



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](http://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](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## Historie revizí

Dokument	Datum	Popis změny
Dokument č. 1000000067940 v06	Srpena 2021	Aktualizována adresa oprávněného zástupce v EU.
Dokument č. 1000000067940 v05	Září 2020	<ul style="list-style-type: none"> <li>Byly přidány pokyny k novým funkcím Šifrování záloh a Síťové heslo.</li> <li>Část věnovaná stažení a instalaci certifikátu byla doplněna o podrobnější pokyny.</li> <li>Byl přidán krok spočívající v zadání síťového hesla a připomenutí, že je třeba generovat certifikát v části Konfigurace serveru pro software Workflow Manager.</li> <li>Byla aktualizována část Připojení disků serveru o informace týkající se oprávnění pouze pro správce a byla aktualizována kompatibilita verze SMB.</li> <li>Byl přidán odkaz na šifrování záloh do části Archivace dat pro místní server.</li> <li>Byla přidána poznámka do úvodu k webovému uživatelskému rozhraní Assay Software s informací, že software nelze používat na mobilních zařízeních.</li> <li>Byly přidány vysvětlující poznámky k použití velkých a malých písmen ve výstupech z výkazu NIPT.</li> <li>Byl aktualizován text o možných hodnotách člověkem čitelných informací v části Výkazy výsledků a oznámení.</li> <li>Byly aktualizovány konvence pro pojmenování v aplikaci Workflow Manager tak, aby byl konzistentně zobrazen celý název softwaru VeriSeq NIPT Workflow Manager.</li> </ul>
Dokument č. 1000000067940 v04	Únor 2020	<ul style="list-style-type: none"> <li>Byla aktualizována témata Zadání seznamu vzorků a Nahrání seznamu vzorků, aby bylo vysvětleno funkční omezení při nahrávání seznamu vzorků.</li> <li>Byla aktualizována adresa australského sponzora a společnosti Illumina Netherlands.</li> </ul>
Dokument č. 1000000067940 v03	Říjen 2019	<ul style="list-style-type: none"> <li>Byla přidána část Informace o ochraně životního prostředí týkající se softwaru VeriSeq Onsite Server v2.</li> <li>Byl aktualizován způsob prezentace výsledků anomálií pohlavních chromozomů v části Výkazy výsledků a upozornění přílohy B tak, aby odpovídal způsobu prezentace uvedenému ve výkazu NIPT.</li> </ul>
Dokument č. 1000000067940 v02	Duben 2019	Byly přidány podrobnější informace k výkazu NIPT a doplňkovému výkazu tak, aby byly v souladu se školicími materiály.
Dokument č. 1000000067940 v01	Únor 2019	Vydání příručky k softwaru VeriSeq NIPT Solution v2 určené pro zákazníky.
Dokument č. 1000000067940 v00	Listopad 2018	Počáteční vydání určené pouze pro interní použití.

# Obsah

Historie revizí .....	iii
Kapitola 1 VeriSeq NIPT Solution v2 .....	1
Úvod .....	1
Architektura systému .....	2
Kapitola 2 VeriSeq NIPT Workflow Manager .....	4
Úvod .....	4
VeriSeq NIPT Method .....	4
VeriSeq NIPT Batch Manager .....	4
VeriSeq NIPT Services .....	10
Kapitola 3 Sekvenátor nové generace .....	13
Úvod .....	13
Fond sekvenování .....	13
Integrace datového úložiště .....	13
Výkonnostní možnosti analýzy .....	14
Omezení síťového provozu .....	14
VeriSeq NIPT Local Run Manager .....	14
Kapitola 4 VeriSeq NIPT Assay Software v2 .....	15
Úvod .....	15
Součásti Assay Software .....	15
Webové uživatelské rozhraní .....	19
Analýza a vykazování .....	29
VeriSeq Onsite Server v2 .....	31
Příloha A Metriky kontroly kvality .....	35
Metriky a meze kontroly kvality kvantitativního vyjádření .....	35
Metriky a meze kontroly kvality sekvenování .....	35
Příloha B Systémové výkazy .....	36
Úvod .....	36
Přehled systémových výkazů .....	37
Události vytváření výkazů .....	38
Výkazy výsledků a oznámení .....	40
Výkazy procesu .....	48
Příloha C Řešení problémů .....	56
Úvod .....	56
Oznámení Assay Software .....	57
Problémy se systémem .....	65

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

# Kapitola 1 VeriSeq NIPT Solution v2

Úvod .....	1
Architektura systému .....	2

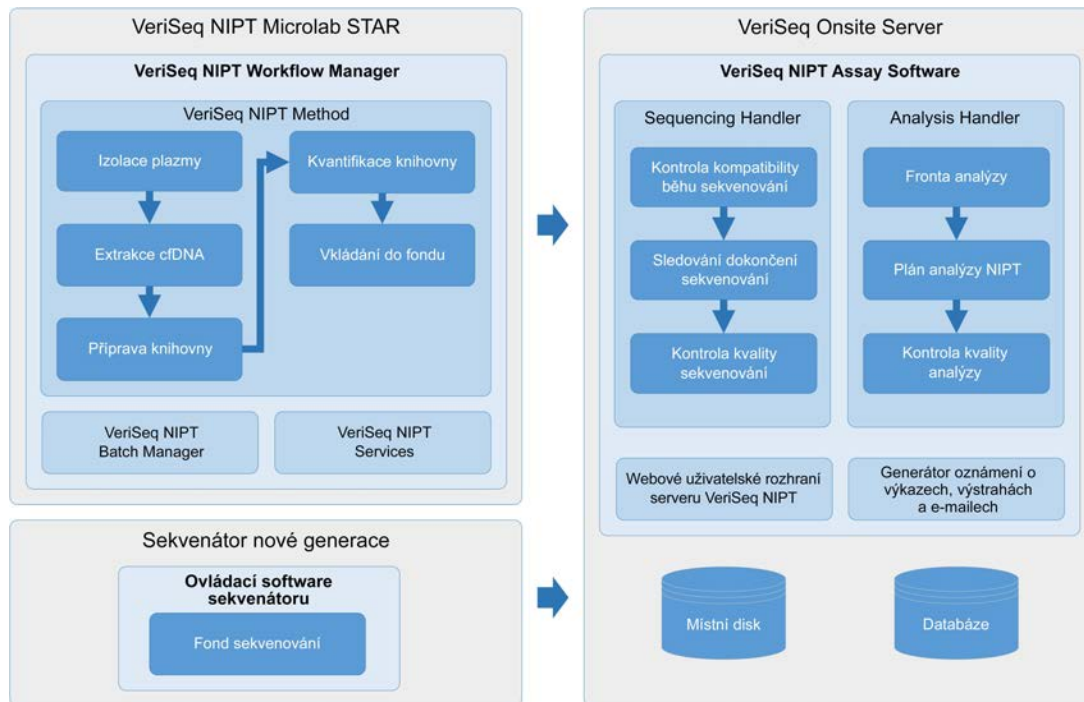
## Úvod

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

Architektura systému VeriSeq NIPT Solution obsahuje následující:

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

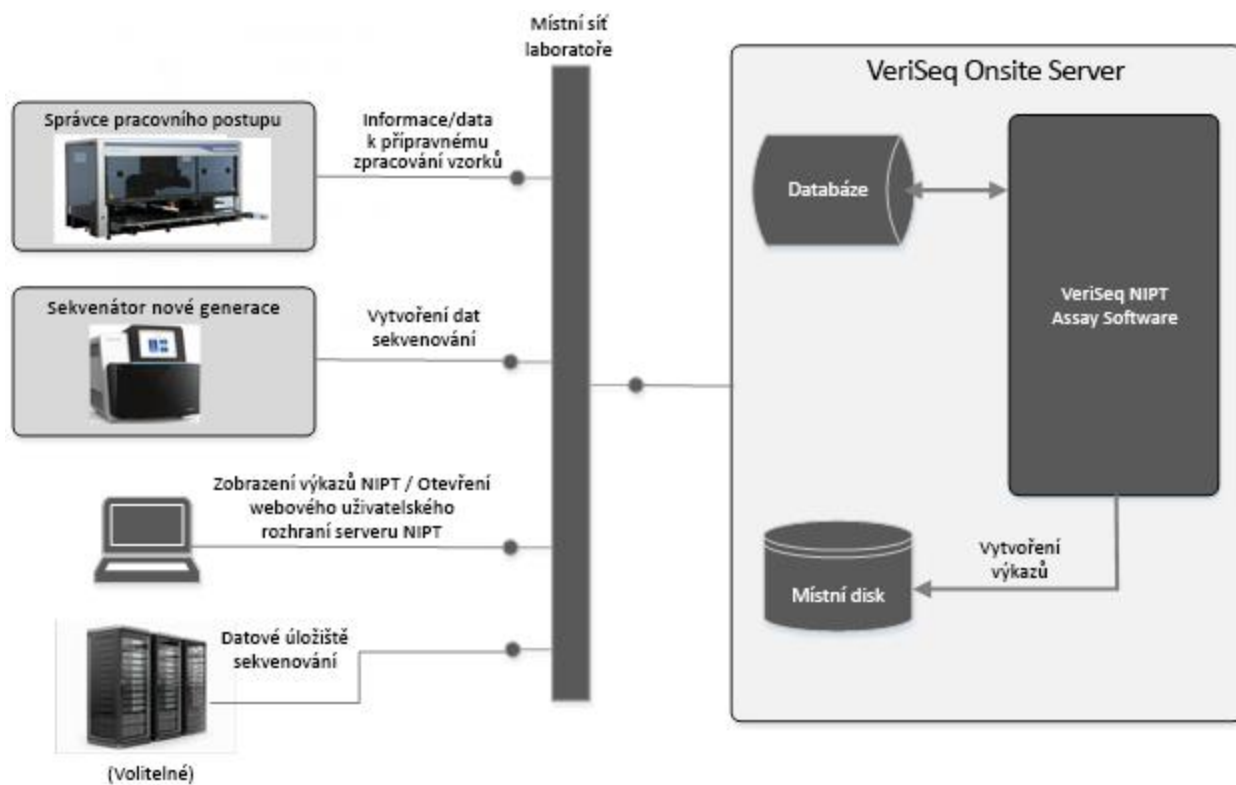
Obrázek 1 Komponenty VeriSeq NIPT Solution v2



## Architektura systému

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

Obrázek 2 Přehled produktu VeriSeq NIPT Solution v2





# Kapitola 2 VeriSeq NIPT Workflow Manager

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

## Úvod

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

Aplikace Workflow Manager poskytuje přístup ke třem různými softwarovým modulům, zvaným také metody:

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

## VeriSeq NIPT Method

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

- ▶ **Izolace plazmy** – přenese 1 ml izolované plazmy ze zkumavky s odebranou krví. Logika procesu vytvoří dávku pomocí Assay Software. Každá dávka obsahuje data vzorku včetně čárového kódu vzorku, typu vzorku, typu vyšetření, pozice zdroje a příznaku 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 vsunování fluorescenčního barviva do struktury mikroděsky s 384 jamkami. Deska obsahuje označenou standardní křivku DNA a duplikáty každého vzorku v dávce. Systém používá nezpracované odečty fluorescence ze čtečky mikroděsky a vypočítává koncentrace vzorků na základě standardní křivky.
- ▶ **Vkládání do fondu a normalizace** – kombinuje knihovny do jednotlivých fondů pro sekvenování. Systém 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 umožňuje spravovat stav vzorků, dávek a fondů pomocí uživatelského rozhraní. Systém umožňuje sledování vzorků v několika systémech pro zpracování kapalin a sekvenátorech a prostřednictvím plánu analýzy. Další informace o postupech zpracování vzorků naleznete v *příložené dokumentaci k produktu VeriSeq NIPT Solution v2 (dokument č. 1000000078751)*.

Vzorky můžete spravovat v rámci pracovního postupu prostřednictvím třech různých kategorií označovaných jako objekty:

Objekt	Popis
Vzorek	Výsledek jednorázového odběru o objemu 1 ml z jedné zkumavky z krví. Vzorky jsou přidruženy k čárovému kódu zkumavky s krví (čárový kód vzorku) a dávky.
Dávka	Deska se 24, 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 sekvencer. Každý fond obsahuje až 48 vzorků.

Během zpracování lze na objekty použít následující akce:

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

Po zneplatnění, chybě kontroly kvality nebo po zrušení akce se objekt dále nezpracovává. Laboratorní systémy správy informací (LIMS) mohou použít výkazy 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.



### UPOZORNĚNÍ

V zájmu předcházení chyb neuvádějte v seznamu vzorků žádné informace o vzorcích NTC. Tento typ vzorků zcela vynechejte a nevytvářejte pro ně řádky. Systém pro vzorky NTC automaticky použije čárové kódy, typ vyšetření, typ vzorku a způsob vykazování pohlavních chromozomů.

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 (vykazovat pouze aneuploidii pohlavních chromozomů).
screen_type	Řetězec	Povinné	Označuje typ vyšetření pro analýzu. Povolené hodnoty jsou Basic (Základní) a Genomewide (Celý genom).

