

illumina®

# VeriSeq NIPT Solution v2

Příručka k softwaru

VLASTNICTVÍ SPOLEČNOSTI ILLUMINA  
Dokument č. 1000000067940 v08 CZE  
Červen 2023  
URČENO K DIAGNOSTICE IN VITRO.

Používání tohoto produktu podléhá patentu, který vlastní nebo k němu má licenci společnost Illumina, Inc. Platba za tento produkt přenáší omezené, nepřenositelné právo na používání tohoto produktu v souladu s určeným používáním, podle dokumentace a jakýchkoli dalších přidružených podmínek. Ilustrativní, nevyčerpávající seznam takových patentů je umístěn na adrese [www.illumina.com/patents](http://www.illumina.com/patents). Výslovně, nepřímou nebo překážkou uplatnění nároku není uděleno žádné právo v rámci jakéhokoli jiného patentu.

Tento dokument a jeho obsah je vlastnictvím společnosti Illumina, Inc. a jejích přidružených společností (dále jen „Illumina“). Slouží výlučně zákazníkovi ke smluvním účelům v souvislosti s použitím zde popsaných produktů a k žádnému jinému účelu. Tento dokument a jeho obsah nesmí být používán ani šířen za žádným jiným účelem ani jinak sdělován, zveřejňován či rozmnožován bez předchozího písemného souhlasu společnosti Illumina. Společnost Illumina nepředává tímto dokumentem žádnou licenci na svůj patent, ochrannou známku, autorské právo či práva na základě zvykového práva ani žádná podobná práva třetích stran.

Pokyny v tomto dokumentu musí být důsledně a výslovně dodržovány kvalifikovaným a řádně proškoleným personálem, aby bylo zajištěno správné a bezpečné používání zde popsaných produktů. Veškerý obsah tohoto dokumentu musíte před použitím takových produktů beze zbytku přečíst a pochopit.

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

**SPOLEČNOST ILLUMINA NA SEBE NEBERE ŽÁDNOU ODPOVĚDNOST VYPLÝVAJÍCÍ Z NESPRÁVNÉHO POUŽITÍ ZDE POPSANÝCH PRODUKTŮ (VČETNĚ DÍLŮ TĚCHTO PRODUKTŮ NEBO SOFTWARE).**

© 2023 Illumina, Inc. Všechna práva vyhrazena.

Všechny ochranné známky jsou vlastnictvím společnosti Illumina, Inc. nebo jejich příslušných vlastníků. Informace o konkrétních ochranných známkách naleznete na adrese [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## Historie revizí

Dokument	Datum	Popis změny
Dokument č. 1000000067940 v08	Červen 2023	Byly odstraněny popisy seznamu vzorků pro hybridní dávky, aby tyto byly v souladu s funkcemi softwaru.
Dokument č. 1000000067940 v07	Únor 2023	<p>Byly upraveny možnosti konfigurace serveru za účelem zvýšení zabezpečení. Změna hesla pro automatizaci systému ML-STAR vyžaduje návštěvu servisního pracovníka společnosti Illumina.</p> <p>Upřesněny pokyny pro přidávání informací o čárovém kódu do vstupních seznamů vzorků a pro nahrávání seznamů vzorků pro hybridní dávky.</p> <p>Aktualizovány pokyny pro vytvoření uživatelského jména.</p> <p>Z pokynů ke konfiguraci serveru byl odstraněn odkaz na pole Network Password (Síťové heslo). Byl aktualizován příklad částečné delecce nebo duplikace anomálie.</p> <p>Přidáno pravidlo řazení pro pole anomaly_description (popis anomálie). U anomálií v rámci stejného chromozomu jsou aneuploidie celých chromozomů uvedeny před částečnými delecemi nebo duplikacemi.</p> <p>Přidány sloupce Typ a Regulární výraz do výkazů výsledků, zpracování a oznámení.</p> <p>V celém dokumentu aktualizovány formulace pro lepší srozumitelnost.</p>
Dokument č. 1000000067940 v06	Srpen 2021	Aktualizována adresa oprávněného zástupce v EU.

Dokument	Datum	Popis změny
Dokument č. 1000000067940 v05	Září 2020	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Byly přidány pokyny k novým funkcím Šifrování záloh a Síťové heslo.</li> <li>• Část věnovaná stažení a instalaci certifikátu byla doplněna o podrobnější pokyny.</li> <li>• Byl přidán krok spočívající v zadání síťového hesla a připomenutí, že je třeba generovat certifikát v části Konfigurace serveru pro software Workflow Manager.</li> <li>• Byla aktualizována část Připojení disků serveru o informace týkající se oprávnění pouze pro správce a byla aktualizována kompatibilita verze SMB.</li> <li>• Byl přidán odkaz na šifrování záloh do části Archivace dat pro místní server.</li> <li>• Byla přidána poznámka do úvodu k webovému uživatelskému rozhraní Assay Software s informací, že software nelze používat na mobilních zařízeních.</li> <li>• Byly přidány vysvětlující poznámky k použití velkých a malých písmen ve výstupech z výkazu NIPT.</li> <li>• Byl aktualizován text o možných hodnotách člověkem čitelných informací v části Výkazy výsledků a oznámení.</li> <li>• Byly aktualizovány konvence pro pojmenování v aplikaci Workflow Manager tak, aby byl konzistentně zobrazen celý název softwaru VeriSeq NIPT Workflow Manager.</li> </ul>
Dokument č. 1000000067940 v04	Únor 2020	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Byla aktualizována témata Zadání seznamu vzorků a Nahrání seznamu vzorků, aby bylo vysvětleno funkční omezení při nahrávání seznamu vzorků.</li> <li>• Byla aktualizována adresa australského sponzora a společnosti Illumina Netherlands.</li> </ul>

Dokument	Datum	Popis změny
Dokument č. 1000000067940 v03	Říjen 2019	<ul style="list-style-type: none"><li>Byla přidána část Informace o ochraně životního prostředí týkající se softwaru VeriSeq Onsite Server v2.</li><li>Byl aktualizován způsob prezentace výsledků anomálií pohlavních chromozomů v části Výkazy výsledků a upozornění přílohy B tak, aby odpovídal způsobu prezentace uvedenému ve výkazu NIPT.</li></ul>
Dokument č. 1000000067940 v02	Duben 2019	Byly přidány podrobnější informace k výkazu NIPT a doplňkovému výkazu tak, aby byly v souladu se školicími materiály.
Dokument č. 1000000067940 v01	Únor 2019	Verze Příručky k softwaru VeriSeq NIPT Solution v2 pro potřebu zákazníka.
Dokument č. 1000000067940 v00	Listopad 2018	Počáteční vydání určené pouze pro interní použití.

# Obsah

Historie revizí .....	iii
<b>VeriSeq NIPT Solution v2 .....</b>	<b>1</b>
Úvod .....	1
Architektura systému .....	2
<b>VeriSeq NIPT Workflow Manager .....</b>	<b>4</b>
Úvod .....	4
VeriSeq NIPT Method .....	4
VeriSeq NIPT Batch Manager .....	5
Zadání seznamu vzorků .....	7
Zneplatnění vzorku, dávky a fondu .....	10
Nahrání seznamu vzorků .....	11
Zrušení vzorku .....	11
VeriSeq NIPT Services .....	12
Spuštění softwaru VeriSeq NIPT Services .....	12
<b>Sekvenátor nové generace .....</b>	<b>16</b>
Úvod .....	16
Fond sekvenování .....	16
Integrace datového úložiště .....	16
Výkonnostní možnosti analýzy .....	17
Omezení síťového provozu .....	17
VeriSeq NIPT Local Run Manager .....	17
<b>VeriSeq NIPT Assay Software v2 .....</b>	<b>19</b>

Úvod .....	19
Komponenty softwaru VeriSeq NIPT Assay Software .....	19
Úkoly softwaru VeriSeq NIPT Assay Software .....	21
Sequencing Handler .....	23
Analytic Pipeline Handler .....	23
Webové uživatelské rozhraní .....	24
Licenční smlouva s koncovým uživatelem .....	25
Konfigurace webového uživatelského rozhraní .....	25
Přihlášení do webového uživatelského rozhraní .....	26
Ovládací panel .....	26
Správa uživatelů .....	28
Správa sdílené síťové jednotky .....	30
Konfigurace nastavení sítě a certifikátu .....	31
Konfigurace e-mailových oznámení systému .....	34
Konfigurace šifrování zálohy .....	35
Konfigurace síťových hesel .....	36
Odhlášení .....	36
Analýza a vykazování .....	37
Demultiplexování a vytvoření FASTQ .....	37
Kontrola kvality sekvenování .....	38
Odhady fetální frakce .....	38
Statistika použitá v závěrečném vyhodnocování .....	38
Kontrola kvality analýzy .....	39
Kontrola kvality vzorků NTC .....	39
VeriSeq Onsite Server v2 .....	40
Místní disk .....	40
Místní databáze .....	41
Archivace dat .....	41
Připojení serverových jednotek .....	42
Restartování serveru .....	42
Vypnutí serveru .....	43
Obnovení po nečekaném vypnutí .....	43
Poznámky k prostředí .....	44
<b>Metriky kontroly kvality .....</b>	<b>45</b>

Metriky a meze kontroly kvality kvantitativního vyjádření .....	45
Metriky a meze kontroly kvality sekvenování .....	46
<b>Systemové výkazy .....</b>	<b>48</b>
Úvod .....	48
Výstupní soubory .....	48
Struktura souborů výkazů .....	48
Přehled systémových výkazů .....	50
Události vytváření výkazů .....	52
Výkazy výsledků a oznámení .....	55
NIPT Report (Výkaz NIPT) .....	55
Supplementary Report (Doplňkový výkaz) .....	64
Sample Invalidation Report (Výkaz zneplatnění vzorku) .....	69
Sample Cancellation Report (Výkaz zrušení vzorku) .....	70
Pool Retest Request Report (Výkaz žádosti o opakovaný test fondu) .....	70
Výkazy zpracování .....	70
Batch Initiation Report (Výkaz zavedení dávky) .....	71
Batch Invalidation Report (Výkaz zneplatnění dávky) .....	71
Library Sample Report (Výkaz vzorku knihovny) .....	72
Library Reagent Report (Výkaz reagentie knihovny) .....	73
Library Labware Report (Výkaz laboratorního vybavení knihovny) .....	74
Library Quant Report (Výkaz kvantifikace knihovny) .....	75
Library Process Log (Protokol zpracování knihovny) .....	75
Pool Report (Výkaz fondu) .....	77
Pool Invalidation Report (Výkaz zneplatnění fondu) .....	77
Sequencing Report (Výkaz sekvenování) .....	78
Analysis Failure Report (Výkaz o nezdařené analýze) .....	79
<b>Řešení problémů .....</b>	<b>80</b>
Úvod .....	80
Oznámení Assay Software .....	80
Oznámení o průběhu .....	80



Oznámení o zneplatnění .....	82
Oznámení opravitelných chyb .....	83
Oznámení neopravitelných chyb .....	89
Postupy k doporučeným akcím .....	93
<b>Problémy se systémem .....</b>	<b>95</b>
<b>Testy zpracování dat .....</b>	<b>95</b>
Testování serveru .....	95
Data z testu úplného běhu analýzy .....	96
<b>Literatura .....</b>	<b>98</b>
Zkratky .....	98
Technická pomoc .....	99

# VeriSeq NIPT Solution v2

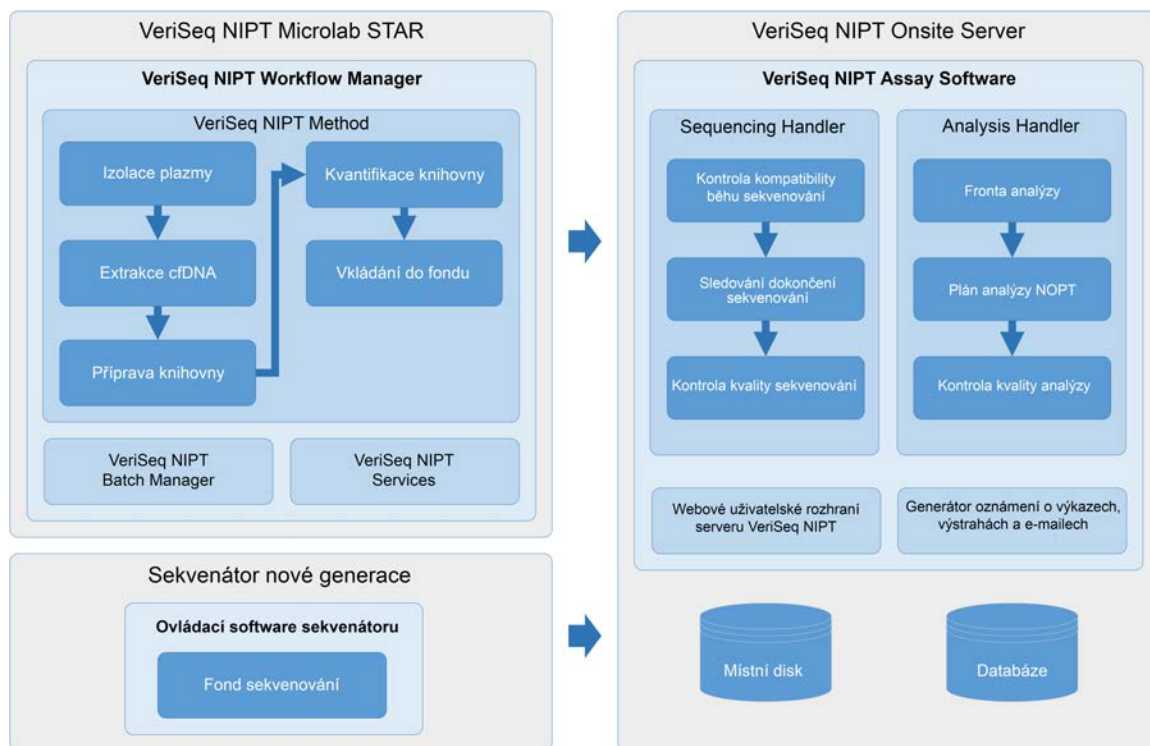
## Úvod

VeriSeq NIPT Solution v2 je diagnostický test *in vitro*, který je určen k sekvenačnímu vyšetření zjišťujícímu aneuploidie plodu ze vzorků periferní plné krve žen, které jsou alespoň 10 týdnů těhotné. Test nabízí dva typy vyšetření: základní vyšetření a vyšetření celého genomu. Základní vyšetření poskytuje informace o stavu aneuploidie pouze u chromozomů 21, 18, 13, X a Y. Celogenomová vyšetření poskytují informace o částečné delecii a duplikaci u všech autozomů a informace o stavu aneuploidie u všech chromozomů. Oba typy vyšetření nabízejí možnost vyžádat si vykázání aneuploidie pohlavního chromozomu (SCA). Ať už se použije kterékoliv z obou vyšetření, nelze tento produkt používat jako jediné východisko pro stanovení diagnózy či jiných rozhodnutí o těhotenství.

Architektura systému VeriSeq NIPT Solution v2 obsahuje následující komponenty:

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

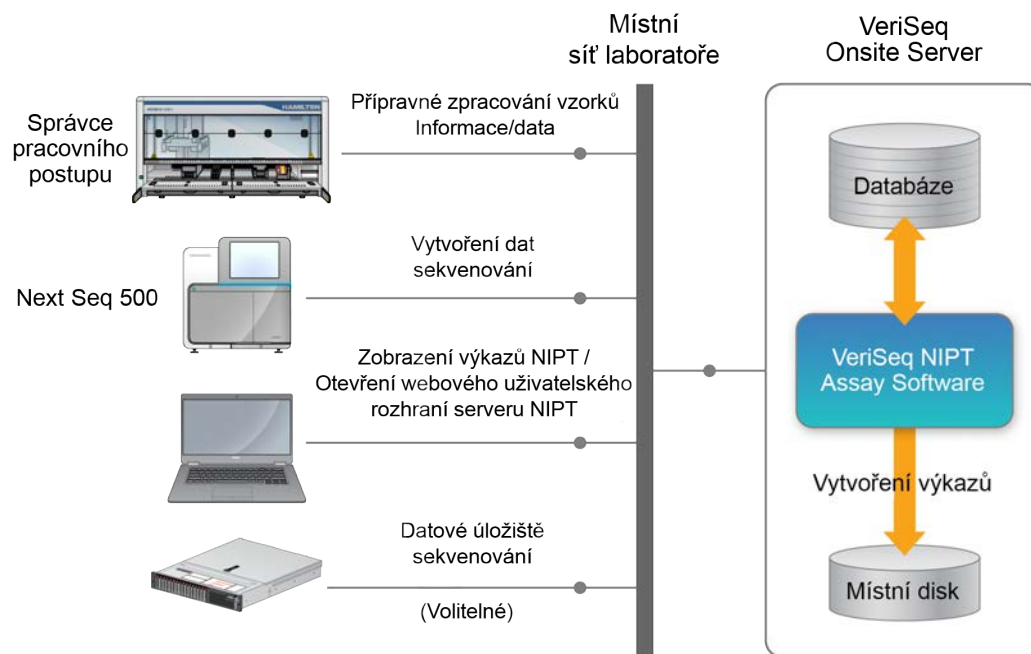
Obrázek 1 Komponenty VeriSeq NIPT Solution v2



## Architektura systému

Software VeriSeq NIPT Solution v2 používá místní síť (LAN) laboratoře k propojení veškerého vybavení systému pomocí stejné podsítě. Použití sítě LAN nabízí flexibilní umístování vybavení a rozšiřitelný výkon pomocí připojení dalších přístrojů nebo pracovních stanic ML STAR. Následující obrázek znázorňuje architekturu systému.

Obrázek 2 Architektura systému VeriSeq NIPT Solution v2



# VeriSeq NIPT Workflow Manager

## Úvod

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

Aplikace VeriSeq NIPT Workflow Manager poskytuje přístup k následujícím softwarovým modulům, zvaným také metody:

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

## VeriSeq NIPT Method

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

- **Izolace plazmy** – přenesení 1 ml izolované plazmy ze zkumavky s odebranou krví. Logika procesu vytvoří dávku pomocí VeriSeq NIPT Assay Software. Každá dávka obsahuje data vzorku včetně čárového kódu vzorku, typu vzorku, typu vyšetření, pozice jamky a příznaku vykazování pohlaví.
- **Extrakce volné mimobuněčné DNA (cfDNA)** – vyčistí cfDNA z 900 µl plazmy.
- **Příprava knihovny** – vytvoří z vyčištěné cfDNA knihovny, které jsou připraveny na sekvenování. Knihovny obsahují jedinečné indexy pro každý vzorek v dávce.
- **Kvantifikace knihovny** – určuje koncentraci cfDNA pomocí vsunování fluorescenčního barviva do struktury mikroděsky s 384 jamkami. Deska obsahuje označenou standardní křivku DNA a duplikáty každého vzorku v dávce. Systém používá nezpracované odečty fluorescence ze čtečky mikroděsky a vypočítává koncentrace vzorků na základě standardní křivky.
- **Vkládání do fondu a normalizace** – kombinuje knihovny do jednotlivých fondů pro sekvenování. Systém používá koncentrace určené v předchozím kroku k výpočtu přiměřených objemů přenosu pro každý vzorek ve fondu, který je připravený na sekvenování.

