„AlloSeq HCT“ programinė įranga

Naudojimo instrukcija

IFU108-LT
Programinės įrangos versijos numeris: 2.2.1
Dokumento versijos numeris: 1.0

REF ASHCTS2

IVD

CE

CareDx Pty Ltd

CareDx Pty Ltd
20 Collie Street
Frimantlas, WA 6160
Australija

CareDx AB
Franzéngatan 5
112 51 Stokholmas
Švedija

EC REP
Qarad BV
Cipalstraat 3
2440 Gelis
Belgija

CH REP
„Qarad Suisse S.A.“
World Trade Center, Avenue Gratta-Paille 2
1018 Lausanne
Šveicarija
CHRN: CHRN-AR-20002058

© 2024 „CareDx, Inc.“ Visi paslaugų ar prekių ženklai arba jų licencijos priklauso bendrovei „CareDx, Inc.“ Arba jos filialams. Visos teisės saugomos.

Turinys

1. Apžvalga 2
   1.1 Sistemos ir programinės įrangos apžvalga 2
   1.2 Paskirtis 2
   1.3 Apribojimai 3
2. Duomenų apdorojimo reikalavimai ir suderinamumas 3
   2.1 Suderinami duomenų failai 3
3. Patyrusio naudotojo instrukcijos 3
4. Naujo naudotojo instrukcija 4
   4.1 Įvadas 4
   4.2 Recipientai ir Donorai 4
   4.3 Mėginiai 5
   4.4 Partijos 6
   4.5 Rezultatų analizė 7
   4.6 Rezultatų peržiūra 7
5. Trikčių šalinimas 9
6. Kontaktiniai duomenys 11

1. Apžvalga

Šioje naudojimo instrukcijoje aprašomos funkcijos ir veiksmai, reikalingi norint atlikti duomenų analizę naudojant „AlloSeq HCT“ programinę įrangą. „AlloSeq HCT“ tyrimų rinkinys ir „AlloSeq HCT“ programinė įranga kartu vadinami „AlloSeq HCT“.

„AlloSeq“ produktų grupei yra skirtas atskiras diegimo vadovas (IFU106), jį reikėtų perskaityti prieš skaitant šią naudojimo instrukciją.

1.1 Sistemos ir programinės įrangos apžvalga

„AlloSeq HCT“ yra daugine vieno etapo PGR pagrįstas sprendimas, skirtas sekoskaitos bibliotekoms iš DNR, išgautų iš transplantacijos recipientų ir donorų biologinių mėginių hematopoetinių kamieninių ląstelių, paruošti. Gauti sekoskaitos duomenys (FASTQ failuose) naudojami procentinei recipiento ir donoro (-ų) DNR, esančiai biologiniame mėginyje, apskaičiuoti siekiant nustatyti recipiento, kuriam atlikta transplantacija, genetinio chimerizmo lygį tuo metu, kai buvo paimtas mėginys. Daugiau informacijos apie „AlloSeq HCT“ tyrimą galima rasti „AlloSeq HCT“ tyrimo naudojimo instrukcijoje.

202 tiksliniai vieno nukleotido polimorfizmai (VNP) yra:

(1) pasiskirstę 22 autosominių chromosomų porose žmogaus genome,
(2) dviejų alelių – alelių dažnis visose populiacijose yra nuo 0,4 iki 0,6,
(3) randami genomo srityse, kurių sekoskaitą galima patikimai nustatyti, ir
(4) nesusiję su disbalansu arba su ligomis.

Sekos duomenys analizuojami naudojant „AlloSeq HCT“ programinę įrangą, kuri parodo iki trijų skirtingų genomų (genetinių komponentų), aptiktų po transplantacijos paimtuose mėginiuose, DNR procentinę dalį (% DNR).

Recipiento ir donoro (-ų) DNR, esančios po transplantacijos paimtuose mėginiuose, procentinė dalis apskaičiuojama nustatant skirtingų nukleotidų sekos dalį kiekvienoje vertinamoje VNP vietoje. Recipiento ir donoro (-ų) genotipai prieš transplantaciją, gaunami naudojant „AlloSeq HCT“, reikalingi siekiant apskaičiuoti, kiek procentų DNR gauta iš kiekvieno genetinio komponento, esančio mėginyje po transplantacijos. Persidengiantys rodmenys sujungiami, sulyginami ir suskaičiuojami. Rezultatai lyginami su recipiento ir donoro (-ų) genotipais (informatyvūs VNP ir (arba) lokusai). Rekomenduojama, kad analizuojant mėginius po transplantacijos būtų įvedamas visų genetiškai prisidėjusių asmenų (recipiento ir donoro ar donorų) genotipas, tačiau mėginiai gali būti analizuojami ir tada, kai vieno genotipo (vieno donoro arba recipiento) trūksta.

Programinei įrangai išanalizavus duomenis, visų mėginių rezultatai rodomi naudotojo sąsajos lange, taip pat perkeliami į PDF arba su „Excel“ suderinamą failą. Rezultatai apima apskaičiuotą kiekvieno po transplantacijos paimto mėginio DNR procentinę dalį, taip pat kokybės kontrolės rodiklius, pagal kuriuos programinė įranga nustato, ar mėginys yra tinkamas, ar ne.

1.2 Paskirtis

„CareDx Pty Ltd“ siūlomų „AlloSeq HCT“ produktų (tyrimų rinkinio ir programinės įrangos) paskirtis – padėti naudotojui stebėti persodinimo rezultatą po hematopoetinių kamieninių ląstelių transplantacijos (HSCT).

„AlloSeq HCT“ rinkinys skirtas alogeninės HSCT recipientų donoro (-ų) ir recipiento DNR, esančios viename mėginyje, procentiniam kiekiui nustatyti.

„AlloSeq HCT“ programinė įranga skirta naudoti su duomenimis, sugeneruotais naudojant „AlloSeq HCT“ rinkinį.

Programinę įrangą gali naudoti tinkamai išmokyti sveikatos priežiūros specialistai. Ją galima naudoti tik tinkamai akredituotose laboratorijose. „AlloSeq HCT“ produktas nenaudojamas ligai diagnozuoti ir negali būti vienintelis klinikinių sprendimų pagrindas.

1.3 Apribojimai

Donoro (-ų) ir recipientų genetinis tapatumas

„AlloSeq HCT“ negali atlikti identiškų dvynių stebėjimo.

