

VeriSeq NIPT Solution v2

Guia do Software



A utilização deste produto está coberta por patentes da Illumina, Inc. e patentes licenciadas à Illumina, Inc. O pagamento deste produto confere o direito limitado e intransmissível de utilizar este produto com vista à sua utilização prevista, em conformidade com a respetiva documentação e quaisquer outros termos e condições associados. Pode consultar uma lista representativa e não exaustiva dessas patentes em www.illumina.com/patents. Não se confere qualquer outro direito ao abrigo de qualquer outra patente, nem para qualquer outra utilização, seja de forma expressa, implícita ou por estoppel.

Este documento e respetivo conteúdo são propriedade da Illumina, Inc. e suas afiliadas ("Illumina") e destinam-se unicamente a utilização contratual por parte dos clientes relativamente à utilização do(s) produto(s) descrito(s) no presente documento e para nenhum outro fim. Este documento e respetivo conteúdo não podem ser utilizados ou distribuídos para qualquer outro fim e/ou de outra forma transmitidos, divulgados ou reproduzidos por qualquer via, seja de que natureza for, sem a autorização prévia por escrito da Illumina. A Illumina não concede qualquer licença ao abrigo da sua patente, marca comercial, direito de autor ou direitos de jurisprudência nem direitos semelhantes de quaisquer terceiros por via deste documento.

As instruções contidas neste documento têm de ser estrita e explicitamente seguidas por pessoal qualificado e com a devida formação para garantir a utilização adequada e segura dos produtos aqui descritos. Todo o conteúdo deste documento tem de ser integralmente lido e compreendido antes da utilização dos referidos produtos.

A NÃO OBSERVÂNCIA DA RECOMENDAÇÃO PARA LER INTEGRALMENTE E SEGUIR EXPLICITAMENTE TODAS AS INSTRUÇÕES AQUI CONTIDAS PODE RESULTAR EM DANOS NOS PRODUTOS, LESÕES EM PESSOAS, INCLUINDO NOS UTILIZADORES OU OUTROS, E EM DANOS MATERIAIS, E IRÁ ANULAR QUALQUER GARANTIA APLICÁVEL AOS PRODUTOS.

A ILLUMINA NÃO ASSUME QUALQUER RESPONSABILIDADE RESULTANTE DA UTILIZAÇÃO INADEQUADA DOS PRODUTOS AQUI DESCRITOS (INCLUINDO PARTES DOS MESMOS OU DO SOFTWARE).

© 2019 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados.

Todas as marcas comerciais são propriedade da Illumina, Inc. ou dos respetivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte www.illumina.com/company/legal.html.

Histórico de revisão

Documento	Data	Descrição da alteração
Documento N.º 1000000067940 v02	Abril de 2019	Foi adicionado um detalhe ao NIPT e relatórios complementares por motivos de conformidade com os materiais de formação.
Documento N.º 1000000067940 v01	Fevereiro de 2019	Lançamento do Guia do Software VeriSeq NIPT Solution v2 para utilização por parte do cliente.
Documento N.º 1000000067940 v00	Novembro de 2018	Lançamento inicial apenas para utilização interna.

Índice

Histórico de revisão	iii
Capítulo 1 VeriSeq NIPT Solution v2	1
Introdução	1
Arquitetura do sistema	2
Capítulo 2 VeriSeq NIPT Workflow Manager	4
Introdução	4
VeriSeq NIPT Method	4
VeriSeq NIPT Batch Manager	4
VeriSeq NIPT Services	10
Capítulo 3 Sequenciador de nova geração	13
Introdução	13
Pool de sequência	13
Integração do armazenamento de dados	13
Capacidade de débito de análise	14
Limitações ao tráfego de rede	14
VeriSeq NIPT Local Run Manager	14
Capítulo 4 VeriSeq NIPT Assay Software v2	15
Introdução	15
Componentes do Assay Software	15
Interface de utilizador da Web	19
Análise e geração de relatórios	28
VeriSeq Onsite Server v2	30
Apêndice A Indicadores de CQ	34
Quantificação de indicadores e limites de CQ	34
Indicadores e limites de CQ de sequenciação	34
Apêndice B Relatórios do sistema	36
Introdução	36
Resumo dos relatórios do sistema	37
Eventos de geração de relatórios	38
Relatórios de resultados e notificações	40
Relatórios de processos	53
Apêndice C Resolução de problemas	60
Introdução	60
Notificações do Assay Software	61
Problemas do sistema	68

Testes de processamento de dados	68
Apêndice D Recursos adicionais	70
Apêndice E Acrónimos	71
Assistência técnica	72

Capítulo 1 VeriSeq NIPT Solution v2

Introdução	1
Arquitetura do sistema	2

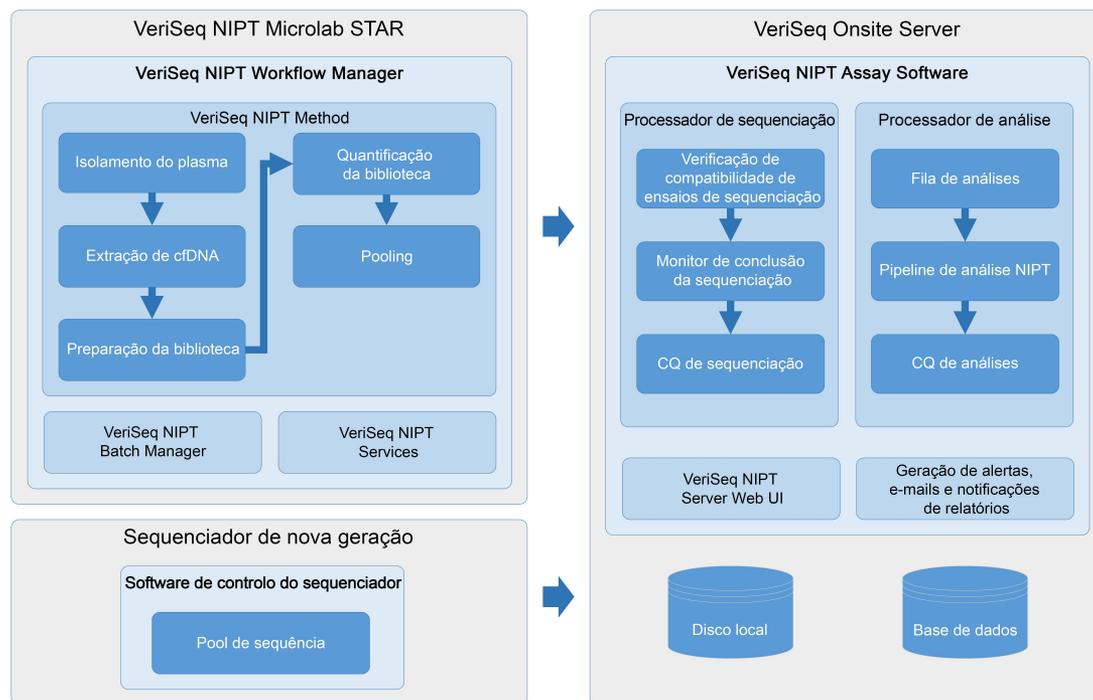
Introdução

O VeriSeq NIPT Solution v2 é um teste de diagnóstico *in vitro* para ser utilizado no rastreio com base em sequenciação para a deteção de aneuploidias fetais de amostras maternas de sangue periférico total em mulheres grávidas com pelo menos 10 semanas de gestação. O teste oferece duas opções para tipos de rastreio: básico e genoma. O rastreio básico fornece informações sobre o estado de aneuploidia dos cromossomas 21, 18, 13, X e Y apenas. Os rastreios de genoma fornecem duplicações e eliminações parciais de todos os autossomas e estado de aneuploidia de todos os cromossomas. Ambos os tipos de rastreio oferecem uma opção para solicitar o relatório de aneuploidia do cromossoma sexual (SCA). Com qualquer um dos tipos de rastreio, este produto não pode ser utilizado como a única base de diagnóstico ou de outras decisões de gestão da gravidez.

A arquitetura do sistema VeriSeq NIPT Solution v2 inclui:

- ▶ **VeriSeq NIPT Microlab STAR (ML STAR)** — Um instrumento de manuseamento de líquidos automático que utiliza o VeriSeq NIPT Workflow Manager e VeriSeq NIPT Sample Prep Kits para preparar e controlar amostras de biblioteca. O ML STAR prepara amostras destinadas a análise com o VeriSeq NIPT Assay Software v2 de acordo com as Instruções de Utilização disponíveis no *Folheto informativo do VeriSeq NIPT Solution v2 (documento n.º 1000000078751)*.
- ▶ **Next-Generation Sequencer (NGS)** (Sequenciador da nova geração) — Um instrumento de sequenciação de genomas que permite a sequenciação e a geração de clusters no instrumento. O software de controlo de sequenciação fornece passos de configuração para configurar um ensaio de sequenciação e gera leituras de sequenciação para todas as amostras do pool de biblioteca quantificado.
- ▶ **VeriSeq Onsite Server v2** — Um servidor que aloja o VeriSeq NIPT Assay Software v2 e armazena os dados para analisar dados de sequenciação de extremidades emparelhadas. O Assay Software monitoriza continuamente e analisa dados de sequenciação e produz resultados de amostras, relatórios de processos e notificações.

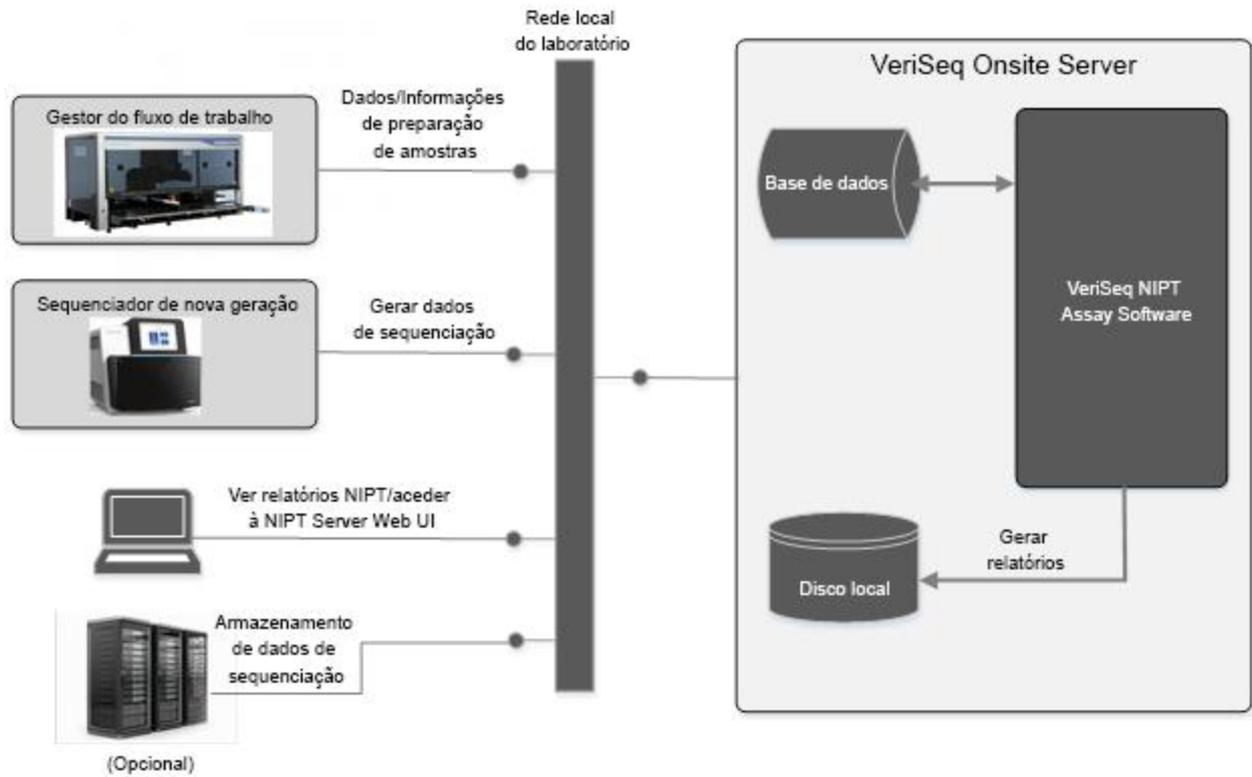
Figura 1 Componentes do VeriSeq NIPT Solution v2



Arquitetura do sistema

O VeriSeq NIPT Solution v2 utiliza a Rede local (LAN) do laboratório para ligar todo o equipamento do sistema com a mesma sub-rede. A LAN permite um posicionamento flexível do equipamento e débito expansível através da ligação de sequenciadores adicionais e/ou de estações de trabalho ML STAR. A [Figura 2](#) fornece uma descrição geral.

Figura 2 Descrição geral do VeriSeq NIPT Solution v2



Capítulo 2 VeriSeq NIPT Workflow Manager

Introdução	4
VeriSeq NIPT Method	4
VeriSeq NIPT Batch Manager	4
VeriSeq NIPT Services	10

Introdução

O VeriSeq NIPT Workflow Manager está instalado no ML STAR e fornece uma interface gráfica do utilizador simples e intuitiva, que automatiza a preparação de amostras de sangue de acordo com o VeriSeq NIPT Solution v2. O Workflow Manager (Gestor do fluxo de trabalho) mantém uma ligação de dados ao VeriSeq Onsite Server v2 para fins de processamento de dados, armazenamento, controlo de amostras e aplicação da lógica de fluxo de trabalho.

O Gestor do fluxo de trabalho fornece acesso a três módulos de software diferentes, também conhecidos como métodos:

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

VeriSeq NIPT Method

O VeriSeq NIPT Method encaminha o processamento automático das amostras no ML STAR. O método executa os seguintes passos de processamento:

- ▶ **Plasma Isolation** (Isolamento de plasma) – Transfere 1 ml de plasma isolado de um tubo de colheita de sangue. A lógica do processo cria um lote com o Assay Software. Cada lote contém dados de amostra incluindo o código de barras da amostra, tipo de amostra, tipo de rastreio, a posição do poço e a etiqueta de relatório sobre sexo.
- ▶ **cfDNA Extraction** (Extração cfDNA) – Purifica o cfDNA de 900 µl de plasma.
- ▶ **Library Preparation** (Preparação de biblioteca) – Cria bibliotecas de cfDNA purificado pronto para sequenciação. As bibliotecas incluem índices únicos para cada amostra do lote.
- ▶ **Library Quantification** (Quantificação de biblioteca) – Determina a concentração de cfDNA com um corante fluorescente intercalado no formato de microplaca de 384 poços. A placa inclui uma curva padrão de ADN identificada e duplicados de cada amostra no lote. O sistema utiliza as leituras de fluorescência não processadas do leitor da microplaca e calcula as concentrações da amostra com base na curva padrão.
- ▶ **Pooling and Normalization** (Pooling e normalização) – Combina bibliotecas em pools únicos para sequenciação. O sistema utiliza as concentrações anteriormente determinadas para calcular a transferência adequada de volumes de cada amostra no pool pronto para sequenciação.

VeriSeq NIPT Batch Manager

O VeriSeq NIPT Batch Manager gere o estado das amostras, dos lotes e dos pools através da interface do utilizador. O sistema permite o controlo de amostras em múltiplos sistemas e sequenciadores de manuseamento de líquidos e através do pipeline de análise. Para mais informações sobre procedimentos de processamento de amostras, consulte o *Folheto informativo do VeriSeq NIPT Solution v2 (documento n.º 1000000078751)*.

Pode gerir amostras no fluxo de trabalho através de três categorias diferentes, designadas como objetos:

Objeto	Descrição
Amostra	Resultado de uma recolha única de 1 ml de plasma de um único tubo de sangue. As amostras estão associadas ao código de barras do tubo de sangue (o código de barras da amostra) e ao lote.
Lote	Placa de 24, 48 ou 96 amostras processadas através do processo de extração de cfDNA e preparação de biblioteca.
Pool	O volume normalizado e diluído de bibliotecas de duplo índice e prontas para sequenciador. Cada pool contém até 48 amostras.

Durante o processamento, as seguintes ações podem ser aplicadas a objetos:

Ação	Objeto	Relatório gerado	Descrição
Invalidação	Amostra	Sample Invalidation (Invalidação da amostra)	A amostra identificada pelo utilizador já não é válida para processamento. Nenhum resultado de teste é gerado para amostras invalidadas. Exemplo: contaminação cruzada de células sanguíneas visível durante o isolamento do plasma.
	Lote	Batch Invalidation (Invalidação do lote)	O lote identificado pelo utilizador já não é válido. Se a invalidação do lote ocorrer antes da geração do pool, todas as amostras são invalidadas. Exemplo: queda de placa ou manuseamento incorreto da mesma.
	Pool	Pool Invalidation (Invalidação do pool)	O pool identificado pelo utilizador já não é válido. Depois de duas invalidações de pool, todas as amostras no pool são invalidadas. Exemplo: volume total do pool utilizado durante duas falhas de sequenciação.
Falha de CQ	Amostra	Sample Invalidation (Invalidação da amostra)	O VeriSeq NIPT Solution v2 identificou a amostra automaticamente como inválida devido a falha de um indicador específico de CQ ou uma falha detetada no sistema de manuseamento de líquidos.
	Lote	Batch Invalidation (Invalidação do lote)	O VeriSeq NIPT Solution v2 identificou todo o lote automaticamente como inválido. Exemplo: falha do sistema durante o manuseamento de líquidos.
Cancelamento	Amostra	Sample Cancellation (Cancelamento da amostra)	A direção do laboratório identificou a amostra como cancelada. Nenhum resultado de teste gerado.
Editar atributos da amostra	Amostra	Sex Reporting (Relatório sobre sexo)	Relatório sobre sexo identificado pelo utilizador como Yes (Sim), No (Não) ou SCA. No caso de um relatório sobre sexo da amostra designado como Yes (Sim), é gerado o sexo da amostra. No caso de um relatório sobre sexo da amostra designado como No (Não), não é gerado o sexo da amostra. No caso de um relatório sobre sexo da amostra designado como SCA, são comunicadas apenas as aneuploidias dos cromossomas sexuais.
	Amostra	Sample Type (Tipo de amostra)	Tipo de amostra identificado pelo utilizador como Singleton (Único), Twin (Gêmeos), Control (Controlo) ou No Template Control (NTC) (Controlo sem modelo, NTC). A designação do tipo de sexo da amostra afeta diretamente a análise do teste. Para garantir resultados de teste precisos, o tipo da amostra tem de ser preciso.
	Amostra	Screen Type (Tipo de rastreio)	O tipo de rastreio identificado pelo utilizador como básico (21, 18, 13, X e Y apenas) ou genoma (todos os cromossomas).

