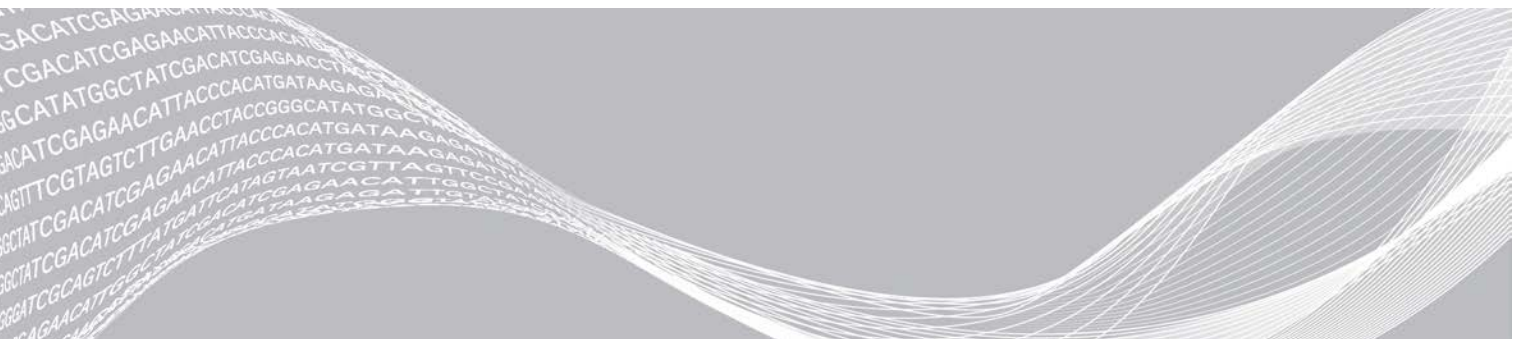


# VeriSeq NIPT-analysesoftware (16 monsters)

## Gebruikershandleiding



Dit document en de inhoud ervan zijn eigendom van Illumina, Inc. en haar dochterondernemingen ('Illumina'), en zijn alleen bedoeld voor contractueel gebruik door haar klanten in verband met het gebruik van de hierin beschreven producten en voor geen enkel ander doel. Dit document en de inhoud ervan mogen niet worden gebruikt of gedistribueerd voor welk ander doel dan ook en/of op een andere manier worden gecommuniceerd, geopenbaard of gereproduceerd zonder de voorafgaande schriftelijke toestemming van Illumina. Illumina geeft door middel van dit document geen licenties onder haar patent, handelsmerk, auteursrecht of gewoonterechten noch soortgelijke rechten van derden door.

De instructies in dit document moeten strikt en uitdrukkelijk worden opgevolgd door gekwalificeerd en voldoende opgeleid personeel om een correct en veilig gebruik van de hierin beschreven producten te waarborgen. Alle inhoud van dit document moet volledig worden gelezen en begrepen voordat dergelijke producten worden gebruikt.

HET NIET VOLLEDIG LEZEN EN UITDRUKKELIJK OPVOLGEN VAN ALLE INSTRUCTIES IN DIT DOCUMENT KAN RESULTEREN IN SCHADE AAN DE PRODUCTEN, LETSEL AAN PERSONEN (INCLUSIEF GEBRUIKERS OF ANDEREN) EN SCHADE AAN ANDERE EIGENDOMMEN. BIJ HET NIET VOLLEDIG LEZEN EN UITDRUKKELIJK OPVOLGEN VAN ALLE INSTRUCTIES IN DIT DOCUMENT VERVALLEN ALLE GARANTIES DIE VAN TOEPASSING ZIJN OP HET PRODUCT.

ILLUMINA IS OP GEEN ENKELE MANIER AANSPRAKELIJK VOOR GEVOLGEN VAN EEN ONJUIST GEBRUIK VAN DE PRODUCTEN DIE HIERIN WORDEN BESCHREVEN (INCLUSIEF DELEN DAARVAN OF SOFTWARE).

© 2020 Illumina, Inc. Alle rechten voorbehouden.

Alle handelsmerken zijn het eigendom van Illumina, Inc. of hun respectievelijke eigenaren. Ga naar [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html) voor meer informatie over specifieke handelsmerken.

# Revisiegeschiedenis

Document	Datum	Omschrijving van wijziging
Documentnr. 1000000012693 v05	April 2020	Bijwerkt adres gemachtigd vertegenwoordiger voor de EU
Documentnr. 1000000012693 v04	Juli 2018	Toegevoegde beperkingen van de procedure en appendix B Methode vergelijkingsonderzoek.
Documentnr. 1000000012693 v03	januari 2017	<ul style="list-style-type: none"> <li>Schatting foetale fractie - meer verduidelijking toegevoegd met betrekking tot de schatting van de foetale fractie.</li> <li>Tabel 4 Normale meldingen over statuswijzigingen en actieverzoeken - opmerking toegevoegd aan voorbeeld van inhoud voor e-mailnotificatie voor Invalid Sample IDs found in the Sample Sheet (Ongeldige monster-id's gevonden in het monsterblad).</li> <li>Monsterbladspecificaties en validatieregels - vervanging voor de inhoud van de tweede opmerking.</li> <li>Tabel 8 Validatieregels voor monsterblad NGS Option 1 (gegevensgedeelte) - 'De monster-id mag geen spaties bevatten. Vermijd het combineren van meerdere naast elkaar gebruikte underscores en streepjes. Vanaf versie 1.4 mag de monster_id niet beginnen met een 0 (nul).' toegevoegd aan Validatieregels in rij Monster-id.</li> <li>Tabel 11 Validatieregels voor monsterblad NGS Option 2 (gegevensgedeelte) - 'De monster-id mag geen spaties bevatten' toegevoegd. Vermijd het combineren van meerdere naast elkaar gebruikte underscores en streepjes. Vanaf versie 1.4 mag de monster_id niet beginnen met een 0 (nul).' Toegevoegd aan Validatieregels in rij Monster-id.</li> </ul>
Documentnr. 1000000012693 v02	augustus 2016	Bijgewerkte inhoud voor release versie 1.4.
Documentnr. 1000000012693 v01	juni 2016	<p>Bijgewerkt:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Adres en IVD-CE-markering van de geautoriseerde vertegenwoordiger voor Europa op het achterblad.</li> <li>Systeemoverzicht</li> <li>Validatieregels monster_id</li> <li>Analyse opnieuw laten uitvoeren voor duidelijkheid en het leveren van informatie voor probleemoplossing</li> </ul>
Documentnr. 1000000012693 v00	april 2016	Eerste release.

# Inhoudsopgave

<b>Hoofdstuk 1 Overzicht</b> .....	<b>1</b>
Systeemoverzicht .....	1
Concepten van de NIPT-analysesoftware (16 monsters) van VeriSeq .....	3
<b>Hoofdstuk 2 Werking van het systeem</b> .....	<b>5</b>
Inloggen .....	5
Gegevens organiseren .....	5
Compatibiliteit van sequencing-runs .....	6
Vereisten voor workflowtime-outs en opslag .....	7
Gegevensstroom van het systeem .....	8
Afsluiten systeem .....	22
<b>Hoofdstuk 3 Analyse en rapportage</b> .....	<b>23</b>
Monsterbladspecificaties en validatieregels .....	23
Demultiplexen en FASTQ genereren .....	34
Analyse opnieuw uitvoeren .....	35
Gegevens archiveren en er een back-up van maken .....	37
Rapportspecificaties en interpretatie van metrische gegevens .....	38
Verifiëren of ATMS wordt uitgevoerd .....	41
<b>Bijlage A Metrische QC-gegevens</b> .....	<b>42</b>
Metrische QC-gegevens en boven- en ondergrenzen (NGS Option 1) .....	43
Metrische QC-gegevens en boven- en ondergrenzen (NGS Option 2) .....	50
<b>Bijlage B Methode Vergelijkings onderzoek</b> .....	<b>56</b>
Methode Vergelijking van gegevens .....	56
<b>Technische ondersteuning</b> .....	<b>57</b>

# Overzicht

Systeemoverzicht .....	1
Concepten van de NIPT-analysesoftware (16 monsters) van VeriSeq .....	3

## Systeemoverzicht

De NIPT-analysesoftware (16 monsters) van VeriSeq is voorgeïnstalleerd beschikbaar op de NIPT-analyseserver (16 monsters) van VeriSeq, onderdeelnr. RH-400-1001 van Illumina. De server en voorgeïnstalleerde software bieden:

- ▶ Een analyseserver met een capaciteit die voldoende is voor de analyse van sequencing-gegevens gegenereerd door maximaal 2 sequencing-apparaten van de volgende generatie (NGS). De 2 NGS Instrument Options zijn:
  - ▶ Een sequencing-apparaat voor twee stroomcellen dat gebruikmaakt van stroomcellen met 2 paden (NGS Option 1).
  - ▶ Een sequencing-apparaat voor één stroomcel dat gebruikmaakt van een stroomcel met 4 paden (NGS Option 2).
- ▶ Een softwaresuite die in staat is BCL-geformatteerde sequencing-gegevens te analyseren die worden gegenereerd door de sequencing-software van bibliotheken die zijn voorbereid volgens de sequencing-protocollen voor cfDNA om foetale aneuploïdieën te detecteren op basis van chromosale representatie. Het softwarepakket bevat twee onderdelen:
  - ▶ **Analysis Task Manager Service (ATMS)** - een service in de achtergrond (daemon) die het volgende doet:
    - ▶ Controleert uitvoerpaden voor nieuwe runmappen.
    - ▶ Analyseert metagegevens over de runs om de configuratie van sequencing-runparameters te vergelijken met een set vooraf geconfigureerde analytische workflows.
    - ▶ Laadt het monsterblad dat is gekoppeld met elke sequencing-run en wijst identiteiten van afzonderlijke monsters op een bepaalde stroomcel toe aan de indexen.
    - ▶ Bereidt invoer voor op de analytische pijplijn.
    - ▶ Voert de pijplijn uit.
    - ▶ Houdt alle invoer- en uitvoergegevens bij in een database.
    - ▶ Genereert een runrapport voor elk van de afzonderlijke monsters op een stroomcel.
  - ▶ **cADAS** - een analytische pijplijn voor de detectie van foetale aneuploïdie op basis van sequencing-gegevens die zijn verkregen uit cfDNA dat is onttrokken aan het plasma van de moeder.
    - ▶ Analyseert sequencing-gegevens door verwerking via afstemming, dekkingsberekening, gegevensnormalisering en een samenvatting per chromosoom.
    - ▶ Genereert metrische QC-gegevens en de status geslaagd, mislukt of waarschuwing voor elk monster.
    - ▶ Genereert een score die het over- of ondervertegenwoordigde chromosomale materiaal voor elk van de doelchromosomen kenmerkt.



### OPMERKING

Het maximale aantal toegestane mislukte monsters in een batch is 4. Batches die minder dan 11 geldige monsters bevatten mogen niet worden geanalyseerd.

## Beoogd gebruik

De NIPT-analysesoftware (16 monsters) van VeriSeq genereert kwantitatieve scores ten behoeve van de detectie en differentiatie van de foetale aneuploïdiestatus voor de chromosomen 21, 18, 13, X en Y door het analyseren van sequencing-gegevens, gegenereerd uit celvrije DNA-fragmenten (cfDNA) die zijn onttrokken aan perifere volledig-bloedmonsters van vrouwen die ten minste tien weken zwanger zijn.

De kwantitatieve scores zijn z-scores die zijn gekoppeld aan onder- of oververtegenwoordiging van een doelchromosoom ten opzichte van de verwachting voor een diploïde chromosoom.

## Beperkingen van de procedure

- ▶ De VeriSeq NIPT-analysesoftware (16 monsters) is ontwikkeld om te worden gebruikt als onderdeel van een screeningstest en mag alleen worden gebruikt in combinatie met andere klinische bevindingen en testresultaten. Gebruikersgedefinieerde drempelwaarden met betrekking tot gegevensresultaten van deze software mogen geen betrekking hebben op de relatieve voordelen van een toegenomen gevoeligheid ten koste van de specificiteit en andersom. Geen enkele drempelwaarde is gelijk aan 100% gevoeligheid en 100% specificiteit. Hoewel dit zelden voorkomt, kunnen monsters met een relatief lage FF voor de sequentie-diepte waarvoor ze zijn verwerkt, resultaten geven die in de buurt van de drempelwaarde zitten en die minder nauwkeurig kunnen zijn.
- ▶ VeriSeq NIPT-analysesoftware (16 monsters) levert gegevens voor gebruik bij de rapportage van onderstaande:
  - ▶ Oververtegenwoordiging van chromosomen 21, 18 en 13
  - ▶ De volgende geslachtschromosomale aneuploïdieën: XO, XXX, XXY en XYY
- ▶ VeriSeq NIPT-analysesoftware (16 monsters) is niet bedoeld voor gebruik voor de rapportage van polyploidie.
- ▶ De gebruikte algoritmen in de VeriSeq NIPT-analysesoftware (16 monsters) kunnen worden verward door bepaalde maternale en foetale factoren, inclusief maar niet beperkt tot:
  - ▶ Een recente maternale bloedtransfusie
  - ▶ Een maternale orgaantransplantatie
  - ▶ Een maternale operatie
  - ▶ Maternale immunotherapie of stamcelbehandeling
  - ▶ Maternale maligniteit
  - ▶ Maternaal mozaïcisme
  - ▶ Begrensd placentaal mozaïcisme
  - ▶ Overlijden van de foetus
  - ▶ Foetale resorptie van tweeling
  - ▶ Foetale partiële trisomie of partiële monosomie
  - ▶ Foetaal mozaïcisme

## Concepten van de NIPT-analysesoftware (16 monsters) van VeriSeq

De volgende concepten en termen worden veel gebruikt in de NIPT-analysesoftware (16 monsters) van VeriSeq.

