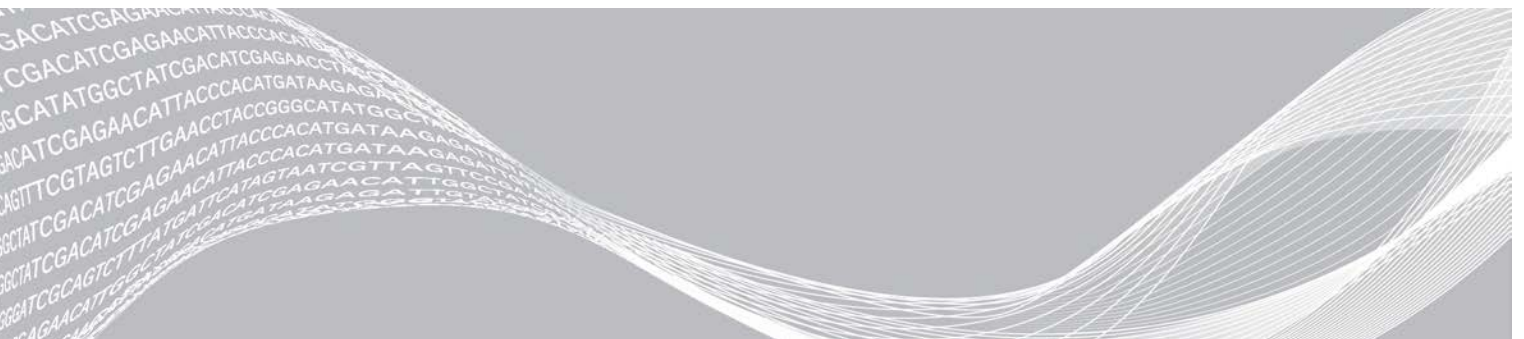


# VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples)

Uživatelská příručka



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 popsanych 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 popsanych produktů. Veškerý obsah tohoto dokumentu musíte před použitím takových produktů beze zbytku přečíst a pochopit.

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

**SPOLEČNOST ILLUMINA NA SEBE NEBERE ŽÁDNOU ODPOVĚDNOST VYPLÝVAJÍCÍ Z NESPRÁVNÉHO POUŽITÍ ZDE POPSANÝCH PRODUKTŮ (VČETNĚ DÍLŮ TĚCHTO PRODUKTŮ NEBO 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. 1000000026777 v04	Srpena 2021	Aktualizována adresa oprávněného zástupce v EU.
Dokument č. 1000000026777 v03	Duben 2020	Aktualizována adresa oprávněného zástupce v EU.
Dokument č. 1000000026777 v02	Červenec 2018	Byla přidána část Omezení postupu a Příloha B: Studie porovnání metod.
Dokument č. 1000000026777 v01	Březen 2017	Opravený název výkazu v první větě v části Výkaz vzorku knihovny, opravené číslo dokumentu v zápatí stránek.
Dokument č. 1000000026777 v00	Leden 2017	První vydání

# Obsah

<b>Kapitola 1 Úvod</b> .....	<b>1</b>
Přehled .....	1
Zamýšlené použití .....	2
Omezení postupu .....	2
<b>Kapitola 2 VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples)</b> .....	<b>3</b>
Analysis Software .....	3
Webové uživatelské rozhraní .....	6
Analýza a vykazování .....	14
VeriSeq NIPT Analysis Server (48 Samples) .....	16
<b>Kapitola 3 Systémové výkazy</b> .....	<b>20</b>
Úvod .....	20
Přehled systémových výkazů .....	22
Události vytváření výkazů .....	23
Výkazy výsledků a oznámení .....	25
Výkazy procesu .....	28
<b>Příloha A Metriky kontroly kvality</b> .....	<b>38</b>
Metriky a meze kontroly kvality sekvenování .....	39
Metriky a meze analytické kontroly kvality .....	39
<b>Příloha B Studie porovnání metod</b> .....	<b>41</b>
Data porovnání metod .....	41
<b>Příloha C Připojení kompatibilního sekvenceru nové generace</b> .....	<b>45</b>
Úvod .....	45
Fond sekvenování .....	45
Integrace datového úložiště .....	45
Výkonnostní možnosti analýzy .....	46
Omezení síťového provozu .....	46
<b>Příloha D Řešení problémů</b> .....	<b>47</b>
Úvod .....	47
Oznámení VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) .....	47
Problémy se systémem .....	55
Zkoušky zpracování dat .....	56
<b>Příloha A Zkratky</b> .....	<b>58</b>
<b>Technická pomoc</b> .....	<b>59</b>

# Úvod

Přehled .....	1
Zamýšlené použití .....	2
Omezení postupu .....	2

## Přehled

VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) se dodává předinstalovaný na serveru VeriSeq NIPT Analysis Server (48 Samples), číslo dílu Illumina 20016240. Server a předinstalovaný software nabízejí analytické možnosti pro analýzy kompatibilních dat NGS (Next Generation Sequencing), která vznikají při sekvenování knihoven cfDNA, které slouží ke zjištění aneuploidie plodu na základě zastoupení chromozomů. VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) využívá rozhraní API softwaru (Application Programming Interface) k přijímání a uchovávání informací o dávkách, fondech a přípravě vzorků. Po instalaci a konfiguraci tento software běží jako služba na pozadí a od uživatele nevyžaduje téměř žádnou pozornost.

Analysis Software vytváří statistiky, s jejichž pomocí můžete vyhodnotit počet kopií chromozomu ve zkoušených vzorcích. Sekvenovací nástroj nové generace vytváří vstup pro analýzu v podobě párového-koncového čtení s 36 bázemi. Analysis Software seřadí čtení podle referenčního lidského genomu a provede analýzu čtení, která se uspořádají na jedinečném místě nebo prostoru v genomu. Analysis Software vyloučí duplicitní čtení a místa, která jsou spojená s vysokým kolísáním v pokrytí euploidních vzorků. Data sekvenování se normalizují kvůli obsahu nukleotidů a také kvůli opravě dávkových účinků a dalších zdrojů nežádoucí proměnlivosti. Informace z délky fragmentu cfDNA se odvozuje z párového-koncového sekvenovacího čtení. Analysis Software také posuzuje statistiku pokrytí oblastí sekvenování, o kterých víme, že jsou obohaceny fetální nebo mateřskou cfDNA. Data získaná z délky fragmentu a analýzy pokrytí slouží k odhadu fetální frakce v každém vzorku. U každého zkoušeného chromozomu v každém vzorku se vypočítají LLR (věrohodnostní poměry). Použijte se k tomu srovnání následujícího:

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

Použití popsaných metod:

- ▶ U chromozomů 13, 18 a 21 se nahlásí skóre LLR.
- ▶ U chromozomů X a Y se nahlásí normalizované hodnoty chromozomů (NCV).
- ▶ Specializované LLR se nahlásí v případě nedostatečného nebo přílišného zastoupení chromozomu X.

VeriSeq NIPT Assay Software využívá individualizovanou zkoušku iFACT (Fetal Aneuploidy Confidence Test). Jedná se o metriku s dynamickým prahem, která označuje, jestli systém s použitým odhadem fetální frakce každého vzorku vytvořil dostatečné pokrytí sekvenování. Systém nabídne výsledky analýzy pouze v případě, pokud vzorek dosáhne prahové hodnoty zkoušky iFACT. Pokud vzorek této prahové hodnoty nedosáhne, hodnocení kontroly kvality zobrazí zprávu FAILED iFACT (ZKOUŠKA iFACT NEÚSPĚŠNÁ) a systém nevytvoří žádný výsledek. Hodnocení iFACT se použije na všechny vzorky. Kromě zkoušky iFACT provádí VeriSeq NIPT Assay Software v průběhu analýzy hodnocení několika dalších metrik kontroly kvality. Hodnocení kontroly kvality zobrazí buď příznak kontroly kvality, nebo chybu kontroly kvality pro každou metriku, která je mimo přípustný rozsah. V případě chyby kontroly kvality vzorku systém nevytvoří výsledek.

Analysis Software nevytváří volání aneuploidie přímo. Místo toho nabídne skóre LLR a NCV, jak je popsáno výše. Mezní hodnotu, která rozhoduje o označení vzorků jako ovlivněných nebo neovlivněných na základě těchto skóre, určují uživatelé na základě vlastní ověřovací klinické studie.

## Zamýšlené použití

Software VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) vytváří kvantitativní hodnocení, která pomáhají zjistit a rozlišit stav aneuploidie plodu pro chromozomy 21, 18, 13, X a Y tím, že analyzuje data sekvenování vytvořená z fragmentů mimobuněčné volné DNA (cfDNA) izolovaných ze vzorků periferní celé krve žen, které jsou těhotné nejméně 10 týdnů.

Kvantitativní hodnocení představují hodnoty skóre LLR (logaritmická pravděpodobnost) přidružené k nedostatečnému nebo nadměrnému zastoupení cílového chromozomu vzhledem k očekávané hodnotě u diploidního genomu.

## Omezení postupu

- ▶ VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) je navržen k použití jako vyšetřovací test, jehož použití by mělo být zváženo nezávisle na jiných klinických nálezech a výsledcích testů. U krajních hodnot definovaných uživatelem, které jsou použity na datové výstupy tohoto softwaru, by měl být zvážen relativní přínos v podobě zvýšení citlivosti za cenu specifity a naopak. Žádná krajní hodnota nemůže současně dosáhnout 100% citlivosti a 100% specifity. Ačkoli to není obvyklé, mohou vzorky s relativně nízkým počtem FF pro hloubku sekvenování, na které jsou zpracovány, mít datové výstupy blízko prahové hodnoty a mohou mít nižší přesnost.
- ▶ Datové výstupy softwaru VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) slouží k vykazování následujících stavů:
  - ▶ Nadměrné zastoupení chromozomů 21, 18 a 13
  - ▶ Následující aneuploidie pohlavních chromozomů: XO, XXX, XXY a XYY
- ▶ Software VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) není určen k vykazování polyplodie.
- ▶ Algoritmy použité v softwaru VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) mohou být znehodnoceny některými faktory na straně matky a plodu, jako jsou například tyto:
  - ▶ Nedávná transfúze krve u matky
  - ▶ Transplantovaný orgán u matky
  - ▶ Chirurgický zákrok u matky
  - ▶ Imunoterapie nebo terapie kmenovými buňkami u matky
  - ▶ Zhoubný nádor u matky
  - ▶ Mozaicismus matky
  - ▶ Mozaicismus omezený na placentu
  - ▶ Potrat plodu
  - ▶ Zaniklé dvojče
  - ▶ Částečná trizomie nebo částečná monozomie plodu
  - ▶ Mozaicismus plodu

