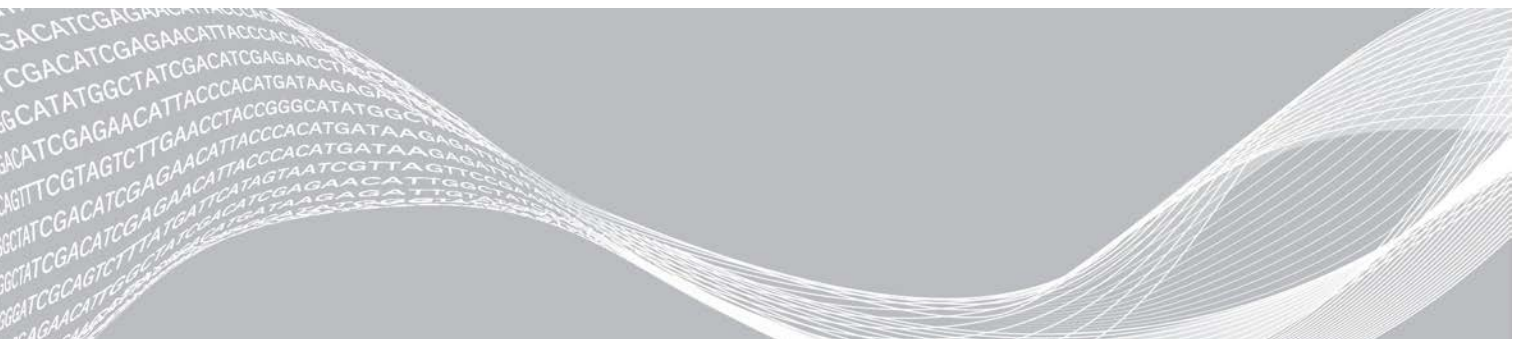


VeriSeq NIPT Solution

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

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

NEDODRŽENÍ POŽADAVKU NA PŘEČTENÍ CELÉHO TEXTU A NA DŮSLEDNÉ 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 SOFTWARE).

© 2021 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. 1000000001949 v04 | Srpna 2021 | Aktualizována adresa oprávněného zástupce v EU. |
| Dokument č. 1000000001949 v03 | Prosinec 2019 | Na zadním přebalu bylo přidáno číslo a adresy pro oznámení. Byly aktualizovány informace o nevyloučených stránkách a NCD a metriky v částech kontroly kvality analýzy. Byla opravena chyba v nadpisu a názvu produktu v části VeriSeq Onsite Server a opraven překlep ve velikosti databáze v části Místní databáze. |
| Dokument č. 1000000001949 v02 | Duben 2018 | V kapitole o aplikaci VeriSeq NIPT Workflow Manager byly provedeny následující úpravy: <ul style="list-style-type: none"> • Doplněn řádek Úprava atributů vzorku do tabulky v části VeriSeq NIPT Batch Manager. • Doplněny hodnoty batch_name a sample_barcode do tabulky Zadáání seznamu vzorků. • Doplněn úkol Úprava atributů vzorku. • Revidovány kroky úkolů Zneplatnění vzorku, Zněplatnění dávky a Zneplatnění fondu. • Přidána část Nahrání seznamu vzorků. • Doplněny informace o parametru Default Sex Chromosome Reporting (Vykazovat pohlavní chromozomy ve výchozím nastavení) v části Konfigurace rozboru. <p>Revidovány následující části v kapitole VeriSeq NIPT Assay Software:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Revidovány informace o počtu vzorků NTC na jeden běh v části Kontrola kvality vzorků NTC. • Doplněna poznámka o protokolu SMB (Server Message Box) v částech Místní disk a Mapování serverových jednotek. <p>Doplněny informace pro Austrálii na zadním přebalu.</p> |
| Dokument č. 1000000001949 v00 | Únor 2017 | První vydání |

Obsah

| | |
|---|-----------|
| Historie revizí | iii |
| Kapitola 1 VeriSeq NIPT Solution | 1 |
| Úvod | 1 |
| Architektura systému | 2 |
| Kapitola 2 VeriSeq NIPT Workflow Manager | 3 |
| Úvod | 3 |
| VeriSeq NIPT Method | 3 |
| VeriSeq NIPT Batch Manager | 3 |
| VeriSeq NIPT Services | 9 |
| Kapitola 3 Sekvenátor nové generace | 12 |
| Úvod | 12 |
| Fond sekvenování | 12 |
| Integrace datového úložiště | 12 |
| Výkonnostní možnosti analýzy | 13 |
| Omezení síťového provozu | 13 |
| Kapitola 4 VeriSeq NIPT Assay Software | 14 |
| Úvod | 14 |
| Assay Software | 14 |
| Webové uživatelské rozhraní | 18 |
| Analýza a vykazování | 26 |
| Místní server VeriSeq | 29 |
| Příloha A Metriky kontroly kvality | 32 |
| Metriky a meze kontroly kvality kvantitativního vyjádření | 32 |
| Metriky a meze kontroly kvality sekvenování | 33 |
| Metriky a meze analytické kontroly kvality | 34 |
| Kontrola kvality vzorků NTC | 35 |
| Příloha B Systémové výkazy | 36 |
| Úvod | 36 |
| Přehled systémových výkazů | 37 |
| Události vytváření výkazů | 38 |
| Výkazy výsledků a oznámení | 40 |
| Výkazy procesu | 44 |
| Příloha C Řešení problémů | 51 |
| Úvod | 51 |
| Oznámení Assay Software | 51 |

| | |
|-------------------------------------|-----------|
| Problémy se systémem | 59 |
| Zkoušky zpracování dat | 60 |
| Příloha D Další zdroje | 62 |
| Příloha E Zkratky | 63 |
| Technická pomoc | 64 |

VeriSeq NIPT Solution

| | |
|----------------------------|---|
| Úvod | 1 |
| Architektura systému | 2 |

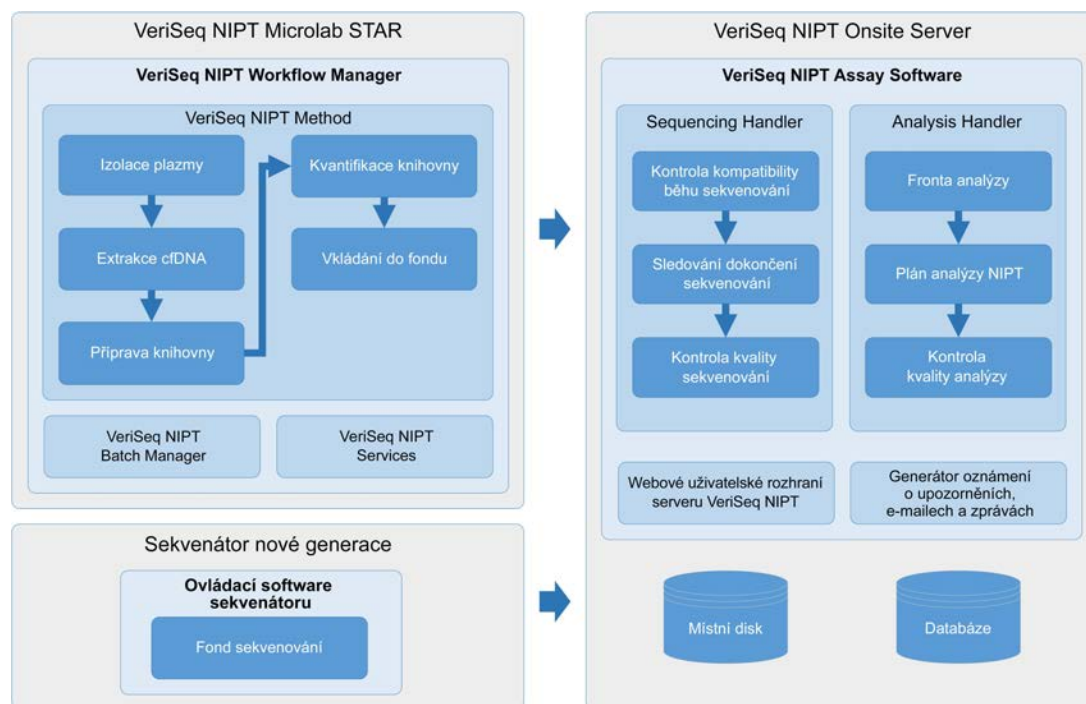
Úvod

VeriSeq NIPT Solution je diagnostický test *in vitro*, který je určen k použití jako sekvenovací vyšetřovací zkouška zjišťující aneuploidie plodu ze vzorků periferní plné krve žen, které jsou alespoň 10 týdnů těhotné. Test VeriSeq NIPT poskytuje informace o stavu aneuploidie pro chromozomy 21, 18, 13, X a Y. Tento produkt se nesmí používat jako jediný základ pro diagnostiku a další rozhodnutí týkající se řízení těhotenství.

Architektura systému VeriSeq NIPT Solution obsahuje následující:

- ▶ **VeriSeq NIPT Microlab STAR (ML STAR)** – automatizovaný přístroj pro zpracování kapalin, který používá software Workflow Manager VeriSeq NIPT 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 v souladu s návodem k použití, který naleznete v části *Příložená dokumentace k produktu VeriSeq NIPT Solution (dokument č. 1000000001856)*.
- ▶ **Sekvenátor nové generace (NGS)** – přístroj pro sekvenování genomu, který nabízí vytváření a sekvenování klastru přímo na přístroji. Ovládací software sekvenátoru poskytuje kroky k nastavení sekvenačního běhu a vytváří čtení sekvenování pro všechny vzorky v kvantifikovaném fondu knihovny. Data sekvenování vyhodnocuje Analysis Handler, který je součástí Assay Software.
- ▶ **VeriSeq Onsite Server** – samostatný server, který používá Assay Software k analýze párových koncových dat sekvenování. Assay Software nabízí různé statistiky včetně věrohodnostních poměrů, které lze použít k přístupu k přílišným nebo nedostatečným zastoupením chromozomů v jednotlivých vzorcích.

