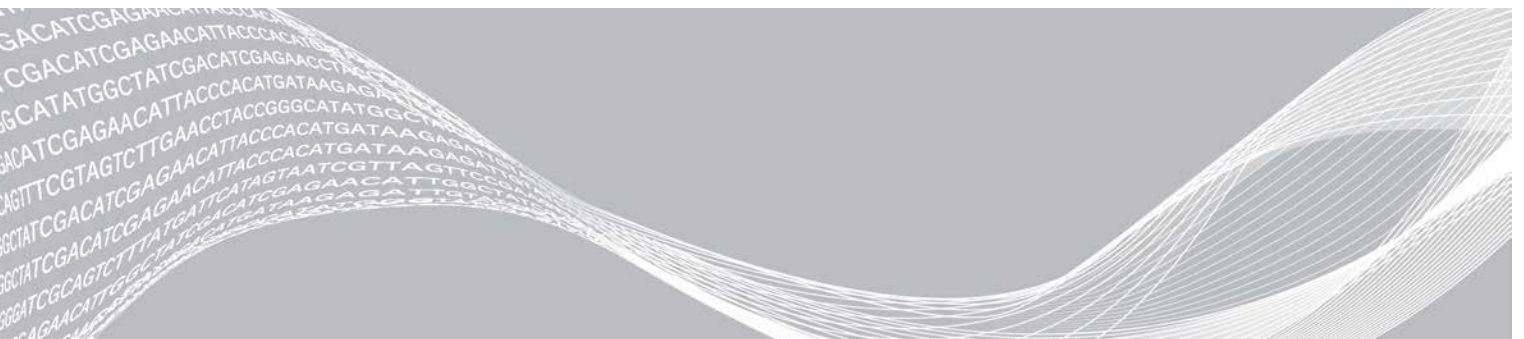


VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples)

Användarhandbok



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

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

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

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

© 2021 Illumina, Inc. Med ensamrätt.

Alla varumärken tillhör Illumina, Inc. eller respektive ägare. Specifik varumärkesinformation finns på www.illumina.com/company/legal.html.

Revisionshistorik

Dokument	Datum	Ändringsbeskrivning
Dokumentnr 1000000026777 v04	Augusti 2021	Adressen till den auktoriserade europeiska representanten har uppdaterats.
Dokumentnr 1000000026777 v03	April 2020	Adressen till den auktoriserade europeiska representanten har uppdaterats.
Dokumentnr 1000000026777 v02	Juli 2018	Begränsningar och Bilaga B: Jämförelsestudie av metoder har lagts till.
Dokumentnr 1000000026777 v01	Mars 2017	Korrigerade rapportnamn i den första meningen i avsnittet Biblioteksprovrapport, korrigerat dokumentnummer i sidfot.
Dokumentnr 1000000026777 v00	Januari 2017	Första version

Innehållsförteckning

Kapitel 1 Inledning	1
Översikt	1
Avsedd användning	2
Begränsningar	2
Kapitel 2 VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples)	3
Analysis Software	3
Webbgränssnitt	6
Analys och rapportering	14
VeriSeq NIPT Analysis Server (48 Samples)	16
Kapitel 3 Systemrapporter	20
Inledning	20
Översikt av systemrapporter	22
Rapportgenereringshändelser	23
Resultat- och meddelanderapporter	24
Processrapporter	27
Bilaga A QC-mått	36
Mått och gränsvärden för QC av sekvensering	37
Analytiska QC-mått och gränsvärden	37
Bilaga B Metod för jämförelse av data	39
Metod för jämförelse av data	39
Bilaga C Ansluta en kompatibel Next Generation Sequencer	43
Inledning	43
Sekvensuppsättning	43
Datalagring	43
Kapacitet	44
Begränsningar för nätverkstrafik	44
Bilaga D Felsökning	45
Inledning	45
Meddelanden för VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples)	45
Systemproblem	53
Databearbetningstest	55
Bilaga A Akronym	57
Teknisk hjälp	58

Inledning

Översikt	1
Avsedd användning	2
Begränsningar	2

Översikt

VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) är förinstallerat på VeriSeq NIPT Analysis Server (48 Samples), Illumina artikelnummer 20016240. Servern och det förinstallerade programmet möjliggör analys av kompatibel NGS-data som genererats från sekvensering av cfDNA-bibliotek för identifiering av fosteraneuploidi baserad på förekomsten av kromosomer. VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) använder ett API (Application Programming Interface) för att ta emot och spara prepareringsinformation för batcher, uppsättningar och prover. När programmet har installerats och konfigurerats körs det i bakgrunden och kräver mycket få eller inga åtgärder från användaren.

Analysis Software genererar statistik för bedömning av antalet kromosomkopior i de analyserade proverna. Ett instrument för nästa generations sekvensering genererar indata från analyser i form av 36 paired-end-basavläsningar. Analysis Software matchar avläsningarna med det mänskliga genomet som finns som referens och analyserar de avläsningar som matchar en unik plats eller ett unikt läge i genomet. Analysis Software utesluter dubletter och lägen som är förknippade med stor variation i täckning över euploida prover. Sekvensdata normaliseras för nukleotidinhåll och för att korrigera för batcheffekter och andra källor till oönskade variationer. Information från cfDNA-fragmentets längd härleds från paired-end-sekvensavläsningarna. Analysis Software uppskattar även statistik för sekvenstäckning för områden som är kända för att vara anrikade för antingen cfDNA från modern eller fostret. Data som genereras från fragmentlängd och täckningsanalyser används för att uppskatta fosterfraktion för alla prover. Sannolikhetsförhållanden (Log Likelihood Ratios – LLR) beräknas för alla testkromosomer i varje prov genom att jämföra:

- ▶ sannolikheten för att ett prov ska påverkas med hänsyn till normaliserade sekvensdata för ett område
- ▶ uppskattad fosterfraktion med sannolikheten för att ett prov förblir opåverkat med samma information.

När de metoder som beskrivs används:

- ▶ rapporteras LLR-värden för kromosomerna 13, 18 och 21
- ▶ rapporteras normaliserade kromosomvärden (NCV) för kromosomerna X och Y
- ▶ rapporteras specialiserade LLR-värden vid under- och överrepresentation av kromosom X.

VeriSeq NIPT Assay Software använder det individuella fosteraneuploiditetstet (Fetal Aneuploidy Confidence Test – iFACT). Det ger ett dynamiskt tröskelvärde som anger om systemet har genererat tillräckligt med sekvenstäckning med hänsyn till den uppskattade fosterfraktionen för varje prov. Systemet tillhandahåller endast analysresultat om ett prov möter iFACT-tröskelvärdet. Om ett prov inte uppnår tröskelvärdet visar QC-bedömningen meddelandet FAILED iFACT och systemet genererar inget resultat. iFACT-bedömningen tillämpas på alla prover. Utöver iFACT bedömer VeriSeq NIPT Assay Software flera andra QC-mått under analysen. QC-bedömningen visar antingen en QC-varning eller ett QC-fel för mätvärden utanför det godtagbara intervallet. I händelse av QC-fel genererar systemet inget provresultat.

Analysis Software genererar inte direkta aneuploidiresultat, utan tillhandahåller istället de LLR- och NCV-värden som beskrivs ovan. Tröskelvärdet för att benämna ett prov som opåverkat eller påverkat utifrån de här värdena bestäms av användarnas egna kliniska valideringsstudie.

Avsedd användning

VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) genererar kvantitativa värden som kan användas vid identifiering och differentiering av fosteraneuploidistatus för kromosom 21, 18, 13, X och Y genom analys av sekvensdata som genererats från cellfria DNA-fragment (cfDNA). Fragmenten har isolerats från blodprover från gravida kvinnor som har varit gravida i minst 10 veckor.

De kvantitativa värdena är sannolikhetspoäng med under- eller överrepresentation av en målkromosom i förhållande till en förväntning för en diploid genom.

Begränsningar

- ▶ VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) är utformad för att användas som en del av ett screeningtest och bör inte betraktas isolerat från andra kliniska fynd och testresultat. Användardefinierade brytvärden som tillämpas på programvarans utdata bör ta hänsyn till de relativa fördelarna som ökad känslighet ger på bekostnad av specificitet, och vice versa. Det finns inget brytvärde som samtidigt kan uppnå 100 % känslighet och 100 % specificitet. I sällsynta fall kan prover med ett relativt lågt FF-värde för det sekvenseringsdjup de bearbetas vid ha utdatavärden som ligger nära tröskelvärdet och kanske lägre noggrannhet.
- ▶ VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) genererar utdata som kan användas för rapportering av följande:
 - ▶ överrepresentation av kromosomerna 21, 18 och 13
 - ▶ följande aneuploidier av könskromosomer: XO, XXX, XXY och XYY
- ▶ VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) är inte avsedd att användas vid rapportering av polyploidi.
- ▶ De algoritmer som används i VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) kan påverkas av vissa maternella och fetala faktorer, som inkluderar men inte är begränsade till följande:
 - ▶ Ny maternell blodtransfusion
 - ▶ Maternell organtransplantation
 - ▶ Maternellt kirurgiskt ingrepp
 - ▶ Maternell immunoterapi eller stamcellsterapi
 - ▶ Maternell malign sjukdom
 - ▶ Maternell mosaicism
 - ▶ Mosaicism begränsad till placentan
 - ▶ Fosterdöd
 - ▶ Fosterresorption
 - ▶ Fetal partiell trisomi eller partiell monosomi
 - ▶ Fetal mosaicism

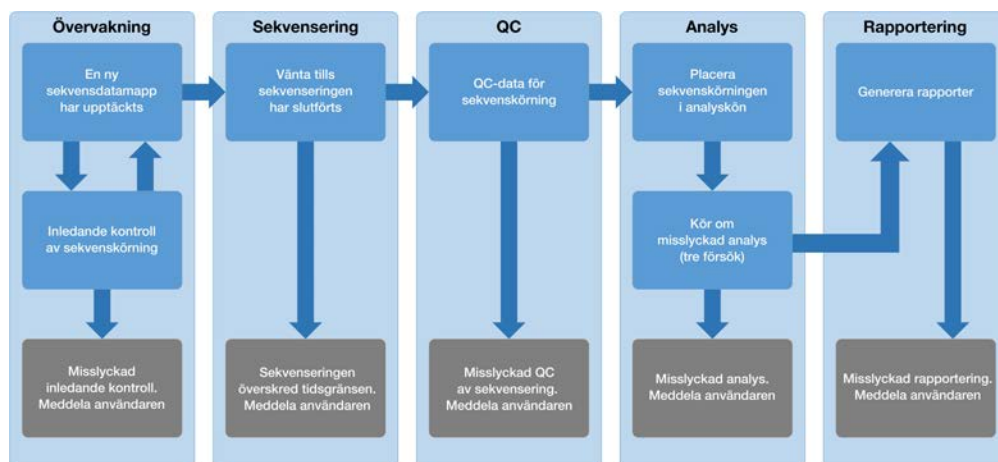
VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples)

Analysis Software	3
Webbgränssnitt	6
Analys och rapportering	14
VeriSeq NIPT Analysis Server (48 Samples)	16

Analysis Software

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

Bild 1 Dataflödesdiagram



Monitoring (Övervakning) – Utför en inledande kontroll av den nya sekvenskörningens giltighet. Följande giltighetskontroller utförs när programmet upptäcker en ny sekvenskörning:

- 1 Kontrollerar att körningsparametrarna är kompatibla med de förväntade värdena.
- 2 Kopplar uppsättningsstreckkoden som sekvenseras till uppsättningsinformation som kodats om under provprepareringsprocessen med programmets API.
- 3 Bekräftar att uppsättningen inte har bearbetats tidigare (systemet tillåter inte omkörningar).