Vstupní seznam vzorků se odešle během izolace plazmy nebo během vkládání do fondu. Aktualizované seznamy vzorků lze aktualizovat také pomocí aplikace Batch Manager, a to změnou všech atributů vzorku s výjimkou typu vyšetření. 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 zákaznickovým systémem LIMS), nebo pro opakované zkoušky (kde zbývající otevřené pozice budou zaplněné dostupnými vzorky).

Vyberte ze třech způsobů použití seznamů vzorků:

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

## Předem definované dávky – dávky vytvořené systémem LIMS

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

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

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

## Jednorázové dávkování – vytvořené dávky

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

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

- ▶ **Výhody** – nevyžaduje se systém LIMS a seznam vzorků. Uživatelé mohou výkaz zavedení dávky upravit informací o typu vzorku, typu vyšetření a 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. Vzorová data je nutné vložit během vkládání do fondu.

## Hybridní dávkování – prioritní vzorky systému LIMS

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

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

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

## Úprava atributů vzorku

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

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

## Zneplatnění vzorku, dávky a fondu

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

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

### Zneplatnění vzorku pomocí aplikace VeriSeq NIPT Method

- 1 V průběhu zpracování vzorků, na konci jednotlivých procesů aplikace Workflow Manager, vyberte v okně Well Comments (Komentáře ke zdrojům) jednotlivé zdroje, které chcete označit jako chybové, a klikněte na **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 **OK**.
- 4 Potvrďte, že systém má vzorek považovat za chybový.

### Zneplatnění pomocí aplikace Batch Manager

Aplikaci Batch Manager umožňuje zneplatnit následující:

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



#### **POZNÁMKA**

Před spuštěním aplikace Batch Manager ukončete všechny aktuálně spuštěné metody.

## Přístup k aplikaci Batch Manager

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

## Sample Invalidation (Zneplatnění vzorku)

- 1 Otevřete aplikaci Batch Manager.
- 2 Zadejte údaje Batch ID (ID dávky) a User Name (Uživatelské jméno) nebo iniciály obsluhy a klikněte na **OK**.
- 3 Na diagramu desky dávky vyberte pozici zdroje přidruženého k chybovému vzorku.
- 4 Zkontrolujte, že se zobrazuje správný vzorek, a klikněte na možnost **Invalidate Sample** (Zneplatnit vzorek).
- 5 Zadejte příčinu chyby a vyberte možnost **Invalidate** (Zneplatnit).  
Na diagramu desky dávky se barva zneplatněných vzorků změní ze zelené na červenou a stav dávky se změní z platné na nezdařenou.

## Batch Invalidation (Zneplatnění dávky)

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

## Pool Invalidation (Zneplatnění fondu)

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

## Nahrání seznamu vzorků

Uživatel může pomocí aplikace Batch Manager nahrát seznam vzorků s informacemi o vzorcích. Pomocí této funkce mohou uživatelé například hromadně nahrát nebo změnit informace o velkých sadách vzorků. Při nahrávání seznamu vzorků můžete změnit všechny atributy vzorku kromě typu vyšetření.

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

## Sample Cancelation (Zrušení vzorku)

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

## VeriSeq NIPT Services

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

## Spuštění softwaru VeriSeq NIPT Services



### POZNÁMKA

Před spuštěním softwaru Services ukončete všechny spuštěné metody.

Chcete-li spustit software VeriSeq NIPT Services, použijte některý z následujících postupů:

- ▶ V nástroji pro spouštění aplikací vyberte možnost **VeriSeq NIPT Services**.
- ▶ V počítači připojeném k síti přejděte do složky C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT\ a otevřete soubor metod VeriSeq NIPT Services (**VeriSeqNIPT\_Service.med**) pomocí aplikace Hamilton Run Controller.

Nástroje softwaru Services umožňují provádět dva druhy zkoušek:

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

## Jednotlivé zkoušky

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

Zkouška systému	Popis
Čárový kód/automatické vložení	Zkouší správnou konfiguraci systémové plošiny, funkce AutoLoader a funkčnost snímání čárového kódu.
CPAC	Zkouší funkčnost topných plošinových systémů CPAC. Kontroluje také správné zapojení elektroinstalace jednotlivých jednotek do řídicí skříně.
BVS Vacuum	Zkouší funkčnost základních vakuových systémů na plošině (BVS), aby se potvrdilo, že vakuum je v provozu a dokáže dosáhnout provozních tlaků.
Nezávislý kanál	Zkouší funkčnost nezávislých pipetovacích kanálů. Provádí zkoušky zadržování kapaliny, aby se zjistilo, zda pipetovací kanály nekapou a zda jsou dodávané objemy konzistentní.
iSwap	Zkouší funkčnost robotické paže iSwap a potvrzuje hrubé výukové pozice plošiny.
Špička 96	Zkouší funkčnost pipetovací špičky CO-RE 96. Provádí zkoušky zadržování kapaliny, aby se zjistilo, zda pipetovací kanály nekapou a zda jsou dodávané objemy konzistentní.

Postup provedení jednotlivých zkoušek:

- 1 Vyberte konkrétní zkoušku, kterou chcete provést.



### POZNÁMKA

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

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

## Service Tools (Nástroje služby)

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

Zkouška systému	Popis
Server Configuration (Konfigurace serveru)	Nakonfiguruje a vyzkouší propojení mezi softwarem VeriSeq NIPT Workflow Manager a softwarem 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 místního serveru VeriSeq Onsite Server v2, nasměrujte aplikaci Workflow Manager na tuto novou adresu.

- 1 V nabídce Services Tools (Nástroje služby) vyberte možnost **Server Configuration** (Konfigurace serveru).



- 2 Aktualizujte adresu URL novou adresou místního serveru.
- 3 V poli pro heslo zadejte síťové heslo pro místní server.
- 4 Výběrem možnosti **Test Connection** (Odzkoušet připojení) odešlete zkušební zprávu. Pokud tato zpráva nedorazí, obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina.
- 5 Na obrazovce System Configuration (Konfigurace systému) klikněte na **OK** a kliknutím na možnost **Apply** (Použít) uložte novou adresu.

Pokud aktualizujete síťovou adresu, musíte také aktualizovat certifikát SSL (Secure Sockets Layer) v osobním počítači, ve kterém je spuštěna aplikace Workflow Manager. Spusťte VeriSeq NIPT Assay Software v2 v tomto počítači a postupujte podle části *Stažení a instalace certifikátu na straně 26*.

## Assay Configuration (Konfigurace rozboru)

Koncentrace knihoven sekvenátoru ve fondech sekvenátoru můžete jednotlivě upravit pomocí aplikace Workflow Manager během procesu vkládání do fondu (viz příloženou dokumentaci softwaru *VeriSeq NIPT Solution v2 (dokument č. 1000000078751)*). Nástroj Assay Configuration (Konfigurace rozboru) lze použít i ke změně výchozí hodnoty této koncentrace.

Pomocí nástroje Assay Configuration (Konfigurace rozboru) můžete také změnit hodnoty dalších parametrů. Parametr Default Sex Chromosome Reporting (Výchozí způsob vykazování pohlavních chromozomů) můžete nastavit na hodnotu Yes (Ano), nebo No (Ne). Toto nastavení určuje, který atribut bude přiřazen ke vzorkům, pokud při přípravě vzorku stisknete tlačítko Use Default (Použít výchozí). Parametr Screen Type (Typ vyšetření) lze nastavit na Basic (Základní) nebo Genomewide (Celý genom). Tento parametr určuje typ vyšetření vzorku.

- 1 Vyberte možnost **Assay Configuration** (Konfigurace rozboru).
- 2 Upravte pole Target Library Concentration (pg/μl) (Cílová koncentrace knihovny (pg/μl)) na požadovanou hodnotu.
- 3 Upravte parametr Default Sex Chromosome Reporting (Výchozí způsob vykazování pohlavních chromozomů) na požadovanou hodnotu.
- 4 Změňte nastavení Screen Type (Typ vyšetření) na požadovanou hodnotu.
- 5 Vyberte možnost **Apply** (Použít).

## Deck Teach Tool

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

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

# Kapitola 3 Sekvenátor nové generace

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

## Úvod

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

Při integraci systému sekvenování 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 sekvencer nové generace, který dokáže vytvářet data sekvenování podle připraveného fondu knihoven v souladu s následujícími specifikacemi:

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

## Integrace datového úložiště

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

Pro potřeby uložení dat připojte systém sekvenování nové generace k místnímu serveru pomocí jedné z následujících metod:

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

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

## Výkonnostní možnosti analýzy

Plán analýzy VeriSeq NIPT obvykle zpracovává běh sekvenování přibližně 5 hodin. Pokud zvětšujete výkonnostní možnosti laboratoře, vezměte v úvahu, že jeden server je schopen zpracovat maximálně 4 běhy za den, to znamená 48 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 v2 využívá místní síť (LAN) laboratoře pro přenos dat mezi systémem sekvenování nové generace, místním 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 Local Run Manager

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

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



### UPOZORNĚNÍ

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

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

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

# Kapitola 4 VeriSeq NIPT Assay Software v2

Úvod .....	15
Součásti Assay Software .....	15
Webové uživatelské rozhraní .....	19
Analýza a vykazování .....	29
VeriSeq Onsite Server v2 .....	31

## Úvod

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

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

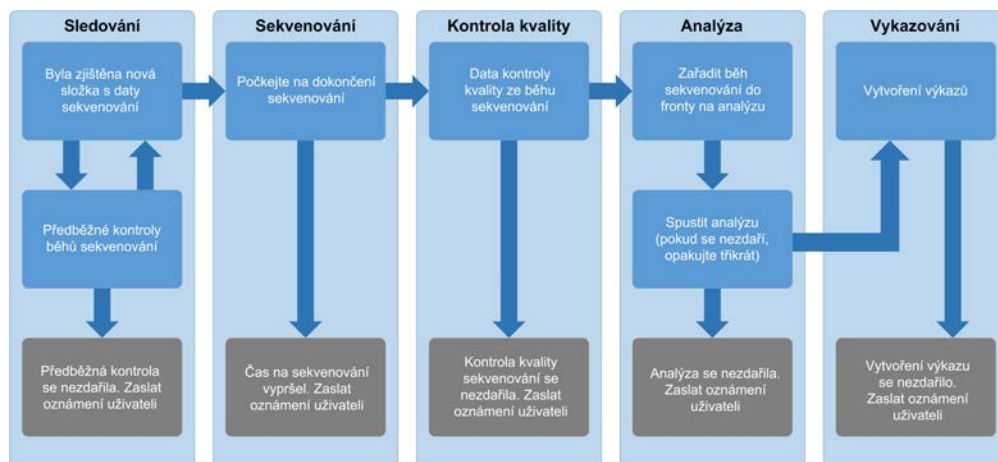
Assay Software seřadí čtení podle referenčního lidského genomu a provede analýzu čtení, která se uspořádají na jedinečném místě nebo prostoru v genomu. Assay Software vyloučí duplicitní čtení a místa, která jsou spojená s vysokým kolísáním v pokrytí euploidních vzorků. Data sekvenování se normalizují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

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

## Součásti Assay Software

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

Obrázek 3 Schéma toku dat



- 1 Monitoring (Sledování)** – předběžně kontroluje platnost nového běhu sekvenování. Kontroly platnosti zahrnují kontroly kompatibility parametrů běhu (zda hodnoty odpovídají očekávaným hodnotám) a přidružení průtokové křivky ke známé existující zkumavce fondu a zajišťuje, aby se neopakovala vykazování výsledků stejných vzorků ve fondu (opakovaný běh). V případě neúspěchu některé z těchto kontrol dostane uživatel oznámení e-mailovým oznamovacím systémem a v protokolu Alerts (Výstrahy) ve webovém uživatelském rozhraní.
- 2 Sequencing (Sekvenování)** – nepřetržitě sleduje dokončování běhu sekvenování. 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 běhů sekvenování, 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 uživatel obdrží 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 48*.
- ▶ **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 dojde ke zneplatnění dávky nebo fondu 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 integrovaného analytického softwaru NIPT. 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 *NIPT Report (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). Další informace naleznete v části *NIPT Report (Výkaz NIPT) na straně 40*.
- ▶ **Vytvoření výkazů** – Assay Software vytvoří doplňkové výkazy s informacemi o výsledcích, oznámeních a procesech. Další informace naleznete v části *Systémové výkazy na straně 36*.
- ▶ **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 je vzorek označen jako neplatný, automaticky se vygeneruje Sample Invalidation Report (Výkaz zneplatnění vzorku), viz kapitola *Sample Invalidation Report (Výkaz zneplatnění vzorku) na straně 47*.
  - ▶ **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 48*.

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

## Uživatelské úkoly

VeriSeq NIPT Solution v2 umožňuje uživatelům provádět následující úkoly:

Pomocí softwaru Workflow Manager:

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

Používání Assay Software:

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



### POZNÁMKA

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

## Sequencing Handler

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

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

## Kompatibilita běhu sekvenování

Server analyzuje pouze běhy sekvenování, 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.

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

- ▶ Párový-koncový běh se čteními v cyklu 2 × 36.
- ▶ Dvojitě indexování se dvěma osmicyklovými čteními indexu.