Concept	Description (omschrijving)
cADAS	De software voor de analysepijlijn. Een applicatie op de server die wordt gebruikt voor de sequencing van gegevensanalyse en de detectie van aneuploidie.
cfDNA	Celvrij DNA is DNA dat afkomstig is van zowel de moeder als de foetus en dat vrij door de bloedbaan van de moeder stroomt. De analyse van cfDNA biedt een non-invasieve manier van prenataal onderzoek.
Runmap	De mapstructuur die wordt gegenereerd door het NGS-sequencing-apparaat en wordt gevuld door primaire gegevensanalyse van het type RTA (Real-Time Analysis).
Monsterblad	Een bestand met door komma's gescheiden waarden (*.csv) dat informatie bevat die nodig is voor het instellen en analyseren van een sequencing-run, waaronder een lijst met monsters en hun indexsequenties.
Workflow	Een analytisch proces voor het analyseren van sequencing-runs die worden uitgevoerd door de NIPT-analysesoftware (16 monsters) van VeriSeq. De workflow voor elke run is gespecificeerd in het monsterblad.

## Overzicht van softwareanalyse

De NIPT analysesoftware (16 monsters) van VeriSeq evalueert het aantal kopieën van testchromosomen in proefmonsters. De analyse-invoer is 36 base-aflezings gegenereerd door een sequencing-apparaat van de volgende generatie. Aflezings worden afgestemd op het volledige menselijke genoom. Alleen aflezings die kunnen worden afgestemd op een unieke locatie of plek in het genoom worden gebruikt voor verdere analyse. Dubbele aflezings worden uit de analyse verwijderd. Aflezings worden verder gefilterd om de locaties uit te sluiten die worden geassocieerd met een hoge variatie in dekking over euploïde monsters. De ruwe dekking wordt aangepast via normalisering voor de GC-inhoud en andere factoren op subchromosomaal niveau en vervolgens samengevat tot chromosomale dekking door robuuste dekking langs het chromosoom.

Testchromosomen omvatten 21, 18 en 13, X en Y. Genormaliseerde dekking voor testchromosomen wordt genormaliseerd naar voorgedefinieerde referentie- of denominatorchromosomen om de chromosoomratio (R) voor de test te creëren. De vooraf gedefinieerde denominatorchromosomen worden geoptimaliseerd voor een maximale reductie van de variantie in de chromosoomratio's voor euploïde monsters. De chromosoomratio's voor testmonsters worden geconverteerd naar genormaliseerde chromosomale waarden (NCV's) met gebruikmaking van een correctie-tot-stroomcel-aangepast ratio-gemiddelde en schaling door vooraf gedefinieerde verwachte variatie in normale euploïde monsters (geschat op basis van de trainingsgegevens).

Afbeelding 1 Voorbeeld Testchromosoomratio (R)

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

De Normalized Chromosomal Value (NCV, genormaliseerde chromosomale waarde) wordt bepaald aan de hand van de vergelijking die wordt getoond in [Afbeelding 2](#). De NCV-waarde is gelijk aan een z-score. Een z-score beschrijft het verschil tussen een waarde en het populatiegemiddelde in termen van de standaarddeviatie. De drempel voor het beschouwen van een monster als onaangetast of aangetast op basis van NCV wordt bepaald door klanten voordat ze een klinische validatie van de workflow uitvoeren. Deze kan worden aangepast op basis van de uitkomst van het klinische validatieonderzoek.

**Afbeelding 2** Normalized Chromosomal Value (NCV)

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

$i$  - chromosoom

$k$  - monster

$U$  - onaangetast monster

$R_{ik}$  - ratio van chromosoom  $i$  in het  $k^{\text{de}}$  monster

$\overline{R_{U_i}}$  - voor stroomcel aangepaste gemiddelde chromosoomratio

$\sigma_{U_i}$  - standaarddeviatie voor de ratio van chromosoom  $i$  in de onaangetaste monsters uit de set met trainingsgegevens

## Schatting foetale fractie

De foetale fractie verwijst naar het percentage celvrij, circulerend DNA in een bloedmonster van de moeder uit de placenta. De NIPT-analysesoftware van VeriSeq berekent de schatting voor foetale fractie op basis van verschillen in genomische dekking tussen cfDNA van de moeder en van de foetus.<sup>1</sup>

De VeriSeq NIPT-analysesoftware (16 monsters) maakt gebruik van statistieken die tijdens sequencing worden gegenereerd om aldus voor elk monster een geschatte foetale fractie (FFE, fetal fraction estimation) te melden. Het FFE is de geschatte cfDNA-component van de foetus die door de assay wordt hersteld en wordt gerapporteerd als een afgerond percentage voor elk monster. De gemiddelde standaarddeviatie van deze schatting voor alle monsters is 2%. Wanneer resultaten worden gerapporteerd mag de FFE niet op zichzelf staand worden gebruikt om monsters uit te sluiten.

---

<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



# Werking van het systeem

Inloggen .....	5
Gegevens organiseren .....	5
Compatibiliteit van sequencing-runs .....	6
Vereisten voor workflowtime-outs en opslag .....	7
Gegevensstroom van het systeem .....	8
Afsluiten systeem .....	22

## Inloggen

De analyseserver is ingesteld als een Linux CentOS 6.6-apparaat met een account sbsuser.

Inloggen bij de server behoort niet tot het normale gebruik. Dit is alleen nodig om de server opnieuw op te starten of uit te schakelen.

Log in bij de server via een terminal of een ssh-verbinding met deze vooraf ingestelde inloggegevens:

- ▶ **Gebruikersnaam** - sbsuser
- ▶ **Wachtwoord** - stuur een e-mail naar de afdeling Technical Support van Illumina voor het wachtwoord.
- ▶ **Groep** - sbsuser

## Gegevens organiseren

Voor de analyseserver is een service voor netwerkdeling opgezet die via een samba-protocol vanaf Windows-systemen toegang biedt tot de harde schijf. De vooraf ingestelde gebruikersnaam en het initieel ingestelde wachtwoord voor de Samba-shares zijn 'sbsuser' en 'sbs123'. Het delen van schijven voor dit gebruikersaccount via het samba-protocol biedt toegang tot de volgende shares:

Locatie op de Linux-server	Naam share	Gebruikersnaam	Initieel wachtwoord	Toegangsrechten
/data01/runs	runs	sbsuser	Stuur een e-mail naar de afdeling Technical Support van Illumina voor het wachtwoord.	Lezen/schrijven
/data01/analysis_output	analysis_output	sbsuser	Stuur een e-mail naar de afdeling Technical Support van Illumina voor het wachtwoord.	Lezen

Tijdens het instellen van de sequencing-run stelt u de map runs in voor de uitvoer. Ga via de schermen voor het instellen van runs in de beheerssoftware voor sequencing-apparaten naar \\<SERVER.IP.ADDRESS>\runs waarbij <SERVER.IP.ADDRESS> het IP-adres is van de Onsite Server.

De map analysis\_output bevat de rapporten voor alle stroomcellen die zijn verwerkt via de cfDNA-analyse-workflow. Het systeem deelt rapporten in op basis van de naam van de oorspronkelijk runmap, die is gegenereerd door de sequencing-software, aangevuld met de datum en tijd van de analyse.

Bij de analyse van run 140806\_SN7001227\_0199\_AHABHTADXX wordt bijvoorbeeld een uitvoermap gegenereerd genaamd 140806\_SN7001227\_0199\_AHABHTADXX\_140806\_230337.

Gebruik de standaardnaam van de runmap die door uw sequencing-systeem wordt verstrekt. Voor de NIPT-analysesoftware van VeriSeq mag de naam van de runmap alleen de volgende alfanumerieke tekens bevatten: a - z, A - Z, 0 - 9 en underscores ('\_'). Andere tekens en spaties zijn niet toegestaan.

## Compatibiliteit van sequencing-runs

De server analyseert alleen sequencing-runs die compatibel zijn met de analytische workflow cfDNA. Configureer sequencing-runs met compatibele parameters voor aflezing.

Voor NGS Option 1:

- ▶ **Aflezen 1** - 36 bases
- ▶ **Index 1 (i7)** - 7 bases

Voor NGS Option 2:

- ▶ **Aflezen 1** - 36 bases
- ▶ **Index 1 (i7)** - 6 bases

Gebruik alleen compatibele sequencing-methoden en softwareversies om basisaanroepen te genereren.



### OPMERKING

Controleer regelmatig de metrische prestatiegegevens van sequencing-gegevens om er zeker van te zijn dat de kwaliteit van de gegevens binnen de specificatie valt.

**Tabel 1 NGS Option 1: compatibele sequencing-methoden en softwareversies**

Parameter	Compatibele waarde
SBS	TruSeq Rapid SBS Kit TruSeq Rapid SBS Kit v1 of HiSeq Rapid SBS Kit v2
Index	TruSeq Rapid SR Cluster Kit TruSeq Rapid SR Cluster Kit v1 of HiSeq Rapid SR Cluster Kit v2
Clusteringkeuze	OnBoardClustering
Applicatiennaam	HiSeq Control Software
Applicatieversie	2.0.12 of 2.2.38 of 2.2.58
FPGA-versie	3.10.3 of 7.7.2.5 of 7.9.7
RTA-versie	1.17.21 of 1.18.61 of 1.18.64

**Tabel 2 NGS Option 2: compatibele sequencing-methoden en softwareversies**

Parameter	Compatibele waarde
Applicatiennaam	NextSeq Control Software
Applicatieversie	1.3.0 of 2.0.0 of 2.1.0
RTA-versie	2.1.3 of 2.4.6 of 2.4.11

## Vereisten voor workflowtime-outs en opslag

Voor de analytische workflow cfDNA gelden de volgende time-out- en opslagbeperkingen.

**Tabel 3 Vereisten voor workflowtime-outs en opslag**

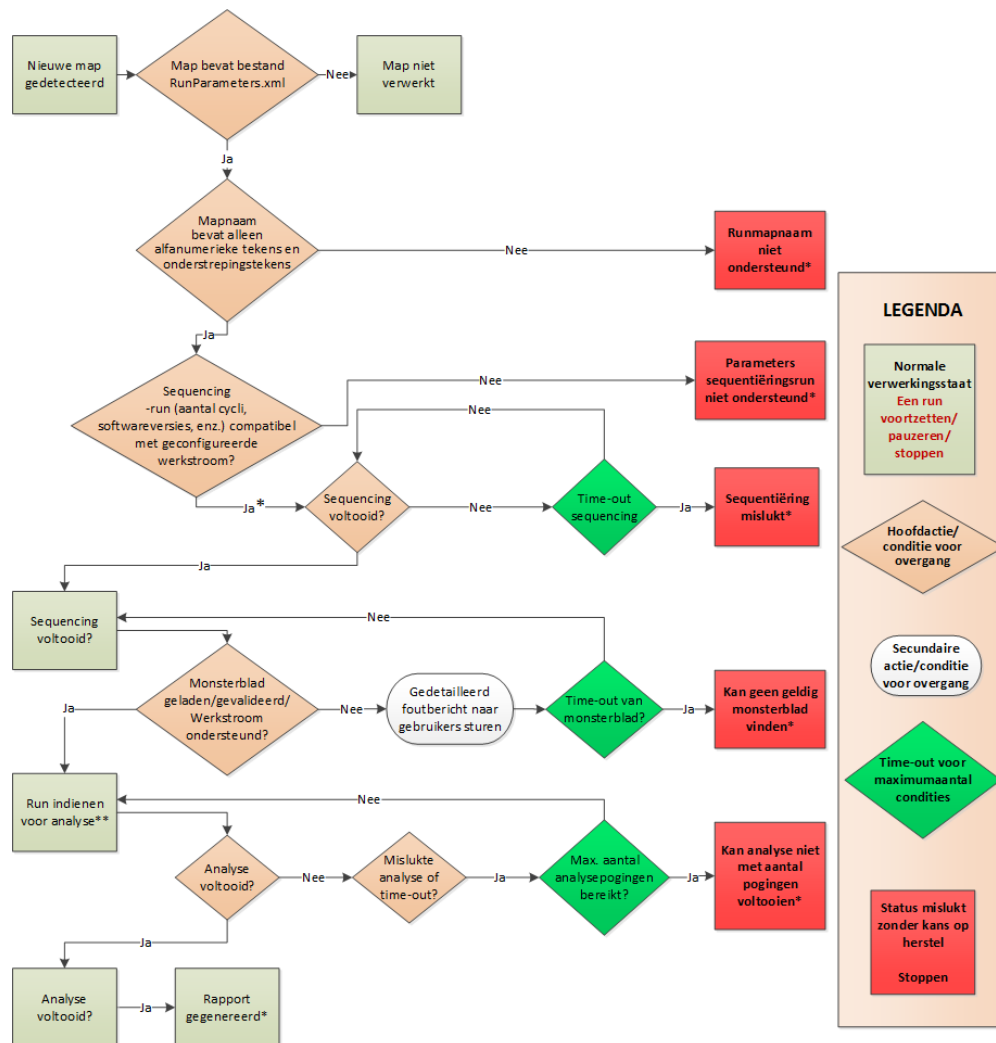
Parameter	Standaardwaarde
Maximale wachttijd runparameters	4 uur
Maximale sequencing-tijd	20 uur
Maximale wachttijd monsterblad	96 uur
Maximale analysetijd	3,5 uur
Minimale tijdelijke opslagruimte	200 GB

## Gegevensstroom van het systeem

Onder normale omstandigheden verzendt de ATMS meldingen over de sequencing-run en de status van de analyse naar gebruikers via een e-mailsysteem. **Afbeelding 3** toont de stroom van gegevens door het systeem en de statussen met bijbehorende e-mailmeldingen.

- ▶ **Grijze rechthoeken** - normale verwerkingsstatussen
- ▶ **Ruiten** - primaire condities voor de overgang naar de volgende status
- ▶ **Ovalen** - secundaire condities voor de overgang naar de volgende status
- ▶ **Rode rechthoeken** - mislukkingen

**Afbeelding 3** Gegevensstroom-diagram



\* Systeem genereert e-mailmelding.

\*\* Als op de server onvoldoende opslagruimte beschikbaar is, genereert het systeem een e-mailmelding.

