\geq Q30$	≥ 92	
Считывание 2 % $\geq Q30$	≥ 88	
Считывание 1 % Фазирование	$\leq 0,23$	
Считывание 2 % Фазирование	$\leq 0,25$	
Считывание 1 % Предфазирование	$\leq 0,17$	
Считывание 2 % Предфазирование	$\leq 0,18$	
% ресинтеза PE	≥ 90	

23. Хранение и обращение

- 1 Комнатная температура: от 15°C до 30°C.
- 2 Компоненты набора реагентов стабильны при хранении в указанных условиях хранения до истечения срока годности, указанного на этикетке.
- 3 Буфер для разведения библиотек (Library Dilution Buffer) (NextSeq™ 550Dx Accessory Box (75 cycles)) и Картридж с реагентами NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (75 cycles)) стабильны в течение не более чем одного цикла оттаивания до комнатной температуры до указанной даты истечения срока годности. Картридж с реагентами стабилен в течение 6 часов после оттаивания на водяной бане при комнатной температуре. Также картридж с реагентами можно оттаивать при температуре от 2°C до 8°C в течение до 5 дней перед использованием.
- 4 Изменения физического внешнего вида предоставленных реагентов могут указывать на повреждения материалов. Если физический внешний вид меняется после смешивания (например, очевидные изменения цвета реагента или помутнение, характерное для микробной контаминации) использовать реагенты запрещается.

24. Условия транспортировки

Отдельные коробки с набором будут транспортироваться в термоконтейнерах в соответствии с рекомендуемой температурой хранения при обычных условиях, температура хранения представлена

в таблице выше. Коробки с наборами, требующие температуру хранения 2-8 °С будут транспортироваться в термоконтейнерах с использованием охлажденных и замороженных хладоэлементов, а коробки с наборами с температурой хранения от -25 °С до -15 °С будут транспортироваться в термоконтейнерах с использованием сухого льда. Коробки с наборами с установленной температурой хранения 15-30 °С будут транспортироваться в гофрокоробах при температуре окружающей среды.

Стабильность при транспортировке

Стабильность при транспортировке в течение 72 часов для реагентов с температурой хранения от 2 °С до 8 °С и от -25 °С до -15 °С.

Условия транспортировки

Медицинское изделие транспортируют всеми видами транспорта с использованием крытых транспортных средств и с соблюдением температуры хранения, указанной в инструкциях по применению, в соответствии с требованиями страны и правилами перевозки грузов, применимыми к каждому виду транспорта.

Описание изделия	Условия транспортировки
Картридж с реагентами NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Cartridge v2 (75 cycles))	Заморозка
Картридж с буфером NextSeq™ 550Dx v2, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx Buffer Cartridge v2 (75 cycles))	Температура окружающей среды
Картридж с проточной ячейкой NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов (NextSeq™ 550Dx High Output Flow Cell Cartridge v2.5 (75 cycles))	Охлаждение
Буфер для разведения библиотек (Library Dilution Buffer) (NextSeq™ 550Dx Accessory Box (75 cycles))	Заморозка

25. Утилизация

Отходы следует утилизировать как эпидемиологические опасные (класс Б) в соответствии с установленными лабораторными правилами, а также местными и государственными правилами.

26. Информация о стерильности продукта

Не применимо: не стерильно.

27. Информация о наличии активных фармацевтических субстанций в медицинском изделии.

Не применимо. Не содержит активных фармацевтических субстанций.

28. Список и описание материалов медицинского изделия, которые вступают в непосредственный контакт с телом пациента (телом человека)

Не применимо. Медицинское изделие не соприкасается с телом пациента (телом человека) ни непосредственно, ни опосредованно.

29. Информация о диапазонах биологических референсных значений медицинского изделия.

Не применимо.

30. Сервисное обслуживание и ремонт

Не применимо. Медицинское изделие для диагностики in vitro для одноразового использования.

31. Данные о безопасности электромагнитной совместимости (ЭМС)

Не применимо.

32. Валидация и верификация программного обеспечения

Не применимо. Не имеет программного обеспечения.

33. Информация о ранее зарегистрированных версиях медицинского изделия
Другие версии ранее в Российской Федерации зарегистрированы не были.

34. Информация о материалах для отбора и транспортировки образцов или характеристиках материалов, рекомендуемых для этой цели.
Материалы не поставляются.