## Analytic Pipeline Handler

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

Úspěšná analýza běhu spustí vytvoření výkazu NIPT. Další informace naleznete v části *NIPT Report (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 Sequencing Time (Maximální doba sekvenování)	20 hodin
Maximum Analysis Time (Maximální doba analyzování)	10 hodin
Minimum Scratch Space Storage (Minimální pomocné místo úložiště)	900 GB

## Webové uživatelské rozhraní

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



### POZNÁMKA

Webové uživatelské rozhraní Assay Software nepodporuje použití mobilních zařízení.

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 57.
- ▶ **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 57.
- ▶ **Configure the server network settings** (Konfigurovat nastavení serverové sítě) – pracovníci společnosti Illumina síť obvykle konfigurují během instalace systému. Pokud místní síť vyžaduje změny v IT, může být potřeba provést úpravy. Další informace naleznete v části *Změna nastavení sítě a serveru* na straně 26.
- ▶ **Manage server access** (Spravovat přístup k serveru) – místní server umožňuje přístup na úrovni správců a obsluhy. Tyto úrovně přístupu řídí zobrazování činností, výstrah a chybových protokolů a změny nastavení sítě a mapování dat. Další informace naleznete v části *Správa uživatelů* na straně 23.
- ▶ **Configure sequencing data folder** (Konfigurovat složku dat sekvenování) – ve výchozím nastavení server ukládá data sekvenování. K rozšíření úložné kapacity je však možné přidat centrální úložiště NAS. Další informace naleznete v části *Správa sdílené síťové jednotky* na straně 24.




- ▶ **Configure email notification subscribers list** (Konfigurovat seznam příjemců e-mailových oznámení) – spravuje seznam příjemců, kteří dostávají e-mailová oznámení s chybovými zprávami a výstrahami ke zpracování rozboru. Další informace naleznete v části *Konfigurace e-mailových oznámení systému na straně 27*.
- ▶ **Configure database backup encryption** (Konfigurovat šifrování záloh databáze) – umožňuje šifrování a nastavení hesla pro šifrování zálohy databáze serveru. Tato funkce také umožňuje vytvořit dočasnou nezašifrovanou zálohu. Další informace naleznete v části *Konfigurace šifrování zálohy na straně 28*.
- ▶ **Configure network passwords** (Konfigurovat síťová hesla) – umožňuje nastavit síťová hesla pro komunikaci mezi serverem a oba sekvenátory a přístroji VeriSeq NIPT Microlab STAR. Další informace naleznete v části *Konfigurace síťových hesel na straně 28*.
- ▶ **Reboot or shutdown the server** (Restartovat nebo vypnout server) – v případě potřeby restartuje nebo vypne server. Restartování nebo vypnutí může být nutné v případě, kdy to vyžaduje konfigurační nastavení nebo když se použije jako opravný prostředek při chybě serveru. Další informace naleznete v části *Restart serveru na straně 33* a v části *Vypnutí serveru na straně 34*.

## Licenční smlouva s koncovým uživatelem

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

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

## Konfigurace webového uživatelského rozhraní

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



### POZNÁMKA

Technik nemá přístup k žádné z těchto funkcí.

Nastavení	Popis
User Management (Správa uživatelů)	Přidat, aktivovat/deaktivovat a upravit pověření uživatele. Pouze servisní technici a administrátoři.
Email Configuration (Nastavení e-mailu)	Upravit seznam odběratelů e-mailových oznámení.
Backup Encryption (Šifrování záloh)	Umožňuje povolit šifrování záloh databáze a vytvoření dočasné nezašifrované zálohy.
Network Passwords (Síťová hesla)	Slouží k nastavení síťových hesel pro komunikaci mezi serverem a komponenty řešení.
Reboot Server (Restartovat server)	Pouze servisní technici a administrátoři.
Shut Down Server (Vypnout server)	Pouze servisní technici a administrátoři.

## Přihlášení do webového uživatelského rozhraní

Postup získání přístupu k rozhraní softwaru Assay Software a přihlášení:

- 1 V počítači připojeném ke stejné síti jako místní server otevřete některý z následujících webových prohlížečů:
  - ▶ Chrome verze 69 nebo novější
  - ▶ Firefox verze 62 nebo novější
  - ▶ Internet Explorer verze 11 nebo novější
- 2 Zadejte adresu IP nebo název serveru poskytnutý společností Illumina během instalace, odpovídající zápisu \\<adresa IP místního serveru VeriSeq v2>\login.  
Příklad: \\10.10.10.10\login.
- 3 Pokud se zobrazí varování zabezpečení prohlížeče, přidejte výjimku zabezpečení, abyste mohli pokračovat na přihlašovací obrazovku.
- 4 Na přihlašovací obrazovce zadejte uživatelské jméno a heslo (rozlišují se malá a velká písmena) poskytnuté společností Illumina a klikněte na **Log In** (Přihlásit).



### POZNÁMKA

Po 10 minutách nečinnosti Assay Software automaticky odhlásí aktuálního uživatele.

## Použití ovládacího panelu

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

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 historií činností. Stačí kliknout na příkaz **Previous** (Předchozí) v levém dolním rohu tabulky činností.

**Obrázek 4** Ovládací panel VeriSeq NIPT Assay Software

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

## Zobrazení posledních činností

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

Název	Popis
When (Podmínka výskytu)	Activity date and time (Datum a čas činnosti)
User (Uživatel)	Pokud se používá, označuje uživatele, který činnost provedl.
Subsystem (Subsystém)	Entita nebo proces, který danou činnost provedl, například uživatel, rozbor nebo konfigurace
Details (Podrobnosti)	Popis činnosti
Level (Úroveň)	Úroveň přiřazená dané činnosti. Na výběr jsou následující možnosti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Activity</b> (Činnost) – označuje činnost na serveru, například restartování systému nebo přihlášení či odhlášení uživatele.</li> <li>• <b>Notice</b> (Upozornění) – označuje neúspěšně provedený krok. Může se jednat například o zneplatnění vzorku nebo chybu kontroly kvality.</li> <li>• <b>Warning</b> (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.</li> </ul>

## Zobrazení posledních chyb

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

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

## Zobrazení stavu systému a výstrah

Pokud chcete zobrazit souhrnné informace o stavu serveru, na ovládacím panelu vyberte kartu **Server Status** (Stav serveru).

V souhrnu jsou zobrazeny tyto informace:

- ▶ **Date** (Datum) – aktuální datum a čas.
- ▶ **Time zone** (Časové pásmo) – časové pásmo nakonfigurované na serveru. Používá se pro datum a čas e-mailů, výstrah a výkazů.

- ▶ **Hostname** (Název hostitele) – název systému se skládá z názvu síťového hostitele a 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 softwaru VeriSeq NIPT Assay Software v2.

V souhrnu se může také zobrazit tlačítko **Server alarm** (Poplach serveru), které slouží k vypnutí poplachu řadiče RAID. Toto tlačítko je zobrazeno pouze uživatelům s oprávněním správce. Pokud toto tlačítko stisknete, požádejte o další pomoc technickou podporu společnosti Illumina.

## Správa uživatelů



### POZNÁMKA

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

## Přiřazení uživatelských rolí

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

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

## Přidávání uživatelů

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

Chcete-li přidat uživatele:

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



### POZNÁMKA

Všechna pole musí být vyplněna.

- 2 Zadejte uživatelské jméno.



### POZNÁMKA

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

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

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



#### POZNÁMKA

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

- 5 Zadejte e-mailovou adresu uživatele.  
Pro každého uživatele je nutná jedinečná e-mailová adresa.
- 6 Vyberte požadovanou uživatelskou roli z rozbalovacího seznamu.
- 7 Okamžitou aktivaci uživatele proveďte vybráním políčka **Active** (Aktivní). Pokud chcete aktivovat uživatele později (např. po školení), zrušte výběr políčka.
- 8 Výběrem možnosti **Save** (Uložit) uložte a potvrďte změny.  
Na obrazovce User Management (Správa uživatelů) je nyní zobrazen nový uživatel.

## Úprava uživatelů

Postup úpravy informací o uživateli:

- 1 Na obrazovce User Management (Správa uživatelů) vyberte uživatelské jméno požadovaného uživatele.
- 2 Podle potřeby upravte informace uživatele a po dokončení vyberte možnost **Save** (Uložit).
- 3 Po zobrazení dialogového okna znovu vyberte možnost **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 zaškrtačacího políčka **Activate** (Aktivovat) a vyberte položku **Save** (Uložit).
- 3 V potvrzovací zprávě vyberte položku **Save** (Uložit).  
Stav uživatele na obrazovce User Management (Správa uživatelů) se změní na Disabled (Neaktivní).

## Správa sdílené síťové jednotky



#### POZNÁMKA

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

## Přidání sdílené síťové jednotky

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

- 1 V nabídce Dashboard (Ovládací panel) vyberte možnost **Folders** (Složky).
- 2 Vyberte možnost **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 místní server, když přistupuje k úložišti NAS.
  - ▶ **Password** (Heslo) – heslo určené pro místní server, když přistupuje k úložišti NAS.

- 4 Vyberte možnost **Save** (Uložit).
- 5 Výběrem možnosti **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 **Save** (Uložit).
- 3 Výběrem možnosti **Test** (Zkouška) proveďte kontrolu spojení s úložištěm NAS. Pokud se spojení nezdaří, ověřte u správce IT, zda máte správný název serveru, název umístění, uživatelské jméno a heslo.

## Odstranění sdílené síťové jednotky

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

## Konfigurace sítě a nastavení certifikátů

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



#### POZNÁMKA

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

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

## Změna nastavení certifikátů

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

- 1 K přidání nebo změně nastavení certifikátu SSL použijte kartu Certificate Configuration (Konfigurace certifikátu).
  - ▶ **Laboratory Email** (E-mail laboratoře) – kontaktní e-mail zkušební laboratoře (musí mít platný formát e-mailové adresy).
  - ▶ **Organization Unit** (Organizační jednotka) – oddělení.
  - ▶ **Organization** (Organizace) – název zkušební laboratoře.
  - ▶ **Location** (Umístění) – adresa zkušební laboratoře.
  - ▶ **State** (Stát) – stát zkušební laboratoře (automaticky vyplněno na základě e-mailové adresy).
  - ▶ **Country** (Země) – země zkušební laboratoře (automaticky vyplněno na základě e-mailové adresy).

- ▶ **Certificate Thumbprint (SHA1)** (Kryptografický otisk certifikátu (SHA1)) – identifikační číslo certifikace. Kryptografický otisk certifikátu (SHA1) zajišťuje, že se uživatelům nebudou zobrazovat varování certifikátu při přístupu k softwaru VeriSeq NIPT Assay Software v2. SHA1 se zobrazí po vytvoření nebo obnovení certifikátu. Další informace viz část *Obnovení certifikátu na straně 27*.

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

## Změna nastavení sítě a serveru



### POZNÁMKA

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

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



### UPOZORNĚNÍ

Nesprávná nastavení mohou narušit spojení se serverem.

## Stažení a instalace certifikátu

Postup stažení a instalace certifikátu SSL:

- 1 V nabídce Dashboard (Ovládací panel) vyberte možnost **Configuration** (Nastavení).
- 2 Klikněte na kartu **Certification Configuration** (Konfigurace certifikace).
- 3 Na obrazovce Network Configuration (Konfigurace sítě) vyberte možnost **Download Certificate** (Stáhnout certifikát).

Stažený soubor certifikátu root\_cert.der.



### POZNÁMKA

Pokud jste vyzváni k uložení souboru, zvolte dobře zapamatovatelné umístění. V opačném případě určete výchozí umístění pro stažené soubory. Některé prohlížeče uloží soubor automaticky do složky stažených souborů.

- 4 Přejděte do složky v počítači, kam jste uložili soubor.
- 5 Pravým tlačítkem klikněte na soubor **root\_cert.der** a vyberte možnost **Install Certificate** (Instalovat certifikát).

Pokud se zobrazí okno s upozorněním zabezpečení, otevřete soubor kliknutím na možnost **Open** (Otevřít).

- 6 V úvítacím okně průvodce importem certifikátu vyberte možnost **Local Machine** (Místní počítač) v části Store Location (Umístění úložiště) a klikněte na tlačítko **Next** (Další).
- 7 Vyberte možnost **Place all certificates in the following store** (Všechny certifikáty umístit v následujícím úložišti) a klikněte na tlačítko **Browse...** (Procházet).
- 8 V okně Select Certificate Store (Vybrat úložiště certifikátů) vyberte možnost **Trusted Root Certification Authorities** (Důvěryhodné kořenové certifikační autority) a klikněte na **OK**.
- 9 Zkontrolujte, zda se v poli Certificate Store (Úložiště certifikátů) zobrazuje možnost Trusted Root Certification Authorities (Důvěryhodné kořenové certifikační autority) a klikněte na **Next** (Další).
- 10 V okně dokončení průvodce importem certifikátu klikněte na **Finish** (Dokončit).  
Pokud se zobrazí upozornění zabezpečení, kliknutím na **Yes** (Ano) nainstalujte certifikát.
- 11 V dialogovém okně s informací o úspěšném importu klikněte na **OK**. Průvodce bude ukončen.