Nežinomi genotipai

- Nesusijęs (-ę) donoras (-ai): -
    - Stebėjimą galima atlikti, kai nežinomas recipiento arba vieno iš donorų genotipas prieš transplantaciją. Stebėjimo atlikti neįmanoma, jei yra daugiau nei vienas nežinomas genotipas. Kai kurioms kokybės kontrolės metrikos priemonėms reikia, kad būtų visi genotipai, ir jos išsijungia, jei vienas iš genotipų nežinomas.
    - Jei genotipas nežinomas, įtakos rezultatams gali turėti ligos atkrytis arba heterozigotiškumo praradimas.
- Susijęs (-ę) donoras (-ai) – stebėjimo tyrimui reikalingi visi prieš transplantaciją atlikto genotipo nustatymo duomenys.

Žinomos anomalijos įrašomos „TEC935_AlloSeq HCT“ programinėje įrangoje, dalyje „Žinomos anomalijos“ *(TEC935_AlloSeq HCT Software – Known Anomalies).*

2. Duomenų apdorojimo reikalavimai ir suderinamumas

Daugiau informacijos rasite dokumente IFU106 – „AlloSeq“ programinės įrangos diegimo vadove.

2.1 Suderinami duomenų failai

„AlloSeq HCT“ programinė įranga suderinama su suglaudintu FASTQ failo formatu (*.fastq.gz). Šių formatų failus generuoja „Illumina“ sekoskaitos sistema. Daugiau informacijos apie FASTQ failo formatą pateikta, pavyzdžiui, „MiSeq Reporter Generate FASTQ“ darbo eigos vadove (dokumento Nr. 15042322).

3. Patyrusio naudotojo instrukcijos

Visų dalyvių (Recipiento ir visų Donorų) mėginius prieš transplantaciją rekomenduojama apdoroti su „AlloSeq HCT“. Prieš transplantaciją imami mėginiai reikalingi dėl kelių donorų stebėjimo. Jie imami iš visų dalyvių.

1. Sukurkite Recipientus, pridėkite prie Recipientų Donorus, o prie Recipientų ir Donorų – Mėginius.
    a. Pažymėkite Donoro ir Recipiento mėginius prieš transplantaciją kaip „genotipus“.
2. Sukurkite Partiją, įtraukite į ją Mėginius. Prie Partijos pasirinkite „Generate Run Sheet“ (generuoti vykdymo lapą).
3. Atlikite laboratorijos protokole nustatytus veiksmus, prijunkite sekvenatorių.
4. Kai sekoskaita bus baigta, Prie partijos skiltyje „Analyze Results“ (analizuoti rezultatus) pasirinkite aplanką su fastq failais.
5. Mėginiai prieš transplantaciją – peržiūrėkite Rezultatus, pasirinkite „Approved“ (patvirtinta).
6. Stebėjimo po transplantacijos mėginiai – peržiūrėkite Rezultatus, pažymėkite „Approved“ (patvirtinta) ir eksportuokite Rezultatus.

4. Naujo naudotojo instrukcija

4.1 Įvadas

Šioje naudojimo instrukcijoje „AlloSeq HCT“ programinės įrangos elementai, pvz., Recipientas arba Mėginys, rašomi didžiąja raide, siekiant atkreipti dėmesį į elementą, kurį analizuoja programinė įranga.

„AlloSeq HCT“ programinė įranga leidžia stebėti kelis to paties Recipiento stebėjimo tyrimus per tam tikrą laiką. Į programinę įrangą taip pat galima įvesti kitų chimerizmo tyrimų rezultatus, kad būtų lengviau patikrinti.

Prieš transplantaciją paimti mėginiai rekomenduojami „AlloSeq HCT“ tyrimams ir reikalingi kelių donorų mėginiams. „AlloSeq HCT“ programinė įranga vienu metu gali stebėti vieną, du arba tris* Donorus, jei prieš transplantaciją buvo atliktas visų šalių (Recipiento ir visų Donorų) genotipų nustatymas.

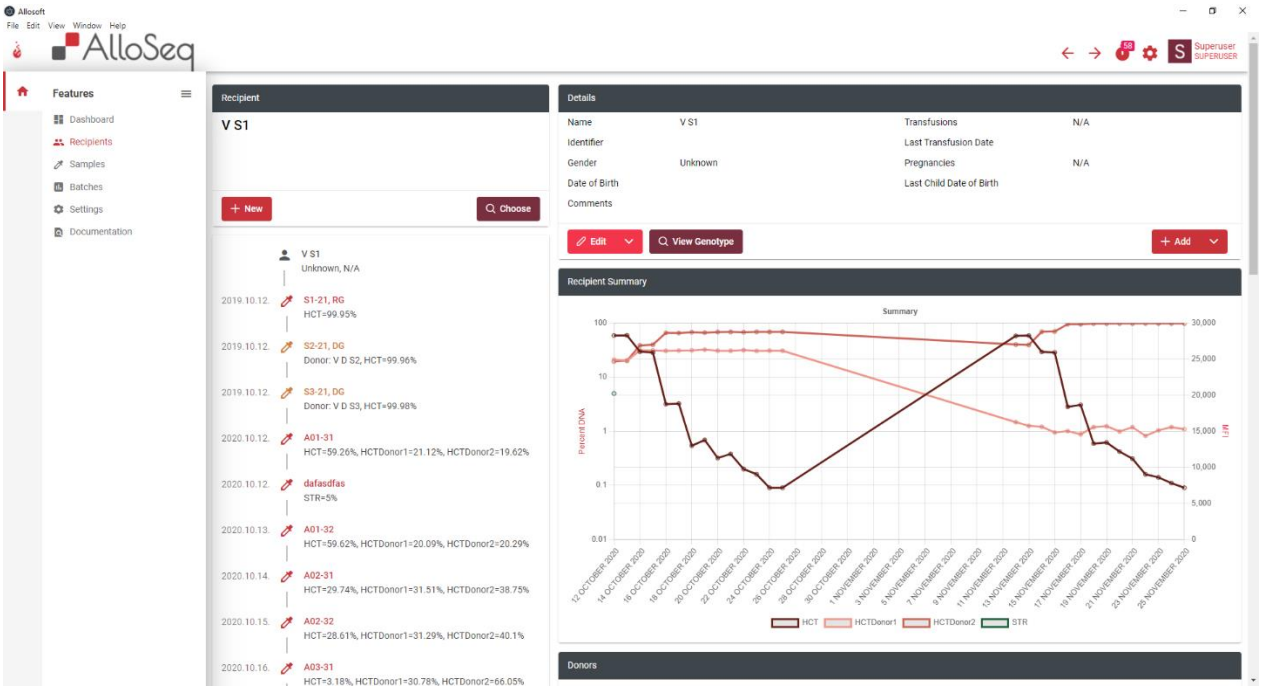
> * **Pastaba.** Retkarčiais gali pasitaikyti atvejų, kai šalių genetinis kintamumas yra nepakankamas, kad būtų galima atsekti kelis susijusius Donorus. Donorams priskiriami ID ("Donor 1", "Donor 2", "Donor 3") tokia tvarka, kokia mėginiai įvedami į AlloSeq HCT programinę įrangą.

