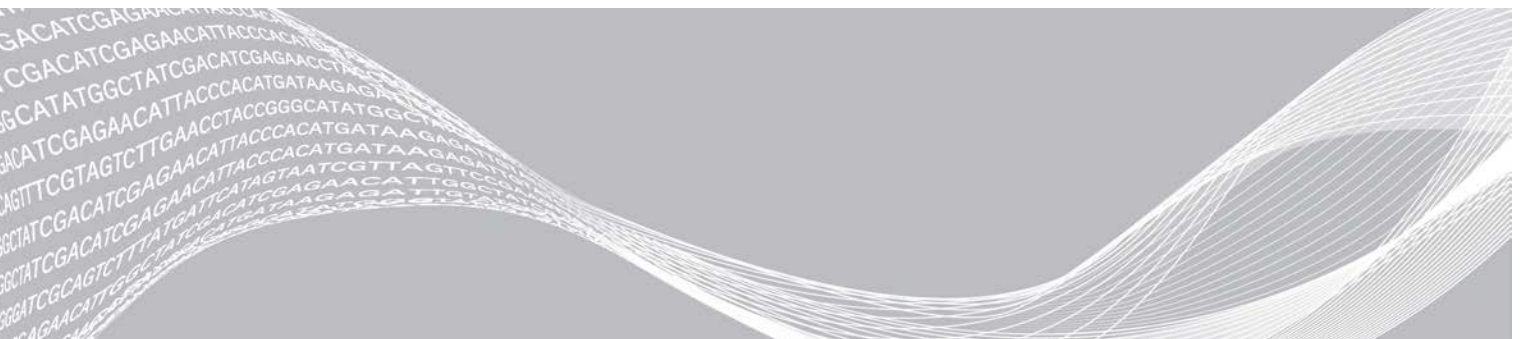


# VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples)

## Brugervejledning



Dette dokument og dets indhold er ophavsretligt beskyttet af Illumina, Inc. og dets datterselskaber ("Illumina") og er udelukkende beregnet til kundens kontraktmæssige brug i forbindelse med anvendelsen af det produkt eller de produkter, som er beskrevet heri, og til intet andet formål. Dette dokument og dets indhold må ikke bruges eller distribueres til noget andet formål og/eller på anden måde kommunikeret, offentliggøres eller reproduceres på nogen som helst måde uden forudgående skriftligt samtykke fra Illumina. Med dette dokument udsteder Illumina ingen licens under sit patent, varemærke, sin copyright eller sædvaneret eller lignende rettigheder for nogen tredjeparter.

Instruktionerne i dette dokument skal følges nøje og fuldstændigt af kvalificerede og behørigt uddannede medarbejdere for at sikre, at det produkt eller de produkter, der er beskrevet heri, anvendes korrekt og sikkert. Alt indhold i dette dokument skal læses grundigt og forstås inden brug af produktet/produkterne.

HVIS ALLE INSTRUKTIONERNE HERI IKKE GENNEMLÆSES FULDT UD OG FØLGES NØJE, KAN DET MEDFØRE SKADE PÅ PRODUKTET ELLER PRODUKTERNE, SKADE PÅ PERSONER, HERUNDER BRUGERE ELLER ANDRE, OG SKADE PÅ ANDEN EJENDOM OG VIL GØRE ENHVER GARANTI GÆLDENDE FOR PRODUKTET ELLER PRODUKTERNE UGYLDIG.

ILLUMINA PÅTAGER SIG INTET ANSVAR SOM FØLGE AF FORKERT BRUG AF DET PRODUKT ELLER DE PRODUKTER, DER ER BESKREVET HERI (HERUNDER DELE HERAF ELLER SOFTWARE).

© 2020 Illumina, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

Alle varemærker tilhører Illumina, Inc. eller de respektive ejere. Specifikke varemærkeoplysninger er tilgængelige på [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## Revisionshistorik

Dokument	Dato	Beskrivelse af ændring
Dokumentnr. 1000000012693 v05	April 2020	Opdateret adresse for EU-godkendt repræsentant.
Dokumentnr. 1000000012693 v04	Juli 2018	Tilføjelse af Procedurens begrænsninger og Bilag B, Metodesammenligningsstudie.
Dokumentnr. 1000000012693 v03	Januar 2017	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Estimat af føtal fraktion – tilføjelse af yderligere præcisering vedrørende estimat af føtal fraktion.</li> <li>• Tabel 4 Meddelelser om ændringer i normal status samt handlingsforespørgsler – tilføjelse af bemærkning til eksemplet på mailindhold i forbindelse med ugyldige prøve-id'er fundet i prøvefilen.</li> <li>• Specifikation af prøvefil samt valideringsregler – udskiftning af indholdet i 2. bemærkning.</li> <li>• Tabel 8 Valideringsregler i forbindelse med prøvefiler ved NGS-mulighed 1 (dataafsnit) – tilføjelse af "Prøve-id'et må ikke indeholde mellemrum. Undlad brug af flere på hinanden følgende understregninger og tankestreger. I version 1.4 må prøve-id'et ikke begynde med et 0 (nul)". til valideringsreglerne i rækken Sample_ID.</li> <li>• Tabel 11 Valideringsregler i forbindelse med prøvefiler ved NGS -mulighed 2 (dataafsnit) - tilføjelse af "Prøve-id'et må ikke indeholde mellemrum. Undlad brug af flere på hinanden følgende understregninger og tankestreger. I version 1.4 må prøve-id'et ikke begynde med et 0 (nul)". til valideringsreglerne i rækken Sample_ID.</li> </ul>
Dokumentnr. 1000000012693 v02	August 2016	Opdateret indhold i forbindelse med udgivelse af v1.4
Dokumentnr. 1000000012693 v01	Juni 2016	<p>Opdateret:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Adresse på den autoriserede repræsentant i Europa og CE IVD-mærke på bagsiden.</li> <li>• Systemoversigt</li> <li>• Sample_ID valideringsregler</li> <li>• Genindsættelse i analysekø for at gøre det mere klart og for at give oplysninger om fejlfinding</li> </ul>
Dokumentnr. 1000000012693 v00	April 2016	Oprindelig udgivelse.

# Indholdsfortegnelse

<b>Kapitel 1</b>	<b>Oversigt</b>	<b>1</b>
	Systemoversigt	1
	Koncepter for VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples)	2
<b>Kapitel 2</b>	<b>Systemdrift</b>	<b>5</b>
	Pålogging	5
	Organisering af data	5
	Sekventeringskørselskompatibilitet	6
	Timeout i arbejdsgange samt krav til lagerkapacitet	6
	Flow af systemdata	7
	Systemlukning	20
<b>Kapitel 3</b>	<b>Analyse og rapportering</b>	<b>21</b>
	Specifikation af prøvefil samt valideringsregler	21
	Demultiplexing og FASTQ-generering	32
	Genindsættelse i analysekø	33
	Arkivering og sikkerhedskopiering af data	35
	Rapportspecifikationer og fortolkning af målinger	36
	Bekræftelse af, at ATMS kører	39
<b>Bilag A</b>	<b>QC -målinger</b>	<b>40</b>
	KK-målinger samt øvre og nedre grænser (NGS-mulighed 1)	41
	KK-målinger samt øvre og nedre grænser (NGS-mulighed 2)	46
<b>Bilag B</b>	<b>Metodesammenligningsstudie</b>	<b>52</b>
	Data fra metodesammenligning	52
	<b>Teknisk hjælp</b>	<b>53</b>

# Oversigt

Systemoversigt .....	1
Koncepter for VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) .....	2

## Systemoversigt

VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) kan fås forudinstalleret på VeriSeq NIPT Analysis Server (16 Samples), Illumina-katalognummer RH-400-1001. Serveren og den forudinstallerede software genererer:

- ▶ En analyseserver med tilstrækkelig kapacitet til at analysere sekventeringsdata, som er genereret af op til 2 NGS-instrumenter (næste generations sekventering). Der er to muligheder i forbindelse med NGS-instrumentet:
  - ▶ En sekventeringsenhed med to flowceller, som anvender flowceller med to baner (NGS-mulighed 1).
  - ▶ En sekventeringsenhed med en enkelt flowcelle, som anvender en flowcelle med fire baner (NGS-mulighed 2).
- ▶ En softwarepakke, der kan analysere BCL-formattede sekventeringsdata genereret af sekventeringssoftware fra biblioteker, som i henhold til cfDNA-sekventeringsprotokoller er klargjort til at registrere føtale aneuploidier på baggrund af kromosomrepræsentation. Softwarepakken indeholder to komponenter:
  - ▶ **Analysis Task Manager Service (ATMS)** – En baggrundstjeneste (daemon) som:
    - ▶ overvåger outputstier for nye kørselsmapper,
    - ▶ analyserer metadata om kørslerne for at sammenligne konfigurationen af sekventeringsparametre med et sæt af forudkonfigurerede analysearbejdsgange,
    - ▶ indlæser den prøvefil, som er knyttet til hver sekventeringskørsel, og som knytter identiteter for de enkelte prøver på en given flowcelle til indekserne,
    - ▶ forbereder input til den analytiske pipeline,
    - ▶ udfører pipelinen,
    - ▶ sporer alle input- og outputdata i en database,
    - ▶ og genererer en kørselsrapport for hver af de individuelle prøver på en flowcelle.
  - ▶ **cADAS** – en analytisk pipeline til detektion af føtal aneuploidi ud fra sekventeringsdata, der er genereret fra cfDNA, der er isoleret fra moderens plasma, som:
    - ▶ analyserer sekventeringsdata i forhold til justering, beregning af dækning, datanormalisering og summering pr. kromosom,
    - ▶ genererer KK-målinger og en godkendelses-, fejl- eller advarselsstatus for hver prøve,
    - ▶ og genererer et resultat, som karakteriserer over- eller underrepræsenteret kromosommateriale for hvert af målkromosomerne.



### BEMÆRK!

Det maksimale antal tilladte mislykkede prøver i et enkelt batch er fire. Batches, som har færre end 11 gyldige prøver, må ikke analyseres.

## Tilsigtet brug

VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) genererer kvantitative resultater til brug i forbindelse med detektion og differentiering af føtal aneuploidistatus for kromosomerne 21, 18, 13, X og Y ved at analysere sekventeringsdata fra cellefrie DNA-fragmenter (cfDNA) isoleret fra maternelle perifere helblodsprøver hos gravide kvinder med et svangerskab på mindst 10 uger.

De kvantitative resultater er z-scores, der er forbundet med en under- eller overrepræsentation af et målkromosom angående en forventning om et diploidgenom.

## Procedurens begrænsninger

- ▶ VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) er beregnet til anvendelse som led i en screeningstest, som ikke bør betragtes uden hensyntagen til andre kliniske fund og testresultater. Ved anvendelse af brugerdefinerede skæringsværdier på dataoutput fra denne software skal der tages hensyn til de relative fordele ved at øge følsomheden på bekostning af specificiteten og omvendt. Der kan ikke opnås både 100 % følsomhed og 100 % specificitet med en enkelt skæringsværdi. Prøver med en relativt lav FF for den sekventeringsdybde, hvorpå de er blevet behandlet, kan i sjældne tilfælde have dataoutput nær tærsklen og kan have lavere præcision.
- ▶ VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) udlæser data, der anvendes til rapportering om følgende:
  - ▶ Overrepræsentation af kromosom 21, 18 og 13
  - ▶ Følgende kønskromosomale aneuploidier: XO, XXX, XXY og XYY
- ▶ VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) er ikke beregnet til rapportering af polyploidier.
- ▶ De algoritmer, der anvendes i VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples), kan konfunderes af visse maternelle og føtale faktorer, inklusive men ikke begrænset til følgende:
  - ▶ Nylig maternel blodtransfusion
  - ▶ Maternel organtransplantation
  - ▶ Maternelt kirurgisk indgreb
  - ▶ Maternel immunbehandling eller stamcellebehandling
  - ▶ Maternel malignitet
  - ▶ Maternel mosaicisme
  - ▶ Begrænset placentar mosaicisme
  - ▶ Fosterdød
  - ▶ Forsvindende tvilling
  - ▶ Føtal partiel trisomi eller partiel monosomi
  - ▶ Føtal mosaicisme

## Koncepter for VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples)

Følgende koncepter og termer er almindelige for VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples).

Koncept	Beskrivelse
cADAS	Analysepipelinesoftware. Et program på serversiden, som bruges til analyse af sekventeringsdata og aneuploididetektion.
cfDNA	Cellefrit DNA er DNA fra både mor og foster, som cirkulerer frit i moderens blodbane. Analyse af cfDNA tilvejebringer en metode til ikke-invasiv prænatal test.
Kørselsmappe	Den mappestruktur, som genereres af NGS-sekventeringsinstrumentet og udfyldes af RTA-analysen (Real-Time Analysis) af primære data.
Prøvefil	En kommasepareret fil (*.csv), som indeholder de oplysninger, der er nødvendige for at opstille og analysere en sekventeringskørsel, herunder en liste over prøver og deres indekssekvenser.
Arbejdsgang	En analytisk proces til at analysere sekventeringskørsler udført på VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples). Arbejdsgangen for hver kørsel er angivet i prøvefilen.

## Oversigt over softwareanalyse

VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) evaluerer testkromosomers kopinummer i forsøgsprøver. Analyseinputtet er 36-base aflæsninger, som er genereret på et NGS-instrument (næste generations sekventering). Aflæsningerne sammenlignes med hele det humane genom. Kun aflæsninger, som passer med en unik position eller et unikt sted i genomet, anvendes til yderligere analyse. Ens aflæsninger fjernes fra analysen. Aflæsningerne filtreres yderligere for at udelade de steder, som er forbundet med høj variation i dækning på tværs af euploidprøver. Manglende dækning justeres via normalisering af GC-indhold samt andre faktorer på subkromosomalt niveau og opsummeres derefter til kromosomal dækning via en robust middelværdi for dækning over kromosomet.