Tijdens de normale verwerking doet de **ATMS** het volgende:

- ▶ Bewaakt de standaardmap (/data01/runs) voor nieuwe sequencing-runs. Nieuwe sequencing-runs worden gedefinieerd als mappen die een bestand runParameters.xml **[NGS Option 1]** bevatten of een bestand RunParameters.xml **[NGS Option 2]**.
- ▶ Verifieert de compatibiliteit van sequencing-runparameters met vooraf gedefinieerde analysewerkstromen.
- ▶ Laadt het monsterblad.
- ▶ Plant en voert analytische bewerkingen uit om definitieve rapporten te genereren.

De analyse wordt op één stroomcel tegelijk uitgevoerd. Aanvullende stroomcellen die op analyse wachten, worden in een wachtrij op de server geplaatst en doorlopen de analyse in de volgorde waarin ze worden geladen.

## Systemmeldingen

Het systeem verzendt e-mailmeldingen naar personen of e-maildistributiegroepen die tijdens het installatieproces van de server zijn ingesteld. Illumina beveelt aan e-maildistributiegroepen te gebruiken. Deze kunnen door de e-mailbeheerder worden aangepast. Wanneer bij de configuratie afzonderlijke adressen zijn opgegeven, moet de e-mailconfiguratie van de server worden aangepast wanneer zich wijzigingen in gebruikers voordoen. De e-mailmeldingen geven de status aan gedurende de normale werking en maken de gebruiker attent op eventuele fouten die tijdens de analyse zijn gegenereerd.

**Tabel 4** beschrijft de verschillende e-mailmeldingen die het systeem verzendt. De conventies voor naamgeving in de tabel zijn verplicht voor de NIPT-analysesoftware van VeriSeq om de NGS-uitvoerbestanden te kunnen importeren.



### OPMERKING

Zorg dat uw instellingen voor spammail ruimte bieden voor e-mailmeldingen van de server. E-mailmeldingen worden verzonden vanaf een account genaamd atms@<e-maildomein van klant>, waarbij het <e-maildomein van klant> wordt aangegeven door het lokale IT-team wanneer de server wordt geïnstalleerd.

Tabel 4 Normale meldingen over statuswijzigingen en actieverzoeken

Conditie	Normaal/waarschuwing/fout	E-mailmelding en voorbeeld van inhoud
Sequencing gestart. Deze melding wordt verzonden wanneer de server een nieuwe map detecteert. De runmap bevat het bestand met runparameters, dat aangeeft dat de sequencing is gestart met de juiste parameters voor sequencing. Naam van bestand met runparameters: <b>[NGS Option 1]</b> runParameters.xml <b>[NGS Option 2]</b> RunParameters.xml	Normale werking	Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (Naam sequencing-runmap: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX) Sequencing Run Status: Sequencing started (Status sequencing-run: sequencing gestart) Sequencing Start Time: 2014-05-12 08:15 PDT (Begintijd sequencing: 2014-05-12 08:15 PDT) Sequencing Complete Time: NA (Voltooiingstijd sequencing: NA) Workflow Name: NA (Naam workflow: NA) Analysis Scheduled Time: NA (Geplande tijd analyse: NA) Analysis Start Time: NA (Begintijd analyse: NA) Analysis Finish Time: NA (Eindtijd analyse: NA) Analysis Output Directory: NA (Uitvoermap analyse: NA)
Sequencing-run voltooid.	Normale werking	Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (Naam sequencing-runmap: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX) Sequencing Run Status: Sequencing completed (Status sequencing-run: sequencing voltooid) Sequencing Start Time: 2014-05-12 08:15 PDT (Begintijd sequencing: 2014-05-12 08:15 PDT) Sequencing Complete Time: 2014-05-12 08:16 PDT (Voltooiingstijd sequencing: 2014-05-12 08:16 PDT) Workflow Name: NA (Naam workflow: NA) Analysis Scheduled Time: NA (Geplande tijd analyse: NA) Analysis Start Time: NA (Begintijd analyse: NA) Analysis Finish Time: NA (Eindtijd analyse: NA) Analysis Output Directory: NA (Uitvoermap analyse: NA)

Conditie	Normaal/waarschuwing/fout	E-mailmelding en voorbeeld van inhoud
Parameters sequencing-run niet ondersteund.	Fout (niet herstelbaar)	<p>Sequencing run parameters for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' are not supported by any of the configured workflows. (Parameters voor sequencing-run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' worden door geen van de geconfigureerde workflows ondersteund.)</p> <p>This sequencing run folder will not be processed further. (Deze sequencing-runmap wordt verder niet verwerkt.)</p> <p>See the following errors: (Zie de volgende fouten:)</p> <p>Workflow Name: (Naam workflow:)</p> <p><b>[NGS Option 1]</b> cfDNAHiSeqv1.0</p> <p><b>[NGS Option 2]</b> cfDNANextSeqv1.0</p> <p>Mismatching Sequence Run Parameters found: NumCycles2, NumIndexed2 (Niet-overeenkomende parameters voor sequencing-run gevonden: NumCycles2, NumIndexed2)</p> <p>Found NumCycles2 value: 10, expected value: 7 (Gevonden NumCycles2-waarde: 10, verwachte waarde: 7)</p> <p>Found NumIndexed2 value: 10, expected value: 7 (Gevonden NumIndexed2-waarde: 10, verwachte waarde: 7)</p>

Conditie	Normaal/waarschuwing/fout	E-mailmelding en voorbeeld van inhoud
<p>Monsterblad bevat onjuiste streepjescode voor stroomcel.</p>	<p>Waarschuwing (herstelbaar binnen 96 uur)</p>	<p>The sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' found in the sequencing run folder generated the following error: (Het monsterblad voor sequencing-run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' dat in de sequencing-runmap is gevonden heeft de volgende fout gegenereerd:)</p> <p>The flow cell ID (barcode) recorded in the sample sheet ('Experiment Name' slot) is '' (De stroomcel-id (streepjescode) die is geregistreerd in het monsterblad (gedeelte 'Experiment Name') is '').</p> <p>This barcode is required to be identical to the barcode associated with the run folder 'H8HT6ADXX'. (Deze streepjescode moet hetzelfde zijn als de streepjescode die hoort bij runmap 'H8HT6ADXX'.)</p> <p>Please correct the error in order to proceed with analysis. (Corrigeer de fout om verder te kunnen gaan met de analyse.)</p> <p>The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute. (Over ongeveer een minuut wordt het monsterblad weer geüpload.)</p> <p>The sample sheet is located in the run folder '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX'. (Het monsterblad bevindt zich in de runmap '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX'.)</p>



Conditie	Normaal/waarschuwing/fout	E-mailmelding en voorbeeld van inhoud
Niet-ondersteunde workflow opgegeven in de kopregel 'Description' van het monsterblad.	Waarschuwing (herstelbaar binnen 96 uur)	<p>The sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' found in the sequencing run folder generated the following error: (Het monsterblad voor sequencing-run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' dat in de sequencing-runmap is gevonden heeft de volgende fout gegenereerd:)</p> <p>The workflow indicated in the sample sheet 'NIPT template1' is not supported by any of the configured workflows. (De in monsterblad 'NIPT template1' aangegeven workflow wordt door geen van de geconfigureerde workflows ondersteund.)</p> <p>The supported workflow names are: (De ondersteunde workflownamen zijn:)</p> <p><b>[NGS Option 1]</b> cfDNAHiSeqv1.0  <b>[NGS Option 2]</b> cfDNANextSeqv1.0</p> <p>Please correct the error in order to proceed with analysis. (Corrigeer de fout om verder te kunnen gaan met de analyse.)</p> <p>The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute. (Over ongeveer een minuut wordt het monsterblad weer geüpload.)</p> <p>The sample sheet is located in the run folder '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX'. (Het monsterblad bevindt zich in de runmap '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX.')</p>

Conditie	Normaal/waarschuwing/fout	E-mailmelding en voorbeeld van inhoud
Bestand SampleSheet.csv ontbreekt in de sequencingrunmap.	Waarschuwing (herstelbaar binnen 96 uur)	<p>The sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' in the sequencing run folder generated the following error: (Het monsterblad voor sequencing-run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' in de sequencing-runmap heeft de volgende fout gegenereerd:)</p> <pre> '/data01/runs/140207_D00409_0027_ AH8HT6ADXX/SampleSheet.csv (No such file or directory)'. ('/data01/runs/140207_D00409_0027_ AH8HT6ADXX/SampleSheet.csv (bestand of map bestaat niet)').</pre> <p>Please correct the error in order to proceed with analysis. (Corrigeer de fout om verder te kunnen gaan met de analyse.)</p> <p>The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute. (Over ongeveer een minuut wordt het monsterblad weer geüpload.)</p> <p>The sample sheet is located in the run folder  '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX'.  (Het monsterblad bevindt zich in de runmap  '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX.')</p>

Conditie	Normaal/waarschuwing/fout	E-mailmelding en voorbeeld van inhoud
Ongeldige monster-id's gevonden in het monsterblad the Sample Sheet	Fout (herstelbaar door de monster-id's te corrigeren)	<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- numerics / dashes / underscores). (Het parseren van het monsterblad voor sequencing-run '160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX' in de sequencing-runmap heeft de volgende fout(en) gegenereerd: Fout: ongeldige monster-id's aangetroffen (bevatten tekens anders dan alfanumerieke tekens / streepjes / underscores.) Invalid Sample ID values are: Plasma Control. (Waarden voor ongeldige monster-id's zijn: plasmacontrole.)</p> <p>Correct the error to proceed with analysis. (Corrigeer de fout om door te gaan met de analyse. ) The sample sheet will be uploaded again in approximately 1.0 minute. (Over ongeveer een minuut wordt het monsterblad weer geüpload.)</p> <p>Sample sheet should be located in the run folder '/data01/runs/160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX'. (Het monsterblad bevindt zich in de runmap '/data01/runs/160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX').</p> <p>Opmerking: deze fout wordt gegenereerd als er ongeldige tekens, inclusief spaties, in het monsterblad staan.</p>

Conditie	Normaal/waarschuwing/fout	E-mailmelding en voorbeeld van inhoud
Ontbrekende kopregelrij in het monsterblad.	Waarschuwing (herstelbaar binnen 96 uur)	<p>Attempt to load sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' generated the following error: (De poging om het monsterblad te laden voor sequencing-run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' heeft de volgende fout gegenereerd:) Error: Invalid Sample Sheet Header. (Fout: ongeldige kopregel van monsterblad.) Missing required fields: Description (Ontbrekende verplichte velden: Beschrijving)</p> <p>Please correct the error in order to proceed with analysis. (Corrigeer de fout om verder te kunnen gaan met de analyse.) The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute. (Over ongeveer een minuut wordt het monsterblad weer geüpload.) The sample sheet is located in the run folder '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX'. (Het monsterblad bevindt zich in de runmap '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX.)</p>

Conditie	Normaal/waarschuwing/fout	E-mailmelding en voorbeeld van inhoud
Er staan dubbele waarden voor index in het monsterblad	Fout (herstelbaar door het monsterblad te corrigeren)	<p>Parsing the sample sheet for sequencing run '140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2' in the sequencing run folder generated the following error(s): (Het monsterblad voor sequencing-run '140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2' in de sequencing-runmap heeft de volgende fout(en) gegenereerd:)</p> <p>Error: Duplicate Index value found: ACTGAT (A025) for Lane: 1 (Fout: dubbele indexwaarde gevonden: ACTGAT (A025) voor pad: 1)</p> <p>Invalid sample record found: S109_S109__A7_A025_ACTGAT__Test_62 for Index: ACTGAT (Ongeldig monsterrecord gevonden: S109_S109__A7_A025_ACTGAT__Test_62 voor index: ACTGAT)</p> <p>Duplicate Index value found: ATTCCT (A027) for Lane: 1 (Dubbele indexwaarde gevonden: ATTCCT (A027) voor pad: 1) (Ongeldig monsterrecord gevonden: S113_S113__B7_A027_ATTCCT__Test_62 voor index: ATTCCT)</p> <p>Invalid sample record found: S113_S113__B7_A027_ATTCCT__Test_62 for Index: ATTCCT (Ongeldig monsterrecord gevonden: S113_S113__B7_A027_ATTCCT__Test_62 voor index: ATTCCT)</p> <p>Duplicate Index value found: ACTGAT (A025) for Lane: 2 (Dubbele indexwaarde gevonden: ACTGAT (A025) voor pad: 2)</p> <p>Invalid sample record found: S109_S109__A7_A025_ACTGAT__Test_62 for Index: ACTGAT (Ongeldig monsterrecord gevonden: S109_S109__A7_A025_ACTGAT__Test_62 voor index: ACTGAT)</p> <p>Duplicate Index value found: ATTCCT (A027) for Lane: 2 (Dubbele indexwaarde gevonden: ATTCCT (A027) voor pad: 2)</p> <p>Invalid sample record found: S113_S113__B7_A027_ATTCCT__Test_62 for Index: ATTCCT (Ongeldig monsterrecord gevonden: S113_S113__B7_A027_ATTCCT__Test_62 voor index: ATTCCT)</p> <p>Correct the error to proceed with analysis. (Corrigeer de fout om door te gaan met de analyse.) The sample sheet will be uploaded again in approximately 1.0 minute. (Over ongeveer een minuut wordt het monsterblad weer geüpload.)</p> <p>Sample sheet should be located in the run folder '/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2'. (Monsterblad moet zich in de runmap '/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2' bevinden.)</p>

