

# VeriSeq NIPT Solution v2

## Programhandbok



Användning av den här produkten omfattas av patent som ägs av och licensieras till Illumina, Inc. Betalning för den här produkten ger användaren begränsad, icke-överföringsbar rättighet att använda produkten för dess avsedda ändamål i enlighet med dess dokumentation och alla andra tillhörande villkor. En representativ, icke-uttömmande förteckning över sådana patent finns på [www.illumina.com/patents](http://www.illumina.com/patents). Inga andra rättigheter under några andra patent eller för några andra användningsområden ges uttryckligen, underförstått eller via estoppel.

Dokumentet och dess innehåll tillhör Illumina, Inc. och dess dotterbolag ("Illumina") och är endast avsett för användning enligt avtal i samband med kundens bruk av produkterna som beskrivs häri. Allt annat bruk är förbjudet. Dokumentet och dess innehåll får ej användas eller distribueras i något annat syfte och/eller återges, delges eller reproduceras på något vis utan föregående skriftligt tillstånd från Illumina. I och med detta dokument överlåter Illumina inte någon licens som hör till dess patent, varumärke eller upphovsrätt, eller i enlighet med rättspraxis eller liknande tredjepartsrättigheter.

Instruktionerna i detta dokument ska följas till punkt och pricka av kvalificerad och lämpligt utbildad personal för att säkerställa rätt och säker produktanvändning i enlighet med beskrivning häri. Hela innehållet i dokumentet ska läsas och förstås i sin helhet innan produkten (produkterna) används.

UNDERLÅTENHET ATT LÄSA OCH FÖLJA ALLA INSTRUKTIONER HÄRI I SIN HELHET KAN MEDFÖRA SKADA PÅ PRODUKTEN/PRODUKTERNA, PERSONSKADA, INKLUSIVE SKADA PÅ ANVÄNDAREN/ANVÄNDARNA ELLER ANDRA PERSONER SAMT SKADA PÅ ANNAN EGENDOM, OCH LEDER TILL ATT EVENTUELL GARANTI FÖR PRODUKTEN/PRODUKTERNA BLIR OGILTIG.

ILLUMINA KAN INTE ÅLÄGGAS NÅGOT ANSVAR SOM UPPKOMMER GENOM FELAKTIG ANVÄNDNING AV PRODUKTERNA SOM BESKRIVS HÄRI (INKLUSIVE DELAR DÄRI ELLER PROGRAM).

© 2019 Illumina, Inc. Med ensamrätt.

Alla varumärken tillhör Illumina, Inc. eller respektive ägare. Specifik varumärkesinformation finns på [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## Revisionshistorik

Dokument	Datum	Ändringsbeskrivning
Dokumentnr 1000000067940 v02	April 2019	Information har lagts till för NIPT-rapporter och kompletterande rapporter för att stämma överrens med utbildningsmaterial.
Dokumentnr 1000000067940 v01	Februari 2019	Programhandboken för VeriSeq NIPT Solution v2 blir tillgänglig för användare.
Dokumentnr 1000000067940 v00	November 2018	Första utgåvan för internt bruk.

# Innehållsförteckning

Revisionshistorik .....	iii
<b>Kapitel 1 VeriSeq NIPT Solution v2 .....</b>	<b>1</b>
Inledning .....	1
Systemarkitektur .....	2
<b>Kapitel 2 VeriSeq NIPT Workflow Manager .....</b>	<b>4</b>
Inledning .....	4
VeriSeq NIPT Method .....	4
VeriSeq NIPT Batch Manager .....	4
VeriSeq NIPT Services .....	9
<b>Kapitel 3 Next-Generation Sequencers .....</b>	<b>13</b>
Inledning .....	13
Sekvensuppsättning .....	13
Datalagring .....	13
Kapacitet .....	14
Begränsningar för nätverkstrafik .....	14
VeriSeq NIPT Local Run Manager .....	14
<b>Kapitel 4 VeriSeq NIPT Assay Software v2 .....</b>	<b>15</b>
Inledning .....	15
Assay Software-komponenter .....	15
Webbgränssnitt .....	19
Analys och rapportering .....	27
VeriSeq Onsite Server v2 .....	29
<b>Bilaga A QC-mått .....</b>	<b>33</b>
Kvantitativa QC-mått och gränsvärden .....	33
Mått och gränsvärden för QC av sekvensering .....	33
<b>Bilaga B Systemrapporter .....</b>	<b>34</b>
Inledning .....	34
Översikt av systemrapporter .....	35
Rapportgenereringshändelser .....	37
Resultat- och meddelanderapporter .....	39
Processrapporter .....	50
<b>Bilaga C Felsökning .....</b>	<b>57</b>
Inledning .....	57
Assay Software-meddelanden .....	58
Systemproblem .....	66

Databearbetningstest .....	66
Bilaga D Ytterligare resurser .....	68
Bilaga E Akronymmer .....	69
Teknisk hjälp .....	70

# Kapitel 1 VeriSeq NIPT Solution v2

Inledning .....	1
Systemarkitektur .....	2

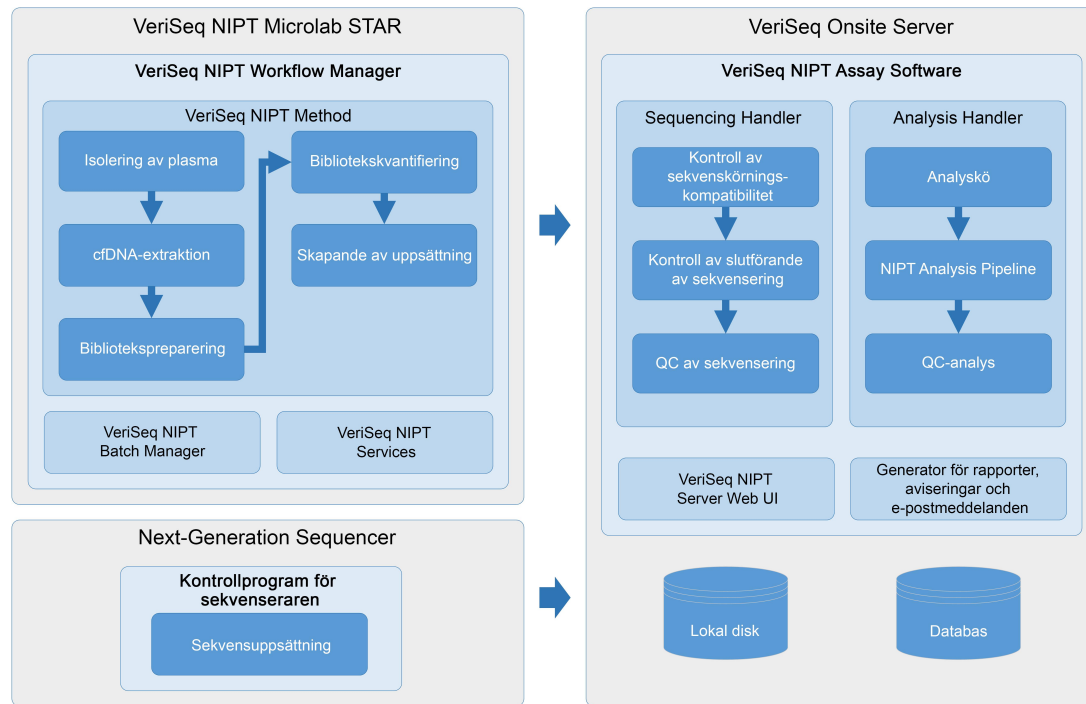
## Inledning

VeriSeq NIPT Solution v2 är ett *in vitro*-diagnostiskt test som är avsett för sekvenseringsbaserade screeningtester för detektion av fosteraneuploidier från maternella, perifera helblodsprover från kvinnor som har varit gravida i minst 10 veckor. Testet har två olika screeningtyper: basic (grundläggande) och genomwide (hela genom). Den grundläggande screeningen ger endast information om aneuploidistatus för kromosom 21, 18, 13, X och Y. Screening av hela genom ger information om partiella deletioner och dupliceringar för alla autosomer och aneuploidistatus för alla kromosomer. Båda screeningtyperna gör det möjligt att begära rapportering av aneuploidi av könskromosom (SCA). Oavsett screeningtyp får den här produktens resultat inte utgöra den enda grunden för en diagnos eller andra beslut vid en graviditet.

Systemarkitekturen för VeriSeq NIPT Solution v2 utgörs av:

- ▶ **VeriSeq NIPT Microlab STAR (ML STAR)** – Ett instrument för automatisk hantering av vätskor som använder VeriSeq NIPT Workflow Manager och VeriSeq NIPT Sample Prep Kit för att förbereda och spåra biblioteksprov. ML STAR förbereder prov som är avsedda för analys med VeriSeq NIPT Assay Software v2 enligt anvisningarna i *Bipacksedel för VeriSeq NIPT Solution v2 (dokumentnr 1000000078751)*.
- ▶ **Next-Generation Sequencer (NGS)** – Ett instrument för sekvensering av hela genom där klustergenerering och sekvensering är möjlig på instrumentet. I sekvenserarens kontrollprogram finns steg för att konfigurera en sekvenskörning och det genererar sekvensavläsningar för alla prov i den kvantifierade biblioteksuppsättningen.
- ▶ **VeriSeq Onsite Server v2** – Servern som är värd för VeriSeq NIPT Assay Software v2 och lagrar data för att analysera paired-end-sekvensdata. Assay Software övervakar och analyserar fortlöpande sekvenseringsdata och genererar provresultat, processrapporter och meddelanden.

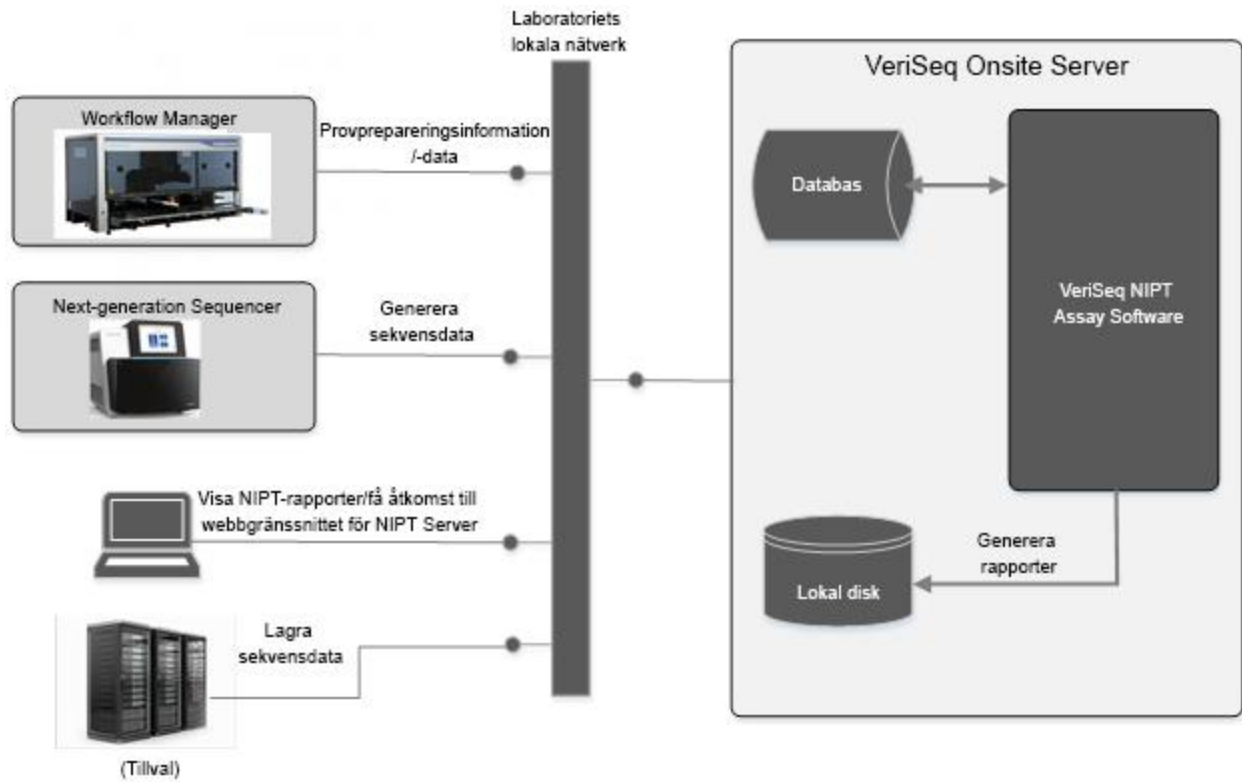
**Bild 1** Komponenter i VeriSeq NIPT Solution v2



## Systemarkitektur

VeriSeq NIPT Solution v2 använder laboratoriets lokala nätverk (LAN) för att ansluta till all systemutrustning som använder samma undernät. Användningen av LAN:et möjliggör flexibel placering av utrustning och dataflödet kan utökas genom att ansluta fler sekvenserare och/eller ML STAR-arbetsstationer. Bild 2 ger en översikt.

Bild 2 Översikt över VeriSeq NIPT Solution v2





# Kapitel 2 VeriSeq NIPT Workflow Manager

Inledning .....	4
VeriSeq NIPT Method .....	4
VeriSeq NIPT Batch Manager .....	4
VeriSeq NIPT Services .....	9

## Inledning

VeriSeq NIPT Workflow Manager, som är installerat på ML STAR, har ett enkelt och intuitivt grafiskt användargränssnitt och automatiserar förberedelsen av blodprover enligt VeriSeq NIPT Solution v2. Workflow Manager upprätthåller en dataanslutning till VeriSeq Onsite Server v2 för databearbetning, lagring, provspårning samt upprätthållandet av arbetsflödeslogiken.

Workflow Manager gör det möjligt att använda tre olika programmoduler, som även kallas för metoder:

- ▶ VeriSeq NIPT Method
- ▶ VeriSeq NIPT Batch Manager
- ▶ VeriSeq NIPT Services

## VeriSeq NIPT Method

VeriSeq NIPT Method (Method) styr den automatiserade provbearbetningen på ML STAR. Systemet utför följande bearbetningssteg:

- ▶ **Plasma Isolation** (Isolering av plasma) – Överför 1 ml av isolerad plasma från ett blodprovsrör. Bearbetningslogiken skapar en batch med Assay Software. Varje batch innehåller provdata, inklusive streckkod för prov, provtyp, screeningtyp, brunnsposition och könsrapporteringsflagga.
- ▶ **cfDNA Extraction** (cfDNA-extraktion) – Renar cfDNA från 900 µl plasma.
- ▶ **Library Preparation** (Förberedelse av bibliotek) – Skapar bibliotek från renat cfDNA som är klara för sekvensering. Biblioteken innehåller unika index för varje prov i batchen.
- ▶ **Library Quantification** (Bibliotekskvantifiering) – Fastställer cfDNA-koncentrationen med ett interkalerande fluorescerande färgämne i en mikroplatta med 384 brunnar. Plattan har en standardkurva för DNA och dubletter av varje prov i batchen. Systemet använder de råa fluorescensavläsningarna från mikroplattans läsare och beräknar provkoncentrationen baserat på standardkurvan.
- ▶ **Pooling and Normalization** (Skapande av uppsättning och normalisering) – Kombinerar bibliotek till enskilda uppsättningar för sekvensering. Systemet använder de tidigare fastställda koncentrationerna för att beräkna lämpliga överföringsvolymerna för varje prov i den sekvenseringsklara uppsättningen.

## VeriSeq NIPT Batch Manager

VeriSeq NIPT Batch Manager hanterar statusen för prover, batcher och uppsättningar via användargränssnittet. Systemet tillåter provspårning i flera vätskehanteringssystem och sekvenserare samt genom analyspipelinen. Mer information om åtgärder för provbearbetning finns i *Bipacksedel för VeriSeq NIPT Solution v2 (dokumentnr 1000000078751)*.

Du kan hantera prover i arbetsflödet via tre olika kategorier som kallas för objekt:

Objekt	Beskrivning
Prov	Resultatet av en engångstagning av 1 ml plasma från ett enskilt blodprovsrör. Prover associeras med streckkoden på blodprovsröret (provets streckkod) och på batchen.
Batch	En platta med 24, 48 eller 96 prover bearbetas genom cfDNA-extraktionen och biblioteksprepareringsprocessen.
Uppsättning	Normaliserad och utspädd volym med sekvenseringsklara, dubbelindexerade bibliotek. Varje uppsättning innehåller upp till 48 prover.

Under bearbetningen kan följande åtgärder tillämpas på objekten:

Åtgärd	Objekt	Rapport genererad	Beskrivning
Ogiltigförklaring	Prov	Sample Invalidation (Ogiltigt prov)	Prov som användaren har flaggat som ogiltigt för bearbetning. Testresultat genereras inte för ogiltiga prover. Exempel: Synliga rester av blodceller under isolering av plasma.
	Batch	Batch Invalidation (Ogiltig batch)	Batch som användaren flaggat som ogiltig. Om en batch ogiltigförklaras innan uppsättningen genereras, ogiltigförklaras alla prover. Exempel: Plattan har tappats eller på annat sätt hanterats ovarsamt.
	Uppsättning	Pool Invalidation (Ogiltig uppsättning)	Uppsättning som användaren flaggat som ogiltig. När uppsättningen har ogiltigförklarats två gånger ogiltigförklaras alla prover i uppsättningen. Exempel: Hela uppsättningsvolymen används under två misslyckade sekvenseringar.
QC-fel	Prov	Sample Invalidation (Ogiltigt prov)	VeriSeq NIPT Solution v2 flaggar automatiskt ett prov som ogiltigt om ett specificerat QC-mått underkänns eller om systemet upptäcker felaktig vätskehantering.
	Batch	Batch Invalidation (Ogiltig batch)	VeriSeq NIPT Solution v2 flaggar automatiskt hela batchen som ogiltig. Exempel: Systemfel under vätskehantering.
Avbrott	Prov	Sample Cancellation (Avbrutet prov)	Användaren flaggar provet som avbrutet. Inga testresultat genereras.
Redigera provattribut	Prov	Sex Reporting (Könsrapportering för prov)	Könsrapportering flaggas som Yes (Ja), No (Nej) eller SCA. När Yes (Ja) flaggas rapporteras ett resultat för kön. När No (Nej) flaggas rapporteras inte ett resultat för kön. När SCA flaggas rapporteras endast aneuploidi av könskromosom.
	Prov	Sample Type (Provtyp)	Provtyp flaggas av användaren som Singleton (Enkel), Twin (Dubbel), Control (Kontroll) eller No Template Control (NTC). Den könstyp som anges påverkar analysen av testet. Provtypen måste vara korrekt för att korrekta testresultat ska kunna garanteras.
	Prov	Screen Type (Screeningtyp)	Screeningtyp flaggas av användaren som basic (grundläggande) – kromosom 21, 18, 13, X och Y, eller genomwide (hela genom) – alla kromosomer.

Efter ogiltigförklaring, QC-fel eller avbrott bearbetas inte objektet vidare. Hanteringssystem för laboratorieinformation (LIMS) kan använda rapporter om ogiltigt prov för att indikera provbearbetning från bloduppsamlingsröret.

## Indata för provark

Provarket med indata innehåller patientrelaterad provinformation som inkluderar provtyp och rapportstatus för könskromosom. Systemet kräver att provinformationen är komplett innan sekvensuppsättningar kan skapas.



### WARNING!

Undvik fel genom att inte ange provinformation för NTC:er på provarket. Utelämna dem helt och inkludera inte rader för dem. Systemet tillämpar automatiskt streckkoder, screeningtyp, provtyp och könsrapportering för NTC:er.

Provarket med indata måste vara en tabbavgränsad textfil (.txt). Namnen på kolumnernas rubriker i filen måste stämma överens med motsvarande rubriker i följande tabell.

