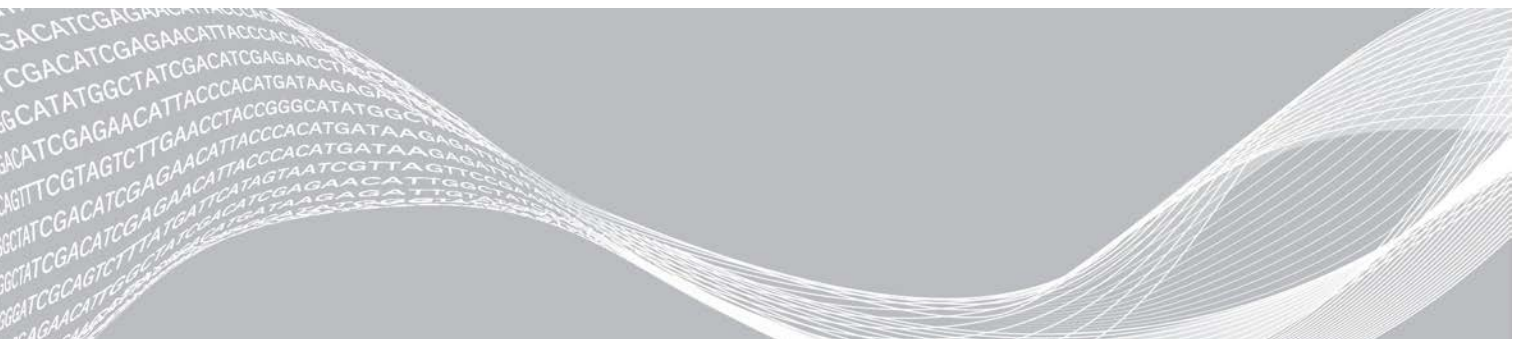


VeriSeq NIPT Solution v2

Příručka k softwaru



Používání tohoto produktu podléhá patentu, který vlastní nebo k němu má licenci společnost Illumina, Inc. Platba za tento produkt přenáší omezené, nepřenositelné právo na používání tohoto produktu v souladu s určeným používáním, podle dokumentace a jakýchkoli dalších přidružených podmínek. Ilustrativní, nevyčerpávající seznam takových patentů je umístěn na adrese www.illumina.com/patents. Výslovně, nepřímou nebo překážkou uplatnění nároku není uděleno žádné právo v rámci jakéhokoli jiného patentu.

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

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

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

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

© 2019 Illumina, Inc. Všechna práva vyhrazena.

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

Historie revizí

Dokument	Datum	Popis změny
Dokument č. 1000000067940 v02	Duben 2019	Přidány podrobnosti k výkazu NIPT a k doplňkovému výkazu, aby bylo dosaženo souladu se školicími materiály.
Dokument č. 1000000067940 v01	Únor 2019	Verze Příručky k softwaru VeriSeq NIPT Solution v2 pro potřebu zákazníka.
Dokument č. 1000000067940 v00	Listopad 2018	Původní verze určená pouze pro interní potřebu.

Obsah

Historie revizí	iii
Kapitola 1 VeriSeq NIPT Solution v2	1
Úvod	1
Architektura systému	2
Kapitola 2 VeriSeq NIPT Workflow Manager (Správce pracovního postupu)	4
Úvod	4
VeriSeq NIPT Method	4
VeriSeq NIPT Batch Manager	4
VeriSeq NIPT Services	10
Kapitola 3 Sekvencer nové generace	13
Úvod	13
Fond sekvencování	13
Integrace datového úložiště	13
Výkonnostní možnosti analýzy	14
Omezení síťového provozu	14
VeriSeq NIPT Local Run Manager	14
Kapitola 4 VeriSeq NIPT Assay Software v2	15
Úvod	15
Komponenty Assay Software	15
Webové uživatelské rozhraní	19
Analýza a vykazování	27
VeriSeq Onsite Server v2	30
Příloha A Metriky kontroly kvality	33
Metriky a meze kontroly kvality kvantitativního vyjádření	33
Metriky a meze kontroly kvality sekvencování	33
Příloha B Systémové výkazy	34
Úvod	34
Přehled systémových výkazů	35
Události vytváření výkazů	36
Výkazy výsledků a oznámení	38
Výkazy zpracování	50
Příloha C Řešení problémů	57
Úvod	57
Oznámení Assay Software	58
Problémy se systémem	65

Zkoušky zpracování dat	65
Příloha D Další zdroje	67
Příloha E Zkratky	68
Technická pomoc	69

Kapitola 1 VeriSeq NIPT Solution v2

Úvod	1
Architektura systému	2

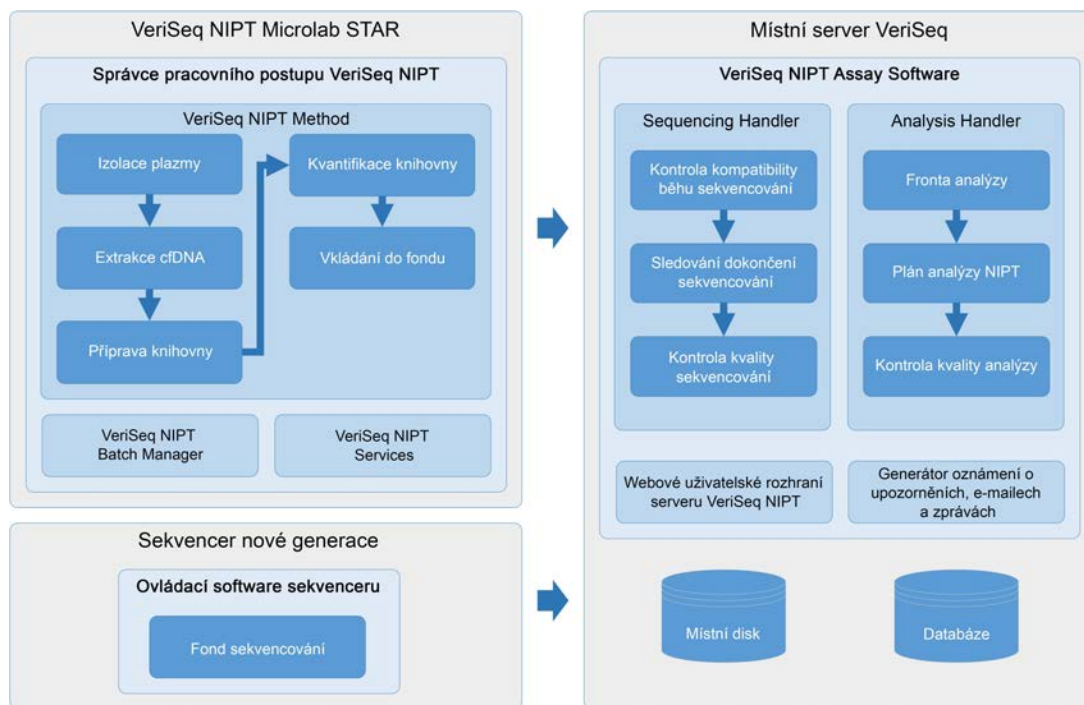
Úvod

VeriSeq NIPT Solution v2 je diagnostická zkouška *in vitro*, která je určena k sekvenčnímu vyšetření zjišťujícímu aneuploidie plodu ze vzorků periferní plné krve žen, které jsou alespoň 10 týdnů těhotné. Zkouška nabízí dva typy vyšetření: základní vyšetření a vyšetření celého genomu. Základní vyšetření poskytuje informace o stavu aneuploidie pouze u chromozomů 21, 18, 13, X a Y. Vyšetření celého genomu ukazuje částečné delece a duplikace u všech autozomů a stav aneuploidie u všech chromozomů. Oba typy vyšetření nabízejí možnost vyžádat si vykazání aneuploidie pohlavního chromozomu (SCA). Ať už se použije kterékoliv z obou vyšetření, nelze tento produkt používat jako jediné východisko pro stanovení diagnózy či jiných rozhodnutí o těhotenství.

Architektura systému VeriSeq NIPT Solution v2 obsahuje následující:

- ▶ **VeriSeq NIPT Microlab STAR (ML STAR)** – automatizovaný přístroj pro zpracování kapalin, který používá software VeriSeq NIPT Workflow Manager a sady VeriSeq NIPT pro přípravné zpracování vzorků za účelem přípravy a sledování vzorků knihovny. Zařízení ML STAR připraví vzorky určené k analýze pomocí softwaru VeriSeq NIPT Assay Software v2 v souladu s návodem k použití, který naleznete v *Příložené dokumentaci k produktu VeriSeq NIPT Solution v2 (dokument č. 1000000078751)*.
- ▶ **Sekvencer nové generace (NGS)** – přístroj pro sekvenování genomu, který umožňuje tvorbu klastrů a sekvenování přímo v přístroji. Řídicí software sekvenceru poskytuje kroky k nastavení běhu sekvenování a vytváří sekvenční čtení pro všechny vzorky v kvantifikovaném fondu knihovny.
- ▶ **VeriSeq Onsite Server v2** – místní server, kde probíhá hosting softwaru VeriSeq NIPT Assay Software v2 a uchovávání dat pro analýzu dat z paired-end sekvenování. Assay Software nepřetržitě sleduje a analyzuje data ze sekvenování a vytváří výsledky vzorků, výkazy zpracování a oznámení.

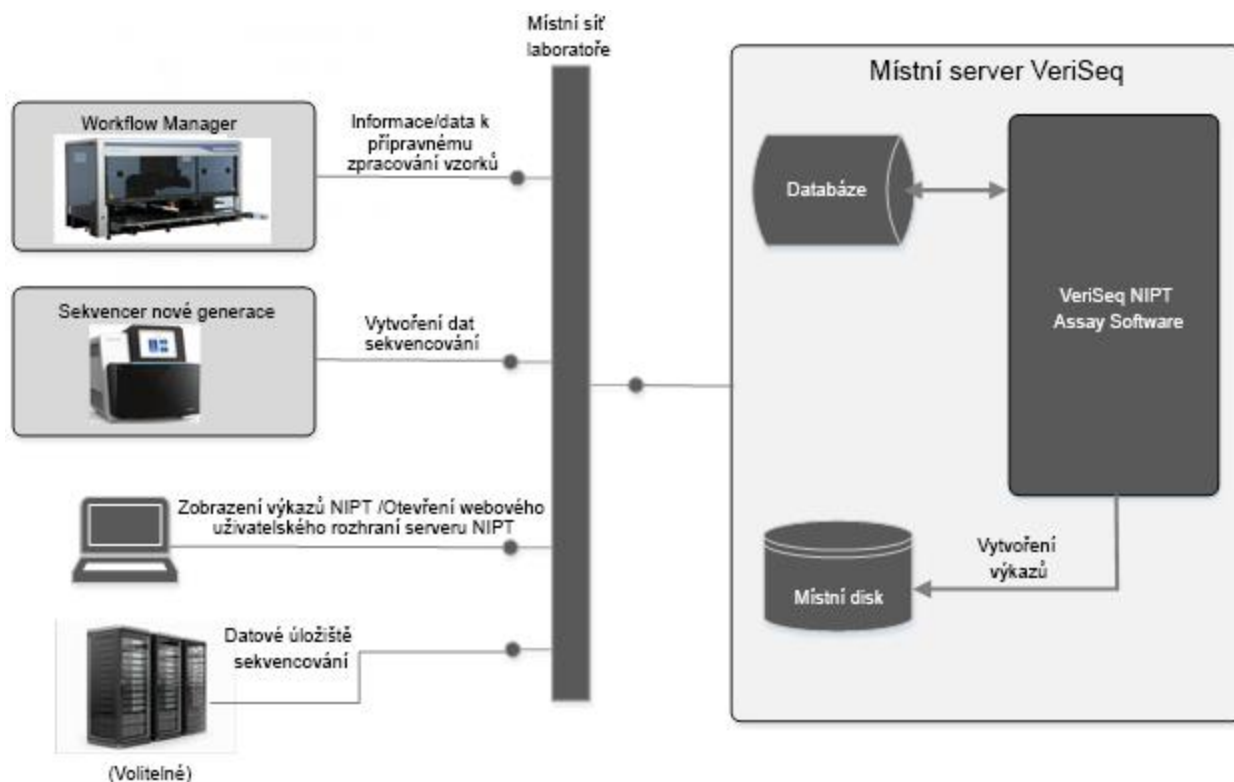
Obrázek 1 Komponenty VeriSeq NIPT Solution v2



Architektura systému

Software VeriSeq NIPT Solution v2 používá místní síť (LAN) laboratoře k propojení veškerého vybavení systému pomocí stejné podsítě. Použití sítě LAN nabízí flexibilní umístování vybavení a rozšiřitelný výkon pomocí připojení dalších sekvencerů nebo pracovních stanic ML STAR. [Obrázek 2](#) nabízí přehled.

Obrázek 2 Přehled produktu VeriSeq NIPT Solution v2



Kapitola 2 VeriSeq NIPT Workflow Manager (Správce pracovního postupu)

Úvod	4
VeriSeq NIPT Method	4
VeriSeq NIPT Batch Manager	4
VeriSeq NIPT Services	10

Úvod

Aplikace VeriSeq NIPT Workflow Manager je nainstalovaná na zařízení ML STAR a poskytuje jednoduché a intuitivní grafické uživatelské rozhraní pro automatizaci přípravy krevních vzorků v souladu s VeriSeq NIPT Solution v2. Workflow Manager zachovává datové připojení k místnímu serveru VeriSeq Onsite Server v2 za účelem zpracování a ukládání dat, sledování vzorků a prosazování logiky pracovního postupu.

Workflow Manager poskytuje přístup ke třem různým softwarovým modulům, označovaným též jako metody:

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

VeriSeq NIPT Method

Software VeriSeq NIPT Method (metoda) řídí automatizované zpracování vzorků v zařízení ML STAR. Metoda splní následující kroky zpracování:

- ▶ **Izolace plazmy** – přenese 1 ml izolované plazmy ze zkumavky s odebranou krví. Logika procesu vytvoří dávku pomocí Assay Software. Každá dávka obsahuje data vzorku, včetně čárového kódu vzorku, typu vzorku, typu vyšetření, pozice jamky a příznaku vykazování pohlaví.
- ▶ **Extrakce cfDNA** – vyčistí cfDNA z 900 µl plazmy.
- ▶ **Příprava knihovny** – vytvoří z vyčištěné cfDNA knihovny, které jsou připraveny na sekvencování. Knihovny obsahují jedinečné indexy pro každý vzorek v dávce.
- ▶ **Kvantifikace knihovny** – určuje koncentraci cfDNA pomocí vsunutí fluorescenčního barviva do struktury mikroděsky s 384 jamkami. Deska obsahuje označenou standardní křivku DNA a duplikáty každého vzorku v dávce. Systém používá nezpracované odečty fluorescence ze čtečky mikroděsky a vypočítává koncentrace vzorků na základě standardní křivky.
- ▶ **Slučování do fondu a normalizace** – kombinuje knihovny do jednotlivých fondů pro sekvenování. Systém používá v předchozím kroku stanovené koncentrace k výpočtu přiměřených objemů přenosu pro každý vzorek ve fondu, který je připravený na sekvenování.

VeriSeq NIPT Batch Manager

VeriSeq NIPT Batch Manager spravuje stav vzorků, dávek a fondů prostřednictvím uživatelského rozhraní. Systém umožňuje sledování vzorků v několika systémech pro zpracování kapalin a sekvencerech i prostřednictvím plánu analýzy. Další informace o postupech zpracování vzorků naleznete v části *Příložená dokumentace k produktu VeriSeq NIPT Solution v2 (dokument č. 1000000078751)*.

Vzorky můžete spravovat v rámci pracovního postupu prostřednictvím tří různých kategorií, které se označují jako objekty:

Objekt	Popis
Vzorek	Výsledek jednorázového odběru o objemu 1 ml z jedné zkumavky z krví. Vzorky jsou přidruženy k čárovému kódu zkumavky s krví (čárový kód vzorku) a dávky.
Dávka	Deska s 24, 48 nebo 96 vzorky zpracovávaná prostřednictvím extrakce cfDNA a procesu přípravy knihovny.
Fond	Normalizovaný a nařazený objem knihoven s dvojitým indexem, které jsou připravené pro sekvencer. Každý fond obsahuje až 48 vzorků.

Během zpracování lze na objekty použít následující akce:

Akce	Objekt	Vytvořený výkaz	Popis
Invalidation (Zneplatnění)	Vzorek	Sample Invalidation (Zneplatnění vzorku)	Vzorek, které uživatel označil jako již neplatný pro zpracování. V případě zneplatněných vzorků se nevytváří žádný výsledek zkoušky. Příklad: Viditelný přenos krevních buněk během izolace plazmy.
	Dávka	Batch Invalidation (Zneplatnění dávky)	Dávka, kterou uživatel označil jako již neplatnou. Pokud ke zneplatnění dávky dojde před vytvořením fondu, budou zneplatněny všechny vzorky. Příklad: Klesající nebo jinak nesprávně zpracovávaná deska.
	Fond	Pool Invalidation (Zneplatnění fondu)	Fond, který uživatel označil jako již neplatný. Po dvou zneplatněních fondu budou zneplatněny všechny vzorky ve fondu. Příklad: Celý objem fondu použitý během dvou chybných sekvenování.
QC Failure (Chyba kontroly kvality)	Vzorek	Sample Invalidation (Zneplatnění vzorku)	Software VeriSeq NIPT Solution v2 automaticky označil vzorek za neplatný kvůli chybě určené metriky kontroly kvality nebo kvůli systémem zjištěné chybě při zpracování kapaliny.
	Dávka	Batch Invalidation (Zneplatnění dávky)	Software VeriSeq NIPT Solution v2 automaticky označil celou dávku za neplatnou. Příklad: Chyba systému během zpracování kapaliny.
Cancelation (Zrušení)	Vzorek	Sample Cancelation (Zrušení vzorku)	Vedení laboratoře označilo vzorek jako zrušený. Výsledek zkoušky se nevytváří.
Edit Sample Attributes (Úprava atributů vzorku)	Vzorek	Sex Reporting (Vykazování pohlaví)	Vykazování pohlaví nastavené uživatelem na hodnotu Yes (Ano), No (Ne) nebo SCA (Pouze aneuploidie). Pokud je vykazování pohlaví zapnuto, je na základě vzorku vygenerováno pohlaví. Pokud je vykazování pohlaví vypnuto, pohlaví není určováno. Pokud je nastavena hodnota SCA (Pouze aneuploidie, jsou vykazovány pouze aneuploidie pohlavních chromozomů).
	Vzorek	Sample Type (Typ vzorku)	Typ vzorku označen uživatelem jako Singleton (Jedináček), Twin (Dvojče), Control (Kontrola), nebo No Template Control (NTC) (Žádná kontrola šablony). Výběr typu pohlaví vzorku přímo ovlivňuje analýzu zkoušky. Pro přesné výsledky zkoušky je třeba, aby byl typ vzorku nastaven přesně.
	Vzorek	Screen Type (Typ vyšetření)	Typ vyšetření označený uživatelem jako základní vyšetření (pouze chromozomy 21, 18, 13, X a Y), nebo vyšetření celého genomu (všechny chromozomy).

Po zneplatnění, chybě kontroly kvality nebo po zrušení akce se objekt dále nezpracovává. Laboratorní systémy správy informací (LIMS) mohou použít výkazy Sample Invalidation (Zneplatnění vzorku) k označení opakovaného zpracování vzorku ze zkumavky s odebranou krví.

Zadání seznamu vzorků

Vstupní seznam vzorků poskytuje informace o vzorku, které se týkají pacienta, a obsahují také typ vzorku a stav vykazování pohlavních chromozomů. Systém vyžaduje celou informaci o vzorku ještě před vytvořením sekvencovacích fondů.



UPOZORNĚNÍ

Aby se zabránilo vzniku chyb, nezahrnujte do seznamu vzorků žádné informace o vzorcích pro NCT. Zcela je vynechte a nezahrnujte pro ně řádky. Pro NTC systém používá čárové kódy, typ vyšetření, typ vzorku a vykazování pohlaví automaticky.

Vstupní seznam vzorků musí být textový soubor (*.txt) s hodnotami oddělenými tabulátory. Názvy sloupců záhlaví v daném souboru musejí odpovídat názvům sloupců záhlaví přesně podle následující tabulky.