35. Список национальных и международных законодательств/стандартов, которым соответствует ИВД МИ

Номер стандарта/пересмотр	Название
EN ISO 14971	Изделия медицинские. Применение менеджмента риска к медицинским изделиям
EN ISO 13485	Изделия медицинские. Системы менеджмента качества. Требования к регулированию
EN ISO 18113-1	Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая изготовителем (маркировка). Часть 1: Термины, определения и общие требования
EN ISO 18113-2	Медицинские изделия для диагностики in vitro. Информация, предоставляемая производителем (маркировка). Часть 2: Реагенты для диагностики in vitro для профессионального применения
EN 13612	Лабораторная оценка технических характеристик медицинских устройств.
EN 62366-1	Изделия медицинские. Проектирование медицинских изделий с учетом эксплуатационной пригодности.
EN ISO 15223-1	Изделия медицинские. Символы, применяемые при маркировании на медицинских изделиях, этикетках и в сопроводительной документации. Часть 1. Общие требования.
EN 23640	Изделия медицинские для диагностики in vitro. Оценка стабильности реагентов для диагностики in vitro

36. Рекламации

В случае возникновения вопросов, касающихся гарантийных обязательств производителя, следует обратиться к законному представителю производителя в Российской Федерации:

ООО «Р-Фарм Интернешнл» (R-Pharm International LLC),

123154, Москва, ул. Берзарина, 19 корп. 1, этаж 1, помещение V, комната 9

Тел.: +7 (495) 956-79-37, факс: +7 (495) 956-79-38

e-mail: info@rpharm.ru

www.r-pharm.com

Перевод с английского языка на русский язык

/Большая печать штата Мэриленд/

Штат Мэриленд

Канцелярия секретаря штата

Настоящий апостиль недействителен для использования в Соединенных Штатах Америки, на территориях и во владениях, принадлежащих данному государству.

Настоящий апостиль не удостоверяет содержание документа, в отношении которого он выдан.

Apostille (Апостиль)

(Convention de La Haye du 5 octobre 1961 (Гаагская конвенция от 5 октября 1961 г.))

1. Страна: Соединенные Штаты Америки
Настоящий официальный документ
2. Подписан Скоттом А. Пойером (Scott A. Poyer)
3. Выступающим в качестве секретаря Окружного суда
4. Скреплен печатью/штампом секретаря Окружного суда округа Анн-Арандел

Удостоверено

5. В г. Аннаполисе, штат Мэриленд
6. 19 сентября 2022 г.
7. Секретарем штата Мэриленд

8. За № 613306

9. Место печати:

10. Подпись:

**/Печать/: ПЕЧАТЬ КАНЦЕЛЯРИИ
СЕКРЕТАРЯ ШТАТА * ШТАТ
МЭРИЛЕНД**

**/Подпись/
Секретарь штата**

263472

Штат Мэриленд, округ Анн-Арандел

Я, СКОТТ А. ПОЙЕР, секретарь Окружного суда округа Анн-Арандел, штат Мэриленд, который является судом письменного производства, настоящим подтверждаю, что Ахмад Миски (Ahmad Miski) является должным образом назначенным, уполномоченным и квалифицированным нотариусом, действующим с 10 мая 2021 г.

В подтверждение вышеизложенного я собственноручно подписал и скрепил печатью суда настоящий документ 19 сентября 2022 г.

/Подпись/

Скотт А. Пойер, секретарь

Окружной суд округа Анн-Арандел, штат Мэриленд

/Печать/: ОКРУЖНОЙ СУД ОКРУГА АНН-АРАНДЕЛ * ШТАТ МЭРИЛЕНД

/Логотип/: «Иллюмина, Инк.» (Illumina, Inc.)

**Набор реагентов ИВД NextSeq™ 550Dx v2.5, 75 циклов
(NextSeq™ 550Dx High Output Reagent Kit v2.5
(75 циклов)) для секвенирования нуклеиновых кислот**

Дополнение к инструкции по применению

Производитель:

«Иллюмина, Инк.» (Illumina, Inc.)

Адрес:

5200, Иллюмина Уэй, г. Сан-Диего, штат Калифорния, 92122, США (5200 Illumina Way,
San Diego, California 92122, USA)

От имени «Иллюмина, Инк.»

/Подпись/

Дата 19 сентября 2022 г.

Аурелия Браунридж (Aurelia Brownridge),
старший специалист отдела по вопросам
нормативно-правового регулирования
«Иллюмина, Инк.»

/Штамп/: ЛИВАЙ П. ХОУП (LEVI P. HOPE) * Нотариус, штат Калифорния * Округ Сан-Диего * Лицензия № 2377029 * Срок действия полномочий истекает 30 сентября 2025 г.