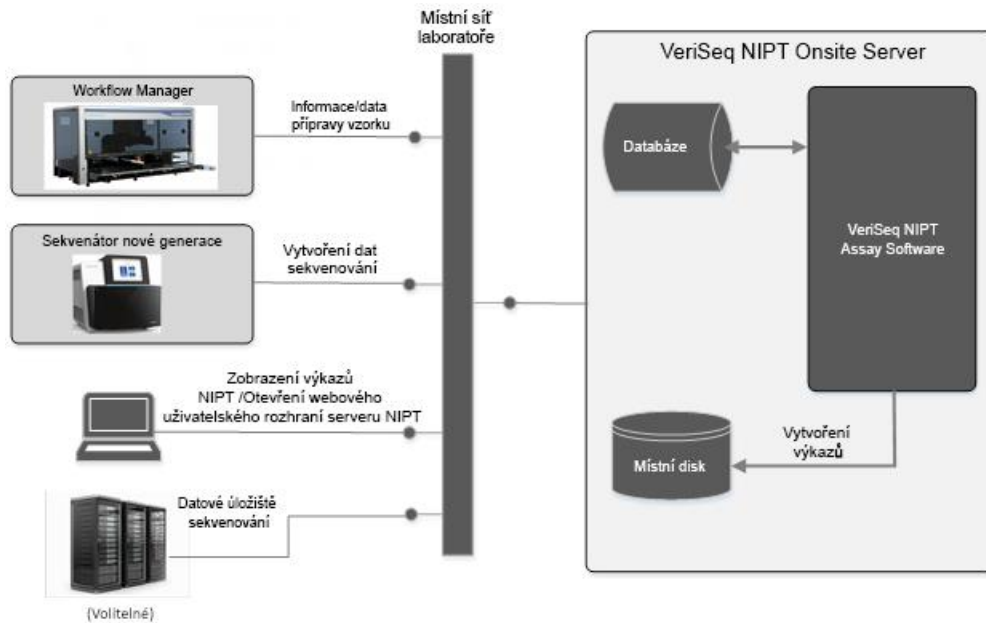
Obrázek 1 Součásti VeriSeq NIPT Solution



Architektura systému

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

Obrázek 2 Přehled produktu VeriSeq NIPT Solution



VeriSeq NIPT Workflow Manager

| | |
|----------------------------------|---|
| Úvod | 3 |
| VeriSeq NIPT Method | 3 |
| VeriSeq NIPT Batch Manager | 3 |
| VeriSeq NIPT Services | 9 |

Úvod

Software VeriSeq NIPT Workflow Manager (Workflow Manager) je nainstalovaný na zařízení ML STA, poskytuje jednoduché a intuitivní grafické uživatelské rozhraní a automatizuje přípravu krevních vzorků v souladu se softwarem VeriSeq NIPT Solution. Software Workflow Manager udržuje datové připojení k místnímu serveru za účelem zpracování a ukládání dat, sledování vzorků a prosazování logiky pracovního postupu.

Software Workflow Manager nabízí přístup ke třem metodám:

- ▶ 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, pozice zdroje a příznak vykazování pohlaví.
- ▶ **Extrakce cfDNA** – vyčistí cfDNA z 900 µl plazmy.
- ▶ **Příprava knihovny** – vytvoří z vyčištěné cfDNA knihovny, které jsou připraveny na sekvenování. 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. Skript R používá nezpracované odečty fluorescence ze čtečky mikroděsky a vypočítává koncentrace vzorků na základě standardní křivky.
- ▶ **Vkládání do fondu a normalizace** – kombinuje knihovny do jednotlivých fondů pro sekvenování. Druhý skript R používá v předchozím kroku určené koncentrace k výpočtu přiměřených objemů přenosu pro každý vzorek ve fondu, který je připravený na sekvenování.

VeriSeq NIPT Batch Manager

Aplikace VeriSeq NIPT Batch Manager (Batch Manager) řídí stav vzorků, dávek a fondů pomocí stejného rozhraní, které slouží k provádění automatizovaných postupů. Systém umožňuje sledování vzorků v několika systémech pro zpracování kapalin a sekvenátorech i prostřednictvím plánu analýzy. Další informace o postupech zpracování vzorků naleznete v části *Příložená dokumentace k produktu VeriSeq NIPT Solution (dokument č. 1000000001856)*.

Vzorky v pracovním postupu se řídí prostřednictvím následujících objektů:

| 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 se 48 nebo 96 vzorky zpracovávaná prostřednictvím extrakce cfDNA a procesu přípravy knihovny. |
| Fond | Normalizovaný a nařaděný objem knihoven s dvojitým indexem, které jsou připravené pro sekvenátor. 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 všechny vzorky ve fondu zneplatněny. Příklad: Celý objem fondu použitý během dvou chybných sekvenování. |
| QC Failure (Chyba kontroly kvality) | Vzorek | Sample Invalidation (Zneplatnění vzorku) | Software VeriSeq NIPT Solution automaticky označil vzorek jako neplatný kvůli chybě určené metricky kontroly kvality nebo kvůli systémem zjištěné chybě při zpracování kapaliny. |
| | Dávka | Batch Invalidation (Zneplatnění dávky) | Software VeriSeq NIPT Solution automaticky označil celou dávku jako 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 | Sample Sex Reporting (Vykazování pohlaví pro vzorek) | 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 Sex Type (Typ pohlaví ve vzorku) | Typ pohlaví nastavený uživatelem na hodnotu Singleton (Jedináček), Twin (Dvojče), NTC (Kontrola bez šablony) nebo Control (Kontrola). Výběr typu pohlaví vzorku přímo ovlivňuje analýzu testu. Pro přesné výsledky testu je třeba, aby byl typ pohlaví vzorku nastaven přesně. |

Po zneplatnění, chybě kontroly kvality nebo po zrušení akce se objekt dále nezpracovává. Laboratorní systémy správy informací (LIS/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 fondů sekvenování.

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). |

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 a výkazem pohlaví pro odeslání během vkládání 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. Data vzorků je nutné nahrát 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 sekvenačního běhu můžete pomocí aplikace VeriSeq NIPT Batch Manager změnit atributy vykazování pohlavních chromozomů 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 klikněte na tlačítko **OK**.
- 3 Na diagramu desky dávky klikněte na pozici zdroje přidruženého 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 Klikněte na příkaz **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 softwaru Workflow Manager, vyberte v okně Well Comments (Komentáře ke zdroji) jednotlivé zdroje, které chcete označit jako chybové, 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** (Chybový vzorek) a klikněte na tlačítko **OK**.
- 4 Potvrďte, že systém má vzorek považovat za chybový.

Zneplatnění vzorku 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:
 - ▶ Ve **Spouštěči aplikací** klikněte na možnost **VeriSeq NIPT Batch Manager**.
 - ▶ Na počítači připojeném k síti přejděte do umístění C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT. Pomocí **ovladače se systémem Hamilton** otevřete **metodický soubor Batch Manager** (VeriSeqNIPT_Batch_Manager.med).

Zneplatnění vzorku

- 1 Otevřete aplikaci Batch Manager.
- 2 Zadejte Batch ID (ID dávky) a User Name (Uživatelské jméno) nebo iniciály obsluhy a klikněte na tlačítko **OK**.
- 3 Na diagramu desky dávky klikněte na pozici zdroje přidruženého k chybovému vzorku.
- 4 Potvrďte, že se zobrazuje správný vzorek, a klikněte na možnost **Invalidate Sample** (Zneplatnit).

- 5 Zadejte příčinu chyby a klikněte na možnost **Invalidate** (Zneplatnit).
Na diagramu desky dávky se barva zneplatněných vzorků změní ze zelené na červenou a stav dávky se změní z platné na nezdařenou.

Zneplatnění dávky

- 1 Otevřete aplikaci Batch Manager.
- 2 Zadejte Batch ID (ID dávky) a User Name (Uživatelské jméno) nebo iniciály obsluhy a klikněte na tlačítko **OK**.
- 3 Na schématu desky dávky klikněte na možnost **Fail Batch** (Zneplatnit dávku).
- 4 Zadejte příčinu chyby a klikněte na 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.

Zneplatnění fondu

- 1 Otevřete aplikaci Batch Manager.
- 2 Zadejte Batch ID (ID dávky) a User Name (Uživatelské jméno) nebo iniciály obsluhy a klikněte na tlačítko **Pool Manager**.
- 3 Oskenujte čárový kód fondu.
- 4 Zadejte User Name (Uživatelské jméno) nebo iniciály obsluhy a klikněte na tlačítko **OK**.
- 5 Zadejte příčinu chyby a klikněte na 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 klikněte na tlačítko **OK**.
- 3 Klikněte na příkaz **Upload New Sample Sheet** (Nahrát nový seznam vzorků).
- 4 Vyberte požadovaný seznam vzorků a klikněte na tlačítko **OK**.

Zrušení vzorku

- 1 Otevřete aplikaci Batch Manager.
- 2 Zadejte Batch ID (ID dávky) a User Name (Uživatelské jméno) nebo iniciály obsluhy a klikněte na tlačítko **OK**.
- 3 Na diagramu desky dávky klikněte na pozici zdroje přidruženého ke zrušenému vzorku.
- 4 Potvrďte, že se zobrazuje správný vzorek, a klikněte na možnost **Cancel Sample** (Zrušit vzorek).
- 5 Zadejte příčinu chyby a klikněte na 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.

Otevřete ovladač se systémem Hamilton a potom otevřete soubor metody:

- ▶ Otevřete software VeriSeq NIPT Services ze spouštěče Hamilton AppLauncher.
NEBO
- ▶ C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT\VeriSeqNIPT_Service.med

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.

| Systémová zkouška | Popis |
|---|--|
| Barcode/Autoload (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. |
| BVS Vacuum | Zkouší funkčnost základních vakuových systémů na plošině (BVS), aby se potvrdilo, že vakuum je v provozu a dokáže dosáhnout provozních tlaků. |
| Independent Channel (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. |
| 96-Head (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.

- Postupujte podle pokynů na obrazovce, dělejte si poznámky z pozorování funkcí vybavení a zaznamenejte jakékoli vzniklé chyby.
- Po skončení klikněte na možnost **Abort** (Přerušit) a opusťte metodu.
- Pokud budete požádáni o protokoly sledování systému, které byly vytvořeny v průběhu zkoušky, naleznete je zde:
C:\Program Files (x86)\HAMILTON\LogFiles
A začněte s položkou VeriSeqNIPT_Services...

Service Tools (Nástroje služby)

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

| Systémová zkouška | Popis |
|--|---|
| Server Configuration (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. |
| Assay Configuration (Konfigurace rozboru) | Slouží k resetování výchozí koncentrace knihovny. |
| Deck Teach Tool | Slouží k exportu a importu výukových pozic plošiny ze souboru. |

Server Configuration (Konfigurace serveru)

Pokud se změní síťová adresa pro Onsite Server, nasměrujte software Workflow Manager na tuto novou adresu.