# VeriSeq NIPT Batch Manager

Aplikace VeriSeq NIPT Batch Manager umožňuje spravovat stav vzorků, dávek a fondů pomocí uživatelského rozhraní. Systém umožňuje sledování vzorků v několika systémech pro zpracování kapalin a sekvenčních přístrojích a prostřednictvím plánu analýzy. Další informace o postupech zpracování vzorků naleznete v příbalovém letáku k produktu *VeriSeq NIPT Solution v2 (dokument č. 1000000078751)*.

Vzorky můžete spravovat v rámci pracovního postupu prostřednictvím třech různých kategorií označovaných jako objekty. Tyto objekty jsou popsány v následující tabulce.

Objekt	Popis
Vzorek	Výsledek jednorázového odběru o objemu 1 ml z jedné zkumavky s krví. Vzorky jsou přidruženy k čárovému kódu zkumavky s krví (čárový kód vzorku) a dávky.
Dávka	Deska se 24, 48 nebo 96 vzorky zpracovávaná prostřednictvím extrakce cfDNA a procesu přípravy knihovny.
Fond	Normalizovaný a nařaděný objem knihoven s dvojitým indexem, které jsou připravené pro sekvenční přístroj. Každý fond obsahuje až 48 vzorků.

V následující tabulce jsou popsány akce, které lze na objekty použít během zpracování.

Akce	Objekt	Vytvořený výkaz	Popis
Invalidation (Zneplatnění)	Vzorek	Sample Invalidation (Zneplatnění vzorku)	Vzorek, který uživatel označil jako již neplatný pro zpracování. V případě zneplatněných vzorků se nevytváří žádný výsledek testu. Příklad: Viditelný přenos krevních buněk během izolace plazmy.
	Dávka	Batch Invalidation (Zneplatnění dávky)	Dávka, kterou uživatel označil jako již neplatnou. Pokud ke zneplatnění dávky dojde před vytvořením fondu, budou zneplatněny všechny vzorky. Příklad: Pád desky nebo jiné nesprávné zacházení s deskou.
	Fond	Pool Invalidation (Zneplatnění fondu)	Fond, který uživatel označil jako již neplatný. Po dvou zneplatněních fondu budou všechny vzorky ve fondu zneplatněny. Příklad: Celý objem fondu použitý během dvou chybných běžících sekvenování.

Akce	Objekt	Vytvořený výkaz	Popis
QC Failure (Chyba kontroly kvality)	Vzorek	Sample Invalidation (Zneplatnění vzorku)	Software VeriSeq NIPT Solution v2 automaticky označil vzorek jako neplatný kvůli chybě určené metriky kontroly kvality nebo kvůli systémem zjištěné chybě při zpracování kapaliny.
	Dávka	Batch Invalidation (Zneplatnění dávky)	Software VeriSeq NIPT Solution v2 automaticky označil celou dávku jako neplatnou. Příklad: Chyba systému během zpracování kapaliny.
Cancellation (Zrušení)	Vzorek	Sample Cancellation (Zrušení vzorku)	Vedení laboratoře označilo vzorek jako zrušený. Výsledek testu se nevytvoří.
Edit Sample Attributes (Úprava atributů vzorku)	Vzorek	Sex Reporting (Vykazování pohlaví)	Vykazování pohlaví nastavené uživatelem na hodnotu Yes (Ano), No (Ne) nebo SCA (Pouze aneuploidie). <ul style="list-style-type: none"> <li>• Yes (Ano) – generuje se pohlaví vzorku.</li> <li>• No (Ne) – pohlaví vzorku není generováno.</li> <li>• SCA – vykazovány jsou pouze aneuploidie pohlavních chromozomů.</li> </ul>
	Vzorek	Sample Type (Typ vzorku)	Typ vzorku označený uživatelem jako Singleton (Jedináček), Twin (Dvojče), Control (Kontrola) nebo No Template Control (NTC) (Kontrola bez šablony). Označení typu vzorku přímo ovlivňuje analýzu testu. K získání přesných výsledků testu je třeba, aby byl typ vzorku nastaven přesně.
	Vzorek	Screen Type (Typ vyšetření)	Typ vyšetření označený uživatelem jako Basic (Základní) (pouze chromozomy 21, 18, 13, X a Y) nebo Genomewide (Celý genom) (všechny chromozomy).

Po zneplatnění, chybě kontroly kvality nebo po zrušení akce se objekt dále nezpracovává. Laboratorní systémy správy informací (LIMS) mohou použít výkazy zneplatnění vzorku k označení opakovaného zpracování vzorku ze zkumavky s odebranou krví.

## Zadání seznamu vzorků

Vstupní seznam vzorků poskytuje informace o vzorku, které se týkají pacienta, a obsahují také typ vzorku a stav vykazování pohlavních chromozomů. Systém vyžaduje celou informaci o vzorku ještě před vytvořením fondů sekvenování.

Vstupní seznam vzorků musí být textový soubor (\*.txt) s hodnotami oddělenými tabulátory. Názvy sloupců záhlaví v daném souboru musejí odpovídat názvům sloupců záhlaví přesně podle následující tabulky.

Sloupec záhlaví	Typ dat	Požadavek	Popis
batch_name	Řetězec/prázdné	Povinné	Označuje název dávky ze vzorku. Musí odpovídat názvu dávky zadanému do metody volání (Workflow Manager), aby se potvrdilo, že vstupní seznam vzorků je přidružený ke správné dávce. Maximální počet znaků je 26. Sloupec může zůstat prázdný. Seznamy vzorků bez sloupce batch_name nebudou přijaty.
sample_ barcode	Řetězec	Povinné	Čárové kódy na zkumavkách se vzorky krve, které jsou vloženy do zařízení ML STAR. Pokud je jako vzorový čárový kód použita celočíselná hodnota, neměla by její délka překročit 15 číslic. Maximální délka alfanumerického vzorového čárového kódu je 32 znaků. Použijte pouze čísla, písmena, spojovníky (-) a podtržítka (_). Vzorový čárový kód nerozlišuje velká a malá písmena. Čárové kódy rozlišující malá a velká písmena nejsou považovány za jedinečné. Vzorový čárový kód musí být jedinečný a nesmí se lišit pouze velkými písmeny. Například názvy vzorků Sample01 a sample01 nejsou jedinečné.
sample_type	Řetězec	Povinné	Označuje typ vzorku pro analýzu. Povolené hodnoty jsou Singleton (Jedináček), Twin (Dvojče), Control (Kontrola) a NTC.



Sloupec záhlaví	Typ dat	Požadavek	Popis
sex_chromosomes	Řetězec	Povinné	Označuje vykazování pohlavních chromozomů plodu. Povolené hodnoty jsou yes (ano) (vykazovat), no (ne) (nevykazovat) a sca (vykazovat pouze aneuploidii pohlavních chromozomů).
screen_type	Řetězec	Povinné	Označuje typ vyšetření pro analýzu. Povolené hodnoty jsou Basic (Základní) a Genomewide (Celý genom).

Vstupní seznam vzorků nahrávaný během izolace plazmy a vkládání do fondu můžete nahrát pomocí aplikace Batch Manager. Systém pro vzorky NTC automaticky použije čárové kódy, typ vyšetření, typ vzorku a způsob vykazování pohlavních chromozomů. Jsou vyžadovány různé informace v závislosti na tom, zda je seznam vzorků nahrán během izolace plazmy nebo během vkládání do fondu. Informace o vzorku se potvrzují během procesu odesílání vzorku. Vzorky odeslané během izolace plazmy mohou obsahovat úplný seznam vzorků nebo podskupinu vzorků. Během vkládání do fondu si systém vyžádá všechny chybějící informace o vzorku, které nebyly nahrány během izolace plazmy, a to i v případě vzorků NTC (tj. pohlavní chromozom a typ vyšetření).



### UPOZORNĚNÍ

V zájmu předcházení chybám neuvádějte během procesu izolace plazmy do listu vzorku informace o vzorku ani řádky pro vzorky NTC.

Můžete kontrolovat načítání vzorků pro všechny vzorky v dávce vygenerované systémem LIMS nebo pro konkrétní vzorky, které vyžadují opakované testování. Pokud vkládáte vzorky pro účely opakovaného testování, vyplňte zbývající volné pozice dostupnými vzorky.

Vyberte jednu z následujících metod použití seznamů vzorků:

- Předem definované dávky (dávky vytvořené systémem LIMS)
- Jednorázové dávky (dávky vytvořené softwarem VeriSeq NIPT Workflow Manager)

### Předem definované dávky

Pomocí systému LIMS můžete vytvářet dávky před zahájením zpracování vzorků. V předem definovaných dávkách jsou všechny vzorky již přiřazeny k dávce ještě před jejich vložením do zařízení ML STAR. Seznam vzorků odeslaný během izolace plazmy obsahuje každý vzorek v dávce spolu se všemi informacemi o vzorcích. Seznamy vzorků pro dávky vytvořené v systému LIMS musí obsahovat hodnoty uvedené ve sloupci Batch ID (ID dávky). Uvedení ID dávky slouží k ujištění, že na začátku zpracování byl do softwaru Workflow Manager ručně zadán správný název ID dávky.

Přístup založený na předem definovaných dávkách blokuje konkrétní vložené vzorky, protože systém vyžaduje, aby všechny vzorky ze seznamu vzorků byly v dávce. Další informace nejsou vyžadovány. Laboraťor může pokračovat k závěrečnému výkazu bez zadávání dalších dat.

Vlastnosti a požadavky na předem definované dávky jsou následující.

- Umožňuje úplné řízení obsahu dávek.
- Brání vložení nežádoucích vzorků.
- Vyžaduje systém na vytváření dávek ze seznamu (pokročilý systém LIMS).
- Může od pracovníků laboratoře vyžadovat, aby získali správné vzorky ze skladu. Případně vyžaduje pokročilý systém pro uskladnění vzorků.

## Jednorázové dávky

Dávky můžete vytvořit v laboratoři fyzickým shromážděním zkumavek se vzorky a jejich vložením do zařízení ML STAR v průběhu izolace plazmy. Předchozí přidružení vzorku k dávce není nutné. Sami určíte, které vzorky mají být do dávky zahrnuty.

Když vás software Workflow Manager během izolace plazmy vyzve, vyberte možnost **No Sample Sheet** (Žádný seznam vzorků). Software Workflow Manager přidruží vložené vzorky k ručně zadanému ID dávky a vytvoří výkaz zavedení dávky.

Vlastnosti a požadavky na jednorázové dávkování jsou následující.

- Nevyžaduje se systém LIMS a seznam vzorků.
- Výkaz zavedení dávky můžete upravit s informacemi o typu vzorku, typu vyšetření a výkazem pohlaví pro odeslání během vkládání do fondu. Vzorky můžete přidat kdykoli.
- Neexistuje žádná automatická kontrola toho, které vzorky jsou zahrnuté do dávky. Můžete vložit nechtěný vzorek.
- Vzorová data je nutné vložit během vkládání do fondu.

## Úprava atributů vzorku

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

1. Otevřete aplikaci Batch Manager. Další informace naleznete v části [Přístup k aplikaci Batch Manager na straně 10](#).
2. Zadejte ID dávky a uživatelské jméno nebo iniciály obsluhy a vyberte **OK**.
3. Na diagramu desky dávky vyberte pozici jamky přidružené ke vzorku.
4. Potvrďte, že je zobrazen správný vzorek, a poté vyberte požadovanou hodnotu atributu Sample Type (Typ vzorku) v příslušném rozevíracím seznamu.
5. V rozevíracím seznamu Sex Reporting (Vykazování pohlaví) vyberte hodnotu tohoto atributu.
6. V rozevíracím seznamu Screen Type (Typ vyšetření) vyberte hodnotu tohoto atributu.
7. Vyberte možnost **Edit** (Upravit).

## Zneplatnění vzorku, dávky a fondu

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

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

### Zneplatnění vzorku pomocí aplikace VeriSeq NIPT Method

Chcete-li vzorky zneplatnit, proveďte během zpracování vzorků následující kroky.

1. Na konci jednotlivých procesů aplikace Workflow Manager vyberte v okně Well Comments (Komentáře k jamce) jednotlivé jamky, které chcete označit jako chybové, a pak vyberte **OK**.
2. V rozevíracích nabídkách vyberte nejméně jednu poznámku, nebo zaškrtněte políčko **Other** (Jiné) a zadejte komentář.
3. Zaškrtněte políčko **Fail Sample** (Chybový vzorek) a vyberte **OK**.
4. Potvrďte, že systém má vzorek považovat za chybový.

### Zneplatnění pomocí aplikace Batch Manager

Aplikace Batch Manager umožňuje zneplatnit následující:

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

**POZNÁMKA** Před spuštěním aplikace Batch Manager ukončete všechny aktuálně spuštěné metody.

### Přístup k aplikaci Batch Manager

Pokud chcete spustit aplikaci Batch Manager, použijte jednu z následujících možností:

- V App Launcher (Spouštěč aplikace) vyberte **VeriSeq NIPT Batch Manager**.
- Na počítači připojeném k síti přejděte na `C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT` a otevřete soubor metod aplikace Batch Manager (`VeriSeqNIPT_Batch_Manager.med`) s Hamilton Run Controller.

### Zneplatnění vzorku

1. Otevřete aplikaci Batch Manager.
2. Zadejte ID dávky a uživatelské jméno nebo iniciály obsluhy a vyberte **OK**.
3. Na diagramu desky dávky vyberte pozici jamky přidružené k chybovému vzorku.

4. Zkontrolujte, že se zobrazuje správný vzorek, a vyberte možnost **Invalidate Sample** (Zneplatnit vzorek).
5. Zadejte příčinu chyby a vyberte možnost **Invalidate** (Zneplatnit).  
Na diagramu desky dávky se barva zneplatněných vzorků změní ze zelené na červenou a stav dávky se změní z platné na nezdařenou.

## Zneplatnění dávky

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

## Zneplatnění fondu

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

## Nahrání seznamu vzorků

Pomocí aplikace Batch Manager nahrajte seznam vzorků s informacemi o vzorcích. Tato funkce slouží k nahrávání nebo změně informací o vzorcích ve velkých sadách.

1. Otevřete aplikaci Batch Manager.
2. Zadejte ID dávky a uživatelské jméno nebo iniciály obsluhy a vyberte **OK**.
3. Vyberte možnost **Upload New Sample Sheet** (Nahrát nový seznam vzorků).
4. Vyberte požadovaný seznam vzorků a pak vyberte **OK**.

Další informace o tom, jaké informace je třeba do seznamu vzorku uvést, naleznete v části [Zadání seznamu vzorků na straně 7](#).

## Zrušení vzorku

1. Otevřete aplikaci Batch Manager.
2. Zadejte ID dávky a uživatelské jméno nebo iniciály obsluhy a vyberte **OK**.

3. Na diagramu desky dávky vyberte pozici jamky přidružené ke zrušenému vzorku.
4. Potvrďte, že se zobrazuje správný vzorek, a vyberte možnost **Cancel Sample** (Zrušit vzorek).
5. Zadejte důvod chyby a vyberte možnost **Cancel** (Zrušit).

Na diagramu desky dávky se barva zrušeného vzorku změní ze zelené na červenou.

## VeriSeq NIPT Services

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

## Spuštění softwaru VeriSeq NIPT Services

Před spuštěním softwaru Services ukončete všechny spuštěné metody.

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

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

Service Tools (Nástroje služby) umožňují následující:

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

### Jednotlivé testy

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

Test systému	Popis
Barcode/Autoload (Čárový kód / automatické vložení)	Testuje správnou konfiguraci systémové plošiny, funkci AutoLoader a funkčnost snímání čárového kódu.
CPAC	Testuje funkčnost topných plošinových systémů CPAC. Kontroluje také správné zapojení elektroinstalace jednotlivých jednotek do řídicí skříně.

Test systému	Popis
BVS Vacuum	Testuje funkčnost základních vakuových systémů na plošině (BVS), aby se potvrdilo, že vakuum je v provozu a dokáže dosáhnout provozních tlaků.
Independent Channel (Nezávislý kanál)	Testuje funkčnost nezávislých pipetovacích kanálů. Testuje zadržování kapaliny, aby se zjistilo, zda pipetovací kanály nekapou a zda jsou dodávané objemy konzistentní.
iSwap	Testuje funkčnost robotické paže iSwap a potvrzuje hrubé výukové pozice plošiny.
96-Head (Špička 96)	Testuje funkčnost pipetovací špičky CO-RE 96. Testuje zadržování kapaliny, aby se zjistilo, zda pipetovací kanály nekapou a zda jsou dodávané objemy konzistentní.

Jednotlivé testy provedete následujícím způsobem.

1. Vyberte konkrétní test, který chcete provést.

**POZNÁMKA** Možnost Full IOQ Execution (Provedení celé IOQ) postupně spustí všech šest testů.

2. Postupujte podle pokynů na obrazovce, dělejte si poznámky z pozorování funkcí vybavení a zaznamenejte jakékoli vzniklé chyby.
3. Po dokončení metodu opustíte výběrem možnosti **Abort** (Přerušit).
4. Budete-li vyzváni, abyste poskytli systémové protokoly trasování vytvořené během testu, jsou protokoly dostupné na adrese `C:\Program Files (x86)\HAMILTON\LogFiles` a začínají `VeriSeqNIPT_Services`.

## Service Tools (Nástroje služby)

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

Test systému	Popis
Server Configuration (Konfigurace serveru)	Nakonfiguruje a otestuje propojení mezi softwarem VeriSeq NIPT Workflow Manager a softwarem VeriSeq NIPT Assay Software. Správná komunikace mezi těmito systémy je pro funkci softwaru Workflow Manager nutná.
Assay Configuration (Konfigurace rozboru)	Slouží k resetování výchozí koncentrace knihovny.
Deck Teach Tool	Slouží k exportu a importu naučených pozic plošiny ze souboru.

## Server Configuration (Konfigurace serveru)

Pokud se změní síťová adresa místního serveru VeriSeq Onsite Server v2, nasměrujte aplikaci Workflow Manager na novou adresu následujícím způsobem:

1. V nabídce Service Tools (Nástroje služby) vyberte možnost **Server Configuration** (Konfigurace serveru).
2. Aktualizujte adresu URL novou adresou místního serveru.
3. Výběrem možnosti **Test Connection** (Odzkoušet připojení) odešlete zkušební zprávu. Pokud tato zpráva nedorazí, obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina.
4. Na obrazovce System Configuration (Konfigurace systému) vyberte **OK** a pak výběrem možnosti **Apply** (Použít) uložte novou adresu.

Pokud aktualizujete síťovou adresu, musíte také aktualizovat certifikát SSL (Secure Sockets Layer) v osobním počítači, ve kterém je spuštěna aplikace Workflow Manager. Spusťte VeriSeq NIPT Assay Software v2 v tomto počítači a postupujte podle části [Stažení a instalace certifikátu na straně 33](#).

Heslo pro automatizaci systému ML STAR mohou aktualizovat pouze servisní technici společnosti Illumina. Před změnou hesla uloženého na serveru prostřednictvím webového rozhraní se ujistěte, že servisní technik společnosti Illumina navštívil vaše pracoviště a aktualizoval heslo systému ML STAR. Aktualizujete-li heslo ve webovém rozhraní serveru, aniž byste jej aktualizovali v systému ML STAR, nebude systém použitelný.