Rubrikkolumn	Datotyp	Krav	Beskrivning
batch_name	Sträng/tom	Krävs	Anger provets batchnamn. Måste stämma överens med det batchnamn som angavs i anropandemetoden (Workflow Manager) för att säkerställa att provarket med indata associeras med rätt batch. Maximalt antal tecken är 26. Kolumnen kan lämnas tom. OBS! Provark utan en batch_name-kolumn godtas inte.
sample_barcode	Sträng	Krävs	Streckkoder på blodprovsvrör som läses in i ML STAR. Om ett heltalsvärde används som streckkod för ett prov får det högst ha 15 tecken. En alfanumerisk streckkod får ha högst 32 tecken. Använd endast siffror, bokstäver, bindestreck (-) och understreck (_).
sample_type	Sträng	Krävs	Anger provtyp som ska analyseras. Tillåtna värden är "enkel", "dubbel", "kontroll" och "NTC".
sex_chromosomes	Sträng	Krävs	Anger fostrets könskromosomer som rapporteras. Tillåtna värden är "ja" (rapportera), "nej" (rapportera inte) och "sca" (rapportera endast för aneuploidi av könskromosom).
screen_type	Sträng	Krävs	Anger analysens screeningtyp. Tillåtna värden är "basic" och "genomewide".

Provarket med indata överförs under Plasma Isolation (Isolering av plasma) eller Pooling (Gruppering) och kan överföras med Batch Manager. Provinformation bekräftas under provöverföringsprocessen. Prov som förts över under isolering av plasma kan inkludera en fullständig provlista eller en underuppsättning av prov. Under uppsättningsprocessen begär systemet att få tillgång till provinformation som inte överfördes under isolering av plasma.

Användaren har kontroll över antingen provöverföring för alla prov i batchen (för batcher som genererats av kundens LIMS-system) eller för omtest (där de kvarvarande lediga positionerna fylls med tillgängliga prov).

Välj mellan tre sätt att använda provark på:

- ▶ Predefined batches (Fördefinierade batcher) – batcher som skapats i LIMS
- ▶ Ad-hoc Batching (Ad hoc-batchning) – batcher som skapats i Workflow Manager
- ▶ Hybrid Batching (Hybridbatchning) – utfyllda prioriterade LIMS-prov

## Fördefinierade batcher – batcher som skapats i LIMS

Kundens LIMS-system kan skapa batcher innan provbearbetningen börjar. I fördefinierade batcher är alla prov redan associerade med en batch innan de läses in i ML STAR. Provarket som överförs under isolering av plasma innehåller alla prov i batchen och all provinformation. Provarken för batcher som skapats i LIMS måste innehålla kolumnen med batch-ID för att säkerställa att det batch-ID-namn som angavs manuellt i Workflow Manager vid bearbetningens start är korrekt.

En fördel med det här tillvägagångssättet är att det ger kontroll över exakt vilka prov som läses in eftersom systemet kräver att alla prov i provarket är med i batchen. Ingen ytterligare information krävs och laboratoriet kan gå vidare till den slutgiltiga rapporten utan ytterligare indata.

- ▶ **Fördelar** – Ger fullständig kontroll över batchens innehåll. Förhindrar att oönskade prov läses in.
- ▶ **Nackdelar** – Kräver ett system som kan skapa batcher från lagrat innehåll (avancerad LIMS). Laboratoriets personal kan behöva hämta rätt prov från lagret eller så kan ett avancerad lagringssystem för prov behövas.

## Ad hoc-batchning – Skapade batcher

Batcher kan skapas i laboratoriet genom att provrör fysiskt samlas in till och läses in i ML STAR under isolering av plasma. Det behövs inget tidigare samband mellan prov och batch, och användaren i laboratoriet bestämmer vilka prov som ska ingå i batchen.

När det efterfrågas anger användaren **No Sample Sheet** (Inget provark) under isolering av plasma. Workflow Manager associerar de överförda proverna med manuellt angivet batch-ID och genererar en rapport om påbörjad batch. Rapporten kan skickas till laboratoriets LIMS-system för att visa att batchen har skapats och för att tillhandahålla en lista över associerade prov.

- ▶ **Fördelar** – Det krävs inget LIMS eller provark. Användare kan redigera rapporten om påbörjad batch med information om provtyp, screeningtyp och könsrapportering för överföring när uppsättningen skapas. Metoden är flexibel då prov kan läggas till när som helst.
- ▶ **Nackdelar** – Ingen automatisk kontroll över vilka prov som inkluderas i batchen. Användaren kan läsa in ett oönskat prov. Provdatabaser måste överföras när en uppsättning skapas.

## Hybridbatchning – Prioriterade LIMS-prov

Kundens LIMS-system kan skapa en batch med en underuppsättning av de prov som fördefinierats. De kvarvarande proven i batchen fylls i av Workflow Manager från de prov som läses in. Med den här metoden överför användaren ett partiellt provark under isolering av plasma. Även här ska användarna fylla i kolumnen för batch-ID om de vill fördefiniera sina batchnamn. Ibland kanske en användare väljer att överföra ett tomt provark som endast innehåller batchnamnet för att dubbelkontrollera det manuellt angivna batchnamnet. Den här strategin fungerar bra för att prioritera prov med höga värden, som omtest, för att säkerställa att proven med höga värden inkluderas i körningen. Vilka prover som ska inkluderas i batchen bestäms delvis av LIMS-systemet och delvis av användaren i laboratoriet.

- ▶ **Fördelar** – Kombinerar flexibiliteten i Ad-hoc Batching-strategin med möjligheten att definiera batchnamn och vissa av proven i batchen (t.ex. omtest).
- ▶ **Nackdelar** – Det går inte att definiera alla prov och därför kan ett oönskat prov fortfarande läsas in. Den här strategin kräver fortfarande information om vissa prov under uppsättningsprocessen.

## Redigera provattribut

Använd VeriSeq NIPT Batch Manager, innan en sekvenskörning påbörjas, för att ändra rapporteringen av individuella könskromosomer, screeningtyp och provtypsattribut.

- 1 Öppna Batch Manager.
- 2 Ange batch-ID och användarnamn eller användarens initialer, och välj **OK**.
- 3 Välj den brunn på batchens plattschema som associeras med det önskade provet.
- 4 Bekräfta att korrekt prov visas och välj ett provtypsattribut från rullgardinslistan Sample Type (Provtyp).
- 5 Välj ett attribut för könsrapportering från rullgardinslistan Sex Reporting (Könsrapportering).

- 6 Välj ett attribut för screeningtyp från rullgardinslistan Screen Type (Screeningtyp).
- 7 Tryck på **Edit** (Redigera).

## Ogiltiga prov, uppsättningar och batcher

Beroende på aktuellt steg i provbearbetningen kan användaren ogiltigförklara ett enskilt test, en batch eller en provuppsättning. Efter ogiltigförklaringen bearbetas inte längre provet, batchen eller uppsättningen.

Innan en testrapport genereras kan du använda antingen VeriSeq NIPT Method eller Batch Manager för ogiltigförklara ett eller flera prov.

### Ogiltigförklara med VeriSeq NIPT Method

- 1 Under provbearbetningen väljer du vilka enskilda brunnar som ska underkännas i fönstret Well Comments (Brunnkommentarer), som visas i slutet av varje Workflow Manager-process, och sedan **OK**.
- 2 Välj minst en anmärkning från rullgardinsmenyerna eller markera kryssrutan **Other** (Övrigt) och ange en kommentar.
- 3 Markera kryssrutan **Fail Sample** (Underkänn prov) och välj **OK**.
- 4 Bekräfta att systemet ska underkänna provet.

### Ogiltigförklara med Batch Manager

Använd Batch Manager för att ogiltigförklara:

- ▶ ett prov
- ▶ en batch innan uppsättningssteget har slutförts
- ▶ en provuppsättning efter uppsättningssteget har slutförts och före en testrapport genereras.



#### **OBS!**

Avsluta eventuella metoder som redan körs innan du kör Batch Manager.

### Åtkomst till Batch Manager

- 1 Gör något av följande för att få åtkomst till Batch Manager:
  - ▶ Välj **VeriSeq NIPT Batch Manager** i App Launcher (Appstartaren).
  - ▶ Gå till **C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT** på en dator som är ansluten till nätverket och öppna Batch Manager-metodfilen (**VeriSeqNIPT\_Batch\_Manager.med**) med Hamilton Run Controller.

### Ogiltigt prov

- 1 Öppna Batch Manager.
- 2 Ange batch-ID och användarnamn eller användarens initialer, och välj **OK**.
- 3 Välj den brunn på batchens plattschema som associeras med det underkända provet.
- 4 Bekräfta att korrekt prov visas och välj **Invalidate Sample** (Ogiltigförklara prov).
- 5 Ange en anledning och välj **Invalidate** (Ogiltigförklara).  
Det ogiltigförklarade provet ändras från grönt till rött på batchens plattdiagram och statusetiketten ändras från giltigt till misslyckat.

## Ogiltig batch

- 1 Öppna Batch Manager.
- 2 Ange batch-ID och användarnamn eller användarens initialer, och välj **OK**.
- 3 Välj **Invalidate Batch** (Ogiltigförklara batch) på batchens plattschema.
- 4 Ange en anledning och välj **Invalidate** (Ogiltigförklara).  
Om det inte finns några giltiga uppsättningar i batchen ändras alla prov från gröna till röda på batchens plattschema. Giltiga uppsättningar i batchen förblir giltiga.

## Ogiltig uppsättning

- 1 Öppna Batch Manager.
- 2 Ange batch-ID och användarnamn eller användarens initialer, och välj **Pool Manager** (Uppsättningshanterare).
- 3 Skanna uppsättningens streckkod.
- 4 Ange användarnamn eller användarens initialer och välj **OK**.
- 5 Ange en anledning och välj **Invalidate** (Ogiltigförklara).

## Överföra provark

Användaren kan överföra ett provark med provinformation via Batch Manager. Med hjälp av den här funktionen kan användaren till exempel överföra eller ändra provinformation för stora uppsättningar.

- 1 Öppna Batch Manager.
- 2 Ange batch-ID och användarnamn eller användarens initialer, och välj **OK**.
- 3 Välj **Upload New Sample Sheet** (Överför nytt provark).
- 4 Bläddra till och välj önskat provark. Välj sedan **OK**.

## Avbrutet prov

- 1 Öppna Batch Manager.
- 2 Ange batch-ID och användarnamn eller användarens initialer, och välj **OK**.
- 3 Välj den brunn på batchens plattschema som associeras med det avbrutna provet.
- 4 Bekräfta att korrekt prov visas och välj **Cancel Sample** (Avbryt prov).
- 5 Ange en anledning och välj **Cancel** (Avbryt).  
På batchens plattdiagram ändras det avbrutna provet från grönt till rött.

## VeriSeq NIPT Services

VeriSeq NIPT Services (Services) innehåller flera olika verktyg som används för att konfigurera och verifiera både ML STAR och Workflow Manager. Verktygen behövs inte vid normal systemanvändning, men kan behövas för att bistå Illuminas eller Hamiltons tekniska support vid felsökning av systemet. Verktygen används även för att justera systemparametrar på grund av en glidning i klustertäthet.

## Starta VeriSeq NIPT Services



### OBS!

Stäng alla metoder som körs innan du startar Services.

Gör något av följande för att få åtkomst till VeriSeq NIPT Services:

- ▶ Välj **VeriSeq NIPT Services** i App Launcher (Appstartaren).
- ▶ Gå till **C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT** på en dator som är ansluten till nätverket och öppna VeriSeq NIPT Services-metodfilen (**VeriSeqNIPT\_Service.med**) med Hamilton Run Controller.

Services-verktygen gör det möjligt att använda två olika tester:

- ▶ **Individual Tests** (Individuella tester) – Komponenttester som används för felsökning av ML STAR-maskinvaran.
- ▶ **Service Tools** (Serviceverktyg) – Verktyg som används för att konfigurera Workflow Manager.

## Individuella tester

Följande systemtest kan behöva utföras för att underlätta felsökningen av maskinvaruproblem som påträffats i Workflow Manager.

Systemtest	Beskrivning
Barcode/Autoload	Kontrollerar att kontrollboxen, AutoLoader och funktionen för streckodsskanning är korrekt konfigurerade.
CPAC	Kontrollerar att CPAC-värmesystemen, som är monterade på enheten, fungerar korrekt. Kontrollerar även att kabeldragningen från individuella enheter till kontrollboxen är korrekt.
BVS Vacuum	Kontrollerar att vakuumsystemet (BVS), som sitter på kontrollboxen, fungerar korrekt för att bekräfta att vakuomet kan uppnå driftryck.
Independent Channel	Kontrollerar de enskilda pipettkanalerna. Utför retentionstester för att upptäcka droppande pipettkanaler och kontrollerar att leveransvolymen är konsekvent.
iSwap	Testar att iSwaps robotarm fungerar korrekt och bekräftar dess inlärd positioner.
96-Head	Testar CO-RE 96-pipetthuvudets funktion. Utför retentionstester för att upptäcka droppande pipettkanaler och kontrollerar att leveransvolymen är konsekvent.

Så här utför du enskilda tester:

- 1 Välj det test som ska utföras.



### OBS!

Fullständig IOQ kör alla sex tester sekventiellt.

- 2 Följ anvisningarna på skärmen. Notera utrustningens funktion och möjliga systemfel.
- 3 Välj **Abort** (Avbryt) för att lämna metoden när den har slutförts.
- 4 Om du uppmanas att tillhandhålla systemspårningsloggar som skapas under test finns loggarna på **C:\Program Files (x86)\HAMILTON\LogFiles** och börjar med **VeriSeqNIPT\_Services**.

## Serviceverktyg

Med serviceverktygen kan Workflow Manager och vissa parametrar konfigureras.

Systemtest	Beskrivning
Server Configuration (Serverkonfiguration)	Konfigurerar och testar anslutningen mellan VeriSeq NIPT Workflow Manager och Assay Software. Korrekt kommunikation mellan de här systemen krävs för att Workflow Manager ska kunna köras.
Assay Configuration (Analyskonfiguration)	Används för att återställa standardvärdet för bibliotekskoncentration.
Deck Teach Tool (Verktyget Deck Teach)	Används för att exportera och importera inlärd deck teach-positioner från en fil.

## Serverkonfiguration

Om nätverksadressen för VeriSeq Onsite Server v2 ändras ska Workflow Manager dirigeras till den nya adressen.

- 1 Från menyn Services Tools (Serviceverktyg) väljer du **Server Configuration** (Serverkonfiguration).
- 2 Uppdatera URL-adressen till Onsite Servers nya adress.
- 3 Välj **Test Connection** (Testa anslutning) för att skicka ett testmeddelande. Kontakta Illuminas tekniska support om du inte får det här meddelandet.
- 4 Välj **OK** och sedan **Apply** (Verkställ) på skärmen System Configuration (Systemkonfiguration) för att spara det nya värdet.

## Analyskonfiguration

Du kan justera koncentrationen av sekvenseringsbiblioteken i sekvensuppsättningarna i Workflow Manager för varje enskild körning under uppsättningsprocessen (mer information finns i *Bipacksedel för VeriSeq NIPT Solution v2 (dokumentnr 1000000078751)*). Verktyget för analyskonfiguration kan även användas för att ändra koncentrationens standardvärde.

Du kan även använda verktyget för analyskonfiguration för att ändra andra parametrars värden. Du kan ange standardparametern för könskromosomrapportering till Yes (Ja) eller Nej (No). Inställningen avgör vilket attribut som tilldelas prover när knappen Use Default (Använd standard) väljs under provberedningen. Parametern för screeningtyp kan anges som Basic (Grundläggande) eller Genomewide (Hela genom), och anger provets screeningtyp.

- 1 Välj **Assay Configuration** (Analyskonfiguration).
- 2 Ange önskat värde i rutan Target Library Concentration (Målbibliotekskoncentration) (pg/μl).
- 3 Uppdatera standardparametrarna för könskromosomrapportering till önskade värden.
- 4 Uppdatera screeningtypen till önskat värde.
- 5 Välj **Apply** (Tillämpa).

## Verktyget Deck Teach

Under felsökning kan det vara nödvändigt att exportera de inlärd positionsvärdena. Använd verktyget Deck Teach för att generera en lista över positionerna och deras värden.

- 1 Välj **Deck Teach Tool** (Verktyget Deck Teach).



- 2 Välj **Export** (Exportera).
- 3 Välj en utdataplats för textfilen med de inlärdade positionsvärdena.
- 4 Välj **OK**.  
Verktøget Deck Teach sparar en textfil med värden för alla inlärdade laboratoriepositioner i Workflow Manager.
- 5 Välj **Cancel** (Avbryt) för att återvända till skärmen Method Selection (Val av metod).

# Kapitel 3 Next-Generation Sequencer

Inledning .....	13
Sekvensuppsättning .....	13
Datalagring .....	13
Kapacitet .....	14
Begränsningar för nätverkstrafik .....	14
VeriSeq NIPT Local Run Manager .....	14

## Inledning

Ett NGS-system genererar sekvensavläsningar för alla prover i den kvantifierade biblioteksuppsättningen och integrerar med VeriSeq NIPT Solution v2 via Onsite Server. Sekvensdata utvärderas av Analysis Handler, som är en del av Assay Software.

Tänk på följande när ett NGS-system ska integreras med VeriSeq NIPT Solution v2.

- ▶ Datalagring.
- ▶ Kapacitet.
- ▶ Begränsningar för nätverkstrafik.

## Sekvensuppsättning

Assay Software kräver en NGS som kan generera sekvensdata från den förberedda biblioteksuppsättningen enligt följande specifikationer:

- ▶ Framställning av 2 x 36 paired-end-avläsningar.
- ▶ Kompatibel med indexadaptorer i VeriSeq NIPT Sample Prep Kit.
- ▶ Tvåkanalskemi.
- ▶ Skapar .BCL-filer automatiskt.

## Datalagring

En typisk sekvenskörning för VeriSeq NIPT Solution v2 kräver 25–30 GB för NGS-systemdata. Den faktiska datastorleken kan variera beroende på den slutgiltiga klustertätheten. Onsite Server har mer än 7,5 TB lagringsutrymme, vilket är tillräckligt för mer än 300 sekvenskörningar ( $7\,500/25 = 300$ ).

För datalagringsändamål ska NGS-systemet mappas till Onsite Server med en av följande metoder:

- ▶ Använd Onsite Server som datalager. I den här konfigurationen mappas sekvenseraren direkt till servern och lagrar data på den lokala enheten.
- ▶ Använd Network-Attached Storage (NAS) för labb med hög kapacitet. Konfigurera NGS-systemet till att spara sekvensdata direkt till en specifik plats på NAS:en.  
Med den här metoden ska Onsite Server konfigureras för att övervaka den specifika plats på NAS:en som gör det möjligt för servern att övervaka kommande sekvenskörningar. Flera NGS-system kan läggas till för att öka provkapaciteten. Mer information om hur servern ska mappas till NAS:en finns i avsnittet *Hantera en delad nätverksenhet på sidan 24*.

Mer information om hur NGS-systemet ska mappas till servern eller till NAS:en finns i systemets användarhandbok.

## Kapacitet

Det tar vanligtvis omkring fem timmar för VeriSeq NIPT Analysis Pipeline att bearbeta data för en enskild sekvenskörning. När du vill utöka laboratoriets provkapacitet bör du ha i åtanke att en enskild server kan bearbeta maximalt fyra körningar per dag, vilket totalt uppgår till 48 prover x 4 = 192 prover per dag. Kontakta Illuminas support för ytterligare kapacitetslösningar.

## Begränsningar för nätverkstrafik

VeriSeq NIPT Solution v2 använder laboratoriets lokala nätverk (LAN) för datatrafik mellan NGS-systemet, Onsite Server och NAS:en (om en sådan är konfigurerad). Tänk på följande begränsningar för IT-infrastrukturen om provkapaciteten ska utökas:

- ▶ Den genomsnittliga datatrafiken på cirka 25 GB som genereras över cirka 10 timmar är omkring 0,7 MB/s per sekvenserare.
- ▶ Laboratoriets infrastruktur kan även försörja andra trafikällor som bör tas med i beräkningen.

## VeriSeq NIPT Local Run Manager

Gör följande för att förbereda en sekvensering om du använder ett NGS-system med modulen VeriSeq NIPT Local Run Manager (LRM):

- 1 Välj **Create Run** (Skapa körning) i Local Run Manager.
- 2 Välj **VeriSeq NIPT** i rullgardinsmenyn.
- 3 Fyll i följande fält.
  - ▶ Körningsnamn
  - ▶ Körningsbeskrivning (valfritt)
  - ▶ Uppsättningsstreckkod



### **WARNING!**

Uppsättningsstreckkoden som anges i LRM-modulen måste matcha uppsättningsstreckkoden som anges i Workflow Manager. Felaktiga körningskonfigurationer aviseras av Assay Software och kan kräva omsekvensering.