Sloupec záhlaví	Typ dat	Požadavek	Popis
batch_name	Řetězec/prázdné	Povinné	Označuje název dávky ze vzorku. Musí odpovídat názvu dávky zadanému do metody volání (Workflow Manager), aby se potvrdilo, že vstupní seznam vzorků je přidružený ke správné dávce. Maximální počet znaků je 26. Sloupec může zůstat prázdný. POZNÁMKA: Seznamy vzorků bez sloupce batch_name nebudou přijaty.
sample_barcode	Řetězec	Povinné	Čárové kódy na zkumavkách se vzorky krve, které jsou vloženy do zařízení ML STAR Pokud je jako vzorový čárový kód použita celočíselná hodnota, neměla by její délka překročit 15 číslic. Maximální délka alfanumerického vzorového čárového kódu je 32 znaků. Použijte pouze čísla, písmena, spojovníky (-) a podtržítka (_).
sample_type	Řetězec	Povinné	Označuje typ vzorku pro analýzu. Povolené hodnoty jsou Singleton (Jedináček), Twin (Dvojče), Control (Kontrola) a NTC (NTC).
sex_chromosomes	Řetězec	Povinné	Označuje vykazování pohlavních chromozomů plodu. Povolené hodnoty jsou yes (ano) (vykazovat), no (ne) (nevykazovat) a sca (sca) (vykazovat pouze aneuploidii pohlavních chromozomů).
screen_type	Řetězec	Povinné	Určuje typ vyšetření pro analýzu. Povolené hodnoty jsou „basic“ (základní) a „genomewide“ (celý genom).

Vstupní seznam vzorků nahrávaný během izolace plazmy a vkládání do fondu můžete nahrát pomocí aplikace Batch Manager. Informace o vzorku se potvrzují během procesu odesílání vzorku. Vzorky odeslané během izolace plazmy mohou obsahovat úplný seznam vzorků nebo podskupinu vzorků. Během vkládání do fondu si systém vyžádá veškeré chybějící informace o vzorcích, které nebyly odeslány během izolace plazmy.

Uživatel má kontrolu nad vkládáním vzorků buď pro všechny vzorky v dávce (v případě dávek vytvořených zákaznickým systémem LIMS), nebo pro opakované zkoušky (kde zbývající otevřené pozice budou zaplněné dostupnými vzorky).

Vyberte mezi třemi způsoby použití seznamu vzorků:

- ▶ Předem definované dávky (dávky vytvořené systémem LIMS)
- ▶ Jednorázové dávkování (dávky vytvořené softwarem Workflow Manager)
- ▶ Hybridní dávkování (vyplněné prioritní vzorky systému LIMS)

Předem definované dávky – dávky vytvořené systémem LIMS

Dávky lze vytvořit pomocí systému LIMS zákazníka před zahájením zpracování vzorků. V předem definovaných dávkách jsou všechny vzorky již přiřazeny k dávce ještě před jejich vložením do zařízení ML STAR. Seznam vzorků odeslaný během izolace plazmy obsahuje každý vzorek v dávce spolu se všemi informacemi o vzorcích. Seznamy vzorků v případě dávek vytvořených systémem LIMS musejí obsahovat sloupec s ID dávky, aby se zajistilo, že na začátku zpracování byl do softwaru Workflow Manager ručně zadán správný název ID dávky.

Tento přístup má výhodu uzamčení konkrétních vložených vzorků, protože systém vyžaduje, aby všechny vzorky ze seznamu vzorků byly v dávce. Další informace nejsou vyžadovány a laboratoř může pokračovat k závěrečnému výkazu bez zadávání dalších dat.

- ▶ **Výhody** – umožňuje úplné řízení obsahu dávek. Brání vložení nežádoucích vzorků.
- ▶ **Nevýhody** – vyžaduje systém na vytváření dávek ze seznamu (pokročilý systém LIMS). Může od pracovníků laboratoře vyžadovat, aby získali správné vzorky ze skladu nebo může vyžadovat pokročilý systém pro uskladnění vzorků.

Jednorázové dávkování – vytvořené dávky

Dávky můžete vytvořit v laboratoři fyzickým shromážděním zkumavek se vzorky a jejich vložením do zařízení ML STAR v průběhu izolace plazmy. Předchozí přidružení vzorku k dávce není nutné, uživatel v laboratoři sám určí vzorky, které chce do dávky zahrnout.

Když je uživatel během izolace plazmy vyzván, vybere možnost **No Sample Sheet** (Žádný seznam vzorků). Software Workflow Manager přidruží vložené vzorky k ručně zadanému ID dávky a vytvoří výkaz zavedení dávky. Výkaz je možno odeslat do laboratorního systému LIMS, čímž se označí vytvoření dávky a zpřístupní se seznam přidružených vzorků.

- ▶ **Výhody** – nevyžaduje se systém LIMS a seznam vzorků. Uživatelé mohou výkaz zavedení dávky upravit informací o typu vzorku, typu vyšetření a vykazování pohlaví k nahrání během slučování do fondu. Je to flexibilní, kdykoli lze přidat libovolný vzorek.
- ▶ **Nevýhody** – neexistuje automatická kontrola vzorků, které jsou zahrnuté do dávky. Uživatel může vložit nechtěný vzorek. Vzorová data je nutné vložit během vkládání do fondu.

Hybridní dávkování – prioritní vzorky systému LIMS

Zákazníkům systém LIMS může dávku vytvořit s předem definovanou podskupinou vzorků. Zbývající vzorky v dávce vyplní Workflow Manager z vložených vzorků. V tomto případě uživatel během izolace plazmy odešle částečný seznam vzorků. Laboratořím opět doporučujeme vyplnit sloupec Batch ID (ID dávky), pokud chtějí předem definovat názvy dávek. Někdy se uživatel může rozhodnout odeslat prázdný seznam dávek, který obsahuje pouze název dávky, aby si překontroloval ručně zadaný název dávky. Tato strategie je užitečná při určování priorit cenných vzorků, například u opakovaných zkoušek, aby se zajistilo, že cenné vzorky budou zahrnuté do běhu. Rozhodnutí o tom, které vzorky budou do dávky zahrnuty, dělá z části systém LIMS a zčásti uživatel v laboratoři.

- ▶ **Výhody** – udržuje pružnost strategie jednorázového dávkování a současně zachovává možnost předepisovat název dávky a některé vzorky v dávce (tj. opakované zkoušky).

- ▶ **Nevýhody** – nepředepisuje vzorky plně a proto se může stát, že dojde ke vložení nežádoucího vzorku. Tato strategie stále vyžaduje informace o některých vzorcích během vkládání do fondu.

Úprava atributů vzorku

Kdykoli před spuštěním běhu sekvenování můžete pomocí aplikace VeriSeq NIPT Batch Manager změnit atributy vykazování pohlavních chromozomů, typu vyšetření a typu vzorku pro jednotlivé vzorky.

- 1 Otevřete aplikaci Batch Manager.
- 2 Zadejte Batch ID (ID dávky) a User Name (Uživatelské jméno) nebo iniciály obsluhy a vyberte **OK**.
- 3 Na diagramu desky dávky klikněte na pozici jamky přidružené k požadovanému vzorku.
- 4 Potvrďte, že je zobrazený správný vzorek, a poté vyberte požadovanou hodnotu atributu Sample Type (Typ vzorku) v příslušném rozevíracím seznamu.
- 5 V rozevíracím seznamu Sex Reporting (Vykazování pohlaví) vyberte hodnotu tohoto atributu.
- 6 V rozevíracím seznamu Screen Type (Typ vyšetření) vyberte hodnotu tohoto atributu.
- 7 Vyberte položku **Edit** (Upravit).

Zneplatnění vzorku, dávky a fondu

V závislosti na konkrétním kroku zpracování vzorků může uživatel zneplatnit jednotlivý vzorek, dávku nebo fond vzorků. Po zneplatnění se vzorek, dávka nebo fond již dále nezpracovávají.

Ke zneplatnění jednoho nebo několika vzorků použijte kdykoli před vytvořením výkazu o zkoušce buď aplikaci VeriSeq NIPT Method, nebo Batch Manager.

Zneplatnění vzorku pomocí aplikace VeriSeq NIPT Method

- 1 V průběhu zpracování vzorků, na konci jednotlivých procesů aplikace Workflow Manager, vyberte v okně Well Comments (Komentáře k jamce) jednotlivé jamky, které chcete označit za chybné, a klikněte na tlačítko **OK**.
- 2 V rozevíracích nabídkách vyberte nejméně jednu poznámku, nebo zaškrtněte políčko **Other** (Jiné) a zadejte komentář.
- 3 Zaškrtněte políčko **Fail Sample** (Chybný vzorek) a klikněte na tlačítko **OK**.
- 4 Potvrďte, že systém má vzorek považovat za chybový.

Zneplatnění pomocí aplikace Batch Manager

Aplikaci Batch Manager umožňuje zneplatnit následující:

- ▶ Vzorek.
- ▶ Dávka před dokončením kroku Pool (Fond).
- ▶ Fond vzorků po dokončení kroku Pool (Fond) a před vytvořením výkazu o zkoušce.



POZNÁMKA

Před spuštěním aplikace Batch Manager ukončete všechny aktuálně spuštěné metody.

Přístup k aplikaci Batch Manager

- 1 Pokud chcete spustit aplikaci Batch Manager, postupujte následovně:
 - ▶ V App Launcher (Spouštěč aplikace) vyberte **VeriSeq NIPT Batch Manager** (Správce dávek Veriseq NIPT).
 - ▶ Na počítači připojeném k síti přejděte na C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT a otevřete soubor metod aplikace Batch Manager (**VeriSeqNIPT_Batch_Manager.med**) s Hamilton Run Controller (Řadič běhu).

Sample Invalidation (Zneplatnění vzorku)

- 1 Otevřete aplikaci Batch Manager.
- 2 Zadejte Batch ID (ID dávky) a User Name (Uživatelské jméno) nebo iniciály obsluhy a vyberte **OK**.
- 3 Na diagramu desky dávky vyberte pozici jamky přidružené k chybnému vzorku.
- 4 Potvrďte, že se zobrazuje správný vzorek, a vyberte možnost **Invalidate Sample** (Zneplatnit vzorek).
- 5 Zadejte důvod chyby a vyberte možnost **Invalidate** (Zneplatnit).
Na diagramu desky dávky se barva zneplatněných vzorků změní ze zelené na červenou a stav dávky se změní z platné na neúspěšnou.

Batch Invalidation (Zneplatnění dávky)

- 1 Otevřete aplikaci Batch Manager.
- 2 Zadejte Batch ID (ID dávky) a User Name (Uživatelské jméno) nebo iniciály obsluhy a vyberte **OK**.
- 3 Na schématu desky dávky vyberte možnost **Invalidate Batch** (Zneplatnit dávku).
- 4 Zadejte důvod chyby a vyberte možnost **Invalidate** (Zneplatnit).
Pokud se v dávce nevyskytují žádné platné fondy, změní všechny vzorky v diagramu desky dávky barvu ze zelené na červenou. Platné fondy v dávce zůstanou v platnosti.

Pool Invalidation (Zneplatnění fondu)

- 1 Otevřete aplikaci Batch Manager.
- 2 Zadejte Batch ID (ID dávky) a User Name (Uživatelské jméno) nebo iniciály obsluhy a vyberte **Pool Manager** (Správce fondů).
- 3 Oskenujte čárový kód fondu.
- 4 Zadejte User Name (Uživatelské jméno) nebo iniciály obsluhy a vyberte **OK**.
- 5 Zadejte důvod chyby a vyberte možnost **Invalidate** (Zneplatnit).

Nahrání seznamu vzorků

Uživatel může pomocí aplikace Batch Manager nahrát seznam vzorků s informacemi o vzorcích. Pomocí této funkce mohou uživatelé například hromadně nahrát nebo změnit informace o velkých sadách vzorků.

- 1 Otevřete aplikaci Batch Manager.
- 2 Zadejte Batch ID (ID dávky) a User Name (Uživatelské jméno) nebo iniciály obsluhy a vyberte **OK**.
- 3 Vyberte příkaz **Upload New Sample Sheet** (Nahrát nový seznam vzorků).

- 4 Vyhledejte a vyberte požadovaný seznam vzorků a poté klikněte na tlačítko **OK**.

Sample Cancelation (Zrušení vzorku)

- 1 Otevřete aplikaci Batch Manager.
- 2 Zadejte Batch ID (ID dávky) a User Name (Uživatelské jméno) nebo iniciály obsluhy a vyberte **OK**.
- 3 Na diagramu desky dávky vyberte pozici jamky přidružené ke zrušenému vzorku.
- 4 Potvrďte, že se zobrazuje správný vzorek, a vyberte možnost **Cancel Sample** (Zrušit vzorek).
- 5 Zadejte důvod chyby a vyberte možnost **Cancel** (Zrušit).
Na diagramu desky dávky se barva zrušeného vzorku změní ze zelené na červenou.

VeriSeq NIPT Services

Software VeriSeq NIPT Services obsahuje několik nástrojů, které slouží ke konfiguraci a ověření zařízení ML STAR i softwaru Workflow Manager. Tyto nástroje nejsou pro běžný provoz systému povinné, ale mohou být požadovány technickou službou společnosti Illumina nebo Hamilton při řešení problémů se systémem. Tyto nástroje se používají také k úpravě parametrů systému kvůli kolísání hustoty klastru.

Spuštění softwaru VeriSeq NIPT Services



POZNÁMKA

Před spuštěním softwaru Services ukončete všechny spuštěné metody.

Pokud chcete spustit software VeriSeq NIPT Services, postupujte následovně:

- ▶ V App Launcher (Spouštěč aplikace) vyberte **VeriSeq NIPT Services**.
- ▶ V počítači připojeném k síti přejděte na C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT\ a otevřete složku metod VeriSeq NIPT Services (**VeriSeqNIPT_Service.med**) s with the Hamilton Run Controller (řadič běhu Hamilton).

Nástroje softwaru Services povolují dva typy zkoušek:

- ▶ **Individual Tests** (Jednotlivé zkoušky) – zkoušky součástí určené pro řešení problémů s hardwarem ML STAR.
- ▶ **Service Tools** (Nástroje služby) – nástroje používané ke konfiguraci softwaru Workflow Manager.

Jednotlivé zkoušky

Kvůli jednoduššímu řešení hardwarových problémů, ke kterým došlo v softwaru Workflow Manager, mohou být požadovány následující zkoušky systému.

Zkouška systému	Popis
Čárový kód/automatické vložení	Zkouší správnou konfiguraci systémové plošiny, funkce AutoLoader a funkčnost snímání čárového kódu.
CPAC	Zkouší funkčnost topných plošinových systémů CPAC. Kontroluje také správné zapojení elektroinstalace jednotlivých jednotek do řídicí skříně.

Zkouška systému	Popis
BVS Vacuum	Zkouší funkčnost základních vakuových systémů na plošině (BVS), aby se potvrdilo, že vakuum je v provozu a dokáže dosáhnout provozních tlaků.
Nezávislý kanál	Zkouší funkčnost nezávislých pipetovacích kanálů. Provádí zkoušky zadržování kapaliny, aby se zjistilo, zda pipetovací kanály nekapou a zda jsou dodávané objemy konzistentní.
iSwap	Zkouší funkčnost robotické paže iSwap a potvrzuje hrubé výukové pozice plošiny.
Špička 96	Zkouší funkčnost pipetovací špičky CO-RE 96. Provádí zkoušky zadržování kapaliny, aby se zjistilo, zda pipetovací kanály nekapou a zda jsou dodávané objemy konzistentní.

Postup provedení jednotlivých zkoušek:

- 1 Vyberte konkrétní zkoušku, kterou chcete provést.



POZNÁMKA

Možnost Full IOQ Execution (Provedení celé IOQ) postupně spustí všech šest zkoušek.

- 2 Postupujte podle pokynů na obrazovce, dělejte si poznámky z pozorování funkcí vybavení a zaznamenávejte veškeré vzniklé chyby.
- 3 Po skončení vyberte možnost **Abort** (Přerušit), čímž metodu opustíte.
- 4 Budete-li vyzváni, abyste poskytli systémové protokoly trasování vytvořené během zkoušky, tyto jsou dostupné na adrese C:\Program Files (x86)\HAMILTON\LogFiles a začínají VeriSeqNIPT_Services.

Service Tools (Nástroje služby)

Services Tools (Nástroje služby) umožňují konfiguraci softwaru Workflow Manager a některých parametrů rozboru.

Zkouška systému	Popis
Konfigurace serveru	Nakonfiguruje a vyzkouší propojení mezi softwarem VeriSeq NIPT Workflow Manager a Assay Software. Správná komunikace mezi těmito systémy je pro funkci softwaru Workflow Manager nutná.
Konfigurace rozboru	Slouží k resetování výchozí koncentrace knihovny.
Deck Teach Tool	Slouží k exportu a importu výukových pozic plošiny ze souboru.

Konfigurace serveru

Pokud se změní síťová adresa místního serveru VeriSeq Onsite Server v2, nasměrujte aplikaci Workflow Manager na tuto novou adresu.

- 1 V nabídce Services Tools (Nástroje služby) vyberte možnost **Server Configuration** (Konfigurace serveru).
- 2 Aktualizujte adresu URL novou adresou místního serveru.
- 3 Vyberte **Test Connection** (Zkouška spojení), abyste mohli odeslat zkušební zprávu. Pokud tato zpráva nedorazí, obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina.
- 4 Na obrazovce System Configuration (Konfigurace systému) vyberte **OK** a kliknutím na možnost **Apply** (Použít) uložte novou adresu.

Konfigurace rozboru

Koncentrace knihoven sekvenceru ve fondech sekvenceru lze upravit pomocí aplikace Workflow Manager podle principu run-by-run v průběhu procesu slučování do fondu (viz část *Přiložená dokumentace k produktu VeriSeq NIPT Solution v2 (dokument č. 1000000078751)*). Nástroj Assay Configuration (Konfigurace rozboru) lze použít i ke změně výchozí hodnoty této koncentrace.

Nástroj Assay Configuration (Konfigurace rozboru) můžete použít i pro změnu hodnot dalších parametrů. Parametr Default Sex Chromosome Reporting (Vykazovat pohlavní chromozomy ve výchozím nastavení) můžete nastavit na Yes (Ano), nebo No (Ne). Toto nastavení určuje, který atribut bude přiřazen ke vzorkům, pokud při přípravě vzorku stisknete tlačítko Use Default (Použít výchozí). Parametr Screen Type (Typ vyšetření) můžete nastavit na Basic (Základní), nebo Genomewide (Celý genom); tento parametr určuje typ vyšetření daného vzorku.

- 1 Vyberte možnost **Assay Configuration** (Konfigurace rozboru).
- 2 Upravte pole Target Library Concentration (pg/μl) (Cílová koncentrace knihovny (pg/μl)) na požadovanou hodnotu.
- 3 Upravte parametr Default Sex Chromosome Reporting (Vykazovat pohlavní chromozomy ve výchozím nastavení) na požadovanou hodnotu.
- 4 Upravte Screen Type (Typ vyšetření) na požadovanou hodnotu.
- 5 Vyberte **Apply** (Použít).

Deck Teach Tool

Během řešení problémů může vzniknout potřeba exportovat hodnoty naučených pozic. Pomocí nástroje Deck Teach Tool vytvoříte seznam pozic spolu s jejich hodnotami.

- 1 Vyberte možnost **Deck Teach Tool** (Nástroj Deck Teach Tool).
- 2 Vyberte **Export**.
- 3 Vyberte umístění pro výstup textového souboru, který obsahuje naučené pozice plošiny.
- 4 Vyberte **OK**.
Nástroj Deck Teach Tool uloží textový soubor s hodnotami všech naučených pozic laboratorního vybavení z instalace softwaru Workflow Manager.
- 5 Kliknutím na tlačítko **Cancel** (Zrušit) se vrátíte na obrazovku Method Selection (Výběr metody).

Kapitola 3 Sekvencer nové generace

Úvod	13
Fond sekvencování	13
Integrace datového úložiště	13
Výkonnostní možnosti analýzy	14
Omezení síťového provozu	14
VeriSeq NIPT Local Run Manager	14

Úvod

Systém sekvenování nové generace vytváří sekvenovací čtení pro všechny vzorky v kvantifikovaném fondu knihoven a prostřednictvím místního serveru se integruje s VeriSeq NIPT Solution v2. Data sekvenování vyhodnocuje aplikace Analysis Handler, který je součástí Assay Software.

Při integraci systému sekvenování nové generace s VeriSeq NIPT Solution v2 vezměte v úvahu následující body:

- ▶ Integrace datového úložiště.
- ▶ Výkonnostní možnosti analýzy.
- ▶ Omezení síťového provozu.

Fond sekvencování

Assay Software vyžaduje sekvencer nové generace, který dokáže vytvářet data sekvenování podle připraveného fondu knihoven v souladu s následujícími specifikacemi:

- ▶ Vytvoření párových čtení s 2 × 36 bázemi.
- ▶ Kompatibilita s indexovými adaptéry v sadě pro přípravné zpracování vzorků VeriSeq NIPT.
- ▶ Dvoukanálová SBS.
- ▶ Automatické vytváření souborů .BCL.