- 1 **Sequencing (Sekvensering)** – Kontrollerar fortlöpande om sekvenskörningen har slutförts. En timer som definierar en tidsgräns för slutförande av körningen ställs in. Om tidsgränsen uppnås meddelas användaren via systemet för e-postavisering i webbgränssnittet.
- 2 **QC (Kvalitetskontroll)** – Granskar InterOp QC-filerna som genereras av sekvenseraren. Analysis Software kontrollerar det totala klusterantalet, klustertätheten och avläsningens kvalitetsresultat. Om QC-kriterierna inte uppfylls meddelas användaren via systemet för e-postavisering i webbgränssnittet.
- 3 **Analysis (Analys)** – Hanterar analyskön för flera sekvenskörningar som genereras av olika instrument som konfigurerats med servern. Servern bearbetar ett analysjobb åt gången i enlighet med principen först in först ut (FIFU). När analysen har slutförts startar nästa schemalagda analys i kön. Om en analyskörning misslyckas eller om tidsgränsen överskrids startar Analysis Software automatiskt om analysen upp till tre gånger. Efter varje misslyckad körning meddelas användaren via systemet för e-postavisering i webbgränssnittet.

- 4 **Reporting** (Rapportering) – Genererar rapporten som innehåller de slutgiltiga resultaten efter att analysen har slutförts. Om ett fel uppstår och rapporten inte genereras meddelas användaren via systemet för e-postavisering i webbgränssnittet.

Analysis Software-aktiviteter

Analysis Software utför både automatiska och användarinitierade aktiviteter.

Automatiserade aktiviteter

Analysis Software genomför följande automatiserade aktiviteter:

- ▶ **Sample preparation log collation and storage** (Sammanställning och lagring av provberedningslogg) – Skapar en uppsättning utdatafiler vid slutet av varje steg och lagrar dem i mappen Processlogg i mappen Utdata. Om du vill veta mer ger avsnittet *Filstruktur för rapporter på sidan 20* en översikt och avsnittet *Processrapporter på sidan 27* mer detaljerad information.
- ▶ **Alert, email, and report notification generation** (Generering av aviseringar, e-post och rapporter) – Övervakar giltighetsstatus för batchen, uppsättningen och provet under provberedningsstegen samt QC av sekvensdata och analysresultat för varje prov. Analysis Software använder verifieringskontrollerna för att avgöra om processen ska fortsätta och om resultaten ska rapporteras. Analysis Software avslutar processen när ett prov eller en uppsättning ogiltigförklaras på grund av QC-resultat. Ett e-postmeddelande skickas till användaren, en rapport genereras och en avisering loggas i webbgränssnittet.
- ▶ **Sequence data analysis** (Sekvensdataanalys) – Analyserar råsekvensdata för varje prov som multiplexeras i uppsättningen med den integrerade pipelinealgoritmen. Analysis Software fastställer LLR-värdet för alla målkromosomer i ett prov. Systemet rapporterar inte resultat från prover som användaren ogiltigförklarar eller avbryter. Om ett prov inte uppfyller QC-kriterierna ges en tydlig förklaring, men det misslyckade provets resultat ignoreras. Mer information finns i avsnittet *NIPT-rapport på sidan 24*.
- ▶ **Results file generation** (Generering av resultatfil) – Visar provresultat i ett filformat med tabbavgränsade värden som kan sparas i mappen Utdata. Mer information finns i avsnittet *Filstruktur för rapporter på sidan 20*.
- ▶ **Report generation** (Rapportgenerering) – Analysis Software genererar resultat, meddelanden och rapporter. Mer information finns *på sidan 20*.
- ▶ **Sample, pool, and batch invalidation** (Ogiltiga prov, uppsättningar och batcher) –
 - ▶ **Sample invalidation** (Ogiltigt prov) – Analysis Software markerar enskilda prover som ogiltiga när användaren:
 - ▶ Uttryckligen ogiltigförklarar provet.
 - ▶ Ogiltigförklarar hela plattan under förberedelse av bibliotek innan uppsättningarna skapas. När ett prov markeras som ogiltigt genereras det automatiskt en rapport om ogiltigt prov. Mer information finns i avsnittet *Rapport om ogiltigt prov på sidan 26*.
 - ▶ **Pool and batch invalidation report generation** (Generering av rapport om ogiltig uppsättning/batch) – Uppsättningar och batcher kan endast ogiltigförklaras av användaren. Ogiltiga uppsättningar bearbetas inte av systemet. Uppsättningar som skapats i en ogiltig batch ogiltigförklaras inte automatiskt och kan bearbetas ytterligare av systemet. Däremot kan inte nya uppsättningar skapas i en ogiltig batch. När en uppsättning ogiltigförklaras skapar systemet en rapport om begäran av omanalys av uppsättning under följande villkor:
 - ▶ Batchen är giltig.
 - ▶ Batchen har inga fler tillgängliga uppsättningar.

- ▶ Antalet tillåtna uppsättningar i batchen har inte utnyttjats till fullo.

Mer information finns i [Rapport om begäran av omanalys av uppsättning](#) på sidan 27.

- ▶ **Retest management** (Hantering av omanalys) –
 - ▶ **Pool failures** (Misslyckad uppsättning) – Misslyckade uppsättningar är vanligtvis uppsättningar som inte klarade QC-måtten för sekvensering. Analysis Software fortsätter inte att bearbeta misslyckade uppsättningar om körningen avslutas. Utför omsekvensering med en andra alikvot.
 - ▶ **Sample failures** (Provfel) – Programmet tillåter att misslyckade prov testas igen vid behov. Misslyckade prov måste integreras i en ny batch och ombearbetas genom analyssteg.
 - ▶ **Reruns** (Omkörningar) – Systemet omanalyserar inte uppsättningar med prov som tidigare har bearbetats och rapporterats framgångsrikt. Omkörning av ett prov kan utföras genom att köra provet i en ny batch.

Användaråtgärder

Med VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) kan användaren utföra följande åtgärder:

Via programmets API kan följande kommandon utfärdas till Analysis Software:

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

Använda Analysis Software:

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



OBS!

Användare kan utföra vissa åtgärder beroende på behörighet. Mer information finns i avsnittet [Tilldela användarroller](#) på sidan 10.

Sequencing Handler

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

Efter att valideringen har slutförts fortsätter Analysis Software att övervaka att sekvenskörningarna slutförs. Slutförda sekvenskörningar placeras i kö för att bearbetas av Analytic Pipeline Handler (mer information finns under [Analytic Pipeline Handler](#) på sidan 6).

Sekvenskörningskompatibilitet

Analysis Software analyserar endast sekvenskörningar som är kompatibla med det cfDNA-analytiska arbetsflödet.

Använd endast kompatibla sekvensmetoder för att generera basanrop.

**OBS!**

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

Konfigurera sekvenser med hjälp av kompatibla avläsningsparametrar.

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

Analytic Pipeline Handler

Analytic Pipeline Handler startar analyspipelinen för att generera LLR-värdet för kromosomal aneuploidi. Pipelinen bearbetar en sekvenskörning åt gången med en genomsnittlig löptid på mindre än fem timmar per uppsättning. Om analysen misslyckas med att bearbeta uppsättningen, eller om analysen inte slutförs på grund av strömavbrott eller för att den överskridit tidsgränsen, ställer Analytic Pipeline Handler automatiskt körningen i kön på nytt. Om bearbetningen av uppsättningen misslyckas tre gånger i rad markeras körningen som misslyckad och användaren meddelas.

Vid en slutförd körning genereras en NIPT-rapport. Mer information finns i avsnittet *NIPT-rapport* på sidan 24.

Tidsgräns och lagringskrav för arbetsflöde

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

Parameter	Standardvärde
Maximal väntetid för körningsparametrar	4 timmar
Maximal sekvenstid	20 timmar
Maximal analysstid	10 timmar
Minsta temporärt minne	2 TB

E-postmeddelare

Analysis Software skickar meddelanden med statusinformation och aviseringar under analysförloppet. E-postmeddelanden med ACTION REQUIRED (ÅTGÄRD KRÄVS) i ämnesraden ger detaljer om hur problemet ska lösas. Mer information finns i *Resultat- och meddelanderapporter* på sidan 24.

Meddelaren skickar e-postmeddelanden till mottagarlistan, som hanteras via webbgränssnittet. Mer information finns under *Webbgränssnitt* på sidan 6.


Webbgränssnitt

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

- ▶ **View recent activities** (Visa senaste aktiviteter) – Identifierar stegen som slutförts vid analysen. Användaren får aviseringar om många av de här aktiviteterna via e-post. Mer information finns under *Meddelanden för VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples)* på sidan 45.
- ▶ **View errors and alerts** (Visa fel och aviseringar) – Identifierar problem som kan förhindra analysen att fortsätta. Felmeddelanden och aviseringar skickas till användaren via systemet för e-postavisering. Mer information under *Meddelanden för VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples)* på sidan 45.

- ▶ **Configure the server network settings** (Konfigurera nätverksinställningarna för servern) – Illumina-personal konfigurerar vanligtvis nätverket vid systeminstallationen. Ändringar kan komma att behövas om det lokala nätverket kräver IT-ändringar. Mer information finns i avsnittet *Ändra nätverks- och serverinställningar på sidan 12*.
- ▶ **Manage server access** (Hantera serveråtkomst) – Analysis Server har administratörs- och användaråtkomstnivå. De här åtkomstnivåerna styr hur aktivitet, avisering, felloggar och ändringar av nätverks- och datamappingsinställningar visas. Mer information finns i avsnittet *Hantera användare på sidan 9*.
- ▶ **Configure sequencing data folder** (Konfigurera sekvensdatamapp) – Som standard sparar servern sekvensdata. Det går dock att lägga till en central NAS för att öka lagringskapaciteten. Mer information finns i avsnittet *Mappa serverenheter på sidan 17*.
- ▶ **Configure email notification subscribers list** (Konfigurera mottagarlista för e-postmeddelande) – Hanterar mottagarlistan för e-postmeddelanden med felmeddelanden och analysprocessfel. Mer information finns i avsnittet *Konfigurera systemets e-postmeddelanden på sidan 14*.
- ▶ **Reboot or shutdown the server** (Starta om eller stäng av servern) – Startar om servern vid behov. En omstart eller avstängning kan behövas för att konfigurationen av en inställning ska börja gälla eller åtgärda ett serverfel. Mer information finns i avsnittet *Starta om servern på sidan 18*.

Konfigurera webbgränssnittet

Tryck på ikonen Inställningar  för att visa en rullgardinslista med konfigurationsinställningar. Vilka inställningar som visas beror på användarroll och behörighet. Mer information finns i avsnittet *Tilldela användarroller på sidan 10*.



OBS!

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

Inställning	Beskrivning
Användarhantering	Lägga till, aktivera/inaktivera och redigera användares inloggningsuppgifter. Endast för servicetekniker och administratörer.
E-postkonfiguration	Redigera mottagarlistor för e-postmeddelanden.
Ändra lösenord för delad mapp	Ändra användarlösenord för åtkomst till NAS:en.
Starta om server	Endast för servicetekniker eller administratörer.
Stäng av server	Endast för servicetekniker eller administratörer.

Logga in i webbgränssnittet

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

- 1 Öppna en av följande webbläsare på en dator som är ansluten till samma nätverk som Analysis Server:
 - ▶ Chrome v33 eller senare
 - ▶ Firefox v27 eller senare
 - ▶ Internet Explorer v11 eller senare
- 2 Ange serverns IP-adress eller servernamnet som tillhandahölls av Illumina vid installation, som motsvarar `\\<VeriSeq NIPT Analysis Server (48 Samples) IP-adress>\login`.
Till exempel `\\10.10.10\login`.

- Lägg till ett säkerhetsundantag om en säkerhetsvarning visas i webbläsaren för att gå vidare till inloggningskärmen.
- Ange det skiftlägeskänsliga användarnamn och lösenord som tillhandahölls av Illumina på inloggningskärmen och klicka på **Log In** (Logga in).

**OBS!**

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

Använda instrumentpanelen

Instrumentpanelen i VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) visas efter inloggning och är programmets huvudfönster. Klicka på menyalternativet **Dashboard** (Instrumentpanel) för att när som helst återvända till instrumentpanelen.