- 4 Välj **Save Run** (spara körning).

Du kan starta körningen med instrumentet när du har konfigurerat den.

# Kapitel 4 VeriSeq NIPT Assay Software v2

Inledning .....	15
Assay Software-komponenter .....	15
Webbgränssnitt .....	19
Analys och rapportering .....	27
VeriSeq Onsite Server v2 .....	29

## Inledning

VeriSeq NIPT Assay Software v2 genererar statistik som används för att utvärdera antalet kopior av kromosomer i testade prover och fastställer aneuploidi för de kromosomer som valts ut för analys. Vilka kromosomer som analyseras beror på den valda screeningstypen: basic (grundläggande) – kromosom 21, 18, 13, X och Y, eller genomwide (hela genom) – alla kromosomer. Om du väljer att analysera hela genomet kommer programmet även att söka efter förekomsten av subkromosomala regioner av antalet kopior som ökat eller minskat inom autosomen. Ett instrument för nästa generations sekvensering genererar indata från analyser i form av 36 paired-end-basavläsningar.

VeriSeq NIPT Assay Software v2 körs på VeriSeq Onsite Server v2. Onsite Server är en central komponent i VeriSeq NIPT Solution v2 och fungerar som en anslutningspunkt mellan VeriSeq NIPT Workflow Manager, NGS-systemet och användaren.

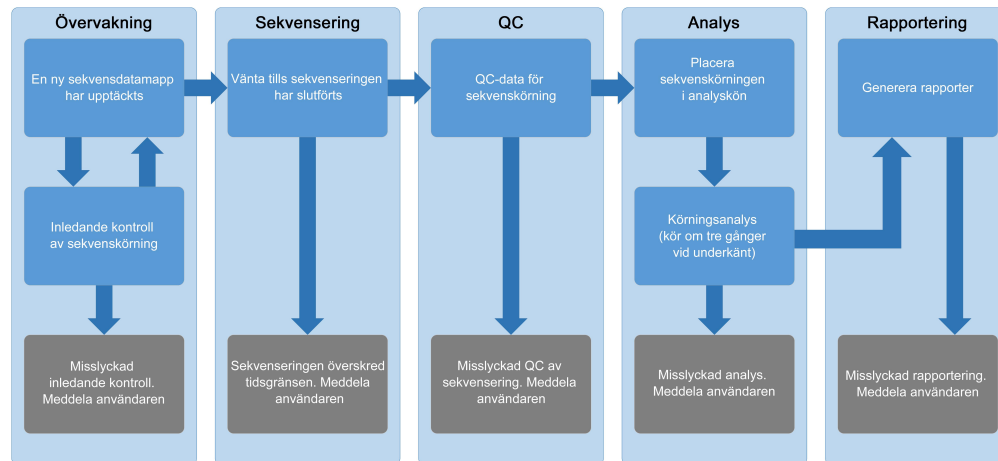
Assay Software matchar avläsningarna med det mänskliga genomet som finns som referens och analyserar de avläsningar som matchar en unik plats eller ett unikt läge i genomet. Assay Software utesluter dubletter och lägen som är förknippade med stor variation i täckning över euploida prover. Sekvensdata normaliseras för nukleotidinhåll och för att korrigera för batcheffekter och andra källor till oönskade variationer. Information om cfDNA-fragmentets längd härleds från paired-end-sekvensavläsningarna. Assay Software uppskattar även statistik för sekvenstäckning för områden som är kända för att vara anrikade för antingen cfDNA från modern eller fostret. Data som genereras från fragmentlängd och täckningsanalyser används för att uppskatta fosterfraktion (FF) för alla prover.

För varje screeningalternativ som väljs för ett prov i testmenyn rapporterar Assay Software om en avvikelse har detekterats eller inte. I den grundläggande screeningen är alla avvikelser aneuploidier. I screeningen av hela genomet kan en avvikelse vara en aneuploidi eller en partiell deletion eller duplicering.

## Assay Software-komponenter

Assay Software körs fortlöpande och övervakar nya sekvensdata när de läggs till i mappen Indata på Onsite Server. När en ny sekvenskörning identifieras händer följande.

Bild 3 Dataflödesdiagram



- 1 **Monitoring** (Övervakning) – Utför en inledande kontroll av den nya sekvenskörningens giltighet. Giltighetskontrollen kontrollerar körningsparametrarnas kompatibilitet (överensstämmelse mellan värden och förväntade värden), associeringen av flödescellen med ett känt, befintligt uppsättningsrör och den säkerställer att resultaten inte tidigare har rapporterats för samma prov i den uppsättningen (omkörning). Om någon av kontrollerna misslyckas meddelas användaren via systemet för e-postavisering och aviseringsloggen i webbgränssnittet.
- 2 **Sequencing** (Sekvensering) – Kontrollerar fortlöpande om sekvenskörningen har slutförts. En timer som definierar en tidsgräns för slutförande av körningen ställs in. Om tidsgränsen uppnås meddelas användaren via systemet för e-postavisering i webbgränssnittet.
- 3 **QC** (Kvalitetskontroll) – Granskar InterOp QC-filerna som genereras av sekvenseraren. Assay Software kontrollerar det totala klusterantalet, klustertätheten och avläsningens kvalitetsresultat. Om QC-kriterierna inte uppfylls meddelas användaren via systemet för e-postavisering i webbgränssnittet.
- 4 **Analysis** (Analys) – Hanterar analyskön för flera sekvenskörningar som genereras av olika instrument som konfigurerats med servern. Servern bearbetar ett analysjobb åt gången i enlighet med principen först in först ut (FIFU). När analysen har slutförts startar nästa schemalagda analys i kön. Om en analyskörning misslyckas eller om tidsgränsen överskrids startar Assay Software automatiskt om analysen upp till tre gånger. Efter varje misslyckad körning meddelas användaren via systemet för e-postavisering i webbgränssnittet.
- 5 **Reporting** (Rapportering) – Genererar rapporten som innehåller de slutgiltiga resultaten efter att analysen har slutförts. Om ett fel uppstår och rapporten inte genereras meddelas användaren via systemet för e-postavisering i webbgränssnittet.

## Assay Software-aktiviteter

Assay Software utför både automatiska och användarinitierade aktiviteter.

### Automatiserade aktiviteter

Assay Software genomför följande automatiserade aktiviteter:

- ▶ **Sample preparation log collation and storage** (Sammanställning och lagring av provberedningslogg) – Skapar en uppsättning utdatafiler vid slutet av varje steg och lagrar dem i mappen ProcessLogs (Processloggar) i mappen Output (Utdata). Om du vill veta mer ger avsnittet *Filstruktur för rapporter på sidan 34* en översikt och avsnittet *Processrapporter på sidan 50* mer detaljerad information.

- ▶ **Alert, email, and report notification generation** (Generering av aviseringar, e-post och rapporter) – Övervakar giltighetsstatus för batchen, uppsättningen och provet under provberedningsstegen samt QC av sekvensdata och analysresultat för varje prov. Assay Software använder verifieringskontrollerna för att avgöra om processen ska fortsätta och om resultaten ska rapporteras. Assay Software avslutar processen när en batch eller en uppsättning ogiltigförklaras på grund av QC-resultat. Ett e-postmeddelande skickas till användaren, en rapport genereras och en avisering loggas i webbgränssnittet.
- ▶ **Sequence data analysis** (Sekvensdataanalys) – Analyserar råsekvensdata för varje prov som multiplexeras i uppsättningen med det integrerade NIPT Analysis Software. Assay Software bestämmer aneuploidiresultaten för varje prov. Systemet rapporterar inte resultat från prover som användaren ogiltigförklarar eller avbryter. Om ett prov inte uppfyller QC-kriterierna ges en tydlig förklaring, men det misslyckade provets resultat ignoreras. Mer information finns i avsnittet *NIPT-rapport på sidan 39*.
- ▶ **Results file generation** (Generering av resultatfil) – Visar provresultat i ett filformat med tabbavgränsade värden som kan sparas i mappen Utdata. Mer information finns i avsnittet *NIPT-rapport på sidan 39*.
- ▶ **Report generation** (Rapportgenerering) – Assay Software genererar kompletterande resultatinformation, meddelanden och processrapporter. Mer information finns i avsnittet *Systemrapporter på sidan 34*.
- ▶ **Sample, pool, and batch invalidation** (Ogiltiga prov, uppsättningar och batcher) –
  - ▶ **Sample invalidation** (Ogiltigt prov) – Assay Software markerar enskilda prover som ogiltiga när användaren:
    - ▶ Uttryckligen ogiltigförklarar provet.
    - ▶ Ogiltigförklarar hela plattan under förberedelse av bibliotek innan uppsättningarna skapas. När ett prov markeras som ogiltigt genereras det automatiskt en rapport om ogiltigt prov. Mer information finns i avsnittet *Rapport om ogiltigt prov på sidan 49*.
  - ▶ **Pool and batch invalidation report generation** (Generering av rapport om ogiltig uppsättning/batch) – Uppsättningar och batcher kan endast ogiltigförklaras av användaren. Ogiltiga uppsättningar bearbetas inte av systemet. Uppsättningar som skapats i en ogiltig batch ogiltigförklaras inte automatiskt och kan bearbetas ytterligare av systemet. Däremot kan inte nya uppsättningar skapas i en ogiltig batch. När en uppsättning ogiltigförklaras skapar systemet en rapport om begäran av omanalys av uppsättning under följande villkor:
    - ▶ Batchen är giltig.
    - ▶ Batchen har inga fler tillgängliga uppsättningar.
    - ▶ Antalet tillåtna uppsättningar i batchen har inte utnyttjats till fullo.
 Mer information finns i *Rapport om begäran av omanalys av uppsättning på sidan 49*.
- ▶ **Retest management** (Hantering av omanalys) –
  - ▶ **Pool failures** (Misslyckad uppsättning) – Misslyckade uppsättningar är vanligtvis uppsättningar som inte klarade QC-måtten för sekvensering. Assay Software fortsätter inte att bearbeta misslyckade uppsättningar om körningen avslutas. Utför omsekvensering med en andra alikvot.
  - ▶ **Sample failures** (Provfel) – Programmet tillåter att misslyckade prov testas igen vid behov. Misslyckade prov måste integreras i en ny batch och ombearbetas genom analyssteg.
  - ▶ **Reruns** (Omkörningar) – Systemet omanalyserar inte uppsättningar med prov som tidigare har bearbetats och rapporterats framgångsrikt. Omkörning av ett prov kan utföras genom att köra provet i en ny batch.

## Användaråtgärder

Med VeriSeq NIPT Solution v2 kan användaren utföra följande åtgärder:

Med Workflow Manager:

- ▶ Markera ett individuellt prov, alla prov i en batch eller alla prov associerade med en uppsättning som ogiltigt/ogiltiga.
- ▶ Markera ett givet prov som avbrutet. Assay Software markerar då resultatet som avbrutet i den slutliga resultatrapporten.

Med Assay Software:

- ▶ Konfigurera programmet som ska installeras och integreras i laboratoriets nätverksinfrastruktur.
- ▶ Ändra konfigurationsinställningar, som nätverksinställningar, delade mapplatser och hantering av användarkonton.
- ▶ Visa system- och batchstatus, rapporter för resultat och batchbearbetning, aktivitets- och granskningsloggar samt analysresultat.



### OBS!

Användare kan utföra vissa åtgärder beroende på behörighet. Mer information finns i avsnittet *Tilldela användarroller* på sidan 22.

## Sequencing Handler

Assay Software hanterar sekvenskörningarna som genereras av sekvenseringsinstrumenten via Sequencing Handler. Den identifierar nya sekvenskörningar, validerar körningsparametrar och matchar uppsättningens streckkod med en känd uppsättning som skapats under biblioteksprepareringsprocessen. Om ett samband inte hittas genereras ett meddelande till användaren och bearbetningen av sekvenskörningen avbryts.

Efter att valideringen har slutförts fortsätter Assay Software att övervaka att sekvenskörningarna slutförs. Slutförda sekvenskörningar placeras i kö för att bearbetas av Analytic Pipeline Handler (mer information finns i avsnittet *Analytic Pipeline Handler* på sidan 18).

## Sekvenskörningskompatibilitet

Servern analyserar endast sekvenskörningar som är kompatibla med det cfDNA-analytiska arbetsflödet. Använd endast kompatibla sekvensmetoder och programversioner för att generera basanrop.



### OBS!

Kontrollera prestandamätningar av sekvensdata regelbundet för att säkerställa att datakvaliteten är inom specifikationerna.

VeriSeq NIPT Local Run Manager-modulen konfigurerar sekvenseringen med följande parametrar.

- ▶ Paired-end-körning med 2 x 36 cykelavläsningar.
- ▶ Dubbelindexering med två indexavläsningar om åtta cykler.

## Analytic Pipeline Handler

Analytic Pipeline Handler startar analyspipelinen för detektering av aneuploidi. Pipelinen bearbetar en sekvenskörning åt gången med en genomsnittlig löptid på mindre än fem timmar per uppsättning. Om analysen misslyckas med att bearbeta uppsättningen, eller om analysen inte slutförs på grund av

strömavbrott eller för att den överskridit tidsgränsen, ställer Analytic Pipeline Handler automatiskt körningen i kön på nytt. Om bearbetningen av uppsättningen misslyckas tre gånger i rad markeras körningen som misslyckad och användaren meddelas.

Vid en slutförd körning genereras en NIPT-rapport. Mer information finns i avsnittet *NIPT-rapport* på sidan 39.

## Tidsgräns och lagringskrav för arbetsflöde

Det cfDNA-analytiska arbetsflödet är föremål för följande tidsgränser och lagringsbegränsningar.

Parameter	Standardvärde
Maximal sekvenstid	20 timmar
Maximal analystid	10 timmar
Minsta temporärt minne	900 GB

## Webbgränssnitt

Assay Software har ett lokalt webbgränssnitt som tillåter enkel åtkomst till Onsite Server från hela nätverket. Webbgränssnittet har följande funktioner:

- ▶ **View recent activities** (Visa senaste aktiviteter) – Identifierar stegen som slutförts vid analysen. Användaren får aviseringar om många av de här aktiviteterna via e-post. Mer information finns i avsnittet *Assay Software-meddelanden* på sidan 58.
- ▶ **View errors and alerts** (Visa fel och aviseringar) – Identifierar problem som kan förhindra analysen att fortsätta. Felmeddelanden och aviseringar skickas till användaren via systemet för e-postavisering. Mer information finns i avsnittet *Assay Software-meddelanden* på sidan 58.
- ▶ **Configure the server network settings** (Konfigurera nätverksinställningarna för servern) – Illumina-personal konfigurerar vanligtvis nätverket vid systeminstallationen. Ändringar kan komma att behövas om det lokala nätverket kräver IT-ändringar. Mer information finns i avsnittet *Ändra nätverks- och serverinställningar* på sidan 25.
- ▶ **Manage server access** (Hantera serveråtkomst) – Onsite Server har administratörs- och användaråtkomstnivå. De här åtkomstnivåerna styr hur aktivitet, avisering, felloggar och ändringar av nätverks- och datamappingsinställningar visas. Mer information finns i avsnittet *Hantera användare* på sidan 22.
- ▶ **Configure sequencing data folder** (Konfigurera sekvensdatamapp) – Som standard sparar servern sekvensdata. Det går dock att lägga till en central NAS för att öka lagringskapaciteten. Mer information finns i avsnittet *Mappa serverenheter* på sidan 30.
- ▶ **Configure email notification subscribers list** (Konfigurera mottagarlista för e-postmeddelande) – Hanterar mottagarlistan för e-postmeddelanden med felmeddelanden och analysprocessfel. Mer information finns i avsnittet *Konfigurera systemets e-postmeddelanden* på sidan 26.
- ▶ **Reboot or shutdown the server** (Starta om eller stäng av servern) – Startar om eller stänger av servern vid behov. En omstart eller avstängning kan behövas för att konfigurationen av en inställning ska börja gälla eller åtgärda ett serverfel. Mer information finns under *Starta om servern* på sidan 31 och *Stänga av servern* på sidan 31.




## Licensavtal för slutanvändare

Första gången som du loggar in i webbgränssnittet ombeds du att godkänna licensavtalet för slutanvändare. Genom att välja **Download EULA** (Hämta licensavtal) kan du hämta licensavtalet till din dator. Programmet kräver att du godkänner licensavtalet innan du kan fortsätta arbeta med webbgränssnittet.

Efter att du har godkänt licensavtalet kan du återvända till avtalssidan och hämta dokumentet vid behov.

## Konfigurera webbgränssnittet

Tryck på ikonen Inställningar  för att visa en rullgardinslista med konfigurationsinställningar. Vilka inställningar som visas beror på användarroll och behörighet. Mer information finns i avsnittet [Tilldela användarroller på sidan 22](#).



### OBS!

En tekniker har inte tillgång till några av de här funktionerna.

Inställning	Beskrivning
Användarhantering	Lägga till, aktivera/inaktivera och redigera användares inloggningsuppgifter. Endast för servicetekniker och administratörer.
E-postkonfiguration	Redigera mottagarlistor för e-postmeddelanden.
Ändra lösenord för delad mapp	Ändra sbsuser-lösenordet för åtkomst till Onsite Servers delade mappar.
Starta om server	Endast för servicetekniker eller administratörer.
Stäng av server	Endast för servicetekniker eller administratörer.

## Logga in i webbgränssnittet

Så här gör du för att få tillgång till gränssnitt och inloggning för Assay Software:

- Öppna en av följande webbläsare på en dator som är ansluten till samma nätverk som Onsite Server:
  - ▶ Chrome v69 eller senare
  - ▶ Firefox v62 eller senare
  - ▶ Internet Explorer v11 eller senare
- Ange serverns IP-adress eller servernamnet som tillhandahölls av Illumina vid installation, som motsvarar \\<IP-adress för VeriSeq Onsite Server v2 >\login.  
Till exempel \\10.10.10.10\login.
- Lägg till ett säkerhetsundantag om en säkerhetsvarning visas i webbläsaren för att gå vidare till inloggningsskärmen.
- Ange det skiftlägeskänsliga användarnamn och lösenord som tillhandahölls av Illumina på inloggningsskärmen och välj **Log In** (Logga in).



### OBS!

När systemet har varit inaktivt i 10 minuter loggar Assay Software automatiskt ut den aktuella användaren.

## Använda instrumentpanelen

Instrumentpanelen i VeriSeq NIPT Assay Software v2 visas efter inloggning och är programmets huvudfönster. Välj menyalternativet **Dashboard** (Instrumentpanel) för att när som helst återvända till instrumentpanelen.

Instrumentpanelen visar alltid de 50 senaste aktiviteterna som loggats (om det är färre än 50 visas endast de som har loggats). Du kan hämta de föregående 50 aktiviteterna och söka i aktivitetshistoriken genom att välja **Previous** (Föregående) i aktivitetstabellens nedre högra hörn.

**Bild 4** Instrumentpanel i VeriSeq NIPT Assay Software

The screenshot shows a web dashboard titled 'Dashboard' with a navigation bar containing 'Recent activities', 'Recent errors', and 'Server status'. The 'Recent activities' tab is active, displaying a table with the following data:

WHEN	USER	SUBSYSTEM	DETAILS	LEVEL
2016-07-29 09:17 PDT		Assay	Aneuploidy Detection Report generated for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGXY'	Activity
2016-07-29 09:17 PDT		Assay	Analysis started for '160728_NS500411_0171_AHCLGJBGXY'	Activity
2016-07-29 05:23 PDT		Assay	Sequencing QC passed for '160728_NS500411_0171_AHCLGJBGXY'	Activity
2016-07-29 05:14 PDT		Assay	Analysis started for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGXY'	Activity
2016-07-29 05:14 PDT		Assay	Sequencing QC passed for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGXY'	Activity
2016-07-28 19:56 PDT		Assay	Sequencing started for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGXY'	Activity
2016-07-28 19:55 PDT		Assay	Sequencing started for '160728_NS500411_0171_AHCLGJBGXY'	Activity
2016-07-28 17:18 PDT		Assay	Batch 'DVT0151_PL02_1': pool 'PT2008505' created	Activity
2016-07-28 17:18 PDT		Assay	Batch 'DVT0151_PL02_1': pool 'PT2008521' created	Activity
2016-07-28 16:14 PDT		Assay	Batch 'DVT0151_PL02_1' completed library	Activity
2016-07-28 10:30 PDT		Assay	Batch 'DVT0151_PL02_1' initiated	Activity

## Visa senaste aktiviteter

Fliken Recent Activities (Senaste aktiviteter) innehåller en kort beskrivning av de senaste aktiviteterna i Assay Software och Onsite Server.