/РУКОПИСНЫЙ ТЕКСТ/: СМ. ПРИЛОЖЕНИЕ

/Штамп/: Настоящим я, Ханади Аджамии (Hanadi Ajami), подтверждаю, что данный документ является оригиналом. * /Подпись/ * Штат Мэриленд, округ Анн-Арандел * Подписано Ханади Аджамии под присягой в моем присутствии. * Ахмад Миски * Нотариус /Подпись/ * 19 сентября 2022 г. * Срок действия полномочий истекает 28 мая 2025 г.

/Печать/: ШТАТ МЭРИЛЕНД * ОКРУГ АНН-АРАНДЕЛ * НОТАРИУС * АХМАД МИСКИ

Нотариус или другое должностное лицо, заполнившее настоящее свидетельство, удостоверяет только личность лица, подписавшего документ, к которому приложено настоящее свидетельство, а не достоверность, правильность или действительность указанного документа.

Штат Калифорния

Округ САН-ДИЕГО

19.09.2022 ко мне, ЛИВАЮ П. ХОУПУ, НОТАРИУСУ,

Дата	Указать имя, фамилию и должность официального лица
------	--

лично явилась

АУРЕЛИЯ БРАУНРИДЖ (AURELIA BROWNRIDGE),

Имя, фамилия лица, подписавшего документ

которая представила мне убедительные доказательства того, что она является лицом, чье имя указано в прилагаемом документе, и заверила меня, что имеет полномочия выступать в данном качестве и что путем проставления ее подписи в прилагаемом документе физическое или юридическое лицо, от имени которого она выступает, считается подписавшим такой документ.

/Штамп/: ЛИВАЙ П. ХОУП * Нотариус, штат Калифорния * Округ Сан-Диего *
Лицензия № 2377029 * Срок действия полномочий истекает 30 сентября 2025 г.

Будучи предупрежденным о НАКАЗАНИИ ЗА ПРЕДОСТАВЛЕНИЕ ЗАВЕДОМО ЛОЖНЫХ СВЕДЕНИЙ в соответствии с законами штата Калифорния, я удостоверяю, что информация в вышеприведенном разделе является правильной и точной.

ЗАСВИДЕТЕЛЬСТВОВАНО моей подписью и официальной печатью.

Подпись: /Подпись/

Место печати и (или) штампа нотариуса

Подпись нотариуса

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ РАЗДЕЛ

Заполнение информации в данном разделе может предотвратить внесение изменений в документ или неправомерное присоединение данной формы к другому документу.

Описание приложенного документа

Название или тип документа: ДОПОЛНЕНИЕ К ИНСТРУКЦИИ ПО ПРИМЕНЕНИЮ

Дата документа: _____ Количество страниц: _____

Подписавшие документ лица, не указанные выше: _____

Полномочия, заявленные лицами, подписавшими документ

Имя, фамилия лица,
подписавшего документ: _____

Имя, фамилия лица,
подписавшего документ: _____

☐ Должностное лицо компании,
должности: _____

☐ Должностное лицо компании,
должности: _____

☐ Партнер - ☐ с
ограниченной

☐ Партнер - ☐ с
ограниченной

ответственностью

ответственностью

☐ Физическое лицо

☐ Лицо, действующее по
доверенности

☐ Физическое лицо

☐ Лицо, действующее по
доверенности

☐ Доверительный
управляющий

☐ Опекун или попечитель

☐ Доверительный
управляющий

☐ Опекун или попечитель

☐ Другое: _____	☐ Другое: _____
Лицо, подписавшее документ, представляет: _____	Лицо, подписавшее документ, представляет: _____

©2019 г. Национальная ассоциация нотариусов

/Надпись на наклейке/: Россия. 131727

Перевод данного текста выполнен мной, переводчиком Тумановым Владимиром Олеговичем.

Российская Федерация

Город Москва

Десятого октября две тысячи двадцать второго года.

Я, Литвинова Татьяна Николаевна, временно исполняющая обязанности нотариуса города Москвы Якубовой Татьяны Олеговны, свидетельствую подлинность подписи переводчика Туманова Владимира Олеговича.

Подпись сделана в моем присутствии.

Личность подписавшего документ установлена.

Зарегистрировано в реестре: № 77/2171-н/77-2022- 43-260

Уплачено за совершение нотариального действия: 400 руб. 00 коп.



Т.Н.Литвинова

Всего прошнуровано, пронумеровано
и скреплено печатью 57 лист(а)(ов)

ВРИО нотариуса