„AlloSeq HCT“ programinėje įrangoje taip pat galima derinti Mėginio šaltinį ir Subpopuliaciją, todėl, jei reikia, atskiras ląstelių subpopuliacijas laikui bėgant galima stebėti atskirai.

4.2 Recipientai ir Donorai

Pradinis „AlloSeq HCT“ programinės įrangos veiksmas – sukurti Recipientą ir pridėti prie jo Donorą (-us). Prie Recipiento taip pat galima pridėti Transplantacijos laiko taškus (gautus arba reikalingus ir (arba) planuojamus) ir Gydymo būdus (žinomos intervencijos, kurios gali būti naudingos aiškinant tyrimo rezultatus).

Recipiento ekraną galima pasiekti iš pagrindinio meniu kairėje pusėje (spustelėjus namelį ir pasirinkus „Recipients“ (Recipientai) arba per greitojo paleidimo apvalų mygtuką pagrindinėje Suvestinėje (pradinis ekranas, matomas prisijungus).



Atsidūrę Recipiento ekrane, galite pridėti naują Recipientą spustelėję mygtuką „New“ (naujas). Taip pat galite ieškoti Recipientų ir pasirinkti esamą Recipientą. Programinė įranga neatlieka besidubliuojančių Recipientų tikrinimo, todėl saugiau pirmiausia patikrinti, ar Recipientas, kurį norite įtraukti, dar nėra įtrauktas į programinę įrangą.

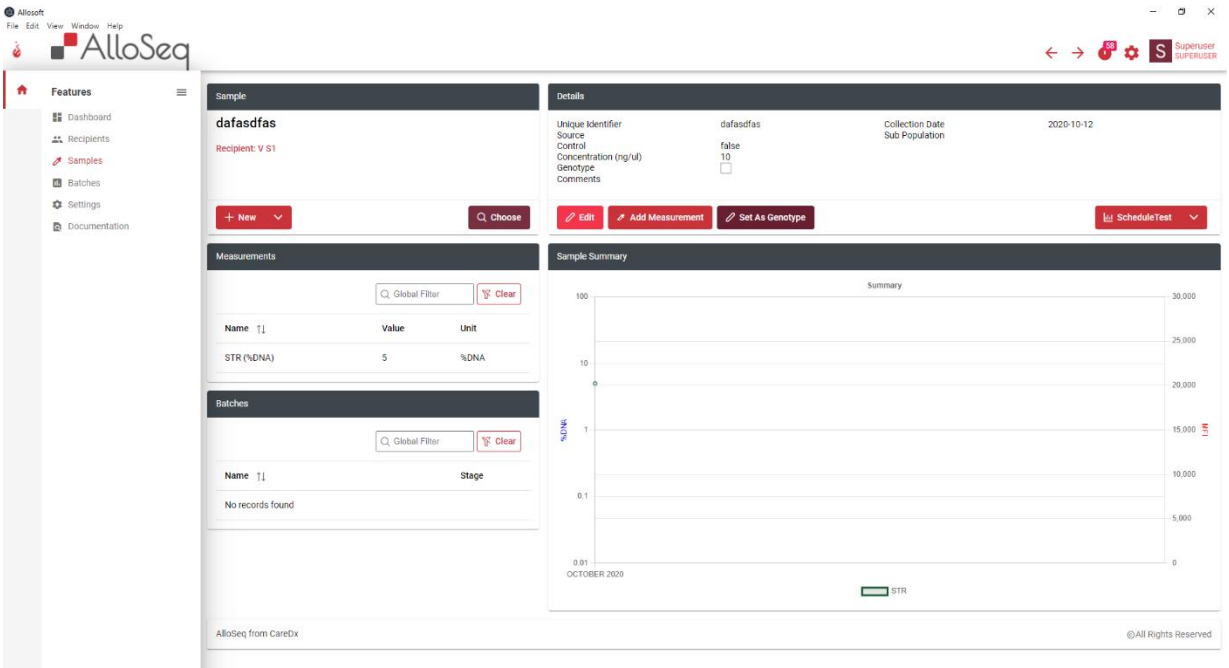
Recipiento ekrane pateikiama visų Recipientui užregistruotų įvykių laiko juosta ir diagrama, kurioje apibendrinami visi atlikti „AlloSeq HCT“ (ir kitų chimerizmo tyrimų) matavimai. Jokie rezultatai, pažymėti kaip „genotipai“ (t. y. prieš transplantaciją gauti Recipiento ir Donoro (-ų) rezultatai), diagramoje nebus rodomi. Prie kiekvieno Recipiento galite pridėti komentarų – jie gali būti naudingi apibendrinant dabartinę klinikinę būklę.

Donorai išvardijami po grafiku Recipientų ekrane. Čia galite pridėti naujų Donorų, redaguoti Donorų duomenis ir pridėti Donorams genotipavimo mėginius, paimtus prieš transplantaciją. Tam naudokite mygtuką „Edit“ (redaguoti). Vardas, pavardė / ID ir ryšys yra būtini duomenys.

4.3 Mėginiai

Sukūrus Recipientą ir Donorą (-us), reikia pridėti Mėginius. Tai galima padaryti Mėginių ekrane (pasiekiamas per pagrindinį meniu ir greitojo paleidimo mygtuką) arba iš Recipiento ekrano.