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

Bild 2 Instrumentpanelen i 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

Visa senaste aktiviteter

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

Namn	Beskrivning
When (När)	Aktivitetsdatum och tid
User (Användare)	Om tillämpbart ska användaren som utförde aktiviteten identifieras
Subsystem (Undersystem)	Plats eller process som utförde aktiviteten, som till exempel användare, analys eller konfiguration

Namn	Beskrivning
Details (Information)	Aktivitetsbeskrivning
Level (Nivå)	Den nivå som tilldelats aktiviteten från följande alternativ: <ul style="list-style-type: none"> • Activity (Aktivitet) – Indikerar en aktivitet i servern som en systemomstart eller inloggning/utloggning av en användare. • Notice (Avisering) – Indikerar ett steg som inte utfördes. Till exempel ett ogiltigt prov eller QC-fel. • Warning (Varning) – Indikerar att ett fel inträffade vid normalt utförande och normal maskinvarufunktion. Till exempel okända körningsparametrar eller misslyckade analyser.

Visa senaste fel

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

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

Visa systemstatus och aviseringar

Om du vill visa en översikt av serverstatus från instrumentpanelen klickar du på fliken **Server Status** (Serverstatus).

- ▶ **Date** (Datum) – Aktuellt datum och aktuell tid.
- ▶ **Time zone** (Tidszon) – Den tidszon som är konfigurerad för servern, används till e-post, aviseringar samt datum och tid för rapporter.
- ▶ **Hostname** (Värddamn) – Systemnamnet består av nätverkets värddamn och DNS-domännamnet.
- ▶ **Disk space usage** (Upptaget diskutrymme) – Det utrymme som används för att lagra data (i procent).
- ▶ **Software** (Program) – Reglerad programkonfiguration (t.ex. CE-IVD)
- ▶ **Version** – VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples)

Hantera användare



OBS!

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

Tilldela användarroller

Användarroller definierar användarbehörighet och rättigheter att utföra vissa uppgifter.

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

Lägga till användare

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

Så här lägger du till en användare:

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



OBS!

Alla fält är obligatoriska.

- 2 Ange användarnamnet.



OBS!

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

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

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



OBS!

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

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

Redigera användare

Gör så här för att redigera användarinformation:

- 1 Välj önskat användarnamn på skärmen User Management (Användarhantering).
- 2 Redigera användarinformationen efter behov och klicka sedan på **Save** (Spara).

- 3 Klicka på **Save** (Spara) igen när dialogrutan visas för att bekräfta ändringarna.
Den nya användarinformationen visas nu på skärmen User Management (Användarhantering).

Inaktivera användare

Gör så här för att inaktivera en användare:

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

Hantera en delad nätverksenhet



OBS!

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

Lägga till en delad nätverksenhet

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

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



OBS!

En delad nätverksenhet har endast stöd för en sekvensdatamapp.

Redigera en delad nätverksenhet

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

Ta bort en delad nätverksenhet

- 1 Tryck på **Folders** (Mappar) på instrumentpanelen.
- 2 Klicka på den sökväg som ska redigeras.
- 3 Klicka på **Delete** (Ta bort) för att ta bort den externa sekvensmappen.

Konfigurera nätverks- och certifikatinställningar

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



OBS!

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

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

Ändra inställningar för certifikat

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

- 1 Använd fliken Certificate Configuration (Certifikatkonfiguration) för att lägga till eller ändra inställningar för SSL -certifikat.
 - ▶ **Laboratory Email** (Laboratoriets e-post) – Laboratoriets e-postadress (kräver ett giltigt e-postadressformat).
 - ▶ **Organization Unit** (Organisationsenhet) – Avdelning.
 - ▶ **Organization** (Organisation) – Laboratoriets namn.
 - ▶ **Location** (Adress) – Laboratoriets gatuadress.
 - ▶ **State** (Postnummer och postort) – Den stad som laboratoriet ligger i (fylls i automatiskt baserat på e-postadress).
 - ▶ **Country** (Land) – Det land som laboratoriet ligger i (fylls i automatiskt baserat på e-postadress).
 - ▶ **Certificate Thumbprint (SHA1)** (Tumavtryck för certifikat (SHA1)) – Certifikatets identifieringsnummer.



OBS!

Tumavtryck för certifikat (SHA1) visas efter att ett certifikat har skapats eller återskapats. Mer information finns i avsnittet [Återskapa ett certifikat på sidan 13](#).

- 2 Klicka på **Save** (Spara) för att verkställa de ändringar som gjorts.



OBS!

SHA1 säkerställer att användare inte får certifikatsvarningar när de använder VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples).

Ändra nätverks- och serverinställningar



OBS!

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

- 1 Använd fliken Network Configuration (Nätverkskonfiguration) för att konfigurera eller ändra inställningarna för nätverket och Analysis Server.

- ▶ **Static IP Address** (Statisk IP-adress) – IP-adressen till Analysis Server.
 - ▶ **Subnet Mask** (Nätmask) – Nätmask för lokalt nätverk.
 - ▶ **Default Gateway Address** (Standardgatewayadress) – Standard-IP-adress för router.
 - ▶ **Hostname** (Värnamn) – Ett namn som hänvisar till Analysis Server på nätverket (definieras som localhost som standard).
 - ▶ **DNS Suffix** (DNS-suffix) – Angivet DNS-suffix.
 - ▶ **Nameserver 1 and 2** (Namnserver 1 och 2) – IP-adress eller DNS-servernamn för NTP-servrar med tidssynkronisering.
 - ▶ **NTP Time Server 1 and 2** (NTP-tidsserver 1 och 2) – Servrar med NTP-tidssynkronisering.
 - ▶ **MAC Address** (MAC-adress) – MAC-adress för servernätverk (skrivskyddad).
 - ▶ **Timezone** (Tidszon) – Serverns lokala tidszon.
2. Kontrollera att uppgifterna är korrekta och klicka på **Save** (Spara) för att starta om servern och verkställa de ändringar som gjorts.



WARNING!

Felaktiga inställningar kan störa förbindelsen med servern.

Hämta och installera ett certifikat

Gör så här för att installera ett SSL-certifikat:

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

Återskapa ett certifikat



OBS!

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

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

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

Konfigurera systemets e-postmeddelanden

VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) kommunicerar med användaren genom att skicka e-postmeddelanden med information om analysens förlopp samt aviseringar om fel eller användaråtgärder som krävs. Mer information om de olika typerna av e-postmeddelanden som systemet skickar finns i *Meddelanden för VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples)* på sidan 45.



OBS!

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

Analys och rapportering

När sekvensdata har samlats in demultiplexeras de, konverteras till ett FASTQ-format, matchas med ett referensgenom och analyseras för detektering av aneuploidi. Olika mått, som beskrivs nedan, fastställs för att kvalificera det slutgiltiga svaret för varje givet prov. Mer information om analysrapporter finns i kapitel 3.

Demultiplexering och FASTQ-generering

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

Följande tabell ger mer information om provarkens data.



OBS!

Vi rekommenderar starkt att användare INTE redigerar eller ändrar det här provarket då det genereras av systemet och kan ge negativa effekter i senare led, bland annat analysfel.

Kolumnnamn	Beskrivning
SampleID	Prov-ID
SampleName	Provnamn, är som standard samma som prov-ID
Sample_Plate	Platt-ID för ett givet prov, är som standard tomt
Sample_Well	Brunn-ID på plattan för ett givet prov
I7_Index_ID	ID för den första indexadaptorn
index	Nukleotidsekvens för den första adaptorn
I5_Index_ID	ID för den andra adaptorn
index2	Nukleotidsekvens för den andra adaptorn
Sample_Project	Projekt-ID för ett givet prov, är som standard tomt
SexChromosomes	Analys av könskromosomer. En av följande: <ul style="list-style-type: none"> • yes (ja) – Aneuploidi av könskromosom och könsrapportering har begärts. • no (nej) – Varken aneuploidi av könskromosom och könsrapportering har begärts. • sca (sca) – Aneuploidi av könskromosom har begärts, könsrapportering har inte begärts.

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

QC av sekvensering

QC-mått för sekvensering identifierar flödesceller som med stor sannolikhet inte kommer att klara analys. Mått för klustertäthet, procentavläsningar av passerfilter (PF), för-fasning och fasning beskriver sekvensdatans övergripande kvalitet och används av många NGS-program. Det förutsagda måttet för matchade avläsningar uppskattar flödescellsnivån för sekvensdjupet. Om data av låg kvalitet inte uppfyller det förutsagda måttet för matchade avläsningar avslutas bearbetningen av körningen. Mer information finns i avsnittet *Mått och gränsvärden för QC av sekvensering på sidan 37*.

Uppskattning av fosterfraktion

Fosterfraktion syftar på procentandelen cellfritt, cirkulerande DNA i moderblodprover som härleds från placentan. Analysis Software beräknar den uppskattade fosterfraktionen med ett förbestämt viktat medelvärde av två värden – ett baserat på storleksfördelningen av cfDNA-fragment och ett baserat på skillnader i genomtäckning mellan cfDNA från moder och foster.¹

Statistiska utdata

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

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

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

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

QC-analys

Analytiska QC-mått är mått som beräknas under analys och används för att upptäcka prover som avviker för mycket från förväntat beteende. Data för prover som faller utanför de här måtten bedöms vara opålitliga och markeras som misslyckade. Du hittar analytiska QC-mått och de associerade gränsvärdena eller godtagbara intervallen i avsnittet *Analytiska QC-mått och gränsvärden på sidan 37*. Följande tabell beskriver måtten.

Kategori	Mått	Beskrivning
QC-räkning	Kluster	Anger låg (mer sannolik) eller hög (högst osannolik) klustertäthet.
QC-räkning	NonExcludedSites (aligned_reads)	Anger minsta sekvensdjup som krävs för total detektering av aneuploidi.
Sannolikhetspoäng för kromosom-namnare	NCD_Y	Anger täckningens enhetlighet för sekvenseringen av hela genom i förhållande till förväntat beteende. Prover som faller utanför det här QC-måttet kan antingen ha starka genomiska abnormiteter (utanför området som är av intresse för detektering av aneuploidi) eller så är biblioteken för de här proverna inte partiska.
Storleksfördelning av fragment	FragSizeDist (frag_size_dist)	Anger storleksfördelningen av cfDNA-fragment i förhållande till förväntat beteende. Till exempel har klippt genomiskt DNA en annan fördelning av fragmentstorlek än cfDNA och kommer därför att falla utanför det här måttet.
Täckning i förhållande till fosterfraktion	NES_FF_QC	Anger tillräckligt sekvensdjup med hänsyn till uppskattad fosterfraktion för varje givet prov. Höga LLR-värden i prov med hög fosterfraktion vid en specifik nivå av konfidens kan uppnås vid ett lägre sekvensdjup än i prover med lägre fosterfraktion.
Täckning i förhållande till fosterfraktion	iFACT	Anger om tillräckligt sekvensdjup har iakttagits, med hänsyn till uppskattad fosterfraktion för varje givet prov. Höga LLR-värden i prov med hög fosterfraktion vid en specifik nivå av konfidens kan uppnås vid ett lägre sekvensdjup än i prover med lägre fosterfraktion.

VeriSeq NIPT Analysis Server (48 Samples)

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

Arkivera data

Illumina rekommenderar arkivering av katalogerna /data01/runs och /data01/analysis_output i enlighet med den lokala arkiveringspolicyn. Analysis Software övervakar återstående diskutrymme i katalogen data01/runs och meddelar användare per e-post när den återstående lagringskapaciteten understiger 1 TB.

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

En typisk sekvenskörning som är kompatibel med cfDNA-analysens arbetsflöde kräver cirka 25–30 GB för NGS-körningar. Körningsmappens faktiska storlek beror på slutlig klustertäthet. Servern har mer än 7,5 TB lagringsutrymme, vilket är tillräckligt för mer än 300 sekvenskörningar.

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

Lokal disk

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

Mappnamn	Beskrivning	Åtkomst
Input (Indata)	Innehåller sekvensdata som genererats av NGS-systemet som är mappat till servern.	Läsa och skriva
Output (Utdata)	Innehåller alla rapporter som genererats av programmet.	Skrivskyddad
Backup (Säkerhetskopiering)	Innehåller säkerhetskopieringar av databasen.	Skrivskyddad



OBS!