Após uma invalidação, uma falha de CQ ou uma ação de cancelamento, o objeto não continuará a ser processado. Os sistemas de gestão de informações de laboratório (LIMS) podem utilizar relatórios de invalidação de amostras para indicar o reprocessamento de amostras a partir do tubo de colheita de sangue.

Entrada de ficha de amostras

A ficha de amostras de entrada fornece informações sobre a amostra relacionadas com o paciente, incluindo o tipo de amostra e o estado do relatório dos cromossomas sexuais. O sistema requer informações completas sobre a amostra antes de poder gerar pools de sequenciação.



ATENÇÃO

Para evitar erros, não inclua quaisquer informações de amostra NTC na folha de amostras. Exclua-as totalmente e não inclua nenhuma linha para essas amostras. O sistema aplica automaticamente códigos de barras, tipo de rastreio, tipo de amostra e relatório sobre sexo para NTCs.

A ficha de amostras de entrada tem de ser um ficheiro de texto separado por tabulações *.txt. Os nomes dos cabeçalhos das colunas no ficheiro têm de corresponder aos nomes dos cabeçalhos das colunas exatamente como aparecem na seguinte tabela.

Cabeçalho da coluna	Tipo de dados	Requisito	Descrição
batch_name	Texto/em branco	Obrigatório	Indica o nome do lote da amostra. Tem de corresponder ao nome do lote introduzido no método de chamada (Workflow Manager) para confirmar que a ficha de amostras de entrada está associada ao lote correto. Máximo de 26 caracteres. Pode deixar a coluna em branco. NOTA: as fichas de amostra sem uma coluna batch_name (nome de lote) não serão aceites.
sample_barcode	Texto	Obrigatório	Códigos de barras dos tubos de amostras de sangue carregados no ML STAR. Se for utilizado um valor inteiro como código de barras da amostra, este não deve ultrapassar os 15 dígitos. Um código de barras alfanumérico da amostra pode ter no máximo 32 caracteres. Utilize apenas números, letras, hífenes (-) e sublinhados (_).
sample_type	Texto	Obrigatório	Indica o tipo de amostra para análise. Os valores permitidos são "Singleton" (Único), "Twin" (Gêmeos), "Control" (Controlo) e "NTC".
sex_chromosomes	Texto	Obrigatório	Indica o relatório de cromossomas sexuais do feto. Os valores permitidos são "yes" (sim) (reportar), "no" (não) (não reportar) e "sca" (reportar apenas para aneuploidias do cromossoma sexual).
screen_type	Texto	Obrigatório	Indica o tipo de rastreio para análise. Os valores permitidos são "basic" (básico) e "genomewide" (genoma).

A folha de amostras de entrada é carregada durante o Isolamento do plasma ou Pooling e pode ser carregada utilizando o Batch Manager. As informações da amostra são confirmadas durante o processo de carregamento da amostra. As amostras carregadas durante o isolamento do plasma podem incluir uma lista completa de amostras ou um subconjunto de amostras. Durante o pooling, o sistema solicita quaisquer informações de amostras em falta não carregadas durante o isolamento do plasma.

O utilizador pode controlar o carregamento de amostras, quer da totalidade das amostras do lote (para lotes gerados pelo LIMS cliente) quer para repetições de testes (com as restantes posições abertas preenchidas com amostras disponíveis).

Selecione uma das três formas de utilizar fichas de amostras:

- ▶ Lotes predefinidos (lotes criados pelo LIMS)
- ▶ Criação de lotes ad-hoc (lotes criados pelo Workflow Manager)
- ▶ Criação de lotes híbridos (amostras de prioridade do LIMS)

Lotes predefinidos — Lotes criados pelo LIMS

O LIMS cliente pode criar os lotes antes de iniciar o processamento de amostras. Nos lotes predefinidos, todas as amostras já estão associadas a um lote antes do carregamento para o ML STAR. A ficha de amostras carregada durante o isolamento do plasma inclui cada amostra do lote juntamente com todas as informações da amostra. As fichas de amostra dos lotes criados pelo LIMS têm de incluir a coluna de ID do lote para garantir que o nome de ID do lote correto foi manualmente introduzido no Workflow Manager no início do processamento.

Esta abordagem tem a vantagem de permitir ver as amostras exatas carregadas, porque o sistema requer que todas as amostras da ficha de amostras constem do lote. Não são necessárias informações adicionais e o laboratório pode avançar para o relatório final sem entrada de dados adicionais.

- ▶ **Vantagens** — Permite o controlo total do conteúdo do lote. Evita o carregamento de amostras não desejadas.
- ▶ **Desvantagens** — Requer um sistema para a criação de lotes do inventário (LIMS avançado). Pode requerer que o pessoal do laboratório obtenha as amostras corretas do armazenamento ou requerer um sistema de armazenamento de amostras avançado.

Criação de lotes ad-hoc — Lotes criados

Pode criar os lotes no laboratório ao recolher fisicamente tubos de amostra e carregá-los para o ML STAR durante o isolamento do plasma. Não é necessária a associação prévia de amostra para lote e o utilizador no laboratório determina as amostras a incluir no lote.

Quando solicitado, o utilizador seleciona **No Sample Sheet** (Nenhuma ficha de amostras) durante o isolamento do plasma. O Workflow Manager associa as amostras carregadas com o ID de lote introduzido manualmente e gera um relatório de iniciação de lote. Pode enviar o relatório para o sistema de laboratório LIMS para indicar que o lote foi criado e fornecer uma lista das amostras associadas.

- ▶ **Vantagens** — Não é necessário um LIMS ou uma ficha de amostras. Os utilizadores podem modificar o relatório de iniciação de lote com as informações sobre o tipo de amostra, o tipo de rastreio e o relatório sobre sexo para carregamento durante o pooling. Flexível, pode adicionar qualquer amostra a qualquer momento.
- ▶ **Desvantagens** — Não existe um controlo automático sobre quais as amostras a incluir no lote. O utilizador pode carregar uma amostra não desejada. Tem de carregar os dados da amostra durante o pooling.

Criação de lotes híbridos — Amostras de prioridade do LIMS

O sistema LIMS cliente pode criar um lote com um subconjunto das amostras predefinidas. As amostras restantes no lote são preenchidas pelo Workflow Manager com as amostras carregadas. Neste caso, o utilizador carrega uma ficha de amostras parcial durante o isolamento do plasma. Mais uma vez, os laboratórios são incentivados a preencher a coluna de ID do lote se pretenderem predefinir os nomes dos lotes. Por vezes, o utilizador pode optar por carregar uma ficha de amostras vazia que só contenha o nome do lote para verificar o nome do lote introduzido manualmente. Esta estratégia funciona bem para dar

prioridade a amostras de valor elevado, como repetições de testes, para garantir que estas amostras de valor elevado são incluídas no ensaio. A decisão de incluir determinadas amostras no lote é determinada parcialmente pelo LIMS e parcialmente pelo utilizador no laboratório.

- ▶ **Vantagens** — Mantém a flexibilidade da estratégia de criação de lotes ad-hoc, ao mesmo tempo que conserva a capacidade de determinar o nome do lote e algumas das amostras do lote (por exemplo, repetição de testes).
- ▶ **Desvantagens** — Não determina totalmente as amostras. Por conseguinte, uma amostra não desejada ainda pode ser carregada. Esta estratégia ainda requer informações sobre algumas amostras durante o pooling.

Editar atributos da amostra

Em qualquer altura antes de iniciar um ensaio de sequenciação, pode utilizar o VeriSeq NIPT Batch Manager para alterar atributos de amostra individuais do relatório do cromossoma sexual, do tipo de rastreio e do tipo de amostra.

- 1 Aceda ao Batch Manager (Gestor de lotes).
- 2 Introduza o ID do lote e o Nome de utilizador ou as iniciais do operador e seleccione **OK**.
- 3 No diagrama de placas do lote, seleccione a posição do poço associada à amostra pretendida.
- 4 Confirme se amostra correta é apresentada e, em seguida, seleccione um atributo Sample Type (Tipo de amostra) na lista pendente Sample Type (Tipo de amostra).
- 5 Seleccione um atributo Sex Reporting (Relatório sobre sexo) na lista pendente Sex Reporting (Relatório sobre sexo).
- 6 Seleccione um atributo Screen Type (Tipo de análise) na lista pendente Screen Type (Tipo de rastreio).
- 7 Seleccione **Edit** (Editar).

Invalidação de amostras, lotes e pools

Consoante o passo do processamento de amostras, o utilizador pode invalidar uma amostra individual, um lote ou um pool de amostras. Após a invalidação, a amostra, o lote ou o pool não serão processados.

Em qualquer altura antes de gerar um relatório de teste, utilize o VeriSeq NIPT Method ou o Batch Manager (Gestor de lotes) para invalidar uma ou mais amostras.

Invalidação com o VeriSeq NIPT Method

- 1 Durante o processamento de amostras, na janela Well Comments (Comentários do poço) no fim de cada processo do Workflow Manager (Gestor do fluxo de trabalho), seleccione os poços individuais para falhar e seleccione **OK**.
- 2 Seleccione pelo menos uma anotação nos menus pendentes ou seleccione a caixa de verificação **Other** (Outro) e introduza um comentário.
- 3 Seleccione a caixa de verificação **Fail Sample** (Falhar amostra) e seleccione **OK**.
- 4 Confirme se o sistema deve falhar a amostra.

Invalidação com o Batch Manager (Gestor de lotes)

Utilize o Batch Manager (Gestor de lotes) para invalidar:

- ▶ uma amostra

- ▶ um lote antes de o passo de Pool estar concluído.
- ▶ um pool de amostras depois de o passo de Pool estar concluído e antes de gerar um relatório de teste.



NOTA

Feche quaisquer métodos atualmente em execução antes de executar o Batch Manager (Gestor de lotes).

Aceder ao Batch Manager (Gestor de lotes)

- 1 Para aceder ao Batch Manager, efetue uma das seguintes ações:
 - ▶ No App Launcher (Iniciador de aplicações), selecione **VeriSeq NIPT Batch Manager**.
 - ▶ Num computador ligado à rede, aceda a C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT e abra o ficheiro de método Batch Manager (**VeriSeqNIPT_Batch_Manager.med**) com o Hamilton Run Controller.

Invalidação da amostra

- 1 Aceda ao Batch Manager (Gestor de lotes).
- 2 Introduza o ID do lote e o Nome de utilizador ou as iniciais do operador e selecione **OK**.
- 3 No diagrama de placas do lote, selecione a posição do poço associada à amostra falhada.
- 4 Confirme se a amostra correta é apresentada e selecione **Invalidate Sample** (Invalidar amostra).
- 5 Introduza um motivo para a falha e selecione **Invalidate** (Invalidar).
No diagrama de placas do lote, a opção para invalidar amostra muda de verde para vermelho e a etiqueta de estado muda de válido para falha.

Invalidação do lote

- 1 Aceda ao Batch Manager (Gestor de lotes).
- 2 Introduza o ID do lote e o Nome de utilizador ou as iniciais do operador e selecione **OK**.
- 3 No diagrama de placas do lote, selecione **Invalidate Batch** (Invalidar lote).
- 4 Introduza um motivo para a falha e selecione **Invalidate** (Invalidar).
No diagrama de placas do lote, se não existirem pools válidos para o lote, todas as amostras mudam de verde para vermelho. Os pools válidos do lote permanecem válidos.

Invalidação do pool

- 1 Aceda ao Batch Manager (Gestor de lotes).
- 2 Introduza o ID do lote e o Nome de utilizador ou as iniciais do operador e selecione **Pool Manager** (Gestor de pools).
- 3 Digitalize o código de barras do pool.
- 4 Introduza o Nome de utilizador ou as iniciais do operador e selecione **OK**.
- 5 Introduza um motivo para a falha e selecione **Invalidate** (Invalidar).

Carregar folha de amostras

O utilizador pode carregar uma folha de amostras com as informações da amostra através do Batch Manager. Ao utilizar esta funcionalidade, o utilizador pode, por exemplo, carregar ou alterar as informações das amostras em conjuntos de grandes dimensões.

- 1 Aceda ao Batch Manager (Gestor de lotes).
- 2 Introduza o ID do lote e o Nome de utilizador ou as iniciais do operador e selecione **OK**.
- 3 Selecione **Upload New Sample Sheet** (Carregar nova ficha de amostras).
- 4 Procure e selecione a folha de amostras pretendida e, em seguida, selecione **OK**.

Cancelamento da amostra

- 1 Aceda ao Batch Manager (Gestor de lotes).
- 2 Introduza o ID do lote e o Nome de utilizador ou as iniciais do operador e selecione **OK**.
- 3 No diagrama de placas do lote, selecione a posição do poço associada à amostra cancelada.
- 4 Confirme se a amostra correta é apresentada e selecione **Cancel Sample** (Cancelar amostra).
- 5 Introduza um motivo para a falha e selecione **Cancel** (Cancelar).
No diagrama de placas do lote, a amostra cancelada muda de verde para vermelho.

VeriSeq NIPT Services

Os VeriSeq NIPT Services (Serviços) incluem várias ferramentas para configurar e verificar o ML STAR e o Workflow Manager (Gestor do fluxo de trabalho). Estas ferramentas não são necessárias para o funcionamento normal do sistema, mas podem ser requeridas para ajudar o Suporte Técnico da Illumina ou da Hamilton durante a resolução de problemas do sistema. Estas ferramentas também são utilizadas para ajustar os parâmetros do sistema devido a um desvio na densidade do cluster.

Iniciar o VeriSeq NIPT Services



NOTA

Feche todos os métodos em execução antes de executar o Services.

Para aceder ao VeriSeq NIPT Services, execute uma das seguintes ações:

- ▶ No App Launcher (Iniciador de aplicações), selecione **VeriSeq NIPT Services**.
- ▶ Num computador ligado à rede, aceda a `C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT\` e abra o ficheiro de método VeriSeq NIPT Services (**VeriSeqNIPT_Service.med**) com o Hamilton Run Controller.

As ferramentas do Services permitem dois tipos de testes:

- ▶ **Individual Tests** (Testes individuais) — Testes de componentes utilizados para a resolução de problemas no hardware do ML STAR.
- ▶ **Service Tools** (Ferramentas de serviço) — Ferramentas utilizadas para configurar o Workflow Manager.

Testes individuais

Para ajudar na resolução dos problemas de hardware encontrados no Workflow Manager, podem ser necessários os seguintes testes do sistema.

Teste do sistema	Descrição
Código de barras/carregamento automático	Os testes para a configuração adequada do conjunto do sistema, AutoLoader e funcionalidade de leitura de códigos de barras.
CPAC	Testa o funcionamento de sistemas de aquecimento CPAC. Também verifica a cablagem adequada de unidades individuais da caixa de controlo.
Vácuo BVS	Testa o funcionamento do sistema de vácuo básico (BVS) para confirmar se pode realizar o vácuo e obter pressões operacionais.
Canal independente	Testa o funcionamento dos canais de pipeta independentes. Efetua o teste de retenção de líquido para detetar o gotejamento dos canais de pipeta e a consistência dos volumes de distribuição.
iSwap	Testa o funcionamento do braço robótico iSwap e confirma as posições brutas do conjunto.
Cabeça 96	Testa o funcionamento da cabeça do CO-RE de 96 pipetas. Efetua o teste de retenção de líquido para detetar o gotejamento dos canais de pipeta e a consistência dos volumes de distribuição.

Para efetuar testes individuais:

- 1 Selecione um teste específico para ser executado.



NOTA

A Execução IOQ completa processa os seis testes sequencialmente.

- 2 Siga as instruções apresentadas no ecrã e anote as observações do funcionamento do equipamento e quaisquer erros do sistema encontrados.
- 3 Quando terminar, selecione **Abort** (Cancelar) para sair do método.
- 4 Se lhe for pedido que forneça os registos de traçado do sistema gerados durante o teste, os registos estão disponíveis em C:\Program Files (x86)\HAMILTON\LogFiles e começam por VeriSeqNIPT_Services.

Ferramentas do Services

As ferramentas do Services permitem configurar o Workflow Manager (Gestor do fluxo de trabalho) e alguns parâmetros de ensaio.