Testkromosomerne omfatter 21, 18 og 13, X og Y. Normaliseret dækning på testkromosomer normaliseres til foruddefinerede referencerkromosomer (denominator-kromosomer) for at oprette forsøgskromosomforholdet (R). De foruddefinerede denominator-kromosomer er optimeret med henblik på at reducere variansen maksimalt i kromosomforholdene for euploidprøver. Kromosomforholdene for testprøver konverteres til normaliserede kromosomværdier (NCV'er) ved at korrigere middelværdien for det flowcellejusterede forhold og skalering af foruddefineret, forventet variation i normale euploidprøver (estimeret fra træningsdata).

**Figur 1** Eksempel på forsøgskromosomforhold (R)

$$R = \frac{\text{X}^{21}}{\text{X}^4 + \text{X}^7 + \text{X}^{15} \dots}$$

Den normaliserede kromosomværdi (NCV) bestemmes i henhold til den ligning, der vises i [Figur 2](#). NCV-værdien svarer til en z-score. En z-score beskriver forskellen mellem en værdi og populationsmiddelværdien i forhold til standardafvigelsen. Grænsen for at kalde en prøve upåvirket eller påvirket på baggrund af NCV bestemmes af kunderne før den kliniske validering af arbejdsgangen, og den kan justeres ud fra resultatet af den kliniske valideringsundersøgelse.

**Figur 2** Eksempel på normaliseret kromosomværdi (NCV)

$$NCV_{ik} = \frac{R_{ik} - \overline{R_{U_i}}}{\sigma_{U_i}}$$

$i$  – Kromosom

$k$  – Prøve

$U$  – Upåvirket prøve

$R_{ik}$  – Kromosomforholdet  $i$  i den  $k$ -ende prøve

$\overline{R_{U_i}}$  – Flowcellejusteret middelværdi for kromosomforholdet

$\sigma_{U_i}$  – Standardafvigelse for kromosomforholdet  $i$  i de upåvirkede prøver fra træningsdatasættet

## Estimat af føtal fraktion

Føtal fraktion angiver procenten af cellefrit, cirkulerende DNA i en blodprøve fra moderen, som er indhentet fra placenta. VeriSeq NIPT Analysis Software beregner estimatet af føtal fraktion på baggrund af forskelle i genomisk dækning mellem maternelt og føtalt cfDNA.<sup>1</sup>

VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) anvender statistik, som bliver genereret i forbindelse med sekventeringen, til at give et føtalt fraktionsestimat (FEE) for hver prøve. FEE udgør den estimerede føtale cfDNA-komponent, som analysen finder, og bliver rapporteret som en afrundet procentdel for hver prøve. Den gennemsnitlige standardafvigelse for dette estimat på tværs af alle prøver er 2 %. FEE må ikke anvendes isoleret til at ekskludere prøver i forbindelse med rapportering af resultater.

---

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



# Systemdrift

Pålogging .....	5
Organisering af data .....	5
Sekventeringskørselskompatibilitet .....	6
Timeout i arbejdsgange samt krav til lagerkapacitet .....	6
Flow af systemdata .....	7
Systemlukning .....	20

## Pålogging

Den analytiske server er konfigureret som en Linux CentOS 6.6-maskine med en sbsuser-konto.

Det er ikke en del af den normale drift at logge på en server. Det kræves kun i forbindelse med genstart eller nedlukning.

Log på serveren via en terminal eller en ssh-forbindelse med de oprindelige forudangivne legitimationsoplysninger:

- ▶ **User Name** (brugernavn) – sbsuser
- ▶ **Password** (adgangskode) – Send en mail til Illuminas tekniske support for at få en adgangskode.
- ▶ **Group** (gruppe) – sbsuser

## Organisering af data

I forbindelse med den analytiske server er der konfigureret en netværksdelingstjeneste, som gør det muligt at få adgang til harddisken fra Windows-systemer via en samba-delingsprotokol. Det forudangivne brugernavn og den oprindelige adgangskode for samba-shares er 'sbsuser' og 'sbs123'. Diskdeling for denne brugerkonto via samba-protokollen gør det muligt at få adgang til følgende shares:

Placering på Linux-serveren	Sharenavn	Brugernavn	Oprindelig adgangskode	Adgangsrettigheder
/data01/runs	kørsler	sbsuser	Send en mail til Illuminas tekniske support for at få en adgangskode.	Læse/skrive
/data01/analysis_output	analysis_output	sbsuser	Send en mail til Illuminas tekniske support for at få en adgangskode.	Læse

Under konfigurationen af sekventeringskørslen angives outputtet til biblioteket runs (kørsler). Gå til \\<SERVER.IP.ADDRESS>\runs via skærmbillederne med kørselskonfiguration i sekventeringsinstrumentets kontrolsoftware, hvor <SERVER.IP.ADDRESS> er den lokale servers IP- adresse.

Biblioteket for analyseoutputtet indeholder rapporter for alle flowceller, som er behandlet i den analytiske cfDNA-arbejdsgang. I systemet organiseres rapporterne efter det oprindelige kørselsmappenavn, der blev genereret af sekventeringssoftwaren, og analysedatoen og -tidspunktet føjes til navnet.

Analysen af kørsel 140806\_SN7001227\_0199\_AHABHTADXX genererer for eksempel en outputmappe med navnet 140806\_SN7001227\_0199\_AHABHTADXX\_140806\_230337.

Brug det standardformat for kørselmappenavnet, som sekventeringssystemet giver. VeriSeq NIPT Analysis Software kræver, at kørselmappenavnet kun indeholder følgende alfanumeriske tegn: a-z, A-Z, 0-9 samt understregningstegnet ("\_"). Hverken mellemrum eller andre tegn er tilladt.

## Sekventeringskørselskompatibilitet

Serveren analyserer kun sekventeringskørsler, som er kompatible med arbejdsgangen for cfDNA-analyse. Konfigurer sekventering ved hjælp af kompatible læseparametre.

I forbindelse med NGS-mulighed 1:

- ▶ **Aflæsning 1** – 36 baser
- ▶ **Indeks 1 (i7)** – 7 baser

I forbindelse med NGS-mulighed 2:

- ▶ **Aflæsning 1** – 36 baser
- ▶ **Indeks 1 (i7)** – 6 baser

Brug kun kompatible sekventeringsmetoder og softwareversioner for at generere basecellerne.



### BEMÆRK!

Målinger af sekventeringsdata bør regelmæssigt overvåges for at sikre, at kvaliteten af dataene er inden for specifikationerne.

**Tabel 1 Kompatible sekventeringsmetoder og softwareversioner i forbindelse med NGS-mulighed 1**

Parameter	Kompatibel værdi
SBS	Sæt til TruSeq Rapid SBS TruSeq Rapid SBS Kit v1 eller HiSeq Rapid SBS Kit v2
Index (indeks)	Sæt til TruSeq Rapid SR Cluster TruSeq Rapid SR Cluster Kit v1 eller HiSeq Rapid SR Cluster Kit v2
Clustering Choice (clustervalg)	OnBoardClustering
Application Name (programnavn)	HiSeq-kontrolsoftware
Application Version (programversion)	2.0.12 eller 2.2.38 eller 2.2.58
FPGA Version (FPGA-version)	3.10.3 eller 7.7.2.5 eller 7.9.7
RTA Version (RTA-version)	1.17.21 eller 1.18.61 eller 1.18.64

**Tabel 2 Kompatible sekventeringsmetoder og softwareversioner i forbindelse med NGS-mulighed 2**

Parameter	Kompatibel værdi
Application Name (programnavn)	NextSeq-kontrolsoftware
Application Version (programversion)	1.3.0 eller 2.0.0 eller 2.1.0
RTA Version (RTA-version)	2.1.3 eller 2.4.6 eller 2.4.11

## Timeout i arbejdsgange samt krav til lagerkapacitet

Arbejdsgangen for cfDNA-analyse er underlagt følgende begrænsninger med hensyn til timeout og lagerkapacitet.

**Tabel 3 Timeout i arbejdsgange samt krav til lagerkapacitet**

Parameter	Standardværdi
Maximum Run Parameters Wait Time (Maks. ventetid for kørselsparametre)	4 timer
Maximum Sequencing Time (Maks. tid for sekventering)	20 timer

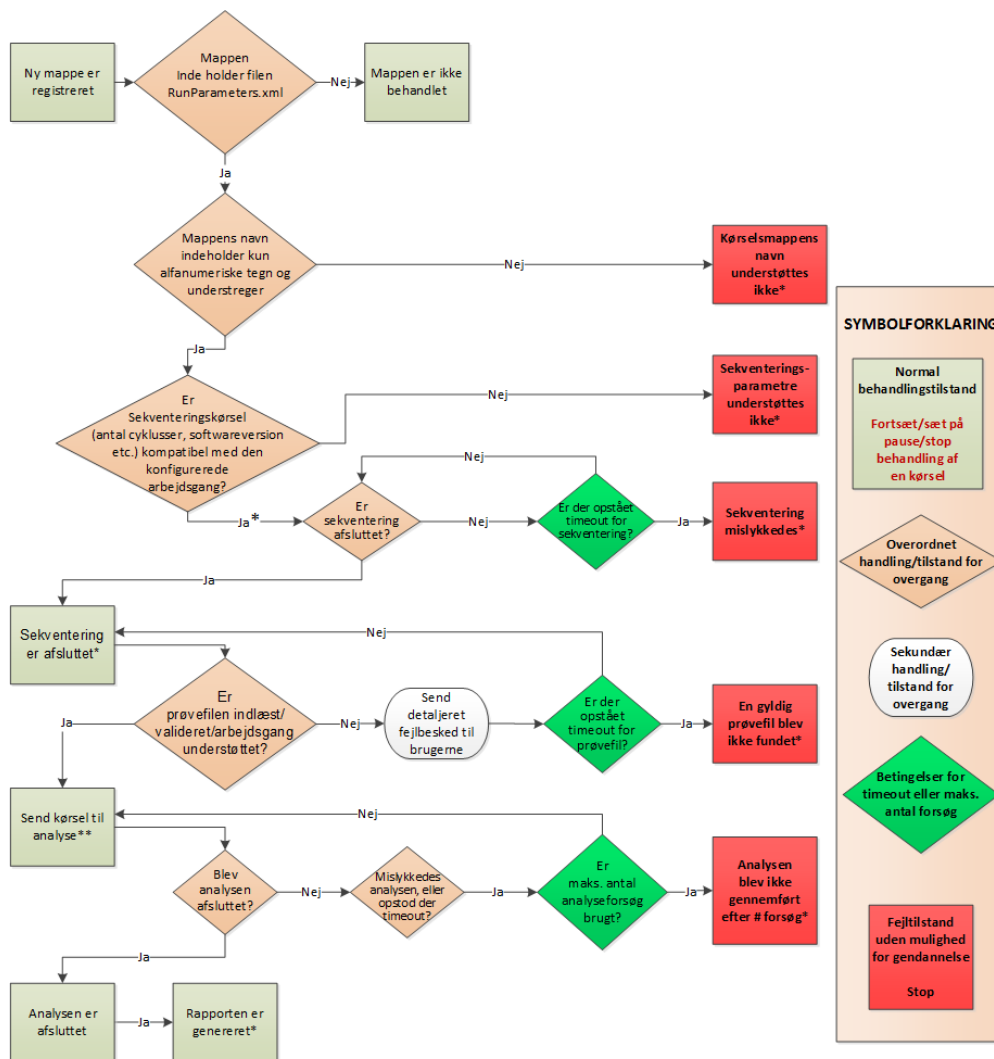
Parameter	Standardværdi
Maximum Sample Sheet Wait Time (Maks. ventetid for prøvefil)	96 timer
Maximum Analysis Time (Maks. tid for analyse)	3,5 timer
Minimum Scratch Space Storage (Minimumslagerkapacitet; scratchplads til midlertidig lagring)	200 GB

## Flow af systemdata

Under normale forhold sender ATMS besked om sekventeringskørsler og analysestatus til brugerne via et mailsystem. Figur 3 viser dataflow gennem systemet og tilstande med tilknyttede mailbeskeder.

- ▶ **Grå rektangler** – Normale behandlingstilstande
- ▶ **Romber** – Primære tilstande for overgang til næste tilstand
- ▶ **Ovaler** – Sekundære tilstande for overgang til næste tilstand
- ▶ **Røde rektangler** – Fejltilstande

Figur 3 Datarutediagram



\* Systemet genererer mailbeskeder.

\*\* Hvis der er utilstrækkelig lagerkapacitet på serveren, genererer systemet en mailbesked.

Under normal behandling vil **ATMS**:

- ▶ overvåge standardbiblioteket (/data01/runs) med henblik på nye sekventeringskørsler. Nye sekventeringskørsler defineres som mapper, der indeholder filen runParameters.xml **[NGS-mulighed 1]** eller filen RunParameters.xml **[NGS-mulighed 2]**.
- ▶ verificere kompatibiliteten mellem sekventeringsparametre og foruddefinerede analysearbejdsgange.
- ▶ indlæse prøvefilen,
- ▶ planlægge og udføre analysebehandling for at generere endelige rapporter.

Der foretages analyse på én flowcelle ad gangen. Yderligere flowceller, som afventer analyse, sættes i kø på serveren og fortsætter gennem analyse i den rækkefølge, de indlæses.

## Systemmeddelelser

Systemet sender mails til enkeltpersoner eller grupper, som er angivet under installationen af serveren. Illumina anbefaler at bruge mailgrupper, som mailadministratoren kan ændre. Hvis systemet er konfigureret til at bruge mailadresser for enkeltpersoner, kræves det, at mailkonfigurationen på analyseserveren skal ændres i de tilfælde, hvor en bruger ændres. Mails angiver status under normal drift og giver besked til brugeren, hvis der er opstået fejl under analysen.