- Jei pradedate Recipiento ekrane, galite naudoti mygtuką „Add“ (pridėti) (išskleidžiamajame sąraše yra „Sample“ (mėginys)), o Donorų ekrane galite spustelėti donorą ir naudoti mygtuką „Edit“ (redaguoti), kurį spustelėjus atsiras parinktis „Add Sample“ (pridėti mėginį).
- Jei pradedate nuo Mėginio ekrano, galite pasirinkti mygtuką „New“ (naujas) ir pasirinkti pridėti „Recipient Sample“ (recipiento mėginys), „Donor Sample“ (donoro mėginys) arba „Control Sample“ (kontrolinis mėginys). Tuomet būsite paraginti pasirinkti Recipientą / Donorą. Tai vienintelis būdas į programinę įrangą įtraukti Kontrolinius mėginius.



Pridedant Mėginius, vieninteliai privalomi duomenų elementai yra Mėginio identifikatorius (jis turi būti unikalus visiems Mėginiams), Mėginio paėmimo data ir išgautos DNR koncentracija (šiuo metu ji saugoma tik informaciniais tikslais). Į HCT taip pat galite įtraukti savo mėginio Šaltinį ir Subpopuliaciją. Jei stebite skirtingas Subpopuliacijas iš vieno kraujo ar kaulų čiulpų mėginio, jos turi būti įvestos į programą kaip atskiri Mėginiai. Kiekvienas Šaltinio (įskaitant nesamą) ir Subpopuliacijos (įskaitant nesamą) derinys bus stebimas atskirai, pvz., Mėginys, pažymėtas kaip „Source: Whole Blood + Subpopulation: CD14“ (šaltinis: kraujas + subpopuliacija: CD14“ bus stebimas atskirai iki Mėginio, pažymėto tik kaip „Source: Whole Blood“ (šaltinis: kraujas), arba Mėginio, pažymėto „Subpopulation: CD14“ (subpopuliacija: CD14). Turėkite omenyje, kad šiuos Mėginio metaduomenis galima bet kada redaguoti.

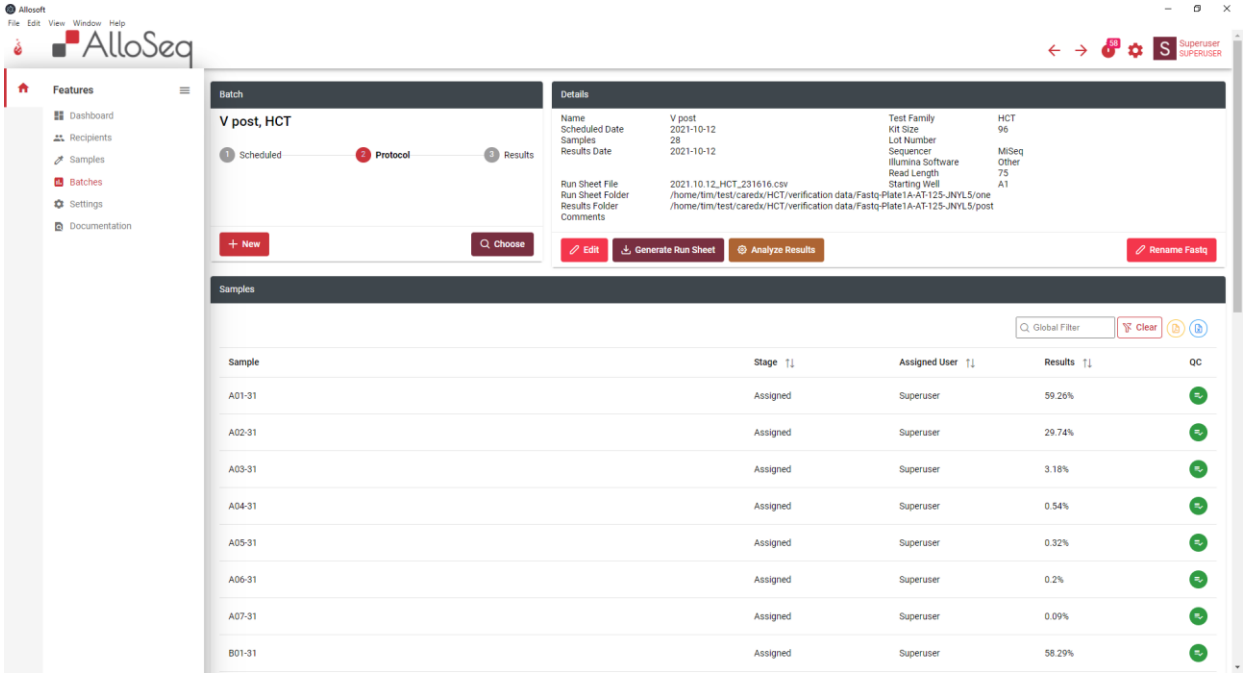
Jei prieš transplantaciją imami Mėginiai bus naudojami kaip Recipiento arba Donoro „genotipas“, galite pasirinkti galimybę nustatyti juos kaip genotipą kurdami mėginį arba paspausti mygtuką „Set Genotype“ (nustatyti genotipą) po to, kai sukursite Mėginį. Tai leidžia Rezultatą automatiškai priskirti kaip genotipą, kai analizė baigiama.

Mėginio ekrane taip pat galima pridėti bet kokius kitus kitų tyrimo rezultatų Matavimus, kurie buvo atlikti su tuo pačiu mėginiu ar tuo pačiu laiko momentu. „AlloSeq HCT“ programinėje įrangoje tai paprastai yra mėginio STR arba qPCR rezultatai, kurie gali būti naudojami „AlloSeq HCT“ rezultatams patvirtinti kartu su jūsų naudojamu metodu. Čia galima pridėti antikūnų tyrimo rezultatus. Jei reikia, prie kiekvieno Mėginio taip pat galite pridėti komentarų.

4.4 Partijos

Partijos – tai grupė Mėginių, kurie bus ruošiami kartu naudojant „AlloSeq HCT“ reagentus ir kartu sekvenuojami. Partiją galite sukurti bet kuriuo metu ir pradėti planuoti būsimų savaičių tyrimus. Partijos ekraną galite pasiekti per pagrindinį meniu ir greitojo paleidimo mygtuką. Taip pat galite įtraukti Mėginį į esamą partiją arba sukurti naują partiją Mėginio ekrane.

Naujai Partijai kurti naudokite mygtuką „New“ (naujas). Turėsite pridėti datą ir kaip „Test Family“ (tyrimo grupė) pasirinkti „HCT“. Partijos pavadinimo įrašyti neprivaloma, bet rekomenduojama, kad būtų lengviau atskirti vieną Partiją nuo kitos. Į Partiją taip pat galima įtraukti komentarų.