Teste do sistema	Descrição
Configuração do servidor	Configura e testa a ligação entre o VeriSeq NIPT Workflow Manager e o Assay Software. A comunicação correta entre estes sistemas é necessária para a execução do Workflow Manager (Gestor do fluxo de trabalho).
Configuração de ensaios	Utilizada para repor a concentração da biblioteca predefinida.
Deck Teach Tool (Ferramenta de obtenção)	Utilizada para exportar e importar posições de Deck Teach (Obtenção) de um ficheiro.

Configuração do servidor

Se o endereço de rede do VeriSeq Onsite Server v2 mudar, redirecione o Workflow Manager (Gestor de fluxo de trabalho) para o novo endereço.

- 1 No menu Services Tools (Ferramentas de serviços), selecione **Server Configuration** (Configuração do servidor).

- 2 Atualize o URL com o novo endereço do Onsite Server.
- 3 Selecione **Test Connection** (Testar ligação) para enviar uma mensagem de teste. Se esta mensagem não for recebida, contacte o Suporte Técnico da Illumina.
- 4 No ecrã System Configuration (Configuração do sistema), selecione **OK** e selecione **Apply** (Aplicar) para guardar o novo endereço.

Configuração de ensaios

Pode ajustar a concentração das bibliotecas do sequenciador nos pools de sequenciação no Workflow Manager numa base de ensaio a ensaio durante o processo de pooling (consulte o *Folheto informativo do VeriSeq NIPT Solution v2 [Documento n.º 1000000078751]*). Também pode utilizar a ferramenta Assay Configuration para alterar o valor predefinido desta concentração.

Também pode utilizar a ferramenta de configuração de ensaios para alterar os valores de outros parâmetros. Pode definir o parâmetro do Relatório sobre o cromossoma sexual predefinido para Sim ou Não. Esta definição determina o atributo que será atribuído às amostras quando o botão Use Default (Utilizar predefinição) estiver selecionado durante a preparação de amostras. O parâmetro Screen Type (Tipo de rastreio) pode ser definido como Basic (Básico) ou Genomewide (Genoma) e determina o tipo de rastreio de uma amostra.

- 1 Selecione **Assay Configuration** (Configuração de ensaios).
- 2 Atualize a caixa da concentração alvo da biblioteca (pg/µl) com o valor pretendido.
- 3 Atualize o Relatório sobre o cromossoma sexual predefinido para o valor pretendido.
- 4 Atualize o Tipo de rastreio para o valor pretendido.
- 5 Selecione **Apply** (Aplicar).

Deck Teach Tool (Ferramenta de obtenção)

Durante a resolução de problemas, pode ser necessário exportar os valores de posição obtida. Utilize a Deck Teach Tool (Ferramenta de obtenção) para gerar uma lista de posições juntamente com os respetivos valores.

- 1 Selecione **Deck Teach Tool** (Ferramenta de obtenção).
- 2 Selecione **Export** (Exportar).
- 3 Selecione uma localização de saída para o ficheiro de texto que contém as posições de obtenção.
- 4 Selecione **OK**.
A Deck Teach Tool (Ferramenta de obtenção) guarda um ficheiro de texto com os valores de todas as posições do material de laboratório obtidas para a instalação do Workflow Manager.
- 5 Selecione **Cancel** (Cancelar) para voltar ao ecrã Method Selection (Seleção do método).

Capítulo 3 Sequenciador de nova geração

Introdução	13
Pool de sequência	13
Integração do armazenamento de dados	13
Capacidade de débito de análise	14
Limitações ao tráfego de rede	14
VeriSeq NIPT Local Run Manager	14

Introdução

Um sistema de sequenciação de nova geração gera leituras de sequenciação para todas as amostras do pool de biblioteca quantificado e integra-se no VeriSeq NIPT Solution v2 através do Onsite Server. Os dados de sequenciação são avaliados pelo Processador de análise do Assay Software.

Considere os seguintes aspetos quando integrar um sistema de sequenciação de nova geração no VeriSeq NIPT Solution v2.

- ▶ Integração do armazenamento de dados.
- ▶ Capacidade de débito de análise.
- ▶ Limitações ao tráfego de rede.

Pool de sequência

O Assay Software requer um sequenciador de nova geração com capacidade para gerar dados de sequenciação no pool de biblioteca pré-preparado de acordo com as especificações seguintes:

- ▶ Produção de leituras de extremidades emparelhadas de 2 x 36.
- ▶ Compatível com adaptadores de índices no VeriSeq NIPT Sample Prep Kit.
- ▶ Química de dois canais.
- ▶ Produção automática de ficheiros .BCL.

Integração do armazenamento de dados

Um ensaio de sequenciação típico do VeriSeq NIPT Solution v2 requer entre 25 e 30 GB para dados do sistema de sequenciação de nova geração. O tamanho dos dados efetivo pode variar com base na densidade final do cluster. O Onsite Server dispõe de mais de 7,5 TB de espaço de armazenamento, o que constitui espaço suficiente para cerca de 300 ensaios de sequenciação ($7500 / 25 = 300$).

Para fins de armazenamento de dados, mapeie o sistema de sequenciação de nova geração para o Onsite Server para um dos métodos seguintes:

- ▶ Utilize o Onsite Server como o repositório de dados. Nesta configuração, o sequenciador é mapeado diretamente para o servidor e guarda os dados na unidade local.
- ▶ Para um laboratório de débito elevado, utilize o armazenamento ligado à rede (NAS). Configure o sistema de sequenciação de nova geração para guardar os dados de sequenciação diretamente numa localização específica no NAS.

Nesta configuração, o Onsite Server é configurado para monitorizar a localização específica do NAS que permite ao servidor monitorizar ensaios de sequenciação seguintes. Pode adicionar vários sistemas de sequenciação de nova geração para aumentar o débito de amostras. Para mais informações sobre como mapear o servidor para o NAS, consulte *Gerir uma unidade de rede partilhada na página 24*.

Para mais informações sobre como mapear sistemas de sequenciação de nova geração para o servidor ou para o NAS, consulte o guia do utilizador do sistema.

Capacidade de débito de análise

Geralmente, o Pipeline de Análise do VeriSeq NIPT processa dados de um ensaio de sequenciação individual em cerca de cinco horas. Quando expandir o laboratório para débito de amostras, tenha em atenção que um servidor individual consegue processar um máximo de quatro ensaios por dia, o que totaliza 48 amostras x 4 = 192 amostras por dia. Contacte o Suporte da Illumina para obter soluções adicionais de produtividade.

Limitações ao tráfego de rede

O VeriSeq NIPT Solution v2 utiliza a Rede Local (LAN) do laboratório para débito de dados entre o sistema de sequenciação de nova geração, o Onsite Server e o NAS (se configurado). Se pretender expandir para débito de amostra, tenha em conta as limitações ao tráfego da infraestrutura de TI seguintes:

- ▶ O tráfego de dados médio de, aproximadamente, 25 GB gerado em cerca de dez horas é por volta de 0,7 MB/seg por sequenciador.
- ▶ A infraestrutura do laboratório também pode suportar outras origens de tráfego que tem de ter em conta.

VeriSeq NIPT Local Run Manager

Se utilizar um sistema de sequenciação de nova geração com o módulo VeriSeq NIPT Local Run Manager (LRM), prepare a sequenciação executando as seguintes ações:

- 1 No Local Run Manager, selecione **Create Run** (Criar ensaio).
- 2 No menu pendente, selecione **VeriSeq NIPT**.
- 3 Preencha os seguintes campos.
 - ▶ Run Name (Nome do ensaio)
 - ▶ Run Description (Descrição do ensaio) (opcional)
 - ▶ Pool Barcode (Código de barras do pool)



ATENÇÃO

O código de barras do pool introduzido no módulo LRM tem de corresponder ao código de barras do pool introduzido no Gestor do fluxo de trabalho. As configurações de ensaios incorretas são rejeitadas pelo Assay Software e podem requerer a repetição da sequenciação.

- 4 Selecione **Save Run** (Guardar ensaio).

Depois de terminar de configurar o ensaio, pode iniciar o ensaio utilizando o software do instrumento.

Capítulo 4 VeriSeq NIPT Assay Software v2

Introdução	15
Componentes do Assay Software	15
Interface de utilizador da Web	19
Análise e geração de relatórios	28
VeriSeq Onsite Server v2	30

Introdução

O VeriSeq NIPT Assay Software v2 gera estatísticas para avaliar o número de cópia do cromossoma das amostras testadas e fornece uma determinação de aneuploidia nos cromossomas selecionados para análise. A seleção de cromossomas para análise depende do tipo de rastreio selecionado: básico (cromossomas 21, 18, 13, X e Y) ou genoma (todos os cromossomas). Ao selecionar a opção de genoma, o software também testa a presença de regiões sub-cromossómicas do ganho ou perda do número de cópia no autossoma. Um instrumento de sequenciação de nova geração gera entradas de análises sob a forma de leituras de extremidades emparelhadas de base 36.

O VeriSeq NIPT Assay Software v2 opera no VeriSeq Onsite Server v2. O Onsite Server (Servidor no local) é um componente central do VeriSeq NIPT Solution v2 e atua como ponto de ligação entre o VeriSeq NIPT Workflow Manager, o sistema de sequenciação de nova geração e o utilizador.

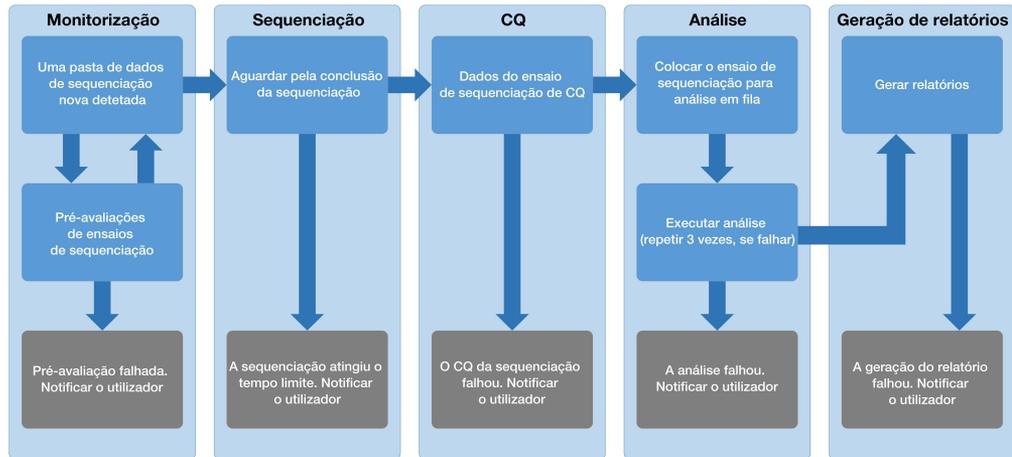
O Assay Software alinha as leituras em relação ao genoma humano de referência e efetua análises nas leituras que se alinham com uma localização ou sítio único no genoma. O Assay Software exclui leituras duplicadas e sítios que estão associados a uma variação elevada em relação à cobertura de amostras de euploides. Os dados de sequenciação são normalizados para conteúdos nucleótidos e para corrigir efeitos dos lotes e outras fontes de variação não desejadas. As informações sobre o comprimento dos fragmentos de cfDNA são derivadas das leituras de sequenciação de extremidades emparelhadas. O Assay Software também avalia estatísticas de cobertura de sequenciação em regiões conhecidas por serem enriquecidas com cfDNA fetal ou materno. São utilizados dados gerados a partir do comprimento do fragmento e das análises de cobertura para estimar a fração fetal (FF) de cada amostra.

Para cada opção de rastreio selecionada para uma amostra a partir do menu de teste, o Assay Software reporta se foi ou não detetada uma anomalia. No ecrã Basic (Básico), todas as anomalias são aneuploidias. No ecrã Genomwide (Genoma), uma anomalia pode ser uma aneuploidia ou uma duplicação ou eliminação parcial.

Componentes do Assay Software

O Assay Software executa e monitoriza continuamente novos dados de sequenciação à medida que são adicionados à pasta Input (Entrada) do Onsite Server. Quando é identificada um novo ensaio de sequenciação, é acionado o fluxo seguinte.

Figura 3 Diagrama do fluxo de dados



- 1 **Monitoring** — verifica previamente a validade da execução da nova sequenciação. A verificação de validade inclui verificações da compatibilidade dos parâmetros de execução (se os valores correspondem aos valores esperados), a associação da célula de fluxo a um tubo de pool conhecido existente e a garantia de que os resultados não foram reportados anteriormente para as mesmas amostras desse pool (repetição de ensaio). Se qualquer uma destas verificações falhar, o utilizador é notificado através do sistema de notificações por e-mail e através do registo de alertas na Interface de utilizador da Web.
- 2 **Sequenciação** — monitoriza continuamente a conclusão do ensaio de sequenciação. É definido um temporizador que define um tempo limite para a conclusão do ensaio. Se o tempo limite for atingido, o utilizador é notificado através do sistema de notificações por e-mail e do registo de alertas na Interface do utilizador da Web.
- 3 **CQ** — examina os ficheiros de CQ InterOp gerados pelo sequenciador. O Assay Software verifica o número total de clusters, a densidade do cluster e as pontuações de qualidade das leituras. Se os critérios de CQ falharem, o utilizador é notificado através do sistema de notificações por e-mail e do registo de alertas na Interface do utilizador da Web.
- 4 **Análise** — administra a fila de análises para ensaios de sequenciação múltiplos gerados pelos vários instrumentos configurados com o servidor. O servidor processa uma única tarefa de análise de cada vez com base no princípio de Primeiro a entrar, primeiro a sair (FIFO). Após a conclusão bem-sucedida da análise, é iniciada a análise agendada seguinte da fila. Se um ensaio de análise falhar ou terminar, o Assay Software reinicia automaticamente essa análise até um máximo de três vezes. Após cada falha, o utilizador é notificado através do sistema de notificações por e-mail e do registo de alertas na Interface do utilizador da Web.
- 5 **Geração de relatórios** — gera o relatório que contém os resultados finais após a conclusão da análise. Se ocorrer uma falha e não forem gerados relatórios, o utilizador é notificado através do sistema de notificações por e-mail e do registo de alertas na Interface do utilizador da Web.

Tarefas do Assay Software

O Assay Software efetua tarefas automáticas e iniciadas pelo utilizador.

Tarefas automatizadas

O Assay Software efetua as seguintes tarefas automatizadas:

- ▶ **Agrupamento e armazenamento de registos de preparação de amostras** — Produz um conjunto de ficheiros de saída no final de cada passo e armazena-os na pasta ProcessLogs localizada na pasta Output (Saída). Para mais informações, consulte *Estrutura dos ficheiros de relatórios na página 36* para obter uma descrição geral e *Relatórios de processos na página 53* para obter detalhes.
- ▶ **Geração de alertas, e-mails e notificações de relatórios** — Monitoriza o estado de validação do lote, do pool e da amostra durante os passos de Preparação da amostra e de CQ dos dados de sequenciação e dos resultados das análises por amostra. Com base nestas verificações de validação, o Assay Software determina se irá continuar com o processo e se os resultados devem ser comunicados. O Assay Software termina o processo quando um lote ou um pool for inválido com base nos resultados de CQ. É enviada uma notificação por e-mail ao utilizador, é gerado um relatório e é registado um alerta na Interface de utilizador da Web.
- ▶ **Análise de dados de sequência** — Analisa os dados de sequência não processados relativos a cada amostra transmitida para o pool ao utilizar o NIPT Analysis Software integrado. O Assay Software determina os resultados de aneuploidia de cada amostra. O sistema não comunica os resultados de amostras invalidadas ou canceladas pelo utilizador. Relativamente às amostras que falham nos critérios de CQ, é fornecida uma fundamentação explícita para a falha. Contudo, os resultados da amostra falhada são suprimidos. Para mais informações, consulte *Relatório NIPT na página 40*.
- ▶ **Geração do ficheiro de resultados** — Disponibiliza resultados de amostra num formato de ficheiro de valores separados por separador, que é guardado na pasta Output (Saída). Para mais informações, consulte *Relatório NIPT na página 40*.
- ▶ **Geração de relatórios** — O Assay Software gera informações de resultados complementares, notificações e relatórios de processos. Para mais informações, consulte *Relatórios do sistema na página 36*.
- ▶ **Invalidação de amostras, pools e lotes** —
 - ▶ **Invalidação de amostras** — O Assay Software marca amostras individuais como inválidas quando o utilizador:
 - ▶ Invalida a amostra explicitamente.
 - ▶ Invalida a placa inteira durante a preparação da biblioteca antes da criação dos pools. Quando uma amostra é marcada como inválida, é gerado automaticamente um Relatório de invalidação de amostra; consulte *Relatório de invalidação de amostra na página 52*.
 - ▶ **Geração de relatórios de invalidação de pools e lotes** — Apenas o utilizador pode invalidar os pools e os lotes. O sistema não processa os pools invalidados. Os pools criados a partir de um lote inválido não são invalidados automaticamente e o sistema pode continuar a processá-los. Contudo, não é possível criar pools novos a partir de lotes invalidados. Quando um pool é invalidado, o sistema emite um Relatório de pedido de reanálise de pool sob as seguintes condições:
 - ▶ O lote é válido.
 - ▶ Já não existem pools disponíveis para o lote em causa.
 - ▶ O número de pools permitidos do lote não foi esgotado.
 Para mais informações, consulte *Relatório de pedido de reanálise de pool na página 52*.