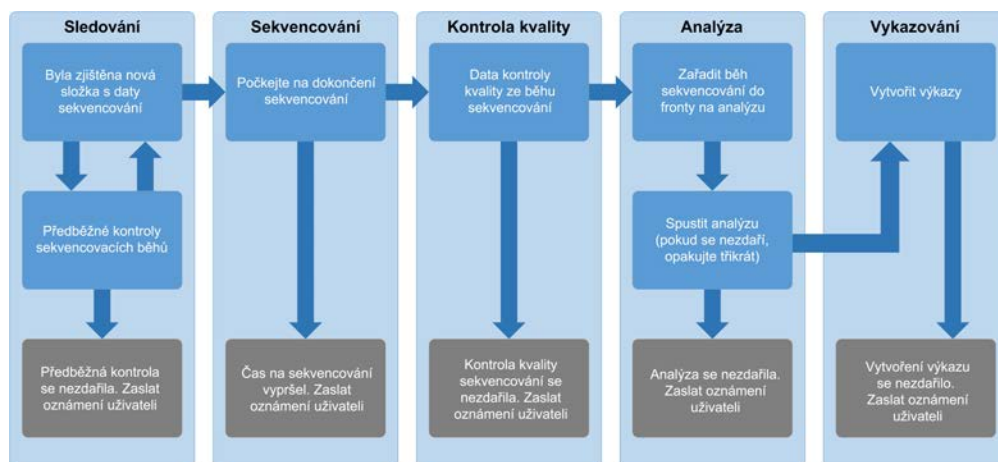
# VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples)

Analysis Software .....	3
Webové uživatelské rozhraní .....	6
Analýza a vykazování .....	14
VeriSeq NIPT Analysis Server (48 Samples) .....	16

## Analysis Software

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

Obrázek 1 Schéma toku dat



**Monitoring (Sledování)** – předběžně kontroluje platnost nového běhu sekvenování. Následující kontroly platnosti se provádějí v okamžiku, kdy software zjistí nový běh sekvenování:

- 1 Kontroluje kompatibilitu parametrů běhu s očekávanými hodnotami.
- 2 Pomocí rozhraní API softwaru vytvoří propojení mezi sekvenovaným čárovým kódem fondu a informacemi o fondu, které byly zaznamenány během procesu přípravy vzorku.
- 3 Potvrzuje, že fond zatím nebyl zpracováván (systém nedovoluje opakování).

- 1 **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.
- 2 **QC (Kontrola kvality)** – kontroluje soubory InterOp QC, které vytvořil sekvencer. Analysis 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.
- 3 **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, Analysis Software ji automaticky znovu spustí (až třikrát). Po každé chybě dostane uživatel oznámení e-mailovým oznamovacím systémem a v protokolu Alerts (Výstrahy) ve webovém uživatelském rozhraní.

- 4 **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 Analysis Software

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

### Automatizované úkoly

Analysis 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 21* a podrobnosti v kapitole *Výkazy procesu na straně 28*.
- ▶ **Vytvoření oznámení o upozorněních, e-mailech a výkazech** – 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 Analysis Software, zda se má v procesu pokračovat a zda mají být výsledky vykázány. Analysis Software ukončí proces, je-li vzorek nebo fond zneplatněn na základě výsledku kontroly kvality. Uživateli je odesláno upozornění e-mailem, vytvoří se zpráva a do webového uživatelského rozhraní se zaznamená výstraha.
- ▶ **Analýza sekvenčních dat** – analyzuje nezpracovaná data sekvenování pro každý mnohonásobný vzorek ve fondu pomocí algoritmu integrovaného komunikačního plánu. Analysis Software určuje výsledek LLR pro každý cílový chromozom v každém vzorku. Systém nehlásí výsledky vzorků, které byly uživatelem zneplatněny nebo zrušeny. U vzorků, které nesplňují kritéria kontroly kvality, je poskytnuto výslovné zdůvodnění, avšak výsledky takových vzorků nejsou brány v potaz. Další informace naleznete v části *Výkaz NIPT na straně 25*.
- ▶ **Vytvoření souboru s výsledky** – poskytuje výsledky vzorku v souboru s hodnotami oddělenými tabulátorem, který je uložen do složky Output (Výstup). Více informací naleznete v kapitole *Struktura souboru výkazů na straně 21*.
- ▶ **Vytvoření výkazů** – Analysis Software vytvoří výkazy o výsledcích, oznámeních a procesech. Další informace naleznete *na straně 20*.
- ▶ **Zneplatnění vzorku, fondu a dávky** –
  - ▶ **Zneplatnění vzorku** – Analysis 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 *Výkaz zneplatnění vzorku na straně 27*.
  - ▶ **Vytvoření výkazu o zneplatnění fondu a dávky** – fondy a dávky může zneplatnit pouze uživatel. Zneplatněné fondy nejsou systémem zpracovány. Fondy, které již byly vytvořeny z neplatné dávky, nejsou automaticky zneplatněny a mohou být systémem dále zpracovány. Nové fondy však nemohou být vytvořeny ze zneplatněných dávek. Pokud je fond zneplatněn a jsou splněny následující podmínky, systém vydá Pool Retest Request Report (Výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu):
    - ▶ Dávka je platná.



- ▶ Pro tuto dávku již nejsou k dispozici další fondy.
- ▶ Počet povolených fondů z dávky nebyl vyčerpán.

Více informací naleznete v kapitole *Výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu na straně 28*.

#### ▶ Řízení opakované zkoušky –

- ▶ **Chyby fondů** – chybné fondy jsou obvykle fondy, které neprošli sekvenovací metrikou kontroly kvality. Analysis 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 Analysis Software (48 samples) umožňuje uživatelům provádět následující úkoly:

Pomocí rozhraní API softwaru můžete v Analysis Software vydávat tyto příkazy:

- ▶ 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 Analysis Software výsledky označí jako zrušené.

Používání Analysis Software:

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



### POZNÁMKA

Uživatelé mohou různé úkoly provádět na základě oprávnění, která mají. Další informace naleznete v části *Přřazení uživatelských rolí na straně 10*.

## Sequencing Handler

Analysis Software používá Sequencing Handler ke správě běhů sekvenování, které vytváří sekvenovací nástroje. Program identifikuje nové běhy sekvenování, ověřuje parametry běhů a uvádí do souladu čárový kód fondu se známým fondem, který byl vytvořený v průběhu procesu přípravy knihovny. Pokud přidružení nelze provést, uživatel obdrží oznámení a zpracování běhu sekvenování se zastaví.

Po úspěšném dokončení ověření Analysis 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 6*).

## Kompatibilita běhu sekvenování

Analysis Software analyzuje pouze běhy sekvenování, které jsou kompatibilní s analytickým pracovním postupem cfDNA.

K vytvoření volání báze používejte pouze kompatibilní metody sekvenování.

**POZNÁMKA**

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

Sekvenování nakonfigurujte pomocí kompatibilních parametrů čtení.

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

## Analytic Pipeline Handler

Analytic pipeline handler spouští plán analýzy s cílem vytvořit skóre LLR chromozomální aneuploidie. Plán zpracovává běhy sekvenování po jednom s průměrným trváním méně než 5 hodin na fond. Pokud analýza fond nezpracuje nebo nedokončí analýzu kvůli výpadku energie nebo prodlevě, Analytic Pipeline Handler automaticky běh znovu zařadí. Pokud se zpracování fondu nezdaří třikrát po sobě, je běh označen jako chybný a uživateli je zasláno oznámení.

Úspěšná analýza běhu spustí vytvoření výkazu NIPT. Další informace naleznete v části [Výkaz NIPT na straně 25](#).

## Prodleva pracovního postupu a požadavky na úložiště

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

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

## E-mailový oznamovací program

Analysis Software odesílá během provádění rozboru oznámení obsahující informace a výstrahy týkající se průběhu. E-mailová oznámení, která mají v řádce předmětu uveden text ACTION REQUIRED (Vyžadován zásah), obsahují podrobný postup, jak problém vyřešit. Další informace viz část [Výkazy výsledků a oznámení na straně 25](#).

Oznamovací program odesílá e-maily odběratelům v seznamu, který lze definovat pomocí webového uživatelského rozhraní. Další informace viz část [Webové uživatelské rozhraní na straně 6](#).


## Webové uživatelské rozhraní

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

- ▶ **View recent activities** (Zobrazit poslední činnosti) – uvádí kroky, které byly dokončené během provádění rozboru. Uživatel obdrží výstrahy k mnohým z těchto činností prostřednictvím e-mailového oznamovacího systému. Další informace naleznete v části [Oznámení VeriSeq NIPT Analysis Software \(48 Samples\) na straně 47](#).
- ▶ **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 VeriSeq NIPT Analysis Software \(48 Samples\) na straně 47](#).

- ▶ **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 13*.
- ▶ **Manage server access** (Spravovat přístup k serveru) – 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 10*.
- ▶ **Configure sequencing data folder** (Konfigurovat složku dat sekvenování) – ve výchozím nastavení server ukládá data sekvenování. K rozšíření úložné kapacity je však možné přidat centrální úložiště NAS. Další informace naleznete v části *Mapování serverových jednotek na straně 18*.
- ▶ **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 14*.
- ▶ **Reboot or shutdown the server** (Restartovat nebo vypnout server) – v případě potřeby restartuje server. Restartování nebo vypnutí může být nutné v případě, kdy to vyžaduje konfigurační nastavení nebo když se použije jako opravný prostředek při chybě serveru. Další informace naleznete v části *Restart serveru na straně 18*.

## 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 *Přirazení uživatelských rolí na straně 10*.



### POZNÁMKA

Technik nemá přístup k žádné z těchto funkcí.

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

## Přihlášení do webového uživatelského rozhraní

Postup získání přístupu k rozhraní softwaru Analysis Software a přihlášení:

- 1 V počítači připojeném ke stejné síti jako Server otevřete některý z následujících webových prohlížečů:
  - ▶ Chrome verze 33 nebo novější
  - ▶ Firefox verze 27 nebo novější
  - ▶ Internet Explorer verze 11 nebo novější

- Zadejte adresu IP nebo název serveru poskytnutý společností Illumina během instalace, odpovídající zápisu \\<adresa IP serveru VeriSeq NIPT Analysis Server (48 Samples)>\login.  
Příklad: \\10.10.10.10\login.
- Pokud se zobrazí varování zabezpečení prohlížeče, přidejte výjimku zabezpečení, abyste mohli pokračovat na přihlašovací obrazovku.
- Na přihlašovací obrazovce zadejte uživatelské jméno a heslo (rolišují se malá a velká písmena) poskytnuté společností Illumina a klikněte na **Log In** (Přihlásit).



### POZNÁMKA

Po 10 minutách nečinnosti Analysis Software automaticky odhlásí aktuálního uživatele.

## Použití ovládacího panelu

Ovládací panel softwaru VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) se zobrazí po přihlášení a představuje hlavní okno navigace. K ovládacímu panelu se můžete kdykoli vrátit, stačí v nabídce kliknout na možnost **Dashboard** (Ovládací panel).

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

**Obrázek 2** Ovládací panel VeriSeq NIPT Analysis 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 Software a serveru Analysis Server.