- V nabídce Services Tools (Nástroje služby) vyberte možnost **Server Configuration** (Konfigurace serveru).
- Aktualizujte adresu URL novou adresou místního serveru.
- Klikněte na možnost **Test Connection** (Vyzkoušet připojení).
Pokud tato zpráva nedorazí, obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina.
- Na obrazovce System Configuration (Konfigurace systému) klikněte na tlačítko **OK** a kliknutím na možnost **Apply** (Použít) uložte novou hodnotu.

Assay Configuration (Konfigurace rozboru)

Koncentrace knihovny sekvenátoru ve fondech sekvenátoru lze upravit pomocí softwaru Workflow Manager podle principu run-by-run v průběhu procesu vkládání do fondu (viz část *Příložená dokumentace k produktu VeriSeq NIPT Solution (dokument č. 1000000001856)*). Nástroj Assay Configuration (Konfigurace rozboru) lze použít i ke změně výchozí hodnoty této koncentrace.

Tento parametr určuje, který atribut bude přiřazen ke vzorkům, pokud při přípravě vzorku stisknete tlačítko Use Default (Použít výchozí). Tuto hodnotu lze změnit pomocí nástroje Assay Configuration (Konfigurace rozboru).

- Klikněte na možnost **Assay Configuration**. (Konfigurace rozboru).
- Upravte pole Target Library Concentration (pg/μl) (Cílová koncentrace knihovny (pg/μl)) na požadovanou hodnotu.
- Upravte parametr Default Sex Chromosome Reporting (Vykazovat pohlavní chromozomy ve výchozím nastavení) na požadovanou hodnotu.

- 4 Klikněte na možnost **Apply** (Použít).
Pokud nedojde k žádným chybám, výchozí cílová koncentrace knihovny v systému se opětovně nastaví.

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 Klikněte na možnost **Deck Teach Tool** (Nástroj Deck Teach Tool).
- 2 Klikněte na možnost **Export** (Exportovat).
- 3 Vyberte umístění pro výstup textového souboru, který obsahuje naučené pozice plošiny.
- 4 Klikněte na tlačítko **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).

Sekvenátor nové generace

| | |
|------------------------------------|----|
| Úvod | 12 |
| Fond sekvenování | 12 |
| Integrace datového úložiště | 12 |
| Výkonnostní možnosti analýzy | 13 |
| Omezení síťového provozu | 13 |

Úvod

Sekvenační systém nové generace vytváří čtení sekvenování pro všechny vzorky ve vyčísleném fondu knihoven a prostřednictvím serveru Onsite Server se integruje s VeriSeq NIPT Solution. Data sekvenování vyhodnocuje Analysis Handler, který je součástí Assay Software.

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

- ▶ integrace datového úložiště,
- ▶ výkonnostní možnosti analýzy,
- ▶ omezení síťového provozu.

Fond sekvenování

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

- ▶ vytvoření párových čtení s 2x 36 bázemi,
- ▶ kompatibilita s indexovými adaptéry v sadě pro přípravné zpracování vzorků VeriSeq NIPT,
- ▶ chemie s dvojitým barvením,
- ▶ automatické vytvoření souborů .BCL.

Integrace datového úložiště

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

Pro potřeby uložení dat připojte sekvenační systém nové generace k serveru Onsite Server pomocí jedné z následujících metod:

- ▶ Použijte místní server jako úschovnu dat. Při této konfiguraci je sekvenátor připojen přímo k serveru a udržuje data na místním disku.
- ▶ Pro laboratoř s vysokým výkonem použijte síťové úložiště (NAS). Nastavte sekvenační systém nové generace tak, aby udržoval data sekvenování přímo na určeném umístění v úložišti NAS. Při tomto nastavení nakonfigurujte Onsite Server tak, aby sledoval určené umístění v úložišti NAS, které umožňuje serveru sledovat následující sekvenační běhy. Pokud chcete zvýšit výkonnostní možnosti vzorků, můžete přidat několik sekvenačních systémů nové generace. Další informace o tom, jak připojit server k úložišti NAS, naleznete v části *Správa sdílené síťové jednotky na straně 23*.

Další informace o tom, jak připojit sekvenační systém nové generace k serveru nebo k úložišti NAS, naleznete v uživatelské příručce od výrobce.

Výkonnostní možnosti analýzy

Plán analýzy VeriSeq NIPT obvykle zpracovává sekvenační běh 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 vzorků x 4 = 192 vzorků za den. V případě zájmu o další řešení výkonnostních možností se obraťte na podporu společnosti Illumina.

Omezení síťového provozu

Software VeriSeq NIPT Solution využívá místní síť (LAN) laboratoře pro přenos dat mezi sekvenačním systémem nové generace, Onsite Serverem a úložištěm NAS (pokud je konfigurováno). 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 sekvenátor.
- ▶ Infrastruktura laboratoře může umožňovat použití jiných zdrojů síťového provozu, které je třeba vzít v úvahu.

VeriSeq NIPT Assay Software

| | |
|-----------------------------------|----|
| Úvod | 14 |
| Assay Software | 14 |
| Webové uživatelské rozhraní | 18 |
| Analýza a vykazování | 26 |
| Místní server VeriSeq | 29 |

Úvod

Místní server je ústřední součástí softwaru VeriSeq NIPT Solution a funguje jako propojovací bod mezi softwarem Workflow Manager, sekvenátorem nové generace a uživatelem. Místní server hostuje Assay Software, který je neustále spuštěn jako služba na pozadí.

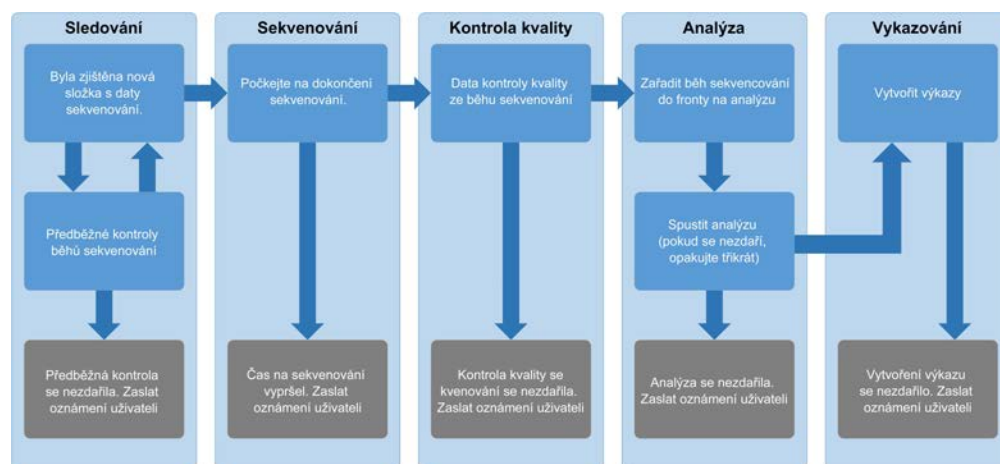
Assay Software vytváří statistiky za účelem vyhodnocení počtu kopií chromozomu ve zkoušených vzorcích a zajišťuje určení aneuploidie na cílových chromozomech 21, 18, 13, X a Y. Sekvenovací nástroj nové generace vytváří vstup pro analýzu v podobě párového koncového čtení s 36 bázemi. Assay Software seřadí 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 spojená s vysokým kolísáním v pokrytí euploidních vzorků. Data sekvenování se normalizují kvůli obsahu nukleotidů a také kvůli opravě dávkových účinků a dalších zdrojů nežádoucí proměnlivosti. Informace z délky fragmentu cfDNA se odvozuje z párového-koncového sekvenovacího čtení. 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 v každém vzorku. Pomocí těchto informací vytvoří VeriSeq NIPT Assay Software statistiky jednotlivých zkoušených chromozomů v každém vzorku a zajistí určení aneuploidie tím, že porovná následující:

- ▶ pravděpodobnost ovlivnění vzorku na základě normalizovaných dat sekvenování v oblasti,
- ▶ odhadovaná fetální frakce a pravděpodobnost neovlivnění vzorku při použití stejných informací.

Assay Software

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

Obrázek 3 Schéma toku dat



- 1 **Monitoring** (Sledování) – předběžně kontroluje platnost nového sekvenačního běhu. Kontroly platnosti zahrnují kontroly kompatibility parametrů běhu (zda hodnoty odpovídají očekávaným hodnotám) a přidružení průtokové kyvety 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.
- 2 **Sequencing** (Sekvenování) – nepřetržitě sleduje dokončování sekvenačního běhu. 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.
- 3 **QC** (Kontrola kvality) – kontroluje soubory InterOp QC, které vytvořil sekvenátor. 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.
- 4 **Analysis** (Analýza) – spravuje frontu analýzy několika sekvenačních běhů, 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 analýza narazí na problém nebo vyprší časový limit, Assay Software ji automaticky znovu spustí (až třikrát). Po každé chybě dostane uživatel oznámení e-mailovým oznamovacím systémem a v protokolu Alerts (Výstrahy) ve webovém uživatelském rozhraní.
- 5 **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 záznamu o přípravě vzorku** – na konci každého kroku vytváří skupinu výstupních souborů a ukládá je do složky ProcessLog, která se nachází ve složce Output (Výstup). Přehled naleznete v kapitole *Struktura souboru výkazů na straně 36* a podrobnosti v kapitole *Výkazy procesu na straně 44*.
- ▶ **Vytvoření oznámení o upozorněních, e-mailech a zprávách** – sleduje stav platnosti dávky, fondu a vzorku během kroků přípravy vzorku a kontroluje kvalitu dat sekvenování 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 je vzorek nebo fond zneplatněn na základě výsledku 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 mnohonásobný vzorek ve fondu pomocí algoritmu integrovaného komunikačního plánu. 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 40*.