- ▶ **Gestão de reanálises** —
 - ▶ **Falhas em pools** — Os pools falhados são geralmente pools que falham nos indicadores de CQ de sequenciação. O Assay Software não continua o processamento de pools falhados se terminar o ensaio. Faça uma sequenciação nova com uma segunda alíquota de pool.
 - ▶ **Falhas de amostra** — O software permite voltar a testar amostras falhadas se necessário. Tem de incluir as amostras falhadas num lote novo e reprocessá-las através de passos de ensaio.
 - ▶ **Repetições de ensaios** — O sistema não reanalisa pools com amostras que tenham sido anteriormente processadas e comunicadas com êxito. A repetição de um ensaio com uma amostra pode ser feita ao plaquear novamente a amostra num lote novo.

Tarefas do utilizador

O VeriSeq NIPT Solution v2 permite aos utilizadores executar as seguintes tarefas:

Utilizar o Workflow Manager (Gestor do fluxo de trabalho):

- ▶ Marcar como inválidas amostras individuais, todas as amostras num lote ou todas as amostras associadas a um pool.
- ▶ Marcar uma determinada amostra como cancelada. Em seguida, o Assay Software marca o resultado como cancelado no relatório de resultados finais.

Utilizar o Assay Software:

- ▶ Configurar o software para ser instalado e integrado na infraestrutura de rede do laboratório.
- ▶ Alterar as definições de configuração como as definições de rede, as localizações de pastas partilhadas e a gestão das contas de utilizadores.
- ▶ Ver o estado do sistema e de lotes, relatórios de resultados e de processamento de lotes, registos de atividades e de auditoria e resultados de ensaios.



NOTA

Os utilizadores podem efetuar determinadas tarefas consoante as permissões de utilizador: Para mais informações, consulte [Atribuir funções de utilizador na página 23](#).

Processador de sequenciação

O Assay Software gere os ensaios de sequenciação gerados pelos instrumentos de sequenciação através do Processador de sequenciação. Identifica ensaios de sequenciação novos, valida parâmetros de ensaios e correlaciona o código de barras do pool com um pool conhecido criado durante o processo de preparação da biblioteca. Se não for possível fazer uma associação, é gerada uma notificação para o utilizador e o processamento do ensaio de sequenciação é parado.

Após a validação ser concluída com êxito, o Assay Software continua a monitorizar os ensaios de sequenciação relativamente à conclusão. Os ensaios de sequenciação concluídos são colocados em fila para processamento por parte do Processador de pipeline analítico (consulte [Processador de pipeline analítico na página 19](#)).

Compatibilidade de ensaios de sequenciação

O servidor apenas analisa ensaios de sequenciação compatíveis com o fluxo de trabalho analítico do cfDNA. Utilize apenas métodos de sequenciação e versões de software compatíveis para gerar chamadas de bases.



NOTA

Monitorize regularmente os indicadores de desempenho dos dados de sequenciação para se certificar de que a qualidade dos dados está dentro das especificações.

O módulo VeriSeq NIPT Local Run Manager configura a sequenciação utilizando os seguintes parâmetros de leitura:

- ▶ Ensaio de extremidades emparelhadas com leituras de ciclo de 2 x 36.
- ▶ Indexação dupla com duas leituras de índice de oito ciclos.

Processador de pipeline analítico

O processador de pipeline analítico inicia o pipeline de análise para detecção de aneuploidia. O pipeline processa um ensaio de sequenciação de cada vez com uma duração média inferior a cinco horas por pool. Se a análise não conseguir processar o pool ou não for concluída devido a falhas de energia ou tempos limites, o Processador de pipeline analítico volta a colocar automaticamente o ensaio na fila. Se o processamento do pool falhar três vezes consecutivas, o ensaio é identificado como falhado e o utilizador é notificado.

Um ensaio de análise bem-sucedido aciona a geração de relatórios NIPT. Para mais informações, consulte [Relatório NIPT na página 40](#).

Tempos limites do fluxo de trabalho e requisitos de armazenamento

O fluxo de trabalho analítico do cfDNA está sujeito às seguintes limitações em termos de tempo e de espaço de armazenamento.

Parâmetro	Valor predefinido
Maximum Sequencing Time (Duração máxima da sequenciação)	20 horas
Maximum Analysis Time (Duração máxima da análise)	10 horas
Minimum Scratch Space Storage (Espaço de armazenamento mínimo para rascunho)	900 GB

Interface de utilizador da Web

O Assay Software aloja uma Interface de utilizador da Web local que permite o fácil acesso ao Onsite Server a partir de qualquer local da rede. A Interface de utilizador da Web permite as funções seguintes:

- ▶ **View recent activities (Ver atividades recentes)** — Identifica os passos concluídos durante a execução do ensaio. O utilizador é alertado para muitas destas atividades pelo sistema de notificações por e-mail. Para mais informações, consulte [Notificações do Assay Software na página 61](#).
- ▶ **View errors and alerts (Ver erros e alertas)** — Identifica problemas que podem impedir o avanço do ensaio. As mensagens de erro e os alertas são enviados ao utilizador através do sistema de notificações por e-mail. Para mais informações, consulte [Notificações do Assay Software na página 61](#).
- ▶ **Configure the server network settings (Configurar definições de rede do servidor)** — A equipa da Illumina configura geralmente a rede durante a instalação do sistema. Poderão ser necessárias modificações se a rede local requerer alterações de tecnologias de informação. Para mais informações, consulte [Alterar definições de rede e de servidor na página 26](#).

- ▶ **Manage server access (Gerir acesso ao servidor)** — O Onsite Server permite acesso ao nível de Administrador e Operador. Estes níveis de acesso controlam a visualização dos registos de atividades, os alertas, os erros e a modificação das definições de rede e de mapeamento de dados. Para mais informações, consulte *Gerir utilizadores na página 23*.
- ▶ **Configure sequencing data folder (Configurar pasta de dados de sequenciação)** — O servidor armazena os dados de sequenciação por predefinição. Contudo, é possível adicionar um NAS central para expandir a capacidade de armazenamento. Para mais informações, consulte *Mapear unidades do servidor na página 32*.
- ▶ **Configure email notification subscribers list (Configurar lista de assinantes das notificações por e-mail)** — Administra uma lista de assinantes para receber notificações por e-mail sobre mensagens de erros e alertas de processos de ensaios. Para mais informações, consulte *Configurar as notificações por e-mail do sistema na página 27*.
- ▶ **Reboot or shutdown the server (Reiniciar ou encerrar servidor)** — Reinicia ou encerra o servidor, se necessário. Poderá ser necessário reiniciar ou encerrar para aplicar uma definição de configuração ou resolver uma falha do servidor. Para mais informações, consulte *Reiniciar o servidor na página 32* e *Encerrar o servidor na página 33*.

Acordo de Licença de Utilizador Final

No primeiro início de sessão na IU da Web, é-lhe pedido para aceitar o Acordo de Licença de Utilizador Final (EULA). Ao selecionar **Download EULA** (Transferir EULA), pode transferir o acordo de licença para o seu computador. O software requer que aceite o EULA antes de continuar a trabalhar com a interface de utilizador da Web.

Depois de aceitar o EULA, pode regressar à página do EULA e transferir o documento se necessário.

Configurar a interface do utilizador da Web

Selecione o ícone Settings (Definições)  para ver uma lista pendente das definições de configuração. As definições aparecem com base na função de utilizador e nas permissões associadas. Para mais informações, consulte *Atribuir funções de utilizador na página 23*.



NOTA

Um Técnico não tem acesso a nenhuma destas funções.

Definição	Descrição
User Management (Gestão de utilizadores)	Adicionar, ativar/desativar e editar credenciais de utilizadores. Apenas Técnicos de assistência e Administradores.
Email Configuration (Configuração do e-mail)	Editar listas de assinantes para envio de notificações por e-mail.
Change Shared Folder Password (Alterar a Palavra-passe da pasta partilhada)	Altere a palavra-passe sbsuser para aceder às pastas partilhadas do Onsite Server.
Reboot Server (Reiniciar o servidor)	Apenas Técnicos de assistência ou Administradores.
Shut Down Server (Encerrar o servidor)	Apenas Técnicos de assistência ou Administradores.

Iniciar sessão na Interface do utilizador da Web

Para aceder à interface do Assay Software e iniciar sessão:

- 1 Num computador ligado à mesma rede que o Onsite Server, abra um dos seguintes navegadores da Web:
 - ▶ Chrome v69 ou posterior
 - ▶ Firefox v62 ou posterior
 - ▶ Internet Explorer v11 ou posterior
- 2 Introduza o endereço IP ou o nome do servidor fornecido pela Illumina durante a instalação, equivalente a \\<VeriSeq Onsite Server v2 IP address>\login.
Por exemplo, \\10.10.10.10\login.
- 3 Se aparecer um aviso de segurança do navegador, adicione uma exceção de segurança para continuar para o ecrã de início de sessão.
- 4 No ecrã de início de sessão, introduza o nome de utilizador e a palavra-passe sensíveis a maiúsculas e minúsculas disponibilizados pela Illumina e selecione **Log In** (Iniciar sessão).



NOTA

Após dez minutos de inatividade, o Assay Software termina automaticamente a sessão do utilizador atual.

Utilizar o Painel

O Painel do VeriSeq NIPT Assay Software v2 é apresentado depois de iniciar sessão e é a janela de navegação principal. Para voltar ao Painel em qualquer altura, selecione a opção do menu **Dashboard** (Painel).

O painel apresenta sempre as 50 atividades mais recentes registadas (se houver menos de 50, só mostra as que estão registadas). Pode obter as 50 anteriores e procurar no histórico de atividades ao selecionar **Previous** (Anterior) no canto inferior direito da tabela de atividades.

Figura 4 Painel do VeriSeq NIPT Assay Software

The screenshot shows the 'Dashboard' page with a 'Recent activities' tab selected. The table below represents the data shown in the screenshot.

WHEN	USER	SUBSYSTEM	DETAILS	LEVEL
2016-07-29 09:17 PDT		Assay	Aneuploidy Detection Report generated for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGXY'	Activity
2016-07-29 09:17 PDT		Assay	Analysis started for '160728_NS500411_0171_AHCLGJBGXY'	Activity
2016-07-29 05:23 PDT		Assay	Sequencing QC passed for '160728_NS500411_0171_AHCLGJBGXY'	Activity
2016-07-29 05:14 PDT		Assay	Analysis started for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGXY'	Activity
2016-07-29 05:14 PDT		Assay	Sequencing QC passed for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGXY'	Activity
2016-07-28 19:56 PDT		Assay	Sequencing started for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGXY'	Activity
2016-07-28 19:55 PDT		Assay	Sequencing started for '160728_NS500411_0171_AHCLGJBGXY'	Activity
2016-07-28 17:18 PDT		Assay	Batch 'DVT0151_PL02_1'; pool 'PT2008505' created	Activity
2016-07-28 17:18 PDT		Assay	Batch 'DVT0151_PL02_1'; pool 'PT2008521' created	Activity
2016-07-28 16:14 PDT		Assay	Batch 'DVT0151_PL02_1' completed library	Activity
2016-07-28 10:30 PDT		Assay	Batch 'DVT0151_PL02_1' initiated	Activity

Ver atividades recentes

O separador Recent Activities (Atividades recentes) contém uma breve descrição de atividades recentes do Assay Software e do Onsite Server.

Nome	Descrição
When (Quando)	Data e hora da atividade
User (Utilizador)	Se aplicável, identifica o utilizador que realizou a atividade
Subsystem (Subsistema)	Entidade ou processo que realizou a atividade como utilizador, ensaio ou configuração
Details (Detalhes)	Descrição da atividade
Level (Nível)	Nível atribuído à atividade a partir das opções seguintes: <ul style="list-style-type: none"> • Activity (Atividade) — indica uma atividade no servidor como um reinício do sistema ou o início/fim de sessão do utilizador. • Notice (Atenção) — indica um passo executado sem êxito. Por exemplo, invalidação de amostra ou falha de CQ. • Warning (Aviso) — indica que ocorreu um erro durante a execução normal e o funcionamento adequado do hardware. Por exemplo, parâmetros de ensaio não reconhecidos ou análises falhadas.

Ver erros recentes

O separador Recent Errors (Erros recentes) contém uma breve descrição dos erros recentes do software e do servidor.

Nome	Descrição
When (Quando)	Data e hora da atividade
User (Utilizador)	Se aplicável, identifica o utilizador que realizou a atividade
Subsystem (Subsistema)	Entidade ou processo que realizou a atividade como utilizador, ensaio ou configuração
Details (Detalhes)	Descrição da atividade
Level (Nível)	Nível atribuído à atividade a partir das opções seguintes: <ul style="list-style-type: none"> • Urgent (Urgente) — problema de hardware grave que põe em risco o funcionamento do sistema. Contacte o Suporte Técnico da Illumina. • Alert (Alerta) — erro no funcionamento normal. Por exemplo, danos no disco, problema de espaço ou configuração que impede a geração de relatórios ou de notificações por e-mail. • Error (Erro) — erro do sistema ou do servidor durante o funcionamento normal. Por exemplo, um problema no ficheiro de configuração ou uma falha de hardware.

Ver estado e alertas do sistema

Para ver o resumo do estado do servidor, em Dashboard (Painel), selecione o separador **Server Status** (Estado do servidor).

O resumo apresenta as seguintes informações:

- ▶ **Date (Data)** — Data e hora atuais

- ▶ **Time zone** (Fuso horário) — Fuso horário configurado para o servidor; utilizado para hora e data de e-mails, alertas e relatórios
- ▶ **Hostname** (Nome de anfitrião) — Nome do sistema consiste no nome de anfitrião da rede e no nome de domínio DNS
- ▶ **Disk space usage** (Utilização do espaço no disco) — Percentagem do espaço no disco atualmente em utilização para armazenar dados
- ▶ **Software** — Configuração regulamentar de software (por exemplo, CE-IVD)
- ▶ **Version** (Versão) — Versão do VeriSeq NIPT Assay Software v2

O resumo também pode apresentar um botão **Server alarm** (Alarme do servidor) que silencia o alarme do controlador RAID . Este botão só é apresentado a Administradores. Se premir este botão, contacte o Suporte Técnico da Illumina, para obter assistência adicional.

Gerir utilizadores



NOTA

Só os Técnicos de assistência e os Administradores têm permissão para adicionar, editar ou eliminar permissões para técnicos e outros utilizadores no seu nível.

Atribuir funções de utilizador

As funções de utilizador definem o acesso e os direitos dos utilizadores para efetuarem determinadas tarefas.

Função	Descrição
Service (Assistência)	Um Técnico de assistência da Illumina que efetua a instalação inicial e a configuração do sistema (incluindo a criação do Administrador). Também resolve problemas, efetua reparações no servidor, configura e faz alterações às definições de configuração e disponibiliza suporte técnico contínuo para o software.
Administrator (Administrador)	Um Administrador do laboratório que configura e mantém as definições de configuração, administra utilizadores, define listas de assinantes de e-mails, altera a palavra-passe da pasta partilhada, reinicia e encerra o servidor.
Technician (Técnico)	Um Técnico do laboratório que vê estados e alertas do sistema.

Adicionar utilizadores

O técnico de assistência da Illumina adiciona o utilizador Administrador na instalação inicial.

Para adicionar um utilizador:

- 1 No ecrã User Management (Gestão de utilizadores), seleccione **Add New User** (Adicionar novo utilizador).



NOTA

Todos os campos são obrigatórios.

- 2 Introduza o nome de utilizador.



NOTA

Os caracteres aceites para o nome de utilizador não são sensíveis a maiúsculas e minúsculas e podem incluir apenas caracteres alfanuméricos (por exemplo, a-z e 0-9) e caracteres "_" (carácter de sublinhado) e "-" (hífen). Os nomes de utilizador têm de ter entre 4 e 20 caracteres e conter, pelo menos, um carácter numérico. O primeiro carácter do nome de utilizador não pode ser numérico.

O Assay Software utiliza nomes de utilizador para identificar as pessoas envolvidas nos diferentes aspetos do processo de ensaio e interações com o Assay Software.

- 3 Introduza o nome completo do utilizador. O nome completo só aparece no perfil do utilizador.
- 4 Introduza e confirme a palavra-passe.



NOTA

As palavras-passe têm de ter entre 8 e 20 caracteres e conter, pelo menos, uma letra maiúscula, uma minúscula e um carácter numérico.

- 5 Introduza um endereço de e-mail para o utilizador.
É necessário um endereço de e-mail único para cada utilizador.
- 6 Selecione a função de utilizador pretendida na lista pendente.
- 7 Selecione a caixa **Active** (Ativar) para ativar o utilizador imediatamente ou anule a seleção da caixa para o ativar mais tarde (ou seja, após a formação).
- 8 Selecione **Save** (Guardar) duas vezes para guardar e confirmar as alterações.
O utilizador novo aparece agora no ecrã User Management (Gestão de utilizadores).

Editar utilizadores

Para editar as informações do utilizador:

- 1 No ecrã User Management (Gestão de utilizadores), selecione o nome de utilizador do utilizador pretendido.
- 2 Edite as informações do mesmo conforme necessário e selecione **Save** (Guardar) após a conclusão.
- 3 Selecione **Save** (Guardar) novamente quando a caixa de diálogo for apresentada para confirmar as alterações.
As alterações ao utilizador aparecem agora no ecrã User Management (Gestão de utilizadores).

Desativar utilizadores

Para desativar um utilizador:

- 1 No ecrã User Management (Gestão de utilizadores), selecione o nome de utilizador pretendido.
- 2 Limpe a caixa de verificação **Activate** (Ativar) e selecione **Save** (Guardar).
- 3 Na mensagem de confirmação, selecione **Save** (Guardar).
O estado do utilizador passa para Disabled (Desativado) no ecrã User Management (Gestão de utilizadores).