**Tabel 4** beskriver de forskellige mailbeskeder, systemet sender. Det er nødvendigt at følge de navngivningskonventioner, der anvendes i tabellen, for at VeriSeq NIPT Analysis Software kan importere NGS-outputfilerne.



### **BEMÆRK**

Sørg for, at dine indstillinger for spam tillader mails fra serveren. Der sendes mailbeskeder fra en konto med navnet `atms@<customer email domain>`, hvor `<customer email domain>` angives af dit lokale it-team, når serveren installeres.

Tabel 4 Meddelelser om ændringer i normal status samt handlingsforespørgsler

Betingelse	Normal/advarsel/fejl	Eksempel på mailindhold
<p>Sekventering startet. Denne meddelelse sendes, når serveren registrerer en ny kørselsmappe. Kørselsmappen indeholder kørselsparameterfilen, som angiver, at sekventeringen er startet med korrekte sekventeringsparametre. Navn på kørselsparameterfil: <b>[NGS-mulighed 1]</b> runParameters.xml <b>[NGS-mulighed 2]</b> RunParameters.xml</p>	Normal drift	<p>Sequencing Run Folder Name (navn på sekventeringskørselsmappe): 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX Sequencing Run Status: Sequencing started (status for sekventeringskørsel: Sekventering begyndt) Sequencing Start Time (starttid for sekventering): 2014-05-12 08:15 PDT Sequencing Complete Time (sluttid for sekventering): NA (ikke relevant) Workflow Name (navn på arbejdsgang): NA (ikke relevant) Analysis Scheduled Time (planlagt tid for analyse): NA (ikke relevant) Analysis Start Time (starttid for analyse): NA (ikke relevant) Analysis Finish Time (sluttid for analyse): NA (ikke relevant) Analysis Output Directory (outputbibliotek for analyse): NA (ikke relevant)</p>
<p>Sekventeringskørsel afsluttet.</p>	Normal drift	<p>Sequencing Run Folder Name (navn på sekventeringskørselsmappe): 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX Sequencing Run Status: Sequencing completed (status for sekventeringskørsel: Sekventering afsluttet) Sequencing Start Time (starttid for sekventering): 2014-05-12 08:15 PDT Sequencing Complete Time (sluttid for sekventering): 2014-05-12 08:16 PDT Workflow Name (navn på arbejdsgang): NA (ikke relevant) Analysis Scheduled Time (planlagt tid for analyse): NA (ikke relevant) Analysis Start Time (starttid for analyse): NA (ikke relevant) Analysis Finish Time (sluttid for analyse): NA (ikke relevant) Analysis Output Directory (outputbibliotek for analyse): NA (ikke relevant)</p>

Betingelse	Normal/advarsel/fejl	Eksempel på mailindhold
Sekventeringskørselsparametre understøttes ikke.	Fejl (kan ikke gendannes)	Sequencing run parameters for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' are not supported by any of the configured workflows (sekventeringskørselsparametre for sekventeringskørsel "140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX" understøttes ikke af nogen af de konfigurerede arbejdsgange). This sequencing run folder will not be processed further (denne sekventeringskørselsmappe vil ikke blive behandlet yderligere). See the following errors (se følgende fejl): Workflow Name (navn på arbejdsgang): <b>[NGS-mulighed 1]</b> cfDNAHiSeqv1.0 <b>[NGS-mulighed 2]</b> cfDNANextSeqv1.0 Mismatching Sequence Run Parameters found: NumCycles2, NumIndexed2 (fejlpårrede parametre for sekvenskørsel fundet: NumCycles2, NumIndexed2) Found NumCycles2 value: 10, expected value: 7 (Fundet NumCycles2-værdi: 10, forventet værdi: 7) Found NumIndexed2 value: 10, expected value: 7 (Fundet NumIndexed2 værdi: 10, forventet værdi: 7)
Forkert flowcellestregkode fundet i prøvefilen.	Advarsel (kan gendannes inden for 96 timer)	The sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' found in the sequencing run folder generated the following error (prøvefilen for sekventeringskørslen "140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX" fundet i sekventeringskørselsmappen genererede følgende fejl): The flow cell ID (barcode) recorded in the sample sheet ('Experiment Name' slot) is '' (det flowcelle-id (stregkode), der er registreret i prøvefilen (feltet "Eksperimentnavn"), er ""). This barcode is required to be identical to the barcode associated with the run folder 'H8HT6ADXX' (denne stregkode skal være identisk med den stregkode, som er knyttet til kørselsmappen "H8HT6ADXX"). Please correct the error in order to proceed with analysis (ret fejlen for at fortsætte med analysen). The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute (prøvefilen uploades igen om ca. 1 minut). The sample sheet is located in the run folder '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' (prøvefilen findes i kørselsmappen '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX').

Betingelse	Normal/advarsel/fejl	Eksempel på mailindhold
Ikke-understøttet arbejdsgang er angivet i overskriften for "Description" (beskrivelse) i prøvefilen.	Advarsel (kan gendannes inden for 96 timer)	<p>The sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' found in the sequencing run folder generated the following error (prøvefilen for sekventeringskørslen "140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX" fundet i sekventeringsmappen genererede følgende fejl):</p> <p>The workflow indicated in the sample sheet 'NIPT template1' is not supported by any of the configured workflows (den arbejdsgang, der er angivet i prøvefilen "NIPT template1", understøttes ikke af nogen af de konfigurerede arbejdsgange).</p> <p>The supported workflow names are (de understøttede navne på arbejdsgange er):</p> <p><b>[NGS-mulighed 1]</b> cfDNAHiSeqv1.0  <b>[NGS-mulighed 2]</b> cfDNANextSeqv1.0</p> <p>Please correct the error in order to proceed with analysis (ret fejlen for at fortsætte med analysen).</p> <p>The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute (prøvefilen uploades igen om ca. 1 minut).</p> <p>The sample sheet is located in the run folder  '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' (prøvefilen findes i kørselsmappen  '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX').</p>

Betingelse	Normal/advarsel/fejl	Eksempel på mailindhold
Manglende SampleSheet.csv-fil i sekventeringskørselsmappen.	Advarsel (kan gendannes inden for 96 timer)	<p>The sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' in the sequencing run folder generated the following error (prøvefilen for sekventeringskørslen "140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX" i sekventeringskørselsmappen genererede følgende fejl):</p> <pre>'/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX/SampleSheet.csv (No such file or directory)' ('/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX/SampleSheet.csv (ingen fil eller intet bibliotek)').</pre> <p>Please correct the error in order to proceed with analysis (ret fejlen for at fortsætte med analysen). The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute (prøvefilen uploades igen om ca. 1 minut).</p> <p>The sample sheet is located in the run folder '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (prøvefilen findes i kørselsmappen '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX).</p>



Betingelse	Normal/advarsel/fejl	Eksempel på mailindhold
Ugyldige prøve-id'er fundet i prøvefilen	Fejl (kan gendannes ved at rette prøve-id'er)	<p>Parsing the sample sheet for sequencing run '160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX' in the sequencing run folder generated the following error(s): Error: Invalid Sample IDs found (contain characters other than alpha-numeric / dashes / underscores) (Parsing af prøvefilen til sekventeringskørsel '160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX' i sekventeringskørselsmappen genererede følgende fejl: Fejl: ugyldige prøve-id'er fundet (indeholder andre tegn end alfanumeriske tegn/tankestreger/understreger)). Invalid Sample ID values are: Plasma Control (ugyldige prøve-id-værdier er: Plasmakontrol).</p> <p>Correct the error to proceed with analysis (ret fejlen for at fortsætte med analysen). The sample sheet will be uploaded again in approximately 1.0 minute (prøvefilen uploades igen om ca. 1 minut).</p> <p>Sample sheet should be located in the run folder '/data01/runs/160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX' (prøvefilen skal placeres i kørselsfolderen '/data01/runs/160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX').</p> <p>Bemærk: Denne fejl bliver genereret, hvis der inkluderes ugyldige tegn, herunder mellemrum, i prøvefilen.</p>
Manglende overskrift i prøvefilen.	Advarsel (kan gendannes inden for 96 timer)	<p>Attempt to load sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' generated the following error (forsøg på at indlæse prøvefilen for sekventeringskørslen "140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX" genererede følgende fejl): Error: Invalid Sample Sheet Header (Fejl: ugyldig overskrift i prøvefil). Missing required fields: Description (manglende påkrævede felter: Beskrivelse)</p> <p>Please correct the error in order to proceed with analysis (ret fejlen for at fortsætte med analysen). The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute (prøvefilen uploades igen om ca. 1 minut).</p> <p>The sample sheet is located in the run folder '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (prøvefilen findes i kørselsmappen '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX).</p>

Betingelse	Normal/advarsel/fejl	Eksempel på mailindhold
Ens indekxsværdier angivet i prøvefilen	Fejl (kan gendannes ved at rette prøvefilen)	<p>Parsing the sample sheet for sequencing run '140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2' in the sequencing run folder generated the following error(s):  Error: Duplicate Index value found: ACTGAT (A025) for Lane: 1 (Parsing af prøvefilen til sekventeringskørsel '140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2' i sekventeringskørsselfolderen genererede følgende fejl:  Fejl: Ens indekxsværdi fundet: ACTCAT (A025) i bane: 1  Invalid sample record found: S109_S109__A7_A025_ACTGAT__Test_62 for Index: ACTGAT (ugyldigt prøveregister fundet: S109_S109__A7_A025_ACTGAT__Test_62 for Indeks: ACTGAT  Duplicate Index value found: ATTCCT (A027) for Lane: 1 (ens indekxsværdi fundet: ATTCCT for bane: 1)  Invalid sample record found: S113_S113__B7_A027_ATTCCT__Test_62 for Index: ATTCCT (ugyldigt prøveregister fundet: S113_S113__B7_A027_ATTCCT__Test_62 for Indeks: ATTCCT)  Duplicate Index value found: ACTGAT (A025) for Lane: 2 (ens indekxsværdi fundet: ACTGAT (A025) for bane: 2  Invalid sample record found: S109_S109__A7_A025_ACTGAT__Test_62 for Index: ACTGAT (ugyldigt prøveregister fundet: S109_S109__A7_A025_ACTGAT__Test_62 for Indeks: ACTGAT  Duplicate Index value found: ATTCCT (A027) for Lane: 2 (ens indekxsværdi fundet: ATTCCT for bane: 1)  Invalid sample record found: S113_S113__B7_A027_ATTCCT__Test_62 for Index: ATTCCT (ugyldigt prøveregister fundet: S113_S113__B7_A027_ATTCCT__Test_62 for Indeks: ATTCCT)  Correct the error to proceed with analysis (ret fejlen for at fortsætte med analysen). The sample sheet will be uploaded again in approximately 1.0 minute (prøvefilen uploades igen om ca. 1 minut).  Sample sheet should be located in the run folder  '/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2' (prøvefilen skal være i kørselsfolderen  '/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2')</p>

Betingelse	Normal/advarsel/fejl	Eksempel på mailindhold
Manglende eller ugyldig baneværdi (kun NGS, mulighed 1)	Fejl (kan gendannes ved at rette prøve-id'er)	<p>Parsing the sample sheet for sequencing run '140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY' in the sequencing run folder generated the following error(s): (parsing af prøvefilen til sekventeringskørsel '140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY' i sekventeringskørselsfilen genererede følgende fejl:)</p> <p>Error: Invalid Lane value found at row: 47 (fejl: ugyldig baneværdi fundet i række: 47). Invalid value: Invalid Lane value found at row: 47 (ugyldig værdi: ugyldig baneværdi fundet i række: 47).</p> <p>Invalid value: Invalid Sample IDs found (contain characters other than alpha-numeric / dashes / underscores) (ugyldig værdi: ugyldige prøve-id'er fundet (indeholder andre tegn end alfanumeriske tegn/tankestreger/understreger). Invalid Sample ID values are: &lt;blank&gt; (ugyldige prøve-id-værdier er: &lt;tomme&gt;)</p> <p>Correct the error to proceed with analysis (ret fejlen for at fortsætte med analysen). The sample sheet will be uploaded again in approximately 1.0 minute (prøvefilen uploades igen om ca. 1 minut).</p> <p>Sample sheet should be located in the run folder '/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY' (prøvefilen skal være i kørselsfolderen '/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY').</p>

Betingelse	Normal/advarsel/fejl	Eksempel på mailindhold
Sekventeringskørslen mislykkedes. Ingen RTA-fuldført-fil. Denne meddelelse sendes, når RTA-fuldført-filen ikke er fundet efter 20 timer.	Fejl (kan ikke gendannes – filen RTAComplete.txt efter maksimalt 20 timers ventetid)	Sequencing Run Folder Name (navn på sekventeringskørselsmappe): 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_D12_NO_RTAComplete_TC_SC_3 Sequencing Run Status: Failed sequencing (status for sekventeringskørsel: Sekventering mislykkedes) Sequencing Start Time (starttid for sekventering): 2014-05-12 19:45 PDT Sequencing Complete Time (sluttid for sekventering): NA (ikke relevant) Workflow Name (navn på arbejdsgang): NA (ikke relevant) Analysis Scheduled Time (planlagt tid for analyse): NA (ikke relevant) Analysis Start Time (starttid for analyse): NA (ikke relevant) Analysis Finish Time (sluttid for analyse): NA (ikke relevant) Analysis Output Directory (outputbibliotek for analyse): NA (ikke relevant)
Analyse startet. Denne meddelelse sendes, når analysen starter. Den vises, efter at meddelelsen om fuldført RTA er vist, hvilket starter analysen. Analysen tager 1-2 timer at køre.	Normal drift	Sequencing Run Folder Name (navn på sekventeringskørselsmappe): 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX Sequencing Run Status: Analysis started (status for sekventeringskørsel: Analyse begyndt) Sequencing Start Time (starttid for sekventering): 2014-05-12 19:45 PDT Sequencing Complete Time (sluttid for sekventering): 2014-05-12 19:55 PDT Workflow Name (navn på arbejdsgang): <b>[NGS-mulighed 1]</b> cfDNAHiSeqv1.0 <b>[NGS-mulighed 2]</b> cfDNANextSeqv1.0 Analysis Scheduled Time (planlagt tidspunkt for analyse): 2014-05-12 20:05 PDT Analysis Start Time (starttid for analyse): 2014-05-12 20:06 PDT Analysis Finish Time (sluttid for analyse): NA (ikke relevant) Analysis Output Directory (outputbibliotek for analyse): NA (ikke relevant)