- ▶ **Vytvoření souboru s výsledky** – poskytuje výsledky vzorku v souboru s hodnotami oddělenými tabelátorem, který je uložen do složky Output (Výstup). Více informací naleznete v kapitole *Struktura souboru výkazů na straně 36*.
- ▶ **Vytvoření výkazů** – Assay Software vytvoří výkazy o výsledcích, oznámeních a procesech. Další informace naleznete v části *Události vytváření výkazů na straně 38*.
- ▶ **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 43*.
 - ▶ **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 *Pool Retest Request Report (Výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu) na straně 43*.
- ▶ **Řízení opakované zkoušky** –
 - ▶ **Chyby fondů** – chybné fondy jsou obvykle fondy, které neprošly metrikou kontroly kvality sekvenování. Assay Software nepokračuje ve zpracování chybných fondů, pokud je běh dokončen. Opětné sekvenování s použitím poměrné části 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 vykážány. Opakování zpracování vzorku může být uskutečněno umístěním do nové dávky.

Uživatelské úkoly

VeriSeq NIPT Solution 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 [Přřazení uživatelských rolí na straně 21](#).

Sequencing Handler

Assay Software používá Sequencing Handler ke správě sekvenačních běhů vytvořených sekvenačními nástroji. Program identifikuje nové sekvenační běhy, 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 sekvenačního běhu se zastaví.

Po úspěšném dokončení ověření Assay Software pokračuje ve sledování dokončování sekvenačních běhů. Dokončené sekvenační běhy jsou řazeny do fronty ke zpracování pomocí programu Analytic Pipeline Handler (viz [Analytic Pipeline Handler na straně 17](#)).

Kompatibilita sekvenačního běhu

Server analyzuje pouze sekvenační běhy, které jsou kompatibilní s analytickým pracovním postupem cfDNA. K vytvoření volání báze používejte pouze kompatibilní metody sekvenování a verze softwaru.

**POZNÁMKA**

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

Sekvenování nakonfigurujte pomocí kompatibilních parametrů čtení.

- ▶ Párový-koncový běh se čteními v cyklu 36 x 36.
- ▶ Dvojitě indexování se dvěma osmicyklovými čteními indexu.

Analytic Pipeline Handler

Program Analytic Pipeline Handler spustí plán analýzy za účelem zjištění aneuploidie. Plán zpracovává sekvenační běhy 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 40](#).

Prodleva pracovního postupu a požadavky na úložiště

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

| Parametr | Výchozí hodnota |
|---|-----------------|
| Maximum Run Parameters Wait Time (Maximální čekací doba parametrů běhu) | 4 hodiny |
| Maximum Sequencing Time (Maximální doba sekvenování) | 20 hodin |
| Maximum Analysis Time (Maximální doba analyzování) | 10 hodin |
| Minimum Scratch Space Storage (Minimální pomocné místo úložiště) | 2 TB |

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 51*.
- ▶ **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 51*.
- ▶ **Configure the server network settings** (Konfigurovat nastavení serverové sítě) – pracovníci společnosti Illumina síť obvykle konfiguruje 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 24*.
- ▶ **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 21*.
- ▶ **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 30*.
- ▶ **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 25*.
- ▶ **Reboot or shutdown the server** (Restartovat nebo vypnout server) – v případě potřeby restartuje 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*.

Licenční smlouva s koncovým uživatelem

Při prvním přihlášení do webového uživatelského rozhraní budete požádáni o přijetí licenční smlouvy s koncovým uživatelem (EULA). Kliknutím na odkaz **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 21*.



POZNÁMKA

Technik nemá k žádným z těchto funkcí přístup.

| 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) | Změnit heslo uživatele pro přístup do úložiště NAS. |
| 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 Onsite Server otevřete některý z následujících webových prohlížečů:
 - ▶ Chrome verze 33 nebo novější
 - ▶ Firefox verze 27 nebo novější
 - ▶ Internet Explorer verze 11 nebo novější
- 2 Zadejte IP adresu nebo název serveru poskytnutý společností Illumina během instalace, odpovídající zápisu \\<IP adresa VeriSeq Onsite Server>\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 klikněte na **Log In** (Přihlásit).



POZNÁMKA

Po 10 minutách nečinnosti Assay Software aktuálního uživatele automaticky odhlásí.

Použití ovládacího panelu

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

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

Obrázek 4 Ovládací panel VeriSeq NIPT Assay Software

The screenshot shows a web dashboard with a header 'Dashboard' and a navigation bar with 'Recent activities', 'Recent errors', and 'Server status'. The 'Recent activities' tab is active, displaying a table of system events.

| 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_AHCLJBGXY' | Activity |
| 2016-07-29 05:23 PDT | | Assay | Sequencing QC passed for '160728_NS500411_0171_AHCLJBGXY' | 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_AHCLJBGXY' | 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) | 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"> • 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) | Datum a čas činnosti |
| User (Uživatel) | Pokud se používá, označuje uživatele, který činnost provedl. |

| Název | Popis |
|-----------------------|---|
| 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).

- ▶ **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

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 |
|-------------------------|---|
| Service (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. |
| Administrator (správce) | Laboratorní správce, který nastavuje a udržuje konfiguraci, spravuje uživatele, zadává seznam e-mailových odběratelů, mění heslo sdílené složky a restartuje a vypíná server. |
| Technician (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), „_“ (podtržítko) 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 klikněte na příkaz **Save** (Uložit).
- 3 Po zobrazení dialogového okna znovu klikněte na příkaz **Save** (Uložit), čímž změny potvrdíte.
Na obrazovce User Management (Správa uživatelů) se zobrazí změny uživatele.

Deaktivace uživatelů

Chcete-li deaktivovat uživatele:

- 1 Na obrazovce User Management (Správa uživatelů), vyberte požadované uživatelské jméno.
- 2 Zrušte označení zaškrťovacího políčka **Activate** (Aktivovat) a klikněte na položku **Save** (Uložit).
- 3 Potvrzovací zprávu potvrďte kliknutím na 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 sekvenování na určeném úložišti NAS, ne na serveru připojenému k sekvenačnímu systému. Úložiště NAS může poskytnout větší úložní kapacitu a nepřetržité zálohování dat.

- 1 V nabídce Dashboard (Ovládací panel) vyberte možnost **Folders** (Složky).
- 2 Klikněte na položku **Add folder** (Přidat složku).
- 3 Zadejte následující informace, které vám poskytl správce IT:
 - ▶ **Location** (Umístění) – celá cesta do umístění na úložišti NAS včetně složky, ve které jsou data uložena
 - ▶ **Username** (Uživatelské jméno) – uživatelské jméno určené pro Onsite Server, když přistupuje k úložišti NAS
 - ▶ **Password** (Heslo) – heslo určené pro Onsite Server, když přistupuje k úložišti NAS
- 4 Klikněte na položku **Save** (Uložit).
- 5 Kliknutím na položku **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 sekvenování.

Úprava sdílené síťové jednotky

- 1 V nabídce Dashboard (Ovládací panel) vyberte možnost **Folders** (Složky).
- 2 Upravte cestu v poli Location (Umístění) a klikněte na příkaz **Save** (Uložit).
- 3 Kliknutím na položku **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, klikněte na cestu do umístění.
- 3 Klikněte na 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 certifikát SSL.

Změna nastavení certifikátů

Certifikát SSL (Secure Socket Layer) je datový soubor, který umožňuje vytvořit zabezpečené propojení mezi serverem Onsite Server 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



POZNÁMKA

Kryptografický otisk certifikátu (SHA1) se zobrazí po vytvoření nebo opětovném vytvoření certifikátu. Další informace viz část *Obnovení certifikátu na straně 25*.

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



POZNÁMKA

Otisk SHA1 zajišťuje, že se uživatelům nebudou zobrazovat varování certifikátu při přístupu k softwaru VeriSeq NIPT Assay Software.

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 IP adresa) – IP adresa určená pro Onsite Server
 - ▶ **Subnet Mask** (Maska podsítě) – maska podsítě místní sítě
 - ▶ **Default Gateway Address** (Adresa výchozí brány) – IP adresa výchozího směrovače
 - ▶ **Hostname** (Název hostitele) – určený název odkazující na Onsite Server v síti (definovaný ve výchozím nastavení jako lokální hostitel (localhost))
 - ▶ **DNS Suffix** (Přípona DNS) – určená přípona DNS
 - ▶ **Nameserver 1 and 2** (Server názvů 1 a 2) – IP adresa nebo název serveru DNS pro servery synchronizace času podle protokolu NTP (Network Time Protocol)
 - ▶ **NTP Time Server 1 and 2** (Časový server NTP 1 a 2) – servery pro synchronizaci času podle protokolu NTP
 - ▶ **MAC Address** (Adresa MAC) – síťová adresa MAC serveru (pouze ke čtení)
 - ▶ **Timezone** (Časové pásmo) – místní časové pásmo serveru

- 2 Zkontrolujte správnost zadaných dat a kliknutím na možnost **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 Kliknutím na tlačítko **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, klikněte na **Regenerate Certificate and Reboot** (Obnovit certifikát a restartovat). Chcete-li skončit, klikněte na **Cancel** (Zrušit).

Konfigurace e-mailových oznámení systému

VeriSeq NIPT Assay Software komunikuje s uživateli zasláním e-mailových oznámení o postupu rozboru a výstrah, když se vyskytnou chyby nebo je vyžadován zásah uživatele. Část *Oznámení Assay Software* na straně 51 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@<e-mailová doména zákazníka>, kde <e-mailová doména zákazníka> 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) klikněte na 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 Kliknutím na možnost **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 Klikněte na položku **Save** (Uložit).

Analýza a vykazování

Po shromáždění dat sekvenování 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 sekvenování 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 sekvenační běh seznam vzorků (SampleSheet.csv). Tento soubor obsahuje informace o vzorcích poskytnutých do softwaru během přípravného zpracování vzorku (pomocí rozhraní API softwaru). Seznam vzorků obsahuje záhlaví s informacemi o běhu a deskriptorech pro vzorky zpracované v konkrétní průtokové kyvetě.

Následující tabulka nabízí podrobnosti o datech v seznamu vzorků.



POZNÁMKA

Uživatelům se důrazně nedoporučuje měnit nebo upravovat soubor seznamu vzorků, protože je vytvořen systémem a později to může způsobit nepříznivé účinky včetně nepovedené analýzy.

| Název sloupce | Popis |
|----------------|--|
| SampleID | Identifikace vzorku |
| SampleName | Název vzorku; výchozí; stejný jako SampleID |
| Sample_Plate | Identifikace desky pro daný vzorek; výchozí: prázdné |
| Sample_Well | Identifikace zdroje 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: 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 sekvenování

Metriky kontroly kvality sekvenování 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 sekvenování a jsou společné mnoha aplikacím sekvenování nové generace. Metrika předpokládaných uspořádaných čtení odhaduje úroveň průtokové kvety v hloubce sekvenování. 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 sekvenování 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 vypočítá odhad fetální frakce prostřednictvím předem určeného váženého průměru dvou hodnot; jedna hodnota je založena na rozdělení velikostí fragmentů cfDNA a druhá na rozdílech v genomickém pokrytí mezi cfDNA matky a plodu.¹

Statistiky použité v závěrečném vyhodnocování

V případě autozomů se data sekvenování párových konců uspořádají podle referenčního genomu (HG19). Jediné, 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 porovnáním oblastí pokrytí, které lze ovlivnit 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. Výpočet tohoto poměru zohledňuje také odhadovanou nepřesnost ve fetální frakci. V následných výpočtech se použije přirozený algoritmus LLR. 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.² 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.