## Assay Configuration (Konfigurace rozboru)

Pomocí nástroje Assay Configuration (Konfigurace rozboru) můžete nastavit hodnoty následujících parametrů:

- **Target Library Concentration** (Cílová koncentrace knihovny) – nastaví výchozí hodnotu koncentrace knihoven ve fondech sekvenátoru v softwaru Workflow Manager. Hodnoty koncentrace se při procesu vkládání do fondu používají pro každý běh zvlášť. Další informace naleznete v *příbalovém letáku k produktu VeriSeq NIPT Solution v2 Package Insert (dokument č. 1000000078751)*.
- **Default Sex Chromosome Reporting** (Výchozí způsob vykazování pohlavních chromozomů) – určuje, který atribut bude přiřazen ke vzorkům, pokud při přípravě vzorku stisknete tlačítko Use Default (Použít výchozí). Tento parametr lze nastavit na hodnotu Yes (Ano), nebo No (Ne).
- **Screen Type** (Typ vyšetření) – určuje typ vyšetření pro vzorek. Tento parametr lze nastavit na hodnotu Basic (Základní) nebo Genomewide (Celý genom).

Parametry rozboru nakonfigurujte následujícím způsobem.

1. Vyberte možnost **Assay Configuration** (Konfigurace rozboru) a nakonfigurujte parametry podle potřeby.
  - Upravte pole Target Library Concentration (pg/μl) (Cílová koncentrace knihovny (pg/μl)) na požadovanou hodnotu.

- Upravte parametr Default Sex Chromosome Reporting (Výchozí způsob vykazování pohlavních chromozomů) na požadovanou hodnotu.
- Změňte nastavení Screen Type (Typ vyšetření) na požadovanou hodnotu.

2. Vyberte možnost **Apply** (Použít).

## Deck Teach Tool

Během řešení problémů může být nutné exportovat hodnoty naučených pozic. Pomocí nástroje Deck Teach Tool vytvořte seznam pozic spolu s jejich hodnotami.

1. Vyberte možnost **Deck Teach Tool** (Nástroj Deck Teach Tool).
2. Vyberte **Export** (Exportovat).
3. Výstupní umístění je implicitně nastaveno na uvedené umístění. Přijměte výchozí umístění nebo vyberte umístění pro výstup textového souboru, který obsahuje naučené pozice z nástroje.
4. Vyberte tlačítko **OK**.  
Nástroj Deck Teach Tool uloží textový soubor s hodnotami všech naučených pozic laboratorního vybavení z instalace softwaru Workflow Manager.
5. Výběrem tlačítka **Cancel** (Zrušit) se vrátíte na obrazovku Method Selection (Výběr metody).



# Sekvenátor nové generace

## Úvod

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

Při integraci systému sekvenování nové generace s VeriSeq NIPT Solution v2 vezměte v úvahu následující body.

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

## Fond sekvenování

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

- Vytvoření paired-end čtení s 2 x 36 bázemi.
- Kompatibilita s indexovými adaptéry v sadě VeriSeq NIPT Sample Prep Kit.
- Chemie založená na dvou kanálech.
- Automatické vytváření souborů přiřazení báze (BCL).

## Integrace datového úložiště

Typický běh sekvenování pro VeriSeq NIPT Solution v2 vyžaduje 25–30 GB místa pro data systému sekvenování nové generace. Skutečná velikost dat se může lišit v závislosti na konečné hustotě klastru. Místní server poskytuje více než 7,5 TB úložného prostoru. Je to dostatek místa pro přibližně 300 běhů sekvenování ( $7500/25 = 300$ ).

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

- Použijte místní server jako dočasné úložiště dat. Při této konfiguraci je přístroj připojen přímo k serveru a udržuje data na místním disku.
- Pro laboratoř s vysokým výkonem použijte síťové úložiště (NAS). Nastavte systém sekvenování nové generace tak, aby udržoval data sekvenování přímo na určeném umístění v úložišti NAS.

Při tomto nastavení nakonfigurujte místní server tak, aby sledoval určené umístění v úložišti NAS, které umožňuje serveru sledovat následující běhy sekvenování. Pokud chcete zvýšit výkonnostní možnosti vzorků, můžete přidat několik systémů sekvenování nové generace. Další informace o připojení serveru k úložišti NAS naleznete v části [Správa sdílené síťové jednotky na straně 30](#).

Další informace o připojení systému sekvenování nové generace k serveru nebo k úložišti NAS, naleznete v uživatelské příručce systému.

## Výkonnostní možnosti analýzy

Plán analýzy VeriSeq NIPT obvykle zpracovává běh sekvenování přibližně 5 hodin. Pokud zvětšujete výkonnostní možnosti laboratoře, vezměte v úvahu, že jeden server je schopen zpracovat maximálně 4 běhy za den, to znamená  $48 \text{ vzorků} \times 4 = 192 \text{ vzorků}$  za den. V případě zájmu o další řešení výkonnostních možností se obraťte na technickou podporu společnosti Illumina.

## Omezení síťového provozu

Software VeriSeq NIPT Solution v2 využívá místní síť (LAN, Local Area Network) laboratoře pro přenos dat mezi systémem sekvenování nové generace, místním serverem a úložištěm NAS (pokud je konfigurováno). Při zvyšování propustnosti pro přenos dat vzorků mějte na paměti následující omezení kladená na provoz infrastruktury IT:

- Průměrný přenos dat přibližně 25 GB za více než 10 hodin znamená přibližně 0,7 MB/s na sekvenátor.
- Infrastruktura laboratoře může umožňovat použití jiných zdrojů síťového provozu, které je třeba vzít v úvahu.

## VeriSeq NIPT Local Run Manager

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

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



## UPOZORNĚNÍ

Čárový kód fondu zadaný v modulu Local Run Manager musí odpovídat čárovému kódu fondu zadanému v aplikaci Workflow Manager. Nesprávné konfigurace běhu jsou v softwaru VeriSeq NIPT Assay Software zamítnuty a mohou vyžadovat opětovné sekvenování. Čárové kódy fondů musí být nové a jedinečné. Analýza neproběhne, pokud je čárový kód spojen s dříve analyzovanou dávkou.

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

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

# VeriSeq NIPT Assay Software v2

## Úvod

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

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

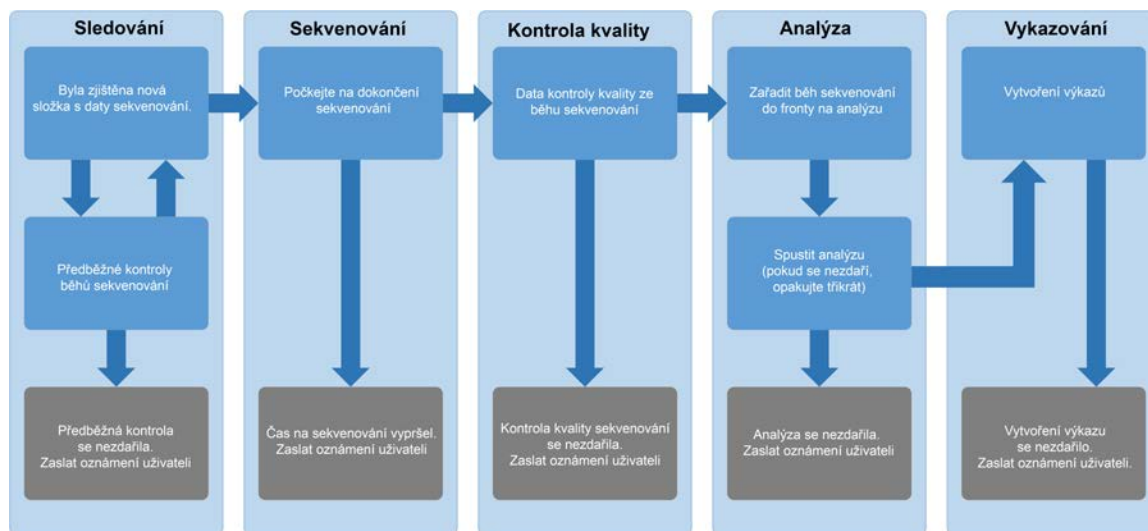
VeriSeq NIPT Assay Software seřadí čtení podle referenčního lidského genomu a provede analýzu čtení, která se uspořádají na jedinečném místě nebo prostoru v genomu. VeriSeq NIPT Assay Software vyloučí duplicitní čtení a místa, která jsou spojená s vysokým kolísáním v pokrytí euploidních vzorků. Data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

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

## Komponenty softwaru VeriSeq NIPT Assay Software

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

Obrázek 3 Schéma toku dat



- Monitoring (Sledování)** – předběžně kontroluje platnost nového běhu sekvenování. Když software zjistí nový běh sekvenování, provedou se následující kontroly platnosti:
  - Kontroluje kompatibilitu parametrů běhu s očekávanými hodnotami.
  - Přiřadí průtokovou kyvetu ke známé existující zkumavce fondu.
  - Potvrzuje, že fond nebyl již dříve zpracován. Systém neumožňuje opakovaný běh.
 Pokud některá kontrola selže, je uživatel upozorněn prostřednictvím systému e-mailových oznámení a v protokolu Alerts (Výstrahy) ve webovém uživatelském rozhraní.
- Sequencing (Sekvenování)** – nepřetržitě sleduje dokončování běhu sekvenování. Nastavený časovač určuje časové omezení pro dokončení běhu. Pokud čas vyprší, je uživatel upozorněn prostřednictvím systému e-mailových oznámení a v protokolu Alerts (Výstrahy) ve webovém uživatelském rozhraní.
- QC (Kontrola kvality)** – kontroluje soubory InterOp QC, které vytvořil sekvenátor. VeriSeq NIPT Assay Software kontroluje celkový počet klastrů, hustotu klastrů a skóre kvality čtení. V případě nesplnění kritérií kontroly kvality je uživatel upozorněn prostřednictvím systému e-mailových oznámení a v protokolu Alerts (Výstrahy) ve webovém uživatelském rozhraní.
- Analysis (Analýza)** – spravuje frontu analýzy několika běhů sekvenování, které vytvořily různé nástroje nakonfigurované serverem. Server zpracovává úlohy po jedné na základě principu FIFO (First In, First Out; v pořadí, ve kterém dorazí). Po úspěšném dokončení jedné analýzy se spustí další naplánovaná analýza z fronty. Pokud analýza narazí na problém nebo vyprší časový limit, VeriSeq NIPT Assay Software ji automaticky znovu spustí (až třikrát). Po každé chybě je uživatel upozorněn prostřednictvím systému e-mailových oznámení a v protokolu Alerts (Výstrahy) ve webovém uživatelském rozhraní.
- Reporting (Vykazování)** – po dokončení analýzy vytvoří výkaz, který obsahuje konečné výsledky. Pokud dojde k chybě a výkaz se nevytvoří, je uživatel upozorněn prostřednictvím systému e-mailových oznámení a v protokolu Alerts (Výstrahy) ve webovém uživatelském rozhraní.

# Úkoly softwaru VeriSeq NIPT Assay Software

VeriSeq NIPT Assay Software vykonává jak automatizované úkoly, tak úkoly spuštěné uživatelem.

## Automatizované úkoly

VeriSeq NIPT Assay Software vykonává následující automatizované úkoly:

- **Shromažďování a ukládání záznamu o přípravě vzorku** – na konci každého kroku vytváří skupinu výstupních souborů a ukládá je do složky ProcessLog, která se nachází ve složce Output (Výstup). Přehled naleznete v části [Struktura souborů výkazů na straně 48](#) a podrobnosti v části [Výkazy zpracování na straně 70](#).
- **Vytvoření oznámení o upozorněních, e-mailech a zprávách** – sleduje stav platnosti dávky, fondu a vzorku během kroků přípravy vzorku a kontroluje kvalitu dat sekvenování a výsledků analýzy každého vzorku. Na základě těchto kontrol platnosti určí VeriSeq NIPT Assay Software, zda se má ve zpracování pokračovat a zda mají být výsledky vykázány. VeriSeq NIPT Assay Software ukončí zpracování, pokud dojde ke zneplatnění dávky nebo fondu na základě výsledku kontroly kvality. Uživateli je odesláno upozornění e-mailem, vytvoří se zpráva a do webového uživatelského rozhraní se zaznamená výstraha.
- **Analýza dat sekvenování** – analyzuje nezpracovaná data sekvenování pro každý multiplexovaný vzorek ve fondu pomocí integrovaného NIPT Analysis Software. VeriSeq NIPT Assay Software zjistí skóre aneuploidie v jednotlivých vzorcích. Systém nehlásí výsledky vzorků, které byly uživatelem zneplatněny nebo zrušeny. U vzorků, které nesplňují kritéria kontroly kvality, je poskytnuto výslovné zdůvodnění, avšak výsledky takových vzorků nejsou brány v potaz. Další informace najdete v části [NIPT Report \(Výkaz NIPT\) na straně 55](#).
- **Vytvoření souboru s výsledky** – poskytuje výsledky vzorku v souboru s hodnotami oddělenými tabelátorem, který je uložen do složky Output (Výstup). Další informace najdete v části [NIPT Report \(Výkaz NIPT\) na straně 55](#).
- **Vytvoření výkazů** – VeriSeq NIPT Assay Software vytvoří výkazy s doplňkovými informacemi o výsledcích a výkazy o oznámeních a zpracování. Další informace najdete v části [Systémové výkazy na straně 48](#).
- **Zneplatnění vzorku, fondu a dávky**
  - **Zneplatnění vzorku** – VeriSeq NIPT Assay Software označí jednotlivé vzorky za neplatné, pokud uživatel:
    - Přímo zneplatní vzorek.
    - Zneplatní celou desku při přípravě knihovny, než jsou vytvořeny fondy.

Je-li je vzorek označen jako neplatný, automaticky se vygeneruje Sample Invalidation Report (Výkaz zneplatnění vzorku), viz část [Sample Invalidation Report \(Výkaz zneplatnění vzorku\) na straně 69](#).

- **Vytvoření výkazu o zneplatnění fondu a dávky** – fondy a dávky může zneplatnit pouze uživatel. Zneplatněné fondy nejsou systémem zpracovány. Fondy, které již byly vytvořeny z neplatné dávky, nejsou automaticky zneplatněny a mohou být systémem dále zpracovány. Nové fondy však nemohou být vytvořeny ze zneplatněných dávek. Pokud je fond zneplatněn a jsou splněny následující podmínky, systém vydá Pool Retest Request Report (Výkaz žádosti o opakovaný test fondu):
  - Dávka je platná.
  - Pro tuto dávku již nejsou k dispozici další fondy.
  - Počet povolených fondů z dávky nebyl vyčerpán.

Více informací naleznete v části [Pool Retest Request Report \(Výkaz žádosti o opakovaný test fondu\)](#) na straně 70.

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

## Uživatelské úkoly

VeriSeq NIPT Solution v2 umožňuje uživatelům provádět následující úkoly.

Pomocí softwaru Workflow Manager:

- Označit následující položky jako neplatné:
  - Jednotlivé vzorky.
  - Všechny vzorky v dávce.
  - Všechny vzorky přiřazené k fondu.
- Označit daný vzorek jako zrušený. V konečném výkazu výsledků potom VeriSeq NIPT Assay Software označí výsledky jako zrušené.

Pomocí VeriSeq NIPT Assay Software:

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

**POZNÁMKA** Možnost provádět jednotlivé úkoly závisí na oprávněních uživatele. Další informace naleznete v části [Přiřazení uživatelských rolí na straně 28](#).

## Sequencing Handler

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

Po úspěšném dokončení ověření VeriSeq NIPT Assay Software pokračuje ve sledování dokončování běhů sekvenování. Dokončené běhy sekvenování jsou řazeny do fronty ke zpracování pomocí programu Analytic Pipeline Handler (další informace naleznete v části [Analytic Pipeline Handler na straně 23](#)).

### Kompatibilita běhu sekvenování

VeriSeq NIPT Assay Software analyzuje pouze běhy sekvenování, které jsou kompatibilní s analytickým pracovním postupem cfDNA.

K vytvoření přiřazení báze používejte pouze kompatibilní metody sekvenování a verze softwaru.

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

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

- Běh paired-end se čteními v cyklu 2 × 36.
- Dvojitě indexování se dvěma osmicyklovými čteními indexu.

## Analytic Pipeline Handler

Program Analytic Pipeline Handler spustí plán analýzy za účelem zjištění aneuploidie. Plán zpracovává běhy sekvenování po jednom s průměrným trváním méně než 5 hodin na fond. Pokud analýza fond nezpracuje nebo nedokončí analýzu kvůli výpadku energie nebo omezení času, Analytic Pipeline Handler automaticky běh znovu zařadí. Pokud zpracování fondu selže třikrát po sobě, program Analytic Pipeline Handler označí běh jako neúspěšný a vygeneruje chybovou zprávu.

Úspěšná analýza běhu spustí vytvoření výkazu NIPT. Další informace najdete v části [NIPT Report \(Výkaz NIPT\) na straně 55](#).

### Časová omezení pracovního postupu a požadavky na úložiště

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



Parametr	Výchozí hodnota
Maximum Sequencing Time (Maximální doba sekvenování)	20 hodin
Maximum Analysis Time (Maximální doba analyzování)	10 hodin
Minimum Scratch Space Storage (Minimální kapacita úložiště scratch)	900 GB

## Webové uživatelské rozhraní

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

**POZNÁMKA** Webové uživatelské rozhraní softwaru VeriSeq NIPT Assay Software nepodporuje použití mobilních zařízení.

- **View recent activities** (Zobrazit poslední činnosti) – uvádí kroky, které byly dokončené během provádění rozboru. Uživatel obdrží výstrahy k mnohým z těchto činností prostřednictvím e-mailového oznamovacího systému. Další informace naleznete v části [Oznámení Assay Software na straně 80](#).
- **View errors and alerts** (Zobrazit chyby a výstrahy) – uvádí problémy, které by mohly narušit další pokračování rozboru. Chybové zprávy a výstrahy se uživateli odesílají prostřednictvím e-mailového oznamovacího systému. Další informace naleznete v části [Oznámení Assay Software na straně 80](#).
- **Configure the server network settings** (Konfigurovat nastavení serverové sítě) – pracovníci společnosti Illumina síť obvykle konfiguruje během instalace systému. Pokud místní síť vyžaduje změny v IT, může být potřeba provést úpravy. Další informace naleznete v části [Konfigurace nastavení sítě a serveru na straně 32](#).
- **Manage server access** (Spravovat přístup k serveru) – místní server umožňuje přístup na úrovni správců a obsluhy. Tyto úrovně přístupu řídí zobrazování činností, výstrah a chybových protokolů a změny nastavení sítě a mapování dat. Další informace naleznete v části [Správa uživatelů na straně 28](#).
- **Configure sequencing data folder** (Konfigurovat složku dat sekvenování) – ve výchozím nastavení server ukládá data sekvenování. K rozšíření úložné kapacity je však možné přidat centrální úložiště NAS. Další informace naleznete v části [Připojení serverových jednotek na straně 42](#).
- **Configure email notification subscribers list** (Konfigurovat seznam příjemců e-mailových oznámení) – spravuje seznam příjemců, kteří dostávají e-mailová oznámení s chybovými zprávami a výstrahami ke zpracování rozboru. Další informace naleznete v části [Konfigurace e-mailových oznámení systému na straně 34](#).

- **Reboot or shutdown the server** (Restartovat nebo vypnout server) – v případě potřeby restartuje nebo vypne server. Restartování nebo vypnutí může být nutné v případě, kdy to vyžaduje konfigurační nastavení, nebo když se použije jako opravný prostředek při chybě serveru. Další informace naleznete v částech [Restartování serveru na straně 42](#) a [Vypnutí serveru na straně 43](#).
- **Configure database backup encryption** (Konfigurovat šifrování záloh databáze) – umožňuje šifrování a nastavení hesla pro šifrování zálohy databáze serveru. Tato funkce také umožňuje vytvořit dočasnou nezašifrovanou zálohu. Další informace naleznete v části [Konfigurace šifrování zálohy na straně 35](#).
- **Configure network passwords** (Konfigurovat síťová hesla) – umožňuje nastavit síťová hesla pro komunikaci mezi serverem a oběma sekvenátory a přístroji VeriSeq NIPT Microlab STAR. Další informace naleznete v části [Konfigurace síťových hesel na straně 36](#).