Sukūrę Partiją, galite pridėti Mėginius („Add Samples“) ir iš sąrašo pasirinkti, kuriuos Mėginius norite tikrinti Partijoje. Mėginių eiliškumas Partijoje atitiks naudotinų mėginių indeksų iš „AlloSeq HCT“ reagentų rinkinio rodyklės plokštelės eiliškumą.

> **Pastaba.** Mėginių eiliškumas Partijoje bus toks, kokia seka juos trauksite į Partiją. Vienintelis būdas pakeisti eiliškumą – pašalinti Mėginius ir vėl juos pridėti.

Į Partiją įtraukę visus Mėginius, galite pasirinkti parinktį „Generate Run Sheet“ (generuoti vykdymo lapą) – bus sukurtas naujas CSV formato vykdymo lapo failas, naudojamas „Illumina“ sekvenatoriuje. Jį taip pat galima atsispausdinti ir nusinešti į laboratoriją, kad būtų lengviau susieti kiekvieną Mėginį su indeksu iš indekso plokštelės.

> **Pastaba.** Būkite apdairūs atidarydami šį failą „Excel“ programoje – išsaugojus „Excel“ programoje padarytus CSV failo pakeitimus, failas gali nebeveikti „Illumina“ sekvenatoriuje! Paprastai šį failą saugiausia spausdinti naudojant „Excel“ programą, o redaguoti (paprastai to daryti nereikia) teksto rengykle, pavyzdžiui, „Notepad++“.

Pastaba. Galite pasirinkti „pradinę duobutę“ Vykdymo lape – jei nusprendėte vieną „AlloSeq HCT“ rinkinį suskaidyti į kelis sekoskaitos ciklus, taip galite nustatyti skirtingą pradinę duobutę indeksams. Vykdymo lape esantys indeksai bus naudojami mėginių duomenims skaidyti (t. y. nuspręsti, kurie duomenys priklauso kuriam mėginiui) sekoskaitos pabaigoje.

Vykdymo lapą galima bet kuriuo metu atkurti – jei Partijos turinys nesikeičia, jis kaskart bus identiškas.

Sukūrus Vykdymo lapą, reikia pereiti prie „AlloSeq HCT Lab“ protokolo ir paruošti DNR mėginius sekos nustatymo procedūrai.

Plokštelės žemėlapio funkcija

Į programinę įrangą įtrauktas plokštelių žemėlapio komponentas. Galutiniam naudotojui jo naudoti neprivaloma. Ši funkcija padeda organizuoti išvesties failo (vykdymo lapo) duobutės padėtį plokštelės žemėlapyje.

4.5 Rezultatų analizė

Baigus sekoskaitą, sekvenatoriuje sukuriamas aplankas su fastq failais. Vienam mėginiui bus sukurti du fastq failai. Rekomenduojame nukopijuoti arba perkelti aplanką su fastq failais į serverį analizei (prieiga prie fastq failų nuotoliniu būdu per tinklą gali sulėtinti analizę).

Analizė atliekama atvėrus Partijos ekraną, pasirinkus tinkamą Partiją ir spustelėjus mygtuką „Analyze Results“ (analizuoti rezultatus). Bus paprašyta nurodyti aplanko, kuriame yra fastq failai, vietą. Iš pradžių aplankas patikrinamas siekiant įsitikinti, kad yra visi kiekvieno Mėginio failai, o tada pradedama analizė. Vieno mėginio analizė trunka maždaug 30 sekundžių. Kai analizė baigiama, kiekvienam rezultatui sukuriama nauja Užduotis („Task“) – šios Užduotys priskiriamos analizę atlikusiam asmeniui. Savo Užduotis galite matyti pagrindinėje Suvestinėje, kai prisijungiate. Jei reikia, šias Užduotis galima iš naujo priskirti kitiems programinės įrangos naudotojams. Šios Užduotys liks atidarytos tol, kol rezultatą patvirtins laboratorijos direktorius (arba aukščiausius įgaliojimus turintis naudotojas).

Pastaba. Rezultatai bus rodomi Recipiento ir Mėginio ekranų diagramose, neatsižvelgiant į patvirtinimo būseną.

4.6 Rezultatų peržiūra

Suvestinėje ir Partijos ekrane matoma labai aukšto lygio kiekvieno Rezultato kokybės santrauka – žalios, geltonos arba raudonos spalvos mygtukas. Jei Rezultate yra įspėjimas (geltonas) arba klaida (raudonas), Rezultatų ekrano skirtuke „Quality Control“ (QC) (kokybės kontrolė) bus nurodyta šios problemos priežastis.

Rezultatus galima peržiūrėti (ir reikėtų peržiūrėti) atskirai, tačiau paprastai informatyviau pradėti nuo Rezultato, apibendrinto su visais kitais Recipiento rezultatais, peržiūros Recipiento ekrane. Norėdami peržiūrėti išsamią Rezultato informaciją, galite atverti Rezultato ekraną, paspaudę Mėginio identifikatorių laiko juostoje Recipiento ekrane (jei dar neturite šio Mėginio Rezultato, pateksite į Mėginio ekraną).

Taip pat galite gauti išsamią informaciją apie kiekvieną Rezultatą pagrindinėje Suvestinėje, pasirinkdami elementą užduočių sąraše ir „View Results“ (peržiūrėti rezultatus) iš meniu „Workflow“ (darbo eiga) arba meniu „View“ (peržiūra) pasirinkę „Results“ (rezultatai). Rezultatus taip pat galite pamatyti per Mėginių ekraną (dešiniuoju pelės klavišu spustelėkite elementą sąraše „Tests“ (tyrimai) ir pasirinkite „View Results“ (peržiūrėti rezultatus).

Rezultatų ekrane pateikiama išsami analizės informacija. Rodomas Suvestinės rezultatas. Jis bus rodomas skirtingai, pagal turimus metaduomenis.

- Jei tai yra „AlloSeq HCT“ stebėsenos rezultatas su žinomais genotipais, jau priskirtais Recipientui ir Donorui (-ams), Rezultate bus nurodytos tikslios mišinyje aptiktos kiekvienos šalies procentinės dalys, pvz., **Recipientas 0,5 %, Donoras 99,5 %**.
- Jei tai yra Recipiento genotipavimo Rezultatas prieš transplantaciją (t. y. Mėginys nustatomas kaip „genotipas“), programinė įranga automatiškai priskirs daugumos signalą Recipientui.