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.

²Bianchi 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.

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. Analytická metrika kontroly kvality a přidružené krajní hodnoty nebo přijatelné rozsahy jsou uvedeny v části *Metriky a meze analytické kontroly kvality na straně 34*. Následující tabulka popisuje metriku.

| Kategorie | Metrika | Popis |
|---|--|---|
| Kontrola kvality výpočtů | Klastry | Označuje nízkou (pravděpodobnější) nebo vysokou (vysoko nepravděpodobnou) hustotu klastru. |
| Kontrola kvality výpočtů | NonExcludedSites (aligned_reads) | Označuje minimální hloubku sekvenování nutnou pro zjištění celkové aneuploidie. |
| Věrohodnostní skóre pro denominátory chromozomu | NCD_13 NCD_18 NCD_21 NCD_X NCD_Y | Označuje jednotnost pokrytí pro sekvenování celého genomu vzhledem k očekávanému chování. Vzorky, které neprojdou metrikou kontroly kvality, mohou mít buď silné genomové abnormality (mimo oblastí zájmu pro zjišťování aneuploidie), nebo knihovny pro tyto vzorky nejsou zkrácené. |
| Rozdělení velikosti fragmentu | FragSizeDist (frag_size_dist) | Označuje rozdělení velikosti fragmentu cfDNA vzhledem k očekávanému chování. Například sdílená genomová DNA má jiné rozdělení velikosti fragmentu než cfDNA a neprojde touto metrikou. |
| Pokrytí vzhledem k fetální frakci | NES_FF_QC | Označuje dostatečnost hloubky sekvenování pro jakýkoli vzorek při dané odhadované fetální frakci. Zjištění aneuploidie u vzorků s vysokou fetální frakcí při dané míře spolehlivosti může být dosaženo při nižší hloubce sekvenování než u vzorků s nízkou fetální frakcí. |
| Pokrytí vzhledem k fetální frakci | iFACT | Označuje, zda byla pozorována dostatečná hloubka sekvenování pro jakýkoli vzorek při dané odhadované fetální frakci. Zjištění aneuploidie u vzorků s vysokou fetální frakcí při dané míře spolehlivosti může být dosaženo při nižší hloubce sekvenování než u vzorků s nízkou fetální frakcí. |

Kontrola kvality vzorků NTC

Software VeriSeq NIPT Solution umožňuje přidání vzorků NTC jako součást běhu. Zařízení ML STAR může vytvořit až 2 vzorky NTC na jeden běh dávky se 48 vzorky, resp. 4 vzorky 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 sekvenování 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).

Místní server VeriSeq

Místní server VeriSeq pracuje v operačním systému Linux a poskytuje přibližně 7,5 TB úložné kapacity pro data. Za předpokladu, že jeden sekvenační běh 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).

Archivování dat

Společnost Illumina doporučuje archivaci složek /data01/runs a data01/analysis_output v souladu s pravidly archivace místního oddělení IT. Assay Software sleduje zbývající místo na disku ve složce /data01/runs a pošle uživateli e-mailové oznámení, když se zbývající kapacita úložiště dostane pod 1 TB.

Onsite Server nepoužívejte pro ukládání dat. Přesuňte data na analytický server a v pravidelných intervalech je archivujte.

Typický sekvenační běh, který je kompatibilní s analytickým pracovním postupem cfDNA, vyžaduje 25–30 GB pro běhy sekvenátoru nové generace. Skutečná velikost složky běhu závisí na konečné hustotě klastru. Server poskytuje více než 7,5 TB úložného prostoru. Je to dostatek místa pro přibližně 300 sekvenačních běhů.

Data archivujte, pouze když je systém nečinný a neprovádí se žádná analýza ani sekvenační běhy.

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 sekvenačním systémem 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. Je třeba na mapovaných zařízeních (notebook nebo stolní počítač) tento protokol povolit.

Místní databáze

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

- **Database backup** (Zálohování databáze) – Jednou za hodinu, za den 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 Onsite Server použít jako hlavní úložiště sekvenačních běhů, 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. Onsite Server nevyžaduje od uživatele provedení údržby. Aktualizaci softwaru Assay Software nebo samotného serveru Onsite Server zajišťuje technická podpora společnosti Illumina.

Mapování serverových jednotek

Onsite 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 sekvenačnímu systému. Nakonfigurujte sekvenační 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 serveru Onsite Server.
- 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 \\<adresa IP VeriSeq Onsite Server>\<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. Je třeba na mapovaných zařízeních (notebook nebo stolní počítač) tento protokol povolit.

Odhlášení

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

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.

Metriky kontroly kvality

| | |
|---|----|
| Metriky a meze kontroly kvality kvantitativního vyjádření | 32 |
| Metriky a meze kontroly kvality sekvenování | 33 |
| Metriky a meze analytické kontroly kvality | 34 |
| Kontrola kvality vzorků NTC | 35 |

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 | 1000 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 sekvenování 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 sekvenování

| Metrika | Popis | Dolní mez | Horní mez | Zdůvodnění |
|-------------------------|--|----------------------------|----------------------------|---|
| cluster_density | Hustota klastrů sekvenování | 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 sekvenování 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. |
| phasing | Frakce fázování | Nepoužívá se | ≤0,004 | Empiricky optimalizovaná doporučení pro VeriSeq NIPT Solution. |
| 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. |

Metriky a meze analytické kontroly kvality

| Kategorie | Metrika | Nižší mez | Horní mez | Zpráva o chybě | Očekávaná míra chybovosti | Možné příčiny |
|---|--|--|----------------------|---|---------------------------|--|
| Kontrola kvality výpočtů | NonExcludedSites (aligned_reads) | 2 000 000 | 60 000 000 | FAILED iFACT (Neúspěšná zkouška iFACT) | 1 | Nekvalitní knihovna nebo nesprávná kvalifikace knihovny; nízké počty klastrů; problém je možné odstranit provedením opětovné zkoušky z plazmy. |
| Věrohodnostní skóre pro denominátory chromozomu | <ul style="list-style-type: none"> • NCD_13 • NCD_18 • NCD_21 • NCD_X • NCD_Y | <ul style="list-style-type: none"> • -17,61 • -16,40 • -17,20 • -14,89 • -42,97 | 10 000 (pro všechny) | DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Data mimo očekávaný rozsah) | < 0,2 % | Neočekávané zastoupení chromozomu někde v genomu. Je nepravděpodobné, že by se problém vyřešil opětovným zkoušením vzorku. Možná příčina: data mimo očekávaný rozsah |
| Rozdělení velikosti fragmentu | FragSizeDist (frag_size_dist) | 0 | 0,07 | FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Rozdělení velikost fragmentů mimo očekávaný rozsah) | 1 | Neočekávané rozdělení velikostí fragmentu Možné příčiny: selhání procesu výběru velikost, nízké pokrytí, znehodnocení vzorek. |
| Pokrytí vzhledem k fetální frakci | NES_FF_QC | 0 | 1,5 | FAILED iFACT (Neúspěšná zkouška iFACT) | přibližně 1,2% | Nedostatečné pokrytí vzhledem k fetální frakci. |

Kontrola kvality vzorků NTC

Software VeriSeq NIPT Solution umožňuje přidání vzorků NTC jako součást běhu. Zařízení ML STAR může vytvořit až 2 vzorky NTC na jeden běh dávky se 48 vzorky, resp. 4 vzorky 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 sekvenování 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).

Systemové výkazy

| | |
|----------------------------------|----|
| Úvod | 36 |
| Přehled systémových výkazů | 37 |
| Události vytváření výkazů | 38 |
| Výkazy výsledků a oznámení | 40 |
| Výkazy procesu | 44 |

Úvod

Assay Software vytváří dvě kategorie výkazů:

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

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

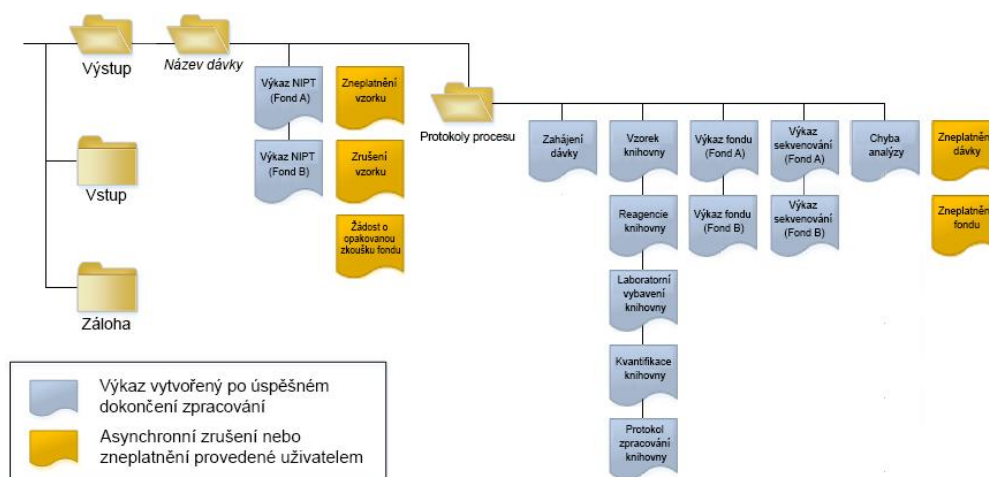
Výkazy softwaru Assay Software jsou vytvořeny na vnitřním pevném disku Onsite Serveru, který je připojen k disku uživatele jako složka Output (Výstup) určená pouze ke čtení. Jednotlivé výkazy jsou vytvořeny s odpovídajícím standardním souborem kontrolního součtu MD5, který slouží k ověření, že soubor 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 40*.
- ▶ **Složka ProcessLog (Protokoly procesu)**. Obsahuje výkazy související s procesem. Podrobnosti viz část *Výkazy procesu na straně 44*

Seznam všech výkazů je uveden v části *Přehled systémových výkazů na straně 37*.