## Obnovení certifikátu



### POZNÁMKA

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

Postup obnovení certifikátu po změně nastavení sítě nebo certifikátu:

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

## Konfigurace e-mailových oznámení systému

VeriSeq NIPT Assay Software v2 komunikuje s uživateli zasláním e-mailových oznámení o postupu rozboru a výstrah, když se vyskytnou chyby nebo je vyžadován zásah uživatele. Část *Oznámení Assay Software na straně 57* 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 zaslána z účtu **VeriSeq@<customer email domain>**, kde **<customer email domain>** je určena místním oddělením IT při instalaci serveru.

## Vytvoření seznamu e-mailových odběratelů

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

Pokud chcete sestavit seznam odběratelů, postupujte následovně:

- 1 V nabídce Dashboard (Ovládací panel) 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 Výběrem možnosti **Send test message** (Odeslat zkušební zprávu) vytvoříte zkušební e-mail pro seznam odběratelů.  
Zkontrolujte svoji e-mailovou schránku a ověřte, zda byl e-mail odeslán.
- 5 Vyberte možnost **Save** (Uložit).

## Konfigurace šifrování zálohy

Pomocí softwaru VeriSeq NIPT Assay Software v2 mohou správci povolit nebo zakázat šifrování záloh. Mohou také nastavit nebo změnit heslo pro šifrování pro zálohy databáze. Toto heslo je nezbytné k obnovení zálohy databáze. Heslo uložte na bezpečném místě pro případ, že jej budete v budoucnu potřebovat.



### POZNÁMKA

Oprávnění nastavit šifrování záloh databáze mají pouze správci.

Chcete-li nastavit šifrování záloh, postupujte následovně.

- 1 V nabídce Dashboard (Ovládací panel) klikněte na ikonu Settings (Nastavení)
- 2 Vyberte možnost **Backup Encryption** (Šifrování záloh).
- 3 Zaškrtněte políčko **Encrypt Backups** (Šifrovat zálohy).
- 4 Zadejte preferované heslo pro šifrování v poli **Encryption Password** (Heslo pro šifrování).
- 5 Do pole **Confirm Password** (Potvrdit heslo) zadejte stejné heslo znovu.
- 6 Vyberte možnost **Save** (Uložit).

## Vytvoření nezašifrované zálohy

Pomocí softwaru VeriSeq NIPT Assay Software v2 mohou správci vytvořit soubor nezašifrované zálohy can be used by Illumina Technical Support. Soubor nezašifrované zálohy existuje pouze 24 hodin, než je automaticky odstraněn.



### POZNÁMKA

Oprávnění vytvořit nezašifrovanou zálohu mají pouze správci.

Chcete-li vytvořit nezašifrovanou zálohu, postupujte následovně.

- 1 V nabídce Dashboard (Ovládací panel) klikněte na ikonu Settings (Nastavení) .
- 2 Vyberte možnost **Backup Encryption** (Šifrování záloh).
- 3 Klikněte na tlačítko **Generate Unencrypted Backup** (Vytvořit nezašifrovanou zálohu).
- 4 V okně potvrzení klikněte na **Yes** (Ano).  
Zobrazí se potvrzení požadavku na vytvoření nezašifrované zálohy.
- 5 Vyberte **OK**.  
Vytvoření nezašifrované zálohy můžete potvrdit tím, že se vrátíte do nabídky Dashboard (Ovládací panel) softwaru VeriSeq NIPT Assay Software v2 a zobrazíte tabulku Recent Activities (Nedávné aktivity).  
Úspěšné vytvoření nezašifrované zálohy by mělo být potvrzeno vytvořením nové aktivity.

## Konfigurace síťových hesel


Správce nebo servisní technik společnosti Illumina může na stránce Network Passwords (Síťová hesla) konfigurovat hesla pro komunikaci mezi místním serverem a komponenty VeriSeq NIPT Solution v2.



### POZNÁMKA

Oprávnění změnit síťová hesla mají pouze servisní technici a správci.

Chcete-li konfigurovat síťová hesla, postupujte následovně.

- 1 V nabídce Dashboard (Ovládací panel) klikněte na ikonu Settings (Nastavení) .
- 2 Vyberte možnost **Network Passwords** (Síťová hesla).
- 3 Zadejte heslo pro sekvenátory v poli Sequencer Password (Heslo pro sekvenátory).
- 4 V poli Confirm Password (Potvrdit heslo) zadejte heslo pro sekvenátor znovu.



### UPOZORNĚNÍ

Aktualizace hesla pro sekvenátor při sekvenačním běhu může způsobit ztrátu dat.

- 5 Vyberte možnost **Save Sequencer Password** (Uložit heslo pro sekvenátor).  
Server uloží heslo pro sekvenátor. Pokud chcete použít toto heslo, dbejte na to, abyste aktualizovali případné sekvenátory připojené k serveru.
- 6 Zadejte heslo pro VeriSeq NIPT Microlab STAR v poli Automation Password (Heslo pro automatizaci).
- 7 V poli Confirm Password (Potvrdit heslo) zadejte heslo pro ML STAR znovu.
- 8 Vyberte možnost **Save Automation Password** (Uložit heslo pro automatizaci).  
Server uloží heslo pro ML STAR. Pokud chcete použít toto heslo, dbejte na to, abyste aktualizovali případné přístroje ML STAR, které jsou již připojeny k serveru.



### UPOZORNĚNÍ

Aktualizace hesla pro automatizaci během probíhající přípravy vzorku může způsobit ztrátu dat.

## Odhlášení

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

## 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 běh sekvenování seznam vzorků (SampleSheet.csv). Tento soubor obsahuje informace o vzorcích poskytnutých do softwaru během přípravného zpracování vzorku (pomocí rozhraní API softwaru). Tyto seznamy vzorků obsahují hlavičku s informacemi o běhu a deskriptorech pro vzorky zpracované v konkrétní průtokové kytvě.

Následující tabulka nabízí podrobnosti o datech v seznamu vzorků.



### UPOZORNĚNÍ

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

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

## Kontrola kvality sekvenování

Metriky kontroly kvality sekvenování určují průtokové kyvety, 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 kyvety 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 35*.

## Odhady fetální frakce

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

## Statistika použitá v závěrečném vyhodnocování

V případě všech chromozomů se data sekvenování párových konců uspořádají podle referenčního genomu (HG19). Jediněčná, neduplicitní uspořádaná čtení se agregují do 100kb košů. Odpovídající počty košů se upraví podle odchylky GC a podle dříve stanoveného genomického pokrytí v závislosti na oblasti. Při použití takových počtů normalizovaných košů se statistická skóre odvozují pro každý autozom 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

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

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

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

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

## Kontrola kvality analýzy

Analytická metrika kontroly kvality je metrika, která je vypočítána během analýzy a používá se pro zjištění vzorků, které se příliš odchylují od očekávaného chování. Data pro vzorky, které neprojdou touto metrikou, jsou považována za nespolehlivá a označena jako chybná. Pokud vzorky vykážou výsledky mimo očekávaný rozsah této metriky, bude ve Výkazu NIPT uveden důvod kontroly kvality jako varování nebo příčina chyby. Další informace o těchto důvodech kontroly kvality jsou uvedeny v *Hlášení důvodů kontroly kvality na straně 44*.

## Kontrola kvality vzorků NTC

Software VeriSeq NIPT Solution umožňuje přidání vzorků NTC jako součást běhu. Zařízení ML STAR může vytvořit až 2 NTC na jeden běh dávky s 24 vzorky a dávky se 48 vzorky a až 4 NTC na dávku s 96 vzorky. Bez ohledu na počet přidávaných vzorků NTC software kontroluje minimální průměrný počet ve výši 4 milionů jedinečných namapovaných fragmentů na fond. Z tohoto důvodu nepřidávejte více než 2 vzorky NTC na fond. Další informace naleznete v části *Metriky a meze kontroly kvality sekvenování na straně 35*.

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).

## VeriSeq Onsite Server v2

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

<sup>1</sup>Bianchi D, Platt L, Goldberg J et al. Genome-Wide Fetal Aneuploidy Detection by Maternal Plasma DNA Sequencing. *Obstet Gynecol.* 2012; 119(5):890–901. doi:10.1097/aog.0b013e31824fb482.

## Místní disk

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

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



### POZNÁMKA

Mapování místního disku je založeno na protokolu SMB (Server Message Block). Software aktuálně podporuje verzi SMB2 a novější. Server vyžaduje podepisování SMB. Na připojovaných zařízeních (notebook nebo stolní počítač) je třeba tyto verze povolit.

## Místní databáze

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

- ▶ **Database backup** (Zálohování databáze) – Jednou za hodinu, za den, za týden a za měsíc je automaticky uložen snímek databáze. Hodinové zálohy jsou odstraněny po vytvoření denní zálohy. Podobně denní zálohy jsou odstraněny po vytvoření týdenní zálohy. Týdenní zálohy jsou odstraněny po vytvoření měsíční zálohy a ponechána je pouze jedna měsíční záloha. Doporučenou praxí je vytvořit automatizovaný skript, který udržuje složku záloh v místním úložišti NAS. Tyto zálohy nezahrnují vstupní a výstupní složky.



### POZNÁMKA

VeriSeq NIPT Assay Software v2 nabízí možnost šifrování zálohy databáze. Další informace naleznete v části *Konfigurace šifrování zálohy na straně 28*.

- ▶ **Database restore** (Obnovení databáze) – Umožňuje obnovit databázi z kteréhokoliv snímku zálohy. Obnovení provádí pouze servisní technici společnosti Illumina. K obnovení šifrované zálohy je nezbytné zadat heslo pro šifrování. Tímto heslem musí být heslo, které bylo platné v době vytvoření zálohy.
- ▶ **Data backup** (Zálohování dat) – Ačkoliv lze použít místní server jako hlavní úložiště běhů sekvenování, může uchovat pouze přibližně 300 běhů. Společnost Illumina doporučuje nastavit automatizované zálohování dat, které se provádí pravidelně do jiného dlouhodobého úložiště nebo do úložiště NAS.
- ▶ **Maintenance** (Údržba) – Aktualizaci softwaru Assay Software nebo samotného místního serveru zajišťuje technická podpora společnosti Illumina.

## Archivování dat

Pokud chcete vědět, jak archivovat vstupní a výstupní adresáře, přečtěte si IT politiku archivace na pracovišti. Assay Software sleduje zbývající místo na disku ve vstupním adresáři a pošle uživatelům e-mailové oznámení, když zbývající kapacita úložiště klesne pod 1 TB.

Nepoužívejte místní server k ukládání dat. Přesuňte na místní server data a v pravidelných intervalech je archivujte.

Typický běh sekvenování, 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.

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

## Mapování serverových jednotek

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

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



### POZNÁMKA

Povolení k připojení síťových disků mají pouze servisní technici a správci.

Připojování jednotlivých složek:

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



### POZNÁMKA

Mapování místního disku je založeno na protokolu SMB (Server Message Block). Software aktuálně podporuje verzi SMB2 a novější. Server vyžaduje podepisování SMB. Na připojovaných zařízeních (notebook nebo stolní počítač) je třeba tyto verze povolit.

## 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.

## Poznámky k prostředí

Informace o teplotě okolí pro místní server jsou uvedeny v následující tabulce.

**Tabulka 1** Teploty okolí pro server VeriSeq Onsite Server v2

Nadmořská výška	Teplota okolí během provozu	Teplota okolí mimo provoz
Hladina moře	10 až 40 °C	0 až 60 °C
+10 000 stop	0 až 30 °C	-10 až 50 °C

Informace o likvidaci elektronických zařízení (směrnice WEEE, kde se uplatní) jsou uvedeny na webu společnosti Illumina na adrese <https://support.illumina.com/weee-recycling.html>.