Gerir uma unidade de rede partilhada



NOTA

Só os Técnicos de assistência ou os Administradores têm permissão para adicionar, editar ou eliminar localizações de pastas partilhadas.

Adicionar unidade de rede partilhada

Configure o sistema para armazenar dados de sequenciação num NAS dedicado em vez de no servidor ligado ao sistema de sequenciação. Um NAS pode proporcionar mais capacidade para armazenamento e criação de cópias de segurança de dados contínua.

- 1 Em Dashboard (Painel), selecione **Folders** (Pastas).
- 2 Selecione **Add folder** (Adicionar pasta).
- 3 Introduza as informações seguintes facultadas pelo administrador de tecnologias de informação:
 - ▶ **Location** (Localização) — Caminho completo para a localização do NAS, incluindo a pasta de armazenamento de dados.
 - ▶ **Username** (Nome de utilizador) — Nome de utilizador designado para o Onsite Server quando acede ao NAS.
 - ▶ **Password** (Palavra-passe) — Palavra-passe designada para o Onsite Server quando acede ao NAS.
- 4 Selecione **Save** (Guardar).
- 5 Selecione **Test** (Testar) para testar a ligação ao NAS.
Se a ligação falhar, confirme o nome do servidor, o nome da localização, o nome de utilizador e a palavra-passe junto do administrador de tecnologias de informação.
- 6 Reinicie o servidor para aplicar as alterações.



NOTA

Uma configuração de unidade de rede partilhada só consegue suportar uma pasta de dados de sequenciação.

Editar uma unidade de rede partilhada

- 1 Em Dashboard (Painel), selecione **Folders** (Pastas).
- 2 Edite o caminho Location (Localização) e selecione **Save** (Guardar).
- 3 Selecione **Test** (Testar) para testar a ligação ao NAS.
Se a ligação falhar, confirme o nome do servidor, o nome da localização, o nome de utilizador e a palavra-passe junto do administrador de tecnologias de informação.

Eliminar uma unidade de rede partilhada

- 1 Em Dashboard (Painel), selecione **Folders** (Pastas).
- 2 Selecione o caminho Location (Localização) que pretende modificar.
- 3 Selecione **Delete** (Eliminar) para remover a pasta de sequenciação externa.

Configurar as definições de rede e de certificado

Um Técnico da Assistência da Illumina utiliza o ecrã Network Configuration (Configuração de rede) para configurar as definições de rede e o certificado durante a instalação inicial.



NOTA

Apenas os Técnicos de assistência e os Administradores têm permissão para alterar as definições de rede e de certificado.

- 1 Em Dashboard (Painel), selecione **Configuration** (Configuração).
- 2 Selecione o separador **Network Configuration** (Configuração de rede) e configure as definições de rede conforme adequado.
- 3 Selecione o separador **Certification Configuration** (Configuração de certificação) para gerar o certificado SSL.

Alterar as definições de certificado

Um certificado Secure Socket Layer (SSL) é um ficheiro de dados que permite uma ligação segura do Onsite Server a um navegador.

- 1 Utilize o separador Certificate Configuration (Configuração do certificado) para adicionar ou alterar as definições do certificado SSL.
 - ▶ **Laboratory Email** (E-mail do laboratório) — e-mail de contacto do laboratório que está a executar a análise (requer um formato de endereço de e-mail válido).
 - ▶ **Organization Unit** (Unidade organizacional) — departamento.
 - ▶ **Organization** (Organização) — nome do laboratório que está a executar a análise.
 - ▶ **Location** (Localização) — morada do laboratório que está a executar a análise.
 - ▶ **State** (Região) — região do laboratório que está a executar a análise (preenchido automaticamente com base no endereço de e-mail).
 - ▶ **Country** (País) — país do laboratório que está a executar a análise (preenchido automaticamente com base no endereço de e-mail).
 - ▶ **Certificate Thumbprint [SHA1]** (Thumbprint do certificado [SHA1]) — número de identificação da certificação.
 O Certificate Thumbprint (SHA1) assegura que os utilizadores não recebem avisos relativos a certificados quando acedem ao VeriSeq NIPT Assay Software v2. O SHA1 aparece depois de gerar ou regenerar um certificado. Consulte [Regerar um certificado na página 27](#) para obter mais informações.
- 2 Selecione **Save** (Guardar) para implementar eventuais alterações efetuadas.

Alterar definições de rede e de servidor



NOTA

Coordene todas as alterações a definições de rede e de servidor com o administrador de tecnologias de informação para evitar erros de ligação ao servidor.

- 1 Utilize o separador Network Configuration (Configuração de rede) para configurar ou alterar as definições de rede e do Onsite Server.
 - ▶ **Static IP Address** (Endereço IP estático) — Endereço IP designado para o Onsite Server.
 - ▶ **Subnet Mask** (Máscara de sub-rede) — Máscara da sub-rede da rede local.
 - ▶ **Default Gateway Address** (Endereço de gateway predefinido) — Endereço IP do router predefinido.
 - ▶ **Hostname** (Nome do anfitrião) — Nome designado para referenciar o Onsite Server na rede (definido como o anfitrião local por predefinição).
 - ▶ **DNS Suffix** (Sufixo DNS) — Sufixo DNS designado.
 - ▶ **Nameserver 1 e 2** — Nomes ou endereços IP do servidor DNS.
 - ▶ **NTP Time Server 1 and 2** (Servidor de hora NTP 1 e 2) — Servidores para sincronização de hora do NTP.
 - ▶ **MAC Address** (Endereço MAC) — Endereço MAC de rede do servidor (só de leitura).
 - ▶ **Timezone** (Fuso horário) — Fuso horário local do servidor.
- 2 Confirme se as entradas estão corretas e selecione **Save** (Guardar) para reiniciar o servidor e implementar eventuais alterações efetuadas.



ATENÇÃO

A configuração incorreta das definições pode interromper a ligação ao servidor.

Transferir e instalar um certificado

Para transferir e instalar um certificado SSL :

- 1 Em Dashboard (Painel), selecione **Configuration** (Configuração).
- 2 Selecione o separador **Certification Configuration** (Configuração de certificação).
- 3 Selecione **Download Certificate** (Transferir certificado) no ecrã Network Configuration (Configuração de rede).
- 4 Abra o ficheiro transferido e selecione **Install Certificate** (Instalar certificado).
- 5 Siga as mensagens do assistente de importação para instalar o certificado.
- 6 Selecione **OK** nas caixas de diálogo para fechar as mesmas.

Regerar um certificado



NOTA

Só os Técnicos de assistência e os Administradores têm permissão para regerar certificados e reiniciar o sistema.

Para regerar um certificado após a alteração das definições de rede ou de certificado:

- 1 Selecione **Regenerate Certificate** (Regerar certificado), no ecrã Network Configuration (Configuração de rede).
- 2 Selecione **Regenerate Certificate and Reboot** (Regerar certificado e reiniciar) para continuar ou selecione **Cancel** (Cancelar) para sair.

Configurar as notificações por e-mail do sistema

O VeriSeq NIPT Assay Software v2 comunica com os utilizadores ao enviar notificações por e-mail para indicar o progresso do ensaio e alertas de erros ou ação necessária por parte do utilizador. *Notificações do Assay Software na página 61* descreve as diversas notificações por e-mail enviadas pelo sistema.



NOTA

Certifique-se de que as definições de spam do e-mail não bloqueiam as notificações do servidor. As notificações por e-mail são enviadas a partir de uma conta chamada **VeriSeq@<customer email domain>**, em que o **<customer email domain>** é especificado pela equipa de tecnologias de informação local quando o servidor é instalado.

Criar uma lista de assinantes de e-mails

As notificações por e-mail são enviadas para uma lista de assinantes especificados que podem ser definidos nos seguintes passos.

Para especificar uma lista de assinantes:

- 1 No Painel, selecione o ícone Settings (Definições) .
- 2 Selecione **Email Configuration** (Configuração de e-mail).
- 3 No campo Subscribers (Assinantes), introduza os endereços de e-mail separados por vírgulas. Verifique se os endereços de e-mail foram introduzidos corretamente. O software não valida o formato dos endereços de e-mail.

- 4 Selecione **Send test message** (Enviar mensagem de teste) para gerar um e-mail de teste para a lista de assinantes.
Verifique a sua caixa de entrada de e-mail para confirmar se o e-mail foi enviado.
- 5 Selecione **Save** (Guardar).

Terminar sessão

- ▶ Selecione o ícone de perfil de utilizador no canto superior direito do ecrã e selecione **Log Out** (Terminar sessão).

Análise e geração de relatórios

Após a recolha dos dados de sequenciação, estes são desmultiplexados, convertidos para o formato FASTQ, alinhados com um genoma de referência e analisados relativamente à deteção de aneuploidia. São determinados vários indicadores, conforme descrito abaixo, para qualificar a resposta final relativa a uma determinada amostra.

Desmultiplexagem e geração de ficheiros FASTQ

Os dados de sequenciação armazenados no formato BCL são processados através do software de conversão bcl2fastq, que desmultiplexa os dados e converte os ficheiros BCL em formatos de ficheiro FASTQ padrão para análises a jusante. Para cada ensaio de sequenciação, o Assay Software cria uma ficha de amostras (SampleSheet.csv). Este ficheiro contém informações de amostras fornecidas ao software durante o processo de preparação das mesmas (com a API de software). Estas fichas de amostras incluem um cabeçalho com informações relativas ao ensaio e descritores para as amostras processadas numa determinada célula de fluxo.

A tabela seguinte disponibiliza os detalhes dos dados das fichas de amostras.



ATENÇÃO

NÃO modifique nem edite este ficheiro de fichas de amostras. É gerado pelo sistema e as modificações podem causar efeitos adversos posteriormente, incluindo resultados incorretos ou falhas na análise.

Nome da coluna	Descrição
SampleID	Identificação da amostra.
SampleName	Nome da amostra. Predefinição: o mesmo que SampleID.
Sample_Plate	Identificação de placas de uma determinada amostra. Predefinição: em branco.
Sample_Well	Identificação do poço na placa para uma determinada amostra.
I7_Index_ID	Identificação do primeiro adaptador de índice.
index	Sequência nucleotídica do primeiro adaptador.
I5_Index_ID	Identificação do segundo adaptador.
index2	Sequência nucleotídica do segundo adaptador.
Sample_Project	Identificação de projetos de uma determinada amostra. Predefinição: em branco.
SexChromosomes	Análise relativa a cromossomas sexuais. Um dos seguintes: <ul style="list-style-type: none"> • Yes (Sim) – relatório de aneuploidia do cromossoma sexual e relatório sobre sexo solicitados. • No (Não) – nem relatório de aneuploidia de cromossoma sexual nem relatório sobre sexo solicitados. • SCA – relatório de aneuploidia de cromossoma sexual solicitado e relatório sobre sexo não solicitado.

Nome da coluna	Descrição
SampleType	Tipo de amostra. Um dos seguintes: <ul style="list-style-type: none"> • Singleton (único) – gravidez de embrião único. • Twin (gémeos) – gravidez de vários embriões. • Control (Controlo) – Controlo de amostras de sexo conhecido e classificação de aneuploidia. • NTC – sem amostra de controlo de modelo (sem ADN).

CQ de sequenciação

Os indicadores de CQ de sequenciação identificam células de fluxo que apresentam uma grande probabilidade de falhar na análise. Os indicadores de densidade do cluster, de percentagem de leituras que passam no filtro de passagem (PF), de pré-faseamento e de faseamento descrevem a qualidade geral dos dados de sequenciação e são comuns a muitas aplicações de sequenciação de nova geração. O indicador de leituras alinhadas previsto calcula o nível da célula de fluxo da profundidade da sequenciação. Se os dados de pouca qualidade falharem o indicador de leituras alinhadas previsto, o processamento do ensaio é terminado. Para mais informações, consulte *Indicadores e limites de CQ de sequenciação na página 34*.

Estimativas de fração fetal

Fração fetal refere-se à percentagem de ADN circulante livre de células numa amostra de sangue materno obtida através da placenta. O Assay Software utiliza informações de tamanho de distribuição de fragmentos cfDNA e as diferenças na cobertura genómica entre cfDNA materno e fetal para calcular uma estimativa de fração fetal.¹

Estatísticas utilizadas na pontuação final

Relativamente a todos os cromossomas, os dados de sequenciação de extremidades emparelhadas são alinhados com o genoma de referência (HG19). As leituras alinhadas não duplicadas únicas são agregadas em contentores de 100 Kb. As contagens de contentores correspondentes são ajustadas ao desvio de GC e de acordo com a cobertura genómica específica da região estabelecida anteriormente. Mediante a utilização destas contagens de contentores normalizadas, são derivadas pontuações estatísticas para cada autossoma ao comparar as regiões de cobertura que podem ser afetadas pela aneuploidia com os autossomas restantes. É calculada uma razão de verosimilhança de registo (LLR) para cada amostra tendo em conta estas pontuações baseadas na cobertura e a fração fetal estimada. A LLR é a probabilidade de uma amostra ser afetada tendo em conta a cobertura observada e a fração fetal versus a probabilidade de uma amostra não ser afetada dada a mesma cobertura observada. O cálculo desta razão também considera a incerteza estimada relativamente à fração fetal. Para cálculos subsequentes, é utilizado o logaritmo natural do rácio. O Assay Software avalia a LLR de cada cromossoma visado e cada amostra para fornecer a determinação de aneuploidia.

As estatísticas dos cromossomas X e Y são diferentes das que são utilizadas para os autossomas. Relativamente a fetos identificados como sendo do sexo feminino, as chamadas de SCA requerem consonância de classificação por parte da LLR e do valor cromossómico normalizado.² São calculadas pontuações de LLR específicas para [45,X] (síndrome de Turner) e para [47,XXX]. Em relação a fetos identificados como sendo do sexo masculino, as chamadas de SCA para [47,XXY] (síndrome de Klinefelter) ou para [47,XYY] podem ter por base a relação entre os valores cromossómicos normalizados para os

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

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

cromossomas X e Y (NCV_X e NCV_Y). As amostras que pertençam a fetos do sexo masculino relativamente às quais o NCV_X está dentro do intervalo observado para amostras do sexo feminino de euploides podem ser chamadas [47,XXY]. As amostras que pertençam a amostras do sexo masculino relativamente às quais o NCV_X está no intervalo observado para amostras do sexo masculino de euploides, mas em que o cromossoma Y está sobre-representado, podem ser chamadas [47,XYY].

Alguns valores de NCV_Y e NCV_X não são abrangidos pela capacidade do sistema de fazer uma determinação de SCA. Estas amostras produzem um resultado Não reportável para classificação de XY. Os resultados autossómicos continuam a ser fornecidos para estas amostras se todos os outros indicadores de CQ forem aprovados.

CQ de análises

Os indicadores de CQ de análises são indicadores calculados durante as análises e são utilizados para detetar amostras que se desviam em demasia do comportamento esperado. Os dados de amostras que não cumpram estes indicadores são considerados como não sendo fiáveis e são marcados como falhados. Quando as amostras produzem resultados fora dos intervalos esperados para estas métricas, o Relatório NIPT apresenta um motivo de CQ, como um aviso ou uma causa de falha. Consulte *Mensagens de Motivo de CQ na página 46* para obter mais informações sobre estes motivos de CQ.

CQ de amostras NTC

O VeriSeq NIPT Solution permite adicionar amostras NTC como parte do ensaio. O ML STAR pode gerar até 2 NTCs por ensaio para lotes de 24 amostras e 48 amostras e até 4 NTCs para lotes de 96 amostras. Independentemente da quantidade de amostras NTC adicionadas, o software verifica uma média mínima de 4 000 000 fragmentos únicos mapeados por amostra e por pool. Por este motivo, não adicione mais de 2 amostras NTC por pool. Para mais informações, consulte *Indicadores e limites de CQ de sequenciação na página 34*.

Os estados de CQ para amostras NTC são:

- ▶ **NTC sample processing** (Processamento de amostras NTC) — Quando processar uma amostra NTC, o software aplica um resultado PASS QC (CQ aprovado) quando a cobertura da amostra for baixa, conforme esperado para NTC.
- ▶ **Patient sample as NTC** (Amostra de paciente como NTC) — Quando uma amostra de paciente, marcada como NTC, é processada, é detetada cobertura elevada. Como a amostra está marcada como NTC, o software marca o estado da amostra de CQ como FAIL (Falha) com o seguinte motivo: NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (AMOSTRA NTC COM COBERTURA ELEVADA).

VeriSeq Onsite Server v2

O VeriSeq Onsite Server v2 tem um sistema operativo baseado em Linux e fornece cerca de 7,5 TB de capacidade de armazenamento de dados. Partindo do princípio de que os ensaios de sequenciação têm um tamanho de dados de 25 GB, o servidor pode armazenar até 300 ensaios. Se a capacidade de armazenamento mínima não estiver disponível, é emitida uma notificação automática. O servidor é instalado na rede local.

Disco local

O Assay Software disponibiliza pastas específicas no Onsite Server para o utilizador. É possível mapear estas pastas com um protocolo de partilha Samba para qualquer área de trabalho ou computador portátil na rede local.

Nome da pasta	Descrição	Acesso
Input (Entrada)	Contém dados de sequenciação gerados pelo sistema de sequenciação de nova geração mapeados para o servidor.	Leitura e escrita.
Saída	Contém todos os relatórios gerados pelo software.	Só de leitura.
Cópia de segurança	Contém cópias de segurança da base de dados.	Só de leitura.