- Jei tai Donoro genotipo nustatymo Rezultatas prieš transplantaciją (t. y. Mėginys yra „genotipas“), programinė įranga automatiškai priskirs daugumos signalą Donorui.

Programinėje įrangoje daroma prielaida, kad „AlloSeq HCT“ Recipientų ir Donorų genotipas prieš transplantaciją bus nustatytas iš anksto. Jei turite vieną Partiją, kurioje yra prieš ir po transplantacijos paimtų Mėginių, pirmiausia bus analizuojami prieš transplantaciją paimti Mėginiai (genotipai), o paskui – visi po transplantacijos paimti Mėginiai.

„AlloSeq HCT“ darbo eigą galima apibendrinti taip:

1. Naudodami programinę įrangą sukurkite Recipiento ir Donoro (-ų) genotipų mėginius prieš transplantaciją ir pažymėkite šiuos mėginius kaip „genotipus“.
2. Naudokite tyrimų rinkinį šiems mėginiams paruošti ir jų sekai sudaryti, o tada – programinę įrangą rezultatams analizuoti.
3. Naudodami tyrimų rinkinį ir programinę įrangą, paruoškite ir išanalizuokite Recipiento stebėjimo po transplantacijos Mėginius.

Rezultatų santraukoje rodoma, koks Analizės tipas buvo naudojamas analizei atlikti. Yra du Analizės tipai.

- **Koduota.** Visų mėginių analizė atliekama automatiškai („AlloSeq HCT“ programinėje įrangoje daugiausia naudojama genotipavimui prieš transplantaciją).
    - Apima „nukrypimų aptikimo“ mechanizmą, kad būtų galima automatiškai išfiltruoti bet kokius statistinius nukrypimus
    - Apribojimai – negalima nustatyti, kas yra kas, negalima dirbti su keliais donorais ir yra „akloji dėmė“ 30–70 % diapazone (todėl naudojant „AlloSeq HCT“ rekomenduojama atlikti genotipo nustatymą ir vėlesnę tikslinę analizę).
- **Tikslinis.** Analizė atliekama automatiškai, jei (stebėjimo) mėginiai priklauso Recipientams su Recipiento ir (arba) Donoro genotipais.
    - Reikia gilių sekoskaitos duomenų.
    - Trūkumų nėra, tačiau prieš transplantaciją turi būti atliktas genotipo nustatymas.
    - Mėginiai / Rezultatai, kurie jau yra pažymėti kaip genotipas, **nebus** analizuojami šiuo metodu, bus atliekama tik koduota analizė

Rezultatus galima analizuoti iš naujo, vėl naudojant Partijos ekrane esantį mygtuką „Analyze Results“ (analizuoti rezultatus). Šiame ekrane yra parinktis „Perform Only Meta Analysis“ (atlikti tik metaanalizę) – tai reiškia, kad pagrindinė (ir ilgai užtrunkanti) fastq duomenų analizė dar kartą nebus vykdoma, o bus atliekama tik metaanalizė (koduota / tikslinė) po pagrindinės analizės. Tai gali būti naudinga, kai reikia greitai pakartotinai išanalizuoti stebėjimo mėginius, kurių genotipai iš anksto buvo nustatyti neteisingai.

Peržiūrint rezultatus, yra keletas ypač svarbių elementų:

- Pagrindinis Rezultatas su standartiniu nuokrypiu tarp visų informacinių žymenų
- Bendras apdorotų rodmenų skaičius – paprastai programinė įranga neleidžia, kad vieno Mėginio rodmenų skaičius viršytų 3 mln. rodmenų. Jei rodmenų bus mažiau nei 300 tūkst., bus pateikiamas kokybės įspėjamas (nurodantis galimą jautrumo praradimą dėl labai mažų verčių).
- Vidutinė žymens aprėptis – vidutinis fastq rodmenų, apimančių kiekvieną žymenį, kiekis
- QC (kokybės kontrolės) būklė – jei viskas gerai, bus parašyta „Passed“ (tinkama).
- QC priežastis – bus rodoma, jei QC būsena yra „Warning or Failed“ (įspėjimas arba netinkama). QC problemos priežastis galite peržiūrėti skirtuke „Quality Control“ (kokybės kontrolė).

Matuojami keli QC rodikliai. Jie skiriasi priklausomai nuo mėginio tipo ir atliekamos analizės tipo. Šie QC rodikliai apibendrinami toliau lentelėje.

Pastaba. Neatitikimų aptinkama, jei skirtumas tarp reikšmės ir vidurkio yra daugiau nei 5 kartus didesnis už standartinį skirtumą. Jei žymenys turi mažiau nei 50 rodmenų arba trečią reikšmingą signalą, lokuso lygio kokybės patikros rezultatas yra neigiamas.