Integrace datového úložiště

Typický běh sekvenování pro VeriSeq NIPT Solution v2 vyžaduje 25–30 GB místa pro data systému sekvenování nové generace. Skutečná velikost dat se může lišit v závislosti na konečné hustotě klastru. Místní server poskytuje více než 7,5 TB úložného prostoru. Je to dostatek místa pro přibližně 300 běhů sekvenování ($7,500/25 = 300$).

Pro účely ukládání dat připojte systém sekvenování nové generace k místnímu serveru pro jednu z následujících metod:

- ▶ Použijte místní server jako úschovnu dat. Při této konfiguraci je sekvencer připojen přímo k serveru a udržuje data na místním disku.
- ▶ Pro laboratoř s vysokým výkonem použijte síťové úložiště (NAS). Nastavte systém sekvenování nové generace tak, aby udržoval data sekvenování přímo na určeném umístění v úložišti NAS. Při tomto nastavení nakonfigurujte místní server tak, aby sledoval určené umístění v úložišti NAS, které umožňuje serveru sledovat následující běhy sekvenování. Pokud chcete zvýšit výkonnostní možnosti vzorků, můžete přidat několik systémů sekvenování nové generace. Více informací o tom, jak připojit server k úložišti NAS naleznete v části *Správa sdílené síťové jednotky na straně 24*.

Další informace o tom, jak připojit systémy sekvenování nové generace k serveru nebo k úložišti NAS, naleznete v uživatelské příručce k systému.

Výkonnostní možnosti analýzy

Plán analýzy VeriSeq NIPT obvykle zpracovává běh sekvenování přibližně 5 hodin. Pokud zvětšujete výkonnostní možnosti laboratoře, vezměte v úvahu, že jeden server je schopen zpracovat maximálně 4 běhy za den, to znamená $48 \text{ vzorků} \times 4 = 192 \text{ vzorků}$ za den. V případě zájmu o další řešení výkonnostních možností se obraťte na podporu společnosti Illumina.

Omezení síťového provozu

VeriSeq NIPT Solution v2 využívá místní síť (LAN) laboratoře pro přenos dat mezi systémem sekvenování nové generace, místním serverem a úložištěm NAS (pokud je nakonfigurováno). Při zvyšování propustnosti pro přenos dat vzorků mějte na paměti následující omezení kladená na provoz infrastruktury IT:

- ▶ Průměrný přenos dat přibližně 25 GB vytvořený za více než 10 hodin znamená přibližně 0,7 MB/s na sekvencer.
- ▶ Infrastruktura laboratoře může umožňovat použití jiných zdrojů síťového provozu, které je třeba vzít v úvahu.

VeriSeq NIPT Local Run Manager

Používáte-li systém sekvenování nové generace vybavený modulem VeriSeq NIPT Local Run Manager (LRM), připravte se k sekvenaci následujícím způsobem:

- 1 V modulu Local Run Manager vyberte **Create Run** (Vytvořit běh).
- 2 V rozebírací nabídce vyberte **VeriSeq NIPT**.
- 3 Vyplňte následující pole.
 - ▶ Run Name (Název běhu)
 - ▶ Run Description (Popis běhu) - volitelné
 - ▶ Pool Barcode (Čárový kód fondu)



UPOZORNĚNÍ

Čárový kód fondu zadaný v modulu LRM musí odpovídat čárovému kódu fondu zadanému v aplikaci Workflow Manager. Nesprávné konfigurace běhu jsou v Assay Software zamítnuty a mohou vyžadovat opětovné sekvenování.

- 4 Vyberte **Save Run** (Uložit běh).

Až budete mít nastavení běhu hotové, můžete běh spustit pomocí softwaru přístroje.

Kapitola 4 VeriSeq NIPT Assay Software v2

Úvod	15
Komponenty Assay Software	15
Webové uživatelské rozhraní	19
Analýza a vykazování	27
VeriSeq Onsite Server v2	30

Úvod

VeriSeq NIPT Assay Software v2 vytváří statistiku, jejímž cílem je vyhodnotit počet kopií chromozomu v testovaných vzorcích, a poskytuje stanovení aneuploidie na chromozomech vybraných k analýze. Výběr chromozomů k analýze závisí na typu vyšetření, které zvolíte: základní vyšetření (chromozomy 21, 18, 13, X a Y), nebo vyšetření celého genomu (všechny chromozomy). Vyberete-li si vyšetření celého genomu, software provádí též zkoušku na přítomnost subchromozomálních oblastí přírůstků nebo ztrát počtu kopií v autozomu. Nástroj pro sekvenování nové generace vytváří vstup pro analýzu v podobě čtení paired-end sekvenování s 36 bázemi.

VeriSeq NIPT Assay Software v2 je funkční na místním serveru VeriSeq Onsite Server v2. Místní server je ústřední součástí softwaru VeriSeq NIPT Solution v2 a funguje jako propojovací bod mezi aplikací VeriSeq NIPT Workflow Manager, systémem sekvenování nové generace a uživatelem.

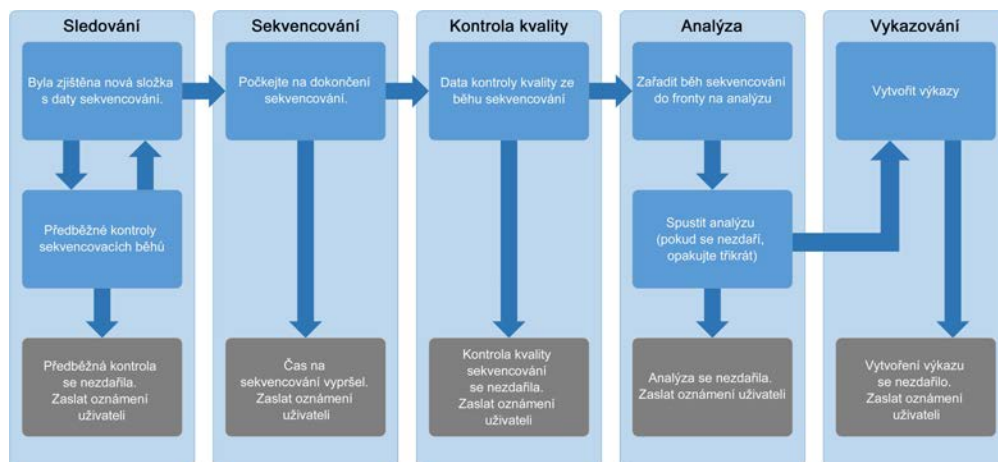
Assay Software seřadí čtení podle referenčního lidského genomu a provede analýzu čtení, která se uspořádají na jedinečném místě nebo prostoru v genomu. Assay Software vyloučí duplicitní čtení a místa, která jsou spojena s vysokým kolísáním v pokrytí euploidních vzorků. Data sekvenování se normalizují z hlediska obsahu nukleotidů a také za účelem korekce na vliv dávky a dalších zdrojů nežádoucí proměnlivosti. Informace o délce fragmentu cfDNA se odvozuje ze čtení paired-end sekvenování. Assay Software také posuzuje statistiku pokrytí oblastí sekvenování, o kterých víme, že jsou obohacené fetální nebo mateřskou cfDNA. Data získaná z délky fragmentu a analýzy pokrytí slouží k odhadu fetální frakce (FF) v každém vzorku.

U každého typu vyšetření vybraného pro daný vzorek z nabídky zkoušek Assay Software vykáže, zda byla zjištěna anomálie, nebo nikoliv. V případě základního vyšetření jsou všechny anomálie aneuploidie. V případě vyšetření celého genomu může být anomálie aneuploidie nebo částečná delece či duplikace.

Komponenty Assay Software

Assay Software nepřetržitě běží a sleduje nová data sekvencování, když jsou na místním serveru přidávána do složky Input (Vstup). Po identifikaci nového běhu sekvencování se spustí následující tok.

Obrázek 3 Schéma toku dat



- Monitoring (Sledování)** – předběžně kontroluje platnost nového běhu sekvencování. Kontroly platnosti zahrnují kontroly kompatibility parametrů běhu (zda hodnoty odpovídají očekávaným hodnotám) a přidružení průtokové křivky ke známé existující zkumavce fondu a zajišťuje, aby se neopakovala vykazování výsledků stejných vzorků ve fondu (opakovaný běh). V případě neúspěchu některé z těchto kontrol dostane uživatel oznámení e-mailovým oznamovacím systémem a v protokolu Alerts (Výstrahy) ve webovém uživatelském rozhraní.
- Sequencing (Sekvencování)** – nepřetržitě sleduje dokončování běhu sekvencování. Nastavený časovač určuje prodlevu pro dokončení běhu. Pokud prodleva vyprší, uživatel dostane oznámení e-mailovým oznamovacím systémem a prostřednictvím protokolu Alerts (Výstrahy) na webovém uživatelském rozhraní.
- QC (Kontrola kvality)** – kontroluje soubory InterOp QC, které vytvořil sekvencer. Assay Software kontroluje celkový počet klastrů, hustotu klastrů a kvalitu skóre čtení. V případě nesplnění kritérií kontroly kvality dostane uživatel oznámení e-mailovým oznamovacím systémem a v protokolu Alerts (Výstrahy) ve webovém uživatelském rozhraní.
- Analysis (Analýza)** – spravuje frontu analýzy několika běhů sekvencování, které vytvořily různé nástroje nakonfigurované serverem. Server zpracovává úlohy po jedné v pořadí, ve kterém dorazí (princip FIFO). Po úspěšném dokončení jedné analýzy se spustí další naplánovaná analýza z fronty. Pokud běh analýzy selže nebo vyprší jeho časový limit, Assay Software analýzu automaticky znovu spustí (až třikrát). Po každé chybě dostane uživatel oznámení e-mailovým oznamovacím systémem a v protokolu Alerts (Výstrahy) ve webovém uživatelském rozhraní.
- Reporting (Vykazování)** – po dokončení analýzy vytvoří výkaz, který obsahuje konečné výsledky. Pokud dojde k chybě a výkaz se nevytvoří, uživatel dostane oznámení e-mailovým oznamovacím systémem a v protokolu Alerts (Výstrahy) ve webovém uživatelském rozhraní.

Úkoly Assay Software

Assay Software vykonává jak automatizované úkoly, tak úkoly spuštěné uživatelem.

Automatizované úkoly

Assay Software vykonává následující automatizované úkoly:

- ▶ **Shromažďování a ukládání protokolu o přípravě vzorku** – na konci každého kroku vytváří skupinu výstupních souborů a ukládá je do složky ProcessLog (Protokol zpracování), která se nachází ve složce Output (Výstup). Přehled naleznete v kapitole *Struktura souboru výkazů na straně 34* a podrobnosti v kapitole *Výkazy zpracování na straně 50*.
- ▶ **Vytvoření oznámení o upozorněních, e-mailech a zprávách** – sleduje stav platnosti dávky, fondu a vzorku během kroků přípravy vzorku a kontroluje kvalitu dat sekvencování a výsledků analýzy každého vzorku. Na základě těchto kontrol platnosti určí Assay Software, zda se má v procesu pokračovat a zda mají být výsledky vykázány. Assay Software ukončí proces, pokud dojde ke zneplatnění dávky nebo fondu na základě výsledků kontroly kvality. Uživateli je odesláno upozornění e-mailem, vytvoří se zpráva a do webového uživatelského rozhraní se zaznamená výstraha.
- ▶ **Analýza dat sekvenování** – analyzuje nezpracovaná data sekvenování pro každý multiplexovaný vzorek ve fondu pomocí integrovaného NIPT Analysis Software. Assay Software zjistí výsledky aneuploidie v jednotlivých vzorcích. Systém nehlásí výsledky vzorků, které byly uživatelem zneplatněny nebo zrušeny. U vzorků, které nesplňují kritéria kontroly kvality, je poskytnuto výslovné zdůvodnění, avšak výsledky takových vzorků nejsou brány v potaz. Další informace naleznete v části *Výkaz NIPT na straně 38*.
- ▶ **Vytvoření souboru s výsledky** – poskytuje výsledky vzorku v souboru s hodnotami oddělenými tabelátorem, který je uložen do složky Output (Výstup). Další informace naleznete v části *Výkaz NIPT na straně 38*.
- ▶ **Vytváření výkazů** – Assay Software vytváří doplňkové informace o výsledcích, oznámení a výkazy zpracování. Další informace naleznete v části *Systémové výkazy na straně 34*.
- ▶ **Zneplatnění vzorku, fondu a dávky** –
 - ▶ **Zneplatnění vzorku** – Assay Software označí jednotlivé vzorky za neplatné, pokud uživatel:
 - ▶ Přímo zneplatní vzorek.
 - ▶ Zneplatní celou desku při přípravě knihovny, než jsou vytvořeny fondy.
 Je-li vzorek označen jako neplatný, automaticky se vygeneruje Sample Invalidation Report (Výkaz zneplatnění vzorku), viz kapitola *Výkaz zneplatnění vzorku na straně 49*.
 - ▶ **Vytvoření výkazu o zneplatnění fondu a dávky** – fondy a dávky může zneplatnit pouze uživatel. Zneplatněné fondy nejsou systémem zpracovány. Fondy, které již byly vytvořeny z neplatné dávky, nejsou automaticky zneplatněny a mohou být systémem dále zpracovány. Nové fondy však nemohou být vytvořeny ze zneplatněných dávek. Pokud je fond zneplatněn a jsou splněny následující podmínky, systém vydá Pool Retest Request Report (Výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu):
 - ▶ Dávka je platná.
 - ▶ Pro tuto dávku již nejsou k dispozici další fondy.
 - ▶ Počet povolených fondů z dávky nebyl vyčerpán.
 Více informací naleznete v kapitole *Výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu na straně 49*.

- ▶ **Řízení opakované zkoušky** –
 - ▶ **Chyby fondů** – chybné fondy jsou obvykle fondy, které neprošli sekvencovací metrikou kontroly kvality. Assay Software nepokračuje ve zpracování chybných fondů, pokud je běh dokončen. Opětovné sekvencování s použitím dělitelného podílu druhého fondu.
 - ▶ **Chyby vzorku** – v případě potřeby software umožňuje opakované zkoušky chybových vzorků. Chybové vzorky musejí být zahrnuty do nové dávky a znovu zpracovány procesem rozboru.
 - ▶ **Opakování** – systém opětovně neanalyzuje fondy se vzorky, které již byly úspěšně zpracovány a vykázány. Opakování zpracování vzorku může být skutečně umístěním do nové dávky.

Uživatelské úkoly

VeriSeq NIPT Solution v2 umožňuje uživatelům provádět následující úkoly:

Pomocí softwaru Workflow Manager:

- ▶ Označit jednotlivé vzorky, všechny vzorky v dávce nebo všechny vzorky přidružené k fondu jako neplatné.
- ▶ Označit daný vzorek jako zrušený. V konečném výkazu výsledků potom Assay Software výsledky označí jako zrušené.

Používání Assay Software:

- ▶ Nakonfigurujte software, který budete instalovat a začleňovat do infrastruktury laboratorní sítě.
- ▶ Změňte nastavení konfigurace, například nastavení sítě, umístění sdílených složek nebo řízení uživatelských účtů.
- ▶ Zobrazte stav systému a dávek, výkazy zpracování výsledků a dávek, protokoly činnosti a auditu a výsledky rozboru.



POZNÁMKA

Uživatelé mohou různé úkoly provádět na základě oprávnění, která mají. Další informace naleznete v části [Přirazení uživatelských rolí na straně 23](#).

Sequencing Handler

Assay Software používá Sequencing Handler ke správě běhů sekvencování vytvořených sekvencovacími nástroji. Program identifikuje nové běhy sekvencování, ověřuje parametry běhů a uvádí do souladu čárový kód fondu se známým fondem, který byl vytvořen v průběhu procesu přípravy knihovny. Pokud přidružení nelze provést, uživatel obdrží oznámení a zpracování běhu sekvencování se zastaví.

Po úspěšném dokončení ověření Assay Software pokračuje ve sledování dokončování běhů sekvencování. Dokončené běhy sekvencování jsou řazeny do fronty ke zpracování pomocí programu Analytic Pipeline Handler (viz [Analytic Pipeline Handler na straně 19](#)).

Kompatibilita běhu sekvencování

Server analyzuje pouze běhy sekvencování, které jsou kompatibilní s analytickým pracovním postupem cfDNA.

K vytvoření volání báze používejte pouze kompatibilní metody sekvencování a verze softwaru.



POZNÁMKA

Pravidelně sledujte metriky výkonu dat sekvencování, abyste kvalitu dat udrželi v rámci specifikace.

Modul VeriSeq NIPT Local Run Manager konfiguruje sekvenování pomocí následujících parametrů čtení:

- ▶ Běh paired-end sekvenování se čteními v cyklu 2 × 36.
- ▶ Dvojitě indexování s osmicyklovými čteními indexu.

Analytic Pipeline Handler

Program Analytic Pipeline Handler spustí plán analýzy za účelem zjištění aneuploidie. Plán zpracovává běhy sekvenování po jednom s průměrným trváním méně než 5 hodin na fond. Pokud analýza fond nezpracuje nebo nedokončí analýzu kvůli výpadku energie nebo prodlevě, Analytic Pipeline Handler automaticky běh znovu zařadí. Pokud se zpracování fondu nezdaří třikrát po sobě, je běh označen jako chybný a uživateli je zasláno oznámení.

Úspěšná analýza běhu spustí vytvoření výkazu NIPT. Další informace naleznete v části [Výkaz NIPT na straně 38](#).

Prodleva pracovního postupu a požadavky na úložiště

Analytický pracovní postup cfDNA podléhá následujícím časovým omezením a omezením úložiště.

Parametr	Výchozí hodnota
Maximum Sequencing Time (Maximální doba sekvenování)	20 hodin
Maximum Analysis Time (Maximální doba analyzování)	10 hodin
Minimum Scratch Space Storage (Minimální pomocné místo úložiště)	900 GB

Webové uživatelské rozhraní

Assay Software hostuje místní webové uživatelské rozhraní, které umožňuje snadný přístup k místnímu serveru z libovolného místa v síti. Webové uživatelské rozhraní poskytuje následující funkce:

- ▶ **View recent activities** (Zobrazit poslední činnosti) – uvádí kroky, které byly dokončené během provádění rozboru. Uživatel obdrží výstrahy k mnohým z těchto činností prostřednictvím e-mailového oznamovacího systému. Další informace naleznete v části [Oznámení Assay Software na straně 58](#).
- ▶ **View errors and alerts** (Zobrazit chyby a výstrahy) – uvádí problémy, které by mohly narušit další pokračování rozboru. Chybové zprávy a výstrahy se uživateli odesílají prostřednictvím e-mailového oznamovacího systému. Další informace naleznete v části [Oznámení Assay Software na straně 58](#).
- ▶ **Configure the server network settings** (Konfigurovat nastavení serverové sítě) – pracovníci společnosti Illumina síť obvykle konfigurují během instalace systému. Pokud místní síť vyžaduje změny v IT, může být potřeba provést úpravy. Další informace naleznete v části [Změna nastavení sítě a serveru na straně 26](#).
- ▶ **Manage server access** (Spravovat přístup k serveru) – místní server umožňuje přístup na úrovni správců a obsluhy. Tyto úrovně přístupu řídí zobrazování činností, výstrah a chybových protokolů a změny nastavení sítě a mapování dat. Další informace naleznete v části [Správa uživatelů na straně 23](#).
- ▶ **Configure sequencing data folder** (Konfigurovat složku dat sekvenování) – ve výchozím nastavení server ukládá data sekvenování. K rozšíření úložné kapacity je však možné přidat centrální úložiště NAS. Další informace naleznete v části [Mapování serverových jednotek na straně 31](#).
- ▶ **Configure email notification subscribers list** (Konfigurovat seznam příjemců e-mailových oznámení) – spravuje seznam příjemců, kteří dostávají e-mailová oznámení s chybovými zprávami a výstrahami ke zpracování rozboru. Další informace naleznete v části [Konfigurace e-mailových oznámení systému na straně 27](#).


- ▶ **Reboot or shutdown the server** (Restartovat nebo vypnout server) – v případě potřeby restartuje nebo vypne server. Restartování nebo vypnutí může být nutné v případě, kdy to vyžaduje konfigurační nastavení nebo když se použije jako opravný prostředek při chybě serveru. Další informace naleznete v části *Restart serveru na straně 31* a *Vypnutí serveru na straně 32*.

Licenční smlouva s koncovým uživatelem

Při prvním přihlášení do webového uživatelského rozhraní budete požádáni o přijetí licenční smlouvy s koncovým uživatelem (EULA). Výběrem položky **Download EULA** (Stáhnout smlouvu EULA) si můžete licenční smlouvu stáhnout do počítače. Software vyžaduje, abyste před pokračováním práce ve webovém uživatelském rozhraní přijali smlouvu EULA.