Namn	Beskrivning
When (När)	Aktivitetsdatum och tid
User (Användare)	Om tillämpbart ska användaren som utförde aktiviteten identifieras
Subsystem (Undersystem)	Plats eller process som utförde aktiviteten, som till exempel användare, analys eller konfiguration
Details (Information)	Aktivitetsbeskrivning
Level (Nivå)	Den nivå som tilldelats aktiviteten från följande alternativ: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Activity</b> (Aktivitet) – Indikerar en aktivitet i servern som en systemomstart eller inloggning/utloggning av en användare.</li> <li>• <b>Notice</b> (Avisering) – Indikerar ett steg som inte utfördes. Till exempel ett ogiltigt prov eller QC-fel.</li> <li>• <b>Warning</b> (Varning) – Indikerar att ett fel inträffade vid normalt utförande och normal maskinvarufunktion. Till exempel okända körningsparametrar eller misslyckade analyser.</li> </ul>

## Visa senaste fel

Fliken Recent Errors (Senaste fel) innehåller en kort beskrivning av de senaste felen i program och server.

Namn	Beskrivning
When (När)	Aktivitetsdatum och tid
User (Användare)	Om tillämpligt ska användaren som utförde aktiviteten identifieras
Subsystem (Undersystem)	Plats eller process som utförde aktiviteten, som till exempel användare, analys eller konfiguration
Details (Information)	Aktivitetsbeskrivning
Level (Nivå)	Den nivå som tilldelats aktiviteten från följande alternativ: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Urgent</b> (Brådskanie) – Allvarligt programfel som äventyrar systemdriften. Kontakta Illuminas tekniska support.</li> <li>• <b>Alert</b> (Avisering) – Fel vid normal drift. Till exempel en korrupt disk, utrymmes- eller konfigurationsfel som förhindrar rapportgenerering eller e-postmeddelanden.</li> <li>• <b>Error</b> (Fel) – System- eller serverfel vid normal drift. Till exempel ett konfigurationsfel i fil eller maskinvarufel.</li> </ul>

## Visa systemstatus och aviseringar

Välj fliken **Server Status** (Serverstatus) om du vill visa en serverstatusöversikt från instrumentpanelen.

Sammanfattningen visar följande information:

- ▶ **Date** (Datum) – Aktuellt datum och aktuell tid.
- ▶ **Time zone** (Tidszon) – Den tidszon som är konfigurerad för servern, används till e-post, aviseringar samt datum och tid för rapporter.
- ▶ **Hostname** (Värddamn) – Systemnamnet består av nätverkets värddamn och DNS-domännamnet.
- ▶ **Disk space usage** (Upptaget diskutrymme) – Det utrymme som används för att lagra data (i procent).
- ▶ **Software** (Program) – Reglerad programkonfiguration (t.ex. CE-IVD)
- ▶ **Version** – VeriSeq NIPT Assay Software v2-version

Sammanfattningen kan även visa knappen **Server alarm** (Serverlarm) som tystar RAID-systemets larm. Knappen visas bara för administratörer. Om du trycker på den här knappen ska du kontakta Illuminas tekniska support för ytterligare hjälp.

## Hantera användare



### OBS!

Endast servicetekniker och administratörer har behörighet att lägga till, redigera eller ta bort behörigheter för tekniker och andra användare med samma behörighetsnivå.

## Tilldela användarroller

Användarroller definierar användarbehörighet och rättigheter att utföra vissa uppgifter.

Roll	Beskrivning
Service	En fältservicetekniker från Illumina som utför den första installationen och systeminställningen (i det ingår det att utse en administratör). Till rollen hör även felsökning, reparation av server, installation och ändringar av konfigurationsinställningar samt kontinuerlig programsupport.
Administrator (Administratör)	En laboratorieadministratör som installerar och underhåller konfigurationsinställningar, administrerar användare, hanterar e-postlistor, ändrar lösenord för delade mappar samt startar om och stänger av servern.
Technician (Tekniker)	En laboratorietekniker som kan visa systemstatus och aviseringar.

## Lägga till användare

Vid den första installationen lägger en fältservicetekniker från Illumina till en administratör.

Så här lägger du till en användare:

- 1 Välj **Add New User** (Lägg till ny användare) på skärmen User Management (Användarhantering).



### OBS!

Alla fält är obligatoriska.

- 2 Ange användarnamnet.



### OBS!

Användarnamn är skiftlägeskänsliga och får endast innehålla alfanumeriska tecken (t.ex. a–ö och 0–9), " \_ " (understreck) och " - " (bindestreck). Användarnamn måste vara 4–20 tecken långa och innehålla minst en siffra. Det första tecknet får inte vara en siffra.

Assay Software använder användarnamn för att identifiera personer som arbetar med olika delar av analysprocessen och som interagerar med Assay Software.

- 3 Ange användarens fullständiga namn. Det fullständiga namnet visas endast i användarprofilen.
- 4 Ange och bekräfta lösenordet.



### OBS!

Lösenord måste vara 8–20 tecken långa och innehålla minst en versal, en gemen och en siffra.

- 5 Ange en e-postadress för användaren.  
Det krävs en unik e-postadress för varje användare.
- 6 Välj önskad användarroll från rullgardinslistan.
- 7 Markera rutan **Active** (Aktiv) för att aktivera användaren omedelbart eller avmarkera den om du vill aktivera användaren vid ett senare tillfälle (t.ex. efter genomförd utbildning).
- 8 Välj **Save** (Spara) två gånger för att spara och bekräfta ändringarna.  
Den nya användaren visas nu på skärmen User Management (Användarhantering).

## Redigera användare

Gör så här för att redigera användarinformation:

- 1 Välj önskat användarnamn på skärmen User Management (Användarhantering).
- 2 Redigera användarinformationen efter behov och välj sedan **Save** (Spara).
- 3 Välj **Save** (Spara) igen när dialogrutan visas för att bekräfta ändringarna.  
Den uppdaterade användarinformationen visas nu på skärmen User Management (Användarhantering).

## Inaktivera användare

Gör så här för att inaktivera en användare:

- 1 Välj önskat användarnamn på skärmen User Management (Användarhantering).
- 2 Avmarkera kryssrutan **Activate** (Aktivera) och välj **Save** (Spara).
- 3 Välj **Save** (Spara) på bekräftelsemeddelandet.  
Användarstatusen visas nu som Inaktiverad på skärmen User Management (Användarhantering).

## Hantera en delad nätverksenhet



### OBS!

Endast servicetekniker och administratörer har behörighet att lägga till, redigera eller ta bort delade mapplatser.

## Lägga till en delad nätverksenhet

Konfigurera hellre systemet för att lagra sekvensdata på en särskilt avsedd NAS än på servern som är ansluten till sekvenseringssystemet. En NAS har större lagringskapacitet och ger kontinuerlig säkerhetskopiering.

- 1 Tryck på **Folders** (Mappar) på instrumentpanelen.
- 2 Välj **Add folder** (Lägg till mapp).
- 3 Ange följande information som tillhandahålls av IT-administratören:
  - ▶ **Location** (Plats) – Fullständig sökväg till NAS:en och den mapp där data lagras.
  - ▶ **Username** (Användarnamn) – Det användarnamn som Onsite Server använder för att begära åtkomst till NAS:en.
  - ▶ **Password** (Lösenord) – Det lösenord som Onsite Server använder för att begära åtkomst till NAS:en.
- 4 Tryck på **Save** (Spara).
- 5 Välj **Test** (Testa) för att testa anslutningen till NAS:en.  
Om anslutningen avbryts ska du kontrollera servernamnet, platsnamnet, användarnamnet och lösenordet med IT-administratören.
- 6 Starta om servern för att verkställa ändringarna.



### OBS!

En delad nätverksenhet har endast stöd för en sekvensdatamapp.

## Redigera en delad nätverksenhet

- 1 Tryck på **Folders** (Mappar) på instrumentpanelen.
- 2 Redigera sökvägen och välj **Save** (Spara).
- 3 Välj **Test** (Testa) för att testa anslutningen till NAS:en.  
Om anslutningen avbryts ska du kontrollera servernamnet, platsnamnet, användarnamnet och lösenordet med IT-administratören.

## Ta bort en delad nätverksenhet

- 1 Tryck på **Folders** (Mappar) på instrumentpanelen.

- 2 Välj den sökväg som ska redigeras.
- 3 Välj **Delete** (Ta bort) för att ta bort den externa sekvensmappen.

## Konfigurera nätverks- och certifikatinställningar

En fältservicetekniker från Illumina använder fönstret Network Configuration (Nätverkskonfiguration) för att konfigurera nätverks- och certifikatinställningar under den första installationen.



### OBS!

Endast servicetekniker och administratörer har behörighet att ändra inställningarna för nätverk och certifikat.

- 1 Välj **Configuration** (Konfiguration) på instrumentpanelen.
- 2 Välj fliken **Network Configuration** (Nätverkskonfiguration) och konfigurera nätverksinställningarna efter behov.
- 3 Välj fliken **Certification Configuration** (Certifikatkonfiguration) för att generera SSL-certifikatet.

## Ändra inställningar för certifikat

Ett SSL -certifikat är en datafil som möjliggör en säker anslutning från Onsite Server till en webbläsare.

- 1 Använd fliken Certificate Configuration (Certifikatkonfiguration) för att lägga till eller ändra inställningar för SSL -certifikat.
  - ▶ **Laboratory Email** (Laboratoriets e-post) – Laboratoriets e-postadress (kräver ett giltigt e-postadressformat).
  - ▶ **Organization Unit** (Organisationsenhet) – Avdelning.
  - ▶ **Organization** (Organisation) – Laboratoriets namn.
  - ▶ **Location** (Adress) – Laboratoriets gatuadress.
  - ▶ **State** (Postnummer och postort) – Den ort som laboratoriet ligger i (fylls i automatiskt baserat på e-postadress).
  - ▶ **Country** (Land) – Det land som laboratoriet ligger i (fylls i automatiskt baserat på e-postadress).
  - ▶ **Certificate Thumbprint (SHA1)** (Tumavtryck för certifikat (SHA1)) – Certifikatets identifieringsnummer. Certifikatets tumavtryck (SHA1) säkerställer att användare inte får certifikatvarningar när de använder VeriSeq NIPT Assay Software v2. SHA1 visas efter att ett certifikat har skapats eller återskapats. Mer information finns i avsnittet *Återskapa ett certifikat på sidan 26*.
- 2 Välj **Save** (Spara) för att verkställa de ändringar som gjorts.

## Ändra nätverks- och serverinställningar



### OBS!

Samordna alla ändringar i nätverks- och serverinställningarna med IT-administratören för att undvika serveranslutningsfel.

- 1 Använd fliken Network Configuration (Nätverkskonfiguration) för att konfigurera och ändra inställningarna för nätverket och Onsite Server.
  - ▶ **Static IP Address** (Statisk IP-adress) – IP-adressen till Onsite Server.
  - ▶ **Subnet Mask** (Nätmask) – Nätmask för lokalt nätverk.
  - ▶ **Default Gateway Address** (Standardgatewayadress) – Standard-IP-adress för router.
  - ▶ **Hostname** (Värnamn) – Angivet namn som hänvisar till Onsite Server på nätverket (definieras som localhost som standard).
  - ▶ **DNS Suffix** (DNS-suffix) – Angivet DNS-suffix.

- ▶ **Nameserver 1 and 2** (Namnserver 1 och 2) – IP-adresser eller namn för DNS-servern.
  - ▶ **NTP Time Server 1 and 2** (NTP-tidsserver 1 och 2) – Servrar med NTP-tidssynkronisering.
  - ▶ **MAC Address** (MAC-adress) – MAC-adress för servernätverk (skrivskyddad).
  - ▶ **Timezone** (Tidszon) – Serverns lokala tidszon.
- 2 Kontrollera att uppgifterna är korrekta och välj **Save** (Spara) för att starta om servern och tillämpa de ändringar som gjorts.



#### **WARNING!**

Felaktiga inställningar kan störa förbindelsen med servern.

## Hämta och installera ett certifikat

Gör så här för att installera ett SSL-certifikat:

- 1 Välj **Configuration** (Konfiguration) på instrumentpanelen.
- 2 Tryck på fliken **Certification Configuration** (Certifikatkonfiguration).
- 3 Tryck på **Download Certificate** (Hämta certifikat) i fönstret Network Configuration (Nätverkskonfiguration).
- 4 Öppna den hämtade filen och tryck på **Install Certificate** (Installera certifikat).
- 5 Följ anvisningarna i importguiden för att installera certifikatet.
- 6 Välj **OK** i dialogrutorna för att stänga dem.

## Återskapa ett certifikat



#### **OBS!**

Endast servicetekniker och administratörer har behörighet att återskapa certifikat och starta om systemet.

Gör så här för att återskapa ett certifikat efter att nätverks- eller certifikatinställningarna har ändrats:

- 1 Tryck på **Regenerate Certificate** (Återskapa certifikat) i fönstret Network Configuration (Nätverkskonfiguration).
- 2 Välj **Regenerate Certificate and Reboot** (Återskapa certifikat och starta om) för att fortsätta eller välj **Cancel** (Avbryt) för att avsluta.

## Konfigurera systemets e-postmeddelanden

VeriSeq NIPT Assay Software v2 kommunicerar med användaren genom att skicka e-postmeddelanden med information om analysens förlopp samt aviseringar om fel eller användaråtgärder som krävs. Mer information om de olika typerna av e-postmeddelanden som systemet skickar finns i avsnittet *Assay Software-meddelanden på sidan 58*.




#### **OBS!**

Kontrollera att e-postinställningarna för skräppost tillåter e-postmeddelanden från servern. E-postmeddelanden skickas från ett konto med namnet **VeriSeq@<kundens e-postdomän>**, där <kundens e-postdomän> specificeras av det lokala IT-teamet när servern installeras.

## Skapa en mottagarlista för e-post

E-postmeddelanden skickas till en lista över specifika mottagare som kan definieras med hjälp av följande steg.

Så här skapar du en mottagarlista:

- 1 Välj ikonen Settings (Inställningar)  på instrumentpanelen.
- 2 Välj **Email Configuration** (E-postkonfiguration).
- 3 Ange e-postadresserna separerade av kommatecken i mottagarfältet. Kontrollera att e-postadresserna är korrekta. Programmet validerar inte e-postadressformat.
- 4 Välj **Send test message** (Skicka testmeddelande) för att skicka ett testmeddelande till mottagarlistan. Kontrollera din inkorg för att bekräfta att e-postmeddelandet skickades.
- 5 Tryck på **Save** (Spara).

## Logga ut

- ▶ Tryck på användarprofilikonen i det övre högra hörnet på skärmen och välj sedan **Log Out** (Logga ut).

## Analys och rapportering

När sekvensdata har samlats in demultiplexeras de, konverteras till ett FASTQ-format, matchas med ett referensgenom och analyseras för detektering av aneuploidi. Olika mått, som beskrivs nedan, fastställs för att kvalificera det slutgiltiga svaret för varje givet prov.

## Demultiplexering och FASTQ-generering

Sekvensdata som lagras i BCL-format bearbetas av konverteringsprogrammet bcl2fastq, som demultiplexerar data och konverterar BCL-filer till standardfilformat för FASTQ för analys vid ett senare tillfälle. Assay Software skapar ett provark (SampleSheet.csv) för varje sekvenskörning. Den här filen innehåller provinformation som programmet får under provprepareringsprocessen (av programmets API). Provarken har en rubrik med information om körningen och beskrivningar av de prover som bearbetats i en särskild flödescell.

Följande tabell ger mer information om provarkens data.



### WARNING!

Ändra INTE provarksfilen. Den är systemgenererad och ändringar kan leda till negativa effekter senare i arbetsflödet, inklusive felaktiga resultat eller analysfel.

Kolumnnamn	Beskrivning
SampleID	Prov-ID.
SampleName	Provnamn. Standardvärde: samma som SampleID.
Sample_Plate	Platt-ID för ett angivet prov. Standardvärde: tomt.
Sample_Well	Brunn-ID på plattan för ett givet prov.
I7_Index_ID	ID för den första indexadaptern.
index	Nukleotidsekvens för den första adaptern.
I5_Index_ID	ID för den andra adaptern.
index2	Nukleotidsekvens för den andra adaptern.
Sample_Project	Projekt-ID för ett angivet prov. Standardvärde: tomt.
SexChromosomes	Analys av könskromosomer. En av följande: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Yes</b> (Ja) – Aneuploidi av könskromosom och könsrapportering har begärts.</li> <li>• <b>No</b> (Nej) – Varken aneuploidi av könskromosom eller könsrapportering har begärts.</li> <li>• <b>SCA</b> – Aneuploidi av könskromosom har begärts, könsrapportering har inte begärts.</li> </ul>



Kolumnnamn	Beskrivning
SampleType	Provtyp. En av följande: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Singleton</b> (Enkel) – Graviditet med ett embryo.</li> <li>• <b>Twin</b> (Dubbel) – Graviditet med flera embryon.</li> <li>• <b>Control</b> (Kontroll) – Kontrollprov där kön och aneuploidklassificering är känt.</li> <li>• <b>NTC</b> – Prov med reagenskontroll utan mall (inget DNA).</li> </ul>

## QC av sekvensering

QC-mått för sekvensering identifierar flödesceller som med stor sannolikhet inte kommer att klara analys. Mått för klustertäthet, procentavläsningar av passerfilter (PF), för-fasning och fasning beskriver sekvensdatans övergripande kvalitet och används av många NGS-program. Det förutsagda måttet för matchade avläsningar uppskattar flödescellsnivån för sekvensdjupet. Om data av låg kvalitet inte uppfyller det förutsagda måttet för matchade avläsningar avslutas bearbetningen av körningen. Mer information finns i avsnittet *Mått och gränsvärden för QC av sekvensering på sidan 33*.

## Uppskattning av fosterfraktion

Fosterfraktion syftar på procentandelen cellfritt, cirkulerande DNA i moderblodprover som härleds från placentan. Assay Software använder information från både storleksfördelningen av cfDNA-fragmenten och skillnader i genomtäckning mellan moder-cfDNA och foster-cfDNA för att beräkna den uppskattade fosterfraktionen.<sup>1</sup>

## Statistik som används vid slutlig poängräkning

För alla kromosomer matchas paired-end-sekvensdata med referensgenomet (HG19). Unika, ej duplicerade och matchade avläsningar samlas i diskreta värden om 100 kb. Motsvarande diskreta värden justeras för GC-metodfel och enligt tidigare fastställd områdesspecifik genomtäckning. Med sådana normaliserade diskreta värden erhålls statistiska mått för varje autosom genom att jämföra de täckningsområden som kan påverkas av aneuploidi med resten av autosomerna. Ett sannolikhetsförhållande (LLR, likelihood ratio) beräknas för varje prov genom att ta hänsyn till de täckningsbaserade måtten och den uppskattade fosterfraktionen. LLR-värdet är sannolikheten för att ett prov påverkas med hänsyn till den iakttagna täckningen och fosterfraktionen, kontra sannolikheten för att ett prov förblir opåverkat med hänsyn till samma iakttagna täckning. Beräkningen av förhållandet tar också hänsyn till den uppskattade osäkerheten i fosterfraktion. För efterföljande beräkningar används den naturliga logaritmen för förhållandet. Assay Software bedömer LLR-värdet för varje målkromosom och varje prov för att ge ett fastställande om aneuploidi.

Statistik för kromosomerna X och Y skiljer sig från statistiken som används för autosomer. För foster som identifierats som kvinnliga kräver SCA-benämningar att klassificering av LLR och av normaliserade kromosomvärden överensstämmer.<sup>2</sup> Specifika LLR-värden beräknas för [45,X] (Turners syndrom) och för [47,XXX]. För foster som identifieras som manliga kan SCA-benämningar för antingen [47,XXY] (Klinefelters syndrom) eller [47,XYY] baseras på förhållandet mellan det normaliserade kromosomvärdet för kromosomerna X och Y (NCV\_X och NCV\_Y). Prover som tillhör manliga foster för vilka NCV\_X är inom det intervall som iakttagits för euploida kvinnliga prover kan benämnas [47,XXY]. Prover som tillhör manliga foster för vilka NCV\_X är inom det intervall som iakttagits för euploida manliga prover, men för vilka kromosom Y är överrepresenterad, kan benämnas [47,XYY].