Název	Popis
When (Kdy)	Activity date and time (Datum a čas činnosti)
User (Uživatel)	Pokud se používá, označuje uživatele, který činnost provedl.

Název	Popis
Subsystem (Subsystém)	Entita nebo proces, který danou činnost provedl, například uživatel, rozbor nebo konfigurace
Details (Podrobnosti)	Popis činnosti
Level (Úroveň)	Úroveň přiřazená dané činnosti. Na výběr jsou následující možnosti: <ul style="list-style-type: none"> <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 (Kdy)	Activity date and time (Datum a čas činnosti)
User (Uživatel)	Pokud se používá, označuje uživatele, který činnost provedl.
Subsystem (Subsystém)	Entita nebo proces, který danou činnost provedl, například uživatel, rozbor nebo konfigurace
Details (Podrobnosti)	Popis činnosti
Level (Úroveň)	Úroveň přiřazená dané činnosti. Na výběr jsou následující možnosti: <ul style="list-style-type: none"> <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 přehled stavů serveru, klikněte na ovládacím panelu na kartu **Server Status** (Stav serveru).

- ▶ **Date** (Datum) – aktuální datum a čas.
- ▶ **Time zone** (Časové pásmo) – časové pásmo nakonfigurované na serveru. Používá se pro datum a čas e-mailů, výstrah a výkazů.
- ▶ **Hostname** (Název hostitele) – název systému se skládá z názvu síťového hostitele a z názvu domény DNS.
- ▶ **Disk space usage** (Využití místa na disku) – procento aktuálně využitého místa na disku, které slouží k ukládání dat.
- ▶ **Software** – předepsaná konfigurace softwaru (například CE-IVD).
- ▶ **Version** (Verze) – verze VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples).

## Správa uživatelů



### POZNÁMKA

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

## Přřazení uživatelských rolí

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

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

## Přidávání uživatelů

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

Chcete-li přidat uživatele:

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



### POZNÁMKA

Všechna pole musí být vyplněna.

- 2 Zadejte uživatelské jméno.



### POZNÁMKA

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

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

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

### Poznámka

Hesla musejí mít délku 8 až 20 znaků a musejí obsahovat minimálně jedno velké písmeno, jedno malé písmeno a jednu číslici.
- 5 Zadejte e-mailovou adresu uživatele.  
Pro každého uživatele je nutná jedinečná e-mailová adresa.
- 6 Vyberte požadovanou uživatelskou roli z rozbalovacího seznamu.
- 7 Okamžitou aktivaci uživatele proveďte vybráním políčka **Active** (Aktivní) nebo zrušením jeho výběru, chcete-li uživatele aktivovat později (např. po zaškolení).

- 8 Dvojitým kliknutím na **Save** (Uložit) uložte a potvrďte změny.  
Na obrazovce User Management (Správa uživatelů) je nyní zobrazen nový uživatel.

## Úprava uživatelů

Postup úpravy informací o uživateli:

- 1 Na obrazovce User Management (Správa uživatelů) vyberte uživatelské jméno požadovaného uživatele.
- 2 Podle potřeby upravte informace uživatele a po dokončení klikněte na příkaz **Save** (Uložit).
- 3 Po zobrazení dialogového okna znovu klikněte na příkaz **Save** (Uložit), čímž změny potvrďte.  
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 zaškrtačicím políčkem **Activate** (Aktivovat) a klikněte na položku **Save** (Uložit).
- 3 Potvrzovací zprávu potvrďte kliknutím na položku **Save** (Uložit).  
Stav uživatele na obrazovce User Management (Správa uživatelů) se změní na Disabled (Neaktivní).

## Správa sdílené síťové jednotky



### POZNÁMKA

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

## Přidání sdílené síťové jednotky

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

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



### POZNÁMKA

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

## Úprava sdílené síťové jednotky

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

## Odstranění sdílené síťové jednotky

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

## Konfigurace sítě a nastavení certifikátů

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



### POZNÁMKA

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

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

## Změna nastavení certifikátů

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



### POZNÁMKA

Kryptografický otisk certifikátu (SHA1) se zobrazí po vytvoření nebo opětovném vytvoření certifikátu.  
Další informace viz část *Obnovení certifikátu na straně 13*.

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





#### POZNÁMKA

Otisk SHA1 zajišťuje, že se uživatelům nebudou zobrazovat varování certifikátu při přístupu k softwaru VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples).

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



#### UPOZORNĚNÍ

Nesprávná nastavení mohou narušit spojení se serverem.

## Stažení a instalace certifikátu

Postup stažení a instalace certifikátu SSL:

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

## Obnovení certifikátu



#### POZNÁMKA

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

Postup obnovení certifikátu po změně nastavení sítě nebo certifikátu:

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

## Konfigurace e-mailových oznámení systému

VeriSeq NIPT Analysis Software (48 vzorků) komunikuje s uživateli zasláním e-mailových oznámení o postupu rozboru a výstrah, když se vyskytnou chyby nebo je vyžadován zásah uživatele. Část *Oznámení VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) na straně 47* popisuje různá e-mailová oznámení posílána 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.

## 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. Výkazy analýzy jsou popsány v Kapitole 3.

## 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. Analysis 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). Seznam vzorků obsahuje záhlaví s informacemi o běhu a deskriptorech pro vzorky zpracované v konkrétní průtokové kyvetě.

Následující tabulka nabízí podrobnosti o datech v seznamu vzorků.



### POZNÁMKA

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

Název sloupce	Popis
SampleID	Identifikace vzorku
SampleName	Název vzorku; výchozí; stejný jako SampleID
Sample_Plate	Identifikace desky pro daný vzorek; výchozí: prázdné
Sample_Well	Identifikace zdroje na desce pro daný vzorek
I7_Index_ID	Identifikace prvního indexového adaptéru
index	Nukleotidová sekvence prvního adaptéru
I5_Index_ID	Identifikace druhého adaptéru
index2	Nukleotidová sekvence druhého adaptéru
Sample_Project	Identifikace projektu pro daný vzorek; výchozí: prázdné

Název sloupce	Popis
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) – kontrola vzorku známého pohlaví a skóre LLR 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 39*.

## Odhady fetální frakce

Fetální frakce označuje procentuální podíl mimobuněčné volné DNA cirkulující v krevním vzorku matky, který je získán z placenty. Analysis Software vypočítá odhad fetální frakce prostřednictvím předem určeného váženého průměru dvou hodnot; jedna hodnota je založena na rozdělení velikostí fragmentů cfDNA a druhá na rozdílech v genomickém pokrytí mezi cfDNA matky a plodu.<sup>1</sup>

## Statistický výstup

V případě autozomů 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 porovnáním oblastí pokrytí, které lze ovlivnit aneuploidii, se zbytkem autozomů. LLR (věrohodnostní poměr) se vypočítá pro jednotlivé vzorky tak, že se zohlední tato skóre podle pokrytí a odhadovaná fetální frakce. LLR představuje pravděpodobnost ovlivnění vzorku na základě pozorovaného pokrytí a fetální frakce oproti pravděpodobnosti, že vzorek ovlivněný nebude na základě stejného pozorovaného pokrytí. Výpočet tohoto poměru zohledňuje také odhadovanou nepřesnost ve fetální frakci. V následných výpočtech se použije přirozený algoritmus LLR.

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>2</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

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

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

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,YYY].

## Kontrola kvality analýzy

Analytická metrika kontroly kvality je metrika, která je vypočítána během analýzy a používá se pro zjištění vzorků, které se příliš odchylují od očekávaného chování. Data pro vzorky, které neprojdou touto metrikou, jsou považována za nespolehlivá a označena jako chybná. Analytická metrika kontroly kvality a přidružené krajní hodnoty nebo přijatelné rozsahy jsou uvedeny v části *Metriky a meze analytické kontroly kvality na straně 39*. Následující tabulka popisuje metriku.

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

## VeriSeq NIPT Analysis Server (48 Samples)

Nástroj Instrument Short 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).

## Archivování dat

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

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

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

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

## Místní disk

Software zpřístupňuje uživateli některé složky na serveru Analysis Server. 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 sekvencí nové generace připojeným k serveru.	Čtení a zápis
Output (Výstup)	Obsahuje všechny softwarem generované výkazy.	Pouze čtení
Backup (Záloha)	Obsahuje zálohy databáze.	Pouze čtení



### POZNÁMKA

Mapování místního disku je založeno na protokolu SMB (Server Message Block). Software aktuálně podporuje verze SMB1 a SMB2. Je třeba na mapovaných zařízeních (notebook nebo stolní počítač) tento protokol povolit.

## Místní databáze

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

- ▶ **Database backup** (Zálohování databáze) – Jednou za hodinu, za den a za měsíc je automaticky uložen snímek databáze. Hodinové zálohy jsou odstraněny po vytvoření denní zálohy. Podobně denní zálohy jsou odstraněny po vytvoření týdenní zálohy. Týdenní zálohy jsou odstraněny po vytvoření měsíční zálohy a ponechána je pouze jedna měsíční záloha. Doporučenou praxí je vytvořit automatizovaný skript, který udržuje složku záloh v místním úložišti NAS.
- ▶ **Database restore** (Obnovení databáze) – Umožňuje obnovit databázi z kteréhokoliv snímku zálohy. Obnovení provádí pouze servisní technici společnosti Illumina.
- ▶ **Data backup** (Zálohování dat) – Ačkoliv lze použít Server jako hlavní úložiště běhů sekvenování, může uchovat pouze přibližně 400 běhů. Společnost Illumina doporučuje nastavit automatizované zálohování dat, které se provádí pravidelně do jiného dlouhodobého úložiště nebo do úložiště NAS.
- ▶ **Maintenance** (Údržba) – Liší se od zálohování dat. Server nevyžaduje od uživatele provedení údržby. Aktualizaci softwaru Software nebo samotného serveru Analysis Server zajišťuje technická podpora společnosti Illumina.

## Mapování serverových jednotek

Server má 3 složky, které lze jednotlivě připojit k libovolnému počítači se systémem Microsoft Windows:

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

Připojování jednotlivých složek:

- 1 Přihlaste se k počítači v podsíti 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 \\<adresa IP serveru VeriSeq NIPT Analysis Server (48 Samples)>\<název složky>. Příklad: \\10.50.132.92\input.
- 5 Zadejte uživatelské jméno a heslo. Úspěšně připojené složky se zobrazí v počítači jako připojené.



### POZNÁMKA

Mapování místního disku je založeno na protokolu SMB (Server Message Block). Software aktuálně podporuje verze SMB1 a SMB2. Je třeba na mapovaných zařízeních (notebook nebo stolní počítač) tento protokol povolit.

## Odhlášení

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

## Restart serveru



### POZNÁMKA

Povolení k restartu serveru mají pouze servisní technici a správci.