# Příloha A Metriky kontroly kvality

Metriky a meze kontroly kvality kvantitativního vyjádření .....	35
Metriky a meze kontroly kvality sekvenování .....	35

## Metriky a meze kontroly kvality kvantitativního vyjádření

Metrika	Popis	Dolní mez	Horní mez	Zdůvodnění
standard_r_squared	Druhá mocnina hodnoty R v modelu standardní křivky.	0,980	Není k dispozici	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.	Není k dispozici	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	Není k dispozici	Fond sekvenování přiměřeného objemu nesmí mít nadměrný počet příliš nařaděných vzorků. Dávky s vysokým počtem nařaděných 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 <sup>2</sup>	338 000 na mm <sup>2</sup>	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 %	Není k dispozici	Průtokové kyvety s mimořádně nízkým procentem PF mohou mít abnormální zastoupení bází a velmi pravděpodobně mohou označovat problém se čtením PF.
prephasing	Frakce předfázování.	Není k dispozici	≤0,003	Empiricky optimalizovaná doporučení pro VeriSeq NIPT Solution v2.
phasing	Frakce fázování.	Není k dispozici	≤0,004	Empiricky optimalizovaná doporučení pro VeriSeq NIPT Solution v2.
predicted_aligned_reads	Odhadovaný průměrný počet jedinečně namapovaných fragmentů na vzorek.	≥4 000 000	Není k dispozici	Stanoveno jako minimální pozorovaný NES v rámci běžné populace



# Příloha B Systémové výkazy

Úvod .....	36
Přehled systémových výkazů .....	37
Události vytváření výkazů .....	38
Výkazy výsledků a oznámení .....	40
Výkazy procesu .....	48

## Úvod

Assay Software vytváří dvě kategorie výkazů:

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

Existují také dva typy výkazů:

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

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

## Výstupní soubory

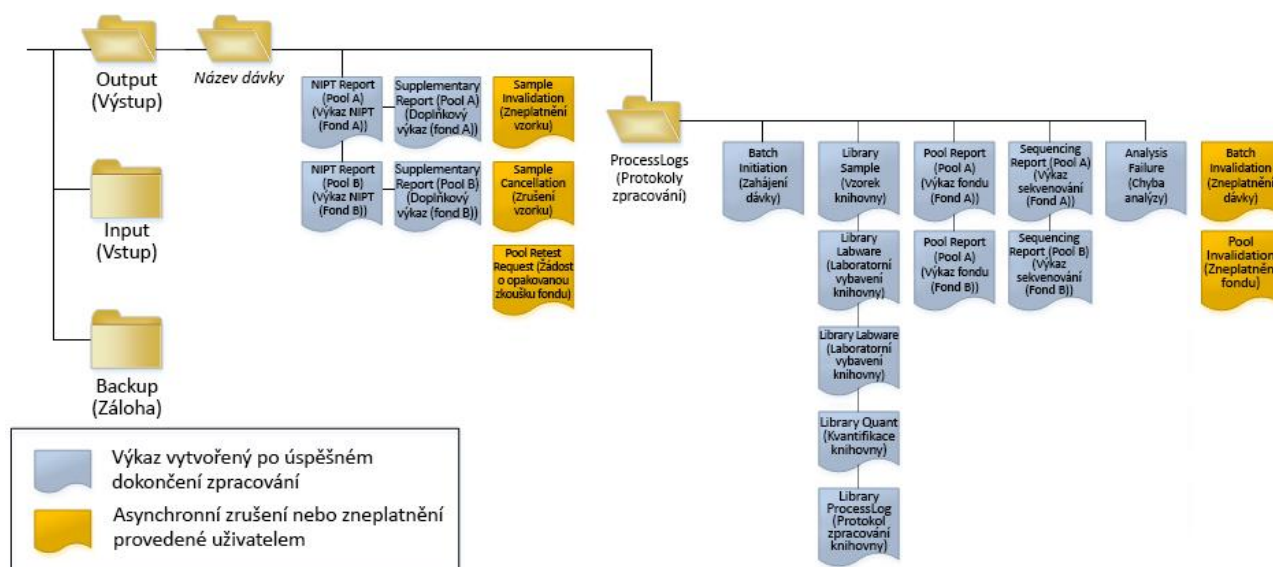
Výkazy softwaru Assay Software jsou vytvořeny na vnitřním pevném disku místního serveru, který je připojen k disku uživatele jako složka Output (Výstup) určená pouze ke čtení. Jednotlivé výkazy jsou vytvořeny s odpovídajícím standardním souborem kontrolního součtu MD5, který slouží k ověření, že soubor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

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

## Struktura souboru výkazů

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

Obrázek 5 Struktura složky výkazů softwaru Assay Software



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

- ▶ **Hlavní složka (složka Batch Name (Název dávky)).** Obsahuje výkazy s výsledky nebo souvisejícími e-mailovými oznámeními generovanými systémem LIMS. Podrobnosti viz část *Výkazy výsledků a oznámení* na straně 40.
- ▶ **Složka ProcessLogs (Protokoly zpracování)** – obsahuje výkazy související se zpracováním. Podrobnosti viz část *Výkazy procesu* na straně 48

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>NIPT Report (Výkaz NIPT)</i>	Praktický	Fond, průtoková kyveta	<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_nipt_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Supplementary Report (Doplňkový výkaz)</i>	Informační	Fond, průtoková kyveta	<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_supplementary_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Sample Invalidation Report (Výkaz zneplatnění vzorku)</i>	Praktický	Vzorek	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Sample Cancellation Report (Výkaz zrušení vzorku)</i>	Praktický	Vzorek	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_cancellation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Pool Retest Request Report (Výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu)</i>	Praktický	Fond	<batch_name>_<pool_type>_pool_retest_request_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Batch Initiation Report (Výkaz zavedení dávky)</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_batch_initiation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab

Název výkazu	Typ výkazu	Entita výkazu	Formát souboru výkazu
<i>Batch Invalidation Report (Výkaz zneplatnění dávky)</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_batch_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Library Sample Report (Výkaz vzorku knihovny)</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_sample_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Library Reagent Report (Výkaz reagentie knihovny)</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_reagent_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Library Labware Report (Výkaz laboratorního vybavení knihovny)</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_labware_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Library Quant Report (Výkaz kvantifikace knihovny)</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_quant_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Library Process Log (Protokol zpracování knihovny)</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_process_log.tab
<i>Pool Report (Výkaz fondu)</i>	Informační	Fond	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Pool Invalidation Report (Výkaz zneplatnění fondu)</i>	Informační	Fond	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Sequencing Report (Výkaz sekvenování)</i>	Informační	Fond, průtoková kvjeta	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_sequencing_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Analysis Failure Report (Výkaz o nezdařené analýze)</i>	Informační	Fond, průtoková kvjeta	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_analysis_failure_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab

## Události vytváření výkazů

Výkaz	Popis	Událost vytváření
NIPT Report (Výkaz NIPT)	Obsahuje konečné výsledky úspěšného běhu analýzy.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analýza běhu sekvenování je dokončena.</li> </ul>
Supplementary Report (Doplňkový výkaz)	Obsahuje doplňkové výsledky úspěšného běhu analýzy.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analýza běhu sekvenování i výkaz NIPT jsou dokončeny.</li> </ul>
Sample Invalidation (Zneplatnění vzorku)	Obsahuje informace o zneplatněném vzorku.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Uživatel zneplatní vzorek.</li> </ul>
Sample Cancelation (Zrušení vzorku)	Obsahuje informace o zrušeném vzorku.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Uživatel zruší vzorek.</li> </ul>
Pool Retest Request (Žádost o opakovanou zkoušku fondu)	Označuje, že z existující dávky lze vytvořit druhý fond. Obsahuje informace o stavu opakované zkoušky fondu. <sup>1</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Uživatel zneplatní fond.</li> </ul>
Batch Initiation (Zahájení dávky)	Označuje začátek zpracování nové dávky.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Uživatel zahájí novou dávku.</li> </ul>
Batch Invalidation (Zneplatnění dávky)	Obsahuje informace o dávce zneplatněné uživatelem.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dávka je zneplatněna.</li> </ul>

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

<sup>1</sup> Uživatel zneplatní fond z platné dávky, která nepřekročila maximální počet fondů.

## Výkazy výsledků a oznámení

### NIPT Report (Výkaz NIPT)

NIPT Report (Výkaz NIPT) softwaru VeriSeq NIPT Assay Software v2 obsahuje výsledky klasifikace chromozomů formátované v podobě jednoho vzorku na řádek pro každý vzorek ve fondu.

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
batch_name	Název dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
sample_barcode	Jedinečný čárový kód vzorku.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
sample_type	Informace o typu vzorku poskytnuté z místa sběru nebo uživatelem laboratoře. Určuje vzhled klasifikace aneuploidie.	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Singleton</b> (Jedináček) – těhotenství z jednoho embrya.</li> <li>• <b>Twin</b> (Dvojče) – těhotenství ze dvou embryí.</li> <li>• <b>Control</b> (Kontrola) – kontrolní vzorek se známým pohlavím a klasifikací aneuploidie.</li> <li>• <b>NTC</b> – žádný kontrolní vzorek šablony (žádná DNA).</li> <li>• <b>Not specified</b> (Neuvedeno) – Typ vzorku nebyl pro daný vzorek zadán.</li> </ul>
sex_chrom	Je požadována analýza pohlavního chromozomu. Určuje, jakým způsobem jsou prezentovány informace o klasifikaci aneuploidie a pohlavních chromozomech.	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Yes</b> (ano) – vyžaduje se aneuploidie pohlavního chromozomu a vykazování pohlaví.</li> <li>• <b>No</b> (ne) – nevyžaduje se aneuploidie pohlavního chromozomu ani vykazování pohlaví.</li> <li>• <b>SCA</b> – vyžaduje se aneuploidie pohlavního chromozomu, nevyžaduje se vykazování pohlaví.</li> <li>• <b>Not specified</b> (Neuvedeno) – Pro tento vzorek nebyla zadána možnost vykazování pohlavních chromozomů.</li> </ul> Výkaz NIPT uvádí hodnoty ano, ne a sca malými písmeny.
screen_type	Typ vyšetření.	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Basic</b> (Základní) – vyšetření chromozomů 13, 18 nebo 21.</li> <li>• <b>Genomewide</b> (Celý genom) – vyšetření celého genomu.</li> <li>• <b>Not specified</b> (Neuvedeno) – Typ vyšetření nebyl pro daný vzorek zadán.</li> </ul> Výkaz NIPT uvádí hodnoty basic (základní) a genomewide (celý genom) malými písmeny.
flowcell	Čárový kód průtokové kvyety pro sekvenování.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
class_sx	Klasifikace aneuploidie u pohlavního chromozomu.	<p>V závislosti na typu vzorku a možnostech vykazování pohlavních chromozomů je vybrána jedna z následujících možností:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ANOMALY DETECTED</b> (Zjištěna anomálie) – zjištěna anomálie pohlavních chromozomů.</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED</b> (Anomálie nezjištěna) – negativní vzorek a nevykázané pohlaví.</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED – XX</b> (Anomálie nezjištěna – XX) – negativní vzorek se ženským plodem.</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED – XY</b> (Anomálie nezjištěna – XY) – negativní vzorek s mužským plodem.</li> <li>• <b>NOT REPORTABLE</b> (Nelze vykázat) – software nedokázal vykázat pohlavní chromozom.</li> <li>• <b>NO CHR Y PRESENT</b> (Bez přítomnosti chromozomu Y) – těhotenství s dvojčaty bez zjištěného chromozomu Y.</li> <li>• <b>CHR Y PRESENT</b> (Chromozom Y přítomen) – těhotenství s dvojčaty se zjištěným chromozomem Y.</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (Zrušeno) – vzorek zrušen uživatelem.</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Zneplatněno) – vzorek neprošel kontrolou kvality nebo byl zneplatněn uživatelem.</li> <li>• <b>NOT TESTED</b> (Nezkoušeno) – pohlavní chromozom nebyl testován.</li> <li>• <b>NA</b> (Nepoužito) – Kategorie není na daný vzorek použitelná.</li> </ul>
class_auto	Klasifikace aneuploidií v autozomech. Vykazováno jako <b>ANOMALY DETECTED</b> (Zjištěna anomálie), pokud je ve vzorku zjištěna anomálie v rámci vybraného typu vyšetření.	<p>Jedna z následujících možností:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ANOMALY DETECTED</b> (Zjištěna anomálie) – zjištěna anomálie autozomálních chromozomů.</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED</b> (Anomálie nezjištěna) – nebyla zjištěna žádná autozomální anomálie.</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (Zrušeno) – vzorek zrušen uživatelem.</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Zneplatněno) – vzorek neprošel kontrolou kvality nebo byl zneplatněn uživatelem.</li> <li>• <b>NA</b> (Nepoužito) – Kategorie není na daný vzorek použitelná.</li> </ul>
anomaly_description	Řetězec podle názvosloví ISCN, který popisuje všechny vykazovatelné anomálie. Více anomálií je odděleno středníky.	<p>Text <b>DETECTED:</b> (Zjištěno) následovaný řetězcem oddělenými středníky (další informace viz <i>Pravidla popisu anomálie</i> na straně 43).</p> <p>nebo <b>NO ANOMALY DETECTED</b> (Anomálie nezjištěna)   <b>NA</b> (Nepoužito)   <b>INVALIDATED</b> (Zneplatněno)   <b>CANCELLED</b> (Zrušeno).</p>
qc_flag	Výsledky analýzy kontroly kvality. Výsledky vykazují pouze tyto hodnoty qc_flag: <b>WARNING</b> (Varování) a <b>PASS</b> (Úspěšné). Ostatní hodnoty výsledky nevykazují.	<p>Jedna z následujících možností:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>PASS</b> (Úspěšné)</li> <li>• <b>WARNING</b> (Varování)</li> <li>• <b>FAIL</b> (Neúspěšné)</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (Zrušeno)</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Zneplatněno)</li> <li>• <b>NTC_PASS</b> (Úspěšný NTC)</li> </ul>

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

## Pravidla popisu anomálie

Pokud analýza softwaru VeriSeq NIPT Assay Software v2 zjistí anomálii, zobrazí se v poli anomaly\_description (popis anomálie) ve výkazu NIPT hodnota DETECTED (detekováno) následovaná textovým řetězcem. Tento text popisuje všechny anomálie, které lze ve výkazu uvést, v souladu se stylem názvosloví komise ISCN (International Standing Committee on Cytogenetic Nomenclature). Řetězec obsahuje několik prvků oddělených středníky. Každý prvek představuje trisomii nebo monosomii v autozomu, aneuploidii pohlavních chromozomů nebo částečnou delecí či duplikaci.