NOTA

O mapeamento do disco local é baseado no protocolo SMB (Server Message Block). O software suporta atualmente as versões SMB1 e SMB2. O servidor requer assinatura SMB. Ative estas versões no equipamento (portátil/estação de trabalho) que está a mapear.

Base de dados local

O Assay Software contém uma base de dados local com as informações da biblioteca, as informações de ensaios de sequenciação e os resultados de análises. A base de dados faz parte integral do Assay Software e não está acessível ao utilizador. O sistema mantém um mecanismo automático para a criação de cópias de segurança da base de dados no Onsite Server. Além dos processos de base de dados seguintes, recomendamos que os utilizadores criem cópias de segurança da base de dados regularmente para uma localização externa.

- ▶ **Database backup** (Cópia de segurança da base de dados) — É guardado automaticamente um instantâneo da base de dados de hora em hora, diariamente, semanalmente e mensalmente. As cópias de segurança de hora em hora são removidas a seguir à criação da cópia de segurança diária. Do mesmo modo, as cópias diárias são removidas quando a cópia semanal estiver pronta. As cópias de segurança semanais são removidas após a criação de uma cópia de segurança mensal, sendo apenas mantida uma cópia mensal. A prática recomendada é criar um script automático que possa manter a pasta da cópia de segurança num NAS local.
- ▶ **Database restore** (Restauração da base de dados) — É possível restaurar a base de dados a partir de qualquer instantâneo da cópia de segurança. Os restauros são feitos apenas pelos Técnicos de assistência da Illumina.
- ▶ **Data backup** (Cópia de segurança dos dados) — Embora seja possível utilizar o Onsite Server como o ponto de armazenamento principal dos ensaios de sequenciação, este só pode armazenar cerca de 300 ensaios. A Illumina recomenda a configuração de uma cópia de segurança de dados automática que seja executada continuamente para outro dispositivo de armazenamento a longo prazo ou para um NAS.
- ▶ **Maintenance** (Manutenção) — Além da cópia de segurança dos dados, o Onsite Server não exige que o utilizador efetue qualquer tipo de manutenção. As atualizações ao Assay Software ou ao Onsite Server são disponibilizadas pelo Suporte Técnico da Illumina.

Arquivo de dados

Consulte a política de arquivo do sítio do departamento de TI local, para determinar como arquivar os diretórios de entrada e saída. O Assay Software monitoriza o espaço restante no disco no diretório entrada e notifica os utilizadores por e-mail quando a capacidade de armazenamento restante estiver abaixo de 1 TB.

Não utilize o Onsite Server para armazenamento de dados. Transfira os dados para o Onsite Server e archive-os regularmente.

Um ensaio de sequenciação típico compatível com o fluxo de trabalho da análise de cfDNA requer entre 25 e 30 GB para ensaios do sequenciador de nova geração. O tamanho efetivo da pasta do ensaio depende da densidade final do cluster.

Proceda ao arquivo de dados apenas quando o sistema estiver inativo e nunca quando estiverem a decorrer análises ou ensaios de sequenciação.

Mapear unidades do servidor

O Onsite Server tem 3 pastas que pode mapear individualmente para qualquer computador com o Microsoft Windows:

- ▶ **input** (entrada) — Mapeia para as pastas de dados de sequenciação. Monte no computador ligado ao sistema de sequenciação. Configure o sistema de sequenciação para transmitir dados para a pasta input (entrada).
- ▶ **output** (saída) — Mapeia para os relatórios de análise do servidor e para os relatórios de processo de ensaio.
- ▶ **backup (cópia de segurança)** — Mapeia para os ficheiros de cópia de segurança da base de dados.

Para mapear cada pasta:

- 1 Inicie sessão no computador dentro da sub-rede do Onsite Server.
- 2 Clique com o botão direito do rato em **Computer** (Computador) e selecione **Map network drive** (Mapear unidade de rede).
- 3 Selecione uma letra na lista pendente Unidade.
- 4 No campo Folder (Pasta), introduza \\<VeriSeq Onsite Server v2 IP address (Endereço IP do VeriSeq Onsite Server)>\<folder name (nome da pasta)>. Por exemplo, \\10.50.132.92\input.
- 5 Introduza o nome de utilizador e a palavra-passe.
As pastas mapeadas com êxito aparecem montadas no computador.



NOTA

O mapeamento do disco local é baseado no protocolo SMB (Server Message Block). O software suporta atualmente as versões SMB1 e SMB2. O servidor requer assinatura SMB. Ative estas versões no equipamento (portátil/estação de trabalho) que está a mapear.

Reiniciar o servidor



NOTA

Só os Técnicos de assistência e os Administradores têm permissão para reiniciar o servidor.

Para reiniciar o servidor:

- 1 Na lista pendente **Settings** (Definições), selecione **Reboot Server** (Reiniciar servidor).
- 2 Selecione **Reboot** (Reiniciar) para reiniciar o sistema ou **Cancel** (Cancelar) para sair sem reiniciar.
- 3 Introduza um motivo para encerrar o servidor.
O motivo é registado para fins de resolução de problemas.



NOTA

O reinício do sistema pode demorar vários minutos.

Encerrar o servidor



NOTA

Só os Técnicos de assistência e os Administradores têm permissão para encerrar o servidor.

Para encerrar o servidor Onsite Server:

- 1 Na lista pendente **Settings** (Definições), selecione **Shut Down Server** (Encerrar servidor).
- 2 Selecione **Shut Down** (Encerrar) para encerrar o Onsite Server ou selecione **Cancel** (Cancelar) para sair sem encerrar.
- 3 Introduza um motivo para encerrar o Onsite Server.
O motivo é registado para fins de resolução de problemas.

Recuperação de um encerramento inesperado

Na eventualidade de uma falha de energia ou de um encerramento acidental por parte do utilizador durante um ensaio de análise, o sistema:

- ▶ Reinicia automaticamente o Assay Software após o arranque.
- ▶ Reconhece que o ensaio de análise falhou e volta a enviá-lo para a fila para processamento.
- ▶ Apresenta os resultados uma vez concluída a análise com sucesso.



NOTA

Se a análise falhar, o Assay Software permite que o sistema volte a enviar o ensaio para análise até um máximo de 3 vezes.

Apêndice A Indicadores de CQ

Quantificação de indicadores e limites de CQ	34
Indicadores e limites de CQ de sequenciação	34

Quantificação de indicadores e limites de CQ

Indicador	Descrição	Limite inferior	Limite superior	Fundamento
standard_r_squared	O valor R ao quadrado do modelo de curva padrão.	0,980	N/D	Os modelos da curva padrão com fraca linearidade no espaço registo-registo não são bons indicadores de verdadeiras concentrações de amostras.
standard_slope	Tangente do modelo de curva padrão.	0,95	1,15	Os modelos de curva padrão com tangente fora das bandas de desempenho esperadas indicam um modelo não fiável.
ccn_library_pg_ul	Concentração de amostra máxima permitida.	N/D	1000 pg/µl	As amostras com concentrações de ADN calculadas que ultrapassem as especificações indicam uma contaminação de ADN genómico em excesso.
median_ccn_pg_ul	Valor de concentração mediana calculada para todas as amostras de um lote.	16 pg/µl	N/D	Um pool de sequenciação de volume apropriado não pode ter um número excessivo de amostras excessivamente diluídas. Os lotes com números elevados de amostras diluídas indicam uma falha no processo de preparação de amostras.

Indicadores e limites de CQ de sequenciação

Indicador	Descrição	Limite inferior	Limite superior	Fundamento
cluster_density	Densidade do cluster de sequenciação.	152 000 por mm ²	338 000 por mm ²	A célula de fluxo com baixa densidade de cluster não gera leituras suficientes. Normalmente, as células de fluxo com cluster em excesso produzem dados de sequenciação de baixa qualidade.
pct_pf	Percentagem de leituras que passam o filtro de pureza.	≥50%	N/D	As células de fluxo com uma percentagem de PF extremamente baixa podem ter uma representação base anómala e é provável que indiquem problemas com leituras de PF.
prephasing	Fração do pré-faseamento.	N/D	≤0,003	Recomendações otimizadas empiricamente para o VeriSeq NIPT Solution v2.
phasing	Fração do faseamento.	N/D	≤0,004	Recomendações otimizadas empiricamente para o VeriSeq NIPT Solution v2.

Indicador	Descrição	Limite inferior	Limite superior	Fundamento
predicted_ aligned_ reads	Número médio estimado de fragmentos exclusivamente mapeados por amostra.	≥4 000 000	N/D	Determinado como o NES mínimo observado em toda a população normal.

Apêndice B Relatórios do sistema

Introdução	36
Resumo dos relatórios do sistema	37
Eventos de geração de relatórios	38
Relatórios de resultados e notificações	40
Relatórios de processos	53

Introdução

O Assay Software gera duas categorias de relatórios:

- ▶ Relatórios de resultados e notificações.
- ▶ Relatórios de processos.

Também existem dois tipos de relatório:

- ▶ **Informational** (Informativo) — Um relatório relacionado com processos que disponibiliza informações sobre o progresso do ensaio e que pode utilizar para confirmar a conclusão de um passo específico. Também mostra informações como os resultados de CQ e os números de ID.
- ▶ **Actionable** (Acionável) — Um relatório assíncrono acionado por um evento do sistema ou uma ação do utilizador que requer a atenção do utilizador.

Esta secção descreve cada relatório e disponibiliza os detalhes do relatório para integração no LIMS.

Ficheiros de saída

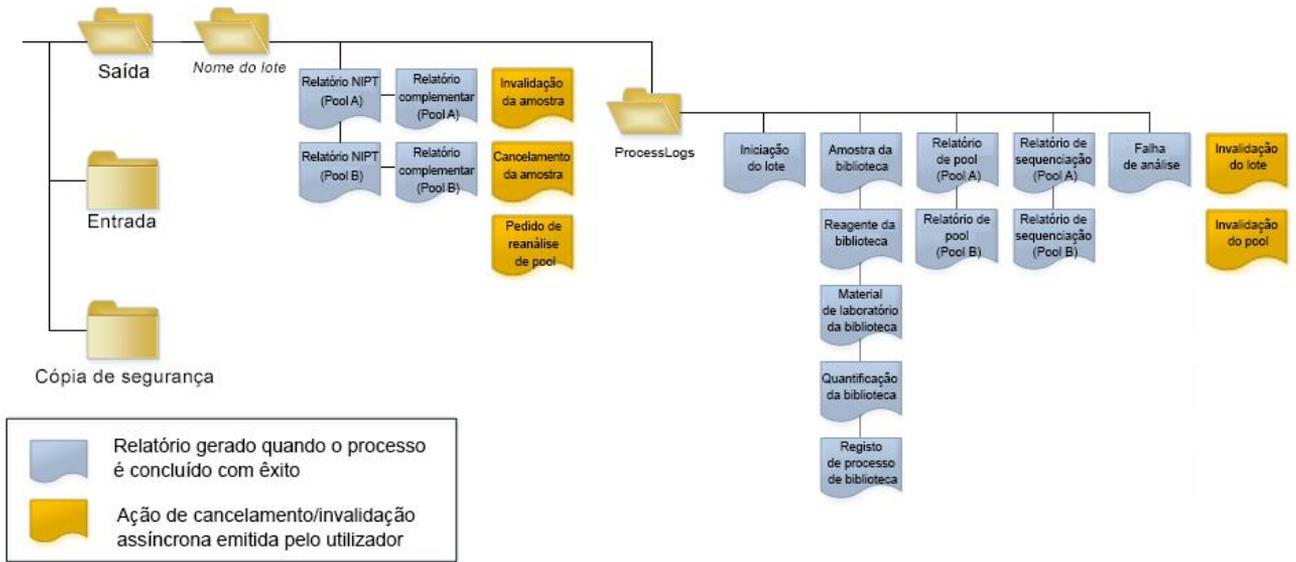
Os relatórios do Assay Software são gerados no disco rígido interno do Onsite Server mapeado para a unidade do utilizador como uma pasta Output (Saída) só de leitura. Cada relatório é gerado com um ficheiro de soma de verificação MD5 padrão correspondente, que é utilizado para confirmar que o ficheiro não foi modificado.

Todos os relatórios têm o formato de texto simples delimitado por separadores. Pode abrir os relatórios com qualquer editor de texto ou folha de cálculo, como o Microsoft Excel.

Estrutura dos ficheiros de relatórios

O Assay Software guarda os relatórios numa estrutura específica na pasta Output (Saída).

Figura 5 Estrutura das pastas dos relatórios do Assay Software



O Assay Software guarda os relatórios na pasta *Batch Name* (Nome do lote) com a organização seguinte:

- ▶ **Main folder (Batch Name folder)** (Pasta principal [pasta Nome do lote]) – Contém relatórios que disponibilizam resultados ou que estão associados a notificações por e-mail geradas pelo LIMS. Para obter detalhes, consulte *Relatórios de resultados e notificações* na página 40.
- ▶ **ProcessLogs folder** (Pasta ProcessLogs) – Contém relatórios relacionados com processos. Para obter detalhes, consulte *Relatórios de processos* na página 53

É disponibilizada uma lista de todos os relatórios em *Resumo dos relatórios do sistema* na página 37.

Resumo dos relatórios do sistema

Nome do relatório	Tipo de relatório	Entidade do relatório	Formato do nome de ficheiro do relatório
<i>Relatório NIPT</i>	Acionável	Pool/célula de fluxo	<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_nipt_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório complementar</i>	Informativo	Pool/célula de fluxo	<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_supplementary_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de invalidação de amostra</i>	Acionável	Amostra	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de cancelamento de amostra</i>	Acionável	Amostra	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_cancellation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de pedido de reanálise de pool</i>	Acionável	Pool	<batch_name>_<pool_type>_pool_retest_request_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de iniciação de lote</i>	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_batch_initiation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de invalidação de lote</i>	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_batch_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab

Nome do relatório	Tipo de relatório	Entidade do relatório	Formato do nome de ficheiro do relatório
<i>Relatório de amostra de biblioteca</i>	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_library_sample_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de reagente de biblioteca</i>	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_library_reagent_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de material de laboratório de biblioteca</i>	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_library_labware_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de quantificação de biblioteca</i>	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_library_quant_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Registo de processo de biblioteca</i>	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_library_process_log.tab
<i>Relatório de pool</i>	Informativo	Pool	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de invalidação de pool</i>	Informativo	Pool	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de sequenciação</i>	Informativo	Pool/célula de fluxo	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_sequencing_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de falha de análise</i>	Informativo	Pool/célula de fluxo	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_analysis_failure_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab

Eventos de geração de relatórios

Relatório	Descrição	Evento de geração
Relatório NIPT	Contém os resultados finais de um ensaio de análise bem-sucedido.	<ul style="list-style-type: none"> • A análise do ensaio de sequenciação é concluída.
Relatório complementar	Contém os resultados complementares de um ensaio de análise bem-sucedido.	<ul style="list-style-type: none"> • Análise de ensaio de sequenciação e relatório NIPT ambos concluídos.
Invalidação da amostra	Contém informações relativas a amostras invalidadas.	<ul style="list-style-type: none"> • O utilizador invalida uma amostra.
Cancelamento da amostra	Contém informações relativas a amostras canceladas.	<ul style="list-style-type: none"> • O utilizador cancela uma amostra.
Pedido de reanálise de pool	Indica que é possível gerar um segundo pool a partir de um lote existente. Contém informações sobre o estado do pedido de reanálise do pool. ¹	<ul style="list-style-type: none"> • O utilizador invalida um pool.
Iniciação do lote	Indica o início do processamento de um lote novo.	<ul style="list-style-type: none"> • O utilizador inicia um lote novo.
Invalidação do lote	Contém informações sobre um lote invalidado iniciado pelo utilizador.	<ul style="list-style-type: none"> • O lote é invalidado.
Amostra da biblioteca	Indica todas as amostras do lote.	<ul style="list-style-type: none"> • O lote é invalidado. • O método de preparação da biblioteca é concluído. • A quantificação do lote falha.

Relatório	Descrição	Evento de geração
Reagente da biblioteca	Contém informações relativas ao reagente do processamento de biblioteca.	<ul style="list-style-type: none"> • O lote é invalidado. • O método de preparação da biblioteca é concluído. • A quantificação do lote falha.
Material de laboratório da biblioteca	Contém informações relativas ao material de laboratório do processamento de biblioteca.	<ul style="list-style-type: none"> • O lote é invalidado. • O método de preparação da biblioteca é concluído. • A quantificação do lote falha.
Quantificação da biblioteca	Contém os resultados das análises de quantificação da biblioteca.	<ul style="list-style-type: none"> • O lote é invalidado. • O método de preparação da biblioteca é concluído. • A quantificação do lote falha.
Registo de processo de biblioteca	Contém os passos executados durante o processamento da biblioteca.	<ul style="list-style-type: none"> • O lote é invalidado. • O método de preparação da biblioteca é concluído. • A quantificação do lote falha. • O processamento do lote é concluído.
Pool	Contém os volumes do pooling de amostra.	<ul style="list-style-type: none"> • O método de pooling é concluído.
Invalidação do pool	Contém informações sobre um pool invalidado iniciado pelo utilizador.	<ul style="list-style-type: none"> • O utilizador invalida um pool.
Sequenciação	Contém os resultados de CQ de sequenciação.	<ul style="list-style-type: none"> • O CQ de sequenciação é aprovado . • Falha na sequenciação. • A sequenciação atingiu o tempo limite.
Falha de análise	Contém informações de análises de um pool falhado.	<ul style="list-style-type: none"> • A análise do ensaio de sequenciação falha.