Po přijetí smlouvy EULA se můžete vrátit na stránku smlouvy EULA a v případě potřeby si můžete tento dokument stáhnout.

Konfigurace webového uživatelského rozhraní

Vyberte ikonu Settings (Nastavení) , zobrazí se rozevírací seznam s nastavením konfigurace. V závislosti na uživatelské roli a přidružených povoleních se zobrazí nastavení. Další informace naleznete v části *Přřazení uživatelských rolí na straně 23*.



POZNÁMKA

Technik nemá přístup k žádné z těchto funkcí.

Nastavení	Popis
User Management (Správa uživatelů)	Přidat, aktivovat/deaktivovat a upravit pověření uživatele. Pouze servisní technici a administrátoři.
Email Configuration (Nastavení e-mailu)	Upravit seznam odběratelů e-mailových oznámení.
Change Shared Folder Password (Změnit heslo sdílené složky)	Změňte heslo sbsuser pro přístup ke sdíleným složkám místního serveru.
Reboot Server (Restartovat server)	Pouze servisní technici a administrátoři.
Shut Down Server (Vypnout server)	Pouze servisní technici a administrátoři.

Přihlášení do webového uživatelského rozhraní

Postup získání přístupu k rozhraní softwaru Assay Software a přihlášení:

- 1 V počítači připojeném ke stejné síti jako místní server otevřete jeden z následujících webových prohlížečů:
 - ▶ Chrome verze 69 nebo novější
 - ▶ Firefox verze 62 nebo novější
 - ▶ Internet Explorer verze 11 nebo novější
- 2 Zadejte adresu IP nebo název serveru poskytnutý společností Illumina během instalace, odpovídající zápisu \\<IP adresa VeriSeq Onsite Server v2>\login.
Příklad: \\10.10.10.10\login.
- 3 Pokud se zobrazí varování zabezpečení prohlížeče, přidejte výjimku zabezpečení, abyste mohli pokračovat na přihlašovací obrazovku.

- 4 Na přihlašovací obrazovce zadejte uživatelské jméno a heslo (rozlišují se malá a velká písmena) poskytnuté společností Illumina a vyberte **Log In** (Přihlásit).



POZNÁMKA

Po 10 minutách nečinnosti Assay Software automaticky odhlásí aktuálního uživatele.

Použití ovládacího panelu

Ovládací panel softwaru VeriSeq NIPT Assay Software v2 se zobrazí po přihlášení a představuje hlavní okno navigace. K ovládacímu panelu se můžete kdykoli vrátit, stačí v nabídce vybrat možnost **Dashboard** (Ovládací panel).

Ovládací panel vždy zobrazuje posledních 50 protokolovaných činností (pokud jich bylo méně než 50, zobrazí pouze činnosti, které byly zaprotokolovány). Můžete vyvolat i 50 předchozích činností a procházet historii činností. Stačí vybrat možnost **Previous** (Předchozí) v pravém dolním rohu tabulky činností.

Obrázek 4 Ovládací panel VeriSeq NIPT Assay Software

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

Zobrazení posledních činností

Karta Recent Activities (Poslední činnosti) obsahuje stručný popis posledních činností Assay Software a místního serveru.

Název	Popis
When (Kdy)	Activity date and time (Datum a čas činnosti)
User (Uživatel)	Pokud se používá, označuje uživatele, který činnost provedl.
Subsystem (Subsystém)	Entita nebo proces, který danou činnost provedl, například uživatel, rozbor nebo konfigurace
Details (Podrobnosti)	Popis činnosti

Název	Popis
Level (Úroveň)	Úroveň přiřazená dané činnosti. Na výběr jsou následující možnosti: <ul style="list-style-type: none"> • Activity (Činnost) – označuje činnost na serveru, například restartování systému nebo přihlášení či odhlášení uživatele. • Notice (Upozornění) – označuje neúspěšně provedený krok. Může se jednat například o zneplatnění vzorku nebo chybu kontroly kvality. • Warning (Varování) – označuje, že během normálního provádění a při správné funkci hardwaru došlo k chybě. Může se jednat například o neznámé parametry běhu nebo o chybnou analýzu.

Zobrazení posledních chyb

Karta Recent Errors (Poslední chyby) obsahuje stručný popis posledních chyb softwaru a serveru.

Název	Popis
When (Kdy)	Activity date and time (Datum a čas činnosti)
User (Uživatel)	Pokud se používá, označuje uživatele, který činnost provedl.
Subsystem (Subsystém)	Entita nebo proces, který danou činnost provedl, například uživatel, rozbor nebo konfigurace
Details (Podrobnosti)	Popis činnosti
Level (Úroveň)	Úroveň přiřazená dané činnosti. Na výběr jsou následující možnosti: <ul style="list-style-type: none"> • Urgent (Naléhavé) – závažná chyba hardwaru, která ohrožuje provoz systému. obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina. • Alert (Výstraha) – chyba během normálního provozu. Může se jednat o poškození disku, problém s volným místem nebo konfigurací, které brání vytváření výkazů nebo e-mailových oznámení. • Error (Chyba) – chyba systému nebo serveru během normálního provozu. Může se jednat o problém s konfiguračním souborem nebo o selhání hardwaru.

Zobrazení stavu systému a výstrah

Pokud chcete zobrazit přehled stavů serveru, klikněte na ovládacím panelu na kartu **Server Status** (Stav serveru).

V přehledu se zobrazí následující informace:

- ▶ **Date** (Datum) – aktuální datum a čas.
- ▶ **Time zone** (Časové pásmo) – časové pásmo nakonfigurované na serveru. Používá se pro datum a čas e-mailů, výstrah a výkazů.
- ▶ **Hostname** (Název hostitele) – název systému se skládá z názvu síťového hostitele a z názvu domény DNS.
- ▶ **Disk space usage** (Využití místa na disku) – procento aktuálně využitého místa na disku, které slouží k ukládání dat.
- ▶ **Software** – předepsaná konfigurace softwaru (například CE-IVD).
- ▶ **Version** (Verze) – verze VeriSeq NIPT Assay Software v2

V přehledu se může zobrazit i tlačítko **Server alarm** (Alarm serveru), kterým se vypíná zvukový signál alarmu řadiče RAID. Toto tlačítko se zobrazuje pouze správcům. Po použití tohoto tlačítka se obraťte na technickou podporu společnosti Illumina a požádejte o další pomoc.

Správa uživatelů



POZNÁMKA

Povolení přidávat, upravovat nebo odstraňovat povolení techniků a dalších uživatelů na jejich úrovni mají pouze servisní technici a správci.

Přiřazení uživatelských rolí

Uživatelské role vymezují přístup uživatel a jejich práva vykonávat určité úkoly.

Role	Popis
Služba	Terénní servisní technik společnosti Illumina, který provádí instalaci a nastavení systému (včetně vytvoření správce). Řeší rovněž problémy, provádí opravy serveru, nastavuje a mění konfiguraci a provádí nepřetržitou softwarovou podporu.
Správce	Laboratorní správce, který nastavuje a udržuje konfiguraci, spravuje uživatele, zadává seznam e-mailových odběratelů, mění heslo sdílené složky a restartuje a vypíná server.
Technik	Laboratorní technik, který dohlíží na stav a výstrahy systému.

Přidávání uživatelů

Při úvodní instalaci přidá terénní servisní technik společnosti Illumina do systému správce.

Chcete-li přidat uživatele:

- 1 Na obrazovce User Management (Správa uživatelů) vyberte položku **Add New User** (Přidat nového uživatele).



POZNÁMKA

Všechna pole musí být vyplněna.

- 2 Zadejte uživatelské jméno.



POZNÁMKA

Při výběru přijatelných znaků pro uživatelské jméno se nerozlišují malá a velká písmena, uživatelské jméno může obsahovat pouze alfanumerické znaky (např. a-z a 0-9), „_“ (podtržítka) a „-“ (pomlčka). Uživatelská jména musejí mít délku 4 až 20 znaků a musejí obsahovat minimálně jednu číslici. První znak uživatelského jména nesmí být číslice.

Assay Software používá uživatelské jméno pro identifikaci osob podílejících se na různých aspektech zpracování rozboru a na interakcích s Assay Software.

- 3 Zadejte celé jméno uživatele. Celé jméno se zobrazuje pouze v uživatelském profilu.
- 4 Zadejte a potvrďte heslo.



POZNÁMKA

Hesla musejí mít délku 8 až 20 znaků a musejí obsahovat minimálně jedno velké písmeno, jedno malé písmeno a jednu číslici.

- 5 Zadejte e-mailovou adresu uživatele.
Pro každého uživatele je nutná jedinečná e-mailová adresa.
- 6 Vyberte požadovanou uživatelskou roli z rozbalovacího seznamu.

- 7 Okamžitou aktivaci uživatele proveďte vybráním políčka **Active** (Aktivní) nebo zrušením jeho výběru, chcete-li uživatele aktivovat později (např. po zaškolení).
- 8 Dvojitým kliknutím na **Save** (Uložit) uložte a potvrďte změny.
Na obrazovce User Management (Správa uživatelů) je nyní zobrazen nový uživatel.

Úprava uživatelů

Postup úpravy informací o uživateli:

- 1 Na obrazovce User Management (Správa uživatelů) vyberte uživatelské jméno požadovaného uživatele.
- 2 Podle potřeby upravte informace uživatele a po dokončení vyberte **Save** (Uložit).
- 3 Po zobrazení dialogového okna znovu vyberte **Save** (Uložit), čímž změny potvrdíte.
Na obrazovce User Management (Správa uživatelů) se nyní zobrazují změny uživatele.

Deaktivace uživatelů

Chcete-li deaktivovat uživatele:

- 1 Na obrazovce User Management (Správa uživatelů), vyberte požadované uživatelské jméno.
- 2 Zrušte označení zaškrtačacího políčka **Activate** (Aktivovat) a vyberte položku **Save** (Uložit).
- 3 V potvrzovací zprávě vyberte položku **Save** (Uložit).
Stav uživatele na obrazovce User Management (Správa uživatelů) se změní na Disabled (Neaktivní).

Správa sdílené síťové jednotky



POZNÁMKA

Povolení přidávat, upravovat nebo odstraňovat sdílená umístění složek mají pouze servisní technici nebo správci.

Přidání sdílené síťové jednotky

Nastavte systém tak, aby ukládal data sekvencování na určeném úložišti NAS, ne na serveru připojenému k sekvencovacímu systému. Úložiště NAS může poskytnout větší úložní kapacitu a nepřetržité zálohování dat.

- 1 V nabídce Dashboard (Ovládací panel) vyberte možnost **Folders** (Složky).
- 2 Vyberte **Add folder** (Přidat složku).
- 3 Zadejte následující informace, které vám poskytl správce IT:
 - ▶ **Location** (Umístění) – celá cesta do umístění v úložišti NAS včetně složky, ve které jsou data uložena.
 - ▶ **Username** (Uživatelské jméno) – uživatelské jméno určené pro místní server, když přistupuje k úložišti NAS.
 - ▶ **Password** (Heslo) – heslo určené pro místní server, když přistupuje k úložišti NAS.
- 4 Vyberte možnost **Save** (Uložit).
- 5 Výběrem položky **Test** (Zkouška) proveďte kontrolu spojení s úložištěm NAS.
Pokud se spojení nezdaří, ověřte u správce IT, zda máte správný název serveru, název umístění, uživatelské jméno a heslo.

- 6 Restartujte server, aby se změny projevíly.



POZNÁMKA

Nastavení sdílené síťové jednotky může podporovat pouze jednu složku dat sekvencování.

Úprava sdílené síťové jednotky

- 1 V nabídce Dashboard (Ovládací panel) vyberte možnost **Folders** (Složky).
- 2 Upravte cestu v poli Location (Umístění) a vyberte **Save** (Uložit).
- 3 Výběrem položky **Test** (Zkouška) proveďte kontrolu spojení s úložištěm NAS.
Pokud se spojení nezdaří, ověřte u správce IT, zda máte správný název serveru, název umístění, uživatelské jméno a heslo.

Odstranění sdílené síťové jednotky

- 1 V nabídce Dashboard (Ovládací panel) vyberte možnost **Folders** (Složky).
- 2 Chcete-li umístění změnit, vyberte cestu k umístění.
- 3 Vyberte položku **Delete** (Odstranit), chcete-li odebrat externí složku sekvenování.

Konfigurace sítě a nastavení certifikátů

Obrazovku nastavení sítě využívá terénní servisní technik společnosti Illumina během úvodní instalace k nastavení sítě a certifikátů.



POZNÁMKA

Povolení změnit nastavení sítě a certifikátů mají pouze servisní technici a správci.

- 1 V nabídce Dashboard (Ovládací panel) vyberte možnost **Configuration** (Nastavení).
- 2 Vyberte kartu **Network Configuration** (Nastavení sítě) a podle potřeby nastavte konfiguraci sítě.
- 3 Vyberte kartu **Certification Configuration** (Nastavení certifikace) a vytvořte SSL certifikát.

Změna nastavení certifikátů

Certifikát SSL (Secure Socket Layer) je datový soubor, který umožňuje vytvořit zabezpečené propojení mezi místním serverem a prohlížečem.

- 1 K přidání nebo změně nastavení certifikátu SSL použijte kartu Certificate Configuration (Konfigurace certifikátu).
 - ▶ **Laboratory Email** (E-mail laboratoře) – kontaktní e-mail zkušební laboratoře (musí mít platný formát e-mailové adresy).
 - ▶ **Organization Unit** (Organizační jednotka) – oddělení.
 - ▶ **Organization** (Organizace) – název zkušební laboratoře.
 - ▶ **Location** (Umístění) – adresa zkušební laboratoře.
 - ▶ **State** (Stát) – stát zkušební laboratoře (automaticky vyplněno na základě e-mailové adresy).
 - ▶ **Country** (Země) – země zkušební laboratoře (automaticky vyplněno na základě e-mailové adresy).
 - ▶ **Certificate Thumbprint (SHA1)** (Kryptografický otisk certifikátu (SHA1)) – identifikační číslo certifikace.
Kryptografický otisk certifikátu (SHA1) zajišťuje, že se uživatelům nebudou zobrazovat varování certifikátu při přístupu k softwaru VeriSeq NIPT Assay Software v2. SHA1 se zobrazí po vytvoření nebo obnovení certifikátu. Další informace viz část *Obnovení certifikátu na straně 26*.

- 2 Kliknutím na možnost **Save** (Uložit) uplatníte provedené změny.

Změna nastavení sítě a serveru



POZNÁMKA

Chcete-li předejít chybám připojení k serveru, koordinujte veškeré změny nastavení sítě a serveru se správcem IT.

- 1 K nastavení nebo změně nastavení sítě a místního serveru použijte kartu Network Configuration (Konfigurace sítě).
 - ▶ **Static IP Address** (Statická adresa IP) – adresa IP určená pro místní server
 - ▶ **Subnet Mask** (Maska podsítě) – maska podsítě místní sítě.
 - ▶ **Default Gateway Address** (Výchozí adresa brány) – výchozí adresa IP směrovače.
 - ▶ **Hostname** (Název hostitele) – určený název odkazující na místní server v síti (definovaný ve výchozím nastavení jako lokální hostitel (localhost))
 - ▶ **DNS Suffix** (Přípona DNS) – určená přípona DNS.
 - ▶ **Nameserver 1 and 2** (Název serveru 1 a 2) – IP adresy nebo názvy DNS serveru.
 - ▶ **NTP Time Server 1 and 2** (Časový server NTP 1 a 2) – servery pro synchronizaci času podle protokolu NTP.
 - ▶ **MAC Address** (Adresa MAC) – adresa MAC serverové sítě (pouze ke čtení).
 - ▶ **Timezone** (Časové pásmo) – místní časové pásmo serveru.
- 2 Zkontrolujte správnost zadaných dat a výběrem možnosti **Save** (Uložit) restartujte server. Provedené změny se projeví.



UPOZORNĚNÍ

Nesprávná nastavení mohou narušit spojení se serverem.

Stažení a instalace certifikátu

Postup stažení a instalace certifikátu SSL:

- 1 V nabídce Dashboard (Ovládací panel) vyberte možnost **Configuration** (Nastavení).
- 2 Klikněte na kartu **Certification Configuration** (Konfigurace certifikace).
- 3 Na obrazovce Network Configuration (Konfigurace sítě) vyberte možnost **Download Certificate** (Stáhnout certifikát).
- 4 Otevřete stažený soubor a vyberte možnost **Install Certificate** (Instalovat certifikát).
- 5 Podle pokynů průvodce importem nainstalujte certifikát.
- 6 Výběrem **OK** zavřete dialogová okna.

Obnovení certifikátu



POZNÁMKA

Povolení obnovit certifikáty a restartovat systém mají pouze servisní technici a správci.

Postup obnovení certifikátu po změně nastavení sítě nebo certifikátu:

- 1 Na obrazovce Network Configuration (Konfigurace sítě) vyberte možnost **Regenerate Certificate** (Obnovit certifikát).
- 2 Chcete-li pokračovat, vyberte možnost **Regenerate Certificate and Reboot** (Obnovit certifikát a restartovat). Chcete-li skončit, vyberte možnost **Cancel** (Zrušit).

Konfigurace e-mailových oznámení systému

VeriSeq NIPT Assay Software v2 komunikuje s uživateli zasíláním e-mailových oznámení o postupu rozboru a výstrah, když se vyskytnou chyby nebo je vyžadován zásah uživatele. Část *Oznámení Assay Software na straně 58* popisuje různá e-mailová oznámení posílaná systémem.




POZNÁMKA

Zkontrolujte, zda nastavení proti nevyžádané poště vaší e-mailové schránky povolují e-mailová oznámení ze serveru. E-mailová oznámení jsou zasílána z účtu `VeriSeq@<customer email domain>`, kde `<customer email domain>` je určena místním oddělením IT při instalaci serveru.

Vytvoření seznamu e-mailových odběratelů

E-mailová oznámení se odesílají seznamu určených odběratelů, které můžete definovat pomocí následujících kroků.

Pokud chcete sestavit seznam odběratelů, postupujte následovně:

- 1 V nabídce Dashboard (Ovládací panel) vyberte ikonu Settings (Nastavení) .
- 2 Vyberte možnost **Email Configuration** (Nastavení e-mailu)
- 3 Do pole Subscribers (Odběratelé) zadejte e-mailové adresy oddělené čárkou. Zkontrolujte správnost zadaných e-mailových adres. Software formát e-mailových adres neověřuje.
- 4 Výběrem možnosti **Send test message** (Odeslat zkušební zprávu) vytvoříte zkušební e-mail pro seznam odběratelů. Zkontrolujte svoji e-mailovou schránku a ověřte, zda byl e-mail odeslán.
- 5 Vyberte možnost **Save** (Uložit).

Odhlášení

- Vyberte ikonu profilu uživatele v pravém horním rohu obrazovky a klikněte na **Log Out** (Odhlásit).

Analýza a vykazování

Po shromáždění dat sekvencování jsou tato data rozdělena, převedena do formátu FASTQ, uspořádána podle referenčního genomu a analyzována pro zjištění aneuploidie. Jak je popsáno níže, pro kvalifikování konečné odpovědi pro jakýkoliv vzorek jsou stanoveny různé metriky.

Demultiplexing a vytvoření FASTQ

Data sekvencování uložená ve formátu BCL jsou zpracována pomocí převodního softwaru `bcl2fastq`, který demultiplexuje data a převádí soubory BCL na standardní formát FASTQ pro další analýzu. Assay Software vytváří pro každý běh sekvencování seznam vzorků (`SampleSheet.csv`). Tento soubor obsahuje informace o vzorcích poskytnuté softwaru během přípravného zpracování vzorků (pomocí softwaru API). Tyto seznamy vzorků obsahují hlavičku s informacemi o běhu a deskriptorech pro vzorky zpracované v konkrétní průtokové kyvetě.

Následující tabulka nabízí podrobnosti o datech v seznamu vzorků.



UPOZORNĚNÍ

Tento soubor se seznamem vzorků **NIJAK** neupravujte. Soubor je vytvářen systémem a úpravy mohou mít negativní dopad v průběhu dalšího zpracování, včetně nesprávných výsledků nebo chybné analýzy.