Prvky trisomie a monosomie jsou označeny jako +<chr> a -<chr>, kde <chr> je číslo chromozomu.

Například vzorek s trisomií na chromozomu 5 je uveden takto:

+5

Vzorek s monosomií na chromozomu 6 je uveden takto:

-6

Aneuploidie pohlavních chromozomů využívají standardní označení se čtyřmi možnými hodnotami:

- ▶ XO – monosomie na chromozomu X.
- ▶ XXX – trisomie na chromozomu X.
- ▶ XXY – 2 chromozomy X u mužů.
- ▶ XYY – 2 chromozomy Y u mužů.

Částečné delece nebo duplikace se uvádějí pouze u autozomů a jsou uvedeny pouze u vyšetření celého genomu. Syntaxe částečné delece nebo duplikace je <typ>(<chr>)(<počáteční pruh><koncový pruh>), kde:

- ▶ <typ> je typ události, tj. „del“ v případě delece nebo „dup“ v případě duplikace.
- ▶ <chr> je číslo chromozomu.
- ▶ <počáteční pruh> je cytogenetický pruh obsahující počátek události.
- ▶ <koncový pruh> je cytogenetický pruh obsahující konec události.

Například částečná delece nebo duplikace, v níž má cytogenetický pruh duplikaci mezi raménky p14 a q15 na chromozomu 22, je uvedena takto:

dup (22) (p14q15)

Pole anomaly\_description (popis anomálie) se řídí následujícími pravidly řazení:

- 1 Prvky jsou seřazeny podle čísla chromozomu bez ohledu na to, zda se delece nebo duplikace týká celého chromozomu, nebo je jen částečná. Případná aneuploidie pohlavních chromozomů se uvádí jako poslední.
- 2 V případě částečných delecí nebo duplikací v rámci stejného chromozomu jsou delece uvedeny před duplikacemi.
- 3 Částečné delece nebo duplikace stejného typu v rámci stejného chromozomu jsou seřazeny podle počáteční báze, která je uvedena v doplňkovém výkazu.



## Hlášení důvodů kontroly kvality

Sloupec qc\_reason ve výkazu NIPT zobrazuje chybu kontroly kvality nebo varování, pokud výsledek analýzy nespadá do očekávaného rozsahu metriky analytické kontroly kvality. Chyby kontroly kvality mají za následek kompletní potlačení výsledků aneuploidie chromozomů, klasifikace pohlaví, výsledků doplňkového výkazu a odhadované fetální frakce, což odpovídá následujícím polím výkazu NIPT: class\_auto, class\_sx, anomaly\_description a ff.

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

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

## Supplementary Report (Doplňkový výkaz)

Supplementary Report (Doplňkový výkaz) obsahuje data pro doplňující metriky na základě dávky, vzorku nebo oblasti. V tomto výkazu představuje každý řádek nějakou metriku. Více metrik se týká stejné dávky, vzorku nebo oblasti.

Soubor má šest sloupců oddělených tabulátory, jak popisuje následující tabulka.

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
flowcell	Čárový kód průtokové kvety.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
batch_name	Název příslušné dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
sample_barcode	Čárový kód vzorku.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
region	Buď oblast celého chromozomu, nebo popis oblasti částečné delece nebo duplikace.	Stav <b>NA</b> (Nepoužito) pro metriky vztažené na dávku. Pro metriky oblasti celého chromozomu chr a číslo chromozomu (např. <b>chr21</b> ). Zobrazí se metriky regionu částečného odstranění nebo duplikace, jak je vysvětleno v části <i>Pravidla popisu anomálie</i> na straně 43  Stav <b>NA</b> (Nepoužito) – pro metriky vztažené na dávku nebo na vzorek.
metric_name	Název popsání metriky.	Viz část <i>Metriky doplňkového výkazu</i> .
metric_value	Hodnota metriky.	Viz část <i>Metriky doplňkového výkazu</i> .

## Metriky doplňkového výkazu

Supplementary Report (Doplňkový výkaz) obsahuje data pro následující metriky. Každá z metrik je uváděna jako vztažená k dávce, ke vzorku nebo k oblasti.

Metriky pro chromozom X jsou uvedeny pouze tehdy, pokud v možnostech pohlavních chromozomů vyberete Yes (Ano) nebo SCA.

Rozsahy hodnot jsou uvedeny ve formátu „minimální hodnota, maximální hodnota“ a jsou vloženy v oblých nebo hranatých závorkách. Oblé závorky značí, že hraniční hodnota není součástí rozsahu, zatímco hranaté závorky značí, že hraniční hodnoty jsou součástí rozsahu. Inf je zkratka hodnoty nekonečno.

Název metricky	Frekvence	Popis
genome_assembly	Podle dávky	System souřadnic pro uspořádání data sekvenování a souřadnic oblasti výkazu. V případě verze VeriSeq NIPT Solution v2 je vždy <b>GRCh37</b> .
frag_size_dist	Podle vzorku	Směrodatná odchylka rozdílů mezi skutečným a očekávaným kumulativním rozdělením velikosti fragmentů.
fetal_fraction	Podle vzorku	Vykazovaná hodnota fetální frakce.
NCV_X	Podle vzorku	Normalizovaná chromozomální hodnota pro chromozom X. Uvádí se pouze tehdy, pokud to povoluje zvolená možnost vykazování pohlavních chromozomů. V opačném případě se tato metrika uvádí jako NOT TESTED (Nezkoušeno).
NCV_Y	Podle vzorku	Normalizovaná chromozomální hodnota pro chromozom Y. Uvádí se pouze tehdy, pokud to povoluje zvolená možnost vykazování pohlavních chromozomů. V opačném případě se tato metrika uvádí jako NOT TESTED (Nezkoušeno).
number_of_cnv_events	Podle vzorku	Počet oblastí částečné delecce nebo duplikace zjištěných ve vzorku.
non_excluded_sites	Podle vzorku	Počet čtení zbylých po filtrování, které jsou započteny k analýze.
region_classification	Podle oblasti	Klasifikace oblasti provedená systémem ve stejném formátu jako v poli anomaly_description (popis anomálie) ve výkazu NIPT. Pokud v případě chromozomu X není zjištěna žádná anomálie pohlavních chromozomů, bude klasifikace oblasti shodná s hodnotou v poli class_sx ve výkazu NIPT. Možné hodnoty: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Text <b>DETECTED</b>: (Zjištěno) následovaný řetězce oddělenými středníky (další informace viz <i>Pravidla popisu anomálie na straně 43</i>).</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED</b> (Anomálie nezjištěna)</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED - XX</b> (Anomálie nezjištěna – XX)</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED - XY</b> (Anomálie nezjištěna – XY)</li> <li>• <b>NOT REPORTABLE</b> (Nelze vykázat)</li> <li>• <b>CHR Y PRESENT</b> (Chromozom Y přítomen)</li> <li>• <b>CHR Y NOT PRESENT</b> (Chromozom Y nepřítomen)</li> </ul>
chromosome	Podle oblasti	Symbol chromozomu.
start_base	Podle oblasti	První báze zahrnutá v oblasti.
end_base	Podle oblasti	Poslední báze zahrnutá v oblasti.
start_cytoband	Podle oblasti	Cytogenetický pruh první báze zahrnuté v oblasti.
end_cytoband	Podle oblasti	Cytogenetický pruh poslední báze zahrnuté v oblasti.
region_size_mb	Podle oblasti	Velikost oblasti v megabázích.
region_llr_trisomy	Podle oblasti	Skóre LLR (věrohodnostní poměr) pro trisomii v oblasti. Označuje důkaz přítomnosti trisomie v porovnání s důkazem žádné změny (disomie). Trisomie je vykázána v případě, že skóre LLR překročí předem určený práh. V případě částečných delecí nebo duplikací je tato metrika uvedena pouze tehdy, pokud typ odpovídá genetickému zisku (duplikace). V opačném případě se tato metrika uvádí jako NA (Nepoužito).

Název metriky	Frekvence	Popis
region_llr_monosomy	Podle oblasti	Skóre LLR pro monosomii v oblasti. Označuje důkaz přítomnosti monosomie v porovnání s důkazem žádné změny (disomie). Monosomie je vykázána v případě, že skóre LLR překročí předem určený práh. V případě částečných delecí nebo duplikací je tato metrika uvedena pouze tehdy, pokud typ odpovídá genetické ztrátě (delece). V opačném případě se tato metrika uvádí jako NA (Nepoužito). Pokud zvolíte provedení základního typu vyšetření, je tato metrika uvedena jako NOT TESTED (Nezkoušeno).
region_t_stat_long_reads	Podle oblasti	T-statistika oblasti. T-statistika je rozdíl v pokrytí mezi oblastí a zbytkem genomu v porovnání s odchylkou ve vzorku. Tato metrika určuje poměr signálu k šumu a vyjadřuje zjistitelnost případného posunu v pokrytí oblasti. Stav „long_reads“ (dlouhá čtení) značí, že pokrytí použité pro tuto t-statistiku zahrnuje celý rozsah velikostí fragmentu použitý v analýze. Při generování skóre LLR je t-statistika zkombinována s odhadnutou hodnotou fetální frakce vzorku.
region_mosaic_ratio	Podle oblasti	Podíl materiálu plodu, který je aneuploidní. Tato metrika je založena na poměru mezi fetální frakcí odvozenou z pokrytí oblasti a fetální frakcí vzorku. Ve vzorcích s téměř nulovými fetálními frakcemi mohou mít poměry mozaiky záporné hodnoty v důsledku proměnlivého odhadu fetální frakce vzorku použitého v jejich výpočtu.
region_mosaic_llr_trisomy	Podle oblasti	Skóre LLR pro trisomii vypočtené pomocí fetální frakce odvozené z pokrytí v oblasti namísto z fetální frakce vzorku. V případě částečných delecí nebo duplikací je tato metrika uvedena pouze tehdy, pokud typ odpovídá genetickému zisku (duplikace). V opačném případě se tato metrika uvádí jako NA (Nepoužito).
region_mosaic_llr_monosomy	Podle oblasti	Skóre LLR pro monosomii vypočtené pomocí fetální frakce odvozené z pokrytí v oblasti namísto z fetální frakce vzorku. V případě částečných delecí nebo duplikací je tato metrika uvedena pouze tehdy, pokud typ odpovídá genetické ztrátě (delece). V opačném případě se tato metrika uvádí jako NA (Nepoužito). Pokud zvolíte provedení základního typu vyšetření, je tato metrika uvedena jako NOT TESTED (Nezkoušeno).

## Sample Invalidation Report (Výkaz zneplatnění vzorku)

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

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
batch_name	Název dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
sample_barcode	Jedinečný čárový kód zneplatněného vzorku.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
reason	Důvod pro zneplatnění vzorku zadaný uživatelem.	Až 512 znaků.
operator	Uživatelské jméno obsluhy, která vzorek zneplatnila.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
timestamp	Datum a čas zneplatnění vzorku.	Časový údaj podle normy ISO 8601

## Sample Cancellation Report (Výkaz zrušení vzorku)

U každého zrušeného vzorku systém vytvoří výkaz zrušení vzorku.

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
batch_name	Název dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
sample_barcode	Jedinečný čárový kód zrušeného vzorku.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
reason	Důvod pro zrušení vzorku zadaný uživatelem.	Až 512 znaků.
operator	Uživatelské jméno obsluhy, která vzorek zrušila.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
timestamp	Datum a čas zrušení vzorku.	Časový údaj podle normy ISO 8601

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

Výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu znamená, že lze znovu naplnit zneplatněný fond. Systém generuje Pool Retest Request Report (Výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu) tehdy, pokud jsou zneplatněny první dva možné běhy sekvenování (fondy) pro daný typ fondu.

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
batch_name	Název dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
pool_type	Typ fondu.	Jedna z možností A, B, C nebo E.
reason	Uživatelé zadaný důvod zneplatnění předchozího fondu.	Až 512 znaků.
timestamp	Datum a čas žádosti.	Časový údaj podle normy ISO 8601

## Výkazy procesu

### Batch Initiation Report (Výkaz zavedení dávky)

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

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
batch_name	Název dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
sample_barcode	Jedinečný čárový kód vzorku.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
sample_type	Typ vzorku čárového kódu vzorku.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• jedináček</li> <li>• ovládací prvek</li> <li>• dvojče</li> <li>• ntc</li> </ul>
well	Zdroj přidružený ke vzorku.	A–H následováno číslicí 1–12.
assay	Název rozboru.	Až 100 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
method_ version	Verze metody automatizace rozboru.	Až 100 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery, tečky nebo pomlčky.
workflow_ manager_ version	Verze správce pracovního postupu přidruženého k dávce.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery, tečky nebo pomlčky.