Conditie	Normaal/waarschuwing/fout	E-mailmelding en voorbeeld van inhoud
Ontbrekende of ongeldige waarde voor pad (alleen bij NGS Option 1)	Fout (herstelbaar door de monster-id's te corrigeren)	<p>Parsing the sample sheet for sequencing run '140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY' in the sequencing run folder generated the following error(s): (Het parseren van het monsterblad voor sequencing-run '140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY' in de sequencing-runmap heeft de volgende fout(en) gegenereerd:)</p> <p>Error: Invalid Lane value found at row: 47. (Fout: ongeldig pad gevonden in rij: 47. ) Invalid value: Invalid Lane value found at row: 47. (Ongeldige waarde: ongeldig pad gevonden in rij: 47.)</p> <p>Invalid value: Invalid Sample IDs found (contain characters other than alpha-numeric / dashes / underscores). (Ongeldige waarde: ongeldige monster-id's aangetroffen (bevatten tekens anders dan alfanumerieke tekens / streepjes / underscores).) Invalid Sample ID values are: &lt;blank&gt; (Waarden voor ongeldige monster-id's zijn: &lt;leeg&gt;)</p> <p>Correct the error to proceed with analysis. (Corrigeer de fout om door te gaan met de analyse.) The sample sheet will be uploaded again in approximately 1.0 minutes. (Over ongeveer 1,0 minuut wordt het monsterblad weer geüpload.)</p> <p>Sample sheet should be located in the run folder '/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY'. (Het monsterblad bevindt zich in de runmap'/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY'.)</p>
Sequentiëeringsrun mislukt. Geen bestand RTA Complete. Deze melding wordt verzonden wanneer het RTA Complete-bestand na 20 uur niet wordt gevonden.	Fout (niet herstelbaar: bestand RTACComplete.txt na maximale wachttijd van 20 uur)	<p>Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_D12_NO_RTACComplete_TC_SC_3 (Naam sequencing-runmap: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_D12_NO_RTACComplete_TC_SC_3)</p> <p>Sequencing Run Status: Failed sequencing (Status sequencing-run: sequencing mislukt)</p> <p>Sequencing Start Time: 2014-05-12 19:45 PDT (Begintijd sequencing: 2014-05-12 19:45 PDT)</p> <p>Sequencing Complete Time: NA (Voltooiingstijd sequencing: NA)</p> <p>Workflow Name: NA (Naam workflow: NA)</p> <p>Analysis Scheduled Time: NA (Geplande tijd analyse: NA)</p> <p>Analysis Start Time: NA (Begintijd analyse: NA)</p> <p>Analysis Finish Time: NA (Eindtijd analyse: NA)</p> <p>Analysis Output Directory: NA (Uitvoermap analyse: NA)</p>

Conditie	Normaal/waarschuwing/fout	E-mailmelding en voorbeeld van inhoud
Analyse gestart. Deze melding wordt verzonden wanneer de analyse is gestart. Deze verschijnt nadat RTA Complete verschijnt, waardoor de analyse wordt gestart. De analyse neemt 1 tot 2 uur in beslag.	Normale werking	Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (Naam sequencing-runmap: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX) Sequencing Run Status: Analysis started (Status sequencing-run: analyse gestart) Sequencing Start Time: 2014-05-12 19:45 PDT (Begintijd sequencing: 2014-05-12 19:45 PDT) Sequencing Complete Time: 2014-05-12 19:55 PDT (Voltooiingstijd sequencing: 2014-05-12 19:55 PDT) Workflow Name: (Naam workflow:) <b>[NGS Option 1]</b> cfDNAHiSeqv1.0 <b>[NGS Option 2]</b> cfDNANextSeqv1.0 Analysis Scheduled Time: 2014-05-12 20:05 PDT (Geplande tijd analyse: 2014-05-12 20:05 PDT) Analysis Start Time: 2014-05-12 20:06 PDT (Begintijd analyse: 2014-05-12 20:06 PDT) Analysis Finish Time: NA (Eindtijd analyse: NA) Analysis Output Directory: NA (Uitvoermap analyse: NA)
Analyse mislukt De run wordt automatisch 3 keer opnieuw verwerkt.	Waarschuwing (herstelbaar door te trachten de analyse opnieuw uit te voeren; ATMS wordt driemaal opnieuw in de verwerkingsrij gezet)	Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (Naam sequencing-runmap: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX) Sequencing Run Status: Analysis failed. (Status sequencing-run: analyse mislukt.) It will automatically be restarted to reprocess the run. (Deze wordt automatisch herstart om de run opnieuw te verwerken.) Sequencing Start Time: 2014-05-11 08:26 PDT (Begintijd sequencing: 2014-05-11 08:15 PDT) Sequencing Complete Time: 2014-05-11 08:27 PDT (Voltooiingstijd sequencing: 2014-05-11 08:16 PDT) Workflow Name: (Naam workflow:) <b>[NGS Option 1]</b> cfDNAHiSeqv1.0 <b>[NGS Option 2]</b> cfDNANextSeqv1.0 Analysis Scheduled Time: 2014-05-11 08:47 PDT (Geplande tijd analyse: 2014-05-11 08:47 PDT) Analysis Start Time: 2014-05-11 08:57 PDT (Begintijd analyse: 2014-05-11 08:57 PDT ) Analysis Finish Time: 2014-05-11 08:59 PDT (Eindtijd analyse: 2014-05-11 08:59 PDT) Analysis Output Directory: NA (Uitvoermap analyse: NA)

Conditie	Normaal/waarschuwing/fout	E-mailmelding en voorbeeld van inhoud
Maximaantal analysepogingen mislukt. Deze melding wordt verzonden na de derde mislukte analysepoging.	Fout (niet herstelbaar)	Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_TC_A_3 (Naam sequencing-runmap: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_TC_A_3) Sequencing Run Status: Maximum number of analysis attempts were exhausted. (Status sequencing-run: Maximaal aantal analysepogingen is bereikt.) Please contact Illumina Technical Support. Sequencing Start Time: 2014-05-13 07:00 PDT (Begintijd sequencing: 2014-05-13 07:00 PDT) Sequencing Complete Time: 2014-05-13 07:01 PDT (Voltooiingstijd sequencing: 2014-05-13 07:01 PDT) Workflow Name: (Naam workflow:) <b>[NGS Option 1]</b> cfDNAHiSeqv1.0 <b>[NGS Option 2]</b> cfDNANextSeqv1.0 Analysis Scheduled Time: 2014-05-13 07:09 PDT (Geplande tijd analyse: 2014-05-13 07:09 PDT) Analysis Start Time: 2014-05-13 07:11 PDT (Begintijd analyse: 2014-05-13 07:11 PDT) Analysis Finish Time: 2014-05-13 07:12 PDT (Eindtijd analyse: 2014-05-13 07:12 PDT) Analysis Output Directory: NA (Uitvoermap analyse: NA)
Naam runmap bevat niet-toegestane tekens.	Fout (herstelbaar door niet-toegestane tekens te verwijderen)	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 ("_"). (Ongeldige naam van sequencing-runmap: '140207 D00409 0027 AH8HT6ADXX'. De naam van de runmap voor sequencing mag alleen de volgende alfanumerieke tekens bevatten): a-z, A-Z, 0-9 en underscores ('_').) No spaces or other characters are allowed. (Andere tekens en spaties zijn niet toegestaan.) This sequencing run folder will not be processed further. (Deze sequencing-runmap wordt verder niet verwerkt.) Correct the run folder name to requeue for analysis. (Corrigeer de naam van de map voor de run om de analyse opnieuw uit te laten voeren.)



Conditie	Normaal/waarschuwing/fout	E-mailmelding en voorbeeld van inhoud
Rapport voor cfDNA-sequencing gegenereerd.	Normale werking	<p>Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (Naam sequencing-runmap: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX)</p> <p>Sequencing Run Status: rapporten gegenereerd (Status sequencing-run: rapporten gegenereerd)</p> <p>Sequencing Start Time: 2014-05-12 19:45 PDT (Begintijd sequencing: 2014-05-12 19:45 PDT)</p> <p>Sequencing Complete Time: 2014-05-12 19:55 PDT (Voltooiingstijd sequencing: 2014-05-12 19:55 PDT)</p> <p>Workflow Name: (Naam workflow:)</p> <p><b>[NGS Option 1]</b> cfDNAHiSeqv1.0</p> <p><b>[NGS Option 2]</b> cfDNANextSeqv1.0</p> <p>Analysis Scheduled Time: 2014-05-12 20:05 PDT (Geplande tijd analyse: 2014-05-12 20:05 PDT)</p> <p>Analysis Start Time: 2014-05-12 20:06 PDT (Begintijd analyse: 2014-05-12 20:06 PDT)</p> <p>Analysis Finish Time: 2014-05-12 21:24 PDT (Eindtijd analyse: 2014-05-12 21:24 PDT)</p> <p>Analysis Output Directory: /data01/analysis_output/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_140512_200514 (Uitvoermap analyse: /data01/analysis_output/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_140512_200514)</p>

## Afsluiten systeem

### Herstellen van een onverwachte uitschakeling

Wanneer er sprake is van een stroomstoring of de gebruiker het systeem per ongeluk uitschakelt tijdens de uitvoering van een analyse, gebeurt het volgende:

- ▶ De software wordt automatisch weer gestart bij het opstarten van het systeem.
- ▶ De analyse die op het moment van afsluiting werd uitgevoerd, wordt als mislukt herkend en opnieuw aan de wachtrij aangeboden voor verwerking.
- ▶ Wanneer de analyse met succes is uitgevoerd, wordt uitvoer gegenereerd.



#### **OPMERKING**

Als de analyse mislukt, kan het systeem de analyserun driemaal opnieuw indienen.

# Analyse en rapportage

Monsterbladspecificaties en validatieregels .....	23
Demultiplexen en FASTQ genereren .....	34
Analyse opnieuw uitvoeren .....	35
Gegevens archiveren en er een back-up van maken .....	37
Rapportspecificaties en interpretatie van metrische gegevens .....	38
Verifiëren of ATMS wordt uitgevoerd .....	41

## Monsterbladspecificaties en validatieregels

In dit gedeelte vindt u instructies voor het maken van het monsterblad. Dit blad is vereist voor de analyse van een runmap door de NIPT-analysesoftware van VeriSeq. Volg de instructies voor de NGS-optie die u gebruikt.



### OPMERKING

Verifieer of de monster-id-toewijzing aan de bijbehorende indexen nauwkeurig is. Voor het behoud van de integriteit van de monsters is een nauwkeurige toewijzing vereist. Laat het monsterblad controleren door een andere persoon dan degene die het blad heeft gemaakt, voordat de sequencing-run wordt gestart. Eventuele fouten bij het toewijzen van de monsters aan de juiste indexen, kan ertoe leiden dat er onjuiste resultaten worden gerapporteerd voor verkeerd geïdentificeerde monsters.



### OPMERKING

Voeg altijd een proces- en een negatieve controle (zonder sjabloon) toe in de monsterbatch. De procescontrole (maar niet de negatieve controle) moet worden toegevoegd aan de bibliotheek-pool en geïdentificeerd als monstertype Control (Controle) op het monsterblad. Voeg de negatieve controle niet toe aan de monsterbatch of het monsterblad.

## NGS Option 1

De NIPT-analysesoftware (16 monsters) van VeriSeq vereist een monsterblad voor elke stroomcel. Voor de workflow van NGS Option 1 worden monsterbladen tijdens het instellen van de sequencing-run geladen en in de uitvoermap geplaatst als 'SampleSheet.csv'. Het monsterblad is een door komma's gescheiden bestand dat uit twee gedeeltes bestaat: een kopregel voor runniveau-informatie en een gegevensgedeelte waarin monsterspecifieke eigenschappen worden vastgelegd. NGS Option 1 gebruikt een stroomcel met 2 paden. Dezelfde monsters worden in beide paden (1 en 2) uitgevoerd. Bij het invoeren van de monsterinformatie in het monsterblad moet elke combinatie van monster-id, well en index worden vermeld in zowel pad 1 als pad 2. De combinatie van monster-id, well en index moet binnen een pad uniek zijn.

Verifieer of de koppeling van de monster-id met de bijbehorende indexen juist is. Voor het behoud van de integriteit van de monsters is een nauwkeurige toewijzing vereist.

Raadpleeg [Tabel 5](#) en [Tabel 6](#) voor voorbeelden van gedeeltes met kopregels en gegevens van een monsterblad.



### OPMERKING

De conventies voor naamgeving in de volgende tabel zijn verplicht voor de NIPT-analysesoftware van VeriSeq om de NGS-uitvoerbestanden te kunnen importeren.

**Tabel 5 Voorbeeld van monsterblad van NGS Option 1 (gedeelte met kopregel)**

[Kopregel]	
IEMFileVersion (IEM-bestandsversie)	4
Investigator Name (Naam onderzoeker)	
Experiment Name (Naam experiment)	H9KY7ADXX
Date (datum)	
Workflow	GenerateFASTQ
Application (Applicatie)	Alleen HiSeq FASTQ
Assay	TruSeq LT
Omschrijving	cfDNAHiSeqv1.0
Chemistry (Chemie)	Default
[Reads] (Aflezingen)	
	36
[Settings] (Instellingen)	

**OPMERKING**

Het gedeelte met de kopregel van het monsterblad moet de exacte stroomcel-id (volledig in hoofdletters) bevatten in het veld Experiment Name (naam experiment) en het veld Description (omschrijving) moet 'cfDNAHiSeqv1.0' bevatten.

Tabel 6 Voorbeeld monsterblad NGS Option 1 (gegevensgedeelte)

[Gegevens]										
Lane (Pad)	Sample_ID (monster-id)	Sample_Name (naam monster)	Sample_Plate (monsterplaat)	Sample_Well (monster-well)	I7_Index_ID (I7_index_id)	Index	Sample_Project (monsterproject)	Omschrijving	SampleType (monstertype)	Library_nM (bibliotheek_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		Mislukte bibliotheek	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			Controle	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		Mislukte bibliotheek	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	Controle	65,20376

Validatieregels voor koptekst en gegevensgedeelten van monsterbladen staan beschreven in [Tabel 7](#) en [Tabel 8](#). De gegevens in elke cel van het monsterblad mogen niet langer zijn dan 100 tekens.



### OPMERKING

De conventies voor naamgeving in de volgende tabel zijn verplicht voor de NIP-T-analysesoftware van VeriSeq om de NGS-uitvoerbestanden te kunnen importeren.