Mappning av den lokala disken baseras på SMB-protokoll (Server Message Block). Programvaran stöder för närvarande SMB1- och SMB2-versioner. Kontrollera att dessa är aktiverade på utrustningen (bärbar dator/arbetsstation) som ska mappas.

Lokal databas

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

- ▶ **Database backup** (Säkerhetskopiering av databas) – En ögonblicksbild av databasen sparas automatiskt en gång per timme, dag och månad. Säkerhetskopior som sparas varje timme tas bort efter att en daglig säkerhetskopia har skapats. På samma sätt tas de dagliga säkerhetskopiorna bort när en säkerhetskopia för hela veckan är klar. De veckovisa säkerhetskopiorna tas bort efter att en månatlig säkerhetskopia har skapats. Endast en kopia av den månatliga säkerhetskopieringen sparas. Det är rekommenderad praxis att skapa ett skript som automatiskt kan spara säkerhetskopieringsmappen på en lokal NAS.
- ▶ **Database restore** (Återställ databas) – Databasen kan återställas från valfri säkerhetskopia. Endast fältservicetekniker från Illumina får utföra återställningar.
- ▶ **Data backup** (Säkerhetskopiera data) – Även om Analysis Server kan användas som primär lagringsplats för sekvenskörningar kan den endast lagra omkring 400 körningar. Illumina rekommenderar regelbunden automatiserad säkerhetskopiering av data till en annan enhet för långtidslagring eller en NAS.
- ▶ **Maintenance** (Underhåll) – Utöver säkerhetskopiering av data behöver användaren inte utföra något underhåll av Analysis Server. Uppdateringar av Analysis Software eller Analysis Server tillhandahålls av Illuminas tekniska support.

Mappa serverenheter

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

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

Gör så här för att mappa en mapp:

- 1 Logga in på datorn i undernätverket för Analysis Server.
- 2 Högerklicka på **Computer** (Dator) och välj **Map network drive** (Mappa nätverksenhet).
- 3 Välj en bokstav i rullgardinslistan över enheter.
- 4 Ange \\<VeriSeq NIPT Analysis Server (48 Samples) IP-adress>\<mappens namn> i fältet Folder (Mapp).
Till exempel: \\10.50.132.92\input.
- 5 Ange användarnamn och lösenord.
Mappar som har mappats korrekt visas på datorn.



OBS!

Mappning av den lokala disken baseras på SMB-protokoll (Server Message Block). Programvaran stöder för närvarande SMB1- och SMB2-versioner. Kontrollera att dessa är aktiverade på utrustningen (bärbar dator/arbetsstation) som ska mappas.

Logga ut

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

Starta om servern



OBS!

Endast servicetekniker och administratörer har behörighet att starta om servern.

Gör så här för att starta om servern:

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



OBS!

Det kan ta flera minuter att starta om systemet.

Stänga av servern



OBS!

Endast servicetekniker och administratörer har behörighet att stänga av servern.

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

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

Återställning vid oväntad avstängning

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

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



OBS!

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

Systemrapporter

Inledning	20
Översikt av systemrapporter	22
Rapportgenereringshändelser	23
Resultat- och meddelanderapporter	24
Processrapporter	27

Inledning

Analysis Software genererar två rapportkategorier:

- ▶ Resultat- och meddelanderapporter
- ▶ Processrapporter

Det finns även två rapporttyper:

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

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

Utdatafiler

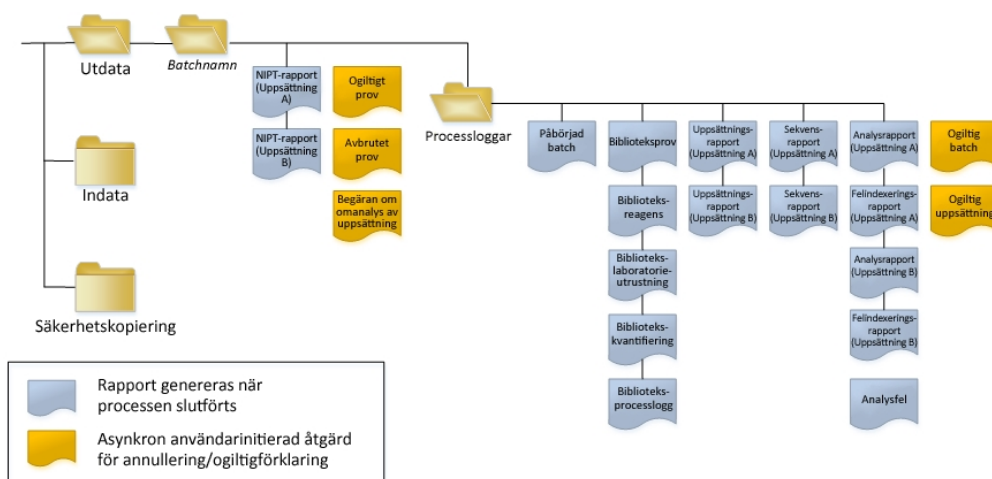
Rapporter från Analysis Software genereras på den interna hårddisken i Analysis Server som är mappad till användarenheten som en skrivskyddad utdatamapp. Varje rapport genereras med en motsvarande standardfil med MD5-kontrollsumma, som används för att verifiera att filen inte har ändrats.

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

Filstruktur för rapporter

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

Bild 3 Mappstruktur för rapporter i Analysis Software



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

- ▶ **Main folder (Batch Name folder)** (Huvudmapp (mappen Batchnamn)) – Innehåller rapporter som tillhandahåller resultat eller associeras med LIMS-genererade e-postmeddelanden. Mer information finns i avsnittet *Resultat- och meddelanderapporter på sidan 24*.
- ▶ **ProcessLog folder** (Mappen Processlogg) – Innehåller processrelaterade rapporter. Mer information finns i avsnittet *Processrapporter på sidan 27*

En lista över alla rapporter finns i avsnittet *Översikt av systemrapporter på sidan 22*.

Översikt av systemrapporter

Rapportnamn	Rapporttyp	Rapportentitet	Rapportfilnamnsformat
<i>NIPT-rapport</i>	Kan åtgärdas	Uppsättning/flödescell	<batch_name>_A_<pool_barcode>_<flowcell>_nipt_report_20150528_163503.tab
<i>Rapport om ogiltigt prov</i>	Kan åtgärdas	Prov	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_invalidation_report_20150528_163503.tab
<i>Rapport om avbrutet prov</i>	Kan åtgärdas	Prov	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_cancellation_report_20150528_163503.tab
<i>Rapport om begäran av omanalys av uppsättning</i>	Kan åtgärdas	Uppsättning	<batch_name>_<pool_type>_pool_retest_request_20150528_163503.tab
<i>Rapport om påbörjad batch</i>	Informativ	Batch	ProcessLogs/<batch_name>_batch_initiation_report_20150528_163503.tab
<i>Rapport om ogiltig batch</i>	Informativ	Batch	ProcessLogs/<batch_name>_batch_invalidation_report_20150528_163503.tab
<i>Biblioteksprovsrapport</i>	Informativ	Batch	ProcessLogs/<batch_name>_library_sample_report_20150529_083503.tab
<i>Biblioteksreagensrapport</i>	Informativ	Batch	ProcessLogs/<batch_name>_library_reagent_report_20150529_163503.tab
<i>Bibliotekslaboratorierapport</i>	Informativ	Batch	ProcessLogs/<batch_name>_library_labware_report_20150518_163503.tab
<i>Bibliotekskvantifieringsrapport</i>	Informativ	Batch	ProcessLogs/<batch_name>_library_quant_report_20150518_163503.tab
<i>Biblioteksprocesslogg</i>	Informativ	Batch	ProcessLogs/<batch_name>_library_process_log.tab
<i>Uppsättningsrapport</i>	Informativ	Uppsättning	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_report_20150528_163503.tab
<i>Rapport om ogiltig uppsättning</i>	Informativ	Uppsättning	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_invalidation_report_20150528_163503.tab
<i>Sekvensrapport</i>	Informativ	Uppsättning/flödescell	ProcessLogs/<batch_name>_A_<pool_barcode>_<flowcell>_sequencing_report_20150528_163503.tab ProcessLogs/<batch_name>_B_<pool_barcode>_<flowcell>_sequencing_report_20150528_163503.tab
<i>Analysrapport</i>	Informativ	Uppsättning/flödescell	ProcessLogs/<batch_name>_A_<pool_barcode>_<flowcell>_analysis_report_20150528_163503.tab
<i>Felindexeringsrapport</i>	Informativ	Uppsättning/flödescell	ProcessLogs/<batch_name>_A_<pool_barcode>_<flowcell>_misindexed_report_20150528_163503.tab
<i>Analysfelrapport</i>	Informativ	Uppsättning/flödescell	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_analysis_failure_report_20150528_163503.tab

Rapportgenereringshändelser

Rapport	Beskrivning	Genereringshändelse
NIPT	Innehåller slutresultaten av en godkänd analyskörning	<ul style="list-style-type: none"> Analys av sekvenskörning slutförs
Sample Invalidation (Ogiltigt prov)	Innehåller information om ett ogiltigförklarat prov	<ul style="list-style-type: none"> Användaren ogiltigförklarar ett prov
Sample Cancelation (Avbrutet prov)	Innehåller information om ett avbrutet prov	<ul style="list-style-type: none"> Användaren avbryter ett prov
Pool Retest Request (Begäran om analys av uppsättning)	Anger att en andra uppsättning kan genereras från en befintlig batch. Innehåller information om uppsättningens omprovsstatus. ¹	<ul style="list-style-type: none"> Användaren ogiltigförklarar en uppsättning
Batch Initiation (Påbörjad batch)	Anger att en ny batchbearbetning påbörjas	<ul style="list-style-type: none"> Användaren initierar en ny batch
Batch Invalidation (Ogiltig batch)	Innehåller information om en användarinitierad, ogiltigförklarad batch	<ul style="list-style-type: none"> Batchen ogiltigförklaras
Library Sample (Biblioteksprov)	Listar alla prov i batchen	<ul style="list-style-type: none"> Batchen ogiltigförklaras Bibliotekspreparering slutförs Kvantifiering av batch misslyckas
Library Reagent (Biblioteksreagens)	Innehåller reagensinformation för biblioteksbearbetning	<ul style="list-style-type: none"> Batchen ogiltigförklaras Bibliotekspreparering slutförs Kvantifiering av batch misslyckas
Library Labware (Bibliotekslaboratorieutrustning)	Innehåller information om laboratorieutrustning för biblioteksbearbetning	<ul style="list-style-type: none"> Batchen ogiltigförklaras Bibliotekspreparering slutförs Kvantifiering av batch misslyckas
Library Quant (Bibliotekskvantifiering)	Innehåller testresultat för bibliotekskvantifiering	<ul style="list-style-type: none"> Batchen ogiltigförklaras Bibliotekspreparering slutförs Kvantifiering av batch misslyckas
Library Process Log (Biblioteksprocesslogg)	Innehåller steg som utförts under biblioteksbearbetning	<ul style="list-style-type: none"> Batchen ogiltigförklaras Bibliotekspreparering slutförs Kvantifiering av batch misslyckas Batchprocess slutförs
Pool (Uppsättning)	Innehåller provuppsättningsvolym	<ul style="list-style-type: none"> Uppsättningsmetod slutförs
Pool Invalidation (Ogiltig uppsättning)	Innehåller information om en användarinitierad, ogiltigförklarad uppsättning	<ul style="list-style-type: none"> Användaren ogiltigförklarar en uppsättning
Sequencing (Sekvensering)	Innehåller QC-resultat för sekvensering	<ul style="list-style-type: none"> Godkänd QC av sekvensering Sekvensering överskrider tidsgränsen (misslyckas)

Rapport	Beskrivning	Genereringshändelse
Analysis (Analys)	Innehåller ytterligare analysdata för en slutförd körning	<ul style="list-style-type: none"> Analys av sekvenskörning slutförs
Misindexed (Felindexering)	Innehåller information om felindexerade avläsningar	<ul style="list-style-type: none"> Analys av sekvenskörning slutförs
Analysis Failure (Analysfel)	Innehåller analysinformation för en misslyckad uppsättning	<ul style="list-style-type: none"> Analys av sekvenskörning misslyckas

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

Resultat- och meddelanderapporter

NIPT-rapport

NIPT-rapporten innehåller statistiska LLR-resultat formaterade som ett prov per rad för varje prov i uppsättningen.