Betingelse	Normal/advarsel/fejl	Eksempel på mailindhold
Analyse mislykkedes Systemet genbehandler automatisk kørslen tre gange.	Advarsel (kan gendannes ved forsøg på at køre analysen igen – ATMS sætter en kørsel i kø igen op til tre gange)	Sequencing Run Folder Name (navn på sekventeringskørselsmappe): 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX Sequencing Run Status: Analysis failed (status for sekventeringskørsel: Analyse mislykkedes). It will automatically be restarted to reprocess the run (den startes igen automatisk for at genbehandle kørslen). Sequencing Start Time (starttid for sekventering): 2014-05-11 08:26 PDT Sequencing Complete Time (sluttid for sekventering): 2014-05-11 08:27 PDT Workflow Name (navn på arbejdsgang): <b>[NGS-mulighed 1]</b> cfDNAHiSeqv1.0 <b>[NGS-mulighed 2]</b> cfDNANextSeqv1.0 Analysis Scheduled Time (planlagt tidspunkt for analyse): 2014-05-11 08:47 PDT Analysis Start Time (starttid for analyse): 2014-05-11 08:57 PDT Analysis Finish Time (sluttid for analyse): 2014-05-11 08:59 PDT Analysis Output Directory (outputbibliotek for analyse): NA (ikke relevant)

Betingelse	Normal/advarsel/fejl	Eksempel på mailindhold
Det maksimale antal analyseforsøg mislykkedes. Denne meddelelse sendes efter det tredje mislykkede forsøg.	Fejl (kan ikke gendannes)	Sequencing Run Folder Name (navn på sekventeringskørselsmappe): 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_TC_A_3 Sequencing Run Status: Maximum number of analysis attempts were exhausted (status for sekventeringskørsel: Maksimum antal analyseforsøg er opbrugt). Kontakt Illuminas tekniske support. Sequencing Start Time (starttid for sekventering): 2014-05-13 07:00 PDT Sequencing Complete Time (sluttid for sekventering): 2014-05-13 07:01 PDT Workflow Name (navn på arbejdsgang): <b>[NGS-mulighed 1]</b> cfDNAHiSeqv1.0 <b>[NGS-mulighed 2]</b> cfDNANextSeqv1.0 Analysis Scheduled Time (planlagt tidspunkt for analyse): 2014-05-13 07:09 PDT Analysis Start Time (starttid for analyse): 2014-05-13 07:11 PDT Analysis Finish Time (sluttid for analyse): 2014-05-13 07:12 PDT Analysis Output Directory (outputbibliotek for analyse): NA (ikke relevant)
Navn på kørselsmappe indeholder ugyldige tegn.	Fejl (kan gendannes ved at fjerne ugyldige tegn)	Invalid Sequencing Run Folder name found: '140207 D00409 0027 AH8HT6ADXX' The Sequencing Run Folder name can only contain the following alphanumeric characters: a-z, A-Z, 0-9, and underscores ("_"). (Ugyldigt navn for sekventeringskørselsmappe fundet: '140207 D00409 0027 AH8HT6ADXX' Sekventeringskørselsmappens navn må kun indeholde følgende alfanumeriske tegn: a-z, A-Z, 0-9 og understreg ("_")) Hverken mellemrum eller andre tegn er tilladt. This sequencing run folder will not be processed further (denne sekventeringskørselsmappe vil ikke blive behandlet yderligere). Correct the run folder name to requeue for analysis (ret mappenavnet for at sætte analysen i kø igen).

Betingelse	Normal/advarsel/fejl	Eksempel på mailindhold
Der blev genereret en cfDNA-sekventeringsrapport.	Normal drift	<p>Sequencing Run Folder Name (navn på sekventeringskørselsmappe): 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX</p> <p>Sequencing Run Status: Reports generated (status for sekventeringskørsel: Rapporter genereret)</p> <p>Sequencing Start Time (starttid for sekventering): 2014-05-12 19:45 PDT</p> <p>Sequencing Complete Time (sluttid for sekventering): 2014-05-12 19:55 PDT</p> <p>Workflow Name (navn på arbejdsgang):  <b>[NGS-mulighed 1]</b> cfDNAHiSeqv1.0  <b>[NGS-mulighed 2]</b> cfDNANextSeqv1.0</p> <p>Analysis Scheduled Time (planlagt tidspunkt for analyse): 2014-05-12 20:05 PDT</p> <p>Analysis Start Time (starttid for analyse): 2014-05-12 20:06 PDT</p> <p>Analysis Finish Time (sluttid for analyse): 2014-05-12 21:24 PDT</p> <p>Analysis Output Directory (outputbibliotek for analyse):  /data01/analysis_output/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_140512_200514</p>

## Systemlukning

### Gendannelse efter uventet lukning

I tilfælde af strømafbrydelse eller brugerens utilsigtede nedlukning under analysekørslen vil systemet:

- ▶ automatisk genstarte softwaren ved genopstart
- ▶ genkende den senest kørende analyse på tidspunktet for nedlukningen som mislykket og gensende den til behandlingskøen.
- ▶ Generere output, når analysen er fuldført.



#### **BEMÆRK**

Hvis analysen mislykkes, tillader softwaren, at systemet gensender analysekørslen op til 3 gange.



# Analyse og rapportering

Specifikation af prøvefil samt valideringsregler .....	21
Demultiplexering og FASTQ-generering .....	32
Genindsættelse i analysekø .....	33
Arkivering og sikkerhedskopiering af data .....	35
Rapportspecifikationer og fortolkning af målinger .....	36
Bekræftelse af, at ATMS kører .....	39

## Specifikation af prøvefil samt valideringsregler

I dette afsnit beskrives oprettelse af prøvefilen, som er påkrævet i forbindelse med analyse af en kørselsmappe ved brug af VeriSeq NIPT Analysis Software. Følg instruktionerne for den NGS-mulighed, du anvender.



### BEMÆRK

Kontrollér, at prøve-id'et, som knyttes til de forbundne indeks, er korrekt. Korrekt tilknytning er nødvendig for at bevare prøveintegriteten. Bed en anden person end den, der oprettede prøvefilen, om at bekræfte filen, før sekventeringen påbegyndes. Eventuelle fejl i forbindelse med tilpasning af prøverne til de relevante indeks, kan føre til ukorrekte resultater for ikke-identificerede prøver.



### BEMÆRK

Der skal altid inkluderes en proceskontrol og en negativ (ingen skabelon) kontrol i prøvebatchen. Proceskontrollen (men ikke den negative kontrol) skal føjes til bibliotekspuljen og identificeres som prøvetypekontrol i prøvefilen. Den negative kontrol skal ikke føjes til prøvebatchen eller prøvefilen.

## NGS-mulighed 1

VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) skal bruge en prøvefil til hver enkelt flowcelle. I forbindelse med arbejdsgangen for NGS-mulighed 1 uploades prøvefilerne under sekventeringskonfigurationen og placeres i outputmappen under navnet "SampleSheet.csv". Prøvefilen er en kommasepareret fil, som indeholder to afsnit: en overskrift, som indeholder informationer på kørselsniveau, og et dataafsnit, som indeholder prøvespecifikke oplysninger. I forbindelse med NGS-mulighed 1 anvendes en flowcelle med 2 baner. Den samme prøvepulje køres i begge baner (1 og 2). Ved indtastning af prøveoplysningerne i prøvefilen, skal hvert prøve-id, hver brønd og hver indekskombination angives i både bane 1 og 2. Prøve-id'et, brønden og indekskombinationen i en bane skal være unik(t).

Kontrollér, at tilknytningen af prøve-id'et til de forbundne indeks er korrekt. Korrekt tilknytning er nødvendig for at bevare prøveintegriteten.

Se [Tabel 5](#) og [Tabel 6](#) for at få eksempler på overskrifter og dataafsnit i prøvefiler.



### BEMÆRK

Det er nødvendigt at følge de navngivningskonventioner, der anvendes i følgende tabel, for at VeriSeq NIPT Analysis Software kan importere NGS-outputfilerne.

**Tabel 5 Eksempel på prøvefil i forbindelse med NGS-mulighed 1 (overskriftsafsnit)**

[Overskrift]	
IEMFileVersion	4
Investigator Name (undersøgers navn)	
Experiment Name (eksperimentnavn)	H9KY7ADXX
Date (dato)	
Workflow (arbejdsgang)	GenerateFASTQ
Application (program)	HiSeq FASTQ Only
Assay (analyse)	TruSeq LT
Description (beskrivelse)	cfDNAHiSeqv1.0
Chemistry (kemi)	Default (standard)
[Aflæsninger]	
	36
[Indstillinger]	



**BEMÆRK**

I overskriftsafsnittet i prøvefilen skal der stå det nøjagtige flowcelle-id (store bogstaver) i feltet Experiment Name (eksperimentnavn), og der skal stå "cfDNAHiSeqv1.0" i feltet Description (beskrivelse).

Tabel 6 Eksempel på prøvefil i forbindelse med NGS-mulighed 1 (dataafsnit)

[Data]										
Lane (bane)	Sample_ID (prøve-id)	Sample_Name (prøvenavn)	Sample_Plate (prøveplade)	Sample_Well (prøvebrønd)	I7_Index_ID (I7_Indeks_id)	Index (indeks)	Sample_Project (prøveprojekt)	Description (beskrivelse)	SampleType (prøvetype)	Library_nM (bibliotek_nM)
1	Sample1	Sample1		A1	A002	CGATGT			Test	80,87774
1	Sample2	Sample2		B1	A005	ACAGTG			Test	75,3396
1	Sample3	Sample3		C1	A007	CAGATC			Test	87,35632
1	Sample4	Sample4		D1	A012	CTTGTA			Test	68,02508
1	Sample5	Sample5		E1	A013	AGTCAA			Test	97,49216
1	Sample6	Sample6		F1	A014	AGTTCC			Test	93,20794
1	Sample7	Sample7		G1	A018	GTCCGC			Test	63,63636
1	Sample8	Sample8		H1	A019	GTGAAA		Mislykket bibliotek	Test	5,2
1	Sample9	Sample9		A2	A001	ATCACG			Test	84,6395
1	Sample10	Sample10		B2	A003	TTAGGC			Test	81,5047
1	Sample11	Sample11		C2	A008	ACTTGA			Test	78,78788
1	Sample12	Sample12		D2	A010	TAGCTT			Test	83,17659
1	Sample13	Sample13		E2	A020	GTGGCC			Test	79,62382
1	Sample14	Sample14		F2	A022	CGTACG			Test	62,59143
1	Control-ID	Control-ID		G2	A025	ACTGAT			Kontrol	65,20376
2	Sample1	Sample1		A1	A002	CGATGT			Test	80,87774
2	Sample2	Sample2		B1	A005	ACAGTG			Test	75,3396
2	Sample3	Sample3		C1	A007	CAGATC			Test	87,35632
2	Sample4	Sample4		D1	A012	CTTGTA			Test	68,02508
2	Sample5	Sample5		E1	A013	AGTCAA			Test	97,49216
2	Sample6	Sample6		F1	A014	AGTTCC			Test	93,20794
2	Sample7	Sample7		G1	A018	GTCCGC			Test	63,63636
2	Sample8	Sample8		H1	A019	GTGAAA		Mislykket bibliotek	Test	5,2
2	Sample9	Sample9		A2	A001	ATCACG			Test	84,6395
2	Sample10	Sample10		B2	A003	TTAGGC			Test	81,5047
2	Sample11	Sample11		C2	A008	ACTTGA			Test	78,78788

2	Sample12	Sample12	D2	A010	TAGCTT	Test	83,17659
2	Sample13	Sample13	E2	A020	GTGGCC	Test	79,62382
2	Sample14	Sample14	F2	A022	CGTACG	Test	62,59143
2	Control-ID	Control-ID	G2	A025	ACTGAT	Kontrol	65,20376

Valideringsregler for overskrifts- og dataafsnit i prøvefiler er vist i [Tabel 7](#) og [Tabel 8](#). Dataene i hver celle i prøvefilen må ikke overstige 100 tegn.



### BEMÆRK

Det er nødvendigt at følge de navngivningskonventioner, der anvendes i følgende tabel, for at VeriSeq NIPT Analysis Software kan importere NGS-outputfilerne.

**Tabel 7 Valideringsregler i forbindelse med prøvefiler (overskriftsafsnit)**

Felt	Påkrævet	Valideringsregler
IEMFileVersion	Ja	Skal være 4.
Investigator Name (undersøgers navn)	Ja	Ingen valideringsregler.
Experiment Name (eksperimentnavn)	Ja	Skal være flowcelle-id'et (store bogstaver). Valideret sammenholdt med stregkoden fra runParameters.xml.
Date (dato)	Ja	Ingen valideringsregler.
Workflow (arbejdsgang)	Ja	Ingen valideringsregler.
Application (program)	Ja	Ingen valideringsregler.
Assay (analyse)	Ja	Ingen valideringsregler.
Description (beskrivelse)	Ja	Skal være cfDNAHiSeqv1.0
Chemistry (kemi)	Ja	Ingen valideringsregler.