<sup>1</sup>Kim, S.K., et al, Determination of fetal DNA fraction from the plasma of pregnant women using sequence read counts, Prenatal Diagnosis aug 2015; 35(8):810-5. doi: 10.1002/pd.4615

<sup>2</sup>Bianchi D, Platt L, Goldberg J et al. Genome Wide Fetal Aneuploidy Detection by Maternal Plasma DNA Sequencing. Obstet Gynecol. 2012;119(5):890-901. doi:10.1097/aog.0b013e31824fb482.

Vissa värden för NCV\_Y och NCV\_X faller utanför systemets förmåga att fastställa SCA. De här proverna producerar ett icke rapporterbart resultat för XY-klassificering. Autosomala resultat ges fortfarande för de här proverna om övriga QC-mått godkänns.

## QC-analys

Analytiska QC-mått är mått som beräknas under analys och används för att upptäcka prover som avviker för mycket från förväntat beteende. Data för prover som faller utanför de här måtten bedöms vara opålitliga och markeras som misslyckade. När prov genererar resultat som ligger utanför de förväntade intervallen för de här måtten skapar NIPT-rapporten en QC-orsak som en varning eller felorsak. Det finns mer information om de här QC-orsakerna under *QC-orsaksmeddelanden på sidan 44*.

## QC av NTC-prov

Med VeriSeq NIPT Solution går det att lägga till NTC-prov som en del av körningen. ML STAR kan generera upp till 2 NTC:er per körning för batcher med 24 prov och 48 prov och upp till 4 NTC:er för batcher med 96 prov. Oavsett hur många NTC-prov som läggs till söker programmet efter ett minsta medelvärde på 4 000 000 unikt mappade fragment per prov och uppsättning. Därför ska inte fler än 2 NTC-prov läggas till per uppsättning. Mer information finns i avsnittet *Mått och gränsvärden för QC av sekvensering på sidan 33*.

QC-status för NTC-prov:

- ▶ **NTC sample processing** (Bearbetning av NTC-prov) – När ett NTC-prov bearbetas tillämpar programmet resultatet PASS QC (GODKÄND QC) när provets täckning är låg, vilket förväntas för NTC.
- ▶ **Patient sample as NTC** (Patientprov som NTC) – När ett patientprov, som är markerat som NTC, bearbetas detekteras hög täckning. Eftersom provet är markerat som NTC flaggar programmet provets QC-status som FAIL (UNDERKÄNT) med följande anledning: NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (NTC-PROV MED HÖG TÄCKNING).

## VeriSeq Onsite Server v2

VeriSeq Onsite Server v2 kör ett Linux-baserat operativsystem och har cirka 7,5 TB datalagringskapacitet. Om man antar att varje sekvenskörning kräver 25 GB kan servern lagra upp till 300 körningar. Det skickas automatiskt ett meddelande när minsta krävda lagringskapacitet inte är tillgänglig. Servern är installerad på det lokala nätverket (LAN).

## Lokal disk

Assay Software gör specifika mappar på Onsite Server tillgängliga för användaren. Mapparna kan mappas till valfri arbetsstation eller bärbar dator på det lokala nätverket med ett Samba-protokoll.

Mappnamn	Beskrivning	Åtkomst
Indata	Innehåller sekvensdata som genererats av NGS-systemet som är mappat till servern.	Läsa och skriva.
Utdata	Innehåller alla rapporter som genererats av programmet.	Skrivskyddad.
Säkerhetskopiering	Innehåller säkerhetskopior av databasen.	Skrivskyddad.



### OBS!

Mapping av den lokala disken baseras på SMB-protokoll (Server Message Block). Programvaran stöder för närvarande SMB1- och SMB2-versioner. Servern kräver SMB-inloggning. Aktivera de här versionerna på utrustningen (bärbar dator/arbetsstation) som du mappar.

## Lokal databas

Assay Software har en lokal databas där biblioteksinformation, sekvenskörningsinformation och analysresultat lagras. Databasen är integrerad i Assay Software och användaren har inte åtkomst till den. Systemet utför automatiskt säkerhetskopiering av databasen på Onsite Server. Utöver följande databasprocesser uppmanas användare att regelbundet säkerhetskopiera databasen till en extern enhet.

- ▶ **Database backup** (Säkerhetskopiering av databas) – En ögonblicksbild av databasen sparas automatiskt en gång per timme, dag, vecka och månad. Säkerhetskopior som sparas varje timme tas bort efter att en daglig säkerhetskopia har skapats. På samma sätt tas de dagliga säkerhetskopiorna bort när en säkerhetskopia för hela veckan är klar. De veckovisa säkerhetskopiorna tas bort efter att en månatlig säkerhetskopia har skapats. Endast en kopia av den månatliga säkerhetskopieringen sparas. Det är rekommenderad praxis att skapa ett skript som automatiskt kan spara säkerhetskopieringsmappen på en lokal NAS.
- ▶ **Database restore** (Återställ databas) – Databasen kan återställas från valfri säkerhetskopia. Endast fältservicetekniker från Illumina får utföra återställningar.
- ▶ **Data backup** (Säkerhetskopiera data) – Även om Onsite Server kan användas som primär lagringsplats för sekvenskörningar kan den endast lagra omkring 300 körningar. Illumina rekommenderar regelbunden automatiserad säkerhetskopiering av data till en annan enhet för långtidslagring eller en NAS.
- ▶ **Maintenance** (Underhåll) – Utöver säkerhetskopiering av data behöver användaren inte utföra något underhåll på Onsite Server. Uppdateringar för Assay Software eller Onsite Server tillhandahålls av Illuminas tekniska support.

## Arkivera data

Följ den lokala platsens arkiveringspolicy när du ska arkivera in- och utdatakataloger. Assay Software övervakar återstående diskutrymme i indatakatalogen och meddelar användare per e-post när den återstående lagringskapaciteten understiger 1 TB.

Använd inte Onsite Server för datalagring. Överför data till Onsite Server och arkivera regelbundet.

En typisk sekvenskörning som är kompatibel med cfDNA-analysens arbetsflöde kräver cirka 25–30 GB för NGS-körningar. Körningsmappens faktiska storlek beror på slutlig klustertäthet.

Arkivera endast data när systemet är överksamt och ingen analys eller sekvenskörning pågår.

## Mappa serverenheter

Onsite Server har tre mappar som var och en för sig kan mappas till valfri dator med Microsoft Windows:

- ▶ **input** (indata) – Mappar till sekvensdatamapparna. Använd datorn som är ansluten till sekvenseringssystemet. Konfigurera sekvenseringssystemet att strömma data till mappen Indata.
- ▶ **output** (utdata) – Mappar till serverns analys- och analysprocessrapporter.
- ▶ **backup** (säkerhetskopiering) – Mappar till databasens säkerhetskopior.

Gör så här för att mappa en mapp:

- 1 Logga in på datorn i undernätverket för Onsite Server.

- 2 Högerklicka på **Computer** (Dator) och välj **Map network drive** (Mappa nätverksenhet).
- 3 Välj en bokstav i rullgardinslistan över enheter.
- 4 Ange \\<IP-adress för VeriSeq Onsite Server v2 >\<mappens namn> i fältet Mapp.  
Till exempel: \\10.50.132.92\input.
- 5 Ange användarnamn och lösenord.  
Mappar som har mappats korrekt visas på datorn.



#### **OBS!**

Mappning av den lokala disken baseras på SMB-protokoll (Server Message Block). Programvaran stöder för närvarande SMB1- och SMB2-versioner. Servern kräver SMB-inloggning. Aktivera de här versionerna på utrustningen (bärbar dator/arbetsstation) som du mappar.

## Starta om servern



#### **OBS!**

Endast servicetekniker och administratörer har behörighet att starta om servern.

Gör så här för att starta om servern:

- 1 I rullgardinslistan **Settings** (Inställningar) väljer du **Reboot Server** (Starta om server).
- 2 Tryck på **Reboot** (Starta om) för att starta om systemet eller tryck på **Cancel** (Avbryt) för att avsluta utan att starta om.
- 3 Ange en anledning till att servern stängs av.  
Anledningen loggas i felsöknings syfte.



#### **OBS!**

Det kan ta flera minuter att starta om systemet.

## Stänga av servern



#### **OBS!**

Endast servicetekniker och administratörer har behörighet att stänga av servern.

Gör så här för att stänga av Onsite Server-servern:

- 1 I rullgardinslistan **Settings** (Inställningar) väljer du **Shut Down Server** (Stäng av server).
- 2 Välj **Shut Down** (Stäng av) för att stänga av Onsite Server, eller välj **Cancel** (Avbryt) för att avsluta utan att stänga av.
- 3 Ange en anledning till att Onsite Server stängs av.  
Anledningen loggas i felsöknings syfte.

## Återställning vid oväntad avstängning

Vid strömavbrott eller om användaren oavsiktligt stänger av systemet under analyskörningen kommer systemet att:

- ▶ Starta om Assay Software automatiskt i samband med omstarten.
- ▶ Upptäcka att analyskörningen misslyckades och skicka tillbaka körningen till kön för bearbetning.
- ▶ Skapa utdata när analysen avslutats.



**OBS!**

Om analysen misslyckas tillåter Assay Software systemet att skicka körningen för analys upp till tre gånger.

# Bilaga A QC-mått

Kvantitativa QC-mått och gränsvärden .....	33
Mått och gränsvärden för QC av sekvensering .....	33

## Kvantitativa QC-mått och gränsvärden

Mått	Beskrivning	Nedre gräns	Övre gräns	Förklaring
standard_r_squared	Determinationskoefficientens värde för standardkurvmodellen.	0,980	Ej tillämpligt	Standardkurvmodeller som har dålig linjäritet i log-log-området visar inte alltid den verkliga provkoncentrationen.
standard_slope	Lutningen på standardkurvmodellen.	0,95	1,15	Standardkurvmodeller som går utanför markeringarna för förväntat resultat är opålitliga.
ccn_library_pg_ul	Högsta tillåtna provkoncentration.	Ej tillämpligt	1000 pg/μl	När den beräknade DNA-koncentration överskrider specifikationerna är det ett tecken på att provet är kontaminerat med överflödigt genomiskt DNA.
median_ccn_pg_ul	Beräknat medelvärde för koncentrationen i alla prov i en batch.	16 pg/μl	Ej tillämpligt	En sekvensuppsättning med lämplig volym kan inte innehålla ett mycket stort antal alltför utspädda prov. Batcher med höga antal utspädda prov indikerar att provprepareringsprocessen misslyckades.

## Mått och gränsvärden för QC av sekvensering

Mått	Beskrivning	Nedre gräns	Övre gräns	Förklaring
cluster_density	Klustertäthet för sekvensering.	152 000 per mm <sup>2</sup>	338 000 per mm <sup>2</sup>	Flödesceller med låg klustertäthet kan inte generera tillräckligt med avläsningar. Flödesceller med för hög klustertäthet ger sekvensdata av låg kvalitet.
pct_pf	Procentläsningar som passerar renhetsfiltret.	≥ 50 %	Ej tillämpligt	Flödesceller med extremt låg %PF kan ha en avvikande basrepresentation och signalerar ofta problem med PF-läsningar.
prephasing	Bråkdelen av förfasning.	Ej tillämpligt	≤ 0,003	Empiriskt optimerade rekommendationer för VeriSeq NIPT Solution v2.
phasing	Bråkdelen av fasning.	Ej tillämpligt	≤ 0,004	Empiriskt optimerade rekommendationer för VeriSeq NIPT Solution v2.
predicted_aligned_reads	Uppskattat genomsnittligt antal unikt mappade fragment per prov.	≥ 4 000 000	Ej tillämpligt	Fastställd som minsta observerade NES inom normal population.

# Bilaga B Systemrapporter

Inledning .....	34
Översikt av systemrapporter .....	35
Rapportgenereringshändelser .....	37
Resultat- och meddelanderapporter .....	39
Processrapporter .....	50

## Inledning

Assay Software genererar två rapportkategorier:

- ▶ Resultat- och meddelanderapporter.
- ▶ Processrapporter.

Det finns även två rapporttyper:

- ▶ **Informational** (Informativ) – Processrelaterade rapporter som ger information om analysförloppet och som kan användas för att bekräfta att ett specifikt steg har slutförts. Rapporten ger även information om t.ex. QC-resultat och ID-nummer.
- ▶ **Actionable** (Kan åtgärdas) – Asynkrona rapporter som genereras till följd av en systemhändelse eller användaråtgärd som kräver åtgärder från användaren.

Det här avsnittet beskriver de olika rapporterna och ger rapportinformation för LIMS-integrering.

## Utdatafiler

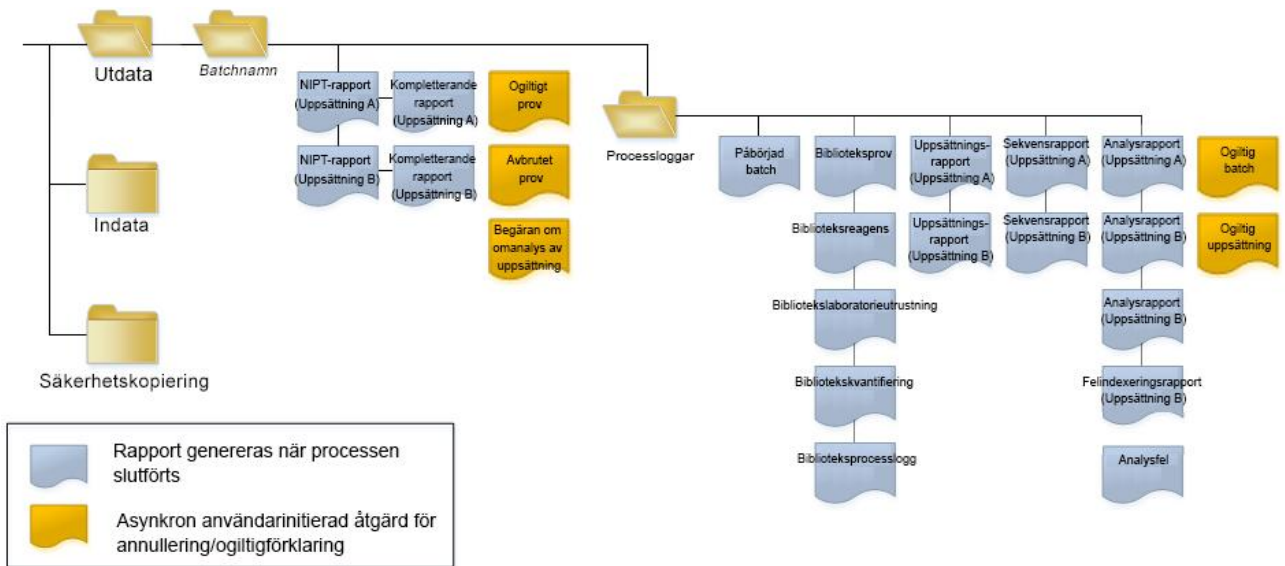
Assay Software-rapporter genereras på den interna hårddisken i Onsite Server som är mappad till användarenheten som en skrivskyddad utdatamapp. Varje rapport genereras med en motsvarande standardfil med MD5-kontrollsumma, som används för att verifiera att filen inte har ändrats.

Alla rapporter har oformaterad tabbavgränsad text. Rapporterna kan öppnas med valfri textredigerare eller med ett program för tabellerade data, som till exempel Microsoft Excel.

## Filstruktur för rapporter

Assay Software sparar rapporter i en specifik filstruktur i mappen Output (Utdata).

Bild 5 Mappstruktur för rapporter i Assay Software



Assay Software sparar rapporter i mappen *Batch Name* (Batchnamn) på följande sätt:

- ▶ **Main folder (Batch Name folder)** (Huvudmapp (mappen Batchnamn)) – Innehåller rapporter som tillhandahåller resultat eller associeras med LIMS-genererade e-postmeddelanden. Mer information finns i avsnittet *Resultat- och meddelanderapporter* på sidan 39.
- ▶ **ProcessLogs folder** (Mappen Processloggar) – Innehåller processrelaterade rapporter. Mer information finns i avsnittet *Processrapporter* på sidan 50

En lista över alla rapporter finns i avsnittet *Översikt av systemrapporter* på sidan 35.

## Översikt av systemrapporter

Rapportnamn	Rapporttyp	Rapportentitet	Rapportfilnamnsformat
<i>NIPT-rapport</i>	Kan åtgärdas	Uppsättning/flödescell	<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_nipt_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Kompletterande rapport</i>	Informativ	Uppsättning/flödescell	<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_supplementary_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Rapport om ogiltigt prov</i>	Kan åtgärdas	Prov	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Rapport om avbrutet prov</i>	Kan åtgärdas	Prov	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_cancellation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Rapport om begäran av omanalys av uppsättning</i>	Kan åtgärdas	Uppsättning	<batch_name>_<pool_type>_pool_retest_request_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Rapport om påbörjad batch</i>	Informativ	Batch	ProcessLogs/<batch_name>_batch_initiation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab



Rapportnamn	Rapporttyp	Rapportentitet	Rapportfilnamnsformat
<i>Rapport om ogiltig batch</i>	Informativ	Batch	ProcessLogs/<batch_name>_batch_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Biblioteksprovsrapport</i>	Informativ	Batch	ProcessLogs/<batch_name>_library_sample_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Biblioteksreagensrapport</i>	Informativ	Batch	ProcessLogs/<batch_name>_library_reagent_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Bibliotekslaborationerapport</i>	Informativ	Batch	ProcessLogs/<batch_name>_library_labware_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Bibliotekskvantifieringsrapport</i>	Informativ	Batch	ProcessLogs/<batch_name>_library_quant_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Biblioteksprocesslogg</i>	Informativ	Batch	ProcessLogs/<batch_name>_library_process_log.tab
<i>Uppsättningsrapport</i>	Informativ	Uppsättning	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Rapport om ogiltig uppsättning</i>	Informativ	Uppsättning	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Sekvensrapport</i>	Informativ	Uppsättning/flödescell	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_sequencing_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Analysfelrapport</i>	Informativ	Uppsättning/flödescell	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_analysis_failure_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab

## Rapportgenereringshändelser

Rapport	Beskrivning	Genereringshändelse
NIPT Report (NIPT-rapport)	Innehåller slutresultaten av en godkänd analyskörning.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analys av sekvenskörning slutförs.</li> </ul>
Supplementary Report (Kompletterande rapport)	Innehåller kompletterande resultat för en godkänd analyskörning.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Både sekvenskörningsanalysen och NIPT-rapporten har slutförts.</li> </ul>
Sample Invalidation (Ogiltigt prov)	Innehåller information om ett ogiltigförklarat prov.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Användaren ogiltigförklarar ett prov.</li> </ul>
Sample Cancellation (Avbrutet prov)	Innehåller information om ett avbrutet prov.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Användaren avbryter ett prov.</li> </ul>
Pool Retest Request (Begäran om omanalys av uppsättning)	Anger att en andra uppsättning kan genereras från en befintlig batch. Innehåller information om uppsättningens omprovsstatus. <sup>1</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Användaren ogiltigförklarar en uppsättning.</li> </ul>
Batch Initiation (Påbörjad batch)	Anger att en ny batchbearbetning påbörjas.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Användaren initierar en ny batch.</li> </ul>
Batch Invalidation (Ogiltig batch)	Innehåller information om en användarinitierad, ogiltigförklarad batch.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Batchen ogiltigförklaras.</li> </ul>
Library Sample (Biblioteksprov)	Listar alla prov i batchen.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Batchen ogiltigförklaras.</li> <li>Bibliotekspreparering slutförs.</li> <li>Kvantifiering av batch misslyckas.</li> </ul>
Library Reagent (Biblioteksreagens)	Innehåller reagensinformation för biblioteksbearbetning.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Batchen ogiltigförklaras.</li> <li>Bibliotekspreparering slutförs.</li> <li>Kvantifiering av batch misslyckas.</li> </ul>
Library Labware (Bibliotekslaborieutrustning)	Innehåller information om laborieutrustning för biblioteksbearbetning.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Batchen ogiltigförklaras.</li> <li>Bibliotekspreparering slutförs.</li> <li>Kvantifiering av batch misslyckas.</li> </ul>
Library Quant (Bibliotekskvantifiering)	Innehåller testresultat för bibliotekskvantifiering.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Batchen ogiltigförklaras.</li> <li>Bibliotekspreparering slutförs.</li> <li>Kvantifiering av batch misslyckas.</li> </ul>
Library Process Log (Biblioteksprocesslogg)	Innehåller steg som utförts under biblioteksbearbetning.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Batchen ogiltigförklaras.</li> <li>Bibliotekspreparering slutförs.</li> <li>Kvantifiering av batch misslyckas.</li> <li>Batchprocess slutförs.</li> </ul>
Pool (Uppsättning)	Innehåller provuppsättningsvolymerna.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Uppsättningsmetod slutförs.</li> </ul>
Pool Invalidation (Ogiltig uppsättning)	Innehåller information om en användarinitierad, ogiltigförklarad uppsättning.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Användaren ogiltigförklarar en uppsättning.</li> </ul>

Rapport	Beskrivning	Genereringshändelse
Sequencing (Sekvensering)	Innehåller QC-resultat för sekvensering.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Godkänd QC av sekvensering.</li> <li>• Misslyckad sekvensering.</li> <li>• Sekvenseringen överskred tidsgränsen.</li> </ul>
Analysis Failure (Analysfel)	Innehåller analysinformation för en misslyckad uppsättning.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Analys av sekvenskörning misslyckas.</li> </ul>

<sup>1</sup> Användaren ogiltigförklarar en uppsättning från en giltig batch som inte har överskridit max. antal uppsättningar.