Postup restartu serveru:

- 1 V rozevíracím seznamu **Settings** (Nastavení) vyberte možnost **Reboot Server** (Restartovat server).
- 2 Chcete-li systém restartovat, klikněte na **Reboot** (Restartovat). Chcete-li skončit bez restartu, klikněte na **Cancel** (Zrušit).
- 3 Zadejte důvod vypnutí serveru. Důvod se zaznamená pro potřeby řešení problémů.



### POZNÁMKA

Restart systému může trvat několik minut.

## Vypnutí serveru



### POZNÁMKA

Povolení k vypnutí serveru mají pouze servisní technici a správci.

Postup vypnutí serveru:

- 1 V rozevíracím seznamu **Settings** (Nastavení) vyberte možnost **Shut Down Server** (Vypnout server).
- 2 Pokud chcete server vypnout, vyberte možnost **Shut Down** (Vypnout). Pokud chcete odejít bez vypnutí, vyberte možnost **Cancel** (Zrušit).
- 3 Zadejte důvod vypnutí 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 Analysis 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 Analysis Software systému až třikrát znovu odeslat běh na analýzu.

# Systemové výkazy

Úvod .....	20
Přehled systémových výkazů .....	22
Události vytváření výkazů .....	23
Výkazy výsledků a oznámení .....	25
Výkazy procesu .....	28

## Úvod

Analysis Software vytváří dvě kategorie výkazů:

- ▶ Výkazy výsledků a oznámení
- ▶ Výkazy procesu

Existují také dva typy výkazů:

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

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

## Výstupní soubory

Výkazy softwaru Analysis Software jsou vytvořeny na vnitřním pevném disku serveru Analysis Server, 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.

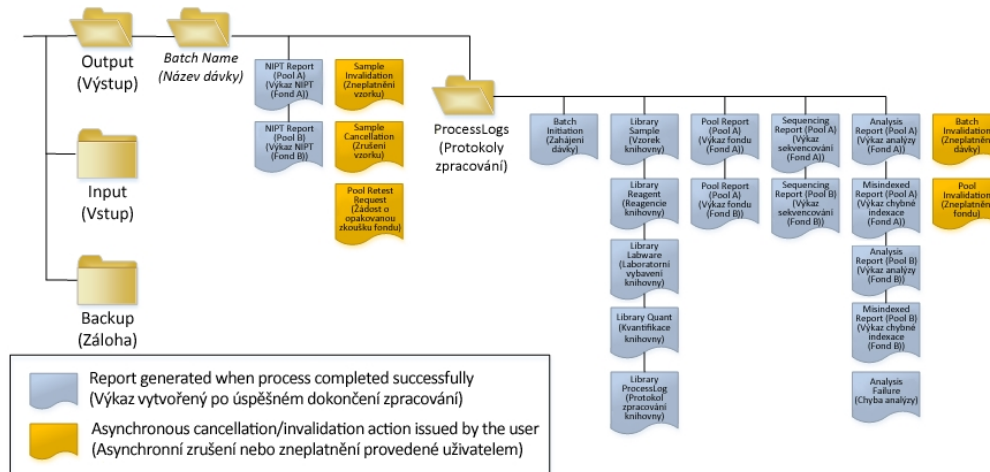
Všechny výkazy mají formát běžného textu odděleného tabelátory. Výkazy lze otevřít v libovolném textovém editoru nebo programu pro zpracování tabulek, jako je Microsoft Excel.



## Struktura souboru výkazů

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

Obrázek 3 Struktura složky výkazů softwaru Analysis Software



Analysis 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 25*.
- ▶ **Složka ProcessLog (Protokol procesů)**. Obsahuje výkazy související s procesem. Podrobnosti viz část *Výkazy procesu na straně 28*

Seznam všech výkazů je uveden v části *Přehled systémových výkazů na straně 22*.

## Přehled systémových výkazů

Název výkazu	Typ výkazu	Entita výkazu	Formát souboru výkazu
<i>Výkaz NIPT</i>	Praktický	Fond, průtoková kyveta	<batch_name>_A_<pool_barcode>_<flowcell>_nipt_report_20150528_163503.tab
<i>Výkaz zneplatnění vzorku</i>	Praktický	Vzorek	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_invalidation_report_20150528_163503.tab
<i>Výkaz zrušení vzorku</i>	Praktický	Vzorek	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_cancellation_report_20150528_163503.tab
<i>Výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu</i>	Praktický	Fond	<batch_name>_<pool_type>_pool_retest_request_20150528_163503.tab
<i>Výkaz zavedení dávky</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_batch_initiation_report_20150528_163503.tab
<i>Výkaz zneplatnění dávky</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_batch_invalidation_report_20150528_163503.tab
<i>Výkaz vzorku knihovny</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_sample_report_20150529_083503.tab
<i>Výkaz reagensie knihovny</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_reagent_report_20150529_163503.tab
<i>Výkaz laboratorního vybavení knihovny</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_labware_report_20150518_163503.tab
<i>Výkaz kvantifikace knihovny</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_quant_report_20150518_163503.tab
<i>Protokol zpracování knihovny</i>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_process_log.tab
<i>Výkaz fondu</i>	Informační	Fond	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_report_20150528_163503.tab
<i>Výkaz zneplatnění fondu</i>	Informační	Fond	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_invalidation_report_20150528_163503.tab
<i>Výkaz sekvenování</i>	Informační	Fond, průtoková kyveta	ProcessLogs/<batch_name>_A_<pool_barcode>_<flowcell>_sequencing_report_20150528_163503.tab ProcessLogs/<batch_name>_B_<pool_barcode>_<flowcell>_sequencing_report_20150528_163503.tab

Název výkazu	Typ výkazu	Entita výkazu	Formát souboru výkazu
<i>Výkaz analýzy</i>	Informační	Fond, průtoková kyveta	ProcessLogs/<batch_name>_A_<pool_barcode>_<flowcell>_analysis_report_20150528_163503.tab
<i>Výkaz chybné indexace</i>	Informační	Fond, průtoková kyveta	ProcessLogs/<batch_name>_A_<pool_barcode>_<flowcell>_misindexed_report_20150528_163503.tab
<i>Výkaz o nezdařené analýze</i>	Informační	Fond, průtoková kyveta	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_analysis_failure_report_20150528_163503.tab

## Události vytváření výkazů

Výkaz	Popis	Událost vytváření
NIPT	Obsahuje konečné výsledky úspěšného běhu analýzy.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analýza běhu sekvenování je dokončena.</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 existujících dávků 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>
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 reagencii 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>

Výkaz	Popis	Událost vytváření
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>Časový limit sekvenování vypršel (chyba).</li> </ul>
Analysis (Analýza)	Obsahuje další analytická data úspěšného běhu.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analýza běhu sekvenování je dokončena.</li> </ul>
Misindexed (Nesprávně indexováno)	Obsahuje informace o nesprávně indexovaných čteních.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analýza běhu sekvenování je dokončena.</li> </ul>
Analysis Failure (Chyba analýzy)	Obsahuje analytické informace pro neúspěšný fond.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analýza sekvenovacího běhu se nezdařila.</li> </ul>

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

## Výkazy výsledků a oznámení

### Výkaz NIPT

Výkaz NIPT obsahuje výsledky statistického testu LLR formátované v podobě jednoho vzorku na řádek pro každý vzorek ve fondu.

Sloupec	Popis	Možné přednastavené hodnoty	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky	Nepoužívá se	text	$^{\wedge}[a-zA-Z0-9\_]{1,36}\$$
sample_barcode	Jedinečný čárový kód vzorku	Nepoužívá se	text	$^{\wedge}[a-zA-Z0-9\_]{1,36}\$$
sample_type	Informace o typu vzorku získané z místa sběru.	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 skóre aneuploidie</li> <li>• <b>NTC</b> – žádný kontrolní vzorek šablony (žádná DNA)</li> </ul>	výčet	Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty
sex_chrom	Je požadována analýza pohlavního chromozomu.	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>yes</b> (ano) – je požadováno skóre pohlavního chromozomu a vykázání pohlaví</li> <li>• <b>no</b> (ne) – není požadováno skóre pohlavního chromozomu ani vykázání pohlaví</li> <li>• <b>sca</b> – je požadováno skóre pohlavního chromozomu, ale vykázání pohlaví není požadováno</li> </ul>	výčet	Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty
flowcell	Čárový kód průtokové kyvety pro sekvenování	Nepoužívá se	text	Nepoužívá se
score_t13	Skóre LLR pro prokázání trizomie u chromozomu 13	Číslo	Číslo s pohyblivou desetinnou čárkou	$ x  < 500,00$
score_t18	Skóre LLR pro prokázání trizomie u chromozomu 18	Číslo	Číslo s pohyblivou desetinnou čárkou	$ x  < 500,00$
score_t21	Skóre LLR pro prokázání trizomie u chromozomu 21	Číslo	Číslo s pohyblivou desetinnou čárkou	$ x  < 500,00$

Sloupec	Popis	Možné přednastavené hodnoty	Typ	Regulární výraz
score_tx	Skóre LLR pro prokázání trizomie u chromozomu X	Číslo	Číslo s pohyblivou desetinnou čárkou	x   < 500,00
score_mx	Skóre LLR pro prokázání monozomie u chromozomu X	Číslo	Číslo s pohyblivou desetinnou čárkou	x   < 500,00
ncv_x	Normalizovaná chromozomální hodnota pro chromozom X	Číslo	Číslo s pohyblivou desetinnou čárkou	x   < 500,00
ncv_y	Normalizovaná chromozomální hodnota pro chromozom Y	Číslo	Číslo s pohyblivou desetinnou čárkou	x   < 500,00
qc_flag	Výsledky analýzy kontroly kvality	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>CANCELLED</b> (Zrušeno)</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Zneplatněno)</li> <li>• <b>PASS</b> (Úspěšné)</li> <li>• <b>NTC_PASS</b> (Úspěšný NTC)</li> <li>• <b>FAIL</b> (Neúspěšné)</li> </ul>	výčet	Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty
qc_failure	Informace o neúspěšné kontrole kvality	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> <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>NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE</b> (Vzorek NTC s vysokým pokrytím)</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (Zrušeno)</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Zneplatněno)</li> <li>• <b>NONE</b> (Žádné) (stav kontroly kvality je Pass (Úspěšné))</li> </ul>	text	Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty
ff	Odhadovaná hodnota fetální frakce	Procentuální hodnota cfDNA vzorku z plodu zaokrouhlená na nejbližší celé číslo. Výsledky nižší než 1 % jsou uvedeny jako < 1 %.	text	Nepoužívá se

## Výkazy o neúspěšných kontrolách kvality

Neúspěšná kontrola kvality analýzy má za následek úplné zamítnutí výsledků, hodnocení pohlaví a odhadované fetální frakce, což odpovídá následujícím polím výkazu NIPT: score\_t13, score\_t18, score\_t21, score\_tx, score\_mx, ncv\_x, ncv\_y a ff.