## Licenční smlouva s koncovým uživatelem

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

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

## Konfigurace webového uživatelského rozhraní

Vyberte ikonu Settings (Nastavení). Zobrazí se rozevírací seznam s nastavením konfigurace. V závislosti na uživatelské roli a přidružených povoleních se zobrazí možnosti nastavení. Další informace naleznete v části [Přřazení uživatelských rolí na straně 28](#).

**POZNÁMKA** Technik nemá přístup k žádné z těchto funkcí.

Nastavení	Popis
User Management (Správa uživatelů)	Přidání, aktivace/deaktivace a úprava pověření uživatele. Pouze servisní technici a správci.
Email Configuration (Nastavení e-mailu)	Úprava seznamu odběratelů e-mailových oznámení.
Change Shared Folder Password (Změnit heslo sdílené složky)	Změna hesla uživatele sbsuser pro přístup ke sdíleným složkám místního serveru. Heslo může obsahovat pouze alfanumerické znaky.

Nastavení	Popis
Reporting Settings (Nastavení vykazování)	Pouze servisní technici a správci.
Reboot Server (Restartování serveru)	Pouze servisní technici a správci.
Shut Down Server (Vypnutí serveru)	Pouze servisní technici a správci.

## Přihlášení do webového uživatelského rozhraní

Do rozhraní softwaru VeriSeq NIPT Assay Software se přihlaste následujícím způsobem.

- V počítači připojeném ke stejné síti jako místní server otevřete některý z následujících webových prohlížečů:
  - Chrome verze 69 nebo novější
  - Firefox verze 62 nebo novější
  - Internet Explorer verze 11 nebo novější
- Zadejte IP adresu serveru nebo název serveru poskytnutý společností Illumina při instalaci, ekvivalentní adrese `https://<Onsite Server IP address>/login`.  
(např. `https://10.10.10.10/login`).
- Pokud se zobrazí varování zabezpečení prohlížeče, přidejte výjimku zabezpečení, abyste mohli pokračovat na přihlašovací obrazovku.  
Varování zabezpečení znamená, že počítač nemá nainstalovaný certifikát SSL (Secure Sockets Layer). Při instalaci tohoto certifikátu postupujte podle pokynů v části [Stahování a instalace certifikátu na straně 33](#).
- Na přihlašovací obrazovce zadejte uživatelské jméno a heslo (rozlišují se malá a velká písmena) poskytnuté společností Illumina a pak vyberte možnost **Log In** (Přihlásit).

**POZNÁMKA** Po 10 minutách nečinnosti VeriSeq NIPT Assay Software automaticky odhlásí aktuálního uživatele.

## Ovládací panel

Po přihlášení se zobrazí ovládací panel softwaru VeriSeq NIPT Assay Software v2. Ovládací panel je hlavním navigačním prostředkem. K ovládacímu panelu se můžete kdykoli vrátit výběrem možnosti **Dashboard** (Ovládací panel) v nabídce.

Ovládací panel vždy zobrazuje posledních 50 protokolovaných činností (pokud jich bylo méně než 50, zobrazí pouze činnosti, které byly zaprotokolovány). Chcete-li vyvolat 50 předchozích činností a procházet historii činností, vyberte v pravém horním rohu tabulky činností možnost **Previous** (Předchozí).

## Zobrazení posledních činností

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

Název	Popis
When (Kdy)	Datum a čas činnosti.
User (Uživatel)	Pokud se používá, označuje uživatele, který činnost provedl.
Subsystem (Subsystem)	Entita nebo proces, který danou činnost provedl, například uživatel, rozbor nebo konfigurace.
Details (Podrobnosti)	Popis činnosti.
Level (Úroveň)	Úroveň přiřazená dané činnosti. Na výběr jsou následující možnosti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Activity</b> (Činnost) – označuje činnost na serveru, například restartování systému nebo přihlášení či odhlášení uživatele.</li> <li>• <b>Notice</b> (Upozornění) – označuje neúspěšně provedený krok. Může se jednat například o zneplatnění vzorku nebo chybu kontroly kvality.</li> <li>• <b>Warning</b> (Varování) – označuje, že během normálního provádění a při správné funkci hardwaru došlo k chybě. Může se jednat například o neznámé parametry běhu nebo o chybnou analýzu.</li> </ul>

## Zobrazení posledních chyb

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

Název	Popis
When (Kdy)	Datum a čas činnosti.
User (Uživatel)	Pokud se používá, označuje uživatele, který činnost provedl.
Subsystem (Subsystem)	Entita nebo proces, který danou činnost provedl, například uživatel, rozbor nebo konfigurace.
Details (Podrobnosti)	Popis činnosti.

Název	Popis
Level (Úroveň)	<p>Úroveň přiřazená dané činnosti. Na výběr jsou následující možnosti:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Urgent</b> (Naléhavé) – závažná chyba hardwaru, která ohrožuje provoz systému. obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina.</li> <li>• <b>Alert</b> (Výstraha) – chyba během normálního provozu. Může se jednat o poškození disku, problém s volným místem nebo konfigurací, které brání vytváření výkazů nebo e-mailových oznámení.</li> <li>• <b>Error</b> (Chyba) – chyba systému nebo serveru během normálního provozu. Může se jednat o problém s konfiguračním souborem nebo o selhání hardwaru.</li> </ul>

## Zobrazení stavu systému a výstrah

Na kartě **Server Status** (Stav serveru) jsou zobrazeny následující informace.

- **Date** (Datum) – aktuální datum a čas.
- **Time zone** (Časové pásmo) – časové pásmo nakonfigurované pro server. Informace o časovém pásmu se používají pro e-mail, upozornění a datum a čas výkazu.
- **Hostname** (Název hostitele) – název systému se skládá z názvu síťového hostitele a názvu domény DNS (Domain Name System, systém doménových názvů).
- **Disk space usage** (Využití místa na disku) – procento aktuálně využitého místa na disku, které slouží k ukládání dat.
- **Software** – předepsaná konfigurace softwaru (například CE-IVD).
- **Version** (Verze) – verze softwaru VeriSeq NIPT Assay Software v2.

V přehledu se může zobrazit i tlačítko **Server alarm** (Alarm serveru), kterým se vypíná zvukový signál alarmu řadiče RAID. Toto tlačítko je zobrazeno pouze uživatelům s oprávněním správce. Pokud toto tlačítko stisknete, požádejte o další pomoc technickou podporu společnosti Illumina.

## Správa uživatelů

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

## Přiřazení uživatelských rolí

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

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

## Přidání uživatelů

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

Postup přidání uživatele je následující.

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

**POZNÁMKA** Všechna pole musí být vyplněna.

2. Zadejte uživatelské jméno. Uživatelská jména musejí splňovat následující požadavky.

- Musejí obsahovat pouze malé alfanumerické znaky (a–z a 0–9).
- Musejí mít délku 4 až 20 znaků a musejí obsahovat minimálně jednu číslici.
- První znak nesmí být číslice.

**POZNÁMKA** U uživatelského jména se nerozlišují velká a malá písmena.

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

3. Zadejte celé jméno uživatele. Celé jméno se zobrazuje pouze v uživatelském profilu.
4. Zadejte a potvrďte heslo.  
Hesla musejí mít délku 8 až 20 znaků a musejí obsahovat minimálně jedno velké písmeno, jedno malé písmeno a jednu číslici.
5. Zadejte e-mailovou adresu uživatele.  
Pro každého uživatele je nutná jedinečná e-mailová adresa.
6. Vyberte požadovanou uživatelskou roli z rozbalovacího seznamu.
7. Okamžitou aktivaci uživatele proveďte vybráním políčka **Active** (Aktivní). Pokud chcete aktivovat uživatele později (např. po školení), zrušte výběr políčka.
8. Výběrem možnosti **Save** (Uložit) uložte a potvrďte změny.  
Na obrazovce User Management (Správa uživatelů) je nyní zobrazen nový uživatel.

## Úprava uživatelů

Informace o uživateli můžete upravit následujícím způsobem.

1. Na obrazovce User Management (Správa uživatelů) vyberte uživatelské jméno.
2. Upravte informace o uživateli a pak vyberte možnost **Save** (Uložit).
3. Změny potvrdíte opětovným výběrem možnosti **Save** (Uložit).

Na obrazovce User Management (Správa uživatelů) se zobrazí změny uživatele.

## Deaktivace uživatelů

Uživatele deaktivujete následujícím způsobem.

1. Na obrazovce User Management (Správa uživatelů), vyberte uživatelské jméno.
2. Zrušte zaškrtnutí u políčka **Activate** (Aktivovat) a vyberte tlačítko **Save** (Uložit).
3. V potvrzovací zprávě vyberte **Save** (Uložit).

Stav uživatele na obrazovce User Management (Správa uživatelů) se změní na Disabled (Neaktivní).

## Správa sdílené síťové jednotky

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

### Přidání sdílené síťové jednotky

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

1. V ovládacím panelu vyberte možnost **Folders** (Složky).
2. Vyberte možnost **Add folder** (Přidat složku).
3. Zadejte následující informace, které vám poskytl správce IT:
  - **Location** (Umístění) – celá cesta do umístění na úložišti NAS včetně složky, ve které jsou data uložena.
  - **Username** (Uživatelské jméno) – uživatelské jméno určené pro místní server, když přistupuje k úložišti NAS.
  - **Password** (Heslo) – Heslo určené pro místní server, když přistupuje k úložišti NAS.
4. Vyberte možnost **Save** (Uložit).
5. Výběrem možnosti **Test** provedte kontrolu spojení s úložištěm NAS.  
Pokud se spojení nezdaří, ověřte u správce IT, zda máte správný název serveru, název umístění, uživatelské jméno a heslo.

6. Restartujte server, aby se změny projevily.

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

## Úprava sdílené síťové jednotky

1. V ovládacím panelu vyberte možnost **Folders** (Složky).
2. Upravte cestu v poli Location (Umístění) a vyberte možnost **Save** (Uložit).
3. Výběrem možnosti **Test** proveďte kontrolu spojení s úložištěm NAS.  
Pokud se spojení nezdaří, ověřte u správce IT, zda máte správný název serveru, název umístění, uživatelské jméno a heslo.

## Odstranění sdílené síťové jednotky

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

## Konfigurace nastavení sítě a certifikátu

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

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

1. V ovládacím panelu vyberte možnost **Configuration** (Nastavení).
2. Vyberte kartu **Network Configuration** (Nastavení sítě) a podle potřeby nastavte konfiguraci sítě.
3. Vyberte kartu **Certification Configuration** (Nastavení certifikace) a vytvořte certifikát SSL (Secure Sockets Layer).

## Konfigurace nastavení certifikátu

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

1. Na kartě Certificate Configuration (Konfigurace certifikátu) můžete nakonfigurovat následující nastavení certifikátu SSL:
  - **Laboratory Email** (E-mail laboratoře) – kontaktní e-mail zkušební laboratoře (musí mít platný formát e-mailové adresy).
  - **Organization Unit** (Organizační jednotka) – oddělení.



- **Organization** (Organizace) – název zkušební laboratoře.
- **Location** (Umístění) – adresa zkušební laboratoře.
- **State** (Region) – místo, kde se nachází zkušební laboratoř.
- **Country** (Země) – země, kde se nachází zkušební laboratoř.
- **Certificate Thumbprint (SHA1)** (Kryptografický otisk certifikátu (SHA1)) – identifikační číslo certifikace.

Otisk SHA1 zajišťuje, že se uživatelům nebudou zobrazovat varování certifikátu při přístupu k softwaru VeriSeq NIPT Assay Software v2. SHA1 se zobrazí po vytvoření nebo obnovení certifikátu. Další informace naleznete v části [Obnovení certifikátu na straně 33](#).

2. Výběrem možnosti **Save** (Uložit) uplatníte provedené změny.

## Konfigurace nastavení sítě a serveru

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

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



### UPOZORNĚNÍ

Nesprávná nastavení mohou narušit spojení se serverem.

## Stažení a instalace certifikátu

Postup stažení a instalace certifikátu SSL pro software VeriSeq NIPT Assay Software v2:

1. V ovládacím panelu vyberte možnost **Configuration** (Nastavení).
2. Vyberte kartu **Certification Configuration** (Konfigurace certifikace).
3. Na obrazovce Network Configuration (Konfigurace sítě) vyberte možnost **Download Certificate** (Stáhnout certifikát).

Stažený soubor certifikátu root\_cert.der.

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

4. Přejděte do složky v počítači, kam jste uložili soubor.
5. Pravým tlačítkem klikněte na soubor **root\_cert.der** a vyberte možnost **Install Certificate** (Instalovat certifikát).
6. Pokud se zobrazí okno s upozorněním zabezpečení, otevřete soubor výběrem možnosti **Open** (Otevřít).  
Spustí se průvodce importem certifikátu.
7. V uvítacím okně průvodce importem certifikátu vyberte možnost **Local Machine** (Místní počítač) v části Store Location (Umístění úložiště) a pak vyberte možnost **Next** (Další).
8. Vyberte možnost **Place all certificates in the following store** (Všechny certifikáty umístit v následujícím úložišti) a pak vyberte tlačítko **Browse...** (Procházet).
9. V okně Select Certificate Store (Vybrat úložiště certifikátů) vyberte možnost **Trusted Root Certification Authorities** (Důvěryhodné kořenové certifikační autority) a pak vyberte **OK**.
10. Zkontrolujte, zda se v poli Certificate Store (Úložiště certifikátů) zobrazuje možnost Trusted Root Certification Authorities (Důvěryhodné kořenové certifikační autority) a pak vyberte možnost **Next** (Další).
11. V okně dokončení průvodce importem certifikátu vyberte **Finish** (Dokončit).
12. Pokud se zobrazí upozornění zabezpečení, výběrem možnosti **Yes** (Ano) nainstalujte certifikát.
13. V dialogovém okně s informací o úspěšném importu vyberte **OK**. Průvodce bude ukončen.

## Obnovení certifikátu

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

Postup obnovení certifikátu po změně nastavení sítě nebo certifikátu:

1. Na obrazovce Network Configuration (Konfigurace sítě) vyberte možnost **Regenerate Certificate** (Obnovit certifikát).

2. Chcete-li pokračovat, vyberte možnost **Regenerate Certificate and Reboot** (Obnovit certifikát a restartovat). Chcete-li skončit, vyberte možnost **Cancel** (Zrušit).

## Konfigurace e-mailových oznámení systému

VeriSeq NIPT Assay Software v2 komunikuje s uživateli zasíláním e-mailových oznámení o postupu rozboru a výstrah, když se vyskytnou chyby nebo je vyžadován zásah uživatele. Informace o e-mailových oznámeních zasílaných systémem naleznete v části [Oznámení Assay Software na straně 80](#).

Zkontrolujte, zda nastavení proti nevyžádané poště vaší e-mailové schránky povoluje e-mailová oznámení ze serveru. E-mailová oznámení jsou zasílána z účtu `VeriSeq@<customer_email_domain>`, kde `<customer_email_domain>` je určeno místním oddělením IT při instalaci serveru.

### Vytvoření seznamu e-mailových odběratelů

E-mailová oznámení se odesílají seznamu určených odběratelů.

Seznam odběratelů zadejte následujícím způsobem.

1. V ovládacím panelu vyberte ikonu **Settings** (Nastavení).
2. Vyberte možnost **Email Configuration** (Nastavení e-mailu).
3. Do pole **Subscribers** (Odběratelé) zadejte e-mailové adresy oddělené čárkou.  
Zkontrolujte správnost zadaných e-mailových adres. Software formát e-mailových adres neověřuje.
4. Vyberte možnost **Save** (Uložit).
5. Výběrem možnosti **Send test message** (Odeslat zkušební zprávu) vytvoříte zkušební e-mail pro seznam odběratelů.  
Zkontrolujte svoji e-mailovou schránku a ověřte, zda byl e-mail odeslán.

**POZNÁMKA** Před odesláním zkušební zprávy nezapomeňte vybrat tlačítko **Save** (Uložit). Odesláním zkušební zprávy před uložením se všechny změny zruší.

## Konfigurace šifrování zálohy

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

**POZNÁMKA** Oprávnění nastavit šifrování záloh databáze mají pouze správci.

Šifrování záloh nastavte následujícím způsobem.

1. V ovládacím panelu vyberte ikonu Settings (Nastavení).
2. Vyberte možnost **Backup Encryption** (Šifrování záloh).
3. Zaškrtněte políčko **Encrypt Backups** (Šifrovat zálohy).
4. V poli **Encryption Password** (Heslo pro šifrování) zadejte preferované heslo pro šifrování.
5. Do pole **Confirm Password** (Potvrdit heslo) zadejte stejné heslo.
6. Vyberte možnost **Save** (Uložit).

## Vytvoření nezašifrované zálohy

Pomocí softwaru VeriSeq NIPT Assay Software mohou správci vytvořit soubor nezašifrované zálohy, který může použít technická podpora Illumina. Soubor nezašifrované zálohy existuje pouze 24 hodin, než je automaticky odstraněn.

**POZNÁMKA** Oprávnění vytvořit nezašifrovanou zálohu mají pouze správci.

Nešifrovanou zálohu vytvoříte následujícím způsobem.

1. V ovládacím panelu vyberte ikonu Settings (Nastavení).
2. Vyberte možnost **Backup Encryption** (Šifrování záloh).
3. Vyberte možnost **Generate Unencrypted Backup** (Vytvořit nezašifrovanou zálohu).
4. V okně potvrzení vyberte **Yes** (Ano).  
Zobrazí se potvrzení požadavku na vytvoření nezašifrované zálohy.
5. Vyberte tlačítko **OK**.

Vytvoření nezašifrované zálohy můžete potvrdit tím, že se vrátíte do nabídky Dashboard (Ovládací panel) softwaru VeriSeq NIPT Assay Software a zobrazíte tabulku Recent Activities (Nedávné aktivity). Úspěšné vytvoření nezašifrované zálohy by mělo být potvrzeno vytvořením nové aktivity.

## Konfigurace síťových hesel

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



### UPOZORNĚNÍ

Oprávnění změnit síťová hesla mají pouze servisní technici a správci.

Síťová hesla nakonfigurujte následujícím způsobem.

1. V ovládacím panelu vyberte ikonu Settings (Nastavení).
2. Vyberte možnost **Network Passwords** (Síťová hesla).
3. Do pole **Sequencer Password** (Heslo pro sekvenátor) zadejte heslo pro sekvenační přístroje.
4. Do pole **Confirm Password** (Potvrdit heslo) zadejte heslo znovu.



### UPOZORNĚNÍ

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

5. Vyberte možnost **Save Sequencer Password** (Uložit heslo pro sekvenátor).  
Server uloží heslo pro sekvenační přístroj. Aktualizujte všechny přístroje připojené k serveru, aby používaly toto heslo.
6. Do pole **Automation Password** (Heslo pro automatizaci) zadejte heslo pro systém VeriSeq NIPT Microlab STAR.