**Tabel 7 Validatieregels voor monsterblad (gedeelte met kopregel)**

Veld	Vereist	Validatieregels
IEMFileVersion (IEM-bestandsversie)	Ja	Moet 4 zijn.
Investigator Name (Naam onderzoeker)	Ja	Geen validatieregels.
Experiment Name (Naam experiment)	Ja	Moet de stroomcel-id zijn (volledig in hoofdletters). Wordt gevalideerd op basis van de streepjescode afkomstig uit runParameters.xml.
Date (datum)	Ja	Geen validatieregels.
Workflow	Ja	Geen validatieregels.
Application (Applicatie)	Ja	Geen validatieregels.
Assay	Ja	Geen validatieregels.
Omschrijving	Ja	Moet cfDNAHiSeqv1.0 zijn.
Chemistry (Chemie)	Ja	Geen validatieregels.

**Tabel 8 Validatieregels voor monsterblad NGS Option 1 (gegevensgedeelte)**

Kolomnaam	Interpretatie	Klasse	Geldige invoer	Vereist	Validatieregels
Lane (Pad)	Pad waarop het monster zich bevindt.	Geheel getal	1, 2	Ja	Moet 1 of 2 zijn.
Sample_ID (monster-id)	Monster-id (wordt gebruikt voor cADAS-uitvoerrapportage)	Tekenreeks	Uniek per index binnen stroomcel	Ja	Voor een bepaalde monster-id moeten alle gegevenswaarden, naast die voor het pad (lane), in het monsterblad identiek zijn. Monster-id mag alleen alfanumerieke tekens bevatten, zoals a - z, A - Z, 0 - 9, underscores ('_') en streepjes ('-'). De monster-id mag geen spaties bevatten. Vermijd het combineren van meerdere naast elkaar gebruikte underscores en streepjes. Vanaf versie 1.4 mag de monster_id niet beginnen met een 0 (nul).
Sample_Name (naam monster)	Monsternaam	Tekenreeks	Genegeerd	Nee	Dit veld mag leeg zijn. Er gelden geen validatieregels. Monsternaam wordt afgebroken tot 100 tekens.

Kolomnaam	Interpretatie	Klasse	Geldige invoer	Vereist	Validatieregels
Sample_Plate (monsterplaat)	Monsterplaat-id	Tekenreeks	PXXXX, waarbij XXXX numeriek zijn	Nee	Dit veld mag leeg zijn. Er gelden geen validatieregels. Monsterplaat-id wordt afgebroken op 100 tekens.
Sample_Well (monster-well)	Sample_Well ID (id monster-well)	Tekenreeks	A01 - A08 B01 - B08	Ja	Zowel indeling A1 als A01 wordt ondersteund. Waarden worden gevalideerd op basis van een normale expressie. Eerste teken A-H en de volgende 2 kunnen 1-12 of 01-12 zijn.
I7_Index_ID (I7_index_id)	Index-id	Tekenreeks	A001 - A024	Ja	Eerste teken is altijd A en vervolgens 3 numerieke tekens; raadpleeg Tabel 12.
Index	Indexsamenstelling	Tekenreeks		Ja	Alle indexsequenties die in Tabel 12 staan, zijn toegestaan. Totaalaantal indexwaarden binnen een bepaald pad moet 8 of meer zijn. Wanneer er minder dan 8 zijn, wordt een fout gegenereerd. Aanvullende validatie wordt uitgevoerd om I7_Index_ID en Index-waardeparen te matchen. Voor elke Pad-waarde moeten alle Index-waarden uniek zijn.
Sample_Project (monsterproject)	Projectnaam	Tekenreeks	Genegeerd	Nee	Dit veld mag leeg zijn.
Omschrijving	Beschrijving van monster	Tekenreeks	Genegeerd	Nee	Dit veld mag leeg zijn. Als het woord 'mislukt' in dit veld staat, wordt het monster gemarkeerd als mislukt en worden er geen resultaten voor gerapporteerd.
SampleType (monstertype)	Monstertype	Tekenreeks	'Patient', 'Test', 'Control'	Ja	Moet Patient, Test of Control zijn. (Validatie is hoofdlettergevoelig.)
Library_nM (bibliotheek_nM)	Concentratie bibliotheek	Echt	Numerieke waarden	Ja	Moet numeriek zijn.

De gebruiker kan een monster van analyse uitsluiten door in het monsterblad 'failed' (hoofdlettergevoelig) aan te geven in het veld 'description' (omschrijving) voor het monster. Dit maakt dat gedurende de hele workflow monsters die de sequencing niet doorlopen als gevolg van een QC-fout vóór de sequencing, worden gevolgd. De waarde in het veld Description (omschrijving) van het monster is opgenomen in het uitvoerbestand en de gegevensvelden bevatten blanco waarden.



## NGS Option 2

De runsetup-workflow in NGS Option 2 omvat geen optie voor het handmatig uploaden van een monsterblad bij het instellen van een run. In plaats daarvan plaatst de gebruiker, nadat een nieuwe run is gedetecteerd, het monsterblad met de naam `samplesheet.csv` in de uitvoerrunmap in de runmap op de analyseserver. ATMS stuurt een e-mail naar de gebruiker met de mededeling dat een nieuwe run is gedetecteerd nadat het bestand `RunParameters.xml` is geschreven naar de runmap in de map `/data01/runs` van de analyseserver en nadat de sequencing is begonnen. Het monsterblad moet voordat de sequencing-run wordt beëindigd in de runmap worden geplaatst (voordat het bestand `RTAComplete.txt` naar de runmap wordt geschreven).



### OPMERKING

Als het bestand `samplesheet.csv` niet aanwezig is in de uitvoerrunmap op het moment dat het bestand `RTAComplete.txt` wordt geschreven, verstuurt de analysesoftware een melding. Raadpleeg [Hoofdstuk 2 Werking van het systeem, Systemmeldingen, Tabel 4 op pagina 10](#).

Bij gebruik van NGS Option 2 worden dezelfde monsters over de gehele stroomcel uitgevoerd. De nummers van de paden worden niet aangegeven in het monsterblad. Bij het invoeren van de monsterinformatie in het monsterblad wordt elke combinatie van monster-id, well en index eenmaal vermeld in het gegevensgedeelte van het monsterblad. Elke combinatie van monster-id, well en index moet uniek zijn.

Verifieer of de koppeling van de monster-id met de bijbehorende indexen juist is. Voor het behoud van de integriteit van de monsters is een nauwkeurige toewijzing vereist.

Raadpleeg [Tabel 9](#) en [Tabel 10](#) voor voorbeelden van gedeelten met kopregels en gegevens van een monsterblad.



### OPMERKING

De conventies voor naamgeving in de volgende tabel zijn verplicht voor de NIPT-analysesoftware van VeriSeq om de NGS-uitvoerbestanden te kunnen importeren.

**Tabel 9 Voorbeeld van monsterblad van NGS Option 2 (gedeelte met kopregel)**

[Kopregel]	
IEMFileVersion (IEM-bestandsversie)	4
Investigator Name (Naam onderzoeker)	Name (Naam)
Experiment Name (Naam experiment)	FlowCellID (stroomcel-id)
Date (datum)	4-2-2014
Workflow	GenerateFASTQ
Application (Applicatie)	FASTQ Only
Assay	TruSeq LT
Omschrijving	cfDNANextSeqv1.0
Chemistry (Chemie)	Default
[Reads] (Afleringen)	
	36
[Settings] (Instellingen)	
ReverseComplement	0



### **OPMERKING**

Het gedeelte met de kopregel van het monsterblad moet de exacte stroomcel-id (volledig in hoofdletters) bevatten in het veld Experiment Name (naam experiment) en het veld Description (omschrijving) moet 'cfDNANextSeqv1.0' bevatten.

**Tabel 10 Voorbeeld van monsterblad van NGS Option 2 (gegevensgedeelte)**

[Gegevens]									
Sample_ID (monster-id)	Sample_Name (naam monster)	Sample_Plate (monsterplaat)	Sample_Well (monster-well)	I7_Index_ID (I7_index_ id)	Index	Sample_Project (monsterproject)	Omschrijving	SampleType (monstertype)	Library_nM (bibliotheek_ 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			Controle	64,7

Validatieregels voor gegevensgedeelten in monsterbladen worden beschreven in [Tabel 11](#). De gegevens in elke cel van het monsterblad mogen niet langer zijn dan 100 tekens.

**Tabel 11 Validatieregels voor monsterblad NGS Option 2 (gegevensgedeelte)**

Kolomnaam	Interpretatie	Klasse	Geldige invoer	Vereist	Validatieregels
Sample_ID (monster-id)	Monster-id (wordt gebruikt voor cADAS-uitvoerrapportage)	Tekenreeks	Uniek per index binnen stroomcel	Ja	Monster-id mag alleen alfanumerieke tekens bevatten, zoals a - z, A - Z, 0 - 9, underscores ('_') en streepjes ('-'). De monster-id mag geen spaties bevatten. Vermijd het combineren van meerdere naast elkaar gebruikte underscores en koppeltekens. Vanaf versie 1.4 mag de monster_id niet beginnen met een 0 (nul).
Sample_Name (naam monster)	Monsternaam	Tekenreeks	Vrije tekst	Nee	Dit veld mag leeg zijn. Er gelden geen validatieregels. Naam wordt afgebroken tot 100 tekens.
Sample_Plate (monsterplaat)	Monsterplaat-id	Tekenreeks	PXXXX, waarbij XXXX numeriek zijn	Nee	Dit veld mag leeg zijn. Er gelden geen validatieregels. Monsterplaat-id wordt afgebroken op 100 tekens.
Sample_Well (monster-well)	Sample_Well ID (id monster-well)	Tekenreeks	A01 - A08 B01 - B08	Ja	Zowel indeling A1 als A01 wordt ondersteund. Waarden worden gevalideerd op basis van een normale expressie. Eerste teken A-H en de volgende 2 kunnen 1-12 of 01-12 zijn.
I7_Index_ID (I7_index_id)	Index-id	Tekenreeks	A001 - A024	Ja	Eerste teken is altijd A, gevolgd door drie numerieke tekens.
Index	Indexsamenstelling	Tekenreeks		Ja	Alle indexsequenties die in <a href="#">Tabel 12</a> staan, zijn toegestaan. Totaalaantal indexwaarden binnen een bepaald pad moet 8 of meer zijn. Wanneer er minder dan 8 zijn, wordt een fout gegenereerd. Aanvullende validatie wordt uitgevoerd om I7_Index_ID en Index-waarderepen te matchen. Voor elk monsterblad zijn alle Index-waarden uniek. Dit mogen geen duplicaten zijn.
Sample_Project (monsterproject)	Projectnaam	Tekenreeks	Genegeerd	Nee	Dit veld mag leeg zijn.
Omschrijving	Beschrijving van monster	Tekenreeks	Genegeerd	Nee	Dit veld mag leeg zijn. Als het woord 'mislukt' in dit veld staat, wordt het monster gemarkeerd als mislukt en worden er geen resultaten voor gerapporteerd.

Kolomnaam	Interpretatie	Klasse	Geldige invoer	Vereist	Validatieregels
SampleType (monstertype)	Monstertype	Tekenreeks	'Patient', 'Test', 'Control'	Ja	Moet Patient, Test of Control zijn. (Validatie is hoofdlettergevoelig.)
Library_nM (bibliotheek_nM)	Concentratie bibliotheek	Echt	Numerieke waarden	Ja	Moet numeriek zijn.

De gebruiker kan een monster van analyse uitsluiten door in het monsterblad 'failed' (hoofdlettergevoelig) aan te geven in het veld 'description' (omschrijving) voor het monster. Dit maakt dat gedurende de hele workflow monsters die de sequencing niet doorlopen als gevolg van een QC-fout vóór de sequencing, worden gevolgd. De waarde in het veld Description (omschrijving) van het monster is opgenomen in het uitvoerbestand en de gegevensvelden bevatten blanco waarden. Raadpleeg [Tabel 12](#) voor geldige indexwaarden.

## Geldige indexwaarden

Tabel 12 Geldige indexwaarden

i7_Index_ID (I7_index_id)	Index
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

## Demultiplexen en FASTQ genereren

Voor NGS Option 1 wordt gebruikgemaakt van een aangepaste demultiplexer. Voor NGS Option 2 wordt gebruikgemaakt van de bcl2fastq v2-converter voor demultiplexen en FASTQ genereren. Beide analyseopties produceren een aanvullend bestand dat gerelateerd is aan het monsterblad, naast het originele bestand SampleSheet.csv.

- ▶ **SampleSheet.csv** - het originele monster zoals aangeleverd door de gebruiker.
- ▶ **sample\_sheet\_processed\_JJJJ\_MM\_DD\_hh-mm-ss.txt** - een door ATMS gegenereerd bestand na het inlezen van het door de gebruiker aangeleverde monsterblad. Dit bestand bevat de informatie die is doorgegeven aan opvolgende stappen voor gegevensanalyse.



### OPMERKING

Open een monsterblad niet tijdens het uitvoeren van een analyse, tenzij u tijdens de validatiestap voor het monsterblad wordt gevraagd dit te doen.

## Analyse opnieuw uitvoeren



### OPMERKING

Het opnieuw uitvoeren van een analyse mag ALLEEN worden gedaan nadat per e-mail een melding van de server is ontvangen over een fout met een monsterblad.

U kunt de analyse van de run opnieuw laten uitvoeren wanneer het monsterblad fouten bevat die niet van invloed zijn op de validatie of de analyse. Wijzigingen aan het monsterblad zoals hieronder beschreven mogen alleen worden doorgevoerd nadat een melding per e-mail is ontvangen van de server die een fout in het monsterblad aangeeft. Bijvoorbeeld:

- ▶ lege rijen of kolommen;
- ▶ kopregel ontbreekt;
- ▶ niet-ondersteunde workflow opgegeven in de kopregel Description (omschrijving) van het monsterblad;
- ▶ onjuiste streepjescode voor stroomcel.

## Runmap bevindt zich op de server

Deze procedure beschrijft hoe u een analyse opnieuw laat uitvoeren wanneer de map voor uw run zich op de server bevindt.