**Tabel 8 Valideringsregler i forbindelse med prøvefiler ved NGS-mulighed 1 (dataafsnit)**

Kolonnenavn	Fortolkning	Klasse	Gyldige elementer	Påkrævet	Valideringsregler
Lane (bane)	Banen, prøven befinder sig på	Heltal	1, 2	Ja	Skal være 1 eller 2.
Sample_ID (prøve-id)	Prøve-id (bruges til cADAS-outputrapportering)	Tegnstreng	Unik pr. indeks i flowcellen	Ja	For et givent prøve-id skal alle dataværdier i prøvefilen være identiske bortset fra bane. Prøve-id må kun indeholde alfanumeriske tegn, herunder a-z, A-Z, 0-9, understreg og tankestreg ("-"). Prøve-id'et må ikke indeholde mellemrum. Undlad brug af flere på hinanden følgende understregninger og tankestreger. Fra og med version 1.4 må Sample_ID ikke starte med et 0 (nul).
Sample_Name (prøvenavn)	Prøvenavn	Tegnstreng	Ignoreret	Nej	Dette felt kan være tomt. Der gælder ingen valideringsregler. Prøvenavnet er forkortet til 100 tegn.
Sample_Plate (prøveplade)	Prøveplade-id	Tegnstreng	PXXXX, hvor XXXX er numerisk	Nej	Dette felt kan være tomt. Der gælder ingen valideringsregler. Prøveplade-id'et er forkortet til 100 tegn.

Kolonnenavn	Fortolkning	Klasse	Gyldige elementer	Påkrævet	Valideringsregler
Sample_Well (prøvebrønd)	Prøvebrønd-id	Tegnstreng	A01-A08 B01-B08	Ja	Både A1- og A01-format understøttes. Værdier valideres i forhold til et regulært udtryk. Første tegn er A-H og de næste to kan være 1-12 eller 01-12.
I7_Index_ID (I7_Indeks_id)	Indeks-id	Tegnstreng	A001-A024	Ja	Første tegn er altid A og derefter 3 numeriske tegn; se <a href="#">Tabel 12</a> .
Index (indeks)	Indekskomposition	Tegnstreng		Ja	Alle indekssekvenser, der findes i <a href="#">Tabel 12</a> , er tilladte. Det totale antal indeksværdier i en given bane skal være minimum 8. Hvis der er færre end 8, genereres en fejl. Yderligere validering foretages for at matche I7_Index_ID og indeksværdien. I forbindelse med en given baneværdi skal alle indeksværdierne være unikke.
Sample_Project (prøveprojekt)	Projekt navn	Tegnstreng	Ignoreret	Nej	Dette felt kan være tomt.
Description (beskrivelse)	Prøvebeskrivelse	Tegnstreng	Ignoreret	Nej	Dette felt kan være tomt. Hvis ordet "failed" (mislykket) inkluderes i dette felt, markeres prøven som mislykket, og der vil ikke blive rapporteret nogen resultater for prøven.
SampleType (prøvetype)	Prøvetype	Tegnstreng	"Patient" (patient), "Test" (test), "Control" (kontrol)	Ja	Skal være patient, test eller kontrol. (I valideringen skelnes mellem store og små bogstaver).
Library_nM (bibliotek_nM)	Bibliotekskoncentration	Reel	Numeriske værdier	Ja	Skal være numerisk.

Brugeren kan ekskludere en prøve fra analysen ved at angive "failed" (mislykket) (der skelnes ikke mellem store og små bogstaver) i beskrivelsesfeltet for prøven i prøvefilen. Ved at gøre dette spores prøver gennem hele arbejdsgangen, som ikke gennemgår sekventering på grund af en KK-fejl i forbindelse med præsekventering. Værdien i prøvebeskrivelsesfeltet medtages i outputfilen, og datafelterne indeholder tomme værdier.

## NGS-mulighed 2

Arbejdsgangen for kørselskonfigurationen i forbindelse med NGS-mulighed 2 omfatter ikke mulighed for manuelt at uploade en prøvefil ved kørselskonfigurationen. I stedet for skal brugeren i forbindelse med registrering af en ny kørsel placere prøvefilen med navnet samplesheet.csv i outputkørselsmappen i kørselsmappen på analyseserveren. ATMS sender en mail til brugeren med besked om, at der er registreret en ny kørsel, efter at filen RunParameters.xml er skrevet til kørselsmappen på analyseserverens bibliotek /data01/runs, og efter opstart af sekventeringen. Prøvefilen skal placeres i kørselsmappen, før en sekventeringskørsel er slut (før filen RTAComplete.txt skrives til kørselsmappen).



### BEMÆRK

Hvis filen samplesheet.csv ikke findes i outputkørselsmappen på det tidspunkt, hvor filen RTAComplete.txt skrives, vil analysesoftwarens sende en besked. Se [Kapitel 2 Systemdrift, Systemmeddelelser, Tabel 4 på side 9](#).

Ved brug af NGS-mulighed 2 køres den samme prøvepulje over hele flowcellen. Banenumre er ikke specificeret i prøvefilen. Ved indtastning af prøveoplysningerne i prøvefilen, vil hvert prøve-id, hver brønd og hver indeksskombination være angivet en gang i prøvefilens dataafsnit. Hvert prøve-id, hver brønd og hver indeksskombination skal være unik(t).

Kontrollér, at tilknytning af prøve-id'et til de forbundne indeks er korrekt. Korrekt tilknytning er nødvendig for at bevare prøveintegriteten.

Se [Tabel 9](#) og [Tabel 10](#) for at få eksempler på overskrifter og dataafsnit i prøvefiler.



### BEMÆRK

Det er nødvendigt at følge de navngivningskonventioner, der anvendes i følgende tabel, for at VeriSeq NIPT Analysis Software kan importere NGS-outputfilerne.

**Tabel 9 Eksempel på prøvefil i forbindelse med NGS-mulighed 2 (overskriftsafsnit)**

[Overskrift]	
IEMFileVersion	4
Investigator Name (undersøgers navn)	Navn
Experiment Name (eksperimentnavn)	FlowCellID
Date (dato)	2/4/2014
Workflow (arbejdsgang)	GenerateFASTQ
Application (program)	FASTQ Only
Assay (analyse)	TruSeq LT
Description (beskrivelse)	cfDNANextSeqv1.0
Chemistry (kemi)	Default (standard)
[Aflæsninger]	
	36
[Indstillinger]	
ReverseComplement	0



**BEMÆRK**

I overskriftsafsnittet i prøvefilen skal der stå det nøjagtige flowcelle-id (store bogstaver) i feltet Experiment Name (eksperimentnavn), og der skal stå "cfDNANextSeqv1.0" i feltet Description (beskrivelse).



Tabel 10 Eksempel på prøvefil i forbindelse med NGS-mulighed 2 (dataafsnit)

[Data]									
Sample_ID (prøve-id)	Sample_Name (prøvenavn)	Sample_Plate (prøveplade)	Sample_Well (prøvebrønd)	I7_Index_ID (I7_Indeks_id)	Index (indeks)	Sample_Project (prøveprojekt)	Description (beskrivelse)	SampleType (prøvetype)	Library_nM (bibliotek_nM)
Sample1	Sample1		A2	A002	CGATGT			Test	53,2
Sample2	Sample2		B2	A005	ACAGTG			Test	51
Sample3	Sample3		C2	A007	CAGATC			Test	83,3
Sample4	Sample4		D2	A012	CTTGTA			Test	79
Sample5	Sample5		E2	A013	AGTCAA			Test	67
Sample6	Sample6		F2	A014	AGTTCC			Test	44,3
Sample7	Sample7		G2	A018	GTCCGC			Test	61,9
Sample8	Sample8		H2	A019	GTGAAA			Test	62,9
Sample9	Sample9		A4	A001	ATCACG			Test	76,8
Sample10	Sample10		B4	A003	TTAGGC			Test	71,1
Sample11	Sample11		C4	A008	ACTTGA		Failed_QC	Test	5
Sample12	Sample12		D4	A010	TAGCTT			Test	71,1
Sample13	Sample13		E4	A020	GTGGCC			Test	55
Sample14	Sample14		F4	A022	CGTACG			Test	88,6
Control-ID	Control-ID		G4	A025	ACTGAT			Kontrol	64,7

Valideringsregler for dataafsnit i prøvefiler er vist i [Tabel 11](#). Dataene i hver celle i prøvefilen må ikke overstige 100 tegn.

**Tabel 11 Valideringsregler i forbindelse med prøvefiler ved NGS-mulighed 2 (dataafsnit)**

Kolonnenavn	Fortolkning	Klasse	Gyldige elementer	Påkrævet	Valideringsregler
Sample_ID (prøve-id)	Prøve-id (bruges til cADAS-outputrapportering)	Tegnstreng	Unik pr. indeks i flowcellen	Ja	Prøve-id må kun indeholde alfanumeriske tegn, herunder a-z, A-Z, 0-9, understreg og tankestreg (" "). Prøve-id'et må ikke indeholde mellemrum. Undgå brug af flere på hinanden følgende understreger og bindestreger. I version 1.4 må prøve-id'et ikke begynde med et 0 (nul).
Sample_Name (prøvenavn)	Prøvenavn	Tegnstreng	Fritekst	Nej	Dette felt kan være tomt. Der gælder ingen valideringsregler. Navnet er forkortet til 100 tegn.
Sample_Plate (prøveplade)	Prøveplade-id	Tegnstreng	PXXXX, hvor XXXX er numerisk	Nej	Dette felt kan være tomt. Der gælder ingen valideringsregler. Prøveplade-id'et er forkortet til 100 tegn.
Sample_Well (prøvebrønd)	Prøvebrønd-id	Tegnstreng	A01-A08 B01-B08	Ja	Både A1- og A01-format understøttes. Værdier valideres i forhold til et regulært udtryk. Første tegn er A-H og de næste to kan være 1-12 eller 01-12.
I7_Index_ID (I7_Indeks_id)	Indeks-id	Tegnstreng	A001-A024	Ja	Første tegn er altid A og derefter 3 numeriske tegn.
Index (indeks)	Indekskomposition	Tegnstreng		Ja	Alle indekssekvenser, der findes i <a href="#">Tabel 12</a> , er tilladte. Det totale antal indekxsværdier i en given bane skal være minimum 8. Hvis der er færre end 8, genereres en fejl. Yderligere validering foretages for at matche I7_Index_ID og indekxsværdien. I forbindelse med hver prøvefil er alle indekxsværdierne unikke. Der kan ikke være dubletter.
Sample_Project (prøveprojekt)	Projekt navn	Tegnstreng	Ignoreret	Nej	Dette felt kan være tomt.
Description (beskrivelse)	Prøvebeskrivelse	Tegnstreng	Ignoreret	Nej	Dette felt kan være tomt. Hvis ordet "failed" (mislykket) inkluderes i dette felt, markeres prøven som mislykket, og der vil ikke blive rapporteret nogen resultater for prøven.

Kolonnenavn	Fortolkning	Klasse	Gyldige elementer	Påkrævet	Valideringsregler
SampleType (prøvetype)	Prøvetype	Tegnstreng	"Patient" (patient), "Test" (test), "Control" (kontrol)	Ja	Skal være patient, test eller kontrol. (I valideringen skelnes mellem store og små bogstaver).
Library_nM (bibliotek_nM)	Bibliotekskoncentration	Reel	Numeriske værdier	Ja	Skal være numerisk.

Brugeren kan ekskludere en prøve fra analysen ved at angive "failed" (mislykket) (der skelnes ikke mellem store og små bogstaver) i beskrivelsesfeltet for prøven i prøvefilen. Ved at gøre dette spores prøver gennem hele arbejdsgangen, som ikke gennemgår sekventering på grund af en KK-fejl i forbindelse med præsekventering. Værdien i prøvebeskrivelsesfeltet medtages i outputfilen, og datafelterne indeholder tomme værdier. Se gyldige indekxsværdier i [Tabel 12](#).

## Gyldige indeksværdier

Tabel 12 Gyldige indeksværdier

i7_Index_ID (i7_Indeks_id)	Index (indeks)
A001	ATCACG
A002	CGATGT
A003	TTAGGC
A004	TGACCA
A005	ACAGTG
A006	GCCAAT
A007	CAGATC
A008	ACTTGA
A009	GATCAG
A010	TAGCTT
A011	GGCTAC
A012	CTTGTA
A013	AGTCAA
A014	AGTTCC
A015	ATGTCA
A016	CCGTCC
A018	GTCCGC
A019	GTGAAA
A020	GTGGCC
A021	GTTTCG
A022	CGTACG
A023	GAGTGG
A025	ACTGAT
A027	ATTCCT

## Demultiplexing og FASTQ-generering

Til NGS-mulighed 1 anvendes en brugerdefineret demultiplexingsenhed. Til NGS-mulighed 2 anvendes bcl2fastq v2-konverter til demultiplexing og FASTQ-generering. Ved begge analysemuligheder genereres der en ekstra prøvefilsrelateret fil i kørselsfolderen udover den oprindelige fil SampleSheet.csv.

- ▶ **SampleSheet.csv** – Den oprindelige prøvefil, som brugeren har oprettet.
- ▶ **sample\_sheet\_processed\_YYYY\_MM\_DD\_hh-mm-ss.txt** – en fil, der genereres af ATMS efter indlæsning af den prøvefil, som brugeren har oprettet. Denne fil indeholder de oplysninger, der overføres til de efterfølgende dataanalysetrin.



### BEMÆRK

Åbn ikke en prøvefil, når analysen kører, medmindre du bliver bedt om det under validering af prøvefilen.