Kolumn	Beskrivning	Förinställda värdealternativ:	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn	Ej tillämpligt	text	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
sample_barcode	Unik streckkod för prov	Ej tillämpligt	text	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
sample_type	Provtypsinformation från insamlingsplatsen.	En av följande: <ul style="list-style-type: none"> Singleton (Enkel) – Gravitet med ett embryo Twin (Dubbel) – Gravitet med flera embryon Control (Kontroll) – Kontrollprov där kön och värdet för aneuploidi är känt NTC – Prov med reagenskontroll utan templat (inget DNA) 	enum	Värden specificeras i Förinställda värdealternativ
sex_chrom	Könskromosomsanalys har begärts.	En av följande: <ul style="list-style-type: none"> yes (ja) – Könskromosomvärde och könsrapportering har begärts. no (nej) – Varken könskromosomvärde eller könsrapportering har begärts. sca (sca) – Könskromosomvärde har begärts, könsrapportering har inte begärts. 	enum	Värden specificeras i Förinställda värdealternativ
flowcell	Streckkod för sekvensflödescell	Ej tillämpligt	text	Ej tillämpligt
score_t13	Sannolikhetspoäng för bevis för trisomi på kromosom 13	Numerisk	Flyttal	x < 500,00
score_t18	Sannolikhetspoäng för bevis för trisomi på kromosom 18	Numerisk	Flyttal	x < 500,00

Kolumn	Beskrivning	Förinställda värdealternativ:	Typ	Regex
score_t21	Sannolikhetspoäng för bevis för trisomi på kromosom 21	Numerisk	Flyttal	x < 500,00
score_tx	Sannolikhetspoäng för bevis för trisomi på kromosom X	Numerisk	Flyttal	x < 500,00
score_mx	Sannolikhetspoäng för bevis för monosomi på kromosom X	Numerisk	Flyttal	x < 500,00
ncv_x	Normaliserat kromosomvärde för kromosom X	Numerisk	Flyttal	x < 500,00
ncv_y	Normaliserat kromosomvärde för kromosom Y	Numerisk	Flyttal	x < 500,00
qc_flag	QC-analysresultat	Ett av följande: <ul style="list-style-type: none"> • CANCELLED (AVBRUTEN) • INVALIDATED (OGILTIG) • PASS (GODKÄND) • NTC_PASS (NTC_GODKÄND) • FAIL (MISSLYCKAD) 	enum	Värden specificeras i Förinställda värdealternativ
qc_failure	Information om QC-fel	En av följande: <ul style="list-style-type: none"> • FAILED iFACT (MISSLYCKAT iFACT) • DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DATA UTANFÖR FÖRVÄNTAT INTERVALL) • FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (STORLEKSFÖRDELNING AV FRAGMENT UTANFÖR FÖRVÄNTAT INTERVALL) • NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (NTC-PROV MED HÖG TÄCKNING) • CANCELLED (AVBRUTEN) • INVALIDATED (OGILTIG) • NONE (INGEN) (QC status = Pass (QC-status = godkänd)) 	text	Värden specificeras i Förinställda värdealternativ
ff	Uppskattad fosterfraktion	Procentandel av cfDNA från foster avrundat till närmaste heltal. Resultat som är mindre än 1 % rapporteras som < 1 %.	text	Ej tillämpligt

QC-felmeddelanden

Analysresultat vid QC-fel i åsidosättning av resultat, könskromosomvärde och uppskattad fosterfraktion, som motsvarar följande fält i en NIPT-rapport: score_t13, score_t18, score_t21, score_tx, score_mx, ncv_x, ncv_y och ff.

QC-felmeddelande	Beskrivning	Rekommenderad åtgärd
FAILED iFACT (MISSLYCKAT iFACT)	Individuellt fosteraneuploiditest (iFACT) – QC-mått som kombinerar uppskattad fosterfraktion med körningsmått för täckning för att fastställa om systemet har tillräcklig statistisk konfidens för att ta beslut om ett givet prov.	Bearbeta provet på nytt
DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DATA UTANFÖR FÖRVÄNTAT INTERVALL)	Avvikelse från euploid-täckning på icke-målkromosomer. Möjligt samband med trisomi eller monosomi på valfri målkromosom eller stort antal varianter av ospecifika kopior bland kromosomer.	Bearbeta provet på nytt
FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (STORLEKSFÖRDELNING AV FRAGMENT UTANFÖR FÖRVÄNTAT INTERVALL)	Datadistributionen stämmer inte överens med den konfigurerade datadistributionen. Kan ha orsakats av kontamination eller inkorrekt provbearbetning.	Bearbeta provet på nytt
NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (NTC-PROV MED HÖG TÄCKNING)	En hög täckning har upptäckts för ett NCT-prov (inget förväntat DNA-material). Kan ha orsakats av kontamination eller inkorrekt provbearbetning.	Bearbeta provet på nytt
CANCELLED (AVBRUTEN)	Provet avbröts av användarna.	Ej tillämpligt
INVALIDATED (OGILTIG)	Provet ogiltigförklarades av användarna.	

Rapport om ogiltigt prov

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

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

Rapport om avbrutet prov

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

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

Rapport om begäran av omanalys av uppsättning

Rapporten om begäran av omanalys av uppsättning indikerar om antingen uppsättning A eller uppsättning B kan ombearbetas. Systemet genererar en rapport om begäran av omanalys av uppsättning när den första av två möjliga sekvenskörningar (uppsättningar) för uppsättning A eller uppsättning B ogiltigförklaras.

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

Processrapporter

Rapport om påbörjad batch

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

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Unik streckkod för prov	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
sample_type	Provtyp av streckkoden för prov Värdealternativ: enkel, kontroll, dubbel, NTC	enum	Värde specificeras i Beskrivning
well	Brunn som förknippas med ett prov	text	^[a-zA-Z]{1,1}[0-9]{1,2}\$
assay	Analysnamn	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$
method_version	Version av metod för automatisering av analys	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$

Rapport om ogiltig batch

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

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

Biblioteksprovsrapport

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

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

Biblioteksreagensrapport

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

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

Bibliotekslaboratorierapport

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

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

Bibliotekskvantifieringsrapport

Systemet genererar en bibliotekskvantifieringsrapport när en kvantifiering slutförs.

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

Biblioteksprocesslogg

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

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
process	Batchprocessnamn. Värdealternativ: ISOLATION (ISOLERING) – batch_validation, prespin, postspin, data_transact EXTRACTION (EXTRAKTION) – setup, chemistry, data_transact LIBRARY (BIBLIOTEK) – setup, chemistry, data_transact, complete QUANT (KVANTIFIERING) – setup, build_standards, build_384, analysis, data_transact POOLING (GRUPPERING) – analysis, setup, pooling, data_transact, complete	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
operator	Användarens initialer	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
instrument	Instrumentnamn	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
started	Datum och tid för påbörjad batchprocess	tidstämpel – ISO 8601:1988	tidstämpel – ISO 8601:1988

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
finished	Datum och tid för slutförd eller misslyckad batchprocess	tidstämpel – ISO 8601:1988	tidstämpel – ISO 8601:1988
status	Aktuell batch Värdealternativ: slutförd, misslyckad, påbörjad, avbruten	enum	Värden specificeras i Beskrivning

Uppsättningsrapport

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

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

Rapport om ogiltig uppsättning

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

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

Sekvensrapport

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

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

Analysrapport

Systemet genererar en analysrapport för en sekvenskörning när analysen har slutförts.

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Unik streckkod för prov	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_type	Provtyp Värdealternativ: enkel, dubbel, kontroll, NTC	enum	Värden specificeras i Beskrivning
sex_chrom	Rapportalternativ för könskromosom Värdealternativ: ja, nej, sca	enum	Värden specificeras i Beskrivning
flowcell	Streckkod för flödescell	text	Ej tillämpligt
index	Provindex	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
well	Läge för plattbrunn	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
qc_flag	QC-disposition baserad på analysresultat Värdealternativ: GODKÄND, MISSLYCKAD	enum	Värden specificeras i Beskrivning
qc_failure	Sammansättning av felorsaker	text	Mer information finns i QC-felmeddelanden på sidan 26
ff	Uppskattad FF	numerisk	
aligned_reads	Totala antalet matchade avläsningar per prov	numerisk	
indexing_rate	Bråkdelen av alla indexerade avläsningar i ett individuellt prov	flyttal	
alignment_rate	Bråkdelen av alla matchade avläsningar till indexerade avläsningar för ett givet prov	flyttal	
euploid_coverage	Sannolikhetspoäng för bevis för euploid-täckning på icke-målkromosomer	numerisk	
frag_size_dist	Avvikelse från förväntad storleksfördelning av fragment	numerisk	
max_misindexed_rate	Bråkdelen av alla avläsningar som tilldelats index som inte finns på flödescellen	numerisk	
score_t13	Sannolikhetspoäng för bevis för trisomi på kromosom 13	numerisk	
score_t18	Sannolikhetspoäng för bevis för trisomi på kromosom 18	numerisk	
score_t21	Sannolikhetspoäng för bevis för trisomi på kromosom 21	numerisk	
score_tx	Sannolikhetspoäng för bevis för trisomi på kromosom X	numerisk	
score_mx	Sannolikhetspoäng för bevis för monosomi på kromosom X	numerisk	

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
ncv_x	Normaliserat kromosomvärde för kromosom X	numerisk	
ncv_y	Normaliserat kromosomvärde för kromosom Y	numerisk	
chr1_coverage to chr22_coverage, chrX_coverage, chrY_coverage	Normaliserad kromosomtäckning för var och en av de 24 kromosomerna	numerisk	

Felindexeringsrapport

Systemet genererar en felindexeringsrapport för en sekvenskörning när analysen har slutförts.

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_type	Uppsättningstyp för uppsättningsstreckkod Värdealternativ: A, B, C	enum	Värden specificeras i Beskrivning
pool_barcode	Uppsättningsstreckkod för ett prov	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
flowcell	Streckkod för flödescell	text	Ej tillämpligt
index	Index för ett angivet antal avläsningar	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
indexedreads	Antal avläsningar som mappats till indexet		

Analysfelrapport

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

Kolumn	Beskrivning	Typ	Regex
batch_name	Batchnamn	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode	Uppsättningsstreckkod för misslyckad analys	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
flowcell	Flödescellsstreckkod för misslyckad analys	text	Ej tillämpligt
sequencing_run_folder	Sekvenskörningsstatus för misslyckad analys	text	
analysis_run_status	Sekvenskörningsstatus för misslyckad analys Värdealternativ: failed_max_analysis_attempts	text	Värden specificeras i Beskrivning
timestarted	Tidsstämpel för start av analys	tidstämpel – ISO 8601:1988	tidstämpel – ISO 8601:1988
timefinished	Tidsstämpel för misslyckad analys	tidstämpel – ISO 8601:1988	tidstämpel – ISO 8601:1988

QC-mått

Mått och gränsvärden för QC av sekvensering	37
Analytiska QC-mått och gränsvärden	37

Mått och gränsvärden för QC av sekvensering

Mått	Beskrivning	Nedre gräns	Övre gräns	Förklaring
cluster_density	Klustertäthet för sekvensering	152 000 per mm ²	338 000 per mm ²	Flödesceller med låg klustertäthet kan inte generera tillräckligt med avläsningar. Flödesceller med för hög klustertäthet ger sekvensdata av låg kvalitet.
pct_pf	Procentläsningar som passerar renhetsfiltret	≥ 50 %	Ej tillämpligt	Flödesceller med extremt låg %PF kan ha en avvikande basrepresentation och signalerar ofta problem med PF-läsningar.
prephasing	Bråkdelen av förfasning	Ej tillämpligt	≤ 0,003	Empiriskt optimerade rekommendationer för VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples).
phasing	Bråkdelen av fasning	Ej tillämpligt	≤ 0,004	Empiriskt optimerade rekommendationer för VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples).
predicted_aligned_reads	Uppskattat genomsnittligt antal unikt mappade fragment per prov	≥ 4 000 000	Ej tillämpligt	Fastställt som minsta observerade NES inom normal population.