### UPOZORNĚNÍ

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

Heslo pro automatizaci systému ML STAR mohou aktualizovat pouze servisní technici společnosti Illumina. Před změnou hesla uloženého na serveru prostřednictvím webového rozhraní se ujistěte, že servisní technik společnosti Illumina navštívil vaše pracoviště a aktualizoval heslo systému ML STAR. Aktualizujete-li heslo ve webovém rozhraní serveru, aniž byste jej aktualizovali v systému ML STAR, nebude systém použitelný.

7. V poli **Confirm Password** (Potvrdit heslo) zadejte heslo pro ML STAR znovu.
8. Vyberte možnost **Save Automation Password** (Uložit heslo pro automatizaci).  
Server uloží heslo pro ML STAR. Aktualizujte všechny přístroje ML STAR, které jsou již připojeny k serveru, aby používaly toto heslo.

## Odhlášení

- V pravém horním rohu obrazovky vyberte ikonu profilu uživatele a pak vyberte možnost **Log Out** (Odhlásit).

# Analýza a vykazování

Po shromáždění dat sekvenování jsou tato data rozdělena, převedena do formátu FASTQ, uspořádána podle referenčního genomu a analyzována pro zjištění aneuploidie. V této části jsou popsány různé metriky, které jsou stanoveny pro daný vzorek.

## Demultiplexování a vytvoření FASTQ

Data sekvenování uložená ve formátu BCL jsou zpracována pomocí převodního softwaru bcl2fastq. Převodní software bcl2fastq demultiplexuje data a převádí soubory BCL na standardní formát FASTQ pro další analýzu. VeriSeq NIPT Assay Software vytváří pro každý běh sekvenování seznam vzorků (SampleSheet.csv). Tento soubor obsahuje informace o vzorcích poskytnutých do softwaru během přípravného zpracování vzorku (pomocí rozhraní API softwaru). Tyto seznamy vzorků obsahují hlavičku s informacemi o běhu a deskriptorech pro vzorky zpracované v konkrétní průtokové kytvě.

Následující tabulka nabízí podrobnosti o datech v seznamu vzorků.



### UPOZORNĚNÍ

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

Název sloupce	Popis
SampleID	Identifikace vzorku.
SampleName	Název vzorku. Výchozí nastavení: odpovídá SampleID.
Sample_Plate	Identifikace desky pro daný vzorek. Výchozí nastavení: prázdné.
Sample_Well	Identifikace jamky na desce pro daný vzorek.
I7_Index_ID (ID indexu i7)	Identifikace prvního indexového adaptéru.
index	Nukleotidová sekvence prvního adaptéru.
I5_Index_ID (ID indexu i5)	Identifikace druhého adaptéru.
index2	Nukleotidová sekvence druhého adaptéru.
Sample_Project	Identifikace projektu pro daný vzorek. Výchozí nastavení: prázdné.

Název sloupce	Popis
SexChromosomes	<p>Analýza náležející k pohlavním chromozomům. Jedna z následujících možností:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Yes</b> (Ano) – vyžaduje se aneuploidie pohlavního chromozomu a vykazování pohlaví.</li> <li>• <b>No</b> (Ne) – nevyžaduje se aneuploidie pohlavního chromozomu ani vykazování pohlaví.</li> <li>• <b>SCA</b> – vyžaduje se aneuploidie pohlavního chromozomu, nevyžaduje se vykazování pohlaví.</li> </ul>
SampleType	<p>Typ vzorku. Jedna z následujících možností:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Singleton</b> (Jedináček) – těhotenství z jednoho embrya.</li> <li>• <b>Twin</b> (Dvojče) – těhotenství ze dvou embryí.</li> <li>• <b>Control</b> (Kontrola) – kontrolní vzorek se známým pohlavím a klasifikací aneuploidie.</li> <li>• <b>NTC</b> – žádný kontrolní vzorek šablony (žádná DNA).</li> </ul>

## Kontrola kvality sekvenování

Metriky kontroly kvality sekvenování určují průtokové kyvety, které s vysokou pravděpodobností způsobí neúspěch analýzy. Hustota klastrů, procento čtení splňující filtr úspěšnosti (PF), předfázování a metriky fázování popisují obecnou kvalitu dat sekvenování a jsou společně mnoha aplikacím sekvenování nové generace. Metrika předpokládaných uspořádaných čtení odhaduje úroveň průtokové kyvety v hloubce sekvenování. Pokud data s nízkou kvalitou nedosáhnou metriky předpokládaných uspořádaných čtení, zpracování běhu se ukončí. Další informace naleznete v části [Metriky a meze kontroly kvality sekvenování na straně 46](#).

## Odhady fetální frakce

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

## Statistika použitá v závěrečném vyhodnocování

V případě všech chromozomů se data paired-end sekvenování uspořádají podle referenčního genomu (HG19). Jedinečná, neduplicitní uspořádaná čtení se agregují do 100kb košů. Odpovídající počty košů se upraví podle odchylky GC a podle dříve stanoveného genomického pokrytí v závislosti na oblasti.

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

Při použití takových počtů normalizovaných košů se statistická skóre odvozují pro každý autozom porovnáním oblastí pokrytí, které lze ovlivnit aneuploidií, se zbytkem autozomů. LLR (Log-Likelihood Ratio, věrohodnostní poměr) se vypočítá pro jednotlivé vzorky tak, že se zohlední tato skóre podle pokrytí a odhadovaná FF. LLR představuje pravděpodobnost ovlivnění vzorku na základě pozorovaného pokrytí a FF oproti pravděpodobnosti, že vzorek nebude ovlivněný na základě stejného pozorovaného pokrytí. Výpočet tohoto poměru zohledňuje také odhadovanou nepřesnost v FF. V následných výpočtech se použije přirozený logaritmus tohoto poměru. Assay Software posoudí LLR každého cílového chromozomu a každého vzorku, aby mohl zajistit určení aneuploidie.

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

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

## Kontrola kvality analýzy

Analytická metrika kontroly kvality je metrika, která je vypočítána během analýzy a používá se pro zjištění vzorků, které se příliš odchylují od očekávaného chování. Data pro vzorky, které neprojdou touto metrikou, jsou považována za nespolehlivá a označena jako chybná. Pokud vzorky vykáží výsledky mimo očekávaný rozsah této metriky, bude ve výkazu NIPT uveden důvod kontroly kvality jako varování nebo příčina chyby. Další informace o těchto důvodech kontroly kvality jsou uvedeny v [Hlášení důvodů kontroly kvality na straně 62](#).

## Kontrola kvality vzorků NTC

Software VeriSeq NIPT Solution umožňuje přidání vzorků NTC jako součást běhu. Zařízení ML STAR může vytvořit až 2 vzorky NTC na jeden běh pro dávky s 24 vzorky a dávky se 48 vzorky a až 4 vzorky NTC pro dávky s 96 vzorky. Bez ohledu na počet přidávaných vzorků NTC software kontroluje minimální

---

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



průměrný počet ve výši 4 milionů jedinečných namapovaných fragmentů na fond. Z tohoto důvodu nepřidávejte více než 2 vzorky NTC na fond. Další informace naleznete v části [Metriky a meze kontroly kvality sekvenování na straně 46](#).

Stavy kontroly kvality vzorků NTC jsou následující,

- **NTC sample processing** (Probíhá zpracování vzorků NTC) – při zpracování vzorků NTC software použije výsledek PASS QC (Úspěšná kontrola kvality), když je pokrytí vzorku nízké, jak se u NTC očekává.
- **Patient sample as NTC** (Vzorek pacienta jako NTC) – při zpracování vzorku pacienta označeného jako NTC je zjištěno velké pokrytí. Protože je vzorek označený jako NTC, software přiřadí ke stavu kontroly kvality vzorku příznak FAIL (Neúspěšné) s následujícím zdůvodněním: NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (Vzorek NTC s vysokým pokrytím).

## VeriSeq Onsite Server v2

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

### Místní disk

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

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

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

## Místní databáze

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

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

**POZNÁMKA** VeriSeq NIPT Assay Software v2 nabízí možnost šifrování zálohy databáze. Další informace naleznete v části [Konfigurace šifrování zálohy na straně 35](#).

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

## Archivace dat

Při archivaci vstupních a výstupních složek se řiďte svou místní politikou IT archivování na vašem pracovišti. VeriSeq NIPT Assay Software sleduje zbývající místo na disku ve vstupním adresáři a pošle uživatelům e-mailové oznámení, když zbývající kapacita úložiště klesne pod 1 TB.

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

Typický běh sekvenování, který je kompatibilní s analytickým pracovním postupem cfDNA, vyžaduje 25–30 GB pro běhy sekvenátoru nové generace. Skutečná velikost složky běhu závisí na konečné hustotě klastru.

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

## Připojení serverových jednotek

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

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

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

Jednotlivé složky připojte následujícím způsobem.

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

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

## Restartování serveru

**POZNÁMKA** Povolení k restartu serveru mají pouze servisní technici a správci.

Postup restartu serveru:

1. V rozevíracím seznamu **Settings** (Nastavení) vyberte možnost **Reboot Server** (Restartovat server).
2. Chcete-li systém restartovat, vyberte možnost **Reboot** (Restartovat). Chcete-li skončit bez restartu, vyberte **Cancel** (Zrušit).

3. Zadejte důvod vypnutí serveru.

Důvod se zaznamená pro potřeby řešení problémů.



### UPOZORNĚNÍ

Při restartování serveru by neměl být aktivní žádný běh sekvenování ani příprava vzorků. Mohlo by dojít ke ztrátě dat. Restart systému může trvat několik minut. Laboratorní činnost si naplánujte podle doby restartu.

## Vypnutí serveru

**POZNÁMKA** Povolení k vypnutí serveru mají pouze servisní technici a správci.

Postup vypnutí místního serveru Onsite Server:

1. V rozevíracím seznamu **Settings** (Nastavení) vyberte možnost **Shut Down Server** (Vypnout server).
2. Pokud chcete místní server vypnout, vyberte možnost **Shut Down** (Vypnout). Pokud chcete odejít bez vypnutí, vyberte možnost **Cancel** (Zrušit).
3. Zadejte důvod vypnutí místního serveru.  
Důvod se zaznamená pro potřeby řešení problémů.



### UPOZORNĚNÍ

Při vypnutí serveru by neměl být aktivní žádný běh sekvenování ani příprava vzorků. Mohlo by dojít ke ztrátě dat.

## Obnovení po nečekaném vypnutí

V případě výpadku napájení nebo nechtěného vypnutí uživatelem během analýzy systém postupuje následovně:

- Při opětovném spuštění automaticky restartuje VeriSeq NIPT Assay Software.
- Rozpozná, že běh analýzy se nezdařil, a znovu odešle analýzu do fronty ke zpracování.
- Po úspěšném dokončení analýzy vygeneruje výstup.

**POZNÁMKA** Pokud se analýza nezdaří, umožní VeriSeq NIPT Assay Software systému až třikrát znovu odeslat běh na analýzu.

## Poznámky k prostředí

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

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

Informace o likvidaci elektronických zařízení podle směrnice o odpadních elektrických a elektronických zařízeních (WEEE) jsou uvedeny na webových stránkách společnosti Illumina na adrese <https://support.illumina.com/weee-recycling.html>.

## Metriky kontroly kvality

### Metriky a meze kontroly kvality kvantitativního vyjádření

Metrika	Popis	Dolní mez	Horní mez	Důvod
standard_r_squared	Druhá mocnina hodnoty R v modelu standardní křivky.	0,980	Nepoužívá se	Modely standardní křivky zobrazující slabou linearitu v prostoru log-log nejsou dobrými indiciemi skutečných koncentrací vzorku.
standard_slope	Sklon modelu standardní křivky.	0,95	1,15	Modely standardní křivky se sklonem mimo očekávaná výkonnostní pásma označují nespolehlivý model.
ccn_library_pg_ul	Maximální přípustná koncentrace vzorku.	Nepoužívá se	1000 pg/μl	Vzorky s vypočítanými koncentracemi DNA, které překračují specifikace, označují nadměrnou kontaminaci genomické DNA.

Metrika	Popis	Dolní mez	Horní mez	Důvod
median_ccn_pg_ul	Mediánová vypočítaná hodnota koncentrace pro všechny vzorky v dávce.	16 pg/μl	Nepoužívá se	Fond sekvenování přiměřeného objemu nesmí mít nadměrný počet příliš nařaděných vzorků. Dávky s vysokým počtem nařaděných vzorků označují selhání procesu přípravného zpracování vzorků.

## Metriky a meze kontroly kvality sekvenování

Metrika	Popis	Dolní mez	Horní mez	Důvod
cluster_density	Hustota klastrů sekvenování.	152 000 na mm <sup>2</sup>	338 000 na mm <sup>2</sup>	Průtoková kyveta s nízkou hustotou klastrů nevytváří dostatek čtení. Průtokové kyvety s přílišným množstvím klastrů obvykle vytvářejí data sekvenování v nízké kvalitě.
pct_pf	Procento čtení procházející filtrem čistoty.	≥50 %	Nepoužívá se	Průtokové kyvety s mimořádně nízkým procentem PF mohou mít abnormální zastoupení bází a velmi pravděpodobně mohou označovat problém se čtením PF.
prephasing	Frakce předfázování.	Nepoužívá se	≤ 0,003	Empiricky optimalizovaná doporučení pro VeriSeq NIPT Solution v2.
phasing	Frakce fázování.	Nepoužívá se	≤ 0,004	Empiricky optimalizovaná doporučení pro VeriSeq NIPT Solution v2.

---

Metrika	Popis	Dolní mez	Horní mez	Důvod
predicted_ aligned_ reads	Odhadovaný průměrný počet jedinečně namapovaných fragmentů na vzorek.	≥ 4 000 000	Nepoužívá se	Stanoveno jako minimální pozorovaný NES v rámci běžné populace.

---



# Systemové výkazy

## Úvod

VeriSeq NIPT Assay Software vytváří následující kategorie výkazů:

- výkazy výsledků a oznámení,
- výkazy zpracování.

Výkaz může být informační nebo praktický.

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

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

## Výstupní soubory

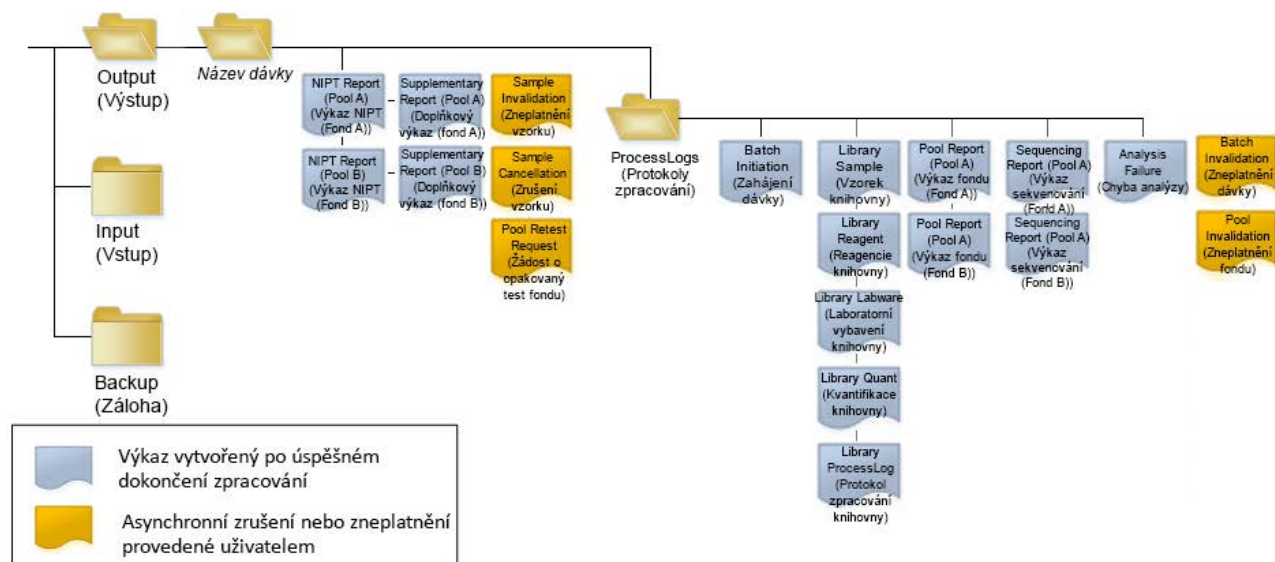
Výkazy softwaru VeriSeq NIPT Assay Software jsou vytvořeny na vnitřním pevném disku místního serveru, který je připojen k disku uživatele jako složka Output (Výstup) určená pouze ke čtení. Jednotlivé výkazy jsou vytvořeny s odpovídajícím standardním souborem kontrolního součtu MD5, který slouží k ověření,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

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

## Struktura souborů výkazů

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

Obrázek 4 Struktura složky výkazů softwaru VeriSeq NIPT Assay Software



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

- **Hlavní složka (složka Batch Name (Název dávky))**. Obsahuje výkazy s výsledky nebo souvisejícími e-mailovými oznámeními generovanými systémem LIMS. Další informace naleznete v části [Výkazy výsledků a oznámení na straně 55](#).
- **Složka ProcessLogs** (Protokoly zpracování) – obsahuje výkazy související se zpracováním. Další informace naleznete v části [Výkazy zpracování na straně 70](#).

Seznam všech výkazů je uveden v části [Přehled systémových výkazů na straně 50](#).