Výkaz o neúspěšné kontrole kvality	Popis	Doporučená akce
FAILED iFACT (Neúspěšná zkouška iFACT)	Zkouška iFACT (individual Fetal Aneuploidy Confidence Test) – metrika kontroly kvality, která kombinuje odhadnutou fetální frakci s metrikami souvisejícími s pokrytím. Výsledkem je určení, zda má systém statistickou spolehlivost učinit rozhodnutí o určitém vzorku.	Zpracujte vzorek znovu.
DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Data mimo očekávaný rozsah)	Odchylka od euploidního pokrytí u necílových chromozomů. Může souviset s trizomií nebo monozomií některého cílového chromozomu nebo s nespecifikovaným velkým počtem variant počtu kopií mezi chromozomy.	Zpracujte vzorek znovu.
FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Rozdělení velikost fragmentů mimo očekávaný rozsah)	Rozdělení dat není v souladu s rozdělením naučených dat. Může být způsobeno kontaminací nebo nesprávným zpracováním vzorku.	Zpracujte vzorek znovu.
NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (Vzorek NTC s vysokým pokrytím)	Pro vzorek NTC bylo zjištěno vysoké pokrytí (nebyl očekáván žádný materiál DNA). Může být způsobeno kontaminací nebo nesprávným zpracováním vzorku.	Zpracujte vzorek znovu.
CANCELLED (Zrušeno)	Vzorek byl zrušen uživateli.	Nepoužívá se
INVALIDATED (Zneplatněno)	Vzorek byl zneplatněn uživateli.	

## Výkaz zneplatnění vzorku

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

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

## Výkaz zrušení vzorku

U každého zrušeného vzorku systém vytvoří výkaz zrušení vzorku.

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

## Výkaz žádosti o opakovanou zkoušku fondu

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

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

## Výkazy procesu

### Výkaz zavedení dávky

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

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Jedinečný čárový kód vzorku	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_type	Typ vzorku čárového kódu vzorku Možné hodnoty: jedináček, kontrola, dvojče, NTC	výčet	Hodnoty uvedené v popisu



Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
well	Zdroj přidružený ke vzorku	text	^[a-zA-Z]{1,1}[0-9]{1,2}\$
assay	Název rozboru	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$
method_version	Verze metody automatizace rozboru	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$

## Výkaz zneplatnění dávky

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

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

## Výkaz vzorku knihovny

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

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

## Výkaz reagentů knihovny

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

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky	text	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
process	Název procesu. Možné hodnoty: <ul style="list-style-type: none"> <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>	text	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
reagent_name	Název reagentů	text	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
lot	Čárový kód reagentů	text	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
expiration_date	Datum konce použitelnosti ve formátu výrobce	text	^[a-zA-Z0-9:/_]{1,100}\$
operator	Uživatelské jméno obsluhy	text	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
initiated	Časové razítko zahájení přidružená k reagentům	časové razítko podle ISO 8601	časové razítko podle ISO 8601

## Výkaz laboratorního vybavení knihovny

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

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

## Výkaz kvantifikace knihovny

Systém vytvoří výkaz kvantifikace knihovny při úspěšném dokončení kvantifikace.

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

## Protokol zpracování knihovny

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

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
process	Název zpracování dávky. Možné hodnoty: <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	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$

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

## Výkaz fondu

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

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

## Výkaz zneplatnění fondu

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

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode	Čárový kód zneplatněného fondu	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reason	Důvod pro zneplatnění fondu zadaný uživatelem	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
operator	Iniciály osoby, která provedla zneplatnění fondu.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$

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

## Výkaz sekvenování

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

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode	Čárový kód fondu přidružený k běhu sekvenování	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
instrument	Výrobní číslo sekvenceru	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
flowcell	Průtoková kyveta přidružená k běhu sekvenování	text	Nepoužívá se
software_version	Zřetězení softwarové aplikace/verze, která slouží k analýze dat v nástroji	text	
run_folder	Název složky běhu sekvenování	text	
sequencing_status	Stav běhu sekvenování Možné hodnoty: completed (dokončeno), timed out (vypršel časový limit)	výčet	Hodnoty uvedené v popisu
qc_status	Stav kontroly kvality daného běhu sekvenování Možné hodnoty: pass (úspěšné), fail (neúspěšné)	výčet	Hodnoty uvedené v popisu
qc_reason	Příčiny neúspěchu při kontrole kvality, hodnoty oddělené středníkem	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
cluster_density	Hustota klastřů (medián na průtokovou kyvetu v dlaždicích)	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
pct_q30	Procento bází nad Q30	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
pct_pf	Procento čtení procházející filtrem	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
phasing	Fázování	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
prephasing	Předfázování	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
predicted_aligned_reads	Předpokládaná uspořádaná čtení	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
started	Časové razítko přidružené k zahájení sekvenování	časové razítko podle ISO 8601	časové razítko podle ISO 8601
completed	Časové razítko přidružené k dokončení sekvenování	časové razítko podle ISO 8601	časové razítko podle ISO 8601

## Výkaz analýzy

Po úspěšném dokončení analýzy pro běh sekvenování systém vytvoří výkaz analýzy.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Jedinečný čárový kód vzorku	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_type	Typ vzorku. Možné hodnoty: jedináček, dvojče, kontrola, NTC	výčet	Hodnoty uvedené v popisu
sex_chrom	Možnost vykazování pohlavního chromozomu Možné hodnoty: ano, ne, sca	výčet	Hodnoty uvedené v popisu
flowcell	Čárový kód průtokové kyvety	text	Nepoužívá se
index	Index vzorku	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
well	Umístění zdroje desky	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
qc_flag	Charakter kontroly kvality na základě výsledků analýzy Možné hodnoty: PASS (úspěšné), FAIL (neúspěšné)	výčet	Hodnoty uvedené v popisu
qc_failure	Koncentrace důvodů pro selhání	text	Viz <i>Výkazy o neúspěšných kontrolách kvality</i> na straně 27
ff	Odhadované FF	číslo	
aligned_reads	Celkový počet uspořádaných čtení na vzorek	číslo	
indexing_rate	Zlomek všech čtení indexovaných pro jednotlivý vzorek	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
alignment_rate	Poměr uspořádaných čtení k indexovaným čtením pro daný vzorek	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
euploid_coverage	Věrohodnostní skóre pro důkaz euploidního pokrytí u necílových chromozomů	číslo	

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
frag_size_dist	Odchylka od očekávaného rozdělení velikosti fragmentu	číslo	
max_misindexed_rate	Zlomek čtení přidělených k indexům, které nejsou na průtokové kyvetě	číslo	
score_t13	Skóre LLR pro prokázání trizomie u chromozomu 13	číslo	
score_t18	Skóre LLR pro prokázání trizomie u chromozomu 18	číslo	
score_t21	Skóre LLR pro prokázání trizomie u chromozomu 21	číslo	
score_tx	Skóre LLR pro prokázání trizomie u chromozomu X	číslo	
score_mx	Skóre LLR pro prokázání monozomie u chromozomu X	číslo	
ncv_x	Normalizovaná chromozomální hodnota pro chromozom X	číslo	
ncv_y	Normalizovaná chromozomální hodnota pro chromozom Y	číslo	
chr1_coverage to chr22_coverage, chrX_coverage, chrY_coverage	Normalizované chromozomální pokrytí pro každý z 24 chromozomů	číslo	

## Výkaz chybné indexace

Po úspěšném dokončení analýzy systém vytvoří výkaz chybné indexace pro běh sekvenování.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_type	Typ fondu přidružený k čárovému kódu fondu Možné hodnoty: A, B, C	výčet	Hodnoty uvedené v popisu
pool_barcode	Čárový kód fondu přidružený ke vzorku	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
flowcell	Čárový kód průtokové kyvety	text	Nepoužívá se
index	Index přidružený k danému počtu čtení	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
indexedreads	Počet čtení připojených k indexu		



## Výkaz o nezdařené analýze

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

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode	Čárový kód spojený s nezdařenou analýzou	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
flowcell	Čárový kód průtokové kyvety spojený s nezdařenou analýzou	text	Nepoužívá se
sequencing_run_folder	Stav běhu sekvenování spojeného s nezdařenou analýzou	text	
analysis_run_status	Stav běhu sekvenování spojeného s nezdařenou analýzou Možnosti hodnot: failed_max_analysis_attempts	text	Hodnoty uvedené v popisu
timestarted	Časové razítko přidružené k zahájení analýzy	časové razítko podle ISO 8601	časové razítko podle ISO 8601
timefinished	Časové razítko přidružené k nezdařené analýze	časové razítko podle ISO 8601	časové razítko podle ISO 8601

# Metriky kontroly kvality

Metriky a meze kontroly kvality sekvenování .....	39
Metriky a meze analytické kontroly kvality .....	39

## 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 kvjeta s nízkou hustotou klastrů nevytváří dostatek čtení. Průtokové kvjety s přílišným množstvím klastrů obvykle vytvářejí data sekvenování v nízké kvalitě.
pct_pf	Procento čtení procházející filtrem čistoty	≥50 %	Nepoužívá se	Průtokové kvjety s mimořádně nízkým procentem PF mohou mít abnormální zastoupení bází a velmi pravděpodobně mohou označovat problém se čtením PF.
prephasing	Frakce předfázování	Nepoužívá se	≤0,003	Empiricky optimalizovaná doporučení pro VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples).
phasing	Frakce fázování	Nepoužívá se	≤0,004	Empiricky optimalizovaná doporučení pro VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples).
predicted_aligned_reads	Odhadovaný průměrný počet jedinečně namapovaných fragmentů na vzorek	≥4 000 000	Nepoužívá se	Stanoveno jako minimální pozorovaný NES v rámci běžné populace

## Metriky a meze analytické kontroly kvality

Kategorie	Metrika	Nižší mez	Horní mez	Zpráva o chybě	Očekávaná míra chybovosti	Možné Příčiny
Kontrola kvality výpočtů	NonExcludedSites (aligned_reads)	1 000 000	60 000 000	FAILED iFACT (Neúspěšná zkouška iFACT)	< 1 %	Nekvalitní knihovna nebo nesprávná kvalifikace knihovny; nízké počty klastrů; problém je možné odstranit provedením opětovné zkoušky z plazmy.
Věrohodnostní skóre pro denominátory chromozomu	NCD_Y	-200	10 000	DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Data mimo očekávaný rozsah)	< 0,2 %	Neočekávané zastoupení chromozomu někde v genomu. Je nepravděpodobné, že by se problém vyřešil opětovným zkoušením vzorku. Možná příčina: data mimo očekávaný rozsah
Rozdělení velikosti fragmentu	FragSizeDist (frag_size_dist)	0	0,07	FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Rozdělení velikost fragmentů mimo očekávaný rozsah)	< 1 %	Neočekávané rozdělení velikostí fragmentu Možné příčiny: selhání procesu výběru velikost, nízké pokrytí, znehodnocený vzorek.