Přehled systémových výkazů

| Název výkazu | Typ výkazu | Entita výkazu | Formát souboru výkazu |
|--|------------|------------------------|--|
| <i>Výkaz NIPT</i> | Praktický | Fond, průtoková kyveta | <batch_name>_A_<pool_barcode>_<flowcell>_nipt_report_20150528_163503.tab |
| <i>Výkaz zneplatnění vzorku</i> | Praktický | Vzorek | <batch_name>_<sample_barcode>_sample_invalidation_report_20150528_163503.tab |
| <i>Výkaz zrušení vzorku</i> | Praktický | Vzorek | <batch_name>_<sample_barcode>_sample_cancellation_report_20150528_163503.tab |
| <i>Pool Retest Request Report (Výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu)</i> | Praktický | Fond | <batch_name>_<pool_type>_pool_retest_request_20150528_163503.tab |
| <i>Batch Initiation Report (Výkaz zavedení dávky)</i> | Informační | Dávka | ProcessLogs/<batch_name>_batch_initiation_report_20150528_163503.tab |
| <i>Batch Invalidation Report (Výkaz zneplatnění dávky)</i> | Informační | Dávka | ProcessLogs/<batch_name>_batch_invalidation_report_20150528_163503.tab |
| <i>Library Sample Report (Výkaz vzorku knihovny)</i> | Informační | Dávka | ProcessLogs/<batch_name>_library_sample_report_20150529_083503.tab |

| Název výkazu | Typ výkazu | Entita výkazu | Formát souboru výkazu |
|---|------------|------------------------------|---|
| <i>Library Reagent Report</i> (Výkaz reagentie knihovny) | Informační | Dávka | ProcessLogs/<batch_name>_library_reagent_report_20150529_163503.tab |
| <i>Výkaz laboratorního vybavení knihovny</i> | Informační | Dávka | ProcessLogs/<batch_name>_library_labware_report_20150518_163503.tab |
| <i>Library Quant Report</i> (Výkaz kvantifikace knihovny) | Informační | Dávka | ProcessLogs/<batch_name>_library_quant_report_20150518_163503.tab |
| <i>Protokol zpracování knihovny</i> | Informační | Dávka | ProcessLogs/<batch_name>_library_process_log.tab |
| <i>Pool Report</i> (Výkaz fondu) | Informační | Fond | ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_report_20150528_163503.tab |
| <i>Pool Invalidation Report</i> (Výkaz zneplatnění fondu) | Informační | Fond | ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_invalidation_report_20150528_163503.tab |
| <i>Sequencing Report</i> (Výkaz sekvenování) | Informační | Fond, průtoková kyveta | ProcessLogs/<batch_name>_A_<pool_barcode>_<flowcell>_sequencing_report_20150528_163503.tab ProcessLogs/<batch_name>_B_<pool_barcode>_<flowcell>_sequencing_report_20150528_163503.tab |
| <i>Analysis Failure Report</i> (Výkaz o nezdařené analýze) | Informační | Fond, průtoková kyveta | ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_analysis_failure_report_20150528_163503.tab |

Události vytváření výkazů

| Výkaz | Popis | Událost vytváření |
|--|---|---|
| NIPT | Obsahuje konečné výsledky úspěšného běhu analýzy. | <ul style="list-style-type: none"> Analýza sekvenačního běhu je dokončena. |
| Sample Invalidation (Zneplatnění vzorku) | Obsahuje informace o zneplatněném vzorku. | <ul style="list-style-type: none"> Uživatel zneplatní vzorek. |
| Sample Cancelation (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. |
| Batch Invalidation (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. Kvantifikace dávky se nezdaří. |
| Library Reagent (Reagentie knihovny) | Obsahuje informace o reagentii pro zpracování knihovny. | <ul style="list-style-type: none"> Dávka je zneplatněna. Metoda přípravy knihovny je dokončena. Kvantifikace dávky se nezdaří. |

| Výkaz | Popis | Událost vytváření |
|---|---|---|
| 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. • Kvantifikace dávky se nezdaří. |
| 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. • Kvantifikace dávky se nezdaří. |
| 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. • Kvantifikace dávky se nezdaří. • Zpracování dávky je dokončeno. |
| Pool (Fond) | Obsahuje objemy fondů vzorků. | <ul style="list-style-type: none"> • Metoda 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. • Časový limit sekvenování vypršel (chyba). |
| Analysis Failure (Chyba analýzy) | Obsahuje analytické informace pro neúspěšný fond. | <ul style="list-style-type: none"> • Analýza sekvenačního běhu se nezdařila. |

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

Výkazy výsledků a oznámení

Výkaz NIPT

Výkaz NIPT obsahuje výsledky klasifikace chromozomů formátované v podobě jednoho vzorku na řádek pro každý vzorek ve 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 získané z místa sběru. 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) | výčet | Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty |
| sex_chrom | Je požadována analýza pohlavního chromozomu. Určuje vzhled klasifikace aneuploidie. | 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 | výčet | Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty |
| flowcell | Čárový kód průtokové kyvety pro sekvenování | Nepoužívá se | text | Nepoužívá se |
| class_13 | Výsledky klasifikace aneuploidie u chromozomu 13 | Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> • ANEUPLOIDY DETECTED (Zjištěna aneuploidie) • NO ANEUPLOIDY DETECTED (Aneuploidie nezjištěna) • CANCELLED (Zrušeno) • INVALIDATED (Zneplatněno) • Nepoužívá se | class_13 | Výsledky klasifikace aneuploidie u chromozomu 13 |
| class_18 | Výsledky klasifikace aneuploidie u chromozomu 18 | Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> • ANEUPLOIDY DETECTED (Zjištěna aneuploidie) • NO ANEUPLOIDY DETECTED (Aneuploidie nezjištěna) • CANCELLED (Zrušeno) • INVALIDATED (Zneplatněno) • Nepoužívá se | class_18 | Výsledky klasifikace aneuploidie u chromozomu 18 |

| Sloupec | Popis | Možné přednastavené hodnoty | Typ | Regulární výraz |
|----------|--|---|----------|--|
| class_21 | Výsledky klasifikace aneuploidie u chromozomu 21 | Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> • ANEUPLOIDY DETECTED (Zjištěna aneuploidie) • NO ANEUPLOIDY DETECTED (Aneuploidie nezjištěna) • CANCELLED (Zrušeno) • INVALIDATED (Zneplatněno) • Nepoužívá se | class_21 | Výsledky klasifikace aneuploidie u chromozomu 21 |
| class_sx | Klasifikace aneuploidie u pohlavního chromozomu | Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> • ANEUPLOIDY DETECTED – XO (Zjištěna aneuploidie – XO) – monozomie X • ANEUPLOIDY DETECTED – XXX (Zjištěna aneuploidie – XXX) – trizomie X • ANEUPLOIDY DETECTED – XXY (Zjištěna aneuploidie – XXY) – dva chromozomy X u chlapců • ANEUPLOIDY DETECTED – XYY (Zjištěna aneuploidie – XYY) – dva chromozomy Y • NO ANEUPLOIDY DETECTED (Aneuploidie nezjištěna) – negativní vzorek a nevykázané pohlaví • NO ANEUPLOIDY DETECTED – XX (Aneuploidie nezjištěna – XX) – negativní vzorek s ženským plodem • NO ANEUPLOIDY DETECTED – XY (Aneuploidie nezjištěna – XY) – negativní vzorek s mužským plodem • SEX CHROMOSOMES 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 | class_sx | Klasifikace aneuploidie u pohlavního chromozomu |
| qc_flag | Výsledky analýzy kontroly kvality | Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> • CANCELLED (Zrušeno) • INVALIDATED (Zneplatněno) • PASS (Úspěšné) • NTC_PASS (Úspěšný NTC) • FAIL (Neúspěšné) | výčet | Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty |

| Sloupec | Popis | Možné přednastavené hodnoty | Typ | Regulární výraz |
|------------|--|--|------|--|
| qc_failure | Informace o neúspěšné kontrole kvality | Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> • 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) • NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (Vzorek NTC s vysokým pokrytím) • CANCELLED (Zrušeno) • INVALIDATED (Zneplatněno) • NONE (Žádné) (stav kontroly kvality je Pass (Úspěšné)) | text | Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty |
| 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 | Nepoužívá se |

Zprávy o neúspěšných kontrolách kvality

Neúspěšná kontrola kvality analýzy má za následek úplné zamítnutí výsledků aneuploidie chromozomů, klasifikaci pohlaví a odhadované fetální frakce, což odpovídá následujícím polím výkazu NIPT: class_13, class_18, class_21, class_sx a ff.

| Zpráva o neúspěšné kontrole kvality | Popis | Doporučený postup |
|---|--|-------------------------|
| FAILED iFACT (Neúspěšná zkouška iFACT) | Zkouška iFACT (individual Fetal Aneuploidy Confidence Test) – metrika kontroly kvality, která kombinuje odhadnutou fetální frakci s metrikami 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) | Odchylka od euploidního pokrytí u necílových chromozomů. Může souviset s trizomií nebo monozomií některého cílového chromozomu nebo s nespécifikovaným velkým počtem variant počtu kopií mezi chromozomy. | Zpracujte vzorek znovu. |
| FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Rozdělení velikost fragmentů mimo očekávaný rozsah) | Rozdělení dat není v souladu s rozdělením naučených dat. Může být způsobeno kontaminací nebo nesprávným zpracováním vzorku. | Zpracujte vzorek znovu. |
| 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 uživateli. | Nepoužívá se |
| INVALIDATED (Zneplatněno) | Vzorek byl zneplatněn uživateli. | |

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 | 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 pro 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 | časové razítko podle ISO 8601 |

Pool Retest Request Report (Výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu)

Pool Retest Request Report (Výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu) ukazuje, že lze znovu naplnit buď fond A, nebo fond B. Systém generuje výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu tehdy, pokud jsou zneplatněny první dva možné sekvenční běhy (fondy) pro fond A nebo fond B.

| Sloupec | Popis | Typ | Regulární výraz |
|------------|--|-------------------------------|-------------------------------|
| batch_name | Název dávky | text | ^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$ |
| pool_type | Typ fondu Možné hodnoty: A, B, C | výčet | Hodnoty uvedené v popisu |
| reason | Uživatelé zadaný důvod zneplatnění prvního fondu | text | ^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$ |
| timestamp | Datum a čas žádosti | časové razítko podle ISO 8601 | časové razítko podle ISO 8601 |