Název sloupce	Popis
SampleID	Identifikace vzorku.
SampleName	Název vzorku. Výchozí nastavení: odpovídá SampleID.
Sample_Plate	Identifikace desky pro daný vzorek. Výchozí nastavení: prázdné.
Sample_Well	Identifikace jamky na desce pro daný vzorek.
I7_Index_ID	Identifikace prvního indexového adaptéru.
index	Nukleotidová sekvence prvního adaptéru.
I5_Index_ID	Identifikace druhého adaptéru.
index2	Nukleotidová sekvence druhého adaptéru.
Sample_Project	Identifikace projektu pro daný vzorek. Výchozí nastavení: prázdné.
SexChromosomes	Analýza náležející k pohlavním chromozomům. Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> • Yes (Ano) – vyžaduje se aneuploidie pohlavního chromozomu a vykazování pohlaví. • No (Ne) – nevyžaduje se aneuploidie pohlavního chromozomu ani vykazování pohlaví. • SCA – vyžaduje se aneuploidie pohlavního chromozomu, nevyžaduje se vykazování pohlaví.
SampleType	Typ vzorku. Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> • Singleton (Jedináček) – těhotenství z jednoho embrya. • Twin (Dvojče) – těhotenství ze dvou embryí. • Control (Kontrola) – kontrolní vzorek se známým pohlavím a klasifikací aneuploidie. • NTC – žádný kontrolní vzorek šablony (žádná DNA).

Kontrola kvality sekvencování

Metriky kontroly kvality sekvencování určují průtokové kvety, které s vysokou pravděpodobností způsobí neúspěch analýzy. Hustota klastrů, procento čtení procházející filtrem (PF), předfázování a metriky fázování popisují obecnou kvalitu dat sekvencování a jsou společné mnoha aplikacím sekvencování nové generace. Metrika předpokládaných uspořádaných čtení odhaduje úroveň průtokové kvety v hloubce sekvencování. Pokud data s nízkou kvalitou nedosáhnou metriky předpokládaných uspořádaných čtení, zpracování běhu se ukončí. Další informace naleznete na straně 1 v části *Metriky a meze kontroly kvality sekvencování na straně 33*.

Odhady fetální frakce

Fetální frakce označuje procentuální podíl mimobuněčné volné DNA cirkulující v krevním vzorku matky, který je získán z placenty. Assay Software pro výpočet odhadu fetální frakce používá informace z rozdělení velikosti fragmentů cfDNA a rozdílů v genomickém pokrytí mezi mateřskou a fetální cfDNA.¹

Statistiky použité v závěrečném vyhodnocování

V případě všech chromozomů se data paired-end sekvenování uspořádají podle referenčního genomu (HG19). Jediněčná, neduplicitní uspořádaná čtení se agregují do 100kb košů. Odpovídající počty košů se upraví podle odchylky GC a podle dříve stanoveného genomického pokrytí v závislosti na oblasti. Při použití takových počtů normalizovaných košů se statistická skóre odvozují pro jednotlivé autozomy porovnáním oblastí pokrytí, které mohou být zasaženy aneuploidii, se zbytkem autozomů. LLR (věrohodnostní poměr) se vypočítá pro jednotlivé vzorky tak, že se zohlední tato skóre podle pokrytí a odhadovaná fetální frakce. LLR představuje pravděpodobnost ovlivnění vzorku na základě pozorovaného pokrytí a fetální frakce oproti pravděpodobnosti, že vzorek ovlivněný nebude na základě stejného pozorovaného pokrytí.

¹Kim, 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

Výpočet tohoto poměru zohledňuje také odhadovanou nepřesnost ve fetální frakci. V následných výpočtech se použije přiložený logaritmus tohoto poměru. Assay software posoudí LLR každého cílového chromozomu a každého vzorku, aby mohl zajistit určení aneuploidie.

Statistiky chromozomů X a Y se liší od statistik používaných pro autozomy. V případě plodů identifikovaných jako ženské vyžaduje volání SCA klasifikační shodu LLR a normalizované hodnoty chromozomů.¹ V případě [45,X] (Turnerův syndrom) a [47,XXX] se vypočítají konkrétní skóre LLR. V případě plodů identifikovaných jako mužské lze volání SCA pro [47,XXY] (Klinefelterův syndrom) nebo [47,XYY] založit na vztahu mezi normalizovanými hodnotami chromozomů pro chromozomy X a Y (NCV_X a NCV_Y). Vzorky, které se vztahují k mužským plodům, u kterých se NCV_X nachází v rozsahu pozorovaném v případě euploidních ženských vzorků, můžeme nazvat [47,XXY]. Vzorky náležející k mužským vzorkům, u kterých se NCV_X nachází v rozsahu pozorovaném v případě euploidních mužských vzorků, ale které mají přílišné zastoupení chromozomu Y, můžeme nazvat [47,XYY].

Některé hodnoty NCV_Y a NCV_X spadají mimo schopnost systému určit SCA. Tyto vzorky přinesou při klasifikaci XY výsledek Not Reportable (Nelze vykázat). Pokud budou všechny ostatní metriky kontroly kvality úspěšné, budou autozomální výsledky těchto vzorků poskytnuty.

Kontrola kvality analýzy

Analytická metrika kontroly kvality je metrika, která je vypočítána během analýzy a používá se pro zjištění vzorků, které se příliš odchylují od očekávaného chování. Data pro vzorky, které neprojdou touto metrikou, jsou považována za nespolehlivá a označena jako chybná. Jestliže vzorky vykáží výsledky mimo očekávaný rozsah této metriky, bude ve Výkazu NIPT uveden důvod kontroly kvality jako varování nebo příčina chyby. Další informace o těchto důvodech kontroly kvality jsou uvedeny v *Hlášení důvodů kontroly kvality na straně 43*.

Kontrola kvality vzorků NTC

Software VeriSeq NIPT Solution umožňuje přidání vzorků NTC jako součást běhu. Zařízení ML STAR může vytvořit až 2 NTC na jeden běh dávky s 24 vzorky a dávky se 48 vzorky a až 4 NTC na dávku s 96 vzorky. Bez ohledu na počet přidávaných vzorků NTC software kontroluje minimální průměrný počet ve výši 4 milionů jedinečných namapovaných fragmentů na fond. Z tohoto důvodu nepřidávejte více než 2 vzorky NTC na fond. Další informace naleznete v části *Metriky a meze kontroly kvality sekvencování na straně 33*.

Stavy kontroly kvality vzorků NTC jsou následující:

- ▶ **NTC sample processing** (Probíhá zpracování vzorků NTC) – při zpracování vzorků NTC software použije výsledek PASS QC (Úspěšná kontrola kvality), když je pokrytí vzorku nízké, jak se u NTC očekává.
- ▶ **Patient sample as NTC** (Vzorek pacienta jako NTC) – při zpracování vzorku pacienta označeného jako NTC je zjištěno velké pokrytí. Protože je vzorek označený jako NTC, software přiřadí ke stavu kontroly kvality vzorku příznak FAIL (Neúspěšné) s následujícím zdůvodněním: NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (Vzorek NTC s vysokým pokrytím).

¹Bianchi 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.

VeriSeq Onsite Server v2

Místní server VeriSeq Onsite Server v2 pracuje v operačním systému Linux a poskytuje přibližně 7,5 TB úložné kapacity pro data. Za předpokladu, že jeden běh sekvenování má velikost dat 25 GB, může server uchovat až 300 běhů. Pokud již není k dispozici minimální potřebná úložná kapacita, vydá systém automatické oznámení. Server se instaluje v místní síti (LAN).

Místní disk

Assay Software zpřístupňuje uživateli některé složky na místním serveru. Tyto složky lze připojit pomocí protokolu sdílení Samba k libovolné pracovní stanici nebo přenosnému počítači v místní síti.

Název složky	Popis	Přístup
Input (Vstup)	Obsahuje data sekvenování vytvořená systémem sekvenování nové generace připojeným k serveru.	Čtení a zápis.
Output (Výstup)	Obsahuje všechny softwarem generované výkazy.	Pouze čtení.
Backup (Záloha)	Obsahuje zálohy databáze.	Pouze čtení.



POZNÁMKA

Mapování místního disku je založeno na protokolu SMB (Server Message Block). Software aktuálně podporuje verze SMB1 a SMB2. Server vyžaduje podpis SMB. Povolte tyto verze na zařízení (laptop/pracovní stanice), které připojujete.

Místní databáze

Assay Software udržuje místní databázi, ve které jsou uchovány informace o knihovnách, informace o běžích sekvenování a výsledky analýz. Databáze je nedílnou součástí softwaru Assay Software a není přístupná uživateli. Systém udržuje automatický mechanismus zálohování databáze na místním serveru. Kromě následujících databázových procesů se uživatelům doporučuje, aby pravidelně zálohovali databázi do externího umístění.

- ▶ **Database backup** (Zálohování databáze) – Jednou za hodinu, za den, týden a za měsíc je automaticky uložen snímek databáze. Hodinové zálohy jsou odstraněny po vytvoření denní zálohy. Podobně denní zálohy jsou odstraněny po vytvoření týdenní zálohy. Týdenní zálohy jsou odstraněny po vytvoření měsíční zálohy a ponechána je pouze jedna měsíční záloha. Doporučenou praxí je vytvořit automatizovaný skript, který udržuje složku záloh v místním úložišti NAS.
- ▶ **Database restore** (Obnovení databáze) – Umožňuje obnovit databázi z kteréhokoliv snímku zálohy. Obnovení provádí pouze servisní technici společnosti Illumina.
- ▶ **Data backup** (Zálohování dat) – Ačkoliv lze použít místní server jako hlavní úložiště běhů sekvenování, může uchovat pouze přibližně 300 běhů. Společnost Illumina doporučuje nastavit automatizované zálohování dat, které se provádí pravidelně do jiného dlouhodobého úložiště nebo do úložiště NAS.
- ▶ **Maintenance** (Údržba) – Liší se od zálohování dat. Místní server nevyžaduje od uživatele provedení údržby. Aktualizaci softwaru Assay Software nebo samotného místního serveru zajišťuje technická podpora společnosti Illumina.

Archivování dat

Při archivaci vstupních a výstupních složek se řiďte svou místní politikou IT archivování na vašem pracovišti. Assay Software sleduje zbývající místo na disku ve vstupní složce a zasílá uživatelům e-mailové oznámení, pokud zbývající kapacita úložiště klesne pod 1 TB.

Pro ukládání dat nepoužívejte místní server. Data přesuňte na místní server a v pravidelných intervalech je archivujte.

Typický běh sekvenování, který je kompatibilní s analytickým pracovním postupem cfDNA, vyžaduje 25–30 GB pro běhy sekvenčeru nové generace. Skutečná velikost složky běhu závisí na konečné hustotě klastru.

Data archivujte, pouze když je systém nečinný a neprobíhá žádná analýza ani běhy sekvenování.

Mapování serverových jednotek

Místní server obsahuje tři složky, které lze jednotlivě připojit k libovolnému počítači se systémem Microsoft Windows:

- ▶ **Input** (Vstup) – připojuje se ke složkám dat sekvenování. Proveďte připojení k počítači připojenému k sekvenovacímu systému. Nakonfigurujte sekvenovací systém tak, aby přenášel data do složky Input (Vstup).
- ▶ **Output** (Výstup) – připojuje se k výkazům analýzy serveru a výkazům zpracování rozboru.
- ▶ **Backup** (Záloha) – připojuje se k souborům zálohy databáze.

Připojování jednotlivých složek:

- 1 Přihlaste se k počítači v podsíti místního serveru.
- 2 Klikněte pravým tlačítkem na ikonu **Computer** (Počítač) a vyberte možnost **Map network drive** (Připojit síťovou jednotku).
- 3 Vyberte písmeno v rozevíracím seznamu Drive (Jednotka).
- 4 V poli Folder (Složka) zadejte \\<IP adresa VeriSeq Onsite Server v2>\<název složky>. Příklad: \\10.50.132.92\input.
- 5 Zadejte uživatelské jméno a heslo. Úspěšně připojené složky se zobrazí v počítači jako připojené.



POZNÁMKA

Mapování místního disku je založeno na protokolu SMB (Server Message Block). Software aktuálně podporuje verze SMB1 a SMB2. Server vyžaduje podpis SMB. Povolte tyto verze na zařízení (laptop/pracovní stanice), které připojujete.

Restart serveru



POZNÁMKA

Povolení k restartu serveru mají pouze servisní technici a správci.

Postup restartu serveru:

- 1 V rozevíracím seznamu **Settings** (Nastavení) vyberte možnost **Reboot Server** (Restartovat server).
- 2 Chcete-li systém restartovat, klikněte na **Reboot** (Restartovat). Chcete-li skončit bez restartu, klikněte na **Cancel** (Zrušit).

- 3 Zadejte důvod vypnutí serveru.
Důvod se zaznamená pro potřeby řešení problémů.



POZNÁMKA

Restart systému může trvat několik minut.

Vypnutí serveru



POZNÁMKA

Povolení k vypnutí serveru mají pouze servisní technici a správci.

Postup vypnutí místního serveru:

- 1 V rozevíracím seznamu **Settings** (Nastavení) vyberte možnost **Shut Down Server** (Vypnout server).
- 2 Pokud chcete místní server vypnout, vyberte možnost **Shut Down** (Vypnout). Pokud chcete odejít bez vypnutí, vyberte možnost **Cancel** (Zrušit).
- 3 Zadejte důvod vypnutí místního serveru.
Důvod se zaznamená pro potřeby řešení problémů.

Zotavení z neočekávaného vypnutí

V případě výpadku napájení nebo nechtěného vypnutí uživatelem během analýzy systém provede následující činnosti:

- ▶ Při opětovném spuštění automaticky restartuje Assay Software.
- ▶ Rozpozná, že běh analýzy se nezdařil, a znovu odešle analýzu do fronty ke zpracování.
- ▶ Po úspěšném dokončení analýzy vygeneruje výstup.



POZNÁMKA

Pokud se analýza nezdaří, umožní Assay Software systému až třikrát znovu odeslat běh na analýzu.

Příloha A Metriky kontroly kvality

Metriky a meze kontroly kvality kvantitativního vyjádření	33
Metriky a meze kontroly kvality sekvencování	33

Metriky a meze kontroly kvality kvantitativního vyjádření

Metrika	Popis	Dolní mez	Horní mez	Zdůvodnění
standard_r_squared	Hodnota R na druhou v modelu standardní křivky.	0,980	Nepoužívá se	Modely standardní křivky zobrazující slabou linearitu v prostoru log-log nejsou dobrými indiciemi skutečných koncentrací vzorku.
standard_slope	Sklon modelu standardní křivky.	0,95	1,15	Modely standardní křivky se sklonem mimo očekávaná výkonnostní pásma označují nespolehlivý model.
ccn_library_pg_ul	Maximální přípustná koncentrace vzorku.	Nepoužívá se	1 000 pg/μl	Vzorky s vypočítanými koncentracemi DNA, které překračují specifikace, označují nadměrnou kontaminaci genomické DNA.
median_ccn_pg_ul	Mediánová vypočítaná hodnota koncentrace pro všechny vzorky v dávce.	16 pg/μl	Nepoužívá se	Fond sekvencování přiměřeného objemu nesmí mít nadměrný počet příliš naředěných vzorků. Dávky s vysokým počtem naředěných vzorků označují selhání procesu přípravného zpracování vzorků.

Metriky a meze kontroly kvality sekvencování

Metrika	Popis	Dolní mez	Horní mez	Zdůvodnění
cluster_density	Hustota klastrů sekvencování.	152 000 na mm ²	338 000 na mm ²	Průtoková kyveta s nízkou hustotou klastrů nevytváří dostatek čtení. Průtokové kyvety s přílišným množstvím klastrů obvykle vytvářejí data sekvencování v nízké kvalitě.
pct_pf	Procento čtení procházející filtrem čistoty.	≥ 50 %	Nepoužívá se	Průtokové kyvety s mimořádně nízkým procentem PF mohou mít abnormální zastoupení bází a velmi pravděpodobně mohou označovat problém se čtením PF.
prephasing	Frakce předfázování.	Nepoužívá se	≤ 0,003	Empiricky optimalizovaná doporučení pro VeriSeq NIPT Solution v2.
phasing	Frakce fázování.	Nepoužívá se	≤ 0,004	Empiricky optimalizovaná doporučení pro VeriSeq NIPT Solution v2.
predicted_aligned_reads	Odhadovaný průměrný počet jedinečně namapovaných fragmentů na vzorek.	≥ 4 000 000	Nepoužívá se	Stanoveno jako minimální pozorovaný NES v rámci běžné populace

Příloha B Systémové výkazy

Úvod	34
Přehled systémových výkazů	35
Události vytváření výkazů	36
Výkazy výsledků a oznámení	38
Výkazy zpracování	50

Úvod

Assay Software vytváří dvě kategorie výkazů:

- ▶ výkazy výsledků a oznámení,
- ▶ výkazy zpracování.

Existují také dva typy výkazů:

- ▶ **Informační** – výkazy týkající se procesu. Nabízejí informace o postupu rozborů a můžete je použít k potvrzení dokončení konkrétního kroku. Výkaz také poskytuje informace o výsledcích kontroly kvality a čísla ID.
- ▶ **Praktický** – asynchronní výkaz, který se spustí systémovou událostí nebo činností uživatele a který vyžaduje pozornost uživatele.

Tato část popisuje jednotlivé výkazy a jejich podrobnosti pro potřeby integrace LIMS.

Výstupní soubory

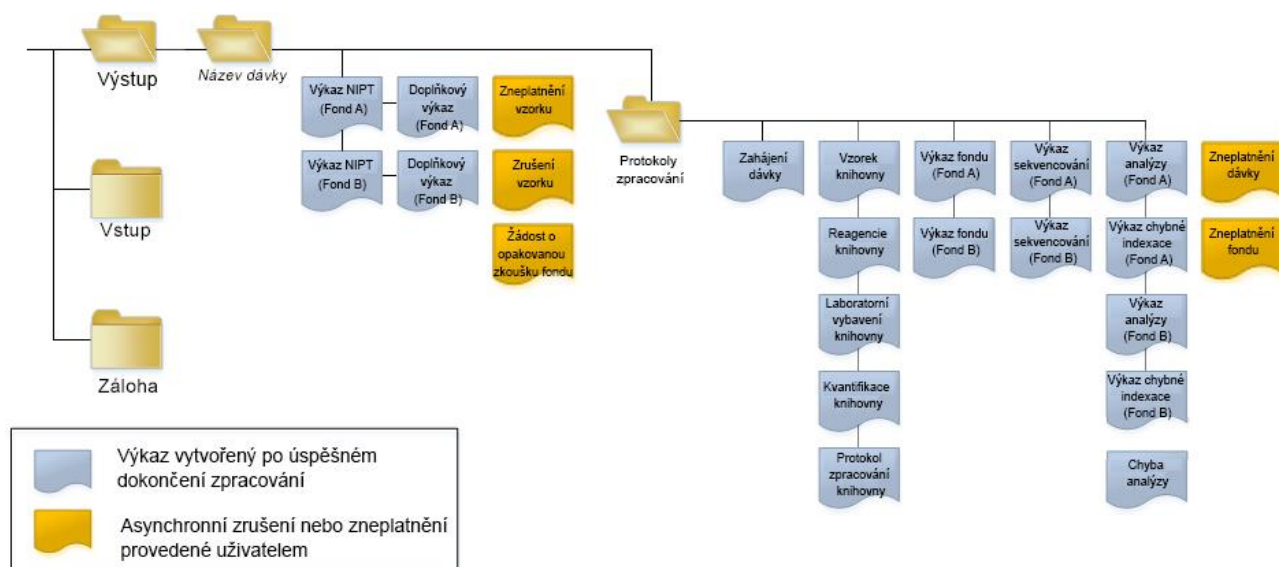
Výkazy softwaru Assay Software jsou vytvořeny na vnitřním pevném disku místního serveru, který je připojen k disku uživatele jako složka Output (Výstup) určená pouze ke čtení. Jednotlivé výkazy jsou vytvořeny s odpovídajícím standardním souborem kontrolního součtu MD5, který slouží k ověření, že soubor nebyl pozměněn.

Všechny výkazy mají formát běžného textu odděleného tabelátory. Výkazy lze otevřít v libovolném textovém editoru nebo programu pro zpracování tabulek, jako je Microsoft Excel.

Struktura souboru výkazů

Assay Software ukládá výkazy do zvláštní struktury ve složce Output (Výstup).

Obrázek 5 Struktura složky výkazů softwaru Assay Software



Assay Software ukládá výkazy do složky *Batch Name* (Název dávky), která má toto uspořádání:

- ▶ **Hlavní složka (složka Batch Name (Název dávky))** – obsahuje výkazy s výsledky nebo souvisejícími e-mailovými oznámeními generovanými systémem LIMS. Podrobnosti viz část *Výkazy výsledků a oznámení na straně 38*.
- ▶ **Složka ProcessLogs (Protokoly zpracování)** – obsahuje výkazy související se zpracováním. Podrobnosti viz část *Výkazy zpracování na straně 50*.

Seznam všech výkazů je uveden v části *Přehled systémových výkazů na straně 35*.