Kategorie	Metrika	Nižší mez	Horní mez	Zpráva o chybě	Očekávaná míra chybovosti	Možné Příčiny
Pokrytí vzhledem k fetální frakci	NES_FF_QC	0	1,5	FAILED iFACT (Neúspěšná zkouška iFACT)	přibližně 1,2 %	Nedostatečné pokrytí vzhledem k fetální frakci.

# Studie porovnání metod

Data porovnání metod .....41

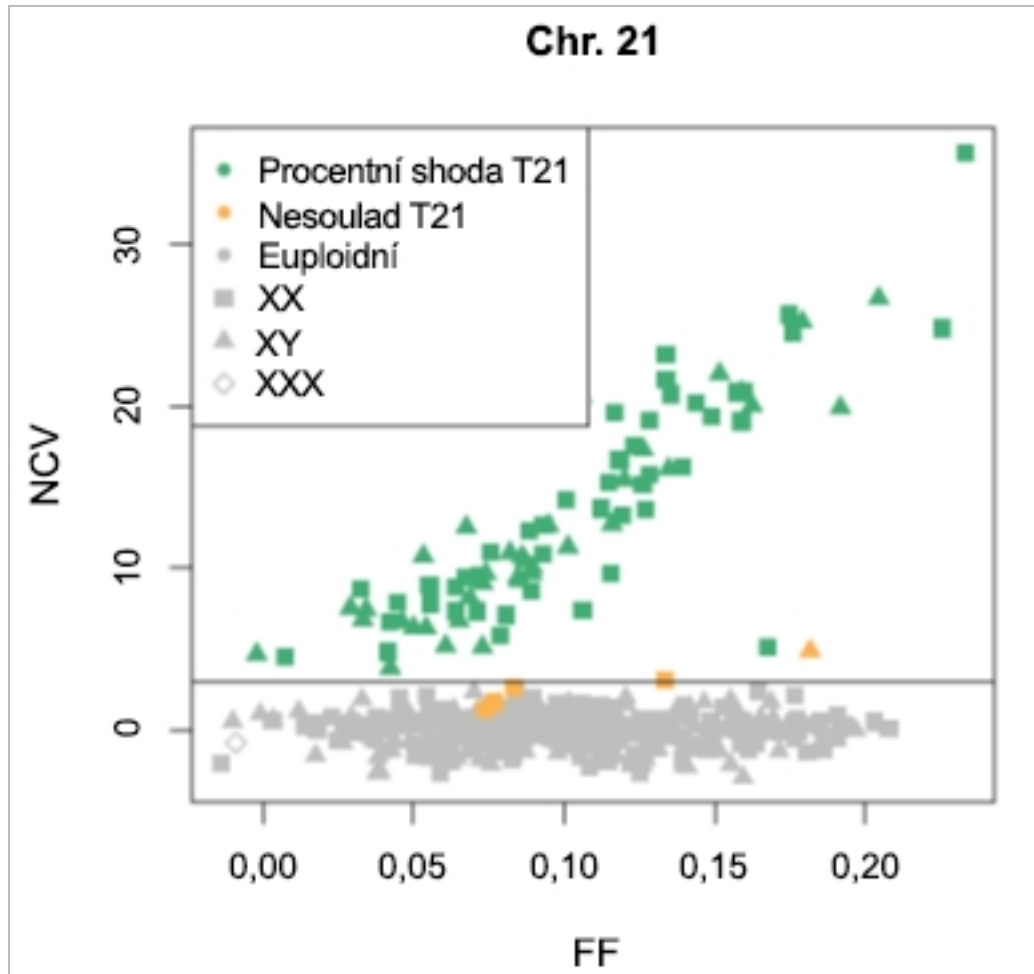
## Data porovnání metod

Zbývající poměrné části plazmy pro 461 vzorků, které byly součástí předchozího běhu testu Verifi®, byly zpracovány softwarem VeriSeq NIPT Assay a sekvenční data byla analyzována softwarem VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples). Tato sada vzorků obsahovala neovlivněné („euploidní“) vzorky a vzorky postižené trizomií chromozomu 21 (T21) plodů mužského a ženského pohlaví. Tato studie porovnání metod nezahrnuje vzorky postižené trizomií chromozomu 13 (T13) ani trizomií chromozomu 18 (T18), protože rozpoznání T21 je nejobtížnější, protože je nejmenší ze všech těchto tří chromozomů. Volání VeriSeq NIPT za účelem stanovení T21 a pohlaví plodu bylo založeno na konkrétních krajních hodnotách (LLR = 1,5 pro volání T21 a prahová hodnota upravená podle fetální frakce pro pohlaví plodu). V tabulce uvedené níže je zobrazena matice 461 klasifikačních volání Verifi a VeriSeq NIPT. Z hlediska klasifikace T21 bylo 82/87 (94,3 %) a 374/374 (100 %) vzorků mezi dvěma testy klasifikováno shodně jako T21, resp. euploidní. 460/461 (99,8 %) vzorků bylo klasifikováno shodně vzhledem ke klasifikaci pohlaví plodu. Procentuální shoda s negativním výsledkem u softwaru Verifi pro chromozomy XXX, XXY, XYY a monozomii chromozomu X byla 99,9 %, protože jeden vzorek byl softwarem Verifi klasifikován jako XX a softwarem VeriSeq NIPT jako XXX.

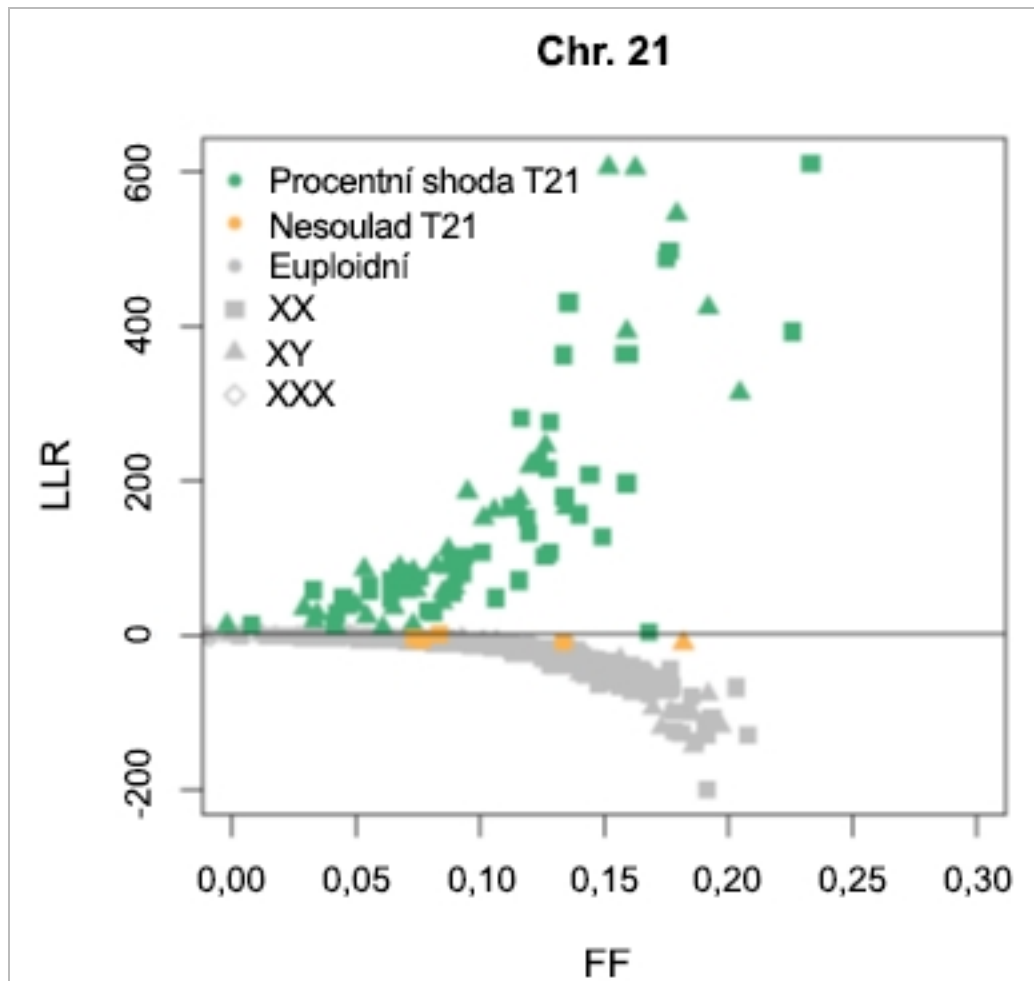
	T21 (XX)	T21 (XY)	Euploidní (XX)	Euploidní (XY)	Euploidní (XXX)	Celkem
T21 (XX)	45	0	4	0	0	49
Verifi, T21 (XY)	1	36	0	1	0	38
Euploidní (XX)	0	0	188	0	1	189
Euploidní (XY)	0	0	0	185	0	185

Bylo zjištěno celkem sedm rozdílných výsledků, jeden pro pohlaví plodu, pět pro T21 a jeden pro trizomii X. Jeden vzorek, u kterého bylo volání za účelem určení pohlaví plodu nesouhlasné mezi těmito dvěma rozbory, byl v obou rozborech označen jako T21. Pro vzorky u této studie porovnání metod nebyly k dispozici žádné informace o klinických výsledcích, a to včetně vzorků s rozdílnými výsledky. Znázornění vzorků pro srovnání NCV\_21 a odhadovanou fetální frakci (data odvozená od softwaru VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples)) je zobrazeno na **Obrázek 4**. Rozdílné vzorky dosáhly výtěžnosti skóre NCV na hranici rozhodování softwaru Verifi nebo v její blízkosti. Software VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) využívá k odvození nového skóre nazvaného LLR (logaritmická pravděpodobnost) jak NCV, tak i fetální frakci. **Obrázek 5** zobrazuje znázornění vzorků srovnávající LLR (logaritmickou pravděpodobnost) a fetální frakci. Tato metoda vyhodnocování obecně vyžaduje shodu mezi odhadovanou fetální frakcí a zastoupením chromozomů, aby byl vzorek klasifikován jako pozitivní. Předběžné studie ukázaly, že volání založená na hodnocení LLR mohou zlepšit celkovou specificitu testu NIPT. Různé hodnoty LLR vedou k různé míře shody s pozitivním a negativním výsledkem, jak je zobrazeno na **Obrázek 6**.