- 1 Open Windows Verkenner vanaf een computer die zich in hetzelfde netwerk bevindt als de analyseserver en blader naar de map /runs.
- 2 Zoek naar de map van de run die u opnieuw wilt laten analyseren.
- 3 Rechtsklik op de runmap en klik op **Kopiëren**.
- 4 Rechtsklik ergens in de map /runs en klik op **Plakken**.  
Er wordt een kopie van de runmap gemaakt met '- Copy' toegevoegd aan het eind van de naam van de map. Bijvoorbeeld: naam\_runmap - Copy.  
Het systeem verzendt een e-mailmelding over ongeldige tekens in de naam van de map; deze kunt u negeren.



### OPMERKING

Ga niet verder naar de volgende stap totdat de runmap volledig is gekopieerd. Dit duurt ongeveer 30 minuten.

- 5 Open de gekopieerde runmap en verwijder het volgende bestand:  
sample\_sheet\_processed\_JJJJ\_MM\_DD\_uu-mm-ss.txt
- 6 Werk in de gekopieerde runmap en bewerk het bestand SampleSheet.csv om de fouten te corrigeren. Verwijder lege rijen en/of kolommen.
- 7 Bewaar het monsterblad in de gekopieerde runmap als SampleSheet.csv om het bestaande bestand te overschrijven.  
Zorg ervoor dat het bestand als indeling CSV (door komma's gescheiden waarden) blijft houden. Sommige pakketten voor spreadsheet-software wijzigen de bestandsindeling zonder waarschuwing en overschrijven komma's met andere symbolen. Pas het monsterblad niet meer aan nadat het is gekopieerd naar de kopie van de runmap.

- 8 Om de analyse te beginnen, moet de kopie van de runmap als volgt worden hernoemd:
  - a Rechtsklik op de kopie van de runmap en klik op **Hernoemen**.
  - b Vervang de spaties en het streepje door een underscore (\_). Bijvoorbeeld: naam\_runmap\_copy.



#### OPMERKING

Voeg geen tekens toe vóór de naam van de map. Bijvoorbeeld: copy\_naam\_runmap. Voeg alleen aan het eind van de naam van de runmap tekens toe. Gebruik hiervoor alleen de volgende alfanumerieke tekens: a - z, A - Z, 0 - 9 en underscores ('\_'). Spaties, streepjes en andere tekens zijn niet toegestaan.

Het systeem analyseert automatisch naam\_runmap\_copy.

- 9 Als sample\_sheet\_processed\_JJJJ\_MM\_DD\_uu-mm-ss.txt niet binnen 30 minuten wordt aangemaakt, raadpleegt u [Probleemoplossing analyse opnieuw uitvoeren op pagina 37](#).

## Een voltooide run naar de server kopiëren en deze in de verwerkingsrij zetten voor analyse

Deze procedure beschrijft hoe een runmap handmatig kan worden gekopieerd naar de server en de analyse in de verwerkingsrij kan worden geplaatst.



#### OPMERKING

Volg de procedure in de exacte volgorde zoals hieronder aangegeven.

De stappen 1 t/m 5 moeten worden voltooid voordat de runmap naar de analyseserver wordt gekopieerd.

- 1 Open de runmap en verplaats het bestand **RTAcomplete.txt** naar een locatie buiten de runmap.
- 2 Verwijder het volgende bestand uit de runmap:  
sample\_sheet\_processed\_JJJJ\_MM\_DD\_uu-mm-ss.txt
- 3 Bewerk - indien nodig - het originele monsterblad om fouten te corrigeren of andere wijzigingen door te voeren. Verwijder lege rijen en/of kolommen.
- 4 Bewaar het monsterblad in de runmap als SampleSheet.csv om het bestaande bestand te overschrijven. Pas het monsterblad niet meer aan nadat het naar de runmap is gekopieerd.
- 5 Controleer of er nog steeds geen bestand RTAComplete.txt in de runmap aanwezig is.
- 6 Rechtsklik op de runmap en klik op **Kopiëren**.
- 7 Open Windows Verkenner vanaf een computer die zich in hetzelfde netwerk bevindt als de analyseserver en blader naar de map /runs.
- 8 Rechtsklik ergens in de map /runs en klik op **Plakken**.



#### OPMERKING

Ga niet verder naar de volgende stap totdat de runmap volledig is gekopieerd. Dit kan ongeveer 30 minuten of nog langer duren, afhankelijk van de netwerksnelheid.

Voeg geen tekens toe vóór de naam van de map. Bijvoorbeeld: copy\_naam\_runmap. Voeg alleen aan het eind van de naam van de runmap tekens toe. Gebruik hiervoor alleen de volgende alfanumerieke tekens: a - z, A - Z, 0 - 9 en underscores ('\_'). Spaties, streepjes en andere tekens zijn niet toegestaan.

- 9 Om de analyse te beginnen, kopieert u het bestand **RTAcomplete.txt** van de locatie waarnaartoe u het hebt verplaatst en plakt u het in de runmap.  
Het systeem analyseert de runmap automatisch opnieuw.



- 10 Als `sample_sheet_processed_JJJJ_MM_DD_uu-mm-ss.txt` niet binnen 30 minuten wordt aangemaakt, raadpleegt u *Probleemoplossing analyse opnieuw uitvoeren* op pagina 37.

## Probleemoplossing analyse opnieuw uitvoeren

- 1 Controleer of via e-mail een foutmelding is binnengekomen.
- 2 Controleer de e-mail op informatie over fouten in het monsterblad.  
Controleer het volledige e-mailbericht: de voor het probleem in kwestie relevante fout kan helemaal aan het eind van het bericht vermeld staan.
- 3 Als het fouten betreft die kunnen worden hersteld, herhaalt u de procedure voor het opnieuw laten uitvoeren van de analyse die van toepassing is op de map voor deze run.
- 4 Neem contact op met de afdeling Technical Support van Illumina als zich het volgende voordoet:
  - ▶ u ontvangt geen foutmelding via e-mail;
  - ▶ de analyse wordt niet uitgevoerd;
  - ▶ het monsterblad bevat geen foutenMaak in het telefoongesprek of in de onderwerpregel van de e-mail melding van NIPT16.

## Gegevens archiveren en er een back-up van maken

Illumina raadt aan de mappen `/data01/runs` en `/data01/analysis_output` te archiveren volgens het archiveringsbeleid van de lokale IT-afdeling. De resterende schijfruimte in de map `/data01/runs` wordt gecontroleerd door de software. Gebruikers krijgen een melding wanneer de resterende opslagcapaciteit onder de 200 GB komt.

De VeriSeq NIPT Analysis Server mag niet worden gebruikt voor gegevensopslag. Gegevens moeten van de analyseserver worden gehaald en volgens een vast schema worden gearchiveerd.

Een typische sequencing-run die compatibel is met de workflow van de cfDNA-analyse heeft ongeveer 11–13 GB en 11–16 GB nodig voor respectievelijk NGS Option 1 en NGS Option 2. De grootte van de actuele run-map wordt bepaald door de definitieve clusterdensiteit. De server biedt meer dan 4 TB aan opslagruimte, wat voldoende is voor meer dan 200 sequencing-runs.

Archiveer alleen gegevens wanneer het systeem niet actief is en er geen analyses of sequencing-runs worden uitgevoerd.

## Rapportspecificaties en interpretatie van metrische gegevens

De uitvoermap van de cfDNA-sequencing-analyse bevat twee tekstbestanden in .csv-indeling. Het eerste bestand, <Runmapnaam>\_NIPT\_Results.csv, bevat alle monster- en stroomcelgegevens en metrische QC-gegevens. Dit bestand identificeert ook de versie van de software die wordt gebruikt om de resultaten te genereren. Het tweede bestand, <Runmapnaam>\_Misindexed\_Results.csv, tabelleert het aantal aflezingen van de stroomcel voor de indexen die tijdens het demultiplexen zijn geïdentificeerd en die niet zijn gespecificeerd in het monsterblad. Een derde .txt-bestand, REPORT.Complete.txt, bevindt zich in de uitvoermap met resultaten. Dit bestand bevat informatie over de analyseconfiguratie, de analysetijd, de locatie van de uitvoerbestanden en de MD5-controlesomwaarden voor de bestanden NIPT\_Results.csv en MISINDEXED\_Results.csv. Een volledige lijst met de metrische QC-gegevens en andere waarden is te vinden in *Metrische QC-gegevens en boven- en ondergrenzen (NGS Option 1)* op pagina 43 en *Metrische QC-gegevens en boven- en ondergrenzen (NGS Option 2)* op pagina 50.



### LET OP

Om onbedoelde wijziging van de oorspronkelijke analyse-uitvoer te voorkomen, kopieert u <Runmapnaam>\_NIPT\_Results.csv en <Runmapnaam>\_Misindexed\_Results.csv naar een andere computer voordat u de bestanden opent en bewerkt.



### OPMERKING

Illumina beveelt aan de uitvoerbestanden die worden gegenereerd door de cfDNA-analyse/NIPT-analysesoftware van VeriSeq te integreren in een systeem voor laboratoriuminformatiebeheer, waar de versochte informatie vervolgens kan worden gebruikt om patiëntverslagen te genereren voor controle door medewerkers van het klinisch laboratorium.

**Tabel 13 Gerapporteerde annotatiewaarden voor monsterbladen (<Runmapnaam>\_NIPT\_Results.csv)**

Kolomnaam	Bronveld monsterblad
SampleID (monster-id)	Sample_ID (monster-id)
SampleType (monstertype)	SampleType (monstertype)
Flowcell ID (stroomcel-id)	Experiment Name (Naam experiment)
IndexID (index-id)	I7_Index_ID (I7_index_id)
Well	Sample_Well (monster-well)
Library_nM (bibliotheek_nM)	Library_nM (bibliotheek_nM)

**Tabel 14 Gerapporteerde metrische scoregegevens per monster (<Runmapnaam>\_NIPT\_Results.csv)**

Kolomnaam	Interpretatie
Ratio_13	Chromosoomratio 13
Ratio_18	Chromosoomratio 18
Ratio_21	Chromosoomratio 21
Ratio_X	Chromosoomratio X
Ratio_Y	Chromosoomratio Y
NCV_13	Genormaliseerde chromosomale waarde (z-score) 13
NCV_18	Genormaliseerde chromosomale waarde (z-score) 18
NCV_21	Genormaliseerde chromosomale waarde (z-score) 21
NCV_X	Genormaliseerde chromosomale waarde (z-score) X

Kolomnaam	Interpretatie
NCV_Y	Genormaliseerde chromosomale waarde (z-score) Y
FF_Geformatteerd	Geschatte foetale component van cfDNA dat door de test is opgehaald. Gerapporteerd als discreet, afgerond percentage dat aanvullende informatie levert voor elk monster.

**Tabel 15 Gerapporteerde metrische QC-gegevens per monster (<Runmapnaam>\_NIPT\_Results.csv)**

Kolomnaam	Interpretatie	Reden voor mislukken
QCFlag	Algemene aanduiding van geslaagde QC (0), waarschuwing (1), mislukt (2)	Raadpleeg <a href="#">Tabel 20</a> .
QCWarning	Aaneenschakeling van alle redenen voor waarschuwing voor monster (gescheiden door komma's)	Raadpleeg <a href="#">Tabel 20</a> .
QCFailure	Aaneenschakeling van alle redenen voor mislukken van monster (gescheiden door komma's)	Raadpleeg <a href="#">Tabel 20</a> .
Clusters	Totaal aantal clusters over paden (gerapporteerd per stroomcel)	Lage/hoge clusterdensiteit
TotalReads2Clusters	Ratio van herstelde aflezingen ten opzichte van het aantal clusters over paden (gerapporteerd per stroomcel)	Beschadigde BCL-bestanden
MaxMisindexedReads2Clusters	Ratio van onjuist geïndexeerde aflezingen over paden naar clusters in een virtueel pad (gerapporteerd per stroomcel)	Aflezingen met onverwachte indexen gevonden over paden
IndexedReads	Totaal aantal geïndexeerde aflezingen per monster over paden	Technische kwesties met index lezen; onjuiste monsters op de sequencing-paden
TotalIndexedReads2Clusters	Ratio van geïndexeerde aflezingen ten opzichte van clusters (gerapporteerd per stroomcel)	Technische kwesties met index lezen
Tags	Aantal aflezingen dat is toegewezen aan een unieke plek in het genoom	Hoge foutenfrequentie PCR of sequentiëring; systematische fout geïntroduceerd tijdens constructie bibliotheek
NonExcludedSites	Aantal tags exclusief gefilterde genoomgebieden en dubbele aflezingen die naar dezelfde locatie wijzen	Laag aantal clusters, sequencing-fouten, lage complexiteit bibliotheek, vaak herstelbaar bij hernieuwde run
NonExcludedSites2Tags	Ratio van NonExcludedSites ten opzichte van tags	Complexiteit bibliotheek
Tags2IndexedReads	Ratio van tags ten opzichte van geïndexeerde aflezingen	Hoger dan verwacht aantal aflezingen niet in overeenstemming met genoom
PerfectMatchTags2Tags	Ratio van perfect toegewezen tags aan alle tags	Hoge sequencing- of PCR-foutenfrequentie
GCBias	Resterende systematische GC-fout in de distributie van aflezingen na correctie	Pre-analytische fout in monsterverzameling/afhandeling; artefacten sequencing
GCR2	R2 van de GC-correctie (percentage variantie uitgelegd door GC-correctie)	
NCD_13	Waarschijnlijkheidsscore voor chromosoom 13-denominatoren	Onverwacht profiel voor chr 13-denominatorchromosomen

Kolomnaam	Interpretatie	Reden voor mislukken
NCD_18	Waarschijnlijkheidsscore voor chromosoom 18-denominatoren	Onverwacht profiel voor chr 18-denominatorchromosomen
NCD_21	Waarschijnlijkheidsscore voor chromosoom 21-denominatoren	Onverwacht profiel voor chr 21-denominatorchromosomen
NCD_X	Waarschijnlijkheidsscore voor chromosoom X-denominatoren	Onverwacht profiel voor chr X-denominatorchromosomen
NCD_Y	Waarschijnlijkheidsscore voor volledig chromosoomprofiel	Onverwacht profiel voor alle chromosomen