## Batch Invalidation Report (Výkaz zneplatnění dávky)

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

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
batch_ name	Název dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
reason	Uživatelé zadáný důvod pro zneplatnění dávky.	Až 512 znaků.
operator	Iniciály osoby, která provedla zneplatnění dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
timestamp	Datum a čas zneplatnění dávky.	Časový údaj podle normy ISO 8601

## Library Sample Report (Výkaz vzorku knihovny)

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

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
batch_name	Název dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
sample_barcode	Jedinečný čárový kód vzorku.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
qc_status	Stav vzorku po dokončení kroků rozboru.	<ul style="list-style-type: none"> <li>úspěšné</li> <li>neúspěšné</li> </ul>
qc_reason	Důvod stavu kontroly kvality.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
starting_volume	Počáteční objem (ml) v odběrové zkumavce s krví v čase izolace plazmy.	Libovolné kladné číslo.
index	Index přidružený ke vzorku.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
ccn_library_pg_ul	Koncentrace knihovny v pg/μl.	Libovolné kladné číslo.
plasma_isolation_comments	Připomínky uživatele ke provedení izolace plazmy (volný text).	Až 512 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
cfdna_extraction_comments	Připomínky uživatele k provedení extrakce cfDNA (volný text).	Až 512 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
library_prep_comments	Připomínky uživatele k provedení přípravy knihovny (volný text).	Až 512 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
quantitation_comments	Připomínky uživatele k provedení kvantifikace (volný text).	Až 512 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.

## Library Reagent Report (Výkaz reagentie knihovny)

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

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
batch_name	Název dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
process	Název procesu ve formátu PROCES:dílčí-proces.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ISOLATION</b> (Izolace) – batch_validation, prespin, postspin, data_transact.</li> <li>• <b>EXTRACTION</b> (Extrakce) – setup, chemistry, data_transact.</li> <li>• <b>LIBRARY</b> (Knihovna) – setup, chemistry, data_transact, complete.</li> <li>• <b>QUANT</b> (Kvantifikace) – setup, build_standards, build_384, analysis, data_transact.</li> <li>• <b>POOLING</b> (Vkládání do fondu) – analysis, setup, pooling, data_transact, complete.</li> </ul>
reagent_name	Název reagentie.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
lot	Čárový kód reagentie.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
expiration_date	Datum konce použitelnosti ve formátu výrobce.	Až 100 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery, dvojtečky, lomítka nebo pomlčky.
operator	Uživatelské jméno obsluhy.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
initiated	Časový údaj zahájení přidružený k reagentii.	Časový údaj podle normy ISO 8601

## Library Labware Report (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	Možné hodnoty
batch_name	Název dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
labware_name	Název laboratorního vybavení.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
labware_barcode	Čárový kód laboratorního vybavení.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
initiated	Časový údaj zahájení přidružený k laboratornímu vybavení.	Časový údaj podle normy ISO 8601



## Library Quant Report (Výkaz kvantifikace knihovny)

Systém vytvoří výkaz kvantifikace knihovny při úspěšném dokončení kvantifikace.

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
batch_name	Název dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
quant_id	Číselná identifikace.	Kladná čísla.
instrument	Název kvantifikačního nástroje (volný text).	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
standard_r_squared	R na druhou	Libovolné kladné číslo.
standard_intercept	Průsečík.	Libovolné číslo.
standard_slope	Sklon.	Libovolné číslo.
median_ccn_pg_ul	Mediánová koncentrace vzorku.	Libovolné kladné číslo.
qc_status	Stav kontroly kvality kvantifikace.	<ul style="list-style-type: none"> <li>úspěšné</li> <li>neúspěšné</li> </ul>
qc_reason	Popis důvodu případného neúspěchu.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
initiated	Časové razítko zahájení přidružené ke kvantifikaci.	Časový údaj podle normy ISO 8601

## Library Process Log (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	Možné hodnoty
batch_name	Název dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
process	Název dávkového zpracování ve formátu ZPRACOVÁNÍ:dílčí zpracování.	<b>ISOLATION</b> (Izolace) – batch_validation, prespin, postspin, data_transact. <b>EXTRACTION</b> (Extrakce) – setup, chemistry, data_transact. <b>LIBRARY</b> (Knihovna) – setup, chemistry, data_transact, complete. <b>QUANT</b> (Kvantifikace) – setup, build_standards, build_384, analysis, data_transact. <b>POOLING</b> (Vkládání do fondu) – analysis, setup, pooling, data_transact, complete.
operator	Iniciály obsluhy.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
instrument	Název přístroje.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
started	Datum a čas zahájení zpracování dávky.	Časový údaj podle normy ISO 8601

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
finished	Datum a čas úspěšného nebo neúspěšného dokončení zpracování dávky.	Časový údaj podle normy ISO 8601
status	Aktuální dávka	<ul style="list-style-type: none"> <li>dokončeno</li> <li>neúspěšné</li> <li>spuštěno</li> <li>přerušeno</li> </ul>

## Pool Report (Výkaz fondu)

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

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
batch_name	Název dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
sample_barcode	Jedinečný čárový kód vzorku.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
pool_barcode	Čárový kód fondu přidružený ke vzorku.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
pool_type	Typ fondu přidružený ke vzorku.	Jedna z možností A, B, C nebo E.
pooling_volume_ul	Objem ve fondu v mikrolitrech.	Libovolné kladné číslo.
pooling_comments	Připomínky uživatele ke vkládání do fondu (volný text).	Až 512 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.

## Pool Invalidation Report (Výkaz zneplatnění fondu)

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

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
batch_name	Název dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
pool_barcode	Čárový kód zneplatněného fondu.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
reason	Důvod pro zneplatnění fondu zadaný uživatelem.	Až 512 znaků.
operator	Iniciály osoby, která provedla zneplatnění fondu.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
timestamp	Datum a čas zneplatnění fondu.	Časový údaj podle normy ISO 8601

## Sequencing Report (Výkaz sekvenování)

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

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
batch_name	Název dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
pool_barcode	Čárový kód fondu přidružený k běhu sekvenování.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
instrument	Výrobní číslo sekvenátoru.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
flowcell	Průtoková kyveta přidružená k běhu sekvenování.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
software_version	Řetězec označující softwarovou aplikaci a její verzi, která slouží ke generování dat sekvenátorem.	Velké a malé alfanumerické znaky včetně podtržítka, lomítka, tečky, dvojtečky, středníku nebo pomlčky.
run_folder	Název složky běhu sekvenování.	Velké a malé alfanumerické znaky včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
sequencing_status	Stav běhu sekvenování.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• dokončeno</li> <li>• vypršel časový limit</li> <li>• neúspěšné</li> </ul>
qc_status	Stav kontroly kvality daného běhu sekvenování.	<ul style="list-style-type: none"> <li>• úspěšné</li> <li>• neúspěšné</li> <li>• chyba</li> </ul>
qc_reason	Důvody neúspěchu při kontrole kvality, hodnoty oddělené středníkem.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka, mezery nebo pomlčky.
cluster_density	Hustota klastrů (medián na průtokovou kyvetu v dlaždicích).	Libovolné kladné číslo.
pct_q30	Procento bází nad Q30.	Libovolné kladné číslo.
pct_pf	Procento čtení procházející filtrem.	Libovolné kladné číslo.
phasing	Fázování.	Libovolné kladné číslo.
prephasing	Předfázování.	Libovolné kladné číslo.
predicted_aligned_reads	Předpokládaná uspořádaná čtení.	Libovolné kladné číslo.
started	Časový údaj označující zahájení sekvenování.	Časový údaj podle normy ISO 8601
completed	Časový údaj označující dokončení sekvenování.	Časový údaj podle normy ISO 8601

## Analysis Failure Report (Výkaz o nezdařené analýze)

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

Sloupec	Popis	Možné hodnoty
batch_name	Název dávky.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
pool_barcode	Čárový kód spojený s nezdařenou analýzou.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
flowcell	Čárový kód průtokové kyvety spojený s nezdařenou analýzou.	Až 36 velkých a malých alfanumerických znaků včetně podtržítka nebo pomlčky.
sequencing_run_folder	Složka běhu sekvenování spojeného s nezdařenou analýzou.	Velké a malé alfanumerické znaky včetně podtržítka.
analysis_run_status	Stav běhu sekvenování spojeného s nezdařenou analýzou.	Velké a malé alfanumerické znaky včetně podtržítka.
timestarted	Časové razítko přidružené k zahájení analýzy.	Časový údaj podle normy ISO 8601
timefinished	Časové razítko přidružené k nezdařené analýze.	Časový údaj podle normy ISO 8601

# Příloha C Řešení problémů

Úvod .....	56
Oznámení Assay Software .....	57
Problémy se systémem .....	65
Zkoušky zpracování dat .....	65

## Úvod

Software VeriSeq NIPT Solution v2 nabízí pomoc při řešení problémů, která zahrnuje následující témata:

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

## Oznámení Assay Software

Tato část popisuje oznámení Assay Software:

### Oznámení o průběhu

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

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

## Oznámení o zneplatnění

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

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

## Oznámení opravitelných chyb

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

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	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"> <li>Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> na straně 63</li> <li>Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ul>
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"> <li>Zkontrolujte volné místo na disku. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> na straně 63.</li> <li>Uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> na straně 63.</li> </ol>
Sequencing Run Invalid Folder (Neplatná složka běhu sekvenování)	Sekvenování	Ve složce běhu sekvenování jsou neplatné znaky.	Varování	Ano	Složka běhu sekvenování byla nesprávně přejmenována. Přejmenujte běh na platný název.
Sekvenování bylo zahájeno, ale chybí soubor s čárovým kódem fondu	Sekvenování	Software nenalezl soubor obsahující čárový kód fondu do 30 minut od zahájení sekvenování.	Varování	Ano	Možné selhání sekvenceru nebo NAS. Zkontrolujte konfiguraci sekvenceru a síťové připojení. Systém bude hledat soubor s čárovým kódem fondu, dokud sekvenování neskončí.
Cannot Verify Sequencing Run Completion (Nelze ověřit dokončení běhu sekvenování)	Sekvenování	Software nemůže přečíst soubor stavu dokončení běhu ve složce sekvenování.	Varování	Ano	Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.
Missing Sample Attributes (Chybějící atributy vzorku)	Předběžná analýza	Software u některých vzorků nenalezl určení typu vzorku, možnosti pohlavního chromozomu nebo typu vyšetření.	Upozornění	Ano	Pro daný vzorek nebyl poskytnut jeden atribut nebo více atributů vzorku. Zadejte chybějící atributy vzorku do aplikace Workflow Manager, nebo vzorek zneplatněte, aby software mohl pokračovat ve zpracování.



Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	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"> <li>Zkontrolujte volné místo na disku. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> na straně 63. Pokud je málo místa, uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> na straně 63.</li> <li>Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> na straně 63.</li> <li>Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ul>
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"> <li>Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> ID akce 2 na straně 63.</li> <li>Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ul>
Insufficient Disk Space for Analysis (Nedostatek místa na disku pro analýzu)	Předběžná analýza	Software zjistil, že na disku není dost místa pro spuštění nového běhu analýzy.	Výstraha	Ano	Uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> ID akce 3 na straně 64.
Unable to launch Analysis Pipeline (Nelze spustit plán analýzy)	Předběžná analýza	Softwaru se nepodařilo spustit běh analýzy pro danou složku sekvenování.	Výstraha	Ano	Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.
Sequencing folder Read/Write permission failed (Nepodařilo se získat povolení pro čtení/zápis ve složce sekvenování)	Předběžná analýza	Softwarový test, který kontroluje povolení pro čtení/zápis ve složce běhu sekvenování, byl neúspěšný.	Varování	Ano	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> na straně 63.</li> <li>Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ul>
Analysis Failed - Retry (Analýza se nezdařila – opakujte)	Analýza	Analýza se nezdařila. Akce bude zopakována.	Upozornění	Ano	Žádná

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučený postup
Results Already Reported (Výsledky již byly hlášeny)	Systém	Software zjistil, že pro aktuální typ fondu již byl vytvořen výkaz NIPT.	Aktivita	Ano	Žádná
Unable to deliver email notifications (E-mailová oznámení nelze doručit.)	Systém	Systém nemůže doručit e-mailová oznámení.	Varování	Nepoužívá se	<ol style="list-style-type: none"> <li>Pro účely ověření zkontrolujte konfiguraci e-mailu definovanou v systému. Viz pokyny v části <i>Konfigurace e-mailových oznámení systému na straně 27</i>.</li> <li>Odešlete zkušební e-mail. Viz pokyny v části <i>Konfigurace e-mailových oznámení systému na straně 27</i>.</li> <li>Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ol>
Time Skew Detected (Byla zjištěna časová odchylka)	Příprava knihovny	Software zjistil časovou odchylku více než 1 minutu mezi časovou známkou poskytnutou aplikací Workflow Manager a místním časem serveru.	Varování	Ne	<ol style="list-style-type: none"> <li>Zkontrolujte místní čas v počítači se softwarem Workflow Manager.</li> <li>Zkontrolujte místní čas místního serveru uvedený ve webovém uživatelském rozhraní (karta Server Status (Stav serveru)).</li> </ol>