¹ O utilizador invalida um pool de um lote válido que não excedeu o número máximo de pools.

Relatórios de resultados e notificações

Relatório NIPT

O Relatório NIPT do VeriSeq NIPT Assay Software v2 contém os resultados de classificação de cromossomas formatados como uma amostra por linha para cada amostra no pool.

Coluna	Descrição	Opções de valor predefinidas	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	Não aplicável.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Código de barras de amostra único.	Não aplicável.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_type	Informações do tipo de amostra fornecidas pelo utilizador do ponto de colheita ou do laboratório. Determina a apresentação da classificação de aneuploidia.	Um dos seguintes: <ul style="list-style-type: none"> • Singleton (único) – gravidez de embrião único. • Twin (gémeos) – gravidez de vários embriões. • Control (Controlo) – controlo de amostras de sexo conhecido e classificação de aneuploidia. • NTC – sem amostra de controlo de modelo (sem ADN). • Not specified (Não especificado) – não foi fornecido um tipo de amostra para esta amostra. 	enumeração	<i>Valores especificados nas Opções de valor predefinidas.</i>
sex_chrom	Análise do cromossoma sexual solicitada. Determina a apresentação de classificação de aneuploidia e informações do cromossoma sexual.	Um dos seguintes: <ul style="list-style-type: none"> • Yes (Sim) – relatório de aneuploidia do cromossoma sexual e relatório sobre sexo solicitados. • No (Não) – nem relatório de aneuploidia de cromossoma sexual nem relatório sobre sexo solicitados. • SCA – relatório de aneuploidia de cromossoma sexual solicitado e relatório sobre sexo não solicitado. • Not specified (Não especificado) – não foi fornecida uma opção de relatório do cromossoma sexual para esta amostra. 	enumeração	<i>Valores especificados nas Opções de valor predefinidas.</i>

Coluna	Descrição	Opções de valor predefinidas	Tipo	Regex
screen_ type	Tipo de rastreio.	Um dos seguintes: <ul style="list-style-type: none"> • Basic (Básico) – rastreio dos cromossomas 13, 18 ou 21. • Genomewide (Genoma) – rastreio do genoma completo. • Not specified (Não especificado) – não foi fornecido um tipo de rastreio para esta amostra. 	texto	<i>Valores especificados nas Opções de valor predefinidas.</i>
flowcell	Código de barras da célula de fluxo de sequenciação.	Não aplicável.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$

Coluna	Descrição	Opções de valor predefinidas	Tipo	Regex
class_sx	Classificação de aneuploidia para cromossoma sexual.	<p>Uma das seguintes consoante as opções selecionadas de tipo de amostra e relatório sobre o cromossoma sexual:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ANOMALY DETECTED – XO (ANOMALIA DETETADA – XO) — Monossomia X. • ANOMALY DETECTED – XXX (ANOMALIA DETETADA – XXX) — Trissomia X. • ANOMALY DETECTED – XXY (ANOMALIA DETETADA – XXY) — 2 cromossomas X num feto masculino. • ANOMALY DETECTED – XYY (ANOMALIA DETETADA – XYY) — 2 cromossomas Y. • NO ANOMALY DETECTED (NENHUMA ANOMALIA DETETADA) — Amostra negativa e sexo não reportado. • NO ANOMALY DETECTED – XX (NENHUMA ANOMALIA DETETADA – XX) — Amostra negativa com feto feminino. • NO ANOMALY DETECTED – XY (NENHUMA ANOMALIA DETETADA – XY) — Amostra negativa com feto masculino. • NOT REPORTABLE (CROMOSSOMAS SEXUAIS NÃO REPORTÁVEIS) — O software não conseguiu reportar o cromossoma sexual. • NO CHR Y PRESENT (NENHUM CR Y PRESENTE) — Gravidez de gémeos sem cromossoma Y detetado. • CHR Y PRESENT (CR Y PRESENTE) — Gravidez de gémeos com cromossoma Y detetado. • CANCELLED (CANCELADO) — Amostra cancelada pelo utilizador. • INVALIDATED (INVALIDADO) — A amostra falhou no CQ ou foi invalidada pelo utilizador. • NOT TESTED (NÃO TESTADO) — O cromossoma sexual não foi testado. • NA — A categoria não é aplicável à amostra. 	class_sx	<i>Valores especificados nas Opções de valor predefinidas.</i>

Coluna	Descrição	Opções de valor predefinidas	Tipo	Regex
class_auto	Classificação para aneuploidias em autossomas. Reportada ANOMALY DETECTED (ANOMALIA DETETADA) se tiver sido detetada na amostra uma anomalia no tipo de rastreio selecionado.	Um dos seguintes: <ul style="list-style-type: none"> • ANOMALY DETECTED (ANOMALIA DETETADA) — Anomalia autossómica e cromossómica detetada. • NO ANOMALY DETECTED (NENHUMA ANOMALIA DETETADA) — Não foi detetada nenhuma anomalia autossómica. • CANCELLED (CANCELADO) — Amostra cancelada pelo utilizador. • INVALIDATED (INVALIDADO) — A amostra falhou no CQ ou foi invalidada pelo utilizador. • NA — A categoria não é aplicável à amostra. 	texto	<i>Valores especificados nas Opções de valor predefinidas.</i>
anomaly_description	O texto estilo ISCN que descreve todas as anomalias reportáveis. Anomalias múltiplas são separadas por ponto e vírgula.	DETECTED (DETETADO): seguido por texto separado por ponto e vírgula, concatenando os seguintes formatos, por ordem cromossómica: (\+ -)[12]?[0-9] (del dup)\{[12]?[0-9]\}\(((p q)[0-9]{1,2}\.[0-9]{1,2})?)?{2}\\ XO XXX XXY XYY ou NO ANOMALY DETECTED (NENHUMA ANOMALIA DETETADA) NA INVALIDATED (INVALIDADO) CANCELLED (CANCELADO).	texto	<i>O texto separado por ponto e vírgula e outros valores descritos na secção Regras de descrição de anomalias.</i>
qc_flag	Resultados da análise de CQ. Apenas os valores qc_flag dos resultados de relatório WARNING (AVISO) e PASS (APROVADO). Todos os restantes valores não.	Um dos seguintes: <ul style="list-style-type: none"> • PASS (APROVADO) • WARNING (AVISO) • FAIL (FALHADO) • CANCELLED (CANCELADO) • INVALIDATED (INVALIDADO) • NTC_PASS 	enumeração	<i>Valores especificados nas Opções de valor predefinidas.</i>

Coluna	Descrição	Opções de valor predefinidas	Tipo	Regex
qc_reason	Falha de CQ ou informações de aviso.	Um dos seguintes: <ul style="list-style-type: none"> • NONE (NENHUM) (estado do CQ = APROVADO) • MULTIPLE ANOMALIES DETECTED (MÚLTIPLAS ANOMALIAS DETETADAS) (estado do CQ = AVISO) • FAILED iFACT (iFACT FALHADO) • DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DADOS FORA DO INTERVALO ESPERADO) • FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DO FRAGMENTO FORA DO INTERVALO ESPERADO) • FLOWCELL DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DADOS FLOWCELL FORA DO INTERVALO ESPERADO) • FAILED TO ESTIMATE FETAL FRACTION (FALHA AO ESTIMAR A FRAÇÃO FETAL) • SEQUENCING DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DADOS DE SEQUENCIAÇÃO FORA DO INTERVALO ESPERADO) • UNEXPECTED DATA (DADOS INESPERADOS) • NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (AMOSTRA DE NTC COM COBERTURA ELEVADA) • CANCELLED (CANCELADO) • INVALIDATED (INVALIDADO) 	texto	<i>Valores especificados nas Opções de valor predefinidas.</i>
ff	Fração fetal estimada.	Porcentagem de amostra de cfDNA do feto arredondada para o número inteiro mais próximo. Os resultados inferiores a 1% são apresentados como < 1%.	texto	<i>Não aplicável.</i>

Regras de descrição de anomalias

Se a análise do VeriSeq NIPT Assay Software v2 identificar uma anomalia, o campo `anomaly_description` no Relatório NIPT apresenta o valor DETECTED (DETETADO) seguido por uma cadeia de texto. Este texto descreve todas as anomalias reportáveis com base no estilo do ISCN (International Standing Committee on Cytogenetic Nomenclature). O texto contém múltiplos elementos separados por ponto e vírgula. Cada elemento representa uma trissomia ou monossomia num autossoma, uma aneuploidia do cromossoma sexual ou uma duplicação ou eliminação parcial.

Os elementos de trissomia e monossomia são registados como `+<chr>` e `-<chr>`, respetivamente, em que `<chr>` é o número do cromossoma.

Por exemplo, uma amostra com uma trissomia no cromossoma 5 aparece da seguinte forma:

+5

Uma amostra com uma monossomia no cromossoma 6 aparece da seguinte forma:

-6

As aneuploidias do cromossoma sexual usam notação padrão, com quatro valores possíveis:

- ▶ XO - para monossomia no cromossoma X.
- ▶ XXX - para trissomia no cromossoma X.
- ▶ XXY - para 2 cromossomas X no sexo masculino.
- ▶ XYY - para 2 cromossomas Y no sexo masculino.

As duplicações ou eliminações parciais geram apenas autossomas e só aparecem em rastreios de genoma. A sintaxe de uma duplicação ou eliminação parcial é `<type>(<chr>(<start band><end band>)`, em que:

- ▶ `<type>` é o tipo de evento, `del` corresponde a eliminação ou `dup` corresponde a duplicação.
- ▶ `<chr>` é o número do cromossoma.
- ▶ `<start band>` é a faixa citogenética que contém o início do evento.
- ▶ `<end band>` é a faixa citogenética que contém o fim do evento.

Por exemplo, uma duplicação ou eliminação parcial em que a faixa citogenética entre p14 e q15 no cromossoma 22 tem uma duplicação é apresentada da seguinte forma:

`dup (22) (p14q15)`

O campo `anomaly_description` segue três regras de ordenação:

- 1 Os elementos são ordenados por número de cromossoma, independentemente de se tratar de um cromossoma inteiro ou de uma duplicação ou eliminação parcial. Se estiver presente uma aneuploidia do cromossoma sexual, será apresentada por último.
- 2 Para duplicações ou eliminações parciais no mesmo cromossoma, as eliminações aparecem antes das duplicações.
- 3 As duplicações ou eliminações parciais do mesmo tipo no mesmo cromossoma são ordenadas pela base inicial, que aparece no Relatório Complementar.

Mensagens de Motivo de CQ

A coluna qc_reason do Relatório NIPT apresenta uma falha de CQ ou um aviso quando os resultados da análise ficarem fora do intervalo esperado para uma métrica de CQ analítica. As falhas de CQ resultam na supressão total dos resultados de aneuploidia de cromossoma, classificação sexual, resultados de relatório complementar e fração fetal estimada, que correspondem aos seguintes campos do Relatório NIPT: class_auto, class_sx, anomaly_description e ff.

Mensagem de Motivo de CQ	Descrição	Ação recomendada
FAILED iFACT (iFACT FALHADO)	individualized Fetal Aneuploidy Confidence Test (Análise de Confiança de Aneuploidia Fetal individualizada) (iFACT) – indicador de CQ que combina a estimativa da fração fetal com indicadores de ensaio associados à cobertura para determinar se o sistema tem confiança estatística para fazer uma identificação relativamente a uma determinada amostra.	Reprocessar a amostra.
DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DADOS FORA DO INTERVALO ESPERADO)	O desvio médio da cobertura de euploides não é consistente com a distribuição dos dados preparados. Possivelmente, provocado por contaminação ou processamento incorreto da amostra.	Reprocessar a amostra.
FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DO FRAGMENTO FORA DO INTERVALO ESPERADO)	A distribuição do tamanho de fragmento não é consistente com a distribuição dos dados preparados. Possivelmente, provocado por contaminação ou processamento incorreto da amostra.	Reprocessar a amostra.
FLOWCELL DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DADOS FLOWCELL FORA DO INTERVALO ESPERADO)	Os dados de Flowcell não são consistentes com a distribuição dos dados preparados. Possivelmente causado por um erro na configuração do Flowcell.	Reprocessar a amostra.
FAILED TO ESTIMATE FETAL FRACTION (FALHA AO ESTIMAR A FRAÇÃO FETAL)	Não é possível produzir uma estimativa de fração fetal válida.	Reprocessar a amostra.
SEQUENCING DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DADOS DE SEQUENCIAÇÃO FORA DO INTERVALO ESPERADO)	Os dados de sequenciação de entrada não são consistentes com a distribuição dos dados preparados. Possivelmente, provocado por contaminação ou processamento incorreto da amostra.	Repetir a sequenciação do flowcell.
UNEXPECTED DATA (DADOS INESPERADOS)	O relatório gera uma preocupação de CQ que não corresponde a nenhum dos outros motivos de CQ apresentados nesta tabela.	Contacte o Suporte Técnico da Illumina.

Mensagem de Motivo de CQ	Descrição	Ação recomendada
MULTIPLE ANOMALIES DETECTED (MÚLTIPLAS ANOMALIAS DETETADAS)	<p>São detetadas na amostra duas ou mais anomalias reportáveis (incluindo aneuploidias do cromossoma total e duplicações ou eliminações parciais).</p> <p>A deteção de múltiplas anomalias pode indicar o manuseamento incorreto da amostra ou um evento mais raro, como neoplasia maligna materna.</p> <p>Esta mensagem é um aviso. Não representa uma falha de CQ. Os resultados são reportados para que possa ver as anomalias detetadas. Contudo, pode ser necessário reprocessar a amostra.</p>	Reprocessar a amostra.
NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (AMOSTRA DE NTC COM COBERTURA ELEVADA)	<p>Cobertura elevada detetada numa amostra de NTC (não é esperado material de DNA).</p> <p>Possivelmente, provocado por contaminação ou processamento incorreto da amostra.</p>	Reprocessar a amostra.
CANCELLED (CANCELADA)	A amostra foi cancelada por um utilizador.	Não aplicável.
INVALIDATED (INVALIDADA)	A amostra foi invalidada por um utilizador.	Não aplicável.

Relatório complementar

O Relatório complementar contém dados de métricas adicionais, com base num lote, numa amostra ou numa região. Neste relatório, cada linha representa uma métrica. São aplicadas várias métricas ao mesmo lote, amostra ou região.

O ficheiro separado por separadores tem seis colunas, conforme descrito na tabela abaixo.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
flowcell	Código de barras do flowcell.	texto	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
batch_name	Nome do lote relevante.	texto	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
sample_barcode	Código de barras da amostra.	texto	NA (não aplicável) para métricas por lote. <code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
região	Um cromossoma inteiro ou uma descrição da região da duplicação ou eliminação parcial.	texto	N/A (não aplicável) – para métricas por lote ou por amostra. <code>chr[12]?[0-9X]</code> – para métricas de região de cromossoma inteiro. <code>(del dup)\{([12]?[0-9X])\}\(((p q)[0-9]{1,2}\.[0-9]{1,2})?)\{2}\)</code> – para métricas de região de duplicação ou eliminação parcial.
metric_name	Nome da métrica descrita.	texto	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
metric_value	Valor da métrica.	varia	Consulte <i>Métricas do relatório complementar</i> .

Métricas do relatório complementar

O Relatório complementar contém dados para as seguintes métricas. Cada métrica é apresentada com base no lote, na amostra ou na região.

A métrica do Cromossoma X só é apresentada se selecionar as opções do cromossoma sexual Yes (Sim) ou SCA.

Os intervalos de valores são apresentados como Minimum Value (Valor mínimo), Maximum Value (Valor máximo) entre parêntesis e parêntesis retos. Os parêntesis indicam que um valor limite é excluído do intervalo e os parêntesis retos indicam que um valor limite é incluído no intervalo. Inf é a abreviatura de infinito.