# Přehled systémových výkazů

Název výkazu	Typ výkazu	Entita výkazu	Formát souboru výkazu
<a href="#">NIPT Report (Výkaz NIPT) na straně 55</a>	Praktický	Fond, průtoková kyveta	<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_nipt_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<a href="#">Supplementary Report (Doplňkový výkaz) na straně 64</a>	Praktický	Fond, průtoková kyveta	<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_supplementary_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<a href="#">Sample Invalidation Report (Výkaz zneplatnění vzorku) na straně 69</a>	Praktický	Vzorek	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<a href="#">Sample Cancellation Report (Výkaz zrušení vzorku) na straně 70</a>	Praktický	Vzorek	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_cancellation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<a href="#">Pool Retest Request Report (Výkaz žádosti o opakovaný test fondu) na straně 70</a>	Praktický	Fond	<batch_name>_<pool_type>_pool_retest_request_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<a href="#">Batch Initiation Report (Výkaz zavedení dávky) na straně 71</a>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_batch_initiation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<a href="#">Batch Invalidation Report (Výkaz zneplatnění dávky) na straně 71</a>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_batch_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<a href="#">Library Sample Report (Výkaz vzorku knihovny) na straně 72</a>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_sample_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<a href="#">Library Reagent Report (Výkaz reagentie knihovny) na straně 73</a>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_reagent_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab

Název výkazu	Typ výkazu	Entita výkazu	Formát souboru výkazu
<a href="#">Library Labware Report (Výkaz laboratorního vybavení knihovny) na straně 74</a>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_labware_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<a href="#">Library Quant Report (Výkaz kvantifikace knihovny) na straně 75</a>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_quant_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<a href="#">Library Process Log (Protokol zpracování knihovny) na straně 75</a>	Informační	Dávka	ProcessLogs/<batch_name>_library_process_log.tab
<a href="#">Pool Report (Výkaz fondu) na straně 77</a>	Informační	Fond	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<a href="#">Pool Invalidation Report (Výkaz zneplatnění fondu) na straně 77</a>	Informační	Fond	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<a href="#">Sequencing Report (Výkaz sekvenování) na straně 78</a>	Informační	Fond, průtoková kyveta	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_sequencing_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<a href="#">Analysis Failure Report (Výkaz o nezdařené analýze) na straně 79</a>	Informační	Fond, průtoková kyveta	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_analysis_failure_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab

## Události vytváření výkazů

Výkaz	Popis	Událost vytváření
NIPT Report (Výkaz NIPT)	Obsahuje konečné výsledky úspěšného běhu analýzy.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analýza běhu sekvenování je dokončena.</li> </ul>
Supplementary Report (Doplňkový výkaz)	Obsahuje doplňkové výsledky úspěšného běhu analýzy.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Analýza běhu sekvenování a výkaz NIPT jsou dokončeny.</li> </ul>
Sample Invalidation (Zneplatnění vzorku)	Obsahuje informace o zneplatněném vzorku.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Uživatel zneplatní vzorek.</li> </ul>
Sample Cancellation (Zrušení vzorku)	Obsahuje informace o zrušeném vzorku.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Uživatel zruší vzorek.</li> </ul>
Pool Retest Request (Žádost o opakovaný test fondu)	Označuje, že z existující dávky lze vytvořit druhý fond. Obsahuje informace o stavu opakovaného testu fondu. <sup>1</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Uživatel zneplatní fond.</li> </ul>
Batch Initiation (Zahájení dávky)	Označuje začátek zpracování nové dávky.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Uživatel zahájí novou dávku.</li> </ul>
Batch Invalidation (Zneplatnění dávky)	Obsahuje informace o dávce zneplatněné uživatelem.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dávka je zneplatněna.</li> </ul>
Library Sample (Vzorek knihovny)	Zobrazí seznam všech vzorků v dávce.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dávka je zneplatněna.</li> <li>Metoda přípravy knihovny je dokončena.</li> <li>Kvantifikace dávky se nezdaří.</li> </ul>

Výkaz	Popis	Událost vytváření
Library Reagent (Reagencie knihovny)	Obsahuje informace o reagentii pro zpracování knihovny.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dávka je zneplatněna.</li> <li>Metoda přípravy knihovny je dokončena.</li> <li>Kvantifikace dávky se nezdaří.</li> </ul>
Library Labware (Laboratorní vybavení knihovny)	Obsahuje informace o laboratorním vybavení pro zpracování knihovny.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dávka je zneplatněna.</li> <li>Metoda přípravy knihovny je dokončena.</li> <li>Kvantifikace dávky se nezdaří.</li> </ul>
Library Quant (Kvantifikace knihovny)	Obsahuje informace o výsledcích testu kvantifikace knihovny.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dávka je zneplatněna.</li> <li>Metoda přípravy knihovny je dokončena.</li> <li>Kvantifikace dávky se nezdaří.</li> </ul>
Library Process Log (Protokol zpracování knihovny)	Obsahuje kroky prováděné během zpracování knihovny.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Dávka je zneplatněna.</li> <li>Metoda přípravy knihovny je dokončena.</li> <li>Kvantifikace dávky se nezdaří.</li> <li>Zpracování dávky je dokončeno.</li> </ul>
Pool (Fond)	Obsahuje objemy fondů vzorků.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Metoda fondu je dokončena.</li> </ul>
Pool Invalidation (Zneplatnění fondu)	Obsahuje informace o fondu zneplatněném uživatelem.	<ul style="list-style-type: none"> <li>Uživatel zneplatní fond.</li> </ul>

Výkaz	Popis	Událost vytváření
Sequencing (Sekvenování)	Obsahuje výsledky kontroly kvality sekvenování.	<ul style="list-style-type: none"><li>Kontrola kvality sekvenování proběhla úspěšně.</li><li>Kontrola kvality sekvenování se nezdařila.</li><li>Čas na sekvenování vypršel.</li></ul>
Analysis Failure (Chyba analýzy)	Obsahuje analytické informace pro neúspěšný fond.	<ul style="list-style-type: none"><li>Analýza běhu sekvenování se nezdařila.</li></ul>

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

# Výkazy výsledků a oznámení

## NIPT Report (Výkaz NIPT)

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

Sloupec	Popis	Možné přednastavené hodnoty	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	Nepoužívá se.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
sample_barcode	Jedinečný čárový kód vzorku.	Nepoužívá se.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
sample_type	Informace o typu vzorku poskytnuté z místa sběru nebo uživatelem laboratoře. Určuje klasifikaci aneuploidií, vykazování aneuploidií a kritéria kontroly kvality.	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Singleton</b> (Jedináček) – těhotenství z jednoho embrya.</li> <li>• <b>Twin</b> (Dvojče) – těhotenství ze dvou embryí.</li> <li>• <b>Control</b> (Kontrola) – kontrolní vzorek se známým pohlavím a klasifikací aneuploidie.</li> <li>• <b>NTC</b> – žádný kontrolní vzorek šablony (žádná DNA).</li> <li>• <b>Not Specified</b> (Neuvedeno) – Typ vzorku nebyl pro daný vzorek zadán.</li> </ul>	výčet	<i>Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty.</i>



Sloupec	Popis	Možné přednastavené hodnoty	Typ	Regulární výraz
sex_chrom	Je požadována analýza pohlavního chromozomu. Určuje, jakým způsobem jsou prezentovány informace o klasifikaci aneuploidie a pohlavních chromozomech.	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Yes</b> (Ano) – vyžaduje se aneuploidie pohlavního chromozomu a vykazování pohlaví.</li> <li>• <b>No</b> (Ne) – nevyžaduje se aneuploidie pohlavního chromozomu ani vykazování pohlaví.</li> <li>• <b>SCA</b> – vyžaduje se aneuploidie pohlavního chromozomu, nevyžaduje se vykazování pohlaví.</li> <li>• <b>Not Specified</b> (Neuvedeno) – Pro tento vzorek nebyla zadána možnost vykazování pohlavních chromozomů.</li> </ul> Výkaz NIPT uvádí hodnoty ano, ne a sca malými písmeny.	výčet	<i>Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty.</i>
screen_type	Typ vyšetření.	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Basic</b> (Základní) – vyšetření chromozomů 13, 18 nebo 21.</li> <li>• <b>Genomewide</b> (Celý genom) – vyšetření celého genomu.</li> <li>• <b>Not Specified</b> (Neuvedeno) – Typ vyšetření nebyl pro daný vzorek zadán.</li> </ul> Výkaz NIPT uvádí hodnoty basic (základní) a genomewide (celý genom) malými písmeny.	text	<i>Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty.</i>
flowcell	Čárový kód průtokové kyvety pro sekvenování.	Nepoužívá se.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>

Sloupec	Popis	Možné přednastavené hodnoty	Typ	Regulární výraz
class_sx	Klasifikace aneuploidie u pohlavního chromozomu.	<p>V závislosti na typu vzorku a možnostech vykazování pohlavních chromozomů je vybrána jedna z následujících možností:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ANOMALY DETECTED</b> (Zjištěna anomálie) – podrobnosti o anomálii naleznete v popisu anomálie.</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED</b> (Anomálie nezjištěna) – negativní vzorek a nevykázané pohlaví.</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED – XX</b> (Anomálie nezjištěna – XX) – negativní vzorek se ženským plodem.</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED – XY</b> (Anomálie nezjištěna – XY) – negativní vzorek s mužským plodem.</li> <li>• <b>NOT REPORTABLE</b> (Nelze vykázat) – software nedokázal vykázat pohlavní chromozom.</li> <li>• <b>NO CHR Y PRESENT</b> (Bez přítomnosti chromozomu Y) – těhotenství s dvojčaty bez zjištěného chromozomu Y.</li> <li>• <b>CHR Y PRESENT</b> (Chromozom Y přítomen) – těhotenství s dvojčaty se zjištěným chromozomem Y.</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (Zrušeno) – vzorek zrušen uživatelem.</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Zneplatněno) – vzorek neprošel kontrolou kvality nebo byl zneplatněn uživatelem.</li> <li>• <b>NOT TESTED</b> (Netestováno) – pohlavní chromozom nebyl testován.</li> <li>• <b>Not applicable</b> (Nepoužívá se) – Kategorie se na daný vzorek nevztahuje.</li> </ul>	class_sx	<i>Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty.</i>

Sloupec	Popis	Možné přednastavené hodnoty	Typ	Regulární výraz
class_auto	Klasifikace aneuploidií v autozomech. Vykazováno jako ANOMALY DETECTED (Zjištěna anomálie), pokud je ve vzorku zjištěna anomálie v rámci vybraného typu vyšetření.	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> <li><b>ANOMALY DETECTED</b> (Zjištěna anomálie) – zjištěna anomálie autozomálních chromozomů.</li> <li><b>NO ANOMALY DETECTED</b> (Anomálie nezjištěna) – nebyla zjištěna žádná autozomální anomálie.</li> <li><b>CANCELLED</b> (Zrušeno) – vzorek zrušen uživatelem.</li> <li><b>INVALIDATED</b> (Zneplatněno) – vzorek neprošel kontrolou kvality nebo byl zneplatněn uživatelem.</li> <li><b>Not applicable</b> (Nepoužívá se) – Kategorie se na daný vzorek nevztahuje.</li> </ul>	text	<i>Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty.</i>
anomaly_description	Řetězec podle názvosloví ISCN, který popisuje všechny vykazovatelné anomálie. Více anomálií je odděleno středníky.	Text <b>DETECTED</b> : (Zjištěno) následovaný řetězcí oddělenými středníky, které tvoří následující formáty, v respektováním pořadí chromozomů: (\+ -)[12]?[0-9] (del dup)\([12]?[0-9]\)\(((p q)[0-9]{1,2}\.[0-9]{1,2})?)\{2}\) XO XXX XXY XYY  nebo <b>NO ANOMALY DETECTED</b> (Anomálie nezjištěna)   <b>not applicable</b> (nepoužívá se)   <b>INVALIDATED</b> (Zneplatněno)   <b>CANCELLED</b> (Zrušeno).	text	<i>Řetězce oddělené středníky a další hodnoty, které jsou popsány v části <a href="#">Pravidla popisu anomálie na straně 61</a>.</i>

Sloupec	Popis	Možné přednastavené hodnoty	Typ	Regulární výraz
qc_flag	Výsledky analýzy kontroly kvality. Výsledky vykazují pouze tyto hodnoty qc_flag: WARNING (Varování) a PASS (Úspěšné). Ostatní hodnoty výsledky nevykazují.	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>PASS</b> (Úspěšné)</li> <li>• <b>WARNING</b> (Varování)</li> <li>• <b>FAIL</b> (Neúspěšné)</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (Zrušeno)</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Zneplatněno)</li> <li>• <b>NTC_PASS</b> (Úspěšný NTC)</li> </ul>	výčet	<i>Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty.</i>

Sloupec	Popis	Možné přednastavené hodnoty	Typ	Regulární výraz
qc_reason	Informace nebo varování o neúspěšné kontrole kvality.	Jedna z následujících možností: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>NONE</b> (Žádné) (stav kontroly kvality je PASS (Úspěšné))</li> <li>• <b>MULTIPLE ANOMALIES DETECTED</b> (Zjištěno několik anomálií) (stav kontroly kvality je WARNING (Varování))</li> <li>• <b>FAILED iFACT</b> (Neúspěšný test iFACT)</li> <li>• <b>DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE</b> (Data mimo očekávaný rozsah)</li> <li>• <b>FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE</b> (Rozdělení velikosti fragmentů mimo očekávaný rozsah)</li> <li>• <b>FLOWCELL DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE</b> (Data průtokové kyvety mimo očekávaný rozsah)</li> <li>• <b>FAILED TO ESTIMATE FETAL FRACTION</b> (Neúspěšný odhad fetální frakce)</li> <li>• <b>SEQUENCING DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE</b> (Data sekvenování mimo očekávaný rozsah)</li> <li>• <b>UNEXPECTED DATA</b> (Neočekávaná data)</li> <li>• <b>NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE</b> (Vzorek NTC s vysokým pokrytím)</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (Zrušeno)</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Zneplatněno)</li> </ul>	text	<i>Hodnoty uvedené ve sloupci Možné přednastavené hodnoty.</i>
ff	Odhadovaná hodnota fetální frakce.	Procentuální hodnota cfDNA vzorku z plodu zaokrouhlená na nejbližší celé číslo. Výsledky nižší než 1 % jsou uvedeny jako < 1 %.	text	<i>Není k dispozici.</i>

## Pravidla popisu anomálie

Jestliže analýza prováděná softwarem VeriSeq NIPT Assay Software v2 zjistí anomálii, zobrazí se v poli anomaly\_description (popis anomálie) ve výkazu NIPT hodnota DETECTED (Zjištěno), po níž následuje textový řetězec. Tento text popisuje všechny anomálie, které lze ve výkazu uvést, v souladu se stylem názvosloví komise ISCN (mezinárodní systém cytogenetické nomenklatury, International Standing Committee on Cytogenetic Nomenclature). Řetězec obsahuje několik prvků oddělených středníky. Každý prvek představuje trisomii nebo monosomii v autozomu, aneuploidii pohlavních chromozomů nebo částečnou delecí či duplikací.

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

Například vzorek s trisomií na chromozomu 5 je uveden takto:

+5

Vzorek s monosomií na chromozomu 6 je uveden takto:

-6

Aneuploidie pohlavních chromozomů využívají standardní označení s následujícími možnými hodnotami:

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

Částečné delece nebo duplikace se uvádějí pouze u autozomů a pouze u vyšetření celého genomu.

Syntaxe částečné delece nebo duplikace je <type>(<chr>)(<start band><end band>), kde platí následující:

- <type> je typ události, tj. „del“ v případě delece nebo „dup“ v případě duplikace.
- <chr> je číslo chromozomu.
- <start band> je cytogenetický pruh obsahující počátek události.
- <end band> je cytogenetický pruh obsahující konec události.

Například částečná delece nebo duplikace, v níž má cytogenetický pruh duplikací na raménku p13 na chromozomu 19, je uvedena takto:

dup(19)(p13.3,p13.2)

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

1. Prvky jsou seřazeny podle čísla chromozomu bez ohledu na to, zda se delece nebo duplikace týká celého chromozomu, nebo je jen částečná. Případná aneuploidie pohlavních chromozomů se uvádí jako poslední.
2. U anomálií v rámci stejného chromozomu jsou aneuploidie celých chromozomů uvedeny před částečnými delecemi nebo duplikacemi.
3. V případě částečných delecí nebo duplikací v rámci stejného chromozomu jsou delece uvedeny před duplikacemi.

4. Částečné delece nebo duplikace stejného typu v rámci stejného chromozomu jsou seřazeny podle počáteční báze, která je uvedena v doplňkovém výkazu.

**POZNÁMKA** U celogenomového vyšetření může software vykazovat aneuploidii a částečnou delecii nebo duplikaci jako postižení stejného chromozomu. Pokud k tomuto výsledku dojde, vyhledejte v doplňkovém výkazu další metriky, které vám pomohou při jeho interpretaci.

## Hlášení důvodů kontroly kvality

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

Hlášení důvodů kontroly kvality	Popis	Doporučený postup
FAILED iFACT (Neúspěšný test iFACT)	Individualizovaný test iFACT (individual Fetal Aneuploidy Confidence Test) – metrika kontroly kvality, která kombinuje odhadnutou fetální frakci s metrikami běhu souvisejícími s pokrytím. Výsledkem je určení, zda má systém statistickou spolehlivost učinit rozhodnutí o určitém vzorku.	Zpracujte vzorek znovu.
DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Data mimo očekávaný rozsah)	Průměrná odchylka od euploidního pokrytí není v souladu s rozdělením naučených dat. Může to být způsobeno kontaminací nebo nesprávným zpracováním vzorku.	Zpracujte vzorek znovu.
FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Rozdělení velikosti fragmentů mimo očekávaný rozsah)	Rozdělení velikosti fragmentů není v souladu s rozdělením naučených dat. Může to být způsobeno kontaminací nebo nesprávným zpracováním vzorku.	Zpracujte vzorek znovu.

Hlášení důvodů kontroly kvality	Popis	Doporučený postup
FLOWCELL DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Data průtokové kyvety mimo očekávaný rozsah)	Data průtokové kyvety nejsou v souladu s rozdělením naučených dat. Může to být způsobeno chybou v nastavení průtokové kyvety.	Zpracujte vzorek znovu.
FAILED TO ESTIMATE FETAL FRACTION (Neúspěšný odhad fetální frakce)	Nelze vytvořit platný odhad fetální frakce.	Zpracujte vzorek znovu.
SEQUENCING DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Data sekvenování mimo očekávaný rozsah)	Vstupní data sekvenování nejsou v souladu s rozdělením naučených dat. Může to být způsobeno kontaminací nebo nesprávným zpracováním vzorku.	Zopakujte sekvenování průtokové kyvety.
UNEXPECTED DATA (Neočekávaná data)	Výkaz uvádí problém s kontrolou kvality, který neodpovídá žádnému jinému důvodu kontroly kvality uvedenému v této tabulce.	Obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina.
MULTIPLE ANOMALIES DETECTED (Zjištěno několik anomálií)	Ve vzorku byly zjištěny dvě nebo více vykazovaných anomálií (včetně aneuploidií celého chromozomu a CNV). Detekce vícečetných anomálií může poukazovat na nesprávné zacházení se vzorkem nebo na vzácnější událost, jako je malignita matky. Toto hlášení představuje varování. Nejedná se o chybu kontroly kvality. Výsledky se vykazují, abyste viděli zjištěné anomálie. Možná ovšem budete muset vzorek znovu zpracovat.	Zpracujte vzorek znovu.
NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (Vzorek NTC s vysokým pokrytím)	Pro vzorek NTC bylo zjištěno vysoké pokrytí (nebyl očekáván žádný materiál DNA). Může to být způsobeno kontaminací nebo nesprávným zpracováním vzorku.	Zpracujte vzorek znovu.
CANCELLED (Zrušeno)	Vzorek byl zrušen uživatelem.	Nepoužívá se.



Hlášení důvodů kontroly kvality	Popis	Doporučený postup
INVALIDATED (Zneplatněno)	Vzorek byl zneplatněn uživatelem.	Nepoužívá se.