## Oznámení neopravitelných chyb

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

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučený postup
Batch Failure (Chyba dávky)	Příprava knihovny	Kontrola kvality dávky se nezdařila.	Upozornění	Ano	Restartujte opláštění knihovny.
Report Generating Failure (Chyba při vytváření výkazu)	Vykazování	Systému se nezdařilo vytvořit výkaz.	Výstraha	Ano	<ul style="list-style-type: none"> <li>Zkontrolujte volné místo na disku. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím na straně 63</i>. Pokud je málo místa, uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím na straně 63</i>.</li> <li>Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ul>
Failed to Parse Run Parameters file (Analýza souboru s parametry běhu se nezdařila.)	Sekvenování	Systému se nepodařilo otevřít nebo analyzovat soubor RunParameters.xml.	Varování	Ano	Soubor RunParameters.xml file je poškozen. Zkontrolujte konfiguraci sekvenceru a opakuje sekvenování fondu.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučený postup
Unrecognized Run Parameters (Neznámé parametry běhu)	Sekvenování	Software čte parametry běhu, které nejsou kompatibilní.	Varování	Ano	Software nedokáže z konfiguračního souboru sekvenceru sestavit parametry běhu sekvenování. Zkontrolujte konfiguraci sekvenceru a opakujte sekvenování fondu.
Invalid Run Parameters (Neplatné parametry běhu)	Sekvenování	Čtení softwaru vyžadovalo parametry běhu, které nejsou s rozbohem kompatibilní.	Varování	Ano	Kontrola kompatibility softwaru se nezdařila. Zkontrolujte konfiguraci sekvenceru a opakujte sekvenování fondu.
No Pool Barcode found (Nebyl nalezen čárový kód fondu)	Sekvenování	Software nemohl přiřadit průtokovou kyvetu běhu sekvenování ke známému čárovému kódu fondu.	Varování	Ano	Pravděpodobně se jedná o nesprávný čárový kód fondu. Opakujte sekvenování fondu.
Sequencing Completed but Pool Barcode File Missing (Sekvenování bylo dokončeno, ale chybí soubor s čárovým kódem fondu)	Sekvenování	Běh sekvenování byl dokončen, ale nebyl nalezen soubor obsahující čárový kód fondu.	Výstraha	Ano	Možná porucha sekvenceru. Obráťte se na technickou podporu společnosti Illumina a požádejte o pomoc.
Unable to read Pool Barcode File (Nelze načíst soubor s čárovým kódem fondu)	Sekvenování	Soubor obsahující čárový kód fondu je poškozený.	Výstraha	Ano	Možné selhání sekvenceru nebo sítě. Obráťte se na technickou podporu společnosti Illumina a požádejte o pomoc.
Pool Barcode File Mismatch (Nesprávné spárování souboru s čárovým kódem fondu)	Sekvenování	Nalezený soubor s čárovým kódem fondu odkazuje na jiný ID průtokové kyvety než je ten, jenž byl přidružen k běhu sekvenování.	Výstraha	Ano	Možná porucha sekvenceru. Obráťte se na technickou podporu společnosti Illumina a požádejte o pomoc.
Sequencing timed out (Čas na sekvenování vypršel.)	Sekvenování	Běh sekvenování nebyl v dané lhůtě dokončen.	Varování	Ano	Zkontrolujte sekvencer a síťové připojení. Opakujte sekvenování fondu.
Sequencing QC files generation failed (Vytvoření souborů kontroly kvality sekvenování se nezdařilo.)	Kontrola kvality sekvenování	Běh sekvenování je dokončen, ale soubory InterOp QC jsou poškozeny.	Výstraha	Ano	Zkontrolujte sekvencer a síťové připojení. Opakujte sekvenování fondu.
Sequencing QC failed (Kontrola kvality sekvenování se nezdařila.)	Kontrola kvality sekvenování	Běh sekvenování je dokončen, ale kontrola kvality sekvenování se nezdařila.	Upozornění	Ano	Opakujte sekvenování fondu.
Analysis Failed for Maximum number of attempts (Analýza se nezdařila z důvodu dosažení maximálního počtu pokusů.)	Analýza	Všechny pokusy o analýzu selhaly. Další pokus nebude.	Varování	Ano	Opakujte sekvenování druhého fondu.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	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"> <li>Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím na straně 63</i>.</li> <li>Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ul>
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"> <li>Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím na straně 63</i>.</li> <li>Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ul>

## Postupy k doporučeným akcím

ID akce	Doporučený postup	Postup
1	Zkontrolujte připojení k síti	<p>Zkontrolujte, zda je vzdálené úložiště NAS ve stejné síti jako místní počítač.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Na příkazovém řádku systému Windows (příkaz cmd) zadejte následující příkaz: <b>ping &lt;adresa IP serveru&gt;</b>. Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte také připojení k úložišti NAS.</li> <li>Zkontrolujte, zda nedochází ke ztrácení paketů. Pokud dochází ke ztrácení paketů, kontaktujte správce IT.</li> <li>Vyzkoušejte připojení: <ol style="list-style-type: none"> <li>Přihlaste se k webovému uživatelskému rozhraní místního serveru.</li> <li>V nabídce Dashboard (Ovládací panel) vyberte možnost <b>Folder</b> (Složka).</li> <li>Vyberte možnost <b>Test</b> (Zkouška) a zkontrolujte úspěšnost provedené zkoušky. V případě neúspěšné zkoušky si přečtěte část <i>Úprava sdílené síťové jednotky na straně 25</i> a zkontrolujte správnost konfigurace všech nastavení.</li> </ol> </li> </ol>
2	Zkontrolujte volné místo na disku	<p>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 33</i>.</p> <p>Klikněte pravým tlačítkem na jednotku, která je namapována ke složce Input (Vstup). Vyberte možnost <b>Properties</b> (Vlastnosti) a zkontrolujte informace o volném místě.</p>

ID akce	Doporučený postup	Postup
3	Uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat	<p>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 24.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Postup pro data uložená místně na místním serveru: <ul style="list-style-type: none"> <li>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 33.</li> <li>a. Dvakrát klikněte na složku Input (Vstup) a zadejte pověření pro přístup do složky.</li> <li>b. Data běhů sekvenování jsou uvedena s názvy složek odpovídajícími názvům běhů sekvenování.</li> <li>c. Odstraňte nebo zálohujte zpracované složky dat sekvenování.</li> </ul> </li> <li>2. Postup pro data uložená ve vzdáleném úložišti NAS: <ul style="list-style-type: none"> <li>Zkontrolujte, zda je vzdálené úložiště NAS ve stejné síti jako místní počítač.</li> <li>Opatřete si přístup ke složce ve vzdálené jednotce. K získání přístupu budete potřebovat pověření od správce IT.</li> <li>a. Data běhů sekvenování jsou uvedena s názvy složek odpovídajícími názvům sekvenčních běhů.</li> <li>b. Odstraňte nebo zálohujte zpracované složky dat sekvenování.</li> </ul> </li> </ol>

## 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 nahlaste zobrazené chyby.
Je požadováno obnovení databáze.	Pokud je požadováno obnovení databáze ze zálohy, obraťte se na terénního servisního technika společnosti Illumina.
Byla zjištěna změna parametrů systému.	Po zjištění změny parametrů systému přestane Assay Software zpracovávat komunikaci od ostatních součástí systému. Správce může systém resetovat zpět do normálního provozu poté, co systém přešel do stavu zjišťování změny parametrů.
Aktivuje se alarm řadiče RAID.	Správce může použít tlačítko <b>Server alarm</b> (Alarm serveru) na kartě Server Status (Stav serveru) v ovládacím panelu Assay SoftwareDashboard, čímž vypne zvuk alarmu řadiče RAID. Pokud toto tlačítko stisknete, požádejte o další pomoc technickou podporu společnosti Illumina.

## Zkoušky zpracování dat

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

### Zkoušení serveru

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

### Postup

- Otevřete připojený vstupní adresář a potom otevřete složku TestingData (Zkušební data).
- Vytvořte kopii jedné z následujících složek, které naleznete ve složce TestingData:
  - ▶ Pro data NextSeq: 170725\_NS500110\_0382\_AHT3MYBGX2\_Copy\_Analysis\_Workflow.
  - ▶ Pro data NextSeqDx: 180911\_NDX550152\_0014\_XXXXXXXXDX\_Copy\_Analysis\_Workflow.
- Přejmenujte kopii složky přidáním přípony \_XXX. Přípona \_XXX označuje pořadí sekvenování zkušebního běhu. Pokud se ve složce už nachází například složka s příponou \_002, přejmenujte novou kopii na \_003.
- Přesuňte přejmenovanou složku do vstupní složky.
- Počkejte 3–5 minut na dokončení běhu. Zkontrolujte, zda byla přijata následující e-mailová oznámení:
  - a Sequencing Run Analysis Started (Analýza běhu sekvenování byla zahájena)
  - b NIPT Report generated for Sequencing Run (K běhu sekvenování byl vytvořen výkaz NIPT)
 Přidružte oba výkazy k názvu sekvenování, který je ke složce přiřazen.
- Ve výstupní složce otevřete složku TestData\_NS\_CopyWorkflow or TestData\_NDX\_CopyWorkflow a zkontrolujte následující výkazy:
  - ▶ Pro NextSeq: TestData\_NS\_CopyWorkflow\_C\_TestData\_NS\_CopyWorkflow\_PoolC\_HT3MYBGX2\_nipt\_report\_YYYYMMDD\_HHMMSS.tab.
  - ▶ Pro NextSeqDx: TestData\_NDX\_CopyWorkflow\_C\_TestData\_NDX\_CopyWorkflow\_PoolC\_XXXXXXXXDX\_nipt\_report\_YYYYMMDD\_HHMMSS.tab.

Očekávaná velikost souboru je přibližně 7 kB.

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



#### **POZNÁMKA**

Starší kopie souborů zkoušky můžete odstranit, abyste získali místo.

## **Data ze zkoušky úplného běhu analýzy**

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

### **Postup**

- 1 Otevřete připojený vstupní adresář a otevřete složku TestingData (Zkušební data).
- 2 Následující složku přejmenujte doplněním přípony \_000: 180911\_NDX550152\_0014\_AXXXXXXXXDX\_FullRun.  
Tato přípona způsobí vytvoření jedinečného názvu pro každý běh sekvenování. Pokud již má daný běh v názvu nějakou příponu, přejmenujte složku tím, že zvýšíte číselnou hodnotu přípony o 1.
- 3 Přesuňte přejmenovanou složku do vstupní složky.
- 4 Počkejte 4–5 hodin na dokončení analýzy. Zkontrolujte, zda byla přijata následující e-mailová oznámení:
  - a Sequencing Run Analysis Started (Analýza běhu sekvenování byla zahájena)
  - b NIPT Report generated for Sequencing Run (K běhu sekvenování byl vytvořen výkaz NIPT)Přidružte oba výkazy k názvu sekvenování, který je ke složce přiřazen.
- 5 Ve výstupní složce otevřete složku TestData\_NDx\_FullRun a zkontrolujte následující výkaz: TestData\_NDx\_FullRun\_C\_TestData\_NDx\_FullRun\_PoolC\_XXXXXXXXDX\_nipt\_report\_YYYYMMDD\_HHMMSS.tab.  
Očekávaná velikost souboru je přibližně 7 kB.
- 6 Přesuňte zkušební běh sekvenování zpět do složky TestingData (Zkušební data).

## Příloha D Další zdroje

Z webu společnosti Illumina si můžete stáhnout následující dokumentaci.

Zdroj	Popis
<i>Příložená dokumentace k produktu VeriSeq NIPT Solution v2 (dokument č. 1000000078751)</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 v2 na webu společnosti Illumina, kde naleznete dokumentaci, odkazy na stažení softwaru, online školení a přehled nejčastějších dotazů.



## Příloha E Zkratky

Zkratka	Definice
BCL	Soubor volání báze
CE-IVD	Jednotné evropské značení pro diagnostický produkt <i>in vitro</i> .
cfDNA	Volná mimobuněčná DNA
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
DNS	Systém doménových názvů
FASTQ	Textový formát souboru pro ukládání výstupu sekvenačních nástrojů.
ff	Fetální frakce
FIFO	V pořadí, ve kterém dorazí
iFACT	Individualizovaná zkouška iFACT
IP	Internetový protokol
LIMS	Laboratorní systém správy informací
LIS	Laboratorní informační systém
LLR	Věrohodnostní poměry
MAC	Kontrola přístupu k médiu
NAS	Síťové úložiště
NES	Nevyloučené stránky
NGS	Třídění nové generace
NIPT	Neinvazivní prenatální zkouška
NTC	Žádná kontrola šablony
NTP	Protokol pro synchronizaci vnitřních hodin počítačů
PF	Procházející filtrem
PQ	Kvalifikace procesu
Kontrola kvality	Kontrola kvality
Regulární výraz	Regulární výraz. Sekvence znaků, kterou mohou použít algoritmy pro vyhledávání odpovídajících řetězců k validaci dat.
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](http://www.illumina.com)  
**E-mail:** [techsupport@illumina.com](mailto: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, Čína	800960230	
Irsko	+353 180 093 6608	+353 016950506
Itálie	+39 800 985 513	+39 236 003 759
Japonsko	0800.111.5011	
Jižní Korea	+82 80 234 5300	
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
Taiwan, Čína	00806651752	
Ostatní země	+44.1799.534000	

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

Dokumentace k produktu – je k dispozici ke stažení z webu [support.illumina.com](http://support.illumina.com).



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, Kalifornie 92122 U.S.A.

+1 800 809 ILMN (4566)

+1 858 202 4566 (mimo Severní Ameriku)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

CE  
2797



Illumina 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**<sup>®</sup>