## Resultat- och meddelanderapporter

### NIPT-rapport

NIPT-rapporten för VeriSeq NIPT Assay Software v2 innehåller kromosomklassificeringsresultat formaterade som ett prov per rad för varje prov i uppsättningen.

Kolumn	Beskrivning	Förinställda värdealternativ:	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn.	Ej tillämpligt.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Unik streckkod för prov.	Ej tillämpligt.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_type	Provtypsinformation från insamlingspunkter eller användare. Bestämmer visning av aneuploidiklassificering.	En av följande: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Singleton</b> (Enkel) – Graviditet med ett embryo.</li> <li>• <b>Twin</b> (Dubbel) – Graviditet med flera embryon.</li> <li>• <b>Control</b> (Kontroll) – Kontrollprov där kön och aneuploidiklassificering är känt.</li> <li>• <b>NTC</b> – Prov med reagenskontroll utan mall (inget DNA).</li> <li>• <b>Not specified</b> (Ej angivet) – Ingen provtyp har angivits för det här provet.</li> </ul>	enum	Värden specificeras i Förinställda värdealternativ.
sex_chrom	Könskromosomsanalys har begärts. Bestämmer presentationen av aneuploidiklassificering och könskromosomsinformation.	En av följande: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Yes</b> (Ja) – Aneuploidi av könskromosom och könsrapportering har begärts.</li> <li>• <b>No</b> (Nej) – Varken aneuploidi av könskromosom eller könsrapportering har begärts.</li> <li>• <b>SCA</b> – Aneuploidi av könskromosom har begärts, könsrapportering har inte begärts.</li> <li>• <b>Not specified</b> (Ej angivet) – Inget alternativ för könskromosomrapportering har angivits för det här provet.</li> </ul>	enum	Värden specificeras i Förinställda värdealternativ.
screen_type	Screeningtyp.	En av följande: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Basic</b> (Grundläggande) – Kromosomerna 13, 18 eller 21 screenas.</li> <li>• <b>Genomewide</b> (Hela genom) – Hela genomet screenas.</li> <li>• <b>Not specified</b> (Ej angivet) – Ingen screeningtyp har angivits för det här provet.</li> </ul>	text	Värden specificeras i Förinställda värdealternativ.
flowcell	Streckkod för sekvensflödescell.	Ej tillämpligt.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$

Kolumn	Beskrivning	Förinställda värdealternativ:	Typ	Regex
class_sx	Aneuploidiklassificering för könskromosom.	<p>Ett av följande beroende på vilka alternativ som har valts för provtyp och könskromosomrapportering.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ANOMALY DETECTED – XO</b> (AVVIKELSE DETEKTERAD – XO) – Monosomi X.</li> <li>• <b>ANOMALY DETECTED – XXX</b> (AVVIKELSE DETEKTERAD – XXX) – Trisomi X.</li> <li>• <b>ANOMALY DETECTED – XXY</b> (AVVIKELSE DETEKTERAD – XXY) – Två X-kromosomer hos ett manligt foster.</li> <li>• <b>ANOMALY DETECTED – XYY</b> (AVVIKELSE DETEKTERAD – XYY) – Två Y-kromosomer.</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED</b> (INGEN AVVIKELSE DETEKTERAD) – Negativt prov och ingen könsrapportering.</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED – XX</b>(INGEN AVVIKELSE DETEKTERAD – XX) – Negativt prov med kvinnligt foster.</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED – XY</b>(INGEN AVVIKELSE DETEKTERAD – XY) – Negativt prov med manligt foster.</li> <li>• <b>NOT REPORTABLE</b> (DET GICK INTE ATT RAPPORTERA KÖNSKROMOSOM) – Programmet kunde inte rapportera könskromosom.</li> <li>• <b>NO CHR Y PRESENT</b> (INGEN Y-KROMOSOM) – Tvillinggraviditet utan detekterad Y-kromosom.</li> <li>• <b>CHR Y PRESENT</b> (Y-KROMOSOM) – Tvillinggraviditet med detekterad Y-kromosom.</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (AVBRUTET) – Provet avbröts av användaren.</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (OGILTIGT) – Provet klarade inte QC eller ogiltigförklarades av användaren.</li> <li>• <b>NOT TESTED</b> (TESTADES INTE) – Inget könskromosomtest utfördes.</li> <li>• <b>NA</b> (Ej tillämpligt) – Kategorin är inte tillämplig på provet.</li> </ul>	class_sx	Värden specificeras i Förinställda värdealternativ.

Kolumn	Beskrivning	Förinställda värdealternativ:	Typ	Regex
class_auto	Klassificering för aneuploidier i autosomer. Rapporteras som ANOMALY DETECTED (AVVIKELSE DETEKTERAD) om en avvikelse med den valda screeningstypen detekteras för provet.	En av följande: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ANOMALY DETECTED</b> (AVVIKELSE DETEKTERAD) – Autosomal kromosomavvikelse har detekterats.</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED</b> (INGEN AVVIKELSE DETEKTERAD) – Ingen autosomal avvikelse har detekterats.</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (AVBRUTET) – Provet avbröts av användaren.</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (OGILTIGT) – Provet klarade inte QC eller ogiltigförklarades av användaren.</li> <li>• <b>NA</b> (EJ TILLÄMPLIGT) – Kategorin är inte tillämplig på provet.</li> </ul>	text	Värden specificeras i Förinställda värdealternativ.
anomaly_description	En sträng som följer ISCN och beskriver alla rapporterbara avvikelser. Om det förekommer flera avvikelser separeras de av semikolon.	<b>DETECTED</b> (DETEKTERAD): följt av strängar separerade med semikolon som länkar följande format, i kromosomernas ordning: (\+ -)[12]?[0-9] (del dup)\([12]?[0-9]\)\(((p q)[0-9]{1,2}\.[0-9]{1,2})?)?{2}\ XO XXX XXY XYY  eller <b>NO ANOMALY DETECTED</b> (INGEN AVVIKELSE DETEKTERAD)   <b>NA</b> (EJ TILLÄMPLIGT)   <b>INVALIDATED</b> (OGILTIGT)   <b>CANCELLED</b> (AVBRUTEN).	text	Strängar separerade med semikolon och andra värden beskrivs i avsnittet <i>Regler för avvikelsebeskrivningar</i> .
qc_flag	QC-analysresultat. Endast qc_flag-värdena WARNING (VARNING) och PASS (GODKÄND) rapporterar resultat. Alla andra värden gör det inte.	En av följande: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>PASS</b> (GODKÄND)</li> <li>• <b>WARNING</b> (VARNING)</li> <li>• <b>FAIL</b> (UNDERKÄND)</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (AVBRUTEN)</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (OGILTIG)</li> <li>• <b>NTC_PASS</b> (NTC_GODKÄND)</li> </ul>	enum	Värden specificeras i Förinställda värdealternativ.

Kolumn	Beskrivning	Förinställda värdealternativ:	Typ	Regex
qc_reason	QC-fel eller varningsinformation.	<p>En av följande:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>NONE</b> (INGEN) (QC status = PASS (QC-status = GODKÄND))</li> <li>• <b>MULTIPLE ANOMALIES DETECTED</b> (FLERA AVVIKELSER HAR DETEKTERATS) (QC status = WARNING (QC-status = VARNING))</li> <li>• <b>FAILED iFACT</b> (MISSLYCKAT iFACT)</li> <li>• <b>DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE</b> (DATA UTANFÖR FÖRVÄNTAT INTERVALL)</li> <li>• <b>FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE</b> (STORLEKSFÖRDELNING AV FRAGMENT UTANFÖR FÖRVÄNTAT INTERVALL)</li> <li>• <b>FLOWCELL DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE</b> (FLÖDESCELLSDATA UTANFÖR FÖRVÄNTAT INTERVALL)</li> <li>• <b>FAILED TO ESTIMATE FETAL FRACTION</b> (DET GICK INTE ATT UPPSKATTA FOSTERFRAKTION)</li> <li>• <b>SEQUENCING DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE</b> (SEKVENSERINGSDATA UTANFÖR FÖRVÄNTAT INTERVALL)</li> <li>• <b>UNEXPECTED DATA</b> (OVÄNTADE DATA)</li> <li>• <b>NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE</b> (NTC-PROV MED HÖG TÄCKNING)</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (AVBRUTEN)</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (OGILTIG)</li> </ul>	text	<i>Värden specificeras i Förinställda värdealternativ.</i>
ff	Uppskattad fosterfraktion.	Procentandel av cfDNA från foster avrundat till närmaste heltal. Resultat som är mindre än 1 % rapporteras som < 1 %.	text	<i>Ej tillämpligt.</i>

## Regler för avvikelsebeskrivningar

Om VeriSeq NIPT Assay Software v2-analysen identifierar en avvikelse visar fältet anomaly\_description i NIPT-rapporten värdet DETECTED (DETEKTERAD) följt av en textsträng. Texten beskriver alla rapporterbara avvikelser baserat på International Standing Committee on Cytogenetic Nomenclature (ISCN). Strängen innehåller flera delar som separeras av semikolon. Varje del representerar trisomi eller monosomi i en autosom, aneuploidi av en könskromosom eller partiell deletion eller duplicering.

Trisomi och monosomi representeras av +<chr> respektive -<chr>, där <chr> är kromosomtalet.

Till exempel visas ett prov med trisomi på kromosom 5 så här:

+5

Ett prov med monosomi på kromosom 6 så här:

-6

Aneuploidier av könskromosomer använder standardnotation, med fyra möjliga värden:

- ▶ XO – för monosomi på kromosom X.
- ▶ XXX – för trisomi på kromosom X.
- ▶ XXY – för två X-kromosomer hos män.
- ▶ XYY – för två Y-kromosomer hos män.

Partiell deletion eller duplicering rapporteras endast för autosomer och visas endast vid screening av hela genom. Syntaxen för en partiell deletion eller duplicering är <type><chr><start band><end band>, där:

- ▶ <type> är typen av händelse, antingen del för deletion eller dup för duplikation.
- ▶ <chr> är kromosomtalet.
- ▶ <start band> är bandet där händelsen började.
- ▶ <end band> är bandet där händelsen slutade.

Till exempel visas en partiell deletion eller duplicering där bandet mellan p14 och q15 på kromosom 22 har en duplicering så här:

dup (22) (p14q15)

Fältet anomaly\_description följer tre sorteringsregler:

- 1 Delar sorteras efter kromosomtalet, oavsett om det gäller en hel kromosom eller en partiell deletion eller duplikation. Eventuell aneuploidi av en könskromosom visas sist.
- 2 Om det finns partiella deletioner eller duplikationer inom samma kromosom visas deletioner före duplikationer.
- 3 Partiella deletioner eller duplikationer av samma typ inom samma kromosom sorteras efter den första basen, som visas i den kompletterande rapporten.



## QC-orsaksmeddelanden

Kolumnen qc\_reason i NIPT-rapporten visar ett QC-fel eller en QC-varning när analysresultat faller utanför det förväntade intervallet för ett analytiskt QC-mått. QC-fel resulterar i fullständigt undertryckta resultat för aneuploidi av kromosom, könssklassificering, resultat i den kompletterande rapporten och beräknad fosterfraktion, vilket motsvarar följande fält i NIPT-rapporten: class\_auto, class\_sx, anomaly\_description och ff.

QC-orsaksmeddelande	Beskrivning	Rekommenderad åtgärd
FAILED iFACT (MISSLYCKAT iFACT)	Individuellt fosteraneuploiditest (iFACT) – QC-mått som kombinerar uppskattad fosterfraktion med körningsmått för täckning för att fastställa om systemet har tillräcklig statistisk konfidens för att ta beslut om ett givet prov.	Bearbeta provet på nytt.
DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DATA UTANFÖR FÖRVÄNTAT INTERVALL)	Den genomsnittliga avvikelser från euploiditäckning är inte konsekvent med den konfigurerade datadistributionen. Kan ha orsakats av kontamination eller inkorrekt provbearbetning.	Bearbeta provet på nytt.
FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (STORLEKSFÖRDELNING AV FRAGMENT UTANFÖR FÖRVÄNTAT INTERVALL)	Storleksfördelningen av fragment stämmer inte överens med den konfigurerade datadistributionen. Kan ha orsakats av kontamination eller inkorrekt provbearbetning.	Bearbeta provet på nytt.
FLOWCELL DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (FLÖDESCELLSDATA UTANFÖR FÖRVÄNTAT INTERVALL)	Flödescellsdata stämmer inte överens med den konfigurerade datadistributionen. Kan ha orsakats av ett fel i konfigurationen av flödescellen.	Bearbeta provet på nytt.
FAILED TO ESTIMATE FETAL FRACTION (DET GICK INTE ATT UPPSKATTA FOSTERFRAKTION)	Det gick inte att generera en giltig uppskattning av fosterfraktionen.	Bearbeta provet på nytt.
SEQUENCING DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (SEKVENSERINGSDATA UTANFÖR FÖRVÄNTAT INTERVALL)	Angivna sekvenseringsdata stämmer inte överens med den konfigurerade datadistributionen. Kan ha orsakats av kontamination eller inkorrekt provbearbetning.	Sekvensera om flödescellen.
UNEXPECTED DATA (OVÄNTADE DATA)	Rapporten genererar ett QC-fel som inte motsvarar någon av QC-orsakerna som listas i den här tabellen.	Kontakta Illuminas tekniska support.
MULTIPLE ANOMALIES DETECTED (FLERA AVVIKELSER HAR DETEKTERATS)	Två eller fler rapporterbara avvikelser (inklusive aneuploidier för hela kromosomer och partiell deletion eller duplicering) detekteras i provet. Att flera avvikelser detekteras kan tyda på att provet inte har hanterats korrekt eller en mer sällsynt händelse, som maternell malign sjukdom. Det här meddelandet är en varning. Det representerar inte ett QC-fel. Resultat rapporteras så att du kan se de detekterade avvikelserna. Du kan däremot behöva bearbeta provet igen.	Bearbeta provet på nytt.

QC-orsaksmeddelande	Beskrivning	Rekommenderad åtgärd
NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (NTC-PROV MED HÖG TÄCKNING)	En hög täckning har upptäckts för ett NCT-prov (inget förväntat DNA-material). Kan ha orsakats av kontamination eller inkorrekt provbearbetning.	Bearbeta provet på nytt.
CANCELLED (AVBRUTEN)	Provet avbröts av en användare.	Ej tillämpligt.
INVALIDATED (OGILTIG)	Provet ogiltigförklarades av en användare.	Ej tillämpligt.

## Kompletterande rapport

Den kompletterande rapporten innehåller information om ytterligare mått som baseras på batch, prov eller region. I den här rapporten representerar varje rad ett mått. Flera mått gäller för samma batch, prov eller region.

Den tabbavgränsade filen har sex kolumner, som beskrivs i tabellen nedan.

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
flowcell	Flödescellens streckkod.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
batch_ name	Den aktuella batchens namn.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
sample_ barcode	Provets streckkod.	text	Ej tillämpligt för batchmått. <code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
region	Antigen hela kromosomen eller en beskrivning av regionen med den partiella deletionen eller dupliceringen.	text	Ej tillämpligt – för batchmått eller provmått. <code>chr[12]?[0-9X]</code> – för mått för hela kromosomen. <code>(del dup)\([12]?[0-9X]\)\(((p q)[0-9]{1,2}\.[0-9]{1,2})?\{2}\)</code> – för mått för regionen med den partiella deletionen eller dupliceringen.
metric_ name	Namnet på måttet som beskrivs.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
metric_ value	Måttets värde.	varierar	<i>Mer information finns under <a href="#">Mått i den kompletterande rapporten</a>.</i>

## Mått i den kompletterande rapporten

Den kompletterande rapporten innehåller data för följande mått. Varje mått visas antingen per batch, per prov eller per region.

Mått för kromosom X visas endast om du väljer könskromosomalalternativen Yes (Ja) eller SCA.

Värdeintervall visas som "lägsta värde, högsta värde" omgivet av antingen rundparenteser eller hakparenteser. Rundparenteser indikerar att ett gränsvärde har exkluderats från intervallet och hakparenteser indikerar att ett gränsvärde har inkluderats i intervallet. Inf är en förkortning av infinity (oändlighet).