Analytiska QC-mått och gränsvärden

Kategori	Mått	Nedre gräns	Övre gräns	Felmeddelande	Förväntad felfrekvens	Möjliga orsaker
QC-räkning	NonExcludedSites (aligned_reads)	1 000 000	60 000 000	FAILED iFACT (MISSLYCKAT iFACT)	< 1 %	Svag eller felaktig biblioteksquantifiering; lågt klusterantal, eventuellt återställbar vid omkörning av plasma.
Sannolikhetspoäng för kromosomnämnare	NCD_Y	-200	10 000	DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DATA UTANFÖR FÖRVÄNTAT INTERVALL)	< 0,2 %	Oväntad kromosomrepresentation någonstans i genomet, osannolikt att problemet åtgärdas genom att köra om provet. Möjlig orsak: Data utanför förväntat intervall.
Storleksfördelning av fragment	FragSizeDist (frag_size_dist)	0	0,07	FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (STORLEKSFÖRDELNING AV FRAGMENT UTANFÖR FÖRVÄNTAT INTERVALL)	< 1 %	Oväntad fördelning av fragmentstorlek. Möjlig orsak: Fel i urvalsprocessen för storlek, låg täckning, komprometterat prov.

Kategori	Mått	Nedre gräns	Övre gräns	Felmeddelande	Förväntad felfrekvens	Möjliga orsaker
Täckning i förhållande till fosterfraktion	NES_FF_QC	0	1,5	FAILED iFACT (MISSLYCKAT iFACT)	ca. 1,2 %	Otillräcklig täckning i förhållande till fosterfraktion.

Metod för jämförelse av data

Metod för jämförelse av data

Resterande plasmamängder bestående av 461 prov, som tidigare kördes med Verifi®-testet, bearbetades med VeriSeq NIPT Assay Software och sekvensdata analyserades med VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples). I provuppsättningen ingick opåverkade prov ("euploid") och prov med trisomi 21 (T21) från manliga och kvinnliga foster. Den här metoden för jämförelse av data inkluderade inte prov med trisomi 13 (T13) eller trisomi 18 (T18) eftersom T21 är svårast att upptäcka, på grund av att det är den minsta av de tre kromosomerna. Klassificering av T21 och fostrets kön för VeriSeq NIPT baserades på specifika brytvärden (LLR=1,5 för klassificering av T21 och ett brytvärde för fostrets kön som justerades med avseende på fosterfraktion). Data från de 461 klassificeringarna från Verifi och VeriSeq NIPT visas i tabellen nedan. Avseende klassificeringen av T21 klassificerades 82/87 (94,3 %) och 374/374 (100 %) samstämmigt av de två testen för T21 och euploid. 460/461 (99,8 %) klassificerades samstämmigt avseende könsklassificering av foster. Eftersom ett av proven klassificerades som XX av Verifi och som XXX av VeriSeq NIPT blev den procentuella negativa överensstämmelsen med Verifi för XXX, XXY, XYY och monosomi X 99,9 %.

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

Totalt var 7 av resultaten avvikande – 1 för fostrets kön, 5 för T21 och 1 för trisomi X. Det prov för vilket fostrets kön var diskordant mellan de två analyserna, klassificerades som T21 av bägge analyserna. Ingen klinisk information var tillgänglig för de prov som ingick i den här jämförelsestudien av metoder inklusive prov med avvikande resultat. Jämförelsedata för NCV_21 och uppskattad fosterfraktion (data från VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples)) visas i Bild 4. De avvikande proven erhöll NCV-värden vid eller nära beslutsgränsen för Verifi. VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) kombinerar både NCV och fosterfraktion för att generera ett nytt värde för sannolikhetsförhållande (LLR, likelihood ratio). Bild 5 visar en jämförelse av LLR och fosterfraktion i proven. Den här bedömningsmetoden kräver i allmänhet konkordans mellan beräknad fosterfraktion och kromosomrepresentation för att ett prov ska klassificeras som positivt. Preliminära studier har visat att klassificeringar som baseras på LLR-värden kan förbättra NIPT-testets totala specificitet. Bild 6 visar hur olika brytvärden för LLR ger olika positiva och negativa värden när det gäller överensstämmelse.

Bild 4 NCV kontra fosterfraktion för kromosom 21, den horisontella linjen motsvarar ett NCV-brytvärde på 4

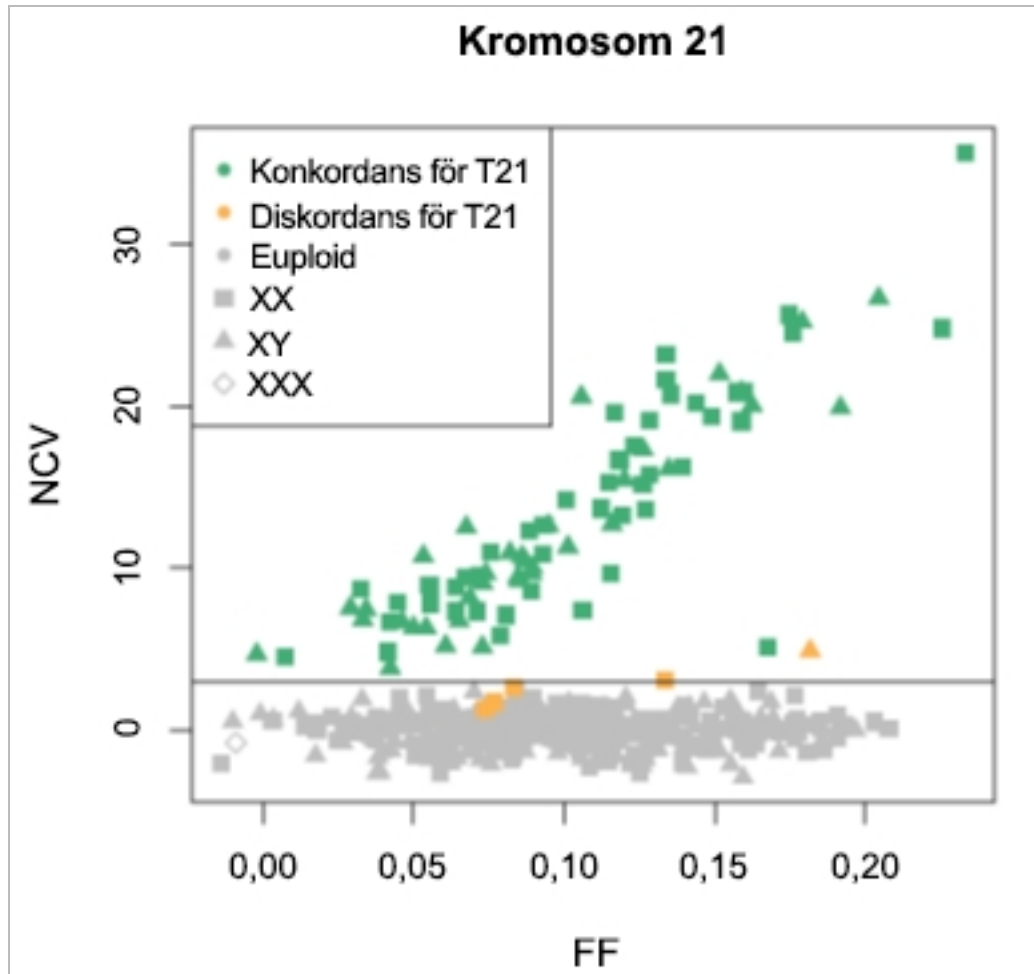


Bild 5 LLR kontra fosterfraktion för kromosom 21, den horisontella linjen motsvarar ett LLR-brytvärde på 1,5

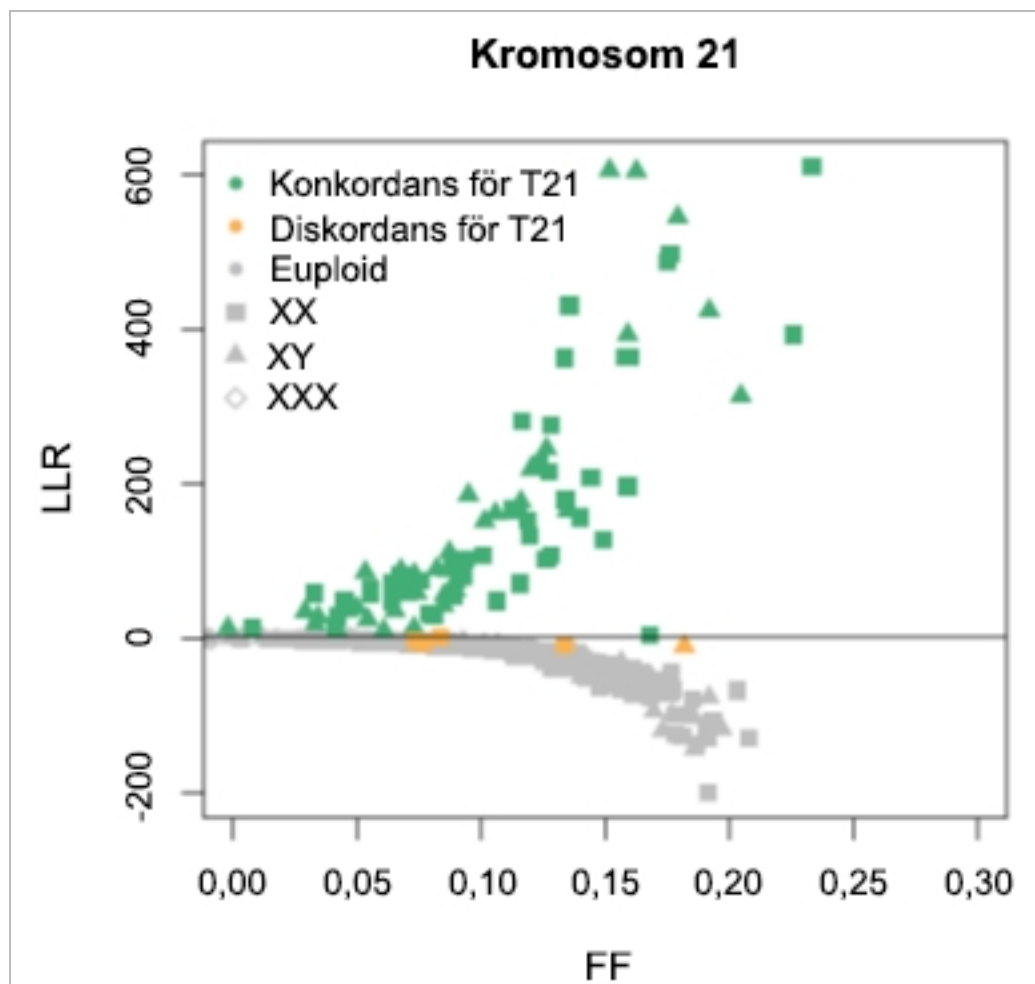
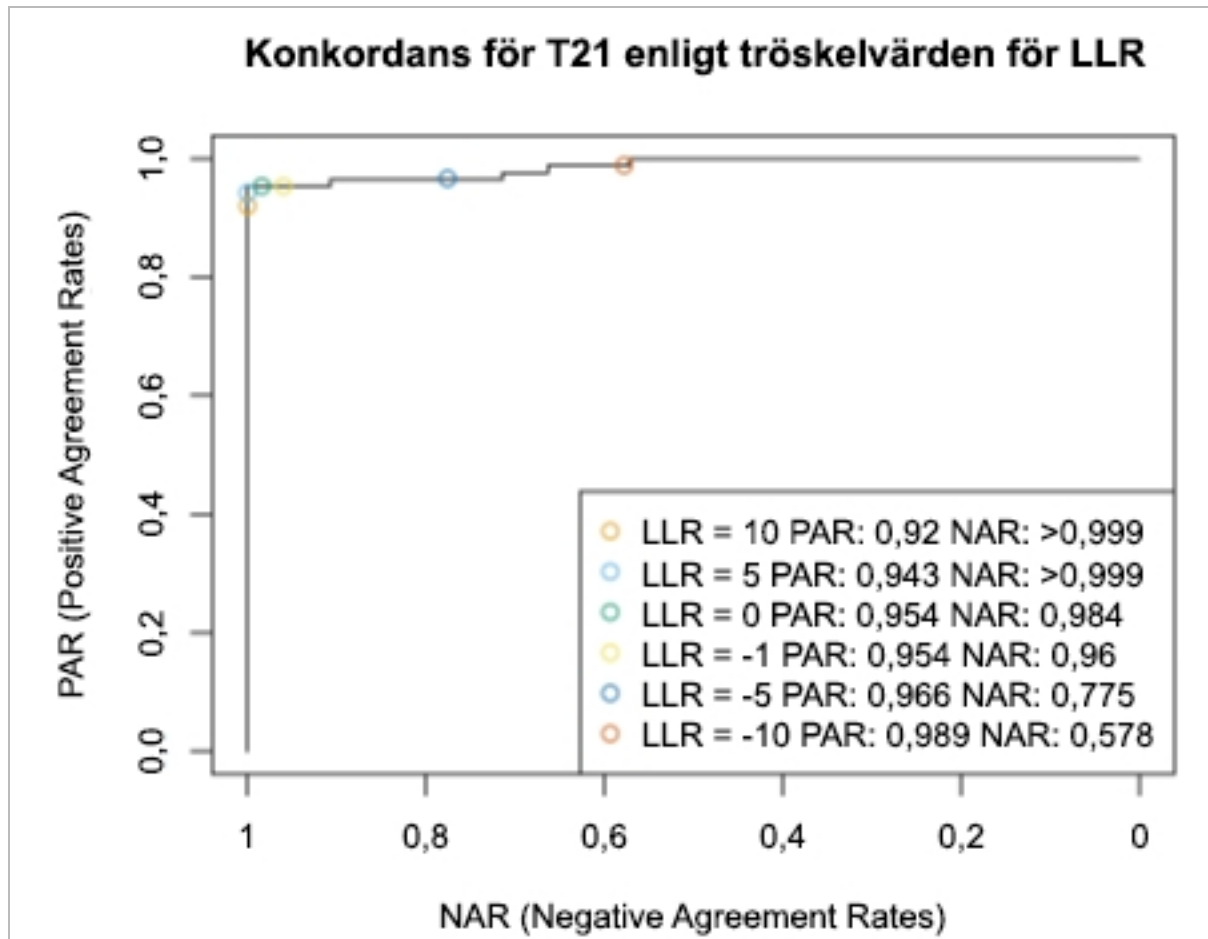