Výkazy procesu

Batch Initiation Report (Výkaz zavedení dávky)

Systém vytvoří Batch Initiation Report (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 Možné hodnoty: jedináček, kontrola, dvojče, NTC | výčet | Hodnoty uvedené v popisu |
| well | Zdroj přidružený 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 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$ |

Batch Invalidation Report (Výkaz zneplatnění dávky)

Systém vytvoří Batch Invalidation Report (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 osoby, která provedla zneplatnění dávky | text | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$ |
| timestamp | Datum a čas zneplatnění dávky | časové razítko podle ISO 8601 | časové razítko podle ISO 8601 |

Library Sample Report (Výkaz vzorku knihovny)

Systém vytvoří Library Sample Report (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 | Úspěšné/neúspěšné |
| qc_reason | Důvod stavu kontroly kvality Možné hodnoty: pass (úspěšné), fail (neúspěšné) | text | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$ |
| starting_volume | Počáteční objem 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/ul | číslo s plovoucí desetinnou čárkou | |
| plasma_isolation_comments | Připomínky uživatele ke provedení izolace plazmy (volný text) | text | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$ |
| cfdna_extraction_comments | Připomínky uživatele k provedení extrakce cfDNA (volný text) | text | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$ |
| library_prep_comments | Připomínky uživatele k provedení přípravy knihovny (volný text) | text | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$ |
| quantitation_comments | Připomínky uživatele k provedení kvantifikace (volný text) | text | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$ |

Library Reagent Report (Výkaz reagentie knihovny)

Systém vytvoří Library Reagent Report (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 procesu. 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 (Vkládání do fondu) – analysis, setup, pooling, data_transact, complete | text | ^[a-zA-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 | 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 | časové razítko podle ISO 8601 |

Library Quant Report (Výkaz kvantifikace knihovny)

Systém vytvoří Library Quant Report (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 | Úspěšné/neúspěšné |
| 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 | 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 zpracování dávky. 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 (Vkládání do fondu) – analysis, setup, pooling, data_transact, complete | text | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$ |

| Sloupec | Popis | Typ | Regulární výraz |
|------------|---|-------------------------------|-------------------------------|
| operator | Iniciály obsluhy | text | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$ |
| instrument | Název nástroje | text | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$ |
| started | Datum a čas zahájení zpracování dávky | časové razítko podle ISO 8601 | časové razítko podle ISO 8601 |
| finished | Datum a čas úspěšného nebo neúspěšného dokončení zpracování dávky | časové razítko podle ISO 8601 | časové razítko podle ISO 8601 |
| status | Aktuální dávka Možné hodnoty: completed (dokončeno), failed (neúspěšné), started (zahájeno), aborted (přerušeno) | výčet | Hodnoty uvedené v popisu |

Pool Report (Výkaz fondu)

Systém vytvoří Pool Report (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 Možné hodnoty: A, B, C | výčet | Hodnoty uvedené v popisu |
| pooling_volume_ul | Objem ve fondu v mikrolitrech | číslo s plovoucí desetinnou čárkou | |
| pooling_comments | Připomínky uživatele ke vkládání do fondu (volný text) | text | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$ |

Pool Invalidation Report (Výkaz zneplatnění fondu)

Systém vytvoří Pool Invalidation Report (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 osoby, která zneplatnění fondu provedla | text | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$ |

| Sloupec | Popis | Typ | Regulární výraz |
|-----------|-------------------------------|-------------------------------|-------------------------------|
| timestamp | Datum a čas zneplatnění fondu | časové razítko podle ISO 8601 | časové razítko podle ISO 8601 |

Sequencing Report (Výkaz sekvenování)

Po dokončení sekvenování nebo po vypršení doby na sekvenační systém vytvoří Sequencing Report (Výkaz sekvenování) pro sekvenační běh.

| Sloupec | Popis | Typ | Regulární výraz |
|-------------------------|---|------------------------------------|-------------------------------|
| batch_name | Název dávky | text | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$ |
| pool_barcode | Čárový kód fondu přidružený k sekvenačnímu běhu | text | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$ |
| instrument | Výrobní číslo sekvenátoru | text | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$ |
| flowcell | Průtoková kyveta přidružená k sekvenačnímu běhu | text | Nepoužívá se |
| software_version | Zřetězení softwarové aplikace/verze, která slouží k analýze dat v nástroji | text | |
| run_folder | Název složky sekvenačního běhu | text | |
| sequencing_status | Stav sekvenačního běhu Možné hodnoty: completed (dokončeno), timed out (vypršel časový limit) | výčet | Hodnoty uvedené v popisu |
| qc_status | Stav kontroly kvality daného sekvenačního běhu Možné hodnoty: pass (úspěšné), fail (neúspěšné) | výčet | Hodnoty uvedené v popisu |
| 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 dlaždících) | 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 | číslo s plovoucí desetinnou čárkou | |
| started | Časové razítko přidružené k zahájení sekvenování | časové razítko podle ISO 8601 | časové razítko podle ISO 8601 |
| completed | Časové razítko přidružené k dokončení sekvenování | časové razítko podle ISO 8601 | časové razítko podle ISO 8601 |

Analysis Failure Report (Výkaz o nezdařené analýze)

Pokud selže maximální počet pokusů o analýzu pro sekvenační běh, systém vygeneruje Analysis Failure Report (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}\$ |
| flowcell | Čárový kód průtokové kyvety spojený s nezdařenou analýzou | text | Nepoužívá se |
| sequencing_run_folder | Stav sekvenačního běhu spojeného s nezdařenou analýzou | text | |
| analysis_run_status | Stav sekvenačního běhu spojeného s nezdařenou analýzou Možnosti hodnot: failed_max_analysis_attempts | text | Hodnoty uvedené v popisu |
| timestarted | Časové razítko přidružené k zahájení analýzy | časové razítko podle ISO 8601 | časové razítko podle ISO 8601 |
| timefinished | Časové razítko přidružené k selhání analýzy | časové razítko podle ISO 8601 | časové razítko podle ISO 8601 |

Řešení problémů

| | |
|-------------------------------|----|
| Úvod | 51 |
| Oznámení Assay Software | 51 |
| Problémy se systémem | 59 |
| Zkoušky zpracování dat | 60 |

Úvod

VeriSeq NIPT Solution 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 programu 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 | Výskyt | Úroveň výstrahy | E-mail | Doporučený postup |
|--|-----------------------------|---|-----------------|--------|-------------------|
| 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 (Sekvenování bylo zahájeno) | Sekvenování | Systém zjistil novou složku dat sekvenování. | Aktivita | Ne | Nepoužívá se |
| Sequencing QC passed (Kontrola kvality sekvenování proběhla úspěšně) | Sekvenování | Sekvenovací běh byl dokončen a kontrola kvality sekvenování proběhla úspěšně. | Aktivita | Ne | Nepoužívá se |
| Analysis Started (Analýza byla zahájena) | Analýza | Analýza zadaného běhu sekvenování 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 | Výskyt | Úroveň výstrahy | E-mail | Doporučený postup |
|--|------------------------------|--|-----------------|--------|-------------------|
| 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 (Sekvenování dokončeno, fond zneplatněn) | Sekvenování | Sekvenační běh byl dokončen, ale fond byl zneplatněn uživatelem | Upozornění | Ano | Nepoužívá se |
| Sequencing QC passed – All samples are invalid (Kontrola kvality sekvenování úspěšná – všechny vzorky jsou neplatné) | Kontrola kvality sekvenování | Kontrola kvality sekvenačního běhu 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 | Výskyt | Úroveň výstrahy | E-mail | Doporučený postup |
|---|-------------------|--|-----------------|--------|--|
| Missing Instrument Path (Není zadána cesta k nástroji) | Sekvenování | Systém nemůže nalézt externí složku sekvenování 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> ID akce 1 na straně 58. 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 sekvenování) | Sekvenování | Systém našel novou složku s daty sekvenování, 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> ID akce 2 na straně 58. Uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> ID akce 3 na straně 59. |
| Sequencing Run Invalid Folder (Neplatná složka sekvenačního běhu) | Sekvenování | V názvu složky sekvenačního běhu jsou neplatné znaky | Výstraha | Ano | Složka sekvenačního běhu byla nesprávně přejmenována. Přejmenujte běh na platný název. |
| RTA Complete is not accessible (Soubor RTACComplete není přístupný) | Sekvenování | Software nemůže přečíst soubor RTACComplete ve složce sekvenování. | Varování | Ano | Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina. |
| Missing Sample Type (Není určen typ vzorku) | Předběžná analýza | Software nemůže najít definici typu některého ze vzorků. | Upozornění | Ano | Atribut typu vzorku nebyl pro daný vzorek zadán. Zrušte platnost vzorku, aby mohl software pokračovat. |
| Missing Sex Chromosome (Není určen pohlavní chromozom) | Předběžná analýza | Software nemůže najít definici pohlavních chromozomů některého ze vzorků. | Upozornění | Ano | Atribut pohlavního chromozomu nebyl pro daný vzorek zadán. Zrušte platnost vzorku, aby mohl software pokračovat. |
| Missing Sample Type and Sex Chromosome (Není určen typ vzorku a pohlavní chromozom) | Předběžná analýza | Software nemůže najít definici typu vzorku a pohlavního chromozomu některého ze vzorků. | Upozornění | Ano | Atribut typu vzorku a pohlavního chromozomu nebyl pro daný vzorek zadán. Zrušte platnost vzorku, aby mohl software pokračovat. |

| Oznámení | Krok | Výskyt | Úroveň výstrahy | E-mail | Doporučený postup |
|--|-------------------|--|-----------------|--------|---|
| 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> ID akce <i>2. na straně 58</i>. Pokud je málo místa, uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> ID akce <i>3 na straně 59</i>. Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> ID akce <i>1 na straně 58</i>. 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 <i>2. na straně 58</i>. 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 <i>3 na straně 59</i> . |
| 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 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</i> ID akce <i>1 na straně 58</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 |