Přehled systémových výkazů

Název výkazu	Typ výkazu	Entita výkazu	Formát souboru výkazu
<i>Výkaz NIPT</i>	Praktický	Fond, průtoková kyveta	<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_nipt_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Doplňkový výkaz</i>	Informační	Fond, průtoková kyveta	<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_supplementary_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Výkaz zneplatnění vzorku</i>	Praktický	Vzorek	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Výkaz zrušení vzorku</i>	Praktický	Vzorek	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_cancellation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu</i>	Praktický	Fond	<batch_name>_<pool_type>_pool_retest_request_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Výkaz zavedení dávky</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_batch_initiation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab

Název výkazu	Typ výkazu	Entita výkazu	Formát souboru výkazu
<i>Výkaz zneplatnění dávky</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_batch_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Výkaz vzorku knihovny</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_sample_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Výkaz reagentie knihovny</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_reagent_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Výkaz laboratorního vybavení knihovny</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_labware_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Výkaz kvantifikace knihovny</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_quant_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Protokol zpracování knihovny</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_process_log.tab
<i>Výkaz fondu</i>	Informační	Fond	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Výkaz zneplatnění fondu</i>	Informační	Fond	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Výkaz sekvencování</i>	Informační	Fond, průtoková kyveta	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_sequencing_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Výkaz o nezdařené analýze</i>	Informační	Fond, průtoková kyveta	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_analysis_failure_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab

Události vytváření výkazů

Výkaz	Popis	Událost vytváření
Výkaz NIPT	Obsahuje konečné výsledky úspěšného běhu analýzy.	<ul style="list-style-type: none"> Analýza běhu sekvenování je dokončena.
Doplňkový výkaz	Obsahuje doplňkové výsledky úspěšného běhu analýzy.	<ul style="list-style-type: none"> Analýza běhu sekvenování a výkaz NIPT jsou dokončeny.
Zneplatnění vzorku	Obsahuje informace o zneplatněném vzorku.	<ul style="list-style-type: none"> Uživatel zneplatní vzorek.
Zrušení vzorku	Obsahuje informace o zrušeném vzorku.	<ul style="list-style-type: none"> Uživatel zruší vzorek.
Pool Retest Request (Žádost o opakovanou zkoušku fondu)	Označuje, že z existující dávky lze vytvořit druhý fond. Obsahuje informace o stavu opakované zkoušky fondu. ¹	<ul style="list-style-type: none"> Uživatel zneplatní fond.
Batch Initiation (Zahájení dávky)	Označuje začátek zpracování nové dávky.	<ul style="list-style-type: none"> Uživatel zahájí novou dávku.
Zneplatnění dávky	Obsahuje informace o dávce zneplatněné uživatelem.	<ul style="list-style-type: none"> Dávka je zneplatněna.
Library Sample (Vzorek knihovny)	Zobrazí seznam všech vzorků v dávce.	<ul style="list-style-type: none"> Dávka je zneplatněna. Metoda přípravy knihovny je dokončena. Neúspěšná kvantifikace dávky.

Výkaz	Popis	Událost vytváření
Library Reagent (Reagencie knihovny)	Obsahuje informace o reagentii pro zpracování knihovny.	<ul style="list-style-type: none"> Dávka je zneplatněna. Metoda přípravy knihovny je dokončena. Neúspěšná kvantifikace dávky.
Library Labware (Laboratorní vybavení knihovny)	Obsahuje informace o laboratorním vybavení pro zpracování knihovny.	<ul style="list-style-type: none"> Dávka je zneplatněna. Metoda přípravy knihovny je dokončena. Neúspěšná kvantifikace dávky.
Library Quant (Kvantifikace knihovny)	Obsahuje informace o výsledcích zkoušky kvantifikace knihovny.	<ul style="list-style-type: none"> Dávka je zneplatněna. Metoda přípravy knihovny je dokončena. Neúspěšná kvantifikace dávky.
Library Process Log (Protokol zpracování knihovny)	Obsahuje kroky prováděné během zpracování knihovny.	<ul style="list-style-type: none"> Dávka je zneplatněna. Metoda přípravy knihovny je dokončena. Neúspěšná kvantifikace dávky. Zpracování dávky je dokončeno.
Pool (Fond)	Obsahuje objemy fondů vzorků.	<ul style="list-style-type: none"> Metoda slučování do fondu je dokončena.
Pool Invalidation (Zneplatnění fondu)	Obsahuje informace o fondu zneplatněném uživatelem.	<ul style="list-style-type: none"> Uživatel zneplatní fond.
Sequencing (Sekvenování)	Obsahuje výsledky kontroly kvality sekvenování.	<ul style="list-style-type: none"> Kontrola kvality sekvenování proběhla úspěšně. Kontrola kvality sekvenování se nezdařila. Čas na sekvenování vypršel.
Analysis Failure (Chyba analýzy)	Obsahuje analytické informace pro neúspěšný fond.	<ul style="list-style-type: none"> Analýza běhu sekvenování se nezdařila.

¹ Uživatel zneplatní fond z platné dávky, která nepřekročila maximální počet fondů.

Výkazy výsledků a oznámení

Výkaz NIPT

Výkaz NIPT z VeriSeq NIPT Assay Software v2 obsahuje výsledky klasifikace chromozomů naformátované způsobem jeden vzorek na jednu řádku pro každý vzorek z fondu.

Sloupec	Popis	Možné přednastavené hodnoty	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	Nepoužívá se.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Jedinečný čárový kód vzorku.	Nepoužívá se.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_type	Informace o typu vzorku poskytnuté ze sběrného bodu nebo uživatelem - pracovníkem laboratoře. Určuje vzhled klasifikace aneuploidie.	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> • Singleton (Jedináček) – těhotenství z jednoho embrya. • Twin (Dvojče) – těhotenství ze dvou embryí. • Control (Kontrola) – kontrolní vzorek se známým pohlavím a klasifikací aneuploidie. • NTC – žádný kontrolní vzorek šablony (žádná DNA). • Not specified (Neurčeno) – u tohoto vzorku nebyl poskytnut typ vzorku. 	výčet	<i>Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty.</i>
sex_chrom	Je požadována analýza pohlavního chromozomu. Určuje prezentaci klasifikace aneuploidie a informací o pohlavním chromozomu.	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> • Yes (Ano) – vyžaduje se aneuploidie pohlavního chromozomu a vykazování pohlaví. • No (Ne) – nevyžaduje se aneuploidie pohlavního chromozomu ani vykazování pohlaví. • SCA – vyžaduje se aneuploidie pohlavního chromozomu, nevyžaduje se vykazování pohlaví. • Not specified (Neurčeno) – u tohoto vzorku nebyla poskytnuta možnost vykazování pohlavního chromozomu. 	výčet	<i>Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty.</i>
screen_type	Typ vyšetření	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> • Basic (Základní) – vyšetření chromozomů 13, 18, nebo 21. • Genomewide (Celý genom) – vyšetření celého genomu. • Not specified (Neurčeno) – u tohoto vzorku nebyl poskytnut typ vyšetření. 	text	<i>Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty.</i>

Sloupec	Popis	Možné přednastavené hodnoty	Typ	Regulární výraz
flowcell	Čárový kód průtokové kyvety pro sekvenování.	Nepoužívá se.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
class_sx	Klasifikace aneuploidie u pohlavního chromozomu.	<p>Jedna z následujících možností v závislosti na vybraném typu vzorku a možnostech vykazování pohlavního chromozomu:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ANOMALY DETECTED – XO (Zjištěna anomálie – XO) – monozomie X. • ANOMALY DETECTED – XXX (Zjištěna anomálie – XXX) – trizomie X. • ANOMALY DETECTED – XXY (Zjištěna anomálie – XXY) – dva chromozomy X u plodu mužského pohlaví. • ANOMALY DETECTED – XYY (Zjištěna anomálie – XYY) – dva chromozomy Y. • NO ANOMALY DETECTED (Nezjištěna žádná anomálie) – negativní vzorek a nevykázané pohlaví. • NO ANOMALY DETECTED – XX (Nezjištěna žádná anomálie) – negativní vzorek s ženským plodem. • NO ANOMALY DETECTED – XY (Nezjištěna žádná anomálie – XY) – negativní vzorek s mužským plodem. • NOT REPORTABLE (Pohlavní chromozomy nelze vykázat) – software nedokázal vykázat pohlavní chromozom. • NO CHR Y PRESENT (Bez přítomnosti chromozomu Y) – těhotenství s dvojčaty bez zjištěného chromozomu Y. • CHR Y PRESENT (Chromozom Y přítomen) – těhotenství s dvojčaty se zjištěným chromozomem Y. • CANCELLED (Zrušeno) – vzorek zrušen uživatelem. • INVALIDATED (Zneplatněno) – vzorek neprošel kontrolou kvality nebo byl zneplatněn uživatelem. • NOT TESTED (Nezkoušeno) – pohlavní chromozom nebyl zkoušený. • NA (Neuplatňuje se) – kategorie se na vzorek nevztahuje. 	class_ sx	<i>Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty.</i>

Sloupec	Popis	Možné přednastavené hodnoty	Typ	Regulární výraz
class_auto	Klasifikace aneuploidií v autozomech. Vykázáno jako ANOMALY DETECTED (Zjištěna anomálie), jestliže byla u vzorku zjištěna anomálie v rámci vybraného typu vyšetření.	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> • ANOMALY DETECTED (Zjištěna anomálie) – zjištěna autozomální chromozomální anomálie. • NO ANOMALY DETECTED (Nezjištěna žádná anomálie) – nezjištěna žádná autozomální anomálie. • CANCELLED (Zrušeno) – vzorek zrušen uživatelem. • INVALIDATED (Zneplatněno) – vzorek neprošel kontrolou kvality nebo byl zneplatněn uživatelem. • NA (Neuplatňuje se) – kategorie se na vzorek nevztahuje. 	text	<i>Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty.</i>
anomaly_description	Řetězec v nomenklatuře ISCN, který popisuje všechny vykazované anomálie. Vyskytne-li se několik anomálií, jsou odděleny středníky.	DETECTED: (Zjištěno), následují řetězce oddělené středníky, propojující následující formáty, a to v pořadí chromozomů: (\+)[12]?[0-9] (del dup)\{1,2\}[0-9]\(((p q)[0-9]{1,2}(\.[0-9]{1,2})?)?{2})\ XO XX XXY XYY nebo NO ANOMALY DETECTED (Nezjištěna žádná anomálie) NA (Nepoužívá se) INVALIDATED (Zneplatněno) CANCELLED (Zrušeno).	text	<i>Středníkem oddělené řetězce a další hodnoty popsané v části Pravidla popisu anomálií.</i>
qc_flag	Výsledky analýzy kontroly kvality. Pouze hodnoty qc_flag WARNING (Varování) a PASS (Úspěšné) vykazují výsledky. Ostatní hodnoty nikoliv.	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> • PASS (Úspěšné) • WARNING (Varování) • FAIL (Neúspěšné) • CANCELLED (Zrušeno) • INVALIDATED (Zneplatněno) • NTC_PASS (Úspěšná NTC) 	výčet	<i>Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty.</i>

Sloupec	Popis	Možné přednastavené hodnoty	Typ	Regulární výraz
qc_reason	Informace o chybě kontroly kvality nebo varování.	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> • NONE (Žádné) (stav kontroly kvality je PASS (Úspěšné)) • MULTIPLE ANOMALIES DETECTED (Zjištěno několik anomálií) (stav kontroly kvality je WARNING (Varování)) • FAILED iFACT (Neúspěšná zkouška iFACT) • DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Data mimo očekávaný rozsah) • FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Rozdělení velikost fragmentů mimo očekávaný rozsah) • FLOWCELL DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Data průtokové kyvety mimo očekávaný rozsah) • FAILED TO ESTIMATE FETAL FRACTION (Neúspěšný odhad fetální frakce) • SEQUENCING DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Data sekvenování mimo očekávaný rozsah) • UNEXPECTED DATA (Neočekávaná data) • NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (Vzorek NTC s vysokým pokrytím) • CANCELLED (Zrušeno) • INVALIDATED (Zneplatněno) 	text	<i>Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty.</i>
ff	Odhadovaná hodnota fetální frakce.	Procentuální hodnota cfDNA vzorku z plodu zaokrouhlená na nejbližší celé číslo. Výsledky nižší než 1 % jsou uvedeny jako < 1 %.	text	<i>Nepoužívá se.</i>

Pravidla popisu anomálií

Jestliže analýza prováděná softwarem VeriSeq NIPT Assay Software v2 zjistí anomálii, zobrazí se v poli anomaly_description (popis anomálie) ve Výkazu NIPT hodnota DETECTED (Zjištěno), po níž následuje textový řetězec. Tento text popisuje všechny vykazované anomálie pomocí mezinárodního systému cytogenetické nomenklatury (ISCN). Řetězec obsahuje řadu prvků oddělených středníkem. Každý prvek představuje trizomii nebo monozomii v autozomu, aneuploidii pohlavního chromozomu nebo částečnou delecí či duplikaci.

Prvky představující trizomii a monozomii jsou označeny jako +<chr>, respektive -<chr>, kde <chr> je číslo chromozomu.

Například vzorek s trizomií na chromozomu 5 bude vyjádřen takto:

+5

Vzorek s monozomií na chromozomu 6 bude vyjádřen takto:

-6

Pro aneuploidie pohlavního chromozomu se používá standardní označení pomocí čtyř možných hodnot:

- ▶ XO - pro monozomii na chromozomu X
- ▶ XXX - pro trizomii na chromozomu X
- ▶ XXY - pro 2 chromozomy X u mužů
- ▶ XYY - pro 2 chromozomy Y u mužů

Částečné delecce nebo duplikace se vykazují pouze u autozomů a objevují se pouze ve vyšetření celého genomu. Syntax částečné delecce nebo duplikace je <type><chr><start band><end band>, kde:

- ▶ <type> je typ události, buď del v případě delecce, nebo dup v případě duplikace,
- ▶ <chr> je číslo chromozomu,
- ▶ <start band> je cytogenetický chromozomový region, kde se nachází začátek události,
- ▶ <end band> je cytogenetický chromozomový region, kde se nachází konec události.

Například částečná delecce nebo duplikace, kde cytogenetický chromozomový region mezi p14 a q15 na chromozomu 22 obsahuje duplikaci, bude vyjádřena takto:

dup (22) (p14q15)

V poli anomaly_description (popis anomálie) platí 3 pravidla uspořádání:

- 1 Prvky se řadí podle čísla chromozomu, a to bez ohledu na to, zda se jedná o celý chromozom, nebo částečnou delecí, nebo duplikaci. Je-li přítomna aneuploidie pohlavního chromozomu, objeví se jako poslední.
- 2 V případě částečných delecí či duplikací v tomtéž chromozomu se delecce objevují před duplikacemi.
- 3 Částečné delecce či duplikace téhož typu v tomtéž chromozomu jsou seřazeny podle počáteční báze, která se objevuje v Doplnkovém výkazu.

Hlášení důvodů kontroly kvality

Sloupec qc_reason ve výkazu NIPT zobrazuje chybu kontroly kvality nebo varování, pokud výsledek analýzy nespadá do očekávaného rozsahu metriky analytické kontroly kvality. Chyby kontroly kvality mají za následek kompletní potlačení výsledků aneuploidie chromozomů, klasifikace pohlaví, výsledků doplňkového výkazu a odhadované fetální frakce, což odpovídá následujícím polím výkazu NIPT: class_auto, class_sx, anomaly_description a ff.

Hlášení důvodů kontroly kvality	Popis	Doporučená akce
FAILED iFACT (Neúspěšná zkouška iFACT)	Individualizovaná zkouška iFACT (individual Fetal Aneuploidy Confidence Test) – metrika kontroly kvality, která kombinuje odhadnutou fetální frakci s metrikami běhu souvisejícími s pokrytím. Výsledkem je určení, zda má systém statistickou spolehlivost učinit rozhodnutí o určitém vzorku.	Zpracujte vzorek znovu.
DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Data mimo očekávaný rozsah)	Průměrná odchylka od euploidního pokrytí není v souladu s rozdělením naučených dat. Může být způsobeno kontaminací nebo nesprávným zpracováním vzorku.	Zpracujte vzorek znovu.
FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Rozdělení velikosti fragmentů mimo očekávaný rozsah)	Rozdělení velikosti fragmentů není v souladu s rozdělením naučených dat. Může být způsobeno kontaminací nebo nesprávným zpracováním vzorku.	Zpracujte vzorek znovu.
FLOWCELL DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Data průtokové kyvety mimo očekávaný rozsah)	Rozdělení dat průtokové kyvety není v souladu s rozdělením naučených dat. Může být způsobeno chybou v nastavení průtokové kyvety.	Zpracujte vzorek znovu.
FAILED TO ESTIMATE FETAL FRACTION (Neúspěšný odhad fetální frakce)	Nelze vytvořit platný odhad fetální frakce.	Zpracujte vzorek znovu.
SEQUENCING DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Data sekvenování mimo očekávaný rozsah)	Vstupní data sekvenování nejsou v souladu s rozdělením naučených dat. Může být způsobeno kontaminací nebo nesprávným zpracováním vzorku.	Zopakujte sekvenování průtokové kyvety.
UNEXPECTED DATA (Neočekávaná data)	Výkaz uvádí problém s kontrolou kvality, který neodpovídá žádnému jinému důvodu kontroly kvality uvedenému v této tabulce.	Obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina.
MULTIPLE ANOMALIES DETECTED (Zjištěno několik anomálií)	Ve vzorku byly zjištěny dvě nebo více vykazovaných anomálií (včetně částečných delecí či duplikací a aneuploidií celého chromozomu). Delece nebo vícečetné anomálie mohou poukazovat na nesprávné zacházení se vzorkem nebo na vzácnější událost, jako je malignita matky. Toto hlášení představuje varování. Nejedná se o chybu kontroly kvality. Výsledky se vykazují, abyste viděli zjištěné anomálie. Možná ovšem budete muset vzorek znovu zpracovat.	Zpracujte vzorek znovu.

Hlášení důvodů kontroly kvality	Popis	Doporučená akce
NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (Vzorek NTC s vysokým pokrytím)	Pro vzorek NTC bylo zjištěno vysoké pokrytí (nebyl očekáván žádný materiál DNA). Může být způsobeno kontaminací nebo nesprávným zpracováním vzorku.	Zpracujte vzorek znovu.
CANCELLED (Zrušeno)	Vzorek byl zrušen uživatelem.	Nepoužívá se.
INVALIDATED (Zneplatněno)	Vzorek byl zneplatněn uživatelem.	Nepoužívá se.

Doplňkový výkaz

Doplňkový výkaz obsahuje data pro doplňkovou metriku na základě dávky, vzorku nebo oblasti. V tomto výkazu každý řádek představuje některou metriku. Na tutéž dávku, tentýž vzorek nebo tutéž oblast se vztahuje několik metrik.

Soubor s hodnotami oddělenými tabelátorem má šest sloupců, jak je popsáno v tabulce níže.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
flowcell	Čárový kód průtokové kyvety.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
batch_name	Název příslušné dávky.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
sample_barcode	Čárový kód vzorku.	text	NA (not applicable) (Nepoužívá se) pro metriku na úrovni dávky. <code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
region	Buď celý chromozom, nebo popis oblasti částečné delece či duplikace.	text	NA (not applicable) (Nepoužívá se) pro metriku na úrovni dávky nebo na úrovni vzorku. <code>chr[12]?[0-9X]</code> – pro metriku celé oblasti chromozomu. <code>(del dup)\([12]?[0-9X]\)\(((p q)[0-9]{1,2}\.[0-9]{1,2})?\{2}\)</code> – pro metriku oblastí částečné delece nebo duplikace.
metric_name	Název popisované metriky.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
metric_value	Hodnota metriky.	různé	Viz část <i>Metrika doplňkového výkazu</i> .

Metrika doplňkového výkazu

Doplňkový výkaz obsahuje data pro následující metriku. Každá metrika se objevuje na úrovni dávky, vzorku nebo oblasti.

Metrika chromozomu X se objevuje pouze tehdy, zvolíte-li možnosti pohlavního chromozomu Yes (Ano) nebo SCA.

Rozsah hodnot se zobrazují jako Minimum Value (Minimální hodnota), Maximum Value (Maximální hodnota) v kulatých nebo hranatých závorkách. Kulaté závorky značí, že krajní hodnota je z rozsahu vyloučena, zatímco hranaté závorky značí, že krajní hodnota je do rozsahu zahrnuta. Inf je zkratka nekonečna.