## Genindsættelse i analysekø



### BEMÆRK

Det er KUN tilladt at genindsætte en kørsel i køen, når der er kommet en mailbesked fra serveren om en fejl i prøvefilen.

Du kan sætte din kørsel i analysekøen igen, hvis din prøvefil indeholder fejl, som ikke påvirker validering eller analyse. Nedenstående ændringer i prøvefilen må kun udføres, når der er kommet en mailbesked fra serveren, som angiver en fejl i prøvefilen. For eksempel:

- ▶ Empty rows or columns (tomme rækker eller kolonner)
- ▶ Missing header row (manglende overskriftsrække)
- ▶ Unsupported workflow in the Description header row (ikke-understøttet arbejdsgang i overskriftsrækken Description (beskrivelse))
- ▶ Incorrect flow cell barcode (forkert stregkode for flowcelle)

## Kørselsmappe på serveren

Denne procedure beskriver, hvordan analysen sættes i kø igen, når en kørselsmappe ligger på serveren.

- 1 Brug en computer på det samme netværk som analyseserveren til at åbne Windows Stifinder, og gå til biblioteket /runs (kørsler).
- 2 Find den kørselsmappe, du ønsker at sætte i analysekøen igen.
- 3 Højreklik på kørselsmappen, og klik på **Copy** (kopier).
- 4 Højreklik et sted i biblioteket /runs (kørsler), og klik på **Paste** (indsæt).  
Der oprettes en kopi af kørselsmappen med " - Copy" (- kopi) føjet til slutningen af mappens navn. For eksempel Run\_Folder\_Name - Copy.  
Systemet sender en mailbesked ang. ulovlige tegn i mappenavnet, som du kan se bort fra.



### BEMÆRK!

Gå ikke videre til næste trin, før kørselsmappen er kopieret helt. Det tager ca. 30 minutter.

- 5 Åbn den kopierede kørselsmappe, og slet følgende fil:  
sample\_sheet\_processed\_YYYY\_MM\_DD\_hh-mm-ss.txt
- 6 Brug den kopierede kørselsmappe til at redigere filen SampleSheet.csv og rette fejlene. Slet alle tomme rækker og kolonner.
- 7 Gem prøvefilen i den kopierede kørselsmappe under navnet SampleSheet.csv for at overskrive den eksisterende fil.  
Kontrollér, at filformatet stadig er .csv (kommasepareret værdi). Visse regnearksprogrammer kan uden advarsel ændre filformatet og overskrive kommaer med andre symboler. Du må ikke ændre i prøvefilen, når du først har gemt den i den kopierede kørselsmappe.
- 8 Analysen startes ved at omdøbe den kopierede kørselsmappe på følgende vis:
  - a Højreklik på den kopierede kørselsmappe, og klik på **Rename** (omdøb).
  - b Erstat mellemrum og tankestreger med en understreg (\_). For eksempel Run\_Folder\_Name\_Copy.



### BEMÆRK

Der må ikke tilføjes tegn foran navnet på mappen. For eksempel Copy\_Run\_Folder\_Name. Der må kun tilføjes tegn til slutningen af kørselsmappens navn, og der må kun bruges følgende alfanumeriske tegn: a-z, A-Z, 0-9 samt understreg ("\_"). Mellemrum, tankestreger og andre tegn er ikke tilladt.

Systemet analyserer automatisk Run\_Folder\_Name\_Copy.

- 9 Hvis sample\_sheet\_processed\_YYYY\_MM\_DD\_hh-mm-ss.txt ikke oprettes i løbet af 30 minutter, henvises til *Fejlfinding af genindsættelse i analysekø på side 35*.

## Kopiér en afsluttet kørsel til serveren, og sæt den i analysekøen

Denne procedure beskriver, hvordan man manuelt kopierer en kørselsmappe til serveren og sætter den i analysekøen.



### BEMÆRK!

Følg proceduren i nøjagtigt samme rækkefølge som beskrevet nedenfor.

Trin 1-5 skal udføres, før kørselsmappen kopieres til analyseserveren.

- 1 Åbn kørselsmappen, og flyt filen **RTAcomplete.txt** til en placering uden for kørselsmappen.
- 2 Slet følgende fil i kørselsmappen:  
sample\_sheet\_processed\_YYYY\_MM\_DD\_hh-mm-ss.txt
- 3 Om nødvendigt kan du redigere i din oprindelige prøvefil for at rette fejl eller foretage andre ændringer. Slet alle tomme rækker og kolonner.
- 4 Gem prøvefilen i kørselsmappen under navnet SampleSheet.csv for at overskrive den eksisterende fil. Du må ikke ændre i prøvefilen, når du først har gemt den i kørselsmappen.
- 5 Sørg for, at kørselsmappen ikke længere indeholder filen RTAComplete.txt.
- 6 Højreklik på kørselsmappen, og klik på **Copy** (kopiér).
- 7 Brug en computer på det samme netværk som analyseserveren til at åbne Windows Stifinder, og gå til biblioteket /runs (kørsler).
- 8 Højreklik et sted i biblioteket /runs (kørsler), og klik på **Paste** (indsæt).



### BEMÆRK!

Gå ikke videre til næste trin, før kørselsmappen er kopieret helt. Det tager ca. 30 minutter eller længere, afhængigt af netværkshastigheden.

Der må ikke tilføjes tegn foran navnet på mappen. For eksempel Copy\_Run\_Folder\_Name. Der må kun tilføjes tegn til slutningen af kørselsmappens navn, og der må kun bruges følgende alfanumeriske tegn: a-z, A-Z, 0-9 samt understreg ("\_"). Mellemrum, tankestreger og andre tegn er ikke tilladt.

- 9 Sæt analysen igang ved at kopiere filen **RTAcomplete.txt** fra den placering, du flyttede den til, og indsæt den i kørselsmappen.  
Systemet genanalyserer automatisk kørselsmappen.
- 10 Hvis sample\_sheet\_processed\_YYYY\_MM\_DD\_hh-mm-ss.txt ikke oprettes i løbet af 30 minutter, henvises til *Fejlfinding af genindsættelse i analysekø på side 35*.

## Fejlfinding af genindsættelse i analysekø

- 1 Kontrollér, om der er kommet en mailbesked om fejl.
- 2 Læs mailen for at se, om den indeholder oplysninger om fejl i prøvefilen.  
Læs hele mailen, da fejlen, der vedrører problemet, kan stå allersidst i beskeden.
- 3 Hvis det er muligt at rette fejlene, skal du gentage den procedure for genindsættelse i analysekøen, som gælder for din kørselsmappe.
- 4 Kontakt Illuminas tekniske support, hvis følgende sker:
  - ▶ Du modtager ikke nogen mailbesked om fejl.
  - ▶ Analysen kører ikke.
  - ▶ Prøvefilen indeholder ikke nogen fejlNævn NIPT16, når du ringer op, eller skriv det i emnefeltet i mailen.

## Arkivering og sikkerhedskopiering af data

Illumina anbefaler, at bibliotekerne /data01/runs og /data01/analysis\_output arkiveres i overensstemmelse med stedets lokale IT-arkiveringspolitik. Softwaren overvåger den resterende diskplads i biblioteket /data01/runs og giver brugerne besked via mail, når den resterende lagerkapacitet falder til under 200 GB.

VeriSeq NIPT Analysis Server bør ikke anvendes til lagring af data. Data bør flyttes fra analyseserveren og arkiveres regelmæssigt i henhold til en fastlagt plan.

En typisk sekventeringskørsel, som er kompatibel med cfDNA-analysearbejdsgangen, kræver ca. 11-13 GB i forbindelse med NGS-mulighed 1 og ca. 11-16 GB i forbindelse med NGS-mulighed 2. Den aktuelle størrelse på kørselsmappen afhænger af den endelige clusterdensitet. Der er mere end 4 TB lagerkapacitet på serveren, hvilket er tilstrækkeligt til flere end 200 sekventeringskørsler.

Data bør kun arkiveres, når systemet ikke bruges, og der ikke kører analyser eller sekventering.

## Rapportspecifikationer og fortolkning af målinger

Outputmappen for cfDNA-sekventeringsanalyse indeholder to tekstfiler i kommasepareret format (.csv). Den første fil, <Run\_Folder\_Name>\_NIPT\_Results.csv, indeholder alle prøve- og flowcelledata samt KK-målinger. Filen identificerer også den softwareversion, der blev anvendt til generering af resultaterne. Den anden fil, <Run\_Folder\_Name>\_Misindexed\_Results.csv, tabellerer antallet af læsninger på flowcellen for de indeks, der er identificeret under demultipleksring, og som ikke er angivet i prøvefilen. En tredje .txt-fil, REPORT.Complete.txt, ligger i resultatmappen. Denne fil indeholder oplysninger om analysekonfiguration, analysetidspunkt, placering for outputfiler samt MD5-kontrolsumværdier for filerne NIPT\_Results.csv og MISINDEXED\_Results.csv. Der findes en fuldstændig liste over KK-målingerne og andre værdier under *KK-målinger samt øvre og nedre grænser (NGS-mulighed 1)* på side 41 og *KK-målinger samt øvre og nedre grænser (NGS-mulighed 2)* på side 46.



### FORSIGTIG

For at undgå utilsigtet redigering af den oprindelige analyseoutput bør filerne <Run\_Folder\_Name>\_NIPT\_Results.csv og <Run\_Folder\_Name>\_Misindexed\_Results.csv kopieres til en anden computer, før filerne åbnes og redigeres.



### BEMÆRK!

Illumina anbefaler, at de outputfiler, der bliver genereret af cfDNA analysis/VeriSeq NIPT Analysis Software integreres i laboratoriets informationsstyringssystem, hvor informationerne herefter kan bruges til at generere patientrapporter til efterfølgende gennemgang af det kliniske personale på laboratoriet.

**Tablet 13** Rapporterede annotationsværdier for prøvefil (<Run\_Folder\_Name>\_NIPT\_Results.csv)

Kolonnenavn	Kildefelt i prøvefil
SampleID (prøve-id)	Sample_ID (prøve-id)
SampleType (prøvetype)	SampleType (prøvetype)
Flowcell ID (flowcelle-id)	Experiment Name (eksperimentnavn)
IndexID (indeks-id)	I7_Index_ID (I7_Indeks_id)
Well (brønd)	Sample_Well (prøvebrønd)
Library_nM (bibliotek_nM)	Library_nM (bibliotek_nM)

**Tablet 14** Rapporteret målingsresultat pr. prøve (<Run\_Folder\_Name>\_NIPT\_Results.csv)

Kolonnenavn	Fortolkning
Ratio_13 (forhold_13)	Kromosomforhold 13
Ratio_18 (forhold_18)	Kromosomforhold 18
Ratio_21 (forhold_21)	Kromosomforhold 21
Ratio_X (forhold_X)	Kromosomforhold X
Ratio_Y (forhold_Y)	Kromosomforhold Y
NCV_13 (NCV_13)	Normaliseret kromosomværdi (z-score) 13
NCV_18 (NCV_18)	Normaliseret kromosomværdi (z-score) 18
NCV_21 (NCV_21)	Normaliseret kromosomværdi (z-score) 21
NCV_X (NCV_X)	Normaliseret kromosomværdi (z-score) X
NCV_Y (NCV_Y)	Normaliseret kromosomværdi (z-score) Y
FF_Formatted (FF-formateret)	Estimeret total del af cfDNA, der er fundet under analysen. Rapporteres som en forsigtig, afrundet procentdel, der giver yderligere oplysninger om hver enkelt prøve.



Tabel 15 Rapporterede KK-målinger pr. prøve (&lt;Run\_Folder\_Name&gt;\_NIPT\_Results.csv)

Kolonnenavn	Fortolkning	Fejlårsag
QCFlag (KK-flag)	Overordnet indikator for KK-godkendelse (0), advarsel (1), fejl (2)	Se Tabel 20.
QCWarning (KK-advarsel)	Sammenkædning af alle årsager i forbindelse med prøveadvarsel (";" separeret)	Se Tabel 20.
QCFailure (KK-fejl)	Sammenkædning af alle årsager i forbindelse med prøvefejl (";" separeret)	Se Tabel 20.
Clusters (clustere)	Samlet antal clustere på tværs af baner (Rapporteret pr. flowcelle)	Lav/høj clusterdensitet
TotalReads2Clusters (samlede aflæsninger 2 clustere)	Forholdet mellem gendannede aflæsninger og antallet af clustere på tværs af baner (Rapporteret pr. flowcelle)	Korrumpereede BCL-filer
MaxMisindexedReads2Clusters (maksimum fejlindexerede aflæsninger 2 clustere)	Forholdet mellem fejlindexerede aflæsninger på tværs af baner og clustere i en virtuel bane (Rapporteret pr. flowcelle)	Aflæsninger med uventet indeks fundet på tværs af baner
IndexedReads (indekserede aflæsninger)	Samlet antal indekserede aflæsninger pr. prøve på tværs af baner	Tekniske problemer med indeksaflysning; forkerte prøver på sekventeringsbanerne
TotalIndexedReads2Clusters (samlede indekserede aflæsninger 2 clustere)	Forholdet mellem indekserede aflæsninger og clustere (Rapporteret pr. flowcelle)	Tekniske problemer med indeksslæsning
Tags (tags)	Antallet af aflæsninger, der er knyttet til et unikt sted i genomet	Høj PCR- eller sekventeringsfejlfrekvens; skævvridning introduceret under biblioteks konstruktion
NonExcludedSites (ikke-undtagne steder)	Antallet af tags undtagen filtrerede genområder og duplikataflæsninger knyttet til det samme sted	Lavt clusterantal, sekventeringsfejl, lav bibliotekskompleksitet, oftest genanvendelig efter genkørsel
NonExcludedSites2Tags (ikke-undtagne steder 2 tags)	Forhold mellem ikke-undtagne steder og tags	Bibliotekskompleksitet
Tags2IndexedReads (tags 2 indekserede aflæsninger)	Forhold mellem tags og indekserede aflæsninger	Højere end forventet antal aflæsninger, som ikke passer til genom
PerfectMatchTags2Tags (perfekt matchede tags 2 tags)	Forhold mellem perfekt tilknyttede tags og alle tags	Høj sekventering eller PCR-fejlfrekvens
GCBias (GCBias)	Tilbageværende GC-skævvridning i aflæsningsdistributionen efter korrektion	Præanalysefejl i prøvesamling/-håndtering; sekventeringsartefakter
GCR2 (GCR2)	R2 af GC-korrigeret (procent af variansen forklaret med GC-korrektion)	
NCD_13 (NCD_13)	Sandsynligt resultat for kromosom 13-denominatorer	Uventet profil for kromosom 13-denominatorkromosomer
NCD_18 (NCD_18)	Sandsynligt resultat for kromosom 18-denominatorer	Uventet profil for kromosom 18-denominatorkromosomer
NCD_21 (NCD_21)	Sandsynligt resultat for kromosom 21-denominatorer	Uventet profil for kromosom 21-denominatorkromosomer
NCD_X (NCD_X)	Sandsynligt resultat for kromosom X-denominatorer	Uventet profil for kromosom X-denominatorkromosomer
NCD_Y (NCD_Y)	Sandsynligt resultat for hele kromosomprofilen	Uventet profil for alle kromosomer