Pavadinimas	Analizė	Mėginio tipas	Tinkama kokybė	Įspėjimas	Netinkama kokybė	Aprašymas
Per daug neatitikimų	Koduota	Visi	< 2	>= 2	> 10	Automatiškai nustatomi ir pašalinami statistiniai žymenų rezultatų neatitikimai. Jei yra per daug neatitikimų, tai gali būti mėginio užteršimo / sumaišymo požymis.
Žymenų teigiamų rezultatų filtrai	Koduota	Visi	>= 186	< 186	< 101	Bendras žymenų, kurie atitinka visus lokusų lygmens kokybės kontrolės rodiklius, skaičius. Minimali riba yra 92 % (186 žymenys), kad mėginio rezultatas būtų teigiamas.
Vienodumas	Koduota	Visi	>= 151	< 151	< 81	Kad mėginys atitiktų vienodumo filtrą, ≥ 75 % (151) iš 202 žymenų aprėptis turi būti didesnė nei 20 % vidurkio.
Vidutinė žymens aprėptis	Koduota	Visi	>= 400	< 400	< 250	Vidutinis rodmenų, apimančių kiekvieną žymenį, skaičius. Per mažai rodmenų lems jautrumo praradimą (įspėjimas) arba nepatikimą rezultatą (netinkama kokybė).
Bendras rodmenų skaičius	Koduota	Visi	> 300 000	<= 300 000	<= 150 000	Bendras apdorotų rodmenų skaičius. Per mažai rodmenų lems jautrumo praradimą (įspėjimas) arba nepatikimą rezultatą (netinkama kokybė).
Nėra unikalių žymeklių	Tikslinė	2 ir daugiau genotipų	> 1	Nėra	0	Nerasta vienos ar kelių šalių unikalių žymenų, stebėjimas neįmanomas.
Nepakankamai heterozigotinių žymenų	Tikslinė	2 ir daugiau genotipų	> 5	<= 5	Nėra	Įspėjimas, jei yra labai mažai unikalių heterozigotinių žymenų.
Netikėtas nesvarbus signalas	Tikslinė	2 ir daugiau genotipų, netrūksta genotipų	0	<= 2	> 2	Neturėtų būti reikšmingo (> 0,5 %) antrojo signalo pozicijose, kurios yra vienodai homozigotinės visoms šalims. Nustato užterštumą ir mėginių sumaišymą.
Heterozigotinis disbalansas	Tikslinė	2 ir daugiau genotipų, netrūksta genotipų	0	<= 2	> 2	Visų šalių identiškai heterozigotinių pozicijų rezultatai turėtų būti 50:50. Didelis nesubalansuotų žymenų skaičius (už 70:30 intervalo ribų) gali rodyti, kad mėginiai sumaišyti arba užteršti.
Per didelis standartinis nuokrypis	Tikslinė	Nėra genotipų trūkumo	<= 5	> 5	> 10	Didelis rezultatų standartinis nuokrypis yra netikėtas ir gali rodyti, kad mėginiai sumaišyti, užteršti arba trūksta informacijos apie genotipą.
Triukšmas	Metaanalizė	Genotipas	< 0,5 %	>= 0,5 %	>= 25%	Tikimasi, kad iki transplantacijos 100 % genotipų bus recipiento arba donoro. Mišrūs mėginiai bus netinkami naudoti kaip genotipas.
Nepakankamas genotipų skaičius	Tikslinė	3 ir daugiau šalių	<= 1	Nėra	> 1	Mėginiuose, kuriuose yra dviejų ar daugiau donorų medžiagos, gali trūkti ne daugiau kaip vieno genotipo. Norint atlikti analizę, reikia daugiau genotipavimo informacijos.

Pagal numatytąsias nuostatas bus rodomi tik informatyviausi VNP. Jei norite, galite pasirinkti kitas VNP sąrašo filtravimo parinktis, įskaitant visų VNP rezultatų peržiūrą.
VNP bus laikomas informatyviu vienu iš dviejų atvejų:

- Jis yra heterozigotinis vienai šaliai ir identiškai homozigotinis visoms kitoms šalims, pavyzdžiui, AT – recipientui, AA – visiems donorams.
- Jis yra homozigotinis vienai šaliai ir priešingai homozigotinis visoms kitoms šalims, pavyzdžiui, TT – vienam donorui, AA – recipientui ir visiems kitiems donorams.

Skirtuke „Statistics“ (statistika) pateikiama papildomų duomenų parinkčių tiems, kurie labiau domisi bioinformatikos aspektais.

Kai Rezultatai jus tenkina, galite juos nusiųsti laboratorijos direktoriui, kad patvirtintų ir eksportuotų Rezultatus. Rezultatus galima eksportuoti CSV, TSV arba PDF formatais. Galima eksportuoti kelis Rezultatų rinkinius kartu iš pagrindinės Suvestinės arba iš Užduočių sąrašo.

5. Trikčių šalinimas

Jei visi kokybės kontrolės rodikliai pažymėti žaliai (tai reiškia, kad kokybė tinkama), rezultatų trikčių ieškoti nereikia.

Geltona (įspėjamoji) kokybės kontrolės rodiklių spalva rodo, kad rezultatą reikia patikrinti rankiniu būdu. Šiuo atveju rezultatai nebus paveikti ir apie juos galima pranešti. Įspėjamąja spalva pažymėti kokybės kontrolės rodikliai taip pat gali suteikti pagrindinę informaciją, jei kiti kokybės kontrolės rodikliai yra netinkamos kokybės.

QC rodiklių raudona spalva (netinkama kokybė) rodo, kad rezultatas kelia abejonių. Kai kuriais atvejais vis dar gali būti įmanoma priimti ir pranešti rezultatus su QC trūkumais; žr. toliau pateiktus pavyzdžius.

Siekiant maksimalaus jautrumo, reikalinga gili sekoskaita

„AlloSeq HCT“ negali užtikrinti aukščiausio jautrumo lygio, jei paruošus mėginį ir nustatant jo seką buvo sukurta nepakankamai sekoskaitos duomenų. Šiuo atveju mėginys bus pažymėtas kokybės kontrolės klaida dėl Vidutinės žymens aprėpties ir (arba) Bendro rodmenų skaičiaus QC rodiklių. Vis dėlto jei rezultatas yra didesnis nei 1 %, joks jautrumo sumažėjimas neturės didelės įtakos ir apie rezultatą greičiausiai vis tiek bus galima pranešti (išskyrus atvejus, kai netinkamą kokybę rodo ir kitas kokybės kontrolės rodiklis). Jei rezultatas mažesnis nei 1 %, rekomenduojama pakartoti mėginį (pakartokite mėginio paruošimą nuo tyrimo protokolo pradžios).

Triukšmingi genotipai

Prieš transplantaciją paimtas genotipo mėginys gali neatitikti Triukšmo kokybės kontrolės rodiklio, o tai reiškia, kad mėginys nėra 100 % recipiento arba donoro, kaip tikėtasi. Šiuo atveju šį mėginį vis dar galima naudoti kaip genotipą, nes programinė įranga leidžia tikrą toleranciją. Prieš naudojant šį mėginį kaip genotipą vėlesniems stebėjimo mėginiams, rekomenduojama patikrinti genotipą naudojant funkciją „View Genotype“ (peržiūrėti genotipą) Recipiento ekrane.

Triukšminga partija

Jei keli partijos genotipo mėginiai neatitinka Triukšmo kokybės kontrolės rodiklio ir (arba) keli stebėjimo mėginiai neatitinka kokybės pagal Netikėto nesvarbaus signalo kokybės kontrolės rodiklį tikėtina, kad taip yra dėl indekso užteršimo, kurį sukelia tų pačių mėginių indeksų naudojimas kaip ir ankstesniame sekos nustatymo bandyme, ir (arba) sekvenavimo priemonės nevalymas tarp ciklų pagal naudojimo instrukciją. Tokiu atveju genotipai vis tiek bus tinkami naudoti ir apie stebėjimo mėginius su didesniais rezultatais (> 10 %) greičiausiai vis tiek bus galima pranešti, tačiau dėl tokio mažo užterštumo reikės pakartoti stebėjimo mėginius, kurių rezultatai maži.