Bild 6 Positiva värden för överensstämmelse mot negativ värden för överensstämmelse för olika LLR-brytvärden för kromosom 21



Ansluta en kompatibel Next Generation Sequencer

Inledning	43
Sekvensuppsättning	43
Datalagring	43
Kapacitet	44
Begränsningar för nätverkstrafik	44

Inledning

Ett NGS-system genererar sekvensavläsningar för alla prover i den kvantifierade biblioteksuppsättningen och integrerar med VeriSeq NIPT Software (48 Samples) via Analysis Server. Sekvensdata utvärderas av Analysis Handler som är en del av Analysis Software.

Tänk på följande när ett NGS-system ska integreras med VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples).

- ▶ Datalagring
- ▶ Kapacitet
- ▶ Begränsningar för nätverkstrafik

Sekvensuppsättning

Analysis Software kräver en Next Generation Sequencer som kan generera sekvensdata på den förberedda biblioteksuppsättningen enligt följande specifikationer:

- ▶ Framställning av 2 x 36 paired end-avläsningar
- ▶ Kompatibel med indexadapters i Provprenparering lång
- ▶ Två färgämnen
- ▶ BCL-filer som skapas automatiskt

Datalagring

En typisk sekvenskörning som ska analyseras av VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) kräver 25–30 GB lagringsutrymme för NGS-data. Den faktiska datastorleken kan variera beroende på den slutgiltiga klustertätheten. Analysis Server har mer än 7,5 TB lagringsutrymme, vilket är tillräckligt för mer än 300 sekvenskörningar ($7\,500/25 = 300$).

För datalagringsändamål ska Next Generation Sequencer mappas till Analysis Server med en av följande metoder:

- ▶ Använd Analysis Server som datalager. I den här konfigurationen mappas sekvenseraren direkt till servern och lagrar data på den lokala enheten.
- ▶ Använd Network-Attached Storage (NAS) för labb med hög kapacitet. Konfigurera Next Generation Sequencer till att spara sekvensdata direkt till en specifik plats på NAS:en.
Med den här metoden ska Analysis Server konfigureras för att övervaka den specifika plats på NAS:en som gör det möjligt för servern att övervaka kommande sekvenskörningar. Flera Next Generation Sequencer kan läggas till för att öka provkapaciteten. Mer information om hur servern ska mappas till NAS:en finns i *Hantera en delad nätverksenhet* på sidan 11.

Mer information om hur Next Generation Sequencer ska mappas till servern eller till NAS:en finns i tillverkarens användarhandbok.

Kapacitet

Det tar vanligtvis omkring fem timmar för VeriSeq NIPT Analysis Pipeline att bearbeta data för en enskild sekvenskörning. När du vill utöka laboratoriets provkapacitet bör du ha i åtanke att en enskild server kan bearbeta maximalt fyra körningar per dag, vilket totalt uppgår till $48 \text{ prov} \times 4 = 192 \text{ prov per dag}$.

Begränsningar för nätverkstrafik

VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) använder laboratoriets lokala nätverk (LAN) för datatrafik mellan Next Generation Sequencer, Analysis Server och NAS:en (om en sådan är konfigurerad).

Om provkapaciteten ska utökas bör följande begränsningar för IT-infrastruktur tas i beaktning:

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

Felsökning

Inledning	45
Meddelanden för VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples)	45
Systemproblem	53
Databearbetningstest	55

Inledning

Felsökningshjälpen i VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples) utgörs av:

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

Meddelanden för VeriSeq NIPT Analysis Software (48 Samples)

Det här avsnittet beskriver Analysis Software-meddelandena.

Förloppsmeddelanden

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

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

Meddelanden om ogiltigförklaring

Meddelanden om ogiltigförklaring markerar händelser i systemet till följd av att användaren ogiltigförklarar en batch eller uppsättning via API:et. De här åtgärderna kommuniceras till Analysis Software via programmets API.

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

Meddelanden om korrigerbara fel

Korrigerbara fel är tillstånd som [[[Undefined variable Software.Software_Primary]]] kan återställa när användaren följer den rekommenderade åtgärden. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.

Meddelande	Steg	När	Varningsnivå	E-post	Rekommenderad åtgärd
Missing Instrument Path (Sökväg för instrument saknas)	Sekvensering	Systemet kan inte lokalisera/ansluta till en extern sekvensmapp	Avisering	Ja	<ul style="list-style-type: none"> Kontrollera nätverksanslutningen om en NAS används. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i>, Åtgärds-ID 1 på sidan 53. Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.
Insufficient Disk Space for Sequencing (Otillräckligt diskutrymme för sekvensering)	Sekvensering	Systemet har upptäckt en ny sekvensdatamapp, men bedömer att det inte finns tillräckligt med diskutrymme för dessa data	Avisering	Ja	<ol style="list-style-type: none"> Kontrollera tillgängligt diskutrymme. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i>, Åtgärds-ID 2 på sidan 53. Frigör diskutrymme eller säkerhetskopiera data. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i>, Åtgärds-ID 3 på sidan 53
Sequencing Run Invalid Folder (Ogiltig sekvenskörningsmapp)	Sekvensering	Ogiltiga tecken i mappen Sequencing Run (Sekvenskörning)	Avisering	Ja	Mappen Sequencing Run (Sekvenskörning) har döpts om felaktigt. Döp om körningen med ett giltigt namn.
RTA Complete is not accessible (RTA Complete är inte tillgängligt)	Sekvensering	Programmet kunde inte läsa RTA Complete-filen i sekvensmappen	Varning	Ja	Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.
Missing Sample Type (Provtyp saknas)	Föranalys	Programmet kunde inte hitta definitionen för provtypen för vissa av proverna	Anmärkning	Ja	Provtypsattribut gavs inte för det angivna provet. Ogiltigförklara provet så att programmet kan fortsätta.
Missing Sex Chromosome (Könskromosom saknas)	Föranalys	Programmet kunde inte hitta definitionen för könskromosom för några av proverna	Anmärkning	Ja	Könskromosomsattributet gavs inte för det angivna provet. Ogiltigförklara provet så att programmet kan fortsätta.

Meddelande	Steg	När	Varningsnivå	E-post	Rekommenderad åtgärd
Missing Sample Type and Sex Chromosome (Provtyp och könskromosom saknas)	Föranalys	Programmet kunde inte hitta definitionen för provtyperna och könskromosomen för några av proverna	Anmärkning	Ja	Provtypsattribut och könskromosom gavs inte för det angivna provet. Ogiltigförklara provet så att programmet kan fortsätta.
Sample Sheet Generation failed (Generering av provark misslyckades)	Föranalys	Programmet kunde inte generera provark	Avisering	Ja	<ul style="list-style-type: none"> Kontrollera tillgängligt diskutrymme. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i>, Åtgärds-ID 2 på sidan 53. Frigör diskutrymme och säkerhetskopiera data om det är ont om ledigt diskutrymme. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i>, Åtgärds-ID 3 på sidan 53. Kontrollera nätverksanslutningen om en NAS används. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i>, Åtgärds-ID 1 på sidan 53. Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.
Unable to check disk space (Kunde inte kontrollera diskutrymmet)	Föranalys	Programmet kunde inte kontrollera diskutrymmet	Avisering	Ja	<ul style="list-style-type: none"> Kontrollera nätverksanslutningen om en NAS används. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i>, Åtgärds-ID 2 på sidan 53. Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.
Insufficient Disk Space for Analysis (Otillräckligt diskutrymme för analys)	Föranalys	Programmet har upptäckt att det inte finns tillräckligt med diskutrymme för att starta en ny analyskörning	Avisering	Ja	Frigör diskutrymme eller säkerhetskopiera data. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i> , Åtgärds-ID 3 på sidan 53.
Unable to launch Analysis Pipeline (Kunde inte starta Analysis Pipeline)	Föranalys	Programmet kunde inte starta en analyskörning för den angivna sekvensmappen	Avisering	Ja	Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.

Meddelande	Steg	När	Varningsnivå	E-post	Rekommenderad åtgärd
Sequencing folder Read/Write permission failed (Läs-/skrivbehörighet till sekvensmapp nekad)	Föranalys	Programtestet som kontrollerar läs-/skrivbehörighet till sekvenskörningsmappen misslyckades	Varning	Ja	<ul style="list-style-type: none"> Kontrollera nätverksanslutningen om en NAS används. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i>, Åtgärds-ID 1 på sidan 53. Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.
Analysis Failed - Retry (Analysen misslyckades – försök igen)	Analys	Analysen misslyckades. Försöker igen.	Anmärkning	Ja	Ingen
Results Already Reported (Resultaten har redan rapporterats)	System	Programmet har fastställt att en NIP-T-rapport redan genererats för den aktuella uppsättningstypen	Aktivitet	Ja	Ingen
Unable to deliver email notifications (Det gick inte att leverera e-postmeddelanden)	System	Systemet kan inte leverera e-postmeddelanden	Varning	Ej tillämpligt	<ol style="list-style-type: none"> Kontrollera att den e-postkonfiguration som angetts i systemet är giltig. Se anvisningar i avsnittet <i>Konfigurera systemets e-postmeddelanden</i> på sidan 14. Skicka ett testmeddelande via e-post. Anvisningar finns i avsnittet <i>Konfigurera systemets e-postmeddelanden</i> på sidan 14. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.
Time Skew Detected (Tidsförskjutning har upptäckts)	Bibliotekspreparering	Programmet har upptäckt en tidsförskjutning på över 1 minut mellan den tidsstämpel som ges av API:n och den lokala tiden på servern	Varning	Nej	<ol style="list-style-type: none"> Kontrollera den lokala tid som ges via API:n. Kontrollera den lokala tiden på Analysis Server som rapporteras i webbgränssnittet (fliken Server Status (Serverstatus)).