**Tabel 16** Rapporteret målingsresultat pr. prøve (<Run\_Folder\_Name>\_NIPT\_Results.csv)

Kolonnenavn	Fortolkning
Chr1, ..., Chr22, ChrX, ChrY (kr1, 000, kr22, krX, krY)	Samlet antal NonExcludedSites anvendt til analyse af et tilsvarende kromosom (heltal)
Chr1_Coverage, ..., Chr22_Coverage, ChrX_Coverage, ChrY_Coverage (kr1_dækning, ..., kr22_dækning, krX_dækning, krY_dækning)	Normaliseret dækning af hvert kromosom anvendt i vurdering af kromosomforhold

**Tabel 17** Rapporteret målingsresultat pr. batch (<Run\_Folder\_Name>\_NIPT\_Results.csv)

Kolonnenavn	Fortolkning
Median_13, Median_18, Median_21, Median_X, Median_Y (median_13, median_18, median_21, median_X, median_Y)	Batchmedian for kromosomforhold i forbindelse med putative diploidprøver Bemærk: chrX (kromosom X) og chrY (kromosom Y) bygger kun på putative prøver fra kvinder
Stdev_13, Stdev_18, Stdev_21, Stdev_X, Stdev_Y (Stdafv_13, Stdafv_18, Stdafv_21, Stdafv_X, Stdafv_Y)	Batchens standardafvigelse for kromosomforhold i forbindelse med putative diploidprøver Bemærk: ChrX (kromosom X) og chrY (kromosom Y) bygger kun på putative prøver fra kvinder

**Tabel 18** Rapporteret pr. prøve, flere felter fra prøvefilen (<Run\_Folder\_Name>\_NIPT\_Results.csv)

Kolonnenavn	Kildefelt i prøvefil
SampleProject (prøveprojekt)	Sample_Project (prøveprojekt)
Beskrivelse	Beskrivelse
Index (indeks)	index (indeks)

**Tabel 19** Rapporteret pr. flowcelle, fejlindekserede aflæsninger (<Run\_Folder\_Name>\_Misindexed\_Results.csv)

Kolonnenavn	Fortolkning
Flow Cell (flowcelle)	Flowcelle-id
Lane (bane)	Bane-id
IndexID (indeks-id)	Bemærkning til indeks-id: Indeks-id A000 er enhver anden sekvens end de 24 indeks, der er angivet i Tabel 12
IndexedReads (indekserede aflæsninger)	Antallet af indeks aflæsninger i flowcelle/bane/indeks

## Bekræftelse af, at ATMS kører

Når systemet startes, starter ATMS-processen automatisk i baggrunden med henblik på overvågning af sekventering og analysekørsler.

Gør følgende for at sikre, at ATMS kører:

- 1 Udfør kommandoen for at oprette forbindelse til analyseserveren som sbsuser (hvis det antages, at \$HOSTNAME er navnet på serveren som angivet under installationen):  
`ssh -l sbsuser $HOSTNAME`
- 2 Udfør kommandoen for at tjekke ATMS-processen:  
`ps aux | grep jsvc`

Hvis outputtet indeholder `jsvc.exec`, kører ATMS-processen i baggrunden. Der er 3 outputlinjer: 1) en linje, der angiver en hændelse, som kører fra root-bruger, 2) en linje, der angiver en hændelse fra ATMS-brugeren, og 3) en linje, der angiver en hændelse, som kører fra den bruger, kommandoen kører under.

Hvis ATMS-processen ikke kører, overvåger eller behandler ATMS ikke nye kørsler, før tjenesten startes igen. Nedlukning eller genstart af maskinen medfører en automatisk genstart af tjenesten. En servicetekniker fra Illumina kan genstarte tjenesten vha. root-rettigheder på maskinen.



### BEMÆRK

Hvis der sker en uventet nedlukning, vil systemet selv forsøge at genstarte ATMS.

# QC -målinger

KK-målinger samt øvre og nedre grænser (NGS-mulighed 1) .....	41
KK-målinger samt øvre og nedre grænser (NGS-mulighed 2) .....	46

## KK-målinger samt øvre og nedre grænser (NGS-mulighed 1)

Tabel 20 NGS-instrument-mulighed 1: To flowcellepositioner, flowcelle med 2 baner – KK-målinger, øvre og nedre grænser, angivelse som Failure (fejl) eller Warning (advarsel), forventet hyppighed for fejl/advarsel samt mulige årsager.

Kategori	Måling	Nedre grænse	Øvre grænse	Fejl/ Advarsel	Prøve-type	Forventet hyppighed for fejl/advarsel	Mulige årsager
Tælling af KK	Clusters (clustere)	250.000.000	450.000.000	Advarsel		<5 % flowcelle	Lav (mere sandsynligt) eller høj (yderst usandsynlig) clusterdensitet.
Tælling af KK	Reads2Clusters	0,95	1	Advarsel		<1 % flowcelle	Software kunne ikke gendanne flere end 5 % læsninger registreret af instrumentet.
Tælling af KK	MaxMisindexedReads2Clusters (maksimum fejlindekserede aflæsninger 2 clustere)	0	0,0002	Advarsel		<0,1 %	
Tælling af KK	TotalIndexedReads2Clusters (samlede indekserede aflæsninger 2 clustere)	0,7	1	Advarsel		<0,1 %	Fejl i indekseringssekvens.
Tælling af KK	NonExcludedSites (ikke-undtagne steder)	8000000	100000000	Fejl		<=2 %	Dårligt bibliotek eller ukorrekt bibliotekskvantitering; lavt clusterantal; muligvis genskabelig efter genkørsel fra plasma.
Tælling af KK	NonExcludedSites2Tags (ikke-undtagne steder 2 tags)	0,8	1	Advarsel		<0,1 %	Dårlig biblioteksdiversitet; muligvis genskabelig efter genkørsel fra plasma.
Tælling af KK	Tags2Reads	0,75	0,9	Advarsel		<0,1 %	Høj fejlfrekvens i sekventering eller PCR; muligvis genskabelig efter omsekventering af samme bibliotek.
Tælling af KK	PerfectMatchTags2Tags (perfekt matchede tags 2 tags)	0,7	1	Advarsel		1 %	Høj fejlfrekvens i sekventering eller PCR; muligvis genskabelig efter omsekventering af samme bibliotek.

Kategori	Måling	Nedre grænse	Øvre grænse	Fejl/ Advarsel	Prøve-type	Forventet hyppighed for fejl/advarsel	Mulige årsager
Median for kromosomforhold	Median_13	0,1986891	0,2012977	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj/lav median for kromosomforhold over hele flowcellen; stærk ukorrigeret batcheffekt forbundet med enten ekstraktion eller biblioteksbatch. Prøv at genbehandle prøver fra plasma for at løse problemet.
Median for kromosomforhold	Median_18	0,2483363	0,2517526	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj/lav median for kromosomforhold over hele flowcellen; stærk ukorrigeret batcheffekt forbundet med enten ekstraktion eller biblioteksbatch. Prøv at genbehandle prøver fra plasma for at løse problemet.
Median for kromosomforhold	Median_21	0,2476093	0,2524342	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj/lav median for kromosomforhold over hele flowcellen; stærk ukorrigeret batcheffekt forbundet med enten ekstraktion eller biblioteksbatch. Prøv at genbehandle prøver fra plasma for at løse problemet.
Median for kromosomforhold	Median_X	0,3260502	0,3396256	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj/lav median for kromosomforhold over hele flowcellen; stærk ukorrigeret batcheffekt forbundet med enten ekstraktion eller biblioteksbatch. Prøv at genbehandle prøver fra plasma for at løse problemet.
Median for kromosomforhold	Median_Y	0	1,47E-08	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj/lav median for kromosomforhold over hele flowcellen; stærk ukorrigeret batcheffekt forbundet med enten ekstraktion eller biblioteksbatch. Prøv at genbehandle prøver fra plasma for at løse problemet.

Kategori	Måling	Nedre grænse	Øvre grænse	Fejl/ Advarsel	Prøve-type	Forventet hyppighed for fejl/advarsel	Mulige årsager
Standardafvigelse for kromosomforhold	Stdev_13	0	6,73E-04	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj standardafvigelse for kromosomforhold, hvilket betyder ekstra kilder af tidligere useet varians; hold øje med tendensen over tid.
Standardafvigelse for kromosomforhold	Stdev_18	0	1,37E-03	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj standardafvigelse for kromosomforhold, hvilket betyder ekstra kilder af tidligere useet varians; hold øje med tendensen over tid.
Standardafvigelse for kromosomforhold	Stdev_21	0	1,33E-03	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj standardafvigelse for kromosomforhold, hvilket betyder ekstra kilder af tidligere useet varians; hold øje med tendensen over tid.
Standardafvigelse for kromosomforhold	Stdev_X	0	3,27E-03	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj standardafvigelse for kromosomforhold, hvilket betyder ekstra kilder af tidligere useet varians; hold øje med tendensen over tid.
Standardafvigelse for kromosomforhold	Stdev_Y	0	4,94E-09	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj standardafvigelse for kromosomforhold, hvilket betyder ekstra kilder af tidligere useet varians; hold øje med tendensen over tid.
Sandsynlighed for kromosomdenominatorer	NCD_13 (NCD_13)	-50	1000	Fejl		<0,1 %	Uventet kromosomrepræsentation af denominatorkromosomer (reference); løses sandsynligvis ikke ved at køre prøven igen; foreslå "data uden for forventet område."

Kategori	Måling	Nedre grænse	Øvre grænse	Fejl/ Advarsel	Prøve-type	Forventet hyppighed for fejl/advarsel	Mulige årsager
Sandsynlighed for kromosomdenominatorer	NCD_18 (NCD_18)	-50	1000	Fejl		<0,1 %	Uventet kromosomrepræsentation af denominatorkromosomer (reference); løses sandsynligvis ikke ved at køre prøven igen; foreslå "data uden for forventet område."
Sandsynlighed for kromosomdenominatorer	NCD_21 (NCD_21)	-50	1000	Fejl		<0,1 %	Uventet kromosomrepræsentation af denominatorkromosomer (reference); løses sandsynligvis ikke ved at køre prøven igen; foreslå "data uden for forventet område."
Sandsynlighed for kromosomdenominatorer	NCD_X (NCD_X)	-50	1000	Fejl		<0,1 %	Uventet kromosomrepræsentation af denominatorkromosomer (reference); løses sandsynligvis ikke ved at køre prøven igen; foreslå "data uden for forventet område."
Sandsynlighed for kromosomdenominatorer	NCD_Y (NCD_Y)	-100	1000	Fejl		<0,5 %	Uventet kromosomrepræsentation et sted i genomet; løses sandsynligvis ikke ved at køre prøven igen; foreslå "data uden for forventet område."
NCV af kontrolprøver	NCV_13 (NCV_13)	-5	4	Advarsel	Kontrol		NCV-grænser for kontroller (ingen monosomi, ingen trisomi).
NCV af kontrolprøver	NCV_18 (NCV_18)	-5	4	Advarsel	Kontrol		NCV-grænser for kontroller (ingen monosomi, ingen trisomi).
NCV af kontrolprøver	NCV_21 (NCV_21)	-5	4	Advarsel	Kontrol		NCV-grænser for kontroller (ingen monosomi, ingen trisomi).



Kategori	Måling	Nedre grænse	Øvre grænse	Fejl/ Advarsel	Prøve-type	Forventet hyppighed for fejl/advarsel	Mulige årsager
NCV af testprøver	NCV_13 (NCV_13)	-5	200	Advarsel	Test		NCV-grænser for testprøver (ingen monosomi, føtal fraktion inden for (generøst) forventet område).
NCV af testprøver	NCV_18 (NCV_18)	-5	200	Advarsel	Test		NCV-grænser for testprøver (ingen monosomi, føtal fraktion inden for (generøst) forventet område).
NCV af testprøver	NCV_21 (NCV_21)	-5	200	Advarsel	Test		NCV-grænser for testprøver (ingen monosomi, føtal fraktion inden for (generøst) forventet område).
NCV af testprøver	NCV_X (NCV_X)	-100	200	Advarsel	Test		NCV-grænser for testprøver (ingen monosomi, føtal fraktion inden for (generøst) forventet område).
NCV af testprøver	NCV_Y (NCV_Y)	-6	2000	Advarsel	Test		NCV-grænser for testprøver (ingen monosomi, føtal fraktion inden for (generøst) forventet område).
GC-skævvridning i kontrolprøver	GCBias (GCBias)	-0,5	0,5	Advarsel	Kontrol		Tilbageværende skævvridning i GC efter GC-korrektion (forventet omkring 0, kun informativt).
GC-skævvridning i testprøver	GCBias (GCBias)	-0,5	0,5	Advarsel	Test		Tilbageværende skævvridning i GC efter GC-korrektion (forventet omkring 0, kun informativt).
GC R2 i kontrolprøver	GC R2	0	0,9999	Advarsel	Kontrol		R <sup>2</sup> forbundet med GC-korrektionen (kun informativt).
GC R2 i testprøver	GC R2	0	0,9999	Advarsel	Test		R <sup>2</sup> forbundet med GC-korrektionen (kun informativt).