**Tabel 16 Gerapporteerde metrische scoregegevens per monster (<Runmapnaam>\_NIPT\_Results.csv)**

Kolomnaam	Interpretatie
Chr1, ..., Chr22, ChrX, ChrY	Totaal aantal NonExcludedSites gebruikt voor analyse van een overeenkomend chromosoom (waarde is geheel getal)
Chr1_Coverage, ..., Chr22_Coverage, ChrX_Coverage, ChrY_Coverage	Genormaliseerde dekking van elk chromosoom dat wordt gebruikt bij de evaluatie van chromosoomratio's

**Tabel 17 Gerapporteerde metrische scoregegevens per batch (<Runmapnaam>\_NIPT\_Results.csv)**

Kolomnaam	Interpretatie
Median_13, Median_18, Median_21, Median_X, Median_Y	Batchgemiddelde van chromosoomratio's voor putatieve diploïde monsters Opmerking: chrX en chrY gebaseerd op putatieve monsters van alleen vrouwen
Stdev_13, Stdev_18, Stdev_21, Stdev_X, Stdev_Y	Standaarddeviatie voor de batch van chromosoomratio's voor putatieve diploïde monsters Opmerking: chrX en chrY gebaseerd op putatieve monsters van alleen vrouwen

**Tabel 18 Gerapporteerd per monster, meer velden uit het monsterblad (<Runmapnaam>\_NIPT\_Results.csv)**

Kolomnaam	Bronveld monsterblad
SampleProject (monsterproject)	Sample_Project (monsterproject)
Omschrijving	Omschrijving
Index	Index

**Tabel 19 Gerapporteerde foutief geïndexeerde aflezingsen per stroomcel (<Runmapnaam>\_Misindexed\_Results.csv)**

Kolomnaam	Interpretatie
Flow Cell	Stroomcel-id
Lane (Pad)	Pad-id
IndexID (index-id)	Opmerking bij Index ID: Index ID A000 - is elke sequentie behalve de 24 indexen die in <a href="#">Tabel 12</a> staan
IndexedReads	Aantal geïndexeerde aflezingsen binnen stroomcel/pad/index

## Verifiëren of ATMS wordt uitgevoerd

Bij het automatisch opstarten van het systeem wordt het ATMS-proces in de achtergrond voor het bewaken van sequencing- en analyseruns automatisch opgestart.

Om te controleren of ATMS wordt uitgevoerd:

- 1 Voer de opdracht uit om als sbsuser verbinding te maken met de analytische server (hierbij wordt aangenomen dat \$HOSTNAME de naam is van de server die tijdens de eerste installatie is ingesteld):  
`ssh -l sbsuser $HOSTNAME`
- 2 Voer de opdracht uit om het ATMS-proces te controleren:  
`ps aux | grep jsvc`

Als de uitvoer `jsvc.exec` bevat, wordt het ATMS-proces in de achtergrond uitgevoerd. Er zijn drie uitvoerregels: 1) één regel die een instantie aangeeft die wordt uitgevoerd vanaf de root-gebruiker, 2) één die een instantie aangeeft vanaf de ATMS-gebruiker en 3) één die een instantie aangeeft die wordt uitgevoerd vanaf de gebruiker waaronder de opdracht wordt uitgevoerd.

Als het ATMS-proces niet wordt uitgevoerd, bewaakt ATMS het proces niet en worden er geen nieuwe runs verwerkt tot de service wordt herstart. Een uitschakeling of herstart van het apparaat activeert een automatische herstart van de service. Een onderhoudsmonteur van Illumina kan de service herstarten met behulp van root-bevoegdheden op de machine.



### OPMERKING

Als er een onverwachte afsluiting optreedt, probeert het systeem zelf de ATMS te herstarten.

# Metrische QC-gegevens

Metrische QC-gegevens en boven- en ondergrenzen (NGS Option 1) .....	43
Metrische QC-gegevens en boven- en ondergrenzen (NGS Option 2) .....	50

## Metrische QC-gegevens en boven- en ondergrenzen (NGS Option 1)

Tabel 20 NGS Instrument Option 1: twee-stroomcelpositie, stroomcel met 2 paden. De metrische QC-gegevens, boven- en ondergrenzen, aanduiding als Mislukt of Waarschuwing, verwacht percentage mislukt/waarschuwing en de mogelijke oorzaken.

Categorie	Metrisch gegeven	Ondergrens	Bovengrens	Mislukt/Waarschuwing	Type monster	Verwacht percentage mislukt/waarschuwing	Mogelijke oorzaken
Telling QC	Clusters	250.000.000	450.000.000	Waarschuwing		< 5% stroomcellen	Lage (waarschijnlijkere) of hoge (zeer onwaarschijnlijke) clusterdensiteit.
Telling QC	Reads2Clusters	0,95	1	Waarschuwing		< 1% stroomcellen	Software kon niet meer dan 5% van de aflezingen herstellen die werden vastgelegd door het apparaat.
Telling QC	MaxMisindexed-Reads2Clusters	0	0,0002	Waarschuwing		< 0,1%	
Telling QC	TotalIndexed-Reads2Clusters	0,7	1	Waarschuwing		< 0,1%	Indexering sequentie mislukt.
Telling QC	NonExcludedSites	8000000	100000000	Mislukt		<= 2%	Slechte of onjuiste kwantificering bibliotheek; lage clusternummers; mogelijk herstelbaar bij opnieuw uitvoeren vanuit plasma.
Telling QC	NonExcluded-Sites2Tags	0,8	1	Waarschuwing		< 0,1%	Slechte diversiteit bibliotheek, mogelijk herstelbaar bij rerun vanuit plasma.
Telling QC	Tags2Reads	0,75	0,9	Waarschuwing		< 0,1%	Hoge foutfrequentie in sequencing of PCR, mogelijk herstelbaar bij hernieuwde sequencing van dezelfde bibliotheek.

Categorie	Metrisch gegeven	Ondergrens	Bovengrens	Mislukt/Waarschuwing	Type monster	Verwacht percentage mislukt/waarschuwing	Mogelijke oorzaken
Telling QC	PerfectMatch- Tags2Tags	0,7	1	Waarschuwing		1%	Hoge foutfrequentie in sequencing of PCR, mogelijk herstelbaar bij hernieuwde sequencing van dezelfde bibliotheek.
Mediaan van chromosoomratio's	Median_13	0,1986891	0,2012977	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge/lage gemiddelde chromosoomratio over de volledige stroomcel; krachtig niet-gecorrigeerd batcheffect met betrekking tot extractie of bibliotheekbatch. Probeer opnieuw plasmamonsters te verwerken om het probleem op te lossen.
Mediaan van chromosoomratio's	Median_18	0,2483363	0,2517526	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge/lage gemiddelde chromosoomratio over de volledige stroomcel; krachtig niet-gecorrigeerd batcheffect met betrekking tot extractie of bibliotheekbatch. Probeer opnieuw plasmamonsters te verwerken om het probleem op te lossen.
Mediaan van chromosoomratio's	Median_21	0,2476093	0,2524342	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge/lage gemiddelde chromosoomratio over de volledige stroomcel; krachtig niet-gecorrigeerd batcheffect met betrekking tot extractie of bibliotheekbatch. Probeer opnieuw plasmamonsters te verwerken om het probleem op te lossen.



Categorie	Metrisch gegeven	Ondergrens	Bovengrens	Mislukt/Waarschuwing	Type monster	Verwacht percentage mislukt/waarschuwing	Mogelijke oorzaken
Mediaan van chromosoomratio's	Median_X	0,3260502	0,3396256	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge/lage gemiddelde chromosoomratio over de volledige stroomcel; krachtig niet-gecorrigeerd batcheffect met betrekking tot extractie of bibliotheekbatch. Probeer opnieuw plasmamonsters te verwerken om het probleem op te lossen.
Mediaan van chromosoomratio's	Median_Y	0	1,47E-08	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge/lage gemiddelde chromosoomratio over de volledige stroomcel; krachtig niet-gecorrigeerd batcheffect met betrekking tot extractie of bibliotheekbatch. Probeer opnieuw plasmamonsters te verwerken om het probleem op te lossen.
Standaarddeviatie van chromosoomratio's	Stdev_13	0	6,73E-04	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge standaarddeviatie van chromosoomratio's, wat extra bronnen aangeeft van nog niet eerder geziene variantie; let op trend in de loop van tijd
Standaarddeviatie van chromosoomratio's	Stdev_18	0	1,37E-03	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge standaarddeviatie van chromosoomratio's, wat extra bronnen aangeeft van nog niet eerder geziene variantie; let op trend in de loop van tijd

Categorie	Metrisch gegeven	Ondergrens	Bovengrens	Mislukt/Waarschuwing	Type monster	Verwacht percentage mislukt/waarschuwing	Mogelijke oorzaken
Standaarddeviatie van chromosoomratio's	Stdev_21	0	1,33E-03	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge standaarddeviatie van chromosoomratio's, wat extra bronnen aangeeft van nog niet eerder geziene variantie; let op trend in de loop van tijd
Standaarddeviatie van chromosoomratio's	Stdev_X	0	3,27E-03	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge standaarddeviatie van chromosoomratio's, wat extra bronnen aangeeft van nog niet eerder geziene variantie; let op trend in de loop van tijd
Standaarddeviatie van chromosoomratio's	Stdev_Y	0	4,94E-09	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge standaarddeviatie van chromosoomratio's, wat extra bronnen aangeeft van nog niet eerder geziene variantie; let op trend in de loop van tijd
Waarschijnlijkheidsscore voor chromosoomdenominatoren	NCD_13	-50	1000	Mislukt		< 0,1%	Onverwachte chromosomale voorstelling van denominatorchromosomen (referentiechromosomen); kan waarschijnlijk niet worden opgelost door een rerun van het monster; suggereert 'gegevens buiten verwacht bereik'.

Categorie	Metrisch gegeven	Ondergrens	Bovengrens	Mislukt/Waarschuwing	Type monster	Verwacht percentage mislukt/waarschuwing	Mogelijke oorzaken
Waar-schijnlijkheidsscore voor chromosoom-denominatoren	NCD_18	-50	1000	Mislukt		< 0,1%	Onverwachte chromosomale voorstelling van denominatorchromosomen (referentiechromosomen); kan waarschijnlijk niet worden opgelost door een rerun van het monster; suggereert 'gegevens buiten verwacht bereik'.
Waar-schijnlijkheidsscore voor chromosoom-denominatoren	NCD_21	-50	1000	Mislukt		< 0,1%	Onverwachte chromosomale voorstelling van denominatorchromosomen (referentiechromosomen); kan waarschijnlijk niet worden opgelost door een rerun van het monster; suggereert 'gegevens buiten verwacht bereik'.
Waar-schijnlijkheidsscore voor chromosoom-denominatoren	NCD_X	-50	1000	Mislukt		< 0,1%	Onverwachte chromosomale voorstelling van denominatorchromosomen (referentiechromosomen); kan waarschijnlijk niet worden opgelost door een rerun van het monster; suggereert 'gegevens buiten verwacht bereik'.
Waar-schijnlijkheidsscore voor chromosoom-denominatoren	NCD_Y	-100	1000	Mislukt		< 0,5%	Onverwachte chromosomale voorstelling ergens in het genoom; kan waarschijnlijk niet worden opgelost door een rerun van het monster; suggereert 'gegevens buiten verwacht bereik'.

Categorie	Metrisch gegeven	Ondergrens	Bovengrens	Mislukt/Waarschuwing	Type monster	Verwacht percentage mislukt/waarschuwing	Mogelijke oorzaken
NCV van controlemonsters	NCV_13	-5	4	Waarschuwing	Controle		NCV-grenzen voor controles (geen monosomie, geen trisomie)
NCV van controlemonsters	NCV_18	-5	4	Waarschuwing	Controle		NCV-grenzen voor controles (geen monosomie, geen trisomie)
NCV van controlemonsters	NCV_21	-5	4	Waarschuwing	Controle		NCV-grenzen voor controles (geen monosomie, geen trisomie)
NCV van testmonsters	NCV_13	-5	200	Waarschuwing	Test		NCV-grenzen voor testmonsters (geen monosomie, foetale fractie binnen (ruim) verwacht bereik).
NCV van testmonsters	NCV_18	-5	200	Waarschuwing	Test		NCV-grenzen voor testmonsters (geen monosomie, foetale fractie binnen (ruim) verwacht bereik).
NCV van testmonsters	NCV_21	-5	200	Waarschuwing	Test		NCV-grenzen voor testmonsters (geen monosomie, foetale fractie binnen (ruim) verwacht bereik).
NCV van testmonsters	NCV_X	-100	200	Waarschuwing	Test		NCV-grenzen voor testmonsters (geen monosomie, foetale fractie binnen (ruim) verwacht bereik).

Categorie	Metrisch gegeven	Ondergrens	Bovengrens	Mislukt/Waarschuwing	Type monster	Verwacht percentage mislukt/waarschuwing	Mogelijke oorzaken
NCV van testmonsters	NCV_Y	-6	2000	Waarschuwing	Test		NCV-grenzen voor testmonsters (geen monosomie, foetale fractie binnen (ruim) verwacht bereik).
Systematische GC-fout van controlemonsters	GCBias	-0,5	0,5	Waarschuwing	Controle		Resterende systematische GC-fout na GC-correctie (ligt naar verwachting rond 0, uitsluitend informatief).
Systematische GC-fout van testmonsters	GCBias	-0,5	0,5	Waarschuwing	Test		Resterende systematische GC-fout na GC-correctie (ligt naar verwachting rond 0, uitsluitend informatief).
GC R2 van controlemonsters	GC R2	0	0,9999	Waarschuwing	Controle		R <sup>2</sup> geassocieerd met de GC-correctie (uitsluitend informatief).
GC R2 van testmonsters	GC R2	0	0,9999	Waarschuwing	Test		R <sup>2</sup> geassocieerd met de GC-correctie (uitsluitend informatief).