## Supplementary Report (Doplňkový výkaz)

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

Soubor má šest sloupců oddělených tabulátory, jak je popsáno v následující tabulce.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
flowcell	Čárový kód průtokové kyvety.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
batch_name	Název příslušné dávky.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
sample_barcode	Čárový kód vzorku.	text	Stav NA (not applicable, nepoužívá se) pro metriky vztažené na dávku. <code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
region	Buď oblast celého chromozomu, nebo popis oblasti částečné delece nebo duplikace.	text	Stav NA (not applicable, nepoužívá se) pro metriky vztažené na dávku nebo na vzorek. chr[12]?[0-9X] – pro metriky oblasti celého chromozomu. (del dup)\([12]?[0-9X]\)\(((p q)[0-9]{1,2}(\.[0-9]{1,2})?)\{2}\) – pro metriky oblasti částečné delece nebo duplikace.
metric_name	Název popsané metriky.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
metric_value	Hodnota metriky.	různé typy	<i>Další informace naleznete v části <a href="#">Metriky doplňkového výkazu na straně 64.</a></i>

### Metriky doplňkového výkazu

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

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

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

Název metriky	Frekvence	Popis	Typ	Regulární výraz nebo rozsah hodnot
genome_assembly	Podle dávky	Systém souřadnic pro uspořádání dat sekvenování a souřadnic oblasti výkazu. V případě verze VeriSeq NIPT Solution v2 je vždy GRCh37.	text	^GRCh37\$
frag_size_dist	Podle vzorku	Směrodatná odchylka rozdílů mezi skutečným a očekávaným kumulativním rozdělením velikosti fragmentů.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(0, Inf)
fetal_fraction	Podle vzorku	Vykazovaná hodnota fetální frakce.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(0, 1)
NCV_X	Podle vzorku	Normalizovaná hodnota chromozomu X. Uvádí se pouze tehdy, pokud to povoluje zvolená možnost vykazování pohlavních chromozomů. Jinak se tato metrika zobrazuje v podobě NOT TESTED (Netestováno).	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(-Inf, Inf)
NCV_Y	Podle vzorku	Normalizovaná hodnota chromozomu Y. Uvádí se pouze tehdy, pokud to povoluje zvolená možnost vykazování pohlavních chromozomů. Jinak se tato metrika zobrazuje v podobě NOT TESTED (Netestováno).	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(-Inf, Inf)
number_of_cnv_events	Podle vzorku	Počet oblastí částečné delece nebo duplikace zjištěných ve vzorku.	celé číslo	(0, Inf)
non_excluded_sites	Podle vzorku	Počet čtení zbylých po filtrování, které jsou započteny k analýze.	celé číslo	(0, Inf)

Název metriky	Frekvence	Popis	Typ	Regulární výraz nebo rozsah hodnot
region_classification	Podle oblasti	Klasifikace oblasti systémem ve stejném formátu jako pole anomaly_description (popis anomálie) ve výkazu NIPT. Jestliže u chromozomu X nebyla zjištěna žádná vykazovaná anomálie pohlavního chromozomu, bude klasifikace oblasti odpovídat hodnotě class_sx ve výkazu NIPT. Možné hodnoty (regulární výraz): DETECTED (Zjištěno): (\+ -)[12]?[0-9] DETECTED (Zjištěno): (del dup)\([12]?[0-9]\)\(((p q)[0-9]{1,2}(\.[0-9]{1,2})?)?{2})\) NO ANOMALY DETECTED (Anomálie nezjištěna) DETECTED (Zjištěno): (XO XXX XXY XYY) NO ANOMALY DETECTED (Anomálie nezjištěna) – XX NO ANOMALY DETECTED (Anomálie nezjištěna) – XY NOT REPORTABLE (Nevykazovatelné) CHR Y PRESENT (Chromozom Y přítomen) CHR Y NOT PRESENT (Chromozom Y nepřítomen)	text	Hodnoty uvedené v popisu.
chromosome	Podle oblasti	Symbol chromozomu.	text	chr[12]?[0-9X]
start_base	Podle oblasti	První báze zahrnutá v oblasti.	celé číslo	[1, Inf)
end_base	Podle oblasti	Poslední báze zahrnutá v oblasti.	celé číslo	[1, Inf)
start_cytoband	Podle oblasti	Cytogenetický pruh první báze zahrnuté v oblasti.	text	(p q)[0-9]{1,2}(\.[0-9]{1,2})?
end_cytoband	Podle oblasti	Cytogenetický pruh poslední báze zahrnuté v oblasti.	text	(p q)[0-9]{1,2}(\.[0-9]{1,2})?

Název metriky	Frekvence	Popis	Typ	Regulární výraz nebo rozsah hodnot
region_size_mb	Podle oblasti	Velikost oblasti v megabázích.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(0, Inf)
region_llr_trisomy	Podle oblasti	Skóre LLR (Log-Likelihood Ratio, věrohodnostní poměr) pro trisomii v oblasti. Označuje důkaz přítomnosti trisomie v porovnání s důkazem žádné změny (disomie). Trisomie je vykázána v případě, že skóre LLR překročí předem určený práh. V případě částečných delecí nebo duplikací je tato metrika uvedena pouze tehdy, pokud typ odpovídá genetickému zisku (duplikace). V opačném případě se tato metrika uvádí jako NA (not applicable, nepoužívá se).	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(-Inf, Inf)
region_llr_monosomy	Podle oblasti	Skóre LLR pro monosomii v oblasti. Označuje důkaz přítomnosti monosomie v porovnání s důkazem žádné změny (disomie). Monosomie je vykázána v případě, že skóre LLR překročí předem určený práh. V případě částečných delecí nebo duplikací je tato metrika uvedena pouze tehdy, pokud typ odpovídá genetické ztrátě (delece). V opačném případě se tato metrika uvádí jako NA (not applicable, nepoužívá se). Pokud se rozhodnete pro provedení základního vyšetření, zobrazí se tato metrika jako NOT TESTED (Netestováno).	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(-Inf, Inf)

Název metriky	Frekvence	Popis	Typ	Regulární výraz nebo rozsah hodnot
region_t_stat_long_reads	Podle oblasti	T-statistika oblasti. T-statistika je rozdíl v pokrytí mezi oblastí a zbytkem genomu v porovnání s odchylkou ve vzorku. Tato metrika určuje poměr signálu k šumu a vyjadřuje zjistitelnost případného posunu v pokrytí oblasti. Stav „long_reads“ (dlouhá čtení) značí, že pokrytí použité pro tuto t-statistiku zahrnuje celý rozsah velikostí fragmentu použitý v analýze. Při generování skóre LLR je t-statistika zkombinována s odhadnutou hodnotou fetální frakce vzorku.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(-Inf, Inf)
region_mosaic_ratio	Podle oblasti	Podíl materiálu plodu, který je aneuploidní. Tato metrika je založena na poměru mezi fetální frakcí odvozenou z pokrytí oblasti a fetální frakcí vzorku. Ve vzorcích s téměř nulovými fetálními frakcemi mohou mít poměry mozaiky záporné hodnoty v důsledku proměnlivého odhadu fetální frakce vzorku použitého v jejich výpočtu.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(-Inf, Inf)
region_mosaic_llr_trisomy	Podle oblasti	Skóre LLR pro trisomii vypočtené pomocí fetální frakce odvozené z pokrytí v oblasti namísto z fetální frakce vzorku. V případě částečných delecí nebo duplikací je tato metrika uvedena pouze tehdy, pokud typ odpovídá genetickému zisku (duplikace). V opačném případě se tato metrika uvádí jako NA (not applicable, nepoužívá se).	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(-Inf, Inf)

Název metriky	Frekvence	Popis	Typ	Regulární výraz nebo rozsah hodnot
region_mosaic_llr_monosomy	Podle oblasti	Skóre LLR pro monosomii vypočtené pomocí fetální frakce odvozené z pokrytí v oblasti namísto z fetální frakce vzorku. V případě částečných delecí nebo duplikací je tato metrika uvedena pouze tehdy, pokud typ odpovídá genetické ztrátě (delece). V opačném případě se tato metrika uvádí jako NA (not applicable, nepoužívá se). Pokud se rozhodnete pro provedení základního vyšetření, zobrazí se tato metrika jako NOT TESTED (Netestováno).	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	(-Inf, Inf)

## Sample Invalidation Report (Výkaz zneplatnění vzorku)

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

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

## Sample Cancellation Report (Výkaz zrušení vzorku)

Pro každý zrušený vzorek systém vytvoří Sample Cancellation Report (Výkaz zrušení vzorku).

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

## Pool Retest Request Report (Výkaz žádosti o opakovaný test fondu)

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

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_type	Typ fondu.	výčet	A   B   C   E
reason	Uživatelé zadaný důvod zneplatnění předchozího fondu.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Datum a čas žádosti.	Časový údaj podle normy ISO 8601	

## Výkazy zpracování

Tato část obsahuje podrobnosti o výkazech zpracování generovaných softwarem VeriSeq NIPT Assay Software.

## Batch Initiation Report (Výkaz zavedení dávky)

Systém vytvoří výkaz zavedení dávky, když dojde k úspěšnému zavedení a ověření dávky před izolací plazmy. Výkaz je možno odeslat do systému LIMS, čímž se označí vytvoření dávky a zpřístupní se seznam přidružených vzorků.

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Jedinečný čárový kód vzorku.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_type	Typ vzorku čárového kódu vzorku.	výčet	singleton (jedináček)   control (kontrola)   twin (dvojče)   NTC
well	Jamka přidružená ke vzorku.	text	^[a-zA-Z]{1,1}[0-9]{1,2}\$
assay	Název rozboru.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$
method_version	Verze metody automatizace rozboru.	text	VeriSeq NIPT v2 Assay (Rozbor VeriSeq NIPT v2)
workflow_manager_version	Verze správce pracovního postupu přidruženého k dávce.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$

## Batch Invalidation Report (Výkaz zneplatnění dávky)

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

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



## Library Sample Report (Výkaz vzorku knihovny)

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

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Jedinečný čárový kód vzorku.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
qc_status	Stav vzorku po dokončení kroků rozboru.	výčet	pass (úspěšné)   fail (neúspěšné)
qc_reason	Důvod stavu kontroly kvality.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
starting_volume	Počáteční objem (ml) v odběrové zkumavce s krví v čase izolace plazmy.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
index	Index přidružený ke vzorku.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
ccn_library_pg_ul	Koncentrace knihovny v pg/μl.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
plasma_isolation_comments	Připomínky uživatele ke provedení izolace plazmy (volný text).	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$
cfdna_extraction_comments	Připomínky uživatele k provedení extrakce cfDNA (volný text).	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$
library_prep_comments	Připomínky uživatele k provedení přípravy knihovny (volný text).	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$
quantitation_comments	Připomínky uživatele k provedení kvantifikace (volný text).	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$

## Library Reagent Report (Výkaz reagentie knihovny)

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

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
process	Název procesu ve formátu PROCES:dílčí-proces. Možné hodnoty: <ul style="list-style-type: none"> <li><b>ISOLATION</b> (Izolace) – batch_validation, prespin, postspin, data_transact.</li> <li><b>EXTRACTION</b> (Extrakce) – setup, chemistry, data_transact.</li> <li><b>LIBRARY</b> (Knihovna) – setup, chemistry, data_transact, complete.</li> <li><b>QUANT</b> (Kvantifikace) – setup, build_standards, build_384, analysis, data_transact.</li> <li><b>POOLING</b> (Vkládání do fondu) – analysis, setup, pooling, data_transact, complete.</li> </ul>	text	^[A-Z]{1,36}: [a-z0-9_]{1,36}\$
reagent_name	Název reagentie.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
lot	Čárový kód reagentie.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
expiration_date	Datum konce použitelnosti ve formátu výrobce.	text	^[a-zA-Z0-9:/_]{1,100}\$
operator	Uživatelské jméno obsluhy.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
initiated	Časový údaj zahájení přidružený k reagentii.	Časový údaj podle normy ISO 8601	

## Library Labware Report (Výkaz laboratorního vybavení knihovny)

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

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

## Library Quant Report (Výkaz kvantifikace knihovny)

Systém vytvoří výkaz kvantifikace knihovny při úspěšném dokončení kvantifikace.

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

## Library Process Log (Protokol zpracování knihovny)

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

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
process	Název dávkového zpracování ve formátu ZPRACOVÁNÍ:dílčí zpracování. Možné hodnoty: <b>ISOLATION</b> (Izolace) – batch_validation, prespin, postspin, data_transact. <b>EXTRACTION</b> (Extrakce) – setup, chemistry, data_transact. <b>LIBRARY</b> (Knihovna) – setup, chemistry, data_transact, complete. <b>QUANT</b> (Kvantifikace) – setup, build_standards, build_384, analysis, data_transact. <b>POOLING</b> (Vkládání do fondu) – analysis, setup, pooling, data_transact, complete.	text	^[A-Z]{1,36}:[a-z0-9_]{1,36}\$
operator	Iniciály obsluhy.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
instrument	Název přístroje.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
started	Datum a čas zahájení zpracování dávky.	Časový údaj podle normy ISO 8601	
finished	Datum a čas úspěšného nebo neúspěšného dokončení zpracování dávky.	Časový údaj podle normy ISO 8601	
status	Aktuální dávka	výčet	completed (dokončeno)   failed (neúspěšné)   started (zahájeno)   aborted (přerušeno)

## Pool Report (Výkaz fondu)

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

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
sample_barcode	Jedinečný čárový kód vzorku.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
pool_barcode	Čárový kód fondu přidružený ke vzorku.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
pool_type	Typ fondu přidružený ke vzorku.	výčet	<code>A   B   C   E</code>
pooling_volume_ul	Objem ve fondu v mikrolitrech.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
pooling_comments	Připomínky uživatele ke vkládání do fondu (volný text).	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$</code>

## Pool Invalidation Report (Výkaz zneplatnění fondu)

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

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
pool_barcode	Čárový kód zneplatněného fondu.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
reason	Důvod pro zneplatnění fondu zadaný uživatelem.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
operator	Iniciály osoby, která provedla zneplatnění fondu.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
timestamp	Datum a čas zneplatnění fondu.	Časový údaj podle normy ISO 8601	

## Sequencing Report (Výkaz sekvenování)

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

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
pool_barcode	Čárový kód fondu přidružený k běhu sekvenování.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
instrument	Výrobní číslo sekvenátoru.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
flowcell	Průtoková kyveta přidružená k běhu sekvenování.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
software_version	Řetězec označující softwarovou aplikaci a její verzi, která slouží ke generování dat sekvenátorem.	text	
run_folder	Název složky běhu sekvenování.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]+\$</code>
sequencing_status	Stav běhu sekvenování.	výčet	completed (dokončeno)   timed out (vypršel časový limit)   failed (neúspěšné)
qc_status	Stav kontroly kvality daného běhu sekvenování.	výčet	pass (úspěšné)   fail (neúspěšné)   error (chyba)
qc_reason	Důvody neúspěchu při kontrole kvality, hodnoty oddělené středníkem.	text	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
cluster_density	Hustota klastrů (medián na průtokovou kyvetu v dlaždicích).	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
pct_q30	Procento bází nad Q30.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
pct_pf	Procento čtení procházející filtrem.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
phasing	Fázování.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
prephasing	Předfázování.	číslo s plovoucí desetinnou čárkou	
predicted_aligned_reads	Předpokládaná uspořádaná čtení.	dlouhé celé číslo	
started	Časový údaj označující zahájení sekvenování.	Časový údaj podle normy ISO 8601	
completed	Časový údaj označující dokončení sekvenování.	Časový údaj podle normy ISO 8601	

## Analysis Failure Report (Výkaz o nezdařené analýze)

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

Sloupec	Popis	Typ	Regulární výraz
batch_name	Název dávky.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode	Čárový kód spojený s nezdařenou analýzou.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
flowcell	Čárový kód průtokové kyvety spojený s nezdařenou analýzou.	text	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sequencing_run_folder	Složka běhu sekvenování spojeného s nezdařenou analýzou.	text	^[a-zA-Z0-9_]+\$
analysis_run_status	Stav běhu sekvenování spojeného s nezdařenou analýzou.	text	^[a-zA-Z0-9_]+\$
timestarted	Časové razítko přidružené k zahájení analýzy.	Časový údaj podle normy ISO 8601	
timefinished	Časové razítko přidružené k nezdařené analýze.	Časový údaj podle normy ISO 8601	



# Řešení problémů

## Úvod

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

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

## Oznámení Assay Software

Tato část popisuje oznámení softwaru VeriSeq NIPT Assay Software.

### Oznámení o průběhu

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

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučený postup
Batch Initiation (Zahájení dávky)	Příprava knihovny	Uživatel vytvořil novou dávku.	Aktivita	Ano	Nepoužívá se.
Batch Library Complete (Knihovna pro dávku je dokončena)	Příprava knihovny	Knihovna byla pro aktuální dávku dokončena.	Aktivita	Ne	Nepoužívá se.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučený postup
Pool Complete (Fond je dokončen)	Příprava knihovny	Fond byl vytvořen z dávky.	Aktivita	Ne	Nepoužívá se.
Sequencing Started (sekvenování bylo zahájeno)	Sekvenování	Systém zjistil novou složku dat ze sekvenování.	Aktivita	Ne	Nepoužívá se.
Sequencing QC passed (Kontrola kvality sekvenování proběhla úspěšně)	Sekvenování	Běh sekvenování byl dokončen a kontrola kvality sekvenování proběhla úspěšně.	Aktivita	Ne	Nepoužívá se.
Sequencing Run Associated With Pool (Běh sekvenování přiřazený k fondu)	Sekvenování	Běh sekvenování byl úspěšně přiřazen ke známému fondu.	Aktivita	Ne	Nepoužívá se.
Analysis Started (Analýza byla zahájena)	Analýza	Analýza zadaného běhu sekvenování byla zahájena.	Aktivita	Ano	Nepoužívá se.
Analysis Completed NIPT Report Generated (Analýza byla dokončena, byl vytvořen výkaz NIPT)	Následné zpracování analýzy	Analýza byla dokončena a byly vytvořeny výkazy.	Aktivita	Ano	Nepoužívá se.

## Oznámení o zneplatnění

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

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

## Oznámení opravitelných chyb

Opravitelné chyby jsou chybové stavy, ze kterých se může software VeriSeq NIPT Assay Software zotavit, pokud uživatel provede doporučenou akci. Pokud problém není odstraněn, obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučený postup
Missing Instrument Path (Není zadána cesta k nástroji)	Sekvenování	Systém nemůže nalézt externí složku sekvenování nebo se k ní nemůže připojit.	Výstraha	Ano	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Další informace naleznete v části <a href="#">Postupy k doporučeným akcím na straně 93</a></li> <li>Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ul>
Insufficient Disk Space for Sequencing (Nedostatek místa na disku pro sekvenování)	Sekvenování	Systém našel novou složku s daty sekvenování, avšak vyhodnotil, že na disku není pro tato data dost místa.	Výstraha	Ano	<ol style="list-style-type: none"> <li>Zkontrolujte volné místo na disku. Další informace naleznete v části <a href="#">Postupy k doporučeným akcím na straně 93</a>.</li> <li>Uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat. Další informace naleznete v části <a href="#">Postupy k doporučeným akcím na straně 93</a>.</li> </ol>

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučený postup
Sequencing Run Invalid Folder (Neplatná složka běhu sekvenování)	Sekvenování	Ve složce běhu sekvenování jsou neplatné znaky.	Varování	Ano	Složka běhu sekvenování byla nesprávně přejmenována. Přejmenujte běh na platný název.
Sequencing Started but Pool Barcode File Missing (Sekvenování bylo zahájeno, ale chybí soubor s čárovým kódem fondu)	Sekvenování	Software nenalezl soubor obsahující čárový kód fondu do 30 minut od zahájení sekvenování.	Varování	Ano	Možné selhání přístroje nebo NAS. Zkontrolujte konfiguraci přístroje a síťové připojení. Systém bude hledat soubor s čárovým kódem fondu, dokud sekvenování neskončí.
Cannot Verify Sequencing Run Completion (Nelze ověřit dokončení běhu sekvenování)	Sekvenování	Software nemůže přečíst soubor stavu dokončení běhu ve složce sekvenování.	Varování	Ano	Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.
Missing Sample Attributes (Chybějící atributy vzorku)	Předběžná analýza	Software u některých vzorků nenalezl určení typu vzorku, možnosti pohlavního chromozomu nebo typu vyšetření.	Upozornění	Ano	Pro daný vzorek nebyl poskytnut jeden atribut nebo více atributů vzorku. Zadejte chybějící atributy vzorku do aplikace Workflow Manager, nebo vzorek zneplatněte, aby software mohl pokračovat ve zpracování.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučený postup
Sample Sheet Generation failed (Vytvoření seznamu vzorků se nezdařilo)	Předběžná analýza	Softwaru se nepodařilo vytvořit seznam vzorků.	Výstraha	Ano	<ul style="list-style-type: none"> <li>Zkontrolujte volné místo na disku. Další informace naleznete v části <a href="#">Postupy k doporučeným akcím na straně 93</a>. Pokud je málo místa, uvolněte místo na disku nebo zazálohujte data. Další informace naleznete v části <a href="#">Postupy k doporučeným akcím na straně 93</a>.</li> <li>Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Další informace naleznete v části <a href="#">Postupy k doporučeným akcím na straně 93</a>.</li> <li>Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ul>