Mėginio užterštumas

Netikėto nesvarbaus signalo kokybės kontrolės rodikliu galima aptikti daugiau nei 0,5 % užterštumą mėginyje. Šis kokybės kontrolės rodiklis galimas tik tuo atveju, jei žinomi visi genotipai prieš transplantaciją. Jei rezultatas yra mažas ir šis kokybės kontrolės rodiklis rodo netinkamą kokybę, mėginys turėtų būti kartojamas.

Mėginių sumaišymas

Jei Netikėto nesvarbaus signalo kokybės kontrolės rodiklis rodo netinkamą kokybę, be to, yra Heterozigotinis disbalansas ir (arba) per didelis Standartinis nuokrypis, tai greičiausiai nėra tinkamas mėginys recipientui, taigi mėginiai buvo sumaišyti. Reikėtų atkreipti dėmesį į kitus tos pačios Partijos mėginius, nes galėjo būti atsitiktinai sukeisti du mėginiai. Gali būti įmanoma išspręsti sumaišymo problemą nekartojant procedūros su mėginiais, tačiau rekomenduojame susisiekti su „CareDx“ technine pagalba.

Failed

Name	Status	Algorithm	Sample Type	Value Detected	Pass Threshold	Warn Threshold	Fail Threshold	Description
Unexpected Minor Signal		Targeted	2+ Genotypes	55	0	<=2	>2	There should be no significant (>0.5%) second signal in positions that are identically homozygous for all parties. Detects contamination and sample mix ups.
Heterozygous Imbalance		Targeted	2+ Genotypes	37	0	<=2	>2	Identically heterozygous positions for all parties should be 50:50 in the result. High numbers of imbalanced markers (outside 70:30 range) is a possible indication of sample mix up or contamination.
Standard Deviation Too High		Targeted	All	30.08	<=5	>5	>10	A high standard deviation in the results is unexpected and may be an indication of sample mix up, contamination or missing genotype information.

6. Kontaktiniai duomenys

Gamintojas:

„CareDx Pty Ltd“,
20 Collie Street, Fremantle, WA, Australija, 6160.
Tel. +61-8-9336-4212
El. paštas: orders-aus@caredx.com
Interneto svetainė: http://www.caredx.com

Platintojai:

Azijos ir Ramiojo vandenyno regionas (APAC)
„CareDx Pty Ltd“,
20 Collie Street, Fremantle, WA, Australija, 6160.
Tel. +61-8-9336-4212e
El. paštas: orders-aus@caredx.com
Interneto svetainė: http://www.caredx.com

Europa, Artimieji Rytai ir Afrika (EMEA)
„CareDx AB“,
Franzéngatan 5, SE-112 51 Stockholm, Švedija.
Tel. +46-8-508 939 00
Faks. +46-8-717 88 18
El. paštas: orders-se@caredx.com
Interneto svetainė: http://www.caredx.com/

Amerikos žemynai
„CareDx Lab Solutions Inc.“,
901 S. Bolmar St., Suite R, West Chester, PA 19382
Tel. 1-877-OLERUP1
Faks. 610-344-7989
El. paštas: orders-us@caredx.com
Interneto svetainė: http://www.caredx.com

Techninė pagalba ir pranešimai apie rimtus incidentus:
El. paštas: techsupport-labproducts@caredx.com

Apie visus rimtus su priemone susijusius incidentus reikia pranešti gamintojui ir valstybės narės, kurioje įsisteigęs naudotojas ir (arba) gyvena pacientas, kompetentingai institucijai.

Jei reikia daugiau informacijos, žr. „CareDx“ interneto svetainę (https://www.caredx.com/contact-us/).

Susiję produktai:
„AlloSeq HCT“

Metodo istorija

Versija	Data	Keitimas (IFU108-LT v1.0 yra pagrindinio teksto anglų kalba IFU108_AlloSeq HCT Software v2 IFU CE IVD v7.0 vertimas)
IFU108 v1.0	2022 m. kovo 31 d.	Pirmoji „AlloSeq HCT“ programinės įrangos CE naudojimo instrukcijos versija yra.
IFU108 v2.0	2022 m. gegužės 2 d.	Pridėti importuotojo duomenys (simbolis). Apribojimai perkelti į 1.2 skyrių. Pridėtas 2 skyrius. Pašalintas nepakankamo homozigotinių žymenų skaičiaus kokybės kontrolės rodiklis. Pridėtas 5 skyrius apie trikčių šalinimą.
IFU108 v2.1	2022 m. gegužės 11 d.	Atnaujinta, kad būtų ištaisytas „Qarad“ pašto kodas.
IFU108 v3.0	2022 m. rugpjūčio 30 d.	2.1.1 leidimas. Pašalintas dvigubos pirminės analizės apribojimas, patikslintos 3 kokybės kontrolės rodiklių slenkstinės vertės 10 skyrius: pridedami budrumo ataskaitų teikimo reikalavimai.
IFU108 v4.0	2023 m. liepos 25 d.	Atnaujintas 1.2 skyrius „Apribojimai“ – genotipai, reikalingi stebėjimo mėginiams su susijusiais donorais. Atnaujintas 4.1 skyrius „Recipientas ir donorai“ – donoro informacija, reikalingas giminystės ryšys, jei trūksta kokių nors genotipų. Į 4.4 skyrių „Partijos“ įtraukta pasirinktinė plokštelės žemėlapio funkcija.
IFU108 v5.0	2023 m. spalio 24 d.	CH-REP duomenų papildymas.
IFU108 v6.0	2024 m. sausio 11 d.	Atnaujintas 1.3 skyrius „Apribojimai“ – jei genotipas nežinomas, įtakos rezultatams gali turėti ligos atkrytis arba heterozigotiškumo praradimas.
IFU108 v7.0	2024 m. vasario 9 d.	Pridėtas paaiškinimas dėl donoro mėginių ID.
IFU108-LT v1.0	2024 m. kovo 18 d.	Pirmasis vertimas į lietuvių kalbą.