## KK-målinger samt øvre og nedre grænser (NGS-mulighed 2)

Tabel 21 NGS-instrument-mulighed 2: Enkelt flowcelleposition, flowcelle med 4 baner – KK-målinger, øvre og nedre grænser, angivelse som Failure (fejl) eller Warning (advarsel), forventet hyppighed af fejl/advarsel samt mulige årsager.

Kategori	Måling	Nedre grænse	Øvre grænse	Fejl/ Advarsel	Prøve-type	Forventet hyppighed for fejl/advarsel	Mulige årsager
Tælling af KK	Clusters (clustere)	300.000.000	800.000.000	Advarsel		<5 % flowcelle	Lav (mere sandsynligt) eller høj (yderst usandsynlig) clusterdensitet.
Tælling af KK	MaxMisindexedReads2Clusters (maksimum fejlindekserede aflæsninger 2 clustere)	0	0,0002	Advarsel		<0,1 %	
Tælling af KK	TotalIndexedReads2Clusters (samlede indekserede aflæsninger 2 clustere)	0,7	1	Advarsel		<0,1 %	Fejl i indekseringssekvens.
Tælling af KK	NonExcludedSites (ikke-undtagne steder)	8000000	100000000	Fejl		<=2 %	Dårligt bibliotek eller ukorrekt bibliotekskvantitering; lavt clusterantal; muligvis genskabelig efter genkørsel fra plasma.
Tælling af KK	NonExcludedSites2Tags (ikke-undtagne steder 2 tags)	0,8	1	Advarsel		<0,1 %	Dårlig biblioteksdiversitet; muligvis genskabelig efter genkørsel fra plasma.
Tælling af KK	Tags2Reads	0,75	0,9	Advarsel		<0,1 %	Høj fejlfrekvens i sekventering eller PCR; muligvis genskabelig efter omsekventering af samme bibliotek.
Tælling af KK	PerfectMatchTags2Tags (perfekt matchede tags 2 tags)	0,7	1	Advarsel		1 %	Høj fejlfrekvens i sekventering eller PCR; muligvis genskabelig efter omsekventering af samme bibliotek.

Kategori	Måling	Nedre grænse	Øvre grænse	Fejl/ Advarsel	Prøve-type	Forventet hyppighed for fejl/advarsel	Mulige årsager
Median for kromosomforhold	Median_13	0,1991238	0,2008629	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj/lav median for kromosomforhold over hele flowcellen; stærk ukorrigeret batcheffekt forbundet med enten ekstraktion eller biblioteksbatch. Prøv at genbehandle prøver fra plasma for at løse problemet.
Median for kromosomforhold	Median_18	0,2489057	0,2511832	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj/lav median for kromosomforhold over hele flowcellen; stærk ukorrigeret batcheffekt forbundet med enten ekstraktion eller biblioteksbatch. Prøv at genbehandle prøver fra plasma for at løse problemet.
Median for kromosomforhold	Median_21	0,2484135	0,25163	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj/lav median for kromosomforhold over hele flowcellen; stærk ukorrigeret batcheffekt forbundet med enten ekstraktion eller biblioteksbatch. Prøv at genbehandle prøver fra plasma for at løse problemet.
Median for kromosomforhold	Median_X	0,329444	0,3362317	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj/lav median for kromosomforhold over hele flowcellen; stærk ukorrigeret batcheffekt forbundet med enten ekstraktion eller biblioteksbatch. Prøv at genbehandle prøver fra plasma for at løse problemet.

Kategori	Måling	Nedre grænse	Øvre grænse	Fejl/ Advarsel	Prøve-type	Forventet hyppighed for fejl/advarsel	Mulige årsager
Median for kromosomforhold	Median_Y	0	1,236665e-08	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj/lav median for kromosomforhold over hele flowcellen; stærk ukorrigeret batcheffekt forbundet med enten ekstraktion eller biblioteksbatch. Prøv at genbehandle prøver fra plasma for at løse problemet.
Standardafvigelse for kromosomforhold	Stdev_13	0	0,0008695377	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj standardafvigelse for kromosomforhold, hvilket betyder ekstra kilder af tidligere uset varians; hold øje med tendensen over tid.
Standardafvigelse for kromosomforhold	Stdev_18	0	0,00113876	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj standardafvigelse for kromosomforhold, hvilket betyder ekstra kilder af tidligere uset varians; hold øje med tendensen over tid.
Standardafvigelse for kromosomforhold	Stdev_21	0	0,001608292	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj standardafvigelse for kromosomforhold, hvilket betyder ekstra kilder af tidligere uset varians; hold øje med tendensen over tid.
Standardafvigelse for kromosomforhold	Stdev_X	0	0,005090769	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj standardafvigelse for kromosomforhold, hvilket betyder ekstra kilder af tidligere uset varians; hold øje med tendensen over tid.
Standardafvigelse for kromosomforhold	Stdev_Y	0	3,454837e-09	Advarsel		<0,1 %	Uventet høj standardafvigelse for kromosomforhold, hvilket betyder ekstra kilder af tidligere uset varians; hold øje med tendensen over tid.

Kategori	Måling	Nedre grænse	Øvre grænse	Fejl/ Advarsel	Prøve-type	Forventet hyppighed for fejl/advarsel	Mulige årsager
Sandsynlighed for kromosomdenominatorer	NCD_13 (NCD_13)	-50	1000	Fejl		<0,1 %	Uventet kromosomrepræsentation af denominatorkromosomer (reference); løses sandsynligvis ikke ved at køre prøven igen; foreslå "data uden for forventet område."
Sandsynlighed for kromosomdenominatorer	NCD_18 (NCD_18)	-50	1000	Fejl		<0,1 %	Uventet kromosomrepræsentation af denominatorkromosomer (reference); løses sandsynligvis ikke ved at køre prøven igen; foreslå "data uden for forventet område."
Sandsynlighed for kromosomdenominatorer	NCD_21 (NCD_21)	-50	1000	Fejl		<0,1 %	Uventet kromosomrepræsentation af denominatorkromosomer (reference); løses sandsynligvis ikke ved at køre prøven igen; foreslå "data uden for forventet område."
Sandsynlighed for kromosomdenominatorer	NCD_X (NCD_X)	-50	1000	Fejl		<0,1 %	Uventet kromosomrepræsentation af denominatorkromosomer (reference); løses sandsynligvis ikke ved at køre prøven igen; foreslå "data uden for forventet område."
Sandsynlighed for kromosomdenominatorer	NCD_Y (NCD_Y)	-100	1000	Fejl		<0,5 %	Uventet kromosomrepræsentation et sted i genomet; løses sandsynligvis ikke ved at køre prøven igen; foreslå "data uden for forventet område."
NCV af kontrolprøver	NCV_13 (NCV_13)	-5	4	Advarsel	Kontrol		NCV-grænser for kontroller (ingen monosomi, ingen trisomi).

Kategori	Måling	Nedre grænse	Øvre grænse	Fejl/ Advarsel	Prøve-type	Forventet hyppighed for fejl/advarsel	Mulige årsager
NCV af kontrolprøver	NCV_18 (NCV_18)	-5	4	Advarsel	Kontrol		NCV-grænser for kontroller (ingen monosomi, ingen trisomi).
NCV af kontrolprøver	NCV_21 (NCV_21)	-5	4	Advarsel	Kontrol		NCV-grænser for kontroller (ingen monosomi, ingen trisomi).
NCV af testprøver	NCV_13 (NCV_13)	-5	200	Advarsel	Test		NCV-grænser for testprøver (ingen monosomi, føtal fraktion inden for (generøst) forventet område).
NCV af testprøver	NCV_18 (NCV_18)	-5	200	Advarsel	Test		NCV-grænser for testprøver (ingen monosomi, føtal fraktion inden for (generøst) forventet område).
NCV af testprøver	NCV_21 (NCV_21)	-5	200	Advarsel	Test		NCV-grænser for testprøver (ingen monosomi, føtal fraktion inden for (generøst) forventet område).
NCV af testprøver	NCV_X (NCV_X)	-100	200	Advarsel	Test		NCV-grænser for testprøver (ingen monosomi, føtal fraktion inden for (generøst) forventet område).
NCV af testprøver	NCV_Y (NCV_Y)	-6	2000	Advarsel	Test		NCV-grænser for testprøver (ingen monosomi, føtal fraktion inden for (generøst) forventet område).
GC-skævvridning i kontrolprøver	GCBias (GCBias)	-0,5	0,5	Advarsel	Kontrol		Tilbageværende skævvridning i GC efter GC-korrektion (forventet omkring 0, kun informativt).
GC-skævvridning i testprøver	GCBias (GCBias)	-0,5	0,5	Advarsel	Test		Tilbageværende skævvridning i GC efter GC-korrektion (forventet omkring 0, kun informativt).

Kategori	Måling	Nedre grænse	Øvre grænse	Fejl/ Advarsel	Prøve-type	Forventet hyppighed for fejl/advarsel	Mulige årsager
GC R2 i kontrolprøver	GC R2	0	0,9999	Advarsel	Kontrol		R <sup>2</sup> forbundet med GC-korrektionen (kun informativt).
GC R2 i testprøver	GC R2	0	0,9999	Advarsel	Test		R <sup>2</sup> forbundet med GC-korrektionen (kun informativt).

# Metodesammenligningsstudie

Data fra metodesammenligning .....52

## Data fra metodesammenligning

I dette studie blev forinden klargjorte biblioteker med 105 plasmaprøver omsekventeret og behandlet med VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples). Disse prøver var forinden blevet kørt på Verifi®-testen og blev multiplekseret til 7 biblioteker á 14 maternelle plasmaprøver, 1 poolet positiv maternal kontrolprøve og 1 negativ (ingen skabelon) kontrol eller NTC. Tabel 22 viser prøvesammensætningen i hvert bibliotek.

Alle 98 individuelle NTC-prøver bestod QC og blev analyseret for konkordans med Verifi-resultaterne. Hver prøve blev klassificeret på baggrund af NCV-værdierne for trisomi 13 / 18 / 21 (ved brug af en NCV-tærskel = 4), for forekomst af kromosom Y (ved brug af en NCV-tærskel = 10) og for monosomi X (ved brug af en NCV\_X-tærskel = -4 og ingen forekomst af kromosom Y). Den samlede procentvise overensstemmelse mellem VeriSeq NIPT og Verifi er angivet i Tabel 23.

Der blev observeret to uoverensstemmelser. Den første observerede uoverensstemmelse angik kromosom 13, som blev klassificeret som trisomi 13 af Verifi-testen og som negativ af Veriseq NIPT Analysis Software (16 Samples). Kliniske oplysninger vedrørende denne prøver viste sidenhen, at den var negativ for trisomi 13. Den anden observerede uoverensstemmelse angik trisomi 18. Der var ingen tilgængelige oplysninger om det kliniske udfald af denne prøve.

Tabel 22 Fordeling af prøver på tværs af biblioteker

Bibliotek	Kontrol	MX	T13	T18	T21	Upåvirket
01	1				2	12
02	1			1	1	12
03	1	1			1	12
04	1		1	1	1	11
05	1	1			1	12
06	1		1		1	12
07	1				1	13
I alt	7	2	2	2	8	84

Tabel 23 Samlet procentvis overensstemmelse mellem VeriSeq NIPT og Verifi

	Samlet overensstemmelse
Klasse 13	98,98 %
Klasse 18	98,98 %
Klasse 21	100 %
Kromosom Y til stede/ikke til stede	100 %
Klasse monosomi X	100 %



# Teknisk hjælp

Kontakt Illuminas tekniske support for at få teknisk hjælp.

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

## Telefonnumre til Illuminas kundesupport

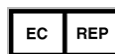
Område	Gratis	Regional
Nordamerika	+1.800.809.4566	
Australien	+1.800.775.688	
Belgien	+32 80077160	+32 34002973
Danmark	+45 80820183	+45 89871156
Finland	+358 800918363	+358 974790110
Frankrig	+33 805102193	+33 170770446
Holland	+31 8000222493	+31 207132960
Hongkong	800960230	
Irland	+353 1800936608	+353 016950506
Italien	+39 800985513	+39 236003759
Japan	0800.111.5011	
Kina	400.066.5835	
New Zealand	0800.451.650	
Norge	+47 800 16836	+47 21939693
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
Østrig	+43 800006249	+43 19286540
Andre lande	+44.1799.534000	

Sikkerhedsdatablade (SDS'er) – kan findes på Illuminas websted på [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

Produktdokumentation – Kan downloades i PDF-format på Illuminas websted. Gå ind på [support.illumina.com](http://support.illumina.com), vælg et produkt, og vælg **Documentation & Literature**.



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122 U.S.A.  
+1.800.809.ILMN (4566)  
+1.858.202.4566 (uden for Nordamerika)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.  
Freddy van Riemsdijkweg 15  
5657 EE Eindhoven  
The Netherlands



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

**KUN TIL IN VITRO-DIAGNOSTIK**

© 2020 Illumina, Inc. Alle rettigheder forbeholdes.