| Oznámení | Krok | Výskyt | Úroveň výstrahy | E-mail | Doporučený postup |
|---|-------------------|---|-----------------|--------------|---|
| Results Already Reported (Výsledky již byly hlášeny) | Systém | Softwarem bylo zjištěno, že pro aktuální typ fondu již byla vytvořena zpráva 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"> Pro účely ověření zkontrolujte konfiguraci e-mailu definovanou v systému. Viz pokyny v části <i>Konfigurace e-mailových oznámení systému na straně 25</i>. Odešlete zkušební e-mail. Viz pokyny v části <i>Konfigurace e-mailových oznámení systému na straně 25</i>. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina. |
| Time Skew Detected (Byla zjištěna časová odchylka) | Příprava knihovny | Softwarem byla zjištěna časová odchylka více než 1 minutu mezi časovou značkou poskytnutou software Workflow Manager a místním časem serveru. | Varování | Ne | <ol style="list-style-type: none"> Zkontrolujte místní čas v počítači se softwarem Workflow Manager. 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 | Výskyt | Úroveň výstrahy | E-mail | Doporučený postup |
|--|-------------------|--------------------------------------|-----------------|--------|--|
| Batch Failure (Chyba dávky) | Příprava knihovny | Kontrola kvality dávky se nezdařila. | Upozornění | Ano | Restartujte opláštování 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</i> ID akce <i>2</i> na straně 58. Pokud je málo místa, uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> ID akce <i>3</i> na straně 59. Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina. |

| Oznámení | Krok | Výskyt | Úroveň výstrahy | E-mail | Doporučený postup |
|---|------------------------------|--|-----------------|--------|---|
| 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 sekvenátoru 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 sekvenátoru sestavit parametry sekvenačního běhu. Zkontrolujte konfiguraci sekvenátoru 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 sekvenátoru a opakujte sekvenování fondu. |
| No Pool Barcode found (Nebyl nalezen čárový kód fondu.) | Sekvenování | Software nemohl přiřadit průtokovou kyvetu sekvenačního běhu ke známému čárovému kódu. | Varování | Ano | Pravděpodobně se jedná o nesprávný čárový kód fondu. Opakujte sekvenování fondu. |
| Sequencing timed out (Čas na sekvenování vypršel.) | Sekvenování | Sekvenační běh nebyl v dané lhůtě dokončen. | Varování | Ano | Zkontrolujte sekvenátor a síťové připojení. Opakujte sekvenování fondu. |
| Sequencing QC files generation failed (Vytvoření souborů kontroly kvality sekvenování se nezdařilo.) | Kontrola kvality sekvenování | Sekvenační běh je dokončen, ale soubory InterOp QC jsou poškozeny. | Výstraha | Ano | Zkontrolujte sekvenátor a síťové připojení. Opakujte sekvenování fondu. |
| Sequencing QC files corrupted (Soubory kontroly kvality sekvenování jsou poškozeny.) | Kontrola kvality sekvenování | Sekvenační běh je dokončen, ale kontrola kvality sekvenování je vadná. | Varování | Ano | Zkontrolujte sekvenátor a síťové připojení. Opakujte sekvenování fondu. |
| Sequencing QC failed (Kontrola kvality sekvenování se nezdařila.) | Kontrola kvality sekvenování | Sekvenační běh byl 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. |

| Oznámení | Krok | Výskyt | Úroveň výstrahy | E-mail | Doporučený postup |
|--|-----------------------------|--|-----------------|--------|---|
| 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</i> ID akce 1 na straně 58. • 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</i> ID akce 1 na straně 58. • Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina. |

Postupy k doporučeným akcím

| ID akce | Doporučený postup | Postup |
|---------|-----------------------------------|---|
| 1 | Zkontrolujte připojení k síti | <p>POZNÁMKA: Zkontrolujte, zda je vzdálené úložiště NAS ve stejné síti jako místní počítač.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Na příkazovém řádku systému Windows (cmd) zadejte následující příkaz: ping <IP adresa serveru>. <p>POZNÁMKA: Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte také připojení k úložišti NAS.</p> <ol style="list-style-type: none"> 2. Zkontrolujte, zda nedochází ke ztracení paketů. <p>POZNÁMKA: Pokud dochází ke ztracení paketů, kontaktujte správce IT.</p> <ol style="list-style-type: none"> 3. Vyzkoušejte připojení: <ol style="list-style-type: none"> a. Přihlaste se k webovému uživatelskému rozhraní serveru Onsite Server. b. V nabídce Dashboard (Ovládací panel) vyberte možnost Folder (Složka). c. Klikněte na možnost Test (Zkouška) a zkontrolujte úspěšnost provedené zkoušky. V případě neúspěšné zkoušky si přečtete část <i>Úprava sdílené síťové jednotky na straně 23</i> a zkontrolujte správnost konfigurace všech nastavení. |
| 2. | Zkontrolujte volné místo na disku | <p>POZNÁMKA: Zkontrolujte, zda je složka Input (Vstup) na místním serveru namapována k počítači se systémem Windows. Další informace naleznete v části <i>Mapování serverových jednotek na straně 30</i>.</p> <p>Klikněte pravým tlačítkem na jednotku, která je namapována ke složce Input (Vstup). Vyberte možnost Properties (Vlastnosti) a zkontrolujte informace o volném místě.</p> |

| ID akce | Doporučený postup | Postup |
|---------|--|--|
| 3 | Uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat | <p>POZNÁMKA: Společnost Illumina doporučuje pravidelné zálohování dat nebo ukládání dat sekvenování na server. Další informace naleznete v části <i>Správa sdílené síťové jednotky</i> na straně 23.</p> <ol style="list-style-type: none"> Postup pro data uložená místně na místním serveru: <ul style="list-style-type: none"> POZNÁMKA: Zkontrolujte, zda je složka Input (Vstup) na místním serveru namapována k počítači se systémem Windows. Další informace naleznete v části <i>Mapování serverových jednotek</i> na straně 30. a. Dvakrát klikněte na složku Input (Vstup) a zadejte pověření pro přístup do složky. b. Data sekvenčních běhů jsou uvedena s názvy složek odpovídajícími názvům sekvenčních běhů. c. Odstraňte nebo zálohujte zpracované složky dat sekvenování. Postup pro data uložená ve vzdáleném úložišti NAS: <ul style="list-style-type: none"> POZNÁMKA: Zkontrolujte, zda je vzdálené úložiště NAS ve stejné síti jako místní počítač. POZNÁMKA: Opatřete si přístup ke složce ve vzdálené jednotce. K získání přístupu budete potřebovat přihlašovací údaje od správce IT. a. Data sekvenčních běhů jsou uvedena s názvy složek odpovídajícími názvům sekvenčních běhů. b. Odstraňte nebo zálohujte zpracované složky dat sekvenování. |

Problémy se systémem

| Problém | Doporučený postup |
|--|--|
| 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. |

Zkoušky zpracování dat

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

Zkoušení serveru

Tato zkouška simuluje sekvenační běh 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

- 1 Otevřete připojený vstupní adresář a potom otevřete složku TestingData (Zkušební data).
- 2 Zkopírujte následující složku, kterou naleznete ve složce TestingData (Zkušební data):
150824_NS500404_0121_AHGKH5BGXX_COPY_ANALYSIS_WORKFLOW.
- 3 Přejmenujte kopii ve složce pomocí přípony _XXX. Přípona _XXX označuje pořadové číslo zkušebního běhu. Pokud se ve složce už nachází například složka s příponou _002, přejmenujte novou kopii na _003.
- 4 Počkejte 3–5 minut na dokončení běhu. Zkontrolujte, zda byla přijata následující e-mailová oznámení:
 - a Sequencing Run Analysis Started (Analýza sekvenačního běhu byla zahájena)
 - b Výkaz zjišťování aneuploidie vytvořený pro sekvenační běh



POZNÁMKA

Přidružte oba výkazy k názvu sekvenování, který je ke složce přiřazen.

- 5 Ve výstupní složce otevřete složku SampleTestRun (Zkušební běh na vzorku) a zkontrolujte následující výkaz: SampleTestRun_C_SampleTestRun_PoolA_HGKH5BGXX_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab.
Očekávaná velikost souboru je přibližně 5,9 kB.
- 6 Přesuňte zkušební sekvenační běh zpět do složky TestingData (Zkušební data). Tento postup usnadňuje řízení počtu provedených zkoušek sekvenování.

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 Přejmenujte následující složku přidáním přípony _000:
150528_NB500886_0002_AH7MHHBGXX_FullTRun.
Tato přípona způsobí vytvoření jedinečného názvu pro každý sekvenační běh. 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 sekvenačního běhu byla zahájena)
 - b Výkaz zjišťování aneuploidie vytvořený pro sekvenační běh
- 5 Ve výstupní složce otevřete složku SampleTestRun (Zkušební běh na vzorku) a zkontrolujte následující výkaz: SampleTestRun2_C_SampleTestRun2_PoolA_H7MHHBGXX_nipt_report_20151105_162434.tab.
Očekávaná velikost souboru je přibližně 7,1 kB.
- 6 Přesuňte zkušební sekvenační běh zpět do složky TestingData (Zkušební data).



POZNÁMKA

Přidružte oba výkazy k názvu sekvenování, který je ke složce přiřazen.

Další zdroje

Z webu společnosti Illumina si můžete stáhnout následující dokumentaci.

| Zdroj | Popis |
|---|---|
| <i>Příložená dokumentace k produktu VeriSeq NIPT Solution (dokument č. 1000000001856)</i> | Popisuje produkt a jeho určené použití a nabízí pokyny k používání spolu s postupy pro řešení problémů. |
| <i>Návod k obsluze linky Microlab® STAR, Hamilton, ID dok. 624668</i> | 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 na webu společnosti Illumina, kde naleznete dokumentaci, odkazy na stažení softwaru, online školení a přehled nejčastějších dotazů.

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 sekvenčních 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 prenatalní zkouška |
| NTC | Žádná kontrola šablony |
| NTP | Protokol pro synchronizaci vnitřních hodin počítačů |
| PF | Procházející filtrem |
| PQ | Kvalifikace procesu |
| Kontrola kvality | Kontrola kvality |
| RTA | Real-Time Analysis |
| 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 016950506 |
| 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, California 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 Netherlands B.V.

Steenoven 19

5626 DK Eindhoven

The Netherlands

Australský sponzor

Illumina Australia Pty Ltd

Nursing Association Building

Level 3, 535 Elizabeth Street

Melbourne, VIC 3000

Austrálie

URČENO K DIAGNOSTICE IN VITRO

© 2021 Illumina, Inc. Všechna práva vyhrazena.

illumina[®]