Název metricky	Četnost	Popis	Typ	Regulární výraz nebo rozsah hodnot
genome_assembly	Za dávku	Systém souřadnic pro uspořádání dat sekvenování a souřadnic vykazované oblasti. Vždy GRCh37 u VeriSeq NIPT Solution v2.	text	^GRCh37\$
frag_size_dist	Za vzorek	Standardní odchylka rozdílů mezi rozdělením skutečné a očekávané kumulativní velikosti fragmentu.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(0, Inf)
fetal_fraction	Za vzorek	Vykázaná hodnota fetální frakce.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(0, 1)
NCV_X	Za vzorek	Normalizovaná hodnota chromozomu X. Objevuje se pouze tehdy, pokud to umožňuje možnost vykázaní pohlavního chromozomu. Jinak se tato metrika zobrazuje v podobě NOT TESTED (Nezkoušeno).	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(-Inf, Inf)
NCV_Y	Za vzorek	Normalizovaná hodnota chromozomu Y. Objevuje se pouze tehdy, pokud to umožňuje možnost vykázaní pohlavního chromozomu. Jinak se tato metrika zobrazuje v podobě NOT TESTED (Nezkoušeno).	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(-Inf, Inf)
number_of_cnv_events	Za vzorek	Počet oblastí částečné delece nebo duplikace zjištěných ve vzorku.	celé číslo	(0, Inf)
non_excluded_sites	Za vzorek	Počet čtení zbývajících po filtraci, jež se počítají pro analýzu.	celé číslo	(0, Inf)
region_classification	Za oblast	Klasifikace oblasti systémem ve stejném formátu jako pole anomaly_description (popis anomálie) ve výkazu NIPT. Jestliže u chromozomu X nebyla zjištěna žádná vykazovaná anomálie pohlavního chromozomu, bude klasifikace oblasti odpovídat hodnotě class_sx ve výkazu NIPT. Možné hodnoty (regulární výraz): 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>Hodnoty uvedené v popisu.</i>
chromosome	Za oblast	Znak chromozomu.	text	chr[12]?[0-9X]

Název metriky	Četnost	Popis	Typ	Regulární výraz nebo rozsah hodnot
start_base	Za oblast	První báze zahrnutá do oblasti.	celé číslo	[1, Inf)
end_base	Za oblast	Poslední báze zahrnutá do oblasti.	celé číslo	[1, Inf)
start_cytoband	Za oblast	Cytogenetický chromozomový region první báze zahrnuté do oblasti.	text	(p q)[0-9]{1,2}(\.[0-9]{1,2})?
end_cytoband	Za oblast	Cytogenetický chromozomový region poslední báze zahrnuté do oblasti.	text	(p q)[0-9]{1,2}(\.[0-9]{1,2})?
region_size_mb	Za oblast	Velikost oblasti v megabázích.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(0, Inf)
region_llr_trisomy	Za oblast	Skóre LLR (věrohodnostního poměru) pro trizomii za danou oblast. Označuje průkaz trizomie oproti průkazu absence změn (dizomie). O trizomii se jedná, pokud toto skóre LLR přesáhne předem stanovenou prahovou hodnotu. U částečných delecí nebo duplikací se tato metrika objeví pouze tehdy, jedná-li se o typ přírůstek (dup). V opačném případě se tato metrika zobrazí jako NA (not applicable) (Neuplatňuje se).	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(-Inf, Inf)
region_llr_monosomy	Za oblast	Skóre LLR pro monozomii za danou oblast. Označuje průkaz monozomie oproti průkazu absence změn (dizomie). O monozomii se jedná, pokud toto skóre LLR přesáhne předem stanovenou prahovou hodnotu. U částečných delecí nebo duplikací se tato metrika objeví pouze tehdy, jedná-li se o typ ztráta (del). V opačném případě se tato metrika zobrazí jako NA (not applicable) (Neuplatňuje se). Pokud se rozhodnete pro provedení základního vyšetření, zobrazí se tato metrika jako NOT TESTED (Nezkoušeno).	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(-Inf, Inf)
region_t_stat_long_reads	Za oblast	T-statistika dané oblasti. T-statistika je rozdíl v pokrytí mezi danou oblastí a zbytkem genomu ve srovnání s kolísáním ve vzorku. Jedná se o metriku odstupu signálu od šumu, která podchycuje zjiitelnost jakéhokoliv posunu v pokrytí v dané oblasti. Hodnota „long_reads“ značí, že pokrytí použité pro tuto t-statistiku zahrnuje celý rozsah velikostí fragmentů použitých v analýze. T-statistika je kombinována s odhadem fetální frakce za daný vzorek za účelem výpočtu skóre LLR.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(-Inf, Inf)

Název metriky	Četnost	Popis	Typ	Regulární výraz nebo rozsah hodnot
region_mosaic_ratio	Za oblast	Podíl fetálního materiálu, který je aneuploidní. Tato metrika vychází z poměru fetální frakce odvozené z pokrytí dané oblasti k fetální frakci vzorku. Ve vzorcích, kde se fetální frakce blíží nule, mohou mozaikové poměry nabývat záporných hodnot vzhledem k proměnlivosti odhadu fetální frakce vzorku použitého při jejich výpočtu.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(-Inf, Inf)
region_mosaic_llr_trisomy	Za oblast	Skóre LLR pro trizomii vypočtené pomocí fetální frakce odvozené od pokrytí v dané oblasti namísto fetální frakce za vzorek. U částečných delecí nebo duplikací se tato metrika objeví pouze tehdy, jedná-li se o typ přírůstek (dup). V opačném případě se tato metrika zobrazí jako NA (not applicable) (Neuplatňuje).	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(-Inf, Inf)
region_mosaic_llr_monosomy	Za oblast	Skóre LLR pro monozomii vypočtené pomocí fetální frakce odvozené od pokrytí v dané oblasti namísto fetální frakce za vzorek. U částečných delecí nebo duplikací se tato metrika objeví pouze tehdy, jedná-li se o typ ztráta (del). V opačném případě se tato metrika zobrazí jako NA (not applicable) (Neuplatňuje se). Pokud se rozhodnete pro provedení základního vyšetření, zobrazí se tato metrika jako NOT TESTED (Nezkoušeno).	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(-Inf, Inf)

Výkaz zneplatnění vzorku

U každého zneplatněného nebo neúspěšného vzorku systém vytvoří výkaz zneplatnění vzorku.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Jedinečný čárový kód zneplatněného vzorku.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reason	Důvod pro zrušení vzorku zadaný uživatelem.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
operator	Uživatelské jméno obsluhy, která vzorek zneplatnila.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Datum a čas zneplatnění vzorku.	časové razítko podle ISO 8601	

Výkaz zrušení vzorku

U každého zrušeného vzorku systém vytvoří výkaz zrušení vzorku.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Jedinečný čárový kód zrušeného vzorku.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reason	Důvod zrušení vzorku zadaný uživatelem	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
operator	Uživatelské jméno obsluhy, která vzorek zrušila.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Datum a čas zrušení vzorku.	časové razítko podle ISO 8601	

Výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu

Výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu ukazuje, že zneplatněný fond lze znovu sloučit. Systém generuje výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu tehdy, pokud je pro daný typ fondu zneplatněn první z obou možných běhů sekvenování (fondů).

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_type	Typ fondu.	výčet	A B C E
reason	Uživatelé zadaný důvod zneplatnění předchozího fondu.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Datum a čas žádosti.	časové razítko podle ISO 8601	

Výkazy zpracování

Výkaz zavedení dávky

Systém vytvoří výkaz zavedení dávky, když dojde k úspěšnému zavedení a ověření dávky před izolací plazmy.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Jedinečný čárový kód vzorku.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_type	Typ vzorku čárového kódu vzorku.	výčet	singleton control twin ntc
well	Jamka přidružená ke vzorku.	text	^[a-zA-Z]{1,1}[0-9]{1,2}\$
assay	Název rozboru.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$
method_version	Verze metody automatizace rozboru.	text	VeriSeq v2 NIPT Assay
workflow_manager_version	Verze aplikace Workflow Manager pojící se s dávkou.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$

Výkaz zneplatnění dávky

Systém vytvoří výkaz zneplatnění dávky, když dojde ke zneplatnění nebo selhání dávky.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reason	Uživatelé zadáný důvod pro zneplatnění dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
operator	Iniciály obsluhy, která provedla zneplatnění dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Datum a čas zneplatnění dávky.	časové razítko podle ISO 8601	

Výkaz vzorku knihovny

Systém vytvoří výkaz vzorku knihovny při chybě nebo zneplatnění dávky, při úspěšném dokončení knihovny a při úspěšném dokončení kvantifikace.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Jedinečný čárový kód vzorku.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
qc_status	Stav vzorku po dokončení kroků rozboru.	výčet	pass fail
qc_reason	Důvod stavu kontroly kvality.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
starting_volume	Počáteční objem (ml) v odběrové zkumavce s krví v čase izolace plazmy.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
index	Index přidružený ke vzorku.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
ccn_library_pg_ul	Koncentrace knihovny v pg/μl.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
plasma_isolation_comments	Připomínky uživatele ke provedení izolace plazmy (volný text).	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$
cfDNA_extraction_comments	Připomínky uživatele k provedení extrakce cfDNA (volný text).	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$
library_prep_comments	Připomínky uživatele k provedení přípravy knihovny (volný text).	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$
quantitation_comments	Připomínky uživatele k provedení kvantifikace (volný text).	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$

Výkaz reagentie knihovny

Systém vytvoří výkaz reagentie knihovny při chybě nebo zneplatnění dávky, při úspěšném dokončení knihovny a při úspěšném dokončení kvantifikace.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
process	Název zpracování ve formátu ZPRACOVÁNÍ:zpracování Možné hodnoty: <ul style="list-style-type: none"> • ISOLATION (Izolace) – batch_validation, prespin, postspin, data_transact. • EXTRACTION (Extrakce) – setup, chemistry, data_transact. • LIBRARY (Knihovna) – setup, chemistry, data_transact, complete. • QUANT (Kvantifikace) – setup, build_standards, build_384, analysis, data_transact. • POOLING (Slučování do fondu) – analysis, setup, pooling, data_transact, complete. 	text	^[A-Z]{1,36}: [a-z0-9_-]{1,36}\$
reagent_name	Název reagentie.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
lot	Čárový kód reagentie.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
expiration_date	Datum konce použitelnosti ve formátu výrobce.	text	^[a-zA-Z0-9:/_-]{1,100}\$
operator	Uživatelské jméno obsluhy.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
initiated	Časové razítko zahájení přidružená k reagentii.	časové razítko podle ISO 8601	

Výkaz laboratorního vybavení knihovny

Systém vytvoří výkaz laboratorního vybavení knihovny při chybě nebo zneplatnění dávky, při úspěšném dokončení knihovny a při úspěšném dokončení kvantifikace.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
labware_name	Název laboratorního vybavení.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
labware_barcode	Čárový kód laboratorního vybavení.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
initiated	Časové razítko zahájení přidružené k laboratornímu vybavení.	časové razítko podle ISO 8601	

Výkaz kvantifikace knihovny

Systém vytvoří výkaz kvantifikace knihovny při úspěšném dokončení kvantifikace.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
quant_id	Číselná identifikace.	dlouhé celé číslo	
instrument	Název kvantifikačního nástroje (volný text).	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
standard_r_squared	R na druhou.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
standard_intercept	Průsečík.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
standard_slope	Sklon.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
median_ccn_pg_ul	Mediánová koncentrace vzorku.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
qc_status	Stav kontroly kvality kvantifikace.	výčet	pass fail
qc_reason	Popis důvodu případného neúspěchu.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
initiated	Časové razítko zahájení přidružené ke kvantifikaci.	časové razítko podle ISO 8601	

Protokol zpracování knihovny

Systém generuje protokol zpracování knihovny při zahájení a dokončení každého dávkového zpracování nebo při jeho neúspěchu, při neúspěchu nebo zneplatnění dávky a při dokončení analýzy (vytvořené pro každý fond).

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
process	Název dávkového zpracování ve formátu ZPRACOVÁNÍ:dílčí zpracování. Možné hodnoty: ISOLATION (Izolace) – batch_validation, prespin, postspin, data_transact. EXTRACTION (Extrakce) – setup, chemistry, data_transact. LIBRARY (Knihovna) – setup, chemistry, data_transact, complete. QUANT (Kvantifikace) – setup, build_standards, build_384, analysis, data_transact. POOLING (Slučování do fondu) – analysis, setup, pooling, data_transact, complete.	text	^[A-Z]{1,36}:[a-z0-9_-]{1,36}\$
operator	Iniciály obsluhy.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
instrument	Název přístroje.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
started	Datum a čas zahájení zpracování dávky.	časové razítko podle ISO 8601	

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
finished	Datum a čas úspěšného nebo neúspěšného dokončení zpracování dávky.	časové razítko podle ISO 8601	
status	Aktuální dávka.	výčet	completed failed started aborted

Výkaz fondu

Systém vytvoří výkaz fondu při úspěšném dokončení knihovny, při chybě dávky a při zneplatnění dávky, pokud k dané události dojde po zahájení vkládání do fondu.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Jedinečný čárový kód vzorku.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode	Čárový kód fondu přidružený ke vzorku.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_type	Typ fondu přidružený ke vzorku.	výčet	A B C E
pooling_volume_ul	Objem ve fondu v mikrolitrech.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
pooling_comments	Připomínky uživatele ke slučování do fondu (volný text).	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$

Výkaz zneplatnění fondu

Systém vytvoří výkaz zneplatnění fondu, když dojde ke zneplatnění fondu.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode	Čárový kód zneplatněného fondu.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reason	Důvod pro zneplatnění fondu zadáný uživatelem.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
operator	Iniciály obsluhy, která provedla zneplatnění fondu.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Datum a čas zneplatnění fondu.	časové razítko podle ISO 8601	

Výkaz sekvencování

Po dokončení sekvencování nebo po vypršení doby na sekvencování systém vytvoří výkaz sekvencování pro běh sekvencování.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode	Čárový kód fondu přidružený k běhu sekvenování.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
instrument	Výrobní číslo sekvenceru.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
flowcell	Průtoková kyveta přidružená k běhu sekvenování.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
software_version	Propojení softwarové aplikace/verze, která slouží k analýze dat v sekvenceru.	text	
run_folder	Název složky běhu sekvenování.	text	^[a-zA-Z0-9_-]+\$
sequencing_status	Stav běhu sekvenování.	výčet	completed timed out failed
qc_status	Stav kontroly kvality daného běhu sekvenování.	výčet	pass fail error
qc_reason	Příčiny neúspěchu při kontrole kvality, hodnoty oddělené středníkem.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
cluster_density	Hustota klastrů (medián na průtokovou kyvetu v dlaždicích).	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
pct_q30	Procento bází nad Q30.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
pct_pf	Procento čtení procházející filtrem.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
phasing	Fázování.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
prephasing	Předfázování.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
predicted_aligned_reads	Předpokládaná uspořádaná čtení.	dlouhé celé číslo	
started	Časové razítko přidružené k zahájení sekvenování.	časové razítko podle ISO 8601	
completed	Časové razítko přidružené k dokončení sekvenování.	časové razítko podle ISO 8601	

Výkaz o nezdařené analýze

Pokud selže maximální počet pokusů o analýzu pro běh sekvencování, systém vygeneruje Výkaz o nezdařené analýze.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode	Čárový kód spojený s nezdařenou analýzou.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
flowcell	Čárový kód průtokové kyvety spojený s nezdařenou analýzou.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sequencing_run_folder	Složka běhu sekvenování spojeného s nezdařenou analýzou.	text	^[a-zA-Z0-9_]+\$
analysis_run_status	Stav běhu sekvenování spojeného s nezdařenou analýzou.	text	^[a-zA-Z0-9_]+\$
timestarted	Časové razítko přidružené k zahájení analýzy.	časové razítko podle ISO 8601	
timefinished	Časové razítko přidružené k nezdařené analýze.	časové razítko podle ISO 8601	

Příloha C Řešení problémů

Úvod	57
Oznámení Assay Software	58
Problémy se systémem	65
Zkoušky zpracování dat	65

Úvod

VeriSeq NIPT Solution v2 nabízí pomoc při řešení problémů, která obsahuje následující:

- ▶ oznámení od Assay Software a systémová oznámení,
- ▶ doporučené akce v případě problémů se systémem,
- ▶ pokyny k provedení preventivní a chybové analýzy pomocí předinstalovaných zkušebních dat.

Oznámení Assay Software

Tato část popisuje oznámení Assay Software:

Oznámení o průběhu

Oznámení o průběhu signalizují normální průběh provádění rozboru. Tato oznámení se zaznamenávají jako „aktivity“ a nevyžadují zásah uživatele.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučená akce
Batch Initiation (Zahájení dávky)	Příprava knihovny	Uživatel vytvořil novou dávku.	Aktivita	Ano	Nepoužívá se.
Batch Library Complete (Knihovna pro dávku je dokončena)	Příprava knihovny	Knihovna byla pro aktuální dávku dokončena.	Aktivita	Ne	Nepoužívá se.
Pool Complete (Fond je dokončen)	Příprava knihovny	Fond byl vytvořen z dávky.	Aktivita	Ne	Nepoužívá se.
Sequencing Started (Sekvencování bylo zahájeno)	Sekvencování	System zjistil novou složku dat ze sekvencování.	Aktivita	Ne	Nepoužívá se.
Sequencing QC passed (Kontrola kvality sekvencování proběhla úspěšně)	Sekvencování	Běh sekvencování byl dokončen a kontrola kvality sekvencování proběhla úspěšně.	Aktivita	Ne	Nepoužívá se.
Běh sekvencování sdružený s fondem	Sekvencování	Běh sekvencování byl úspěšně sdružen se známým fondem.	Aktivita	Ne	Nepoužívá se.
Analysis Started (Analýza byla zahájena)	Analýza	Analýza zadaného běhu sekvencování byla zahájena.	Aktivita	Ano	Nepoužívá se.
Analysis Completed NIPT Report Generated (Analýza byla dokončena, byl vytvořen výkaz NIPT)	Následné zpracování analýzy	Analýza byla dokončena a byly vytvořeny výkazy.	Aktivita	Ano	Nepoužívá se.

Oznámení o zneplatnění

Oznámení o zneplatnění signalizují události, ke kterým dochází v systému v důsledku toho, že uživatel zneplatní dávku nebo fond prostřednictvím rozhraní softwaru Workflow Manager. Tato oznámení se zaznamenávají jako „oznámení“ a nevyžadují zásah uživatele.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučená akce
Batch Invalidation (Zneplatnění dávky)	Příprava knihovny	Uživatel zneplatnil dávku.	Upozornění	Ano	Nepoužívá se.
Pool Invalidation – Repool (Zneplatnění fondu – opětovné vložení do fondu)	Příprava knihovny	Uživatel zneplatnil první možný fond (určitého typu) pro dávku.	Upozornění	Ano	Nepoužívá se.
Pool Invalidation – Use second aliquot (Zneplatnění fondu – použijte druhou poměrnou část)	Příprava knihovny	Uživatel zneplatnil první možný fond (určitého typu) pro dávku.	Upozornění	Ano	Nepoužívá se.
Sequencing Completed Pool Invalidated (Sekvencování dokončeno, fond zneplatněn)	Sekvencování	Běh sekvencování byl dokončen, ale fond byl zneplatněn uživatelem.	Upozornění	Ano	Nepoužívá se.
Sequencing QC passed – All samples are invalid (Kontrola kvality sekvencování úspěšná – všechny vzorky jsou neplatné)	Kontrola kvality sekvencování	Kontrola kvality běhu sekvencování byla dokončena, ale všechny vzorky jsou neplatné.	Upozornění	Ano	Nepoužívá se.
Analysis Completed Pool Invalidated (Analýza dokončena, fond zneplatněn)	Následné zpracování analýzy	Analýza byla dokončena, ale fond byl zneplatněn uživatelem.	Upozornění	Ano	Nepoužívá se.