Måttnamn	Frekvens	Beskrivning	Typ	Regex eller värdeintervall
genome_ assembly	Per batch	Systemet med koordinater för inpassning av sekvenseringsdata och koordinater för rapporterade regioner. Alltid GRCh37 för VeriSeq NIPT Solution v2.	text	<code>^GRCh37\$</code>
frag_size_ dist	Per prov	Standardavvikelsen för skillnaderna mellan den faktiska och förväntade kumulativa storleksfördelningen av fragment.	flyttal	(0, Inf)
fetal_fraction	Per prov	Rapporterad fosterfraktion.	flyttal	(0, 1)

Måttnamn	Frekvens	Beskrivning	Typ	Regex eller värdeintervall
NCV_X	Per prov	Normaliserat kromosomvärde för X-kromosomen. Visas endast om det har valts under alternativen för könskromosomrapportering. I annat fall visas det här mätvärdet som NOT TESTED (TESTADES INTE).	flyttal	(-Inf, Inf)
NCV_Y	Per prov	Normaliserat kromosomvärde för Y-kromosomen . Visas endast om det har valts under alternativen för könskromosomrapportering. I annat fall visas det här mätvärdet som NOT TESTED (TESTADES INTE).	flyttal	(-Inf, Inf)
number_of_cnv_events	Per prov	Antalet regioner med partiell deletion eller duplikation som detekteras i provet.	heltal	(0, Inf)
non_excluded_sites	Per prov	Antalet återstående avläsningar efter filtrering som räknas i analysen.	heltal	(0, Inf)
region_classification	Per region	Klassificering av regionen av systemet i samma format som fältet anomaly_description i NIPT-rapporten. Om ingen rapporterbar könskromosomavvikelse detekteras för kromosom X kommer regionklassificeringen att matcha värdet i fältet class_sx i NIPT-rapporten. Värdealternativ (regex): DETECTED: (\+ -)[12]?[0-9] DETECTED: (del dup)\([12]?[0-9]\)\(((p q)[0-9]{1,2}\.[0-9]{1,2})?)\{2\} NO ANOMALY DETECTED DETECTED: (XO XXX XXY XYY) NO ANOMALY DETECTED - XX NO ANOMALY DETECTED - XY NOT REPORTABLE CHR Y PRESENT CHR Y NOT PRESENT	text	<i>Värden anges under Beskrivning.</i>
kromosom	Per region	Kromosomsymbolen.	text	chr[12]?[0-9X]
start_base	Per region	Den första basen som ingår i regionen.	heltal	[1, Inf)
end_base	Per region	Den sista basen som ingår i regionen.	heltal	[1, Inf)
start_cytoband	Per region	Bandet på den första basen som ingår i regionen.	text	(p q)[0-9]{1,2}\.[0-9]{1,2}?
end_cytoband	Per region	Bandet på den sista basen som ingår i regionen.	text	(p q)[0-9]{1,2}\.[0-9]{1,2}?
region_size_mb	Per region	Storleken på regionen i megabaser.	flyttal	(0, Inf)

Måttnamn	Frekvens	Beskrivning	Typ	Regex eller värdeintervall
region_llr_trisomy	Per region	LLR-värdet (Log-Likelihood Ratio) för trisomi för regionen. Indikerar bevis på trisomi jämfört med bevis för att regionen är oförändrad (disomi). Det flaggas för trisomi om LLR-värdet överstiger ett förutbestämt tröskelvärde. För partiella deletioner eller duplikationer visas det här måttet endast om typen är en ökning (dup). I annat fall visas det här mätvärdet som NA (Ej tillämpligt).	flyttal	(-Inf, Inf)
region_llr_monosomy	Per region	LLR-värdet för monosomi för regionen. Indikerar bevis på monosomi jämfört med bevis för att regionen är oförändrad (disomi). Det flaggas för monosomi om LLR-värdet överstiger ett förutbestämt tröskelvärde. För partiella deletioner eller duplikationer visas det här måttet endast om typen är en minskning (del). I annat fall visas det här mätvärdet som NA (Ej tillämpligt). Det här måttet visas som NOT TESTED (TESTADES INTE) om du väljer den grundläggande screeningtypen.	flyttal	(-Inf, Inf)
region_t_stat_long_reads	Per region	T-statistik för regionen. T-statistik är skillnaden i täckning mellan regionen och resten av genomet, jämfört med variationen i provet. Det är ett signal-brusförhållande som identifierar detekterbarheten för eventuella förändringar i täckningen i regionen. "long_reads" indikerar att täckningen som används för t-statistiken inkluderar hela spektrumet av fragmentstorlekar som används i analysen. T-statistiken kombineras med den uppskattade fosterfraktionen för provet för att generera LLR-värden.	flyttal	(-Inf, Inf)
region_mosaic_ratio	Per region	Andelen av det fetala materialet som har aneuploidi. Det här måttet baseras på förhållandet mellan värdet för fosterfraktion som härleddes från täckningen i regionen och provets fosterfraktion. För prov där fosterfraktionen är nära noll kan mosaicismförhållandet ta negativa värden på grund av variation i uppskattningen av provets fosterfraktion som används i beräkningen.	flyttal	(-Inf, Inf)
region_mosaic_llr_trisomy	Per region	LLR-värdet för trisomi beräknas med fosterfraktionen som härleddes från täckningen i regionen istället för provets fosterfraktion. För partiella deletioner eller duplikationer visas det här måttet endast om typen är en ökning (dup). I annat fall visas det här mätvärdet som NA (Ej tillämpligt).	flyttal	(-Inf, Inf)
region_mosaic_llr_monosomy	Per region	LLR-värdet för monosomi beräknas med fosterfraktionen som härleddes från täckningen i regionen istället för provets fosterfraktion. För partiella deletioner eller duplikationer visas det här måttet endast om typen är en minskning (del). I annat fall visas det här mätvärdet som NA (Ej tillämpligt). Det här måttet visas som NOT TESTED (TESTADES INTE) om du väljer den grundläggande screeningtypen.	flyttal	(-Inf, Inf)

## Rapport om ogiltigt prov

Systemet genererar en rapport om ogiltigt prov för varje prov som ogiltigförklaras eller misslyckas.

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Unik streckkod för ogiltigt prov.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reason	Användardefinierad anledning till att provet ogiltigförklarades.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
operator	Användarnamn för användaren som ogiltigförklarade provet.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Datum och tid för ogiltigt prov.	tidstämpel – ISO 8601:1988	

## Rapport om avbrutet prov

Systemet genererar en rapport om avbrutet prov för varje avbrutet prov.

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Unik streckkod för avbrutet prov.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reason	Användardefinierad anledning till att provet avbröts.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
operator	Användarnamn för användaren som avbröt provet.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Datum och tid för avbrutet prov.	tidstämpel – ISO 8601:1988	

## Rapport om begäran av omanalys av uppsättning

Pool Retest Request Report (Rapport om begäran av omanalys av uppsättning) anger om en ogiltigförklarad uppsättning kan köras om. Systemet genererar en rapport om begäran av omanalys av uppsättning när den första av två möjliga sekvenskörningar (uppsättningar) för den uppsättningstypen ogiltigförklaras.

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_type	Uppsättningstyp.	enum	A   B   C   E
reason	Användardefinierad anledning till att den föregående uppsättningen ogiltigförklarades.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Datum och tid för begäran.	tidstämpel – ISO 8601:1988	

## Processrapporter

### Rapport om påbörjad batch

Systemet genererar en rapport om påbörjad batch när en batch påbörjas och valideras före isolering av plasma.

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Unik streckkod för prov.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_type	Provtyp av streckkoden för prov.	enum	enkel   kontroll   dubbel   ntc
well	Brunn som förknippas med ett prov.	text	^[a-zA-Z]{1,1}[0-9]{1,2}\$
assay	Analysnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$
method_version	Version av metod för automatisering av analys.	text	VeriSeq v2 NIPT Assay
workflow_manager_version	Den Workflow Manager-version som är kopplad till batchen.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$

### Rapport om ogiltig batch

Systemet genererar en rapport om ogiltig batch när batchen ogiltigförklaras eller misslyckas.

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reason	Användardefinierad anledning till att batchen ogiltigförklaras.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
operator	Initialer för användaren som ogiltigförklarar batchen.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Datum och tid för den ogiltiga batchen.	tidstämpel – ISO 8601:1988	

## Biblioteksprovsrapport

Systemet genererar en biblioteksprovsrapport när en batch misslyckas eller ogiltigförklaras, när ett bibliotek slutförs och när en kvantifiering slutförs.

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Unik streckkod för prov.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
qc_status	Provstatus när analysstegen slutförts.	enum	godkänd   underkänd
qc_reason	Orsak till QC-status.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
starting_volume	Initial mängd i bloduppsamlingsröret i ml vid isolering av plasma.	flyttal	
index	Index som förknippas med ett prov.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
ccn_library_pg_ul	Bibliotekskoncentration i pg/µl.	flyttal	
plasma_isolation_comments	Användarkommentarer vid isolering av plasma (fritext).	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$
cfdna_extraction_comments	Användarkommentarer vid cfDNA-extraktion (fritext).	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$
library_prep_comments	Användarkommentarer vid förberedelse av bibliotek (fritext).	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$
quantitation_comments	Användarkommentarer vid kvantifiering (fritext).	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$



## Biblioteksreagensrapport

Systemet genererar en biblioteksreagensrapport när en batch misslyckas eller ogiltigförklaras, när ett bibliotek slutförs och när en kvantifiering slutförs.

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
process	Processnamn i formatet PROCESS:underprocess. Värdealternativ: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ISOLATION</b> (ISOLERING) – batch_validation, prespin, postspin, data_transact.</li> <li>• <b>EXTRACTION</b> (EXTRAKTION) – setup, chemistry, data_transact.</li> <li>• <b>LIBRARY</b> (BIBLIOTEK) – setup, chemistry, data_transact, complete.</li> <li>• <b>QUANT</b> (KVANTIFIERING) – setup, build_standards, build_384, analysis, data_transact.</li> <li>• <b>POOLING</b> (GRUPPERING) – analysis, setup, pooling, data_transact, complete.</li> </ul>	text	^[A-Z]{1,36}:[a-z0-9_-]{1,36}\$
reagent_name	Reagensnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
lot	Reagensstreckkod.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
expiration_date	Utgångsdatum i tillverkarens format.	text	^[a-zA-Z0-9:/_-]{1,100}\$
operator	Användarens användarnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
initiated	Tidsstämpel för start för reagens.	tidstämpel – ISO 8601:1988	

## Bibliotekslaboratorierapport

Systemet genererar en bibliotekslaboratorierapport när en batch misslyckas eller ogiltigförklaras, när ett bibliotek slutförs och när en kvantifiering slutförs.

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
labware_name	Laboratorienamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
labware_barcode	Laboriestreckkod.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
initiated	Tidsstämpel för start för laborieutrustning.	tidstämpel – ISO 8601:1988	

## Bibliotekskvantifieringsrapport

Systemet genererar en bibliotekskvantifieringsrapport när en kvantifiering slutförs.

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
quant_id	Numeriskt ID.	lång	
instrument	Namn på kvantifieringsinstrument (fritext).	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
standard_r_squared	Determinationskoefficient (R2).	flyttal	
standard_intercept	Skärningspunkt.	flyttal	
standard_slope	Lutning.	flyttal	
median_ccn_pg_ul	Mediankoncentration för prover.	flyttal	
qc_status	QC-status för kvantifiering.	enum	godkänd   underkänd
qc_reason	Beskrivning av felorsak, om någon.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
initiated	Tidsstämpel för start för kvantifiering.	tidstämpel – ISO 8601:1988	

## Biblioteksprocesslogg

Systemet genererar en biblioteksprocesslogg när en batchprocess påbörjas, slutförs eller misslyckas, när en batch misslyckas eller ogiltigförklaras och när en analys slutförs (genereras per uppsättning).

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
process	Batchprocessnamn i formatet PROCESS:underprocess. Värdealternativ: <b>ISOLATION</b> (ISOLERING) – batch_validation, prespin, postspin, data_transact. <b>EXTRACTION</b> (EXTRAKTION) – setup, chemistry, data_transact. <b>LIBRARY</b> (BIBLIOTEK) – setup, chemistry, data_transact, complete. <b>QUANT</b> (KVANTIFIERING) – setup, build_standards, build_384, analysis, data_transact. <b>POOLING</b> (GRUPPERING) – analysis, setup, pooling, data_transact, complete.	text	^[A-Z]{1,36}:[a-z0-9_-]{1,36}\$
operator	Användarens initialer.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
instrument	instrumentets namn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
started	Datum och tid för påbörjad batchprocess.	tidstämpel – ISO 8601:1988	
finished	Datum och tid för slutförd eller misslyckad batchprocess.	tidstämpel – ISO 8601:1988	
status	Aktuell batch.	enum	slutförd   underkänd   påbörjad   avbruten

## Uppsättningsrapport

Systemet genererar en uppsättningsrapport när ett bibliotek slutförs, när en batch misslyckas och när en batch ogiltigförklaras om det inträffar efter att en uppsättning har påbörjats.

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Unik streckkod för prov.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode	Uppsättningsstreckkod för ett prov.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_type	Uppsättningstyp för ett prov.	enum	A   B   C   E
pooling_volume_ul	Uppsättningsvolym i µl.	flyttal	
pooling_comments	Användarkommentarer vid uppsättningsprocessen (fritext).	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$

## Rapport om ogiltig uppsättning

Systemet genererar en rapport om ogiltig uppsättning när uppsättningen ogiltigförklaras eller misslyckas.

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode	Uppsättningsstreckkod för den ogiltiga uppsättningen.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reason	Användardefinierad anledning till att uppsättningen ogiltigförklaras.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
operator	Initialer för användaren som ogiltigförklarar uppsättningen.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Datum och tid för den ogiltiga uppsättningen.	tidstämpel – ISO 8601:1988	

## Sekvensrapport

Systemet genererar en sekvensrapport för sekvenskörningen när sekvenseringen slutförs eller överskrider tidsgränsen.

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode	Uppsättningsstreckkod för en sekvenskörning.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
instrument	Serienummer för sekvenserare.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
flowcell	Flödescell för en sekvenskörning.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
software_version	Sammanställning av programtillämpning/programversion som används för att generera data på sekvenseraren.	text	
run_folder	Sekvenskörningsmappens namn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]+\$
sequencing_status	Sekvenskörningsstatus.	enum	slutförd   överskriden tidsgräns   underkänd
qc_status	QC-status för sekvenskörning.	enum	godkänd   underkänd   fel
qc_reason	QC-orsaker för underkänd QC, värden separerade med semikolon.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
cluster_density	Klustertäthet (median per flödescell för plattor).	flyttal	
pct_q30	Procentbaser över Q30.	flyttal	
pct_pf	Procentläsningar som passerar filtret.	flyttal	
phasing	Fasning.	flyttal	
prephasing	För-fasning.	flyttal	
predicted_aligned_reads	Förutsagda matchade läsningar.	lång	
started	Tidsstämpel för start av sekvensering.	tidstämpel – ISO 8601:1988	
completed	Tidsstämpel för slutförande av sekvensering.	tidstämpel – ISO 8601:1988	

## Analysfelrapport

Systemet genererar en analysfelrapport när maximalt antal försök misslyckats för sekvenskörningen.

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode	Uppsättningsstreckkod för misslyckad analys.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
flowcell	Flödescellsstreckkod för misslyckad analys.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sequencing_run_folder	Sekvenskörningsmappen för misslyckade analyser.	text	^[a-zA-Z0-9_]+\$
analysis_run_status	Sekvenskörningsstatus för misslyckad analys.	text	^[a-zA-Z0-9_]+\$
timestarted	Tidsstämpel för start av analys.	tidstämpel – ISO 8601:1988	
timefinished	Tidsstämpel för misslyckad analys.	tidstämpel – ISO 8601:1988	

# Bilaga C Felsökning

Inledning .....	57
Assay Software-meddelanden .....	58
Systemproblem .....	66
Databearbetningstest .....	66

## Inledning

Felsökningshjälpen i VeriSeq NIPT Solution v2 består av:

- ▶ meddelanden från systemet och Assay Software
- ▶ rekommenderade åtgärder vid systemproblem
- ▶ anvisningar om hur förebyggande analyser och felanalyser utförs med hjälp av förinstallerade testdata.

## Assay Software-meddelanden

Det här avsnittet beskriver Assay Software-meddelandena:

### Förloppsmeddelanden

Förloppsmeddelanden indikerar det normala förloppet för en analys. Meddelandena loggas som "aktiviteter" och kräver inga användaråtgärder.

Meddelande	Steg	När	Varningsnivå	E-post	Rekommenderad åtgärd
Batch initiation (Påbörjad batch)	Bibliotekspreparering	Användare skapade en ny batch.	Aktivitet	Ja	Ej tillämpligt.
Batch Library Complete (Slutfört batchbibliotek)	Bibliotekspreparering	Bibliotek har slutförts för den aktuella batchen.	Aktivitet	Nej	Ej tillämpligt.
Pool Complete (Slutförd uppsättning)	Bibliotekspreparering	Uppsättning har genererats från en batch.	Aktivitet	Nej	Ej tillämpligt.
Sequencing Started (Påbörjad sekvensering)	Sekvensering	Systemet har upptäckt en ny sekvensdatamapp.	Aktivitet	Nej	Ej tillämpligt.
Sequencing QC passed (Godkänd QC av sekvensering)	Sekvensering	Sekvenskörningen har slutförts och QC av sekvenskörningen har slutförts.	Aktivitet	Nej	Ej tillämpligt.
Sequencing Run Associated With Pool (Sekvenskörning kopplad till uppsättning)	Sekvensering	Sekvenskörningen har kopplats till en känd uppsättning.	Aktivitet	Nej	Ej tillämpligt.
Analysis Started (Påbörjad analys)	Analys	Analys har påbörjats för den specificerade sekvenskörningen.	Aktivitet	Ja	Ej tillämpligt.
Analysis Completed NIPT Report Generated (Slutförd analys och NIPT-rapport genererad)	Efter analys	Analysen har slutförts och rapporter har genererats.	Aktivitet	Ja	Ej tillämpligt.

### Meddelanden om ogiltigförklaring

Meddelanden om ogiltigförklaring markerar händelser i systemet till följd av att användaren ogiltigförklarar en batch eller uppsättning via Workflow Manager. Meddelandena loggas som "anmärkningar" och kräver inga vidare användaråtgärder.

Meddelande	Steg	När	Varningsnivå	E-post	Rekommenderad åtgärd
Batch Invalidation (Ogiltig batch)	Bibliotekspreparering	Användare ogiltigförklarade en batch.	Anmärkning	Ja	Ej tillämpligt.
Pool Invalidation – Repool (Ogiltig uppsättning – uppsättning körs om)	Bibliotekspreparering	Användare ogiltigförklarade den första möjliga uppsättningen (av en viss typ) i batchen.	Anmärkning	Ja	Ej tillämpligt.
Pool Invalidation – Use second aliquot (Ogiltig uppsättning – använd en andra alikvot)	Bibliotekspreparering	Användare ogiltigförklarade den första möjliga uppsättningen (av en viss typ) i batchen.	Anmärkning	Ja	Ej tillämpligt.
Sequencing Completed Pool Invalidated (Slutförd sekvensering med ogiltig uppsättning)	Sekvensering	Sekvenskörningen har slutförts men uppsättningen ogiltigförklarades av användaren.	Anmärkning	Ja	Ej tillämpligt.
Sequencing QC passed – All samples are invalid (Godkänd QC av sekvensering – alla prover är ogiltiga)	QC av sekvensering	QC av sekvenskörningen har slutförts, men alla prover är ogiltiga.	Anmärkning	Ja	Ej tillämpligt.
Analysis Completed Pool Invalidated (Slutförd analys med ogiltig uppsättning)	Efter analys	Analysen har slutförts men uppsättningen ogiltigförklarades av användaren.	Anmärkning	Ja	Ej tillämpligt.

## Meddelanden om korrigerbara fel

Korrigerbara fel är tillstånd som VeriSeq NIPT Assay Software kan återställa när användaren följer den rekommenderade åtgärden. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.