## Metrische QC-gegevens en boven- en ondergrenzen (NGS Option 2)

Tabel 21 Option 2 NGS-instrument: enkele-stroomcelpositie, stroomcel met 4 paden: de metrische QC-gegevens, boven- en ondergrenzen, aanduiding als Mislukt of Waarschuwing, verwacht percentage Mislukt/Waarschuwing en de mogelijke oorzaken.

Categorie	Metrisch gegeven	Ondergrens	Bovengrens	Mislukt/Waarschuwing	Type monster	Verwacht percentage mislukt/waarschuwing	Mogelijke oorzaken
Telling QC	Clusters	300.000.000	800.000.000	Waarschuwing		< 5% stroomcellen	Lage (waarschijnlijkere) of hoge (zeer onwaarschijnlijke) clusterdensiteit.
Telling QC	MaxMisindexed-Reads2Clusters	0	0,0002	Waarschuwing		< 0,1%	
Telling QC	TotalIndexed-Reads2Clusters	0,7	1	Waarschuwing		< 0,1%	Indexering sequentie mislukt.
Telling QC	NonExcludedSites	8000000	100000000	Mislukt		<= 2%	Slechte of onjuiste kwantificering bibliotheek; lage clusternummers; mogelijk herstelbaar bij opnieuw uitvoeren vanuit plasma.
Telling QC	NonExcluded-Sites2Tags	0,8	1	Waarschuwing		< 0,1%	Slechte diversiteit bibliotheek, mogelijk herstelbaar bij rerun vanuit plasma.
Telling QC	Tags2Reads	0,75	0,9	Waarschuwing		< 0,1%	Hoge foutfrequentie in sequencing of PCR, mogelijk herstelbaar bij hernieuwde sequencing van dezelfde bibliotheek.
Telling QC	PerfectMatch-Tags2Tags	0,7	1	Waarschuwing		1%	Hoge foutfrequentie in sequencing of PCR, mogelijk herstelbaar bij hernieuwde sequencing van dezelfde bibliotheek.

Categorie	Metrisch gegeven	Ondergrens	Bovengrens	Mislukt/Waarschuwing	Type monster	Verwacht percentage mislukt/waarschuwing	Mogelijke oorzaken
Mediaan van chromosoomratio's	Median_13	0,1991238	0,2008629	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge/lage gemiddelde chromosoomratio over de volledige stroomcel; krachtig niet-gecorrigeerd batcheffect met betrekking tot extractie of bibliotheekbatch. Probeer opnieuw plasmamonsters te verwerken om het probleem op te lossen.
Mediaan van chromosoomratio's	Median_18	0,2489057	0,2511832	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge/lage gemiddelde chromosoomratio over de volledige stroomcel; krachtig niet-gecorrigeerd batcheffect met betrekking tot extractie of bibliotheekbatch. Probeer opnieuw plasmamonsters te verwerken om het probleem op te lossen.
Mediaan van chromosoomratio's	Median_21	0,2484135	0,25163	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge/lage gemiddelde chromosoomratio over de volledige stroomcel; krachtig niet-gecorrigeerd batcheffect met betrekking tot extractie of bibliotheekbatch. Probeer opnieuw plasmamonsters te verwerken om het probleem op te lossen.
Mediaan van chromosoomratio's	Median_X	0,329444	0,3362317	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge/lage gemiddelde chromosoomratio over de volledige stroomcel; krachtig niet-gecorrigeerd batcheffect met betrekking tot extractie of bibliotheekbatch. Probeer opnieuw plasmamonsters te verwerken om het probleem op te lossen.

Categorie	Metrisch gegeven	Ondergrens	Bovengrens	Mislukt/Waarschuwing	Type monster	Verwacht percentage mislukt/waarschuwing	Mogelijke oorzaken
Mediaan van chromosoomratio's	Median_Y	0	1,236665e-08	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge/lage gemiddelde chromosoomratio over de volledige stroomcel; krachtig niet-gecorrigeerd batcheffect met betrekking tot extractie of bibliotheekbatch. Probeer opnieuw plasmamonsters te verwerken om het probleem op te lossen.
Standaarddeviatie van chromosoomratio's	Stdev_13	0	0,0008695377	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge standaarddeviatie van chromosoomratio's, wat extra bronnen aangeeft van nog niet eerder geziene variantie; let op trend in de loop van tijd
Standaarddeviatie van chromosoomratio's	Stdev_18	0	0,00113876	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge standaarddeviatie van chromosoomratio's, wat extra bronnen aangeeft van nog niet eerder geziene variantie; let op trend in de loop van tijd
Standaarddeviatie van chromosoomratio's	Stdev_21	0	0,001608292	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge standaarddeviatie van chromosoomratio's, wat extra bronnen aangeeft van nog niet eerder geziene variantie; let op trend in de loop van tijd
Standaarddeviatie van chromosoomratio's	Stdev_X	0	0,005090769	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge standaarddeviatie van chromosoomratio's, wat extra bronnen aangeeft van nog niet eerder geziene variantie; let op trend in de loop van tijd
Standaarddeviatie van chromosoomratio's	Stdev_Y	0	3,454837e-09	Waarschuwing		< 0,1%	Onverwacht hoge standaarddeviatie van chromosoomratio's, wat extra bronnen aangeeft van nog niet eerder geziene variantie; let op trend in de loop van tijd



Categorie	Metrisch gegeven	Ondergrens	Bovengrens	Mislukt/Waarschuwing	Type monster	Verwacht percentage mislukt/waarschuwing	Mogelijke oorzaken
Waar-schijnlijkheidsscore voor chromosoom-denominatoren	NCD_13	-50	1000	Mislukt		< 0,1%	Onverwachte chromosomale voorstelling van denominatorchromosomen (referentiechromosomen); kan waarschijnlijk niet worden opgelost door een rerun van het monster; suggereert 'gegevens buiten verwacht bereik'.
Waar-schijnlijkheidsscore voor chromosoom-denominatoren	NCD_18	-50	1000	Mislukt		< 0,1%	Onverwachte chromosomale voorstelling van denominatorchromosomen (referentiechromosomen); kan waarschijnlijk niet worden opgelost door een rerun van het monster; suggereert 'gegevens buiten verwacht bereik'.
Waar-schijnlijkheidsscore voor chromosoom-denominatoren	NCD_21	-50	1000	Mislukt		< 0,1%	Onverwachte chromosomale voorstelling van denominatorchromosomen (referentiechromosomen); kan waarschijnlijk niet worden opgelost door een rerun van het monster; suggereert 'gegevens buiten verwacht bereik'.
Waar-schijnlijkheidsscore voor chromosoom-denominatoren	NCD_X	-50	1000	Mislukt		< 0,1%	Onverwachte chromosomale voorstelling van denominatorchromosomen (referentiechromosomen); kan waarschijnlijk niet worden opgelost door een rerun van het monster; suggereert 'gegevens buiten verwacht bereik'.
Waar-schijnlijkheidsscore voor chromosoom-denominatoren	NCD_Y	-100	1000	Mislukt		< 0,5%	Onverwachte chromosomale voorstelling ergens in het genoom; kan waarschijnlijk niet worden opgelost door een rerun van het monster; suggereert 'gegevens buiten verwacht bereik'.

Categorie	Metrisch gegeven	Ondergrens	Bovengrens	Mislukt/Waarschuwing	Type monster	Verwacht percentage mislukt/waarschuwing	Mogelijke oorzaken
NCV van controlemonsters	NCV_13	-5	4	Waarschuwing	Controle		NCV-grenzen voor controles (geen monosomie, geen trisomie)
NCV van controlemonsters	NCV_18	-5	4	Waarschuwing	Controle		NCV-grenzen voor controles (geen monosomie, geen trisomie)
NCV van controlemonsters	NCV_21	-5	4	Waarschuwing	Controle		NCV-grenzen voor controles (geen monosomie, geen trisomie)
NCV van testmonsters	NCV_13	-5	200	Waarschuwing	Test		NCV-grenzen voor testmonsters (geen monosomie, foetale fractie binnen (ruim) verwacht bereik).
NCV van testmonsters	NCV_18	-5	200	Waarschuwing	Test		NCV-grenzen voor testmonsters (geen monosomie, foetale fractie binnen (ruim) verwacht bereik).
NCV van testmonsters	NCV_21	-5	200	Waarschuwing	Test		NCV-grenzen voor testmonsters (geen monosomie, foetale fractie binnen (ruim) verwacht bereik).
NCV van testmonsters	NCV_X	-100	200	Waarschuwing	Test		NCV-grenzen voor testmonsters (geen monosomie, foetale fractie binnen (ruim) verwacht bereik).
NCV van testmonsters	NCV_Y	-6	2000	Waarschuwing	Test		NCV-grenzen voor testmonsters (geen monosomie, foetale fractie binnen (ruim) verwacht bereik).
Systematische GC-fout van controlemonsters	GCBias	-0,5	0,5	Waarschuwing	Controle		Resterende systematische GC-fout na GC-correctie (ligt naar verwachting rond 0, uitsluitend informatief).
Systematische GC-fout van testmonsters	GCBias	-0,5	0,5	Waarschuwing	Test		Resterende systematische GC-fout na GC-correctie (ligt naar verwachting rond 0, uitsluitend informatief).

Categorie	Metrisch gegeven	Ondergrens	Bovengrens	Mislukt/Waarschuwing	Type monster	Verwacht percentage mislukt/waarschuwing	Mogelijke oorzaken
GC R2 van controlemonsters	GC R2	0	0,9999	Waarschuwing	Controle		R <sup>2</sup> geassocieerd met de GC-correctie (uitsluitend informatief).
GC R2 van testmonsters	GC R2	0	0,9999	Waarschuwing	Test		R <sup>2</sup> geassocieerd met de GC-correctie (uitsluitend informatief).

# Methode Vergelijkings onderzoek

Methode Vergelijking van gegevens .....56

## Methode Vergelijking van gegevens

Voor dit onderzoek werden eerder geprepareerde bibliotheken van 105 plasmamonsters opnieuw gesequenced en verwerkt met de VeriSeq NIPT-analysesoftware (16 monsters). Deze monsters zijn eerst gebruikt voor de Verifi® test en vervolgens gemultiplext in 7 bibliotheken met ieder 14 maternale plasmamonsters; 1 gepoold, positieve controle, maternaal monster; en 1 'non template'-controle of NTC. [Tabel 22](#) toont de monstersamenstelling van elke bibliotheek.

Alle 98 individuele 'non control'-monsters zijn goedgekeurd en geanalyseerd voor overstemming met Verifi-resultaten. Elk monster is geclassificeerd op grond van de NCV-waarden voor trisomie 13 / 18 / 21 (met een drempel van NCV = 4), voor de aanwezigheid van chromosoom Y (met een drempel van NCV = 10), en voor monosomie X (met een drempel van NCV\_X = -4, chromosoom Y was niet aanwezig). Het totale percentage overeenstemming tussen VeriSeq NIPT en Verifi is weergegeven in [Tabel 23](#).

Er zijn twee verschillen waargenomen. Het eerste waargenomen verschil betrof chromosoom 13 die was geclassificeerd als trisomie 13 door de Verifi-test en negatief geclassificeerd door de Veriseq NIPT-analyseoftware (16 monsters). Klinische informatie over dit monster toonde later aan dat het negatief was voor trisomie 13. Een ander waargenomen verschil gold voor trisomie 18 en er was voor dit monster geen informatie beschikbaar over klinische resultaten.

**Tabel 22** Verdeling van de monsters over de bibliotheken

Bibliotheek	Controle	MX	T13	T18	T21	Niet aangedaan
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
Totaal	7	2	2	2	8	84

**Tabel 23** Totaal percentage overeenstemming tussen VeriSeq NIPT en Verifi

Totale overeenstemming	
Klasse 13	98,98%
Klasse 18	98,98%
Klasse 21	100%
ChrY aanwezig/afwezig	100%
Klasse Monosomie X	100%

# Technische ondersteuning

Voor technische ondersteuning neemt u contact op met de afdeling technische ondersteuning van Illumina.

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

## Telefoonnummers van klantenondersteuning van Illumina

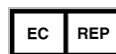
Regio	Gratis telefoonnummer	Regionaal telefoonnummer
Noord-Amerika	+1 800 809 4566	
Australië	+1.800.775.688	
België	+32 80077160	+32 34002973
China	400.066.5835	
Denemarken	+45 80820183	+45 89871156
Duitsland	+49 8001014940	+49 8938035677
Finland	+358 800918363	+358 974790110
Frankrijk	+33 805102193	+33 170770446
Hongkong	800960230	
Ierland	+353 1800936608	+353 016950506
Italië	+39 800985513	+39 236003759
Japan	0800 111 5011	
Nederland	+31 8000222493	+31 207132960
Nieuw-Zeeland	0800 451 650	
Noorwegen	+47 800 16836	+47 21939693
Oostenrijk	+43 800006249	+43 19286540
Singapore	+1 800 579 2745	
Spanje	+34 911899417	+34 800300143
Taiwan	00806651752	
Verenigd Koninkrijk	+44 8000126019	+44 2073057197
Zweden	+46 850619671	+46 200883979
Zwitserland	+41 565800000	+41 800200442
Overige landen	+44 1799 534 000	

Veiligheidsinformatiebladen (SDS, safety data sheets)—zijn verkrijgbaar op de website van Illumina via [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

Productdocumentatie—beschikbaar voor downloaden in pdf-vorm via de website van Illumina. Ga naar [support.illumina.com](http://support.illumina.com), selecteer een product en klik vervolgens op **Documentation & Literature** (documentatie en literatuur).



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, Californië 92122 VS  
+1 800 809 ILMN (4566)  
+1 858 202 4566 (buiten Noord-Amerika)  
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

**BESTEMD VOOR IN-VITRODIAGNOSTIEK**

© 2020 Illumina, Inc. Alle rechten voorbehouden.

**illumina®**