Oznámení opravitelných chyb

Opravitelné chyby jsou chybové stavy, ze kterých se může software VeriSeq NIPT Assay Software zotavit, pokud uživatel provede doporučenou akci. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučená akce
Missing Instrument Path (Není zadána cesta k nástroji)	Sekvencování	Systém nemůže nalézt externí složku sekvencování nebo se k ní nemůže připojit.	Výstraha	Ano	<ul style="list-style-type: none"> Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> na straně 64 Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.
Insufficient Disk Space for Sequencing (Nedostatek místa na disku pro sekvencování)	Sekvencování	Systém našel novou složku s daty sekvencování, avšak vyhodnotil, že na disku není pro tato data dost místa.	Výstraha	Ano	<ol style="list-style-type: none"> Zkontrolujte volné místo na disku. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> na straně 64. Uvolněte místo na disku nebo zázalohujte data. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> na straně 64.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučená akce
Sequencing Run Invalid Folder (Neplatná složka běhu sekvenování)	Sekvenování	Ve složce běhu sekvenování jsou neplatné znaky.	Varování	Ano	Složka běhu sekvenování byla nesprávně přejmenována. Přejmenujte běh na platný název.
Sekvenování bylo zahájeno, ale chybí soubor s čárovým kódem fondu	Sekvenování	Software nenalezl soubor obsahující čárový kód fondu do 30 minut od zahájení sekvenování.	Varování	Ano	Možné selhání sekvenčeru nebo NAS. Zkontrolujte konfiguraci sekvenčeru a síťové připojení. Systém bude hledat soubor s čárovým kódem fondu, dokud sekvenování neskončí.
Cannot Verify Sequencing Run Completion (Nelze ověřit dokončení běhu sekvenování)	Sekvenování	Software nemůže přečíst soubor stavu dokončení běhu ve složce sekvenování.	Varování	Ano	Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.
Missing Sample Attributes (Chybějící atributy vzorku)	Předběžná analýza	Software u některých vzorků nenalezl určení typu vzorku, možnosti pohlavního chromozomu nebo typu vyšetření.	Upozornění	Ano	Pro daný vzorek nebyl poskytnut jeden atribut nebo více atributů vzorku. Zadejte chybějící atributy vzorku do aplikace Workflow Manager, nebo vzorek zneplatněte, aby software mohl pokračovat ve zpracování.
Sample Sheet Generation failed (Vytvoření seznamu vzorků se nezdařilo)	Předběžná analýza	Softwaru se nepodařilo vytvořit seznam vzorků.	Výstraha	Ano	<ul style="list-style-type: none"> Zkontrolujte volné místo na disku. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> na straně 64. Pokud je málo místa, uvolněte místo na disku nebo zazálohujte data. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> na straně 64. Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte síťové připojení. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> na straně 64. Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.
Unable to check disk space (Nelze zkontrolovat místo na disku)	Předběžná analýza	Softwaru se nepodařilo zkontrolovat místo na disku.	Výstraha	Ano	<ul style="list-style-type: none"> Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> ID akce 2 na straně 64. Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.
Insufficient Disk Space for Analysis (Nedostatek místa na disku pro analýzu)	Předběžná analýza	Software zjistil, že na disku není dost místa pro spuštění nového běhu analýzy.	Výstraha	Ano	Uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> ID akce 3 na straně 64.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučená akce
Unable to launch Analysis Pipeline (Nelze spustit plán analýzy)	Předběžná analýza	Softwaru se nepodařilo spustit běh analýzy pro danou složku sekvenování.	Výstraha	Ano	Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.
Sequencing folder Read/Write permission failed (Nepodařilo se získat povolení pro čtení/zápis ve složce sekvenování)	Předběžná analýza	Softwarový test, který kontroluje povolení pro čtení/zápis ve složce běhu sekvenování, byl neúspěšný.	Varování	Ano	<ul style="list-style-type: none"> • Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím na straně 64</i>. • Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.
Analysis Failed - Retry (Analýza se nezdařila – opakujte)	Analýza	Analýza se nezdařila. Akce bude zopakována.	Upozornění	Ano	Žádná
Results Already Reported (Výsledky již byly hlášeny)	Systém	Software zjistil, že pro aktuální typ fondu již byl vytvořen výkaz NIPT.	Aktivita	Ano	Žádná
Unable to deliver email notifications (E-mailová oznámení nelze doručit.)	Systém	Systém nemůže doručit e-mailová oznámení.	Varování	Nepoužívá se	<ol style="list-style-type: none"> 1. Pro účely ověření zkontrolujte konfiguraci e-mailu definovanou v systému. Viz pokyny v části <i>Konfigurace e-mailových oznámení systému na straně 27</i>. 2. Odešlete zkušební e-mail. Viz pokyny v části <i>Konfigurace e-mailových oznámení systému na straně 27</i>. 3. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.
Time Skew Detected (Byla zjištěna časová odchylka)	Příprava knihovny	Software zjistil časovou odchylku více než 1 minutu mezi časovou známkou poskytnutou aplikací Workflow Manager a místním časem serveru.	Varování	Ne	<ol style="list-style-type: none"> 1. Zkontrolujte místní čas v počítači se softwarem Workflow Manager. 2. Zkontrolujte místní čas místního serveru uvedený ve webovém uživatelském rozhraní (karta Server Status (Stav serveru)).

Oznámení neopravitelných chyb

Neopravitelné chyby jsou podmínky, které dosáhly konečného stavu, kde již není možné provést žádnou akci, která by zajistila pokračování rozboru.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučená akce
Batch Failure (Chyba dávky)	Příprava knihovny	Kontrola kvality dávky se nezdařila.	Upozornění	Ano	Restartujte opláštění knihovny.
Report Generating Failure (Chyba při vytváření výkazu)	Vykazování	Systému se nezdařilo vytvořit výkaz.	Výstraha	Ano	<ul style="list-style-type: none"> Zkontrolujte volné místo na disku. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím na straně 64</i>. Pokud je málo místa, uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím na straně 64</i>. Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.
Failed to Parse Run Parameters file (Analýza souboru s parametry běhu se nezdařila.)	Sekvenování	Systému se nepodařilo otevřít nebo analyzovat soubor RunParameters.xml.	Varování	Ano	Soubor RunParameters.xml file je poškozen. Zkontrolujte konfiguraci sekvenceru a opakujte sekvenování fondu.
Unrecognized Run Parameters (Neznámé parametry běhu)	Sekvenování	Software čte parametry běhu, které nejsou kompatibilní.	Varování	Ano	Software nedokáže z konfiguračního souboru sekvenceru sestavit parametry běhu sekvenování. Zkontrolujte konfiguraci sekvenceru a opakujte sekvenování fondu.
Invalid Run Parameters (Neplatné parametry běhu)	Sekvenování	Čtení softwaru vyžadovalo parametry běhu, které nejsou s rozbohem kompatibilní.	Varování	Ano	Kontrola kompatibility softwaru se nezdařila. Zkontrolujte konfiguraci sekvenceru a opakujte sekvenování fondu.
No Pool Barcode found (Nebyl nalezen čárový kód fondu.)	Sekvenování	Software nemohl přiřadit průtokovou kyvetu běhu sekvenování ke známému čárovému kódu fondu.	Varování	Ano	Pravděpodobně se jedná o nesprávný čárový kód fondu. Opakujte sekvenování fondu.
Sekvenování bylo dokončeno, ale chybí soubor s čárovým kódem fondu	Sekvenování	Běh sekvenování byl dokončen, ale nebyl nalezen soubor obsahující čárový kód fondu.	Výstraha	Ano	Možná porucha sekvenceru. obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina a požádejte o pomoc.
Unable to read Pool Barcode File (Nelze načíst soubor s čárovým kódem fondu)	Sekvenování	Soubor obsahující čárový kód fondu je poškozený.	Výstraha	Ano	Možné selhání sekvenceru nebo sítě. obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina a požádejte o pomoc.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučená akce
Pool Barcode File Mismatch (Nesprávné spárování souboru s čárovým kódem fondu)	Sekvenování	Nalezený soubor s čárovým kódem fondu odkazuje na jiný ID průtokové kyvety než je ten, jenž byl přidružen k běhu sekvenování.	Výstraha	Ano	Možná porucha sekvenceru. Obratě se na technickou podporu společnosti Illumina a požádejte o pomoc.
Sequencing timed out (Čas na sekvenování vypršel.)	Sekvenování	Běh sekvenování nebyl v dané lhůtě dokončen.	Varování	Ano	Zkontrolujte sekvencer a síťové připojení. Opakujte sekvenování fondu.
Sequencing QC files generation failed (Vytvoření souborů kontroly kvality sekvenování se nezdařilo.)	Kontrola kvality sekvenování	Běh sekvenování je dokončen, ale soubory InterOp QC jsou poškozeny.	Výstraha	Ano	Zkontrolujte sekvencer a síťové připojení. Opakujte sekvenování fondu.
Sequencing QC failed (Kontrola kvality sekvenování se nezdařila.)	Kontrola kvality sekvenování	Běh sekvenování je dokončen, ale kontrola kvality sekvenování se nezdařila.	Upozornění	Ano	Opakujte sekvenování fondu.
Analysis Failed for Maximum number of attempts (Analýza se nezdařila z důvodu dosažení maximálního počtu pokusů.)	Analýza	Všechny pokusy o analýzu selhaly. Další pokus nebude.	Varování	Ano	Opakujte sekvenování druhého fondu.
Analysis Post-Processing Failed (Následné zpracování analýzy se nezdařilo)	Následné zpracování analýzy	Softwaru se nepodařilo následně zpracovat výsledky analýzy.	Výstraha	Ano	<ul style="list-style-type: none"> • Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím na straně 64</i>. • Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.
Analysis Upload Failed (Odeslání analýzy se nezdařilo.)	Následné zpracování analýzy	Softwaru se nepodařilo odeslat výsledky analýzy do databáze.	Výstraha	Ano	<ul style="list-style-type: none"> • Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím na straně 64</i>. • Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.

Postupy k doporučeným akcím

ID akce	Doporučená akce	Postup
1	Zkontrolujte připojení k síti	<p>Zkontrolujte, zda je vzdálené úložiště NAS ve stejné síti jako místní počítač.</p> <ol style="list-style-type: none"> Na příkazovém řádku systému Windows (cmd) zadejte následující příkaz: ping <IP adresa serveru>. Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte také připojení k úložišti NAS. Zkontrolujte, zda nedochází ke ztrátě paketů. Pokud ke ztrátě paketů dochází, kontaktujte správce IT. Vyzkoušejte připojení: <ol style="list-style-type: none"> Přihlaste se k webovému uživatelskému rozhraní místního serveru. V nabídce Dashboard (Ovládací panel) vyberte možnost Folder (Složka). Vyberte možnost Test (Zkouška) a zkontrolujte úspěšnost provedené zkoušky. V případě neúspěšné zkoušky si přečtěte část <i>Úprava sdílené síťové jednotky na straně 25</i> a zkontrolujte správnost konfigurace všech nastavení.
2	Zkontrolujte volné místo na disku	<p>Ujistěte se, že počítač se systémem Windows je připojen ke vstupní složce místního serveru. Další informace naleznete v části <i>Mapování serverových jednotek na straně 31</i>. Klikněte pravým tlačítkem na jednotku, která je namapována ke složce Input (Vstup). Vyberte možnost Properties (Vlastnosti) a zkontrolujte informace o volném místě.</p>
3	Uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat.	<p>Společnost Illumina doporučuje pravidelné zálohování dat a/nebo ukládání dat sekvencování na server. Další informace naleznete v části <i>Správa sdílené síťové jednotky na straně 24</i>.</p> <ol style="list-style-type: none"> Postup pro data uložená místně na místním serveru: Ujistěte se, že počítač se systémem Windows je připojen ke vstupní složce místního serveru. Další informace naleznete v části <i>Mapování serverových jednotek na straně 31</i>. <ol style="list-style-type: none"> Dvakrát klikněte na složku Input (Vstup) a zadejte pověření pro přístup do složky. Data běhů sekvencování jsou uvedena s názvy složek odpovídajícími názvům běhů sekvencování. Odstraňte nebo zálohujte zpracované složky dat sekvencování. Postup pro data uložená ve vzdáleném úložišti NAS: Zkontrolujte, zda je vzdálené úložiště NAS ve stejné síti jako místní počítač. Opatřete si přístup ke složce ve vzdálené jednotce. K získání přístupu budete potřebovat pověření od správce IT. <ol style="list-style-type: none"> Data běhů sekvencování jsou uvedena s názvy složek odpovídajícími názvům sekvencních běhů. Odstraňte nebo zálohujte zpracované složky dat sekvencování.

Problémy se systémem

Problém	Doporučená akce
Software se nespustí.	Pokud se při spouštění Assay Software zjistí chyby, zobrazí se místo obrazovky Log In (Přihlášení) přehled všech chyb. Kontaktujte technickou podporu společnosti Illumina a nahláste zobrazené chyby.
Je požadováno obnovení databáze.	Pokud je požadováno obnovení databáze ze zálohy, obraťte se na terénního servisního technika společnosti Illumina.
Byla zjištěna změna parametrů systému.	Po zjištění změny parametrů systému přestane Assay Software zpracovávat komunikaci od ostatních součástí systému. Správce může systém resetovat zpět do normálního provozu poté, co systém přešel do stavu zjišťování změny parametrů.
Aktivuje se alarm řadiče RAID.	Správce může použít tlačítko Server alarm (Alarm serveru) na kartě Server Status (Stav serveru) v ovládacím panelu Assay SoftwareDashboard, čímž vypne zvuk alarmu řadiče RAID. Po použití tohoto tlačítka se obraťte na technickou podporu společnosti Illumina a požádejte o další pomoc.

Zkoušky zpracování dat

Předinstalované sady dat na místním serveru umožňují provozní zkoušení serveru a analytického nástroje.

Zkoušení serveru

Tato zkouška simuluje běh sekvenování a současně simuluje vytvoření výsledků analýzy, aniž by došlo ke skutečnému spuštění Analysis Pipeline. Spuštěním této zkoušky ověříte správnou funkci místního serveru a také vytváření výkazů a e-mailových oznámení. Doba trvání: Přibližně 3–4 minuty.

Postup

- Otevřete připojený vstupní adresář a potom otevřete složku TestingData (Zkušební data).
- Vytvořte si kopii jedné z následujících složek, které se nacházejí ve složce TestingData:
 - ▶ Pro data NextSeq: 170725_NS500110_0382_AHT3MYBGX2_Copy_Analysis_Workflow.
 - ▶ Pro data NextSeqDx: 180911_NDX550152_0014_XXXXXXXXDX_Copy_Analysis_Workflow.
- Přejmenujte kopii ve složce pomocí přípony _XXX. Přípona _XXX označuje pořadí sekvenování zkušebního běhu. Pokud se ve složce už nachází například složka s příponou _002, přejmenujte novou kopii na _003.
- Přesuňte přejmenovanou složku do vstupní složky.
- Počkejte 3–5 minut na dokončení běhu. Zkontrolujte, zda byla přijata následující e-mailová oznámení:
 - a Sequencing Run Analysis Started (Analýza běhu sekvenování byla zahájena)
 - b K běhu sekvenování byl vytvořen výkaz NIPT.

Přidruzte oba výkazy k názvu sekvenování, který je ke složce přiřazen.
- Ve výstupní složce otevřete složku TestData_NS_CopyWorkflow or TestData_NDX_CopyWorkflow a zkontrolujte jeden z následujících výkazů:
 - ▶ Pro NextSeq: TestData_NS_CopyWorkflow_C_TestData_NS_CopyWorkflow_PoolC_HT3MYBGX2_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab.

- ▶ Pro NextSeqDx: TestData_NDx_CopyWorkflow_C_TestData_NDx_CopyWorkflow_PoolC_XXXXXXXXDX_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab.

Očekávaná velikost souboru je přibližně 7 kB.

- 7 Přesuňte zkušební běh sekvencování zpět do složky TestingData (Zkušební data). Tento postup usnadňuje řízení počtu provedených zkoušek sekvencování.



POZNÁMKA

Abyste si vytvořili místo, můžete staré kopie souborů zkoušek vymazat.

Data ze zkoušky úplného běhu analýzy

Tato zkouška provádí úplný běh analýzy. Tuto zkoušku spusťte, pokud se serveru nepodaří zpracovat/analyzovat data nebo pokud vyprší časový limit. Doba trvání: Přibližně 4–5 hodin.

Postup

- 1 Otevřete připojený vstupní adresář a otevřete složku TestingData (Zkušební data).
- 2 Následující složku přejmenujte doplněním přípony _000: 180911_NDX550152_0014_XXXXXXXXDX_FullRun.
Tato přípona způsobí vytvoření jedinečného názvu pro každý běh sekvencování. Pokud již má daný běh v názvu nějakou příponu, přejmenujte složku tím, že zvýšíte číselnou hodnotu přípony o 1.
- 3 Přesuňte přejmenovanou složku do vstupní složky.
- 4 Počkejte 4–5 hodin na dokončení analýzy. Zkontrolujte, zda byla přijata následující e-mailová oznámení:
 - a Sequencing Run Analysis Started (Analýza běhu sekvencování byla zahájena)
 - b K běhu sekvencování byl vytvořen výkaz NIPT.Přidruďte oba výkazy k názvu sekvencování, který je ke složce přiřazen.
- 5 Ve výstupní složce otevřete složku TestData_NDx_FullRun a zkontrolujte následující výkaz: TestData_NDx_FullRun_C_TestData_NDx_FullRun_PoolC_XXXXXXXXDX_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab. Očekávaná velikost souboru je přibližně 7 kB.
- 6 Přesuňte zkušební běh sekvencování zpět do složky TestingData (Zkušební data).

Příloha D Další zdroje

Z webu společnosti Illumina si můžete stáhnout následující dokumentaci.

Zdroj	Popis
Příložená dokumentace k produktu VeriSeq NIPT Solution v2 (dokument č. 1000000078751)	Popisuje produkt a jeho určené použití a nabízí pokyny k používání spolu s postupy pro řešení problémů.
<i>Návod k obsluze linky Microlab® STAR</i> , Hamilton, ID dok. 624668	Poskytuje informace o provozu a údržbě spolu s technickými specifikacemi automatického přístroje na zpracování kapaliny Microlab STAR společnosti Hamilton.

Navštivte [stránky podpory](#) produktu VeriSeq NIPT Solution v2 na webu společnosti Illumina, kde naleznete dokumentaci, odkazy na stažení softwaru, online školení a přehled nejčastějších dotazů.

Příloha E Zkratky

Zkratka	Definice
BCL	Soubor volání báze
CE-IVD	Jednotné evropské značení pro diagnostický produkt <i>in vitro</i> .
cfDNA	Volná mimobuněčná DNA
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
DNS	Systém doménových názvů
FASTQ	Textový formát souboru pro ukládání výstupu sekvenačních nástrojů.
FF	Fetální frakce
FIFO	V pořadí, ve kterém dorazí
iFACT	Individualizovaná zkouška iFACT
IP	Internetový protokol
LIMS	Laboratorní systém správy informací
LIS	Laboratorní informační systém
LLR	Věrohodnostní poměry
MAC	Kontrola přístupu k médiu
NAS	Síťové úložiště
NES	Nevyloučené stránky
NGS	Třídění nové generace
NIPT	Neinvazivní prenatální zkouška
NTC	Žádná kontrola šablony
NTP	Protokol pro synchronizaci vnitřních hodin počítačů
PF	Procházející filtrem
PQ	Kvalifikace procesu
QC	Kontrola kvality
Regex	Regulární výraz. Sekvence znaků, kterou mohou použít algoritmy pro vyhledávání odpovídajících řetězců k validaci dat.
RTA	Analýza v reálném čase
RUO	Pouze pro účely výzkumu
SCA	Aneuploidie pohlavního chromozomu
SDS	Bezpečnostní listy
SHA1	Bezpečný hašovací algoritmus 1
SSL	Zabezpečený komunikační protokol

Technická pomoc

Pokud potřebujete technickou pomoc, obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina.

Web: www.illumina.com
E-mail: techsupport@illumina.com

Telefonní čísla na zákaznickou podporu společnosti Illumina

Oblast	Bezplatná linka	Regionální linka
Severní Amerika	+1 800 809 4566	
Austrálie	+1.800.775.688	
Belgie	+32 800 771 60	+32 340 029 73
Čína	400 066 5835	
Dánsko	+45 808 201 83	+45 898 711 56
Finsko	+358 800 918 363	+358 974 790 110
Francie	+33 805 102 193	+33 170 770 446
Hongkong	800960230	
Irsko	+353 180 093 6608	+353 016 950 506
Itálie	+39 800 985 513	+39 236 003 759
Japonsko	0800.111.5011	
Německo	+49 800 101 4940	+49 893 803 5677
Nizozemsko	+31 800 022 2493	+31 207 132 960
Norsko	+47 800 168 36	+47 219 396 93
Nový Zéland	0800.451.650	
Rakousko	+43 800 006 249	+43 192 865 40
Singapur	+1 800 579 2745	
Spojené království	+44 800 012 6019	+44 207 305 7197
Španělsko	+34 911 899 417	+34 800 300 143
Švédsko	+46 850 619 671	+46 200 883 979
Švýcarsko	+41 565 800 000	+41 800 200 442
Tchaj-wan	00806651752	
Ostatní země	+44.1799.534000	

Bezpečnostní listy (SDS) – k dispozici na webu společnosti Illumina na adrese support.illumina.com/sds.html.

Dokumentace k produktu – je k dispozici ke stažení z webu společnosti Illumina ve formátu PDF. Přejděte na web support.illumina.com, vyberte produkt a potom vyberte možnost **Documentation & Literature** (Dokumentace a literatura).



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, Kalifornie 92122 U.S.A.

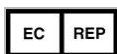
+1 800 809 ILMN (4566)

+1 858 202 4566 (mimo Severní Ameriku)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

CE
2797



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

Australský sponzor

Illumina Australia Pty Ltd

1 International Court

Scoresby, Victoria, 3179

Austrálie

URČENO K DIAGNOSTICE IN VITRO

© 2019 Illumina, Inc. Všechna práva vyhrazena.

illumina[®]