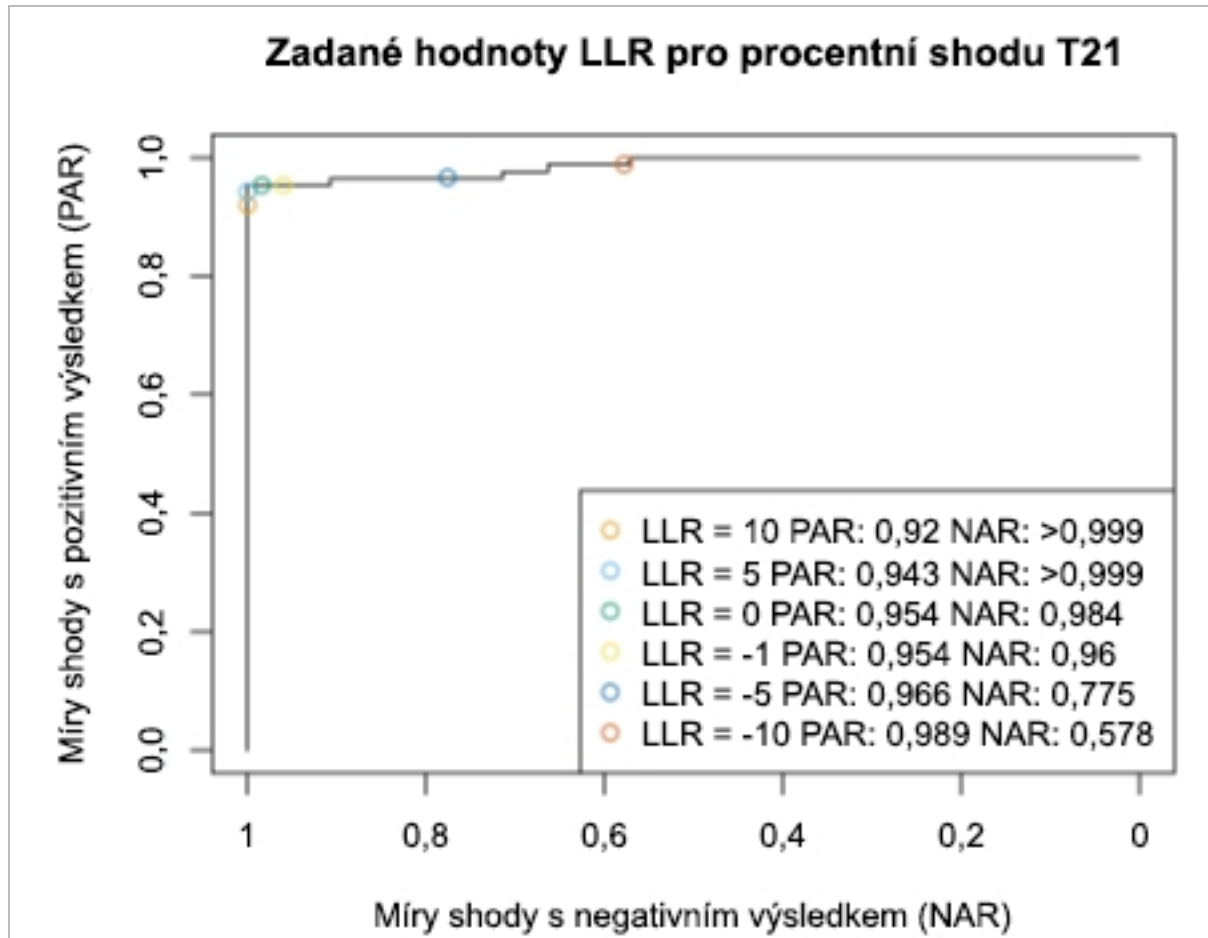
Obrázek 4 NCV ve srovnání s fetální frakcí chromozomu 2, vodorovná čára odpovídá krajní hodnotě NCV 4



Obrázek 5 LLR ve srovnání s fetální frakcí chromozomu 2, vodorovná čára odpovídá krajní hodnotě LLR 1,5



Obrázek 6 Míry shody s pozitivním a negativním výsledkem pro odlišné krajní hodnoty LLR pro chromozom 21





# Připojení kompatibilního sekvenceru nové generace

Úvod .....	45
Fond sekvenování .....	45
Integrace datového úložiště .....	45
Výkonnostní možnosti analýzy .....	46
Omezení síťového provozu .....	46

## Úvod

Sekvencer nové generace vytváří sekvenovací čtení pro všechny vzorky ve vyčísleném fondu knihoven a prostřednictvím serveru se integruje se softwarem VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples). Data sekvenování vyhodnocuje Analysis Handler, který je součástí Analysis Software.

Při integraci sekvenceru nové generace se softwarem VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) vezměte v úvahu následující skutečnosti.

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

## Fond sekvenování

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

- ▶ Vytvoření párových čtení s 2x 36 bázemi
- ▶ Kompatibilita s indexovými adaptéry v Sample Prep Long
- ▶ Chemie s dvojitým barvením
- ▶ Automatické vytvoření souborů .BCL

## Integrace datového úložiště

Typický sekvenovací běh, určený pro analýzu pomocí VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples), vyžaduje 25–30 GB místa pro data sekvenceru nové generace. Skutečná velikost dat se může lišit v závislosti na konečné hustotě klastru. 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 sekvencer nové generace k serveru pomocí jedné z následujících metod:

- ▶ Použijte 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 sekvencer nové generace tak, aby udržoval data sekvenování přímo na určeném umístění na úložišti NAS.  
Při tomto nastavení nakonfigurujte server tak, aby sledoval určené umístění na úložišti NAS, které umožňuje serveru sledovat následující běhy sekvenování. Je možné přidat několik sekvencerů nové generace, a tím zvýšit výkonnostní možnosti. Více informací o tom, jak připojit server k úložišti NAS naleznete v části *Správa sdílené síťové jednotky* na straně 11.

Více informací o tom, jak připojit sekvencer nové generace k serveru nebo k úložišti NAS naleznete v uživatelské příručce od výrobce.

## Výkonnostní možnosti analýzy

Plán analýzy VeriSeq NIPT obvykle zpracovává běh sekvenování přibližně 5 hodin. Pokud zvětšujete výkonnostní možnosti laboratoře, vezměte v úvahu, že jeden server je schopen zpracovat maximálně 4 běhy za den, to znamená  $48 \text{ vzorků} \times 4 = 192 \text{ vzorků}$  za den.

## Omezení síťového provozu

Software VeriSeq NIPT Software (48 Samples) využívá místní síť (LAN) pro přenos dat mezi sekvencerem nové generace, serverem Analysis Server a úložištěm NAS (je-li 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 sekvencer.
- ▶ Infrastruktura laboratoře může umožňovat použití jiných zdrojů síťového provozu, které je třeba vzít v úvahu.

# Řešení problémů

Úvod .....	47
Oznámení VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) .....	47
Problémy se systémem .....	55
Zkoušky zpracování dat .....	56

## Úvod

VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) nabízí pomoc při řešení problémů, která obsahuje následující:

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

## Oznámení VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples)

Tato část popisuje oznámení Analysis Software:

## Oznámení o průběhu

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

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

## Oznámení o zneplatnění

Oznámení o zneplatnění signalizují události, ke kterým dochází v systému v důsledku toho, že uživatel zneplatní dávku nebo fond prostřednictvím rozhraní API. Tyto činnosti jsou sděleny softwaru Analysis Software pomocí rozhraní API softwaru.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučená akce
Batch Invalidation (Zneplatnění dávky)	Příprava knihovny	Uživatel zneplatnil dávku.	Upozornění	Ano	Žádná
Pool Invalidation – Repool (Zneplatnění fondu – opětovné vložení do fondu)	Příprava knihovny	Uživatel zneplatnil první možný fond (určitého typu) pro dávku	Upozornění	Ano	Žádná
Pool Invalidation – Use second aliquot (Zneplatnění fondu – použijte druhou poměrnou část)	Příprava knihovny	Uživatel zneplatnil první možný fond (určitého typu) pro dávku	Upozornění	Ano	Žádná
Sequencing Completed Pool Invalidated (Sekvenování dokončeno, fond zneplatněn)	Sekvenování	Běh sekvenování byl dokončen, když byl fond zneplatněn uživatelem.	Upozornění	Ano	Žádná
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	Žádná
Analysis Completed Pool Invalidated (Analýza dokončena, fond zneplatněn)	Následné zpracování analýzy	Analýza byla dokončena, když byl fond zneplatněn uživatelem.	Upozornění	Ano	Žádná

## Oznámení opravitelných chyb

Opravitelné chyby jsou chybové stavy, ze kterých se může software [[[Undefined variable Software.Software\_Primary]]] zotavit, pokud uživatel provede doporučenou akci. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučená akce
Missing Instrument Path (Není zadána cesta k nástroji)	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> ID akce 1 na straně 54.</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> ID akce 2 na straně 54.</li> <li>Uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> ID akce 3 na straně 54.</li> </ol>
Sequencing Run Invalid Folder (Neplatná složka běhu sekvenování)	Sekvenování	V názvu složky běhu sekvenování jsou neplatné znaky.	Výstraha	Ano	Složka běhu sekvenování byla nesprávně přejmenována. Přejmenujte běh na platný název.
RTA Complete is not accessible (Soubor RTAComplete není přístupný)	Sekvenování	Software nemůže přečíst soubor RTAComplete ve složce sekvenování.	Varování	Ano	Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.
Missing Sample Type (Není určen typ vzorku)	Předběžná analýza	Software nemůže najít definici typu některého ze vzorků.	Upozornění	Ano	Atribut typu vzorku nebyl pro daný vzorek zadán. Zrušte platnost vzorku, aby mohl software pokračovat.
Missing Sex Chromosome (Není určen pohlavní chromozom)	Předběžná analýza	Software nemůže najít definici pohlavních chromozomů některého ze vzorků.	Upozornění	Ano	Atribut pohlavního chromozomu nebyl pro daný vzorek zadán. Zrušte platnost vzorku, aby mohl software pokračovat.
Missing Sample Type and Sex Chromosome (Není určen typ vzorku a pohlavní chromozom)	Předběžná analýza	Software nemůže najít definici typu vzorku a pohlavního chromozomu některého ze vzorků.	Upozornění	Ano	Atribut typu vzorku a pohlavního chromozomu nebyl pro daný vzorek zadán. Zrušte platnost vzorku, aby mohl software pokračovat.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučená akce
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> ID akce 2 na straně 54. Pokud je málo místa, uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> ID akce 3 na straně 54.</li> <li>Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> ID akce 1 na straně 54.</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 54.</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 54.
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> ID akce 1 na straně 54.</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
Results Already Reported (Výsledky již byly hlášeny)	Systém	Softwarem bylo zjištěno, že pro aktuální typ fondu již byla vytvořena zpráva NIPT.	Aktivita	Ano	Žádná

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučená akce
Unable to deliver email notifications (e-mailová oznámení nelze doručit.)	System	System 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 14</i>.</li> <li>Odešlete zkušební e-mail. Viz pokyny v části <i>Konfigurace e-mailových oznámení systému na straně 14</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	Softwarem byla zjištěna časová odchylka více než 1 minutu mezi časovou značkou poskytnutou rozhraním API a místním časem serveru.	Varování	Ne	<ol style="list-style-type: none"> <li>Zkontrolujte místní čas poskytnutý prostřednictvím rozhraní API.</li> <li>Zkontrolujte místní čas 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	Doporučená akce
Batch Failure (Chyba dávky)	Příprava knihovny	Kontrola kvality dávky se nezdařila.	Upozornění	Ano	Restartujte opláštování knihovny.
Report Generating Failure (Chyba při vytváření výkazu)	Vykazování	Systému se nezdařilo vytvořit výkaz.	Výstraha	Ano	<ul style="list-style-type: none"> <li>Zkontrolujte volné místo na disku. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> ID akce 2 na straně 54. Pokud je málo místa, uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> ID akce 3 na straně 54.</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 opakujte sekvenování fondu.



Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučená akce
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.	Varování	Ano	Pravděpodobně se jedná o nesprávný čárový kód fondu. Opakujte sekvenování fondu.
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 files corrupted (Soubory kontroly kvality sekvenování jsou poškozeny.)	Kontrola kvality sekvenování	Běh sekvenování je dokončen, ale kontrola kvality sekvenování je vadná.	Varování	Ano	Zkontrolujte sekvencer a síťové připojení. Opakujte sekvenování fondu.
Sequencing QC failed (Kontrola kvality sekvenování se nezdařila.)	Kontrola kvality sekvenování	Běh sekvenování je dokončen, ale kontrola kvality sekvenování se nezdařila.	Upozornění	Ano	Opakujte sekvenování fondu.
Analysis Failed for Maximum number of attempts (Analýza se nezdařila z důvodu dosažení maximálního počtu pokusů.)	Analýza	Všechny pokusy o analýzu selhaly. Další pokus nebude.	Varování	Ano	Opakujte sekvenování druhého fondu.
Analysis Post-Processing Failed (Následné zpracování analýzy se nezdařilo)	Následné zpracování analýzy	Softwaru se nepodařilo následně zpracovat výsledky analýzy.	Výstraha	Ano	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Viz <i>Postupy k doporučeným akcím</i> ID akce 1 na straně 54.</li> <li>• Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ul>

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučená akce
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</i> ID akce <b>1</b> na straně 54.</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	Doporučená akce	Postup
1	Zkontrolujte připojení k síti	<p>POZNÁMKA: Zkontrolujte, zda je vzdálené úložiště NAS ve stejné síti jako místní počítač.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Na příkazovém řádku systému Windows (cmd) zadejte následující příkaz: <b>ping &lt;adresa IP serveru&gt;</b>. POZNÁMKA: Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte také připojení k úložišti NAS.</li> <li>Zkontrolujte, zda nedochází ke ztracení paketů. POZNÁMKA: Pokud dochází ke ztracení paketů, kontaktujte správce IT.</li> <li>Vyzkoušejte připojení: <ol style="list-style-type: none"> <li>Přihlaste se k webovému uživatelskému rozhraní Server.</li> <li>V nabídce Dashboard (Ovládací panel) vyberte možnost <b>Folder</b> (Složka).</li> <li>Klikněte na možnost <b>Test</b> (Zkouška) a zkontrolujte úspěšnost provedené zkoušky. V případě neúspěšné zkoušky si přečtěte část <i>Úprava sdílené síťové jednotky</i> na straně 12 a zkontrolujte správnost konfigurace všech nastavení.</li> </ol> </li> </ol>
2	Zkontrolujte volné místo na disku	<p>POZNÁMKA: Zkontrolujte, zda je složka Input (Vstup) na serveru namapována k počítači se systémem Windows. Další informace naleznete v části <i>Mapování serverových jednotek</i> na straně 18.</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>
3	Uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat.	<p>POZNÁMKA: Společnost Illumina doporučuje pravidelné zálohování dat nebo ukládání dat sekvenování na server. Další informace naleznete v části <i>Správa sdílené síťové jednotky</i> na straně 11.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Postup pro data uložená místně na serveru: <p>POZNÁMKA: Zkontrolujte, zda je složka Input (Vstup) na serveru namapována k počítači se systémem Windows. Další informace naleznete v části <i>Mapování serverových jednotek</i> na straně 18.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Dvakrát klikněte na složku Input (Vstup) a zadejte pověření pro přístup do složky.</li> <li>Data běhů sekvenování jsou uvedena s názvy složek odpovídajícími názvům běhů sekvenování.</li> <li>Odstraňte nebo zálohujte zpracované složky dat sekvenování.</li> </ol> </li> <li>Postup pro data uložená ve vzdáleném úložišti NAS: <p>POZNÁMKA: Zkontrolujte, zda je vzdálené úložiště NAS ve stejné síti jako místní počítač.</p> <p>POZNÁMKA: Opatřete si přístup ke složce ve vzdálené jednotce. K získání přístupu budete potřebovat pověření od správce IT.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Data běhů sekvenování jsou uvedena s názvy složek odpovídajícími názvům sekvenčních běhů.</li> <li>Odstraňte nebo zálohujte zpracované složky dat sekvenování.</li> </ol> </li> </ol>

## Problémy se systémem

Problém	Doporučená akce
Software se nespustí.	Pokud se při spouštění Analysis Software zjistí chyby, zobrazí se místo obrazovky Log In (Přihlášení) přehled všech chyb. Kontaktujte technickou podporu společnosti Illumina a nahláste zobrazené chyby.
Je požadováno obnovení databáze.	Pokud je požadováno obnovení databáze ze zálohy, obraťte se na terénního servisního technika společnosti Illumina.
Byla zjištěna změna parametrů systému.	Po zjištění změny parametrů systému přestane Analysis Software zpracovávat komunikaci od ostatních součástí systému. Správce může systém resetovat zpět do normálního provozu poté, co systém přešel do stavu zjišťování změny parametrů.

## Zkoušky zpracování dat

Předinstalované sady dat na Server umožňují operační 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 serveru a také vytváření výkazů a e-mailových oznámení. Doba trvání: Přibližně 3–4 minuty.

#### Postup

- 1 Otevřete připojený vstupní adresář a potom otevřete složku TestingData (Zkušební data).
- 2 Zkopírujte následující složku, kterou naleznete ve složce TestingData (Zkušební data): 150824\_NS500404\_0121\_AHGKH5BGXX\_COPY\_ANALYSIS\_WORKFLOW.
- 3 Přejmenujte kopii ve složce pomocí přípony \_XXX. Přípona \_XXX označuje pořadí sekvenování zkušebního běhu. Pokud se ve složce už nachází například složka s příponou \_002, přejmenujte novou kopii na \_003.
- 4 Počkejte 3–5 minut na dokončení běhu. Zkontrolujte, zda byla přijata následující e-mailová oznámení:
  - a Sequencing Run Analysis Started (Analýza běhu sekvenování byla zahájena)
  - b K běhu sekvenování byl vytvořen výkaz NIPT.



#### POZNÁMKA

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

- 5 Ve výstupní složce otevřete složku SampleTestRun (Zkušební běh na vzorku) a zkontrolujte následující výkaz: SampleTestRun\_C\_SampleTestRun\_PoolA\_HGKH5BGXX\_nipt\_report\_YYYYMMDD\_HHMMSS.tab.  
Očekávaná velikost souboru je přibližně 5,9 kB.
- 6 Přesuňte zkušební běh sekvenování zpět do složky TestingData (Zkušební data). Tento postup usnadňuje řízení počtu provedených zkoušek sekvenování.

### Data ze zkoušky úplného běhu analýzy

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

#### Postup

- 1 Otevřete připojený vstupní adresář a otevřete složku TestingData (Zkušební data).
- 2 Přejmenujte následující složku přidáním přípony \_000: 150528\_NB500886\_0002\_AH7MHHBGXX\_FullTRun.  
Tato přípona způsobí vytvoření jedinečného názvu pro každý 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 K běhu sekvenování byl vytvořen výkaz NIPT.
- 5 Ve výstupní složce otevřete složku SampleTestRun (Zkušební běh na vzorku) a zkontrolujte následující výkaz: SampleTestRun2\_C\_SampleTestRun2\_PoolA\_H7MHHBGXX\_nipt\_report\_20151105\_162434.tab.  
Očekávaná velikost souboru je přibližně 7,1 kB.
- 6 Přesuňte zkušební běh sekvenování zpět do složky TestingData (Zkušební data).



#### **POZNÁMKA**

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

# 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 sekvenovacích nástrojů
FF	Fetální frakce
FIFO	V pořadí, ve kterém dorazí
iFACT	Individualizovaná zkouška iFACT
IP	Internetový protokol
LIMS	Laboratorní systém správy informací
LIS	Laboratorní informační systém
LLR	Věrohodnostní poměry
MAC	Kontrola přístupu k médiu
NAS	Síťové úložiště
NES	Nevyloučené stránky
NGS	Třídění nové generace
NIPT	Neinvazivní prenatalní zkouška
NTC	Žádná kontrola šablony
NTP	Protokol pro synchronizaci vnitřních hodin počítačů
PF	Procházející filtrem
PQ	Kvalifikace procesu
QC	Kontrola kvality
RTA	Analýza v reálném čase
RUO	Pouze pro účely výzkumu
SCA	Aneuploidie pohlavního chromozomu
SDS	Bezpečnostní listy
SHA1	Bezpečný hašovací algoritmus 1
SSL	Zabezpečený komunikační protokol

# Technická pomoc

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

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

Telefonní čísla na zákaznickou podporu společnosti Illumina

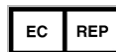
Oblast	Bezplatná linka	Regionální linka
Severní Amerika	+1 800 809 4566	
Austrálie	+1 800 775 688	
Belgie	+32 800 771 60	+32 340 029 73
Čína	400 066 5835	
Dánsko	+45 808 201 83	+45 898 711 56
Finsko	+358 800 918 363	+358 974 790 110
Francie	+33 805 102 193	+33 170 770 446
Hongkong	800960230	
Irsko	+353 180 093 6608	+353 016 950 506
Itálie	+39 800 985 513	+39 236 003 759
Japonsko	0800.111.5011	
Německo	+49 800 101 4940	+49 893 803 5677
Nizozemsko	+31 800 022 2493	+31 207 132 960
Norsko	+47 800 168 36	+47 219 396 93
Nový Zéland	0800.451.650	
Rakousko	+43 800 006 249	+43 192 865 40
Singapur	+1 800 579 2745	
Španělsko	+34 911 899 417	+34 800 300 143
Spojené království	+44 800 012 6019	+44 207 305 7197
Švédsko	+46 850 619 671	+46 200 883 979
Švýcarsko	+41 565 800 000	+41 800 200 442
Tchaj-wan	00806651752	
Ostatní země	+44.1799.534000	

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

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



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, Kalifornie 92122 U.S.A.  
+1 800 809 ILMN (4566)  
+1 858 202 4566 (mimo Severní Ameriku)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.  
Steenoven 19  
5626 DK Eindhoven  
The Netherlands



**Australian Sponsor** Illumina  
Australia Pty Ltd Nursing  
Association Building  
Level 3, 535 Elizabeth Street  
Melbourne, VIC 3000  
Australia

**URČENO K DIAGNOSTICE IN VITRO**

© 2021 Illumina, Inc. Všechna práva vyhrazena.

**illumina**<sup>®</sup>