Meddelande	Steg	När	Varningsnivå	E-post	Rekommenderad åtgärd
Missing Instrument Path (Sökväg för instrument saknas)	Sekvensering	Systemet kan inte lokalisera/ansluta till en extern sekvensmapp.	Avisering	Ja	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kontrollera nätverksanslutningen om en NAS används. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder på sidan 65</i></li> <li>Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.</li> </ul>
Insufficient Disk Space for Sequencing (Otillräckligt diskutrymme för sekvensering)	Sekvensering	Systemet har upptäckt en ny sekvensdatamapp, men bedömer att det inte finns tillräckligt med diskutrymme för dessa data.	Avisering	Ja	<ol style="list-style-type: none"> <li>Kontrollera tillgängligt diskutrymme. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder på sidan 65</i>.</li> <li>Frigör diskutrymme eller säkerhetskopiera data. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder på sidan 65</i>.</li> </ol>



Meddelande	Steg	När	Varningsnivå	E-post	Rekommenderad åtgärd
Sequencing Run Invalid Folder (Ogiltig sekvenskörningsmapp)	Sekvensering	Ogiltiga tecken i mappen Sequencing Run (Sekvenskörning).	Varning	Ja	Mappen Sequencing Run (Sekvenskörning) har döpts om felaktigt. Döp om körningen med ett giltigt namn.
Sequencing Started but Pool Barcode File Missing (Påbörjad sekvensering men filen med uppsättningsstreckkoden saknas)	Sekvensering	Programmet har inte detekterat filen som innehåller uppsättningens streckkod 30 minuter efter det att sekvenseringen påbörjades.	Varning	Ja	Möjligt fel på sekvenseraren eller NAS:en. Kontrollera sekvenserarens konfiguration och nätverksanslutningen. Systemet kommer att fortsätta att söka efter uppsättningens streckkod tills det att sekvenseringen har slutförts.
Cannot Verify Sequencing Run Completion (Det går inte att verifiera att sekvenskörningen har slutförts)	Sekvensering	Programmet kunde inte läsa filen som anger att körningen har statusen slutförd i sekvensmappen.	Varning	Ja	Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.
Missing Sample Attributes (Saknade provattribut)	Föranalys	Programmet kunde inte hitta en definition för provtyp, könskromosomalalternativ eller screeningtyp för vissa av proven.	Anmärkning	Ja	Ett eller flera provattribut tillhandhålls inte för det angivna provet. Ange de saknade provattributen i Workflow Manager eller ogiltigförklara provet för att göra det möjligt för programmet att gå vidare.
Sample Sheet Generation failed (Generering av provark misslyckades)	Föranalys	Programmet kunde inte generera provark.	Avisering	Ja	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kontrollera tillgängligt diskutrymme. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder på sidan 65</i>. Frigör diskutrymme och säkerhetskopiera data om det är ont om ledigt diskutrymme. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder på sidan 65</i>.</li> <li>Kontrollera nätverksanslutningen om en NAS används. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder på sidan 65</i>.</li> <li>Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.</li> </ul>

Meddelande	Steg	När	Varningsnivå	E-post	Rekommenderad åtgärd
Unable to check disk space (Kunde inte kontrollera diskutrymmet)	Föranalys	Programmet kunde inte kontrollera diskutrymmet.	Avisering	Ja	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kontrollera nätverksanslutningen om en NAS används. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i>, Åtgärds-ID 2 på sidan 65.</li> <li>Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.</li> </ul>
Insufficient Disk Space for Analysis (Otillräckligt diskutrymme för analys)	Föranalys	Programmet har upptäckt att det inte finns tillräckligt med diskutrymme för att starta en ny analyskörning.	Avisering	Ja	Frigör diskutrymme eller säkerhetskopiera data. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i> , Åtgärds-ID 3 på sidan 65.
Unable to launch Analysis Pipeline (Kunde inte starta Analysis Pipeline)	Föranalys	Programmet kunde inte starta en analyskörning för den angivna sekvensmappen.	Avisering	Ja	Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.
Sequencing folder Read/Write permission failed (Läs-/skrivbehörighet till sekvensmapp nekad)	Föranalys	Programtestet som kontrollerar läs-/skrivbehörighet till sekvenskörningsmappen misslyckades.	Varning	Ja	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kontrollera nätverksanslutningen om en NAS används. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder på sidan 65</i>.</li> <li>Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.</li> </ul>
Analysis Failed - Retry (Analysen misslyckades – försök igen)	Analys	Analysen misslyckades. Försöker igen.	Anmärkning	Ja	Ingen
Results Already Reported (Resultaten har redan rapporterats)	System	Programmet har fastställt att en NIPT-rapport redan genererats för den aktuella uppsättningstypen.	Aktivitet	Ja	Ingen

Meddelande	Steg	När	Varningsnivå	E-post	Rekommenderad åtgärd
Unable to deliver email notifications (Det gick inte att leverera e-postmeddelanden)	System	Systemet kan inte leverera e-postmeddelanden	Varning	Ej tillämpligt	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Kontrollera att den e-postkonfiguration som angetts i systemet är giltig. Anvisningar finns i avsnittet <i>Konfigurera systemets e-postmeddelanden på sidan 26</i>.</li> <li>2. Skicka ett testmeddelande via e-post. Anvisningar finns i avsnittet <i>Konfigurera systemets e-postmeddelanden på sidan 26</i>.</li> <li>3. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.</li> </ol>
Time Skew Detected (Tidsförskjutning har upptäckts)	Bibliotekspreparering	Programmet har upptäckt en tidsförskjutning på över 1 minut mellan den tidsstämpel som ges av Workflow Manager och den lokala tiden på servern.	Varning	Nej	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. Kontrollera den lokala tiden i Workflow Manager.</li> <li>2. Kontrollera den lokala tiden på Onsite Server som rapporteras i webbgränssnittet (fliken Server Status (Serverstatus)).</li> </ol>

## Meddelanden om återkalleliga fel

Oåterkalleliga fel uppstår när ett sluttillstånd infinner sig där det inte går att vidta åtgärder för att återuppta analysprocessen.

Meddelande	Steg	När	Varningsnivå	E-post	Rekommenderad åtgärd
Batch Failure (Misslyckad batch)	Bibliotekspreparering	Misslyckad QC av batch.	Anmärkning	Ja	Starta om bibliotekspreparering.
Report Generating Failure (Misslyckad rapportgenerering)	Rapportering	Systemet kunde inte generera en rapport.	Avisering	Ja	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Kontrollera tillgängligt diskutrymme. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder på sidan 65</i>. Frigör diskutrymme och säkerhetskopiera data om det är ont om ledigt diskutrymme. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder på sidan 65</i>.</li> <li>• Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.</li> </ul>

Meddelande	Steg	När	Varningsnivå	E-post	Rekommenderad åtgärd
Failed to Parse Run Parameters file (Misslyckad parsning av körningsparameterfil)	Sekvensering	Systemet kunde inte öppna/parsa filen RunParameters.xml.	Varning	Ja	Filen RunParameters.xml är skadad. Kontrollera sekvenserarens konfiguration och sekvensera om uppsättningen.
Unrecognized Run Parameters (Okända körningsparametrar)	Sekvensering	Programmet läste körningsparametrar som inte är kompatibla.	Varning	Ja	Programmet kunde inte bilda sekvenskörningsparametrar från sekvenserarens konfigurationsfil. Kontrollera sekvenserarens konfiguration och sekvensera om uppsättningen.
Invalid Run Parameters (Ogiltiga körningsparametrar)	Sekvensering	Programmet läste nödvändiga körningsparametrar som inte är kompatibla med analysen.	Varning	Ja	Programmets kompatibilitetskontroll misslyckades. Kontrollera sekvenserarens konfiguration och sekvensera om uppsättningen.
No Pool Barcode found (Ingen uppsättningsstreckkod hittad)	Sekvensering	Programmet kunde inte associera flödescellen för sekvenskörningen med en känd uppsättningsstreckkod.	Varning	Ja	Fel uppsättningsstreckkod kan ha angetts. Sekvensera om uppsättningen.
Sequencing Completed but Pool Barcode File Missing (Slutförd sekvensering men filen med uppsättningsstreckkoden saknas)	Sekvensering	Sekvenseringen har slutförts men filen som innehåller uppsättningsstreckkod har inte hittats.	Avisering	Ja	Möjligt fel på sekvenseraren. Kontakta Illuminas tekniska support för hjälp.
Unable to read Pool Barcode File (Det går inte att läsa filen med uppsättningsstreckkoden)	Sekvensering	Filen som innehåller uppsättningsstreckkod är skadad.	Avisering	Ja	Möjligt fel på sekvenseraren eller nätverksfel. Kontakta Illuminas tekniska support för hjälp.
Pool Barcode File Mismatch (Matchningsfel för filen med uppsättningsstreckkoden)	Sekvensering	Den detekterade filen med uppsättningsstreckkod refererar till ett annat flödescells-ID än det som är kopplat till sekvenskörningen.	Avisering	Ja	Möjligt fel på sekvenseraren. Kontakta Illuminas tekniska support för hjälp.

Meddelande	Steg	När	Varningsnivå	E-post	Rekommenderad åtgärd
Sequencing Timed Out (Sekvenseringen överskred tidsgränsen)	Sekvensering	Sekvenskörningen slutfördes inte inom den givna tidsramen.	Varning	Ja	Kontrollera sekvenseraren och nätverksanslutningen. Sekvensera om uppsättningen.
Sequencing QC files generation failed (Misslyckad generering av QC-filer för sekvensering)	QC av sekvensering	Sekvenskörningen har slutförts, men InterOp QC-filerna är skadade.	Avisering	Ja	Kontrollera sekvenseraren och nätverksanslutningen. Sekvensera om uppsättningen.
Sequencing QC failed (Misslyckad QC av sekvensering)	QC av sekvensering	Sekvenskörningen har slutförts och QC av sekvenskörningen har misslyckats.	Anmärkning	Ja	Sekvensera om uppsättningen.
Analysis Failed for Maximum number of attempts (Analysen har misslyckats maximalt antal gånger)	Analys	Alla analysförsök har misslyckats. Kommer inte att köras igen.	Varning	Ja	Sekvensera om den andra uppsättningen.
Analysis Post-Processing Failed (Misslyckad efterbearbetning av analys)	Efter analys	Programmet kunde inte efterbearbeta analysresultaten.	Avisering	Ja	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kontrollera nätverksanslutningen om en NAS används. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i> på sidan 65.</li> <li>Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.</li> </ul>
Analysis Upload Failed (Misslyckad överföring av analys)	Efter analys	Programmet kunde inte överföra analysresultaten till databasen.	Avisering	Ja	<ul style="list-style-type: none"> <li>Kontrollera nätverksanslutningen om en NAS används. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i> på sidan 65.</li> <li>Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.</li> </ul>

## Rekommenderade åtgärder

Åtgärds-ID	Rekommenderad åtgärd	Steg
1	Kontrollera nätverksanslutningen	<p>Kontrollera att NAS:en för fjärrlagring och den lokala maskinen är på samma nätverk.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Skriv in kommandot (cmd) <b>ping &lt;Server IP&gt;</b> i kommandoraden i Windows. Om en NAS används ska även dess anslutning kontrolleras.</li> <li>Kontrollera att det inte förekommer förlorade datapaket. Kontakta administratören om datapaket har gått förlorade.</li> <li>Testa anslutningen: <ol style="list-style-type: none"> <li>Logga in i webbgränssnittet för Onsite Server.</li> <li>Välj <b>Folder</b> (Mapp) från instrumentpanelens meny.</li> <li>Välj <b>Test</b> och fastställ om testet är slutfört. Om testet misslyckas finns det mer information i avsnittet <i>Redigera en delad nätverksenhet på sidan 24</i>. Kontrollera även att alla inställningar är korrekt konfigurerade.</li> </ol> </li> </ol>
2	Kontrollera tillgängligt diskutrymme	<p>Kontrollera att Windows-enheten mappas till Onsite Servers indatamapp. Mer information finns i avsnittet <i>Mappa serverenheter på sidan 30</i>. Högerklicka på enheten som mappar till mappen Indata. Välj <b>Properties</b> (Egenskaper) och visa information om ledigt utrymme.</p>
3	Frigör diskutrymme /säkerhetskopiera data	<p>Illumina rekommenderar att säkerhetskopiering utförs regelbundet och/eller att sekvensdata lagras på servern. Mer information finns i avsnittet <i>Hantera en delad nätverksenhet på sidan 24</i>.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>För data som lagras lokalt på Onsite Server: <p>Kontrollera att Windows-enheten mappas till Onsite Servers indatamapp. Mer information finns i avsnittet <i>Mappa serverenheter på sidan 30</i>.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Dubbelklicka på mappen Indata och ange inloggningsuppgifterna som ger åtkomst till den.</li> <li>Sekvenskörningsdata visas med mappnamn som överensstämmer med sekvenskörningsnamnet.</li> <li>Ta bort eller säkerhetskopiera bearbetade sekvensmappar.</li> </ol> </li> <li>För data som fjärlagras på en NAS: <p>Kontrollera att NAS:en för fjärrlagring och den lokala maskinen är på samma nätverk. Kontrollera att du har tillgång till mappen på fjärrenheten. Det krävs inloggningsuppgifter från IT-administratören.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Sekvenskörningsdata visas med mappnamn som överensstämmer med sekvenskörningsnamnet.</li> <li>Ta bort eller säkerhetskopiera bearbetade sekvensmappar.</li> </ol> </li> </ol>

## Systemproblem

Problem	Rekommenderad åtgärd
Programmet startar inte.	Om fel upptäcks när Assay Software startas visas en sammanfattning av samtliga fel istället för inloggningsskärmen. Kontakta Illuminas tekniska support för att rapportera de fel som anges.
Databasen måste återställas.	Kontakta en fältservicetekniker från Illumina om databasen behöver återställas från en säkerhetskopiera.
Systemglidning har upptäckts.	När en systemglidning upptäcks bearbetar Assay Software inte längre kommunikationen från andra systemkomponenter. En administratör kan återställa systemet till normal drift när det har gått in i tillståndet för upptäckt av glidning.
RAID-systemets larm aktiveras.	Som administratör kan du välja knappen <b>Server alarm</b> (Serverlarm) på fliken Server Status (Serverstatus) på instrumentpanelen i Assay Software för att inaktivera RAID-systemets larm. Om du trycker på den här knappen ska du kontakta Illuminas tekniska support för ytterligare hjälp.

## Databearbetningstest

Förinstallerade datauppsättningar på Onsite Server gör det möjligt att testa servern och analysmotorn.

### Testa servern

Det här testet simulerar en sekvenskörning och simulerar en generering av analysresultat utan att starta Analysis Pipeline. Kör det här testet för att säkerställa att Onsite Server fungerar korrekt och att rapporter och e-postmeddelanden genereras. Tidsåtgång: cirka 3–4 minuter.

### Förfarande

- Öppna den monterade ingångskatalogen och öppna sedan mappen TestingData (Testdata).
- Kopiera en av följande mappar, som finns i mappen TestingData (Testdata).
  - ▶ För NextSeq-data: 170725\_NS500110\_0382\_AHT3MYBGX2\_Copy\_Analysis\_Workflow.
  - ▶ För NextSeqDx-data: 180911\_NDX550152\_0014\_AXXXXXXXXDX\_Copy\_Analysis\_Workflow.
- Döp om kopian till en mapp med ett \_XXX-suffix. Suffixet \_XXX representerar ett sekventiellt värde för testkörningen. Om till exempel \_002 finns i mappen, ska den nya kopian döpas om till \_003.
- Flytta mappen med det nya namnet till mappen Indata.
- Det kan ta 3–5 minuter för körningen att slutföras. Kontrollera att följande e-postmeddelanden har tagits emot:
  - a Påbörjad sekvenskörningsanalys
  - b NIPT-rapport genererad för sekvenskörning
 Härled båda rapporterna till mappens sekvensnamn.
- Öppna mappen TestData\_NS\_CopyWorkflow eller TestData\_NDx\_CopyWorkflow i utdatamappen kontrollera att en av följande rapporter finns:
  - ▶ För NextSeq: TestData\_NS\_CopyWorkflow\_C\_TestData\_NS\_CopyWorkflow\_PoolC\_HT3MYBGX2\_nipt\_report\_YYYYMMDD\_HHMMSS.tab.
  - ▶ För NextSeqDx: TestData\_NDx\_CopyWorkflow\_C\_TestData\_NDx\_CopyWorkflow\_PoolC\_XXXXXXXXDX\_nipt\_report\_YYYYMMDD\_HHMMSS.tab.
 Den förväntade filstorleken är cirka 7 kB.

- 7 Flytta tillbaka testsekvenskörning till mappen TestingData (Testdata). Denna praxis bidrar till att hantera antalet gånger sekvenstestet utförs.



**OBS!**

Du kan ta bort äldre kopior av testfiler för att frigöra utrymme.

## Köra fullständig analys av testdata

Det här testet utför en fullständig analyskörning. Kör testet om servern misslyckas med att bearbeta/analysera data eller om tidsgränsen överskrids. Tidsåtgång: cirka 4–5 timmar.

### Förfarande

- 1 Öppna den monterade indatakatalogen och öppna sedan mappen TestingData (Testdata).
- 2 Döp om följande mapp genom att lägga till suffixet \_000: 180911\_NDX550152\_0014\_AXXXXXXDX\_FullRun.  
Suffixet skapar ett unikt namn för varje sekvenskörning. Om körningen redan har ett suffix ska namnet på mappen bytas genom att öka suffixets numeriska värde med ett.
- 3 Flytta mappen med det nya namnet till mappen Indata.
- 4 Det kan ta 4–5 timmar för analysen att slutföras. Kontrollera att följande e-postmeddelanden har tagits emot:
  - a Påbörjad sekvenskörningsanalys
  - b NIPT-rapport genererad för sekvenskörningHärled båda rapporterna till mappens sekvensnamn.
- 5 Öppna mappen TestData\_NDx\_FullRun i utdatamappen och kontrollera att följande rapport finns: TestData\_NDx\_FullRun\_C\_TestData\_NDx\_FullRun\_PoolC\_AXXXXXXDX\_nipt\_report\_YYYYMMDD\_HHMMSS.tab.  
Den förväntade filstorleken är cirka 7 kB.
- 6 Flytta tillbaka testsekvenskörning till mappen TestingData (Testdata).



## Bilaga D Ytterligare resurser

Följande dokument kan hämtas på Illuminas webbplats.

Resurs	Beskrivning
Bipacksedel för VeriSeq NIPT Solution v2 (dokumentnr 1000000078751)	Definierar produkten och dess avsedda användning. Innehåller även bruksanvisningar och felsökningsåtgärder.
<i>Användarhandbok för Microlab® STAR Line</i> , Hamilton-dokument-ID 624668	Innehåller drift- och underhållsinformation samt tekniska specifikationer för instrumentet Hamilton Mircolab STAR för automatisk hantering av vätskor.

Besök [supportsidorna](#) för VeriSeq NIPT Solution v2 på Illuminas webbplats för att få tillgång till dokumentation, programnedladdningar, onlineutbildning och vanliga frågor och svar.

# Bilaga E Akronymer

Akronym	Benämning
BCL	Base call-fil (Base Call File)
CE-IVD	CE-märkning för produkter för <i>in vitro</i> -diagnostik.
cfDNA	Cellfri DNA (Cell-Free DNA)
DNA	Deoxiribonukleinsyra (Deoxyribonucleic Acid)
DNS	Domännamnssystem (Domain Name System)
FASTQ	Textbaserat filformat för lagring av utsignalen från sekvenseringsinstrument.
FF	Fosterfraktion (Fetal Fraction)
FIFU	Först in, först ut
iFACT	Individuellt fosteraneuploiditest (Fetal Aneuploidy Confidence Test)
IP	IP-adress eller IP-nummer
LIMS	Hanteringssystem för laboratorieinformation (Laboratory Information Management System)
LIS	System för laboratorieinformation (Laboratory Information System)
LLR	Sannolikhetsförhållanden (Log Likelihood Ratios)
MAC	Medieaccessstyrning (Media Access Control)
NAS	Network-Attached Storage
NES	Ej uteslutna platser (Non Excluded Sites)
NGS	Nästa generations sekvensering (Next-Generation Sequencing)
NIPT	Icke-invasiv fosterdiagnostik (Non-Invasive Prenatal Testing)
NTC	Reagenskontroll utan mall (No Template Control)
NTP	Tidsprotokoll för nätverk (Network Time Protocol)
PF	Passerfilter (Passing Filter)
PQ	Processvalidering (Process Qualification)
QC	Kvalitetskontroll (Quality Control)
Regex	Reguljärt uttryck. En sekvens av tecken som kan användas av strängmatchande algoritmer för att validera data.
RTA	Realtidsanalys (Real-Time Analysis)
RUO	Endast för forskningsbruk (Research Use Only)
SCA	Aneuploidi av könskromosom (Sex Chromosome Aneuploidy)
SDS	Säkerhetsdatablad (Safety Data Sheet)
SHA1	Secure Hash Algorithm 1
SSL	Secure Sockets Layer

# Teknisk hjälp

Kontakta Illuminas tekniska support för all form av teknisk hjälp.

Webbplats: [www.illumina.com](http://www.illumina.com)  
E-post: [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

## Telefonnummer till Illuminas kundtjänst

Região	Número gratuito	Regional
América do Norte	+1.800.809.4566	
Alemanha	+49 8001014940	+49 8938035677
Austrália	+1.800.775.688	
Áustria	+43 800006249	+43 19286540
Bélgica	+32 80077160	+32 34002973
China	400.066.5835	
Dinamarca	+45 80820183	+45 89871156
Espanha	+34 911899417	+34 800300143
Finlândia	+358 800918363	+358 974790110
França	+33 805102193	+33 170770446
Hong Kong	800960230	
Irlanda	+353 1800936608	+353 016950506
Itália	+39 800985513	+39 236003759
Japão	0800,111.5011	
Noruega	+47 800 16836	+47 21939693
Nova Zelândia	0800,451.650	
Países Baixos	+31 8000222493	+31 207132960
Reino Unido	+44 8000126019	+44 2073057197
Singapura	+1.800.579.2745	
Suécia	+46 850619671	+46 200883979
Suíça	+41 565800000	+41 800200442
Taiwan	00806651752	
Outros países	+44 1799534000	

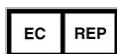
Säkerhetsdatablad (SDS) – Finns på Illuminas webbplats på [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

Produktdokumentation – Kan hämtas i PDF-format på Illuminas webbplats. Gå till [support.illumina.com](http://support.illumina.com), välj en produkt och klicka sedan på **Dokumentation och litteratur**.



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122 USA  
+1 800-8094566  
+1 858-2024566 (utanför Nordamerika)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com

CE  
2797



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

**Australiensisk sponsor**  
Illumina Australia Pty Ltd  
1 International Court  
Scoresby, Victoria, 3179  
Australien

**FÖR IN VITRO-DIAGNOSTISKT BRUK**

© 2019 Illumina, Inc. Med ensamrätt.

**illumina®**