Meddelanden om återkalleliga fel

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

Meddelande	Steg	När	Varningsnivå	E-post	Rekommenderad åtgärd
Batch Failure (Misslyckad batch)	Bibliotekspreparering	Misslyckad QC av batch	Anmärkning	Ja	Starta om bibliotekspreparering.
Report Generating Failure (Misslyckad rapportgenerering)	Rapportering	Systemet kunde inte generera en rapport	Avisering	Ja	<ul style="list-style-type: none"> Kontrollera tillgängligt diskutrymme. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i>, Åtgärds-ID 2 på sidan 53. Frigör diskutrymme och säkerhetskopiera data om det är ont om ledigt diskutrymme. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i>, Åtgärds-ID 3 på sidan 53. Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.
Failed to Parse Run Parameters file (Misslyckad parsning av körningsparameterfil)	Sekvensering	Systemet kunde inte öppna/parsa filen RunParameters.xml	Varning	Ja	Filen RunParameters.xml är skadad. Kontrollera sekvenserarens konfiguration och sekvensera om uppsättningen.
Unrecognized Run Parameters (Okända körningsparametrar)	Sekvensering	Programmet läste körningsparametrar som inte är kompatibla	Varning	Ja	Programmet kunde inte bilda sekvenskörningsparametrar från sekvenserarens konfigurationsfil. Kontrollera sekvenserarens konfiguration och sekvensera om uppsättningen.
Invalid Run Parameters (Ogiltiga körningsparametrar)	Sekvensering	Programmet läste nödvändiga körningsparametrar som inte är kompatibla med analysen	Varning	Ja	Programmets kompatibilitetskontroll misslyckades. Kontrollera sekvenserarens konfiguration och sekvensera om uppsättningen.
No Pool Barcode found (Ingen uppsättningsstreckkod hittad)	Sekvensering	Programmet kunde inte associera flödescellen för sekvenskörningen med en känd uppsättningsstreckkod	Varning	Ja	Fel uppsättningsstreckkod kan ha angetts. Sekvensera om uppsättningen.
Sequencing Timed Out (Sekvenseringen överskred tidsgränsen)	Sekvensering	Sekvenskörningen slutfördes inte inom den givna tidsramen	Varning	Ja	Kontrollera sekvenseraren och nätverksanslutningen. Sekvensera om uppsättningen.

Meddelande	Steg	När	Varningsnivå	E-post	Rekommenderad åtgärd
Sequencing QC files generation failed (Misslyckad generering av QC-filer för sekvensering)	QC av sekvensering	Sekvenskörningen har slutförts, men InterOp QC-filerna är skadade	Avisering	Ja	Kontrollera sekvenseraren och nätverksanslutningen. Sekvensera om uppsättningen.
Sequencing QC files corrupted (Skadade QC-filer för sekvensering)	QC av sekvensering	Sekvenskörningen har slutförts och sekvenseringens QC-filer är skadade	Varning	Ja	Kontrollera sekvenseraren och nätverksanslutningen. Sekvensera om uppsättningen.
Sequencing QC failed (Misslyckad QC av sekvensering)	QC av sekvensering	Sekvenskörningen har slutförts och QC av sekvenskörningen har misslyckats	Anmärkning	Ja	Sekvensera om uppsättningen.
Analysis Failed for Maximum number of attempts (Analysen har misslyckats maximalt antal gånger)	Analys	Alla analysförsök har misslyckats. Kommer inte att köras igen.	Varning	Ja	Sekvensera om den andra uppsättningen.
Analysis Post-Processing Failed (Misslyckad efterbearbetning av analys)	Efter analys	Programmet kunde inte efterbearbeta analysresultaten	Avisering	Ja	<ul style="list-style-type: none"> Kontrollera nätverksanslutningen om en NAS används. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i> Åtgärds-ID 1 på sidan 53. Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.
Analysis Upload Failed (Misslyckad överföring av analys)	Efter analys	Programmet kunde inte överföra analysresultaten till databasen	Avisering	Ja	<ul style="list-style-type: none"> Kontrollera nätverksanslutningen om en NAS används. Mer information finns i avsnittet <i>Rekommenderade åtgärder</i> Åtgärds-ID 1 på sidan 53. Möjligt maskinvarufel. Starta om servern. Kontakta Illuminas tekniska support via e-post om problemet kvarstår.

Rekommenderade åtgärder

Åtgärds-ID	Rekommenderad åtgärd	Steg
1	Kontrollera nätverksanslutningen	<p>Obs! Kontrollera att NAS:en för fjärrlagring och den lokala maskinen är på samma nätverk.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Skriv in kommandot (cmd) ping <Server IP> i kommandoraden i Windows. Obs! Om en NAS används ska även dess anslutning kontrolleras. 2. Kontrollera att det inte förekommer förlorade datapaket. Obs! Kontakta administratören om det förekommer förlorade datapaket. 3. Testa anslutningen: <ol style="list-style-type: none"> a. Logga in i webbgränssnittet för Analysis Server. b. Välj Folder (Mapp) från instrumentpanelens meny. c. Klicka på Test och fastställ om testet är slutfört. Om testet misslyckas finns det mer information i avsnittet <i>Redigera en delad nätverksenhet på sidan 11</i>. Kontrollera även att alla inställningar är korrekt konfigurerade.
2	Kontrollera tillgängligt diskutrymme	<p>Obs! Kontrollera att serverns indatamapp är mappad till Windows-enheten. Mer information finns i avsnittet <i>Mappa serverenheter på sidan 17</i>.</p> <p>Högerklicka på enheten som mappar till mappen Indata. Välj Properties (Egenskaper) och visa information om ledigt utrymme.</p>
3	Frigör diskutrymme /säkerhetskopiera data	<p>Obs! Illumina rekommenderar att säkerhetskopiering utförs regelbundet och/eller att sekvensdata lagras på servern. Mer information finns i avsnittet <i>Hantera en delad nätverksenhet på sidan 11</i>.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. För data som lagras lokalt på Analysis Server: <p>Obs! Kontrollera att serverns indatamapp är mappad till Windows-enheten. Mer information finns i avsnittet <i>Mappa serverenheter på sidan 17</i>.</p> <ol style="list-style-type: none"> a. Dubbelklicka på mappen Indata och ange inloggningsuppgifterna som ger åtkomst till den. b. Sekvenskörningsdata visas med mappnamn som överensstämmer med sekvenskörningsnamnet. c. Ta bort eller säkerhetskopiera bearbetade sekvensmappar. 2. För data som fjärrlagras på en NAS: <p>Obs! Kontrollera att NAS:en för fjärrlagring och den lokala maskinen är på samma nätverk.</p> <p>Obs! Kontrollera att du har tillgång till mappen på fjärr-enheten. Det krävs inloggningsuppgifter från IT-administratören.</p> <ol style="list-style-type: none"> a. Sekvenskörningsdata visas med mappnamn som överensstämmer med sekvenskörningsnamnet. b. Ta bort eller säkerhetskopiera bearbetade sekvensmappar.

Systemproblem

Problem	Rekommenderad åtgärd
Programmet startar inte	Om fel upptäcks när Analysis Software startas visas en sammanfattning av samtliga fel istället för inloggningsskärmen. Kontakta Illuminas tekniska support för att rapportera de fel som anges.
Databasen måste återställas	Kontakta en fältservicetekniker från Illumina om databasen behöver återställas från en säkerhetskopiera.

Problem	Rekommenderad åtgärd
Systemglidning har upptäckts	När en systemglidning upptäcks bearbetar Analysis Software inte längre kommunikationen från andra systemkomponenter. En administratör kan återställa systemet till normal drift när det har gått in i tillståndet för upptäckt av glidning.

Databearbetningstest

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

Testa servern

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

Förfarande

- 1 Öppna den monterade ingångskatalogen och öppna sedan mappen TestingData (Testdata).
- 2 Kopiera följande mapp, som du hittar i mappen TestingData (Testdata): 150824_NS500404_0121_AHGKH5BGXX_COPY_ANALYSIS_WORKFLOW.
- 3 Döp om kopian till en mapp med ett _XXX-suffix. Suffixet _XXX representerar ett sekventiellt värde för testkörningen. Om till exempel _002 finns i mappen, ska den nya kopian döpas om till _003.
- 4 Det kan ta 3–5 minuter för körningen att slutföras. Kontrollera att följande e-postmeddelanden har tagits emot:
 - a Påbörjad sekvenskörningsanalys
 - b NIPT-rapport genererad för sekvenskörning



OBS!

Härled båda rapporterna till mappens sekvensnamn.

- 5 I utdatamappen öppnar du mappen SampleTestRun (Testkörning av prov) och kontrollerar att följande rapport finns: SampleTestRun_C_SampleTestRun_PoolA_HGKH5BGXX_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab.
Den förväntade filstorleken är cirka 5,9 kB.
- 6 Flytta tillbaka testsekvenskörning till mappen TestingData (Testdata). Denna praxis bidrar till att hantera antalet gånger sekvenstestet utförs.

Köra fullständig analys av testdata

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

Förfarande

- 1 Öppna den monterade indatakatalogen och öppna sedan mappen TestingData (Testdata).
- 2 Byt namn på följande mapp genom att lägga till suffixet _000: 150528_NB500886_0002_AH7MHHBGXX_FullTRun.
Suffixet skapar ett unikt namn för varje sekvenskörning. Om körningen redan har ett suffix ska namnet på mappen bytas genom att öka suffixets numeriska värde med ett.
- 3 Flytta mappen med det nya namnet till mappen Indata.

- 4 Det kan ta 4–5 timmar för analysen att slutföras. Kontrollera att följande e-postmeddelanden har tagits emot:
 - a Påbörjad sekvenskörningsanalys
 - b NIPT-rapport genererad för sekvenskörning
- 5 I utdatamappen öppnar du mappen SampleTestRun (Testkörning av prov) och kontrollerar att följande rapport finns: SampleTestRun2_C_SampleTestRun2_PoolA_H7MHHBGXX_nipt_report_20151105_162434.tab.
Den förväntade filstorleken är cirka 7,1 kB.
- 6 Flytta tillbaka testsekvenskörning till mappen TestingData (Testdata).



OBS!

Härled båda rapporterna till mappens sekvensnamn.

Akronymer

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

Teknisk hjälp

Kontakta Illuminas tekniska support för all form av teknisk hjälp.

Webbplats: www.illumina.com
E-post: techsupport@illumina.com

Telefonnummer till Illuminas kundtjänst

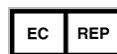
Region	Avgiftsfritt	Lokalt
Nordamerika	+1.800.809.4566	
Australien	+1.800.775.688	
Belgien	+32 80077160	+32 34002973
Danmark	+45 80820183	+45 89871156
Finland	+358 800918363	+358 974790110
Frankrike	+33 805102193	+33 170770446
Hongkong	800960230	
Irland	+353 1800936608	+353 016950506
Italien	+39 800985513	+39 236003759
Japan	0800.111.5011	
Kina	400.066.5835	
Nederländerna	+31 8000222493	+31 207132960
Norge	+47 800 16836	+47 21939693
Nya Zeeland	0800-451650	
Österrike	+43 800006249	+43 19286540
Schweiz	+41 565800000	+41 800200442
Singapore	+1.800.579.2745	
Spanien	+34 911899417	+34 800300143
Storbritannien	+44 8000126019	+44 2073057197
Sverige	+46 850619671	+46 200883979
Taiwan	00806651752	
Tyskland	+49 8001014940	+49 8938035677
Övriga länder	+44 1799-534000	

Säkerhetsdatablad (SDS) – Finns på Illuminas webbsida på support.illumina.com/sds.html.

Produktdokumentation – Kan hämtas i PDF-format på Illuminas webbsida. Gå till support.illumina.com, välj en produkt och klicka sedan på **Dokumentation och litteratur**.



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



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

FÖR IN VITRO-DIAGNOSTISKT BRUK

© 2021 Illumina, Inc. Med ensamrätt.

illumina[®]