Nome da métrica	Frequência	Descrição	Tipo	Regex ou Intervalo de valores
genome_ assembly	Por lote	O sistema de coordenadas do alinhamento dos dados de sequenciação e as coordenadas de região do relatório. Sempre GRCh37 para o VeriSeq NIPT Solution v2.	texto	^GRCh37\$
frag_size_ dist	Por amostra	O desvio padrão das diferenças entre as distribuições do tamanho de fragmento cumulativo reais e esperadas.	flutuante	(0, Inf)
fetal_fraction	Por amostra	Fração fetal reportada.	flutuante	(0, 1)
NCV_X	Por amostra	Valor de cromossoma normalizado do cromossoma X. Só aparece se a opção do cromossoma sexual no relatório o permitir. Caso contrário, esta métrica aparece como NOT TESTED (NÃO TESTADA).	flutuante	(-Inf, Inf)
NCV_Y	Por amostra	Valor de cromossoma normalizado do cromossoma Y. Só aparece se a opção do cromossoma sexual no relatório o permitir. Caso contrário, esta métrica aparece como NOT TESTED (NÃO TESTADA).	flutuante	(-Inf, Inf)
number_of_ cnv_events	Por amostra	O número de regiões com duplicação ou eliminação parcial detetadas na amostra.	número inteiro	(0, Inf)
non_ excluded_ sites	Por amostra	O número de leituras restantes após a filtragem que são contabilizadas para análise.	número inteiro	(0, Inf)
region_ classification	Por região	Classificação da região pelo sistema no mesmo formato que o campo anomaly_description no Relatório NIPT . Para o cromossoma X, se não tiver sido detetada qualquer anomalia de cromossoma sexual reportável, a classificação da região irá corresponder ao valor de class_sx no Relatório NIPT . Opções de valor (regex): DETETADO: (\+ -)[12]?[0-9] DETETADO: (del dup)\([12]?[0-9]\)\(((p q)[0-9]{1,2}\.[0-9]{1,2})?\{2}\) NO ANOMALY DETECTED (NENHUMA ANOMALIA DETETADA) DETETADO: (XO XXX XXY XYY) NO ANOMALY DETECTED (NENHUMA ANOMALIA DETETADA) – XX NO ANOMALY DETECTED (NENHUMA ANOMALIA DETETADA) – XY NOT REPORTABLE (NÃO REPORTÁVEL) CHR Y PRESENT (CROMOSSOMA Y PRESENTE) CHR Y NOT PRESENT (CROMOSSOMA Y NÃO PRESENTE)	texto	<i>Valores especificados na Descrição.</i>
cromossoma	Por região	O símbolo do cromossoma.	texto	chr[12]?[0-9X]
start_base	Por região	Primeira base incluída na região.	número inteiro	[1, Inf]
end_base	Por região	Última base incluída na região.	número inteiro	[1, Inf]

Nome da métrica	Frequência	Descrição	Tipo	Regex ou Intervalo de valores
start_cytoband	Por região	Faixa citogenética da primeira base incluída na região.	texto	(p q)[0-9]{1,2}(\.[0-9]{1,2})?
end_cytoband	Por região	Faixa citogenética da última base incluída na região.	texto	(p q)[0-9]{1,2}(\.[0-9]{1,2})?
region_size_mb	Por região	O tamanho da região em megabases.	flutuante	(0, Inf)
region_llr_trisomy	Por região	A pontuação de LLR (razão de verosimilhança de registo) para trissomia na região. Indica evidência de trissomia em comparação com evidência sem alteração (dissomia). É identificada uma trissomia se esta pontuação de LLR ultrapassar um limiar predeterminado. Para duplicações ou eliminações parciais, esta métrica só aparece se o tipo for um ganho (dup). Caso contrário, esta métrica aparece como N/A (não aplicável).	flutuante	(-Inf, Inf)
region_llr_monosomy	Por região	A pontuação de LLR para monossomia na região. Indica evidência de monossomia em comparação com evidência sem alteração (dissomia). É identificada uma monossomia se esta pontuação de LLR ultrapassar um limiar predeterminado. Para duplicações ou eliminações parciais, esta métrica só aparece se o tipo for uma perda (del). Caso contrário, esta métrica aparece como N/A (não aplicável). Esta métrica aparece como NOT TESTED (NÃO TESTADA) se optar por executar o tipo de rastreio básico.	flutuante	(-Inf, Inf)
region_t_stat_long_reads	Por região	A estatística T da região. A estatística T é a diferença da cobertura entre a região e o resto do genoma, em comparação com a variação na amostra. Esta é uma métrica de sinal/ruído que capta a detetabilidade de qualquer alteração na cobertura da região. "long_reads" indica que a cobertura utilizada para esta estatística T inclui uma vasta gama de tamanhos de fragmento utilizados na análise. A estatística T é combinada com a estimativa de fração fetal da amostra, para gerar pontuações de LLR.	flutuante	(-Inf, Inf)
region_mosaic_ratio	Por região	A proporção do material fetal com aneuploidia. Esta métrica baseia-se na proporção da fração fetal inferida da cobertura da região para a fração fetal da amostra. Em amostras com frações fetais próximas de zero, as proporções de mosaico podem assumir valores negativos devido à variabilidade da estimativa da fração fetal da amostra utilizada no respetivo cálculo.	flutuante	(-Inf, Inf)
region_mosaic_llr_trisomy	Por região	A pontuação de LLR para trissomia calculada utilizando a fração fetal inferida da cobertura na região, em vez da fração fetal da amostra. Para duplicações ou eliminações parciais, esta métrica só aparece se o tipo for um ganho (dup). Caso contrário, esta métrica aparece como N/A (não aplicável).	flutuante	(-Inf, Inf)

Nome da métrica	Frequência	Descrição	Tipo	Regex ou Intervalo de valores
region_ mosaic_llr_ monosomy	Por região	A pontuação de LLR para monossomia calculada utilizando a fração fetal inferida da cobertura na região, em vez da fração fetal da amostra. Para duplicações ou eliminações parciais, esta métrica só aparece se o tipo for uma perda (de). Caso contrário, esta métrica aparece como N/A (não aplicável). Esta métrica aparece como NOT TESTED (NÃO TESTADA) se optar por executar o tipo de rastreamento básico.	flutuante	(-Inf, Inf)

Relatório de invalidação de amostra

O sistema gera um Relatório de invalidação de amostra para cada amostra invalidada ou falhada.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Código de barras único da amostra invalidada.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reason	Motivo indicado pelo utilizador para a invalidação da amostra.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
operator	Nome de utilizador do operador que invalidou ou falhou a amostra.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Data e hora da invalidação da amostra.	Carimbo de data/hora ISO 8601	

Relatório de cancelamento de amostra

O sistema gera um Relatório de cancelamento de amostra para cada amostra cancelada.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Código de barras único da amostra cancelada.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reason	Motivo indicado pelo utilizador para o cancelamento da amostra.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
operator	Nome de utilizador do operador que cancelou a amostra.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Data e hora do cancelamento da amostra.	Carimbo de data/hora ISO 8601	

Relatório de pedido de reanálise de pool

O Relatório de pedido de reanálise de pool indica que pode ser criado um novo pool. O sistema gera um Relatório de pedido de reanálise de pool quando o primeiro de dois ensaios de sequenciação (pools) possíveis para esse tipo de pool é invalidado.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_type	Tipo de pool.	enumeração	A B C E
reason	Motivo indicado pelo utilizador para invalidar o pool anterior.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Data e hora do pedido.	Carimbo de data/hora ISO 8601	

Relatórios de processos

Relatório de iniciação de lote

O sistema gera um Relatório de iniciação de lote quando um lote é iniciado e validado com êxito antes do isolamento do plasma.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Código de barras de amostra único.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_type	Tipo de amostra do código de barras da amostra.	enumeração	singleton (único) control (controlo) twin (gémeos) ntc
well	Poço associado a uma amostra.	texto	^[a-zA-Z]{1,1}[0-9]{1,2}\$
assay	Nome do ensaio.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$
method_version	Versão do método de automatização do ensaio.	texto	VeriSeq v2 NIPT Assay
workflow_manager_version	A versão do gestor do fluxo de trabalho associada ao lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$

Relatório de invalidação de lote

O sistema gera um Relatório de invalidação de lote quando um lote é invalidado ou falhado.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reason	Motivo indicado pelo utilizador para a invalidação do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
operator	Iniciais do operador que invalidou o lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Data e hora da invalidação do lote.	Carimbo de data/hora ISO 8601	

Relatório de amostra de biblioteca

O sistema gera um Relatório de amostra de biblioteca nos casos de falha ou invalidação do lote, conclusão bem-sucedida da biblioteca e conclusão bem-sucedida da quantificação.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Código de barras de amostra único.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
qc_status	Estado da amostra após a conclusão dos passos do ensaio.	enumeração	aprovado falhado
qc_reason	Motivo para o estado de CQ.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
starting_volume	Volume inicial do tubo de colheita de sangue em ml no momento do isolamento do plasma.	flutuante	
index	Índice associado a uma amostra.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
ccn_library_pg_ul	Concentração da biblioteca em pg/µl.	flutuante	
plasma_isolation_comments	Comentários do utilizador ao efetuar o isolamento do plasma (texto livre).	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$
cfdna_extraction_comments	Comentários do utilizador ao efetuar a extração de cfDNA (texto livre).	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$
library_prep_comments	Comentários do utilizador ao efetuar a preparação da biblioteca (texto livre).	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$
quantitation_comments	Comentários do utilizador ao efetuar a quantificação (texto livre).	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$

Relatório de reagente de biblioteca

O sistema gera um Relatório de reagente de biblioteca nos casos de falha ou invalidação do lote, conclusão bem-sucedida da biblioteca e conclusão bem-sucedida da quantificação.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
process	Nome do processo, no formato PROCESS:sub-process. Opções de valor: <ul style="list-style-type: none"> • ISOLATION (ISOLAMENTO) — batch_validation, prespin, postspin, data_transact. • EXTRACTION (EXTRAÇÃO) — setup, chemistry, data_transact. • LIBRARY (BIBLIOTECA) — setup, chemistry, data_transact, complete. • QUANT (QUANTIFICAÇÃO) — setup, build_standards, build_384, analysis, data_transact. • POOLING (POOLING) — analysis, setup, pooling, data_transact, complete. 	texto	^[A-Z]{1,36}:?[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reagent_name	Nome do reagente.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
lot	Código de barras do reagente.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
expiration_date	Data de validade no formato do fabricante.	texto	^[a-zA-Z0-9:/_-]{1,100}\$
operator	Nome de utilizador do operador.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
initiated	Carimbo de data/hora associado ao reagente.	Carimbo de data/hora ISO 8601	

Relatório de material de laboratório de biblioteca

O sistema gera um Relatório de material de laboratório de biblioteca nos casos de falha ou invalidação do lote, conclusão bem-sucedida da biblioteca e conclusão bem-sucedida da quantificação.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
labware_name	Nome do material de laboratório.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
labware_barcode	Código de barras do material de laboratório.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
initiated	Carimbo de data/hora da iniciação associado ao material de laboratório.	Carimbo de data/hora ISO 8601	

Relatório de quantificação de biblioteca

O sistema gera um Relatório de quantificação de biblioteca após a conclusão bem-sucedida da quantificação.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
quant_id	Identificação numérica.	por extenso	
instrument	Nome do instrumento de quantificação (texto livre).	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
standard_r_squared	R ao quadrado.	flutuante	
standard_intercept	Interceção.	flutuante	
standard_slope	Tangente.	flutuante	
median_ccn_pg_ul	Mediana da concentração da amostra.	flutuante	
qc_status	Estado do CQ de quantificação.	enumeração	aprovado falhado
qc_reason	Descrição do motivo da falha, se existir.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
initiated	Carimbo de data/hora da iniciação associado à quantificação.	Carimbo de data/hora ISO 8601	

Registo de processo de biblioteca

O sistema gera um Registo de processo de biblioteca no início, na conclusão e em caso de falha de cada processo de lote; em caso de falha ou invalidação do lote; e na conclusão da análise (gerada pelo pool).

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
process	Nome do processo de lote, no formato PROCESS:sub-process. Opções de valor: ISOLATION (ISOLAMENTO) — batch_validation, prespin, postspin, data_transact. EXTRACTION (EXTRAÇÃO) — setup, chemistry, data_transact. LIBRARY (BIBLIOTECA) — setup, chemistry, data_transact, complete. QUANT (QUANTIFICAÇÃO) — setup, build_standards, build_384, analysis, data_transact. POOLING (POOLING) — analysis, setup, pooling, data_transact, complete.	texto	^[A-Z]{1,36}:[a-z0-9_-]{1,36}\$
operator	Iniciais do operador.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
instrument	Nome do instrumento.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
started	Data e hora do início do processo de lote.	Carimbo de data/hora ISO 8601	
finished	Data e hora da conclusão ou da falha do processo de lote.	Carimbo de data/hora ISO 8601	
status	Lote atual.	enumeração	concluído falhado iniciado cancelado

Relatório de pool

O sistema gera um Relatório de pool após a conclusão bem-sucedida da biblioteca, falha do lote e invalidação do lote se o evento ocorrer depois do início do pooling.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
sample_barcode	Código de barras de amostra único.	texto	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
pool_barcode	Código de barras do pool associado a uma amostra.	texto	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
pool_type	Tipo de pool associado a uma amostra.	enumeração	A B C E
pooling_volume_ul	Volume do pooling em µl.	flutuante	
pooling_comments	Comentários do utilizador ao efetuar o pooling (texto livre).	texto	^[a-zA-Z0-9_ -]{1,512}\$

Relatório de invalidação de pool

O sistema gera um Relatório de invalidação de pool quando um pool é invalidado.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
pool_barcode	Código de barras do pool invalidado.	texto	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
reason	Motivo indicado pelo utilizador para a invalidação do pool.	texto	^[a-zA-Z0-9_ -]{1,36}\$
operator	Iniciais do operador que invalidou o pool.	texto	^[a-zA-Z0-9_ -]{1,36}\$
timestamp	Data e hora da invalidação do pool.	Carimbo de data/hora ISO 8601	

Relatório de sequenciação

O sistema gera um Relatório de sequenciação do ensaio de sequenciação quando a sequenciação é concluída ou o tempo limite é atingido.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode	Código de barras do pool associado ao ensaio de sequenciação.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
instrument	Número de série do sequenciador.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
flowcell	Célula de fluxo associada ao ensaio de sequenciação.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
software_version	Concatenação da aplicação/versão do software utilizada para gerar os dados no sequenciador.	texto	
run_folder	Nome da pasta do ensaio de sequenciação.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]+\$
sequencing_status	Estado do ensaio de sequenciação.	enumeração	concluído tempo limite atingido falhado
qc_status	Estado de CQ do ensaio de sequenciação.	enumeração	aprovado falha erro
qc_reason	Motivos de CQ para a falha de CQ, valores separados por ponto e vírgula.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
cluster_density	Densidade do cluster (mediana por célula de fluxo nos blocos).	flutuante	
pct_q30	Porcentagem de bases acima de Q30.	flutuante	
pct_pf	Porcentagem de leituras que passam no filtro.	flutuante	
phasing	Faseamento.	flutuante	
prephasing	Pré-faseamento.	flutuante	
predicted_aligned_reads	Leituras alinhadas previstas.	por extenso	
started	Carimbo de data/hora associado ao início da sequenciação.	Carimbo de data/hora ISO 8601	
completed	Carimbo de data/hora associado à conclusão da sequenciação.	Carimbo de data/hora ISO 8601	

Relatório de falha de análise

O sistema gera um Relatório de falha de análise quando o número máximo de tentativas de análise do ensaio de sequenciação falha.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode	Código de barras do pool associado à análise falhada.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
flowcell	Código de barras da célula de fluxo associado à análise falhada.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
sequencing_run_folder	Pasta do ensaio de sequenciação associado à análise falhada.	texto	^[a-zA-Z0-9_]+\$
analysis_run_status	Estado do ensaio de sequenciação associado à análise falhada.	texto	^[a-zA-Z0-9_]+\$
timestarted	Carimbo de data/hora associado ao início da análise.	Carimbo de data/hora ISO 8601	
timefinished	Carimbo de data/hora associado à análise falhada.	Carimbo de data/hora ISO 8601	

Apêndice C Resolução de problemas

Introdução	60
Notificações do Assay Software	61
Problemas do sistema	68
Testes de processamento de dados	68

Introdução

A assistência de resolução de problemas do VeriSeq NIPT Solution v2 é composta por:

- ▶ Notificações do Assay Software e do sistema.
- ▶ Ações recomendadas para problemas do sistema.
- ▶ Instruções para utilizar dados de teste pré-instalados para efetuar análises preventivas e de falhas.

Notificações do Assay Software

Esta secção descreve as notificações do Assay Software:

Notificações de progresso

As notificações de progresso indicam o progresso normal da execução do ensaio. Estas notificações são registadas como "Atividades" e não requerem ações do utilizador.

Notificação	Passo	When (Quando)	Nível do alerta	E-mail	Ação recomendada
Batch initiation (Iniciação do lote)	Preparação da biblioteca	O utilizador criou um lote novo.	Atividade	Sim	Não aplicável.
Batch Library Complete (Biblioteca do lote concluída)	Preparação da biblioteca	Biblioteca do lote atual concluída.	Atividade	Não	Não aplicável.
Pool Complete (Pool concluído)	Preparação da biblioteca	O pool foi gerado a partir de um lote.	Atividade	Não	Não aplicável.
Sequencing Started (Sequenciação iniciada)	Sequenciação	O sistema detetou uma pasta de dados de sequenciação nova.	Atividade	Não	Não aplicável.
Sequencing QC passed (O CQ de sequenciação foi aprovado)	Sequenciação	O ensaio de sequenciação foi concluído e a verificação de CQ de sequenciação foi aprovada.	Atividade	Não	Não aplicável.
Sequencing Run Associated With Pool (Ensaio de sequenciação associado ao pool)	Sequenciação	O ensaio de sequenciação foi associado com êxito a um pool conhecido.	Atividade	Não	Não aplicável.
Analysis Started (Análise iniciada)	Análise	A análise do ensaio de sequenciação especificado foi iniciada.	Atividade	Sim	Não aplicável.
Analysis Completed NIPT Report Generated (Análise concluída; relatório NIPT gerado)	Pós-análise	A análise foi concluída e os relatórios foram gerados.	Atividade	Sim	Não aplicável.

Notificações de invalidação

As notificações de invalidação indicam eventos que ocorrem no sistema depois de o utilizador invalidar um lote ou um pool através do Workflow Manager. Estas notificações são registadas como "Notices" (Avisos) e não requerem qualquer ação por parte do utilizador.

Notificação	Passo	When (Quando)	Nível do alerta	E-mail	Ação recomendada
Batch Invalidation (Invalidação do lote)	Preparação da biblioteca	O utilizador invalidou um lote.	Atenção	Sim	Não aplicável.
Pool Invalidation – Repool (Invalidação do pool – criar novo pool)	Preparação da biblioteca	O utilizador invalidou o primeiro pool possível (de um determinado tipo) do lote.	Atenção	Sim	Não aplicável.
Pool Invalidation – Use second aliquot (Invalidação do