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučený postup
Unable to check disk space (Nelze zkontrolovat místo na disku)	Předběžná analýza	Softwaru se nepodařilo zkontrolovat místo na disku.	Výstraha	Ano	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Další informace naleznete v části <a href="#">Postupy k doporučeným akcím na straně 93</a> ID akce <a href="#">2 na straně 93</a>.</li> <li>Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ul>
Insufficient Disk Space for Analysis (Nedostatek místa na disku pro analýzu)	Předběžná analýza	Software zjistil, že na disku není dost místa pro spuštění nového běhu analýzy.	Výstraha	Ano	Uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat. Další informace naleznete v části <a href="#">Postupy k doporučeným akcím na straně 93</a> ID akce <a href="#">3 na straně 94</a> .
Unable to launch Analysis Pipeline (Nelze spustit plán analýzy)	Předběžná analýza	Softwaru se nepodařilo spustit běh analýzy pro danou složku sekvenování.	Výstraha	Ano	Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučený postup
Sequencing folder Read/Write permission failed (Nepodařilo se získat povolení pro čtení/zápis ve složce sekvenování)	Předběžná analýza	Softwarový test, který kontroluje povolení pro čtení/zápis ve složce běhu sekvenování, byl neúspěšný.	Varování	Ano	<ul style="list-style-type: none"> <li>Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Další informace naleznete v části <a href="#">Postupy k doporučeným akcím na straně 93</a>.</li> <li>Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ul>
Analysis Failed - Retry (Analýza se nezdařila – opakujte)	Analýza	Analýza se nezdařila. Akce bude zopakována.	Upozornění	Ano	Žádná
Results Already Reported (Výsledky již byly hlášeny)	System	Software zjistil, že pro aktuální typ fondu již byl vytvořen výkaz NIPT.	Aktivita	Ano	Žádná



Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučený postup
Unable to deliver email notifications (E-mailová oznámení nelze doručit)	Systém	Systém nemůže doručit e-mailová oznámení.	Varování	Nepoužívá se	<ol style="list-style-type: none"> <li>Pro účely ověření zkontrolujte konfiguraci e-mailu definovanou v systému. Další informace naleznete v části <a href="#">Konfigurace e-mailových oznámení systému na straně 34</a>.</li> <li>Odešlete zkušební e-mail. Další informace naleznete v části <a href="#">Konfigurace e-mailových oznámení systému na straně 34</a>.</li> <li>Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ol>
Time Skew Detected (Byla zjištěna časová odchylka)	Příprava knihovny	Software zjistil časovou odchylku více než 1 minutu mezi časovou známkou poskytnutou aplikací Workflow Manager a místním časem serveru.	Varování	Ne	<ol style="list-style-type: none"> <li>Zkontrolujte místní čas v počítači se softwarem Workflow Manager.</li> <li>Zkontrolujte místní čas místního serveru uvedený ve webovém uživatelském rozhraní (karta Server Status (Stav serveru)).</li> </ol>

## Oznámení neopravitelných chyb

Neopravitelné chyby znamenají situace, kdy bylo dosaženo konečného stavu, kde již není možné provést žádnou akci, která by zajistila pokračování rozboru.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučený postup
Batch Failure (Chyba dávky)	Příprava knihovny	Kontrola kvality dávky se nezdařila.	Upozornění	Ano	Restartujte nanášení knihovny.
Report Generating Failure (Chyba při vytváření výkazu)	Vykazování	Systému se nezdařilo vytvořit výkaz.	Výstraha	Ano	<ul style="list-style-type: none"> <li>Zkontrolujte volné místo na disku. Další informace naleznete v části <a href="#">Postupy k doporučeným akcím na straně 93</a>. Pokud je málo místa, uvolněte místo na disku nebo zazálohujte data. Další informace naleznete v části <a href="#">Postupy k doporučeným akcím na straně 93</a>.</li> <li>Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ul>
Failed to Parse Run Parameters file (Analýza souboru s parametry běhu se nezdařila)	Sekvenování	Systému se nepodařilo otevřít nebo analyzovat soubor RunParameters.xml.	Varování	Ano	Soubor RunParameters.xml file je poškozen. Zkontrolujte konfiguraci přístroje a opakuje sekvenování fondu.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučený postup
Unrecognized Run Parameters (Neznámé parametry běhu)	Sekvenování	Software čte parametry běhu, které nejsou kompatibilní.	Varování	Ano	Software nedokáže z konfiguračního souboru přístroje sestavit parametry běhu sekvenování. Zkontrolujte konfiguraci přístroje a opakujte sekvenování fondu.
Invalid Run Parameters (Neplatné parametry běhu)	Sekvenování	Čtení softwaru vyžadovalo parametry běhu, které nejsou s rozbořem kompatibilní.	Varování	Ano	Kontrola kompatibility softwaru se nezdařila. Zkontrolujte konfiguraci přístroje a opakujte sekvenování fondu.
No Pool Barcode found (Nebyl nalezen čárový kód fondu)	Sekvenování	Software nemohl přiřadit průtokovou kyvetu běhu sekvenování ke známému čárovému kódu fondu.	Varování	Ano	Pravděpodobně se jedná o nesprávný čárový kód fondu. Opakujte sekvenování fondu.
Sekvenování bylo dokončeno, ale chybí soubor s čárovým kódem fondu	Sekvenování	Běh sekvenování byl dokončen, ale nebyl nalezen soubor obsahující čárový kód fondu.	Výstraha	Ano	Možná porucha sekvenátoru. Obratě se na technickou podporu společnosti Illumina a požádejte o pomoc.
Unable to read Pool Barcode File (Nelze načíst soubor s čárovým kódem fondu)	Sekvenování	Soubor obsahující čárový kód fondu je poškozený.	Výstraha	Ano	Možné selhání sekvenátoru nebo sítě. Obratě se na technickou podporu společnosti Illumina a požádejte o pomoc.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučený postup
Pool Barcode File Mismatch (Nesprávné spárování souboru s čárovým kódem fondu)	Sekvenování	Nalezený soubor s čárovým kódem fondu odkazuje na jiný ID průtokové kyvety než je ten, jenž byl přidružen k běhu sekvenování.	Výstraha	Ano	Možná porucha sekvenátoru. obraťte se na technickou podporu společnosti Illumina a požádejte o pomoc.
Sequencing timed out (Čas na sekvenování vypršel)	Sekvenování	Běh sekvenování nebyl v dané lhůtě dokončen.	Varování	Ano	Zkontrolujte sekvenátor a síťové připojení. Opakujte sekvenování fondu.
Sequencing QC files generation failed (Vytvoření souborů kontroly kvality sekvenování se nezdařilo)	Kontrola kvality sekvenování	Běh sekvenování je dokončen, ale soubory InterOp QC jsou poškozeny.	Výstraha	Ano	Zkontrolujte sekvenátor a síťové připojení. Opakujte sekvenování fondu.
Sequencing QC failed (Kontrola kvality sekvenování se nezdařila)	Kontrola kvality sekvenování	Běh sekvenování je dokončen, ale kontrola kvality sekvenování se nezdařila.	Upozornění	Ano	Opakujte sekvenování fondu.

Oznámení	Krok	Podmínka výskytu	Úroveň výstrahy	E-mail	Doporučený postup
Analysis Failed for Maximum number of attempts (Analýza se nezdařila z důvodu dosažení maximálního počtu pokusů)	Analýza	Všechny pokusy o analýzu selhaly. Další pokus nebude.	Varování	Ano	Opakujte sekvenování druhého fondu.
Analysis Post-Processing Failed (Následné zpracování analýzy se nezdařilo)	Následné zpracování analýzy	Softwaru se nepodařilo následně zpracovat výsledky analýzy.	Výstraha	Ano	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Další informace naleznete v části <a href="#">Postupy k doporučeným akcím na straně 93</a>.</li> <li>• Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ul>
Analysis Upload Failed (Odeslání analýzy se nezdařilo)	Následné zpracování analýzy	Softwaru se nepodařilo odeslat výsledky analýzy do databáze.	Výstraha	Ano	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte připojení k síti. Další informace naleznete v části <a href="#">Postupy k doporučeným akcím na straně 93</a>.</li> <li>• Možná porucha hardwaru. Restartujte server. Pokud problém není odstraněn, odešlete e-mail technické podpoře společnosti Illumina.</li> </ul>

## Postupy k doporučeným akcím

ID akce	Doporučený postup	Postup
1	Zkontrolujte připojení k síti	<p>Zkontrolujte, zda je vzdálené úložiště NAS ve stejné síti jako místní počítač.</p> <ol style="list-style-type: none"><li>1. Na příkazovém řádku systému Windows (příkaz cmd) zadejte následující příkaz: <b>ping &lt;Server IP&gt;</b> Pokud používáte úložiště NAS, zkontrolujte také připojení k úložišti NAS.</li><li>2. Zkontrolujte, zda nedochází ke ztracení paketů. Pokud dochází ke ztracení paketů, kontaktujte správce IT.</li><li>3. Připojení otestujte následujícím způsobem:<ol style="list-style-type: none"><li>a. Přihlaste se k webovému uživatelskému rozhraní místního serveru.</li><li>b. V ovládacím panelu vyberte možnost <b>Folder</b> (Složka).</li><li>c. Vyberte možnost <b>Test</b> a zkontrolujte úspěšnost provedeného testu. V případě neúspěšného testu si přečtěte část <a href="#">Úprava sdílené síťové jednotky na straně 31</a> a zkontrolujte správnost konfigurace všech nastavení.</li></ol></li></ol>
2	Zkontrolujte volné místo na disku	<p>Zkontrolujte, zda je složka Input (Vstup) na místním serveru připojena k počítači se systémem Windows. Další informace naleznete v části <a href="#">Připojení serverových jednotek na straně 42</a>. Klikněte pravým tlačítkem na jednotku, která je připojena ke složce Input (Vstup). Vyberte možnost <b>Properties</b> (Vlastnosti) a zkontrolujte informace o volném místě.</p>

ID akce	Doporučený postup	Postup
3	Uvolněte místo na disku nebo proveďte zálohování dat	<p>Společnost Illumina doporučuje pravidelné zálohování dat nebo ukládání dat sekvenování na server. Další informace naleznete v části <a href="#">Správa sdílené síťové jednotky na straně 30</a>.</p> <p>1. Postup pro data uložená lokálně na místním serveru:</p> <p>Zkontrolujte, zda je složka Input (Vstup) na místním serveru připojena k počítači se systémem Windows. Další informace naleznete v části <a href="#">Připojení serverových jednotek na straně 42</a>.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Dvakrát klikněte na složku Input (Vstup) a zadejte pověření pro přístup do složky.</li> <li>Data běhů sekvenování jsou uvedena s názvy složek odpovídajícími názvům běhů sekvenování.</li> <li>Odstraňte nebo zálohujte zpracované složky dat sekvenování.</li> </ol> <p>2. Postup pro data uložená ve vzdáleném úložišti NAS:</p> <p>Zkontrolujte, zda je vzdálené úložiště NAS ve stejné síti jako místní počítač. Opatřete si přístup ke složce ve vzdálené jednotce. K získání přístupu budete potřebovat pověření od správce IT.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Data běhů sekvenování jsou uvedena s názvy složek odpovídajícími názvům sekvenčních běhů.</li> <li>Odstraňte nebo zálohujte zpracované složky dat sekvenování.</li> </ol>

# Problémy se systémem

Problém	Doporučený postup
Software se nespustí.	Pokud jsou při spouštění VeriSeq NIPT Assay Software zjištěny chyby, zobrazí se místo obrazovky Log In (Přihlášení) přehled všech chyb. Kontaktujte technickou podporu společnosti Illumina a nahlaste zobrazené chyby.
Je požadováno obnovení databáze.	Pokud je požadováno obnovení databáze ze zálohy, obraťte se na servisního technika společnosti Illumina.
Byla zjištěna změna parametrů systému.	Po zjištění změny parametrů systému přestane VeriSeq NIPT Assay Software zpracovávat komunikaci od ostatních součástí systému. Správce může systém resetovat zpět do normálního provozu poté, co systém přešel do stavu zjišťování změny parametrů.
Aktivuje se alarm řadiče RAID.	Správce může použít tlačítko <b>Server alarm</b> (Alarm serveru) na kartě Server Status (Stav serveru) v ovládacím panelu VeriSeq NIPT Assay Software, čímž vypne zvuk alarmu řadiče RAID. Pokud toto tlačítko stisknete, požádejte o další pomoc technickou podporu společnosti Illumina.

## Testy zpracování dat

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

### Testování serveru

Tento test simuluje běh sekvenování a současně simuluje vytvoření výsledků analýzy, aniž by došlo ke skutečnému spuštění plánu analýzy. Spuštěním tohoto testu ověříte správnou funkci místního serveru a také vytváření výkazů a e-mailových oznámení. Trvání: Přibližně 3–4 minuty.

#### Postup

- Otevřete připojený vstupní adresář a potom otevřete složku TestingData (Zkušební data).
- Vytvořte kopii jedné z následujících složek, které naleznete ve složce TestingData:
  - Pro data NextSeq: 170725\_NB551052\_0252\_AH5KGJBGX9\_Copy\_Analysis\_Workflow.
  - Pro data NextSeqDx: 180911\_NDX550152\_0014\_AXXXXXXXDX\_Copy\_Analysis\_Workflow.
- Přejmenujte kopii složky přidáním přípony \_XXX. Přípona \_XXX označuje pořadí sekvenování zkušebního běhu. Pokud se ve složce už nachází například složka s příponou \_002, přejmenujte novou kopii na \_003.



4. Přesuňte přejmenovanou složku do vstupní složky.
5. Počkejte 3–5 minut na dokončení běhu. Zkontrolujte, zda byla přijata následující e-mailová oznámení:
  - a. Sequencing Run Analysis Started (Analýza běhu sekvenování byla zahájena)
  - b. NIPT Report generated for Sequencing Run (K běhu sekvenování byl vytvořen výkaz NIPT).
6. Přidruzte výkazy k názvu sekvenování, který je ke složce přiřazen.
7. Ve výstupní složce otevřete složku TestData\_NS\_CopyWorkflow nebo TestData\_NDx\_CopyWorkflow a zkontrolujte jeden z následujících výkazů:
  - Pro NextSeq: TestData\_NS\_CopyWorkflow\_C\_TestData\_NS\_CopyWorkflow\_PoolC\_H5KGJBGX9\_nipt\_report\_YYYYMMDD\_HHMMSS.tab.
  - Pro NextSeqDx: TestData\_NDx\_CopyWorkflow\_C\_TestData\_NDx\_CopyWorkflow\_PoolC\_XXXXXXXXDX\_nipt\_report\_YYYYMMDD\_HHMMSS.tab.Očekávaná velikost souboru je přibližně 7,1 Kb.
8. Přesuňte zkušební běh sekvenování zpět do složky TestingData (Zkušební data). Tento postup usnadňuje řízení počtu provedených testů sekvenování.

**POZNÁMKA** Starší kopie souborů testu můžete odstranit, abyste získali místo.

## Data z testu úplného běhu analýzy

Tento test provádí úplný běh analýzy. Tento test spusťte, pokud se serveru nepodaří zpracovat/analyzovat data nebo pokud vyprší časový limit. Trvání: Přibližně 4–5 hodin.

### Postup

1. Otevřete připojený vstupní adresář a otevřete složku TestingData (Zkušební data).
2. Následující složku přejmenujte doplněním přípony \_000: 180911\_NDX550152\_0014\_XXXXXXXXDX\_FullRun.

Tato přípona způsobí vytvoření jedinečného názvu pro každý běh sekvenování. Pokud již má daný běh v názvu nějakou příponu, přejmenujte složku tím, že zvýšíte číselnou hodnotu přípony o 1.
3. Přesuňte přejmenovanou složku do vstupní složky.
4. Počkejte 4–5 hodin na dokončení analýzy. Zkontrolujte, zda byla přijata následující e-mailová oznámení:
  - a. Sequencing Run Analysis Started (Analýza běhu sekvenování byla zahájena)
  - b. NIPTReport generated for Sequencing Run (K běhu sekvenování byl vytvořen výkaz NIPT).
5. Přidruzte výkazy k názvu sekvenování, který je ke složce přiřazen.

6. Ve výstupní složce otevřete složku TestData\_NDx\_FullRun a zkontrolujte následující výkaz:  
TestData\_NDx\_FullRun\_C\_TestData\_NDx\_FullRun\_PoolC\_XXXXXXDX\_nipt\_report\_YYYYMMDD\_HHMMSS.tab.  
Očekávaná velikost souboru je přibližně 7,1 Kb.
7. Přesuňte zkušební běh sekvenování zpět do složky TestingData (Zkušební data).

# Literatura

Z webu společnosti Illumina si můžete stáhnout následující dokumentaci.

Zdroj	Popis
<i>Příbalový leták k produktu VeriSeq NIPT Solution v2 (dokument č. 1000000078751)</i>	Popisuje produkt a jeho určené použití a nabízí pokyny k používání spolu s postupy pro řešení problémů.
<i>Návod k obsluze linky Microlab® STAR, Hamilton, ID dok. 624668</i>	Poskytuje informace o provozu a údržbě spolu s technickými specifikacemi automatického přístroje na zpracování kapaliny Microlab STAR společnosti Hamilton.

Navštivte [stránky podpory](#) produktu VeriSeq NIPT Solution v2 na webu společnosti Illumina, kde naleznete dokumentaci, odkazy na stažení softwaru, online školení a přehled nejčastějších dotazů.

# Zkratky

Zkratka	Definice
BCL	Soubor přiřazení báze
CE-IVD	Jednotné evropské značení pro diagnostický produkt <i>in vitro</i>
cfDNA	Volná mimobuněčná DNA
DNA	Deoxyribonukleová kyselina
DNS	Systém doménových názvů
FASTQ	Textový formát souboru pro ukládání výstupu sekvenačních nástrojů
FF	Fetální frakce
FIFO	V pořadí, ve kterém dorazí
iFACT	Individualizovaný test iFACT
IP	Internetový protokol
LIMS	Laboratorní systém správy informací
LLR	Věrohodnostní poměry
MAC	Kontrola přístupu k médiu
NAS	Síťové úložiště
NES	Nevyloučené stránky

Zkratka	Definice
NGS	Sekvenování nové generace
NIPT	Neinvazivní prenatální test
NTC	Kontrola bez templátu
NTP	Protokol pro synchronizaci vnitřních hodin počítačů
PF	Filtr úspěšnosti
Kontrola kvality	Kontrola kvality
Regulární výraz	Regulární výraz. Sekvence znaků, kterou mohou použít algoritmy pro vyhledávání odpovídajících řetězců k validaci dat.
SCA	Aneuploidie pohlavního chromozomu
SDS	Bezpečnostní listy
SHA1	Bezpečný hašovací algoritmus 1
SSL	Zabezpečený komunikační protokol

## Technická pomoc

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

**Web:** [www.illumina.com](http://www.illumina.com)

**E-mail:** [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

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

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



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



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

**Dodavatel pro Austrálii**  
Illumina Australia Pty Ltd  
Nursing Association Building  
Level 3, 535 Elizabeth Street  
Melbourne, VIC 3000  
Austrálie

URČENO K DIAGNOSTICE IN VITRO.

© 2023 Illumina, Inc. Všechna práva vyhrazena.

**illumina**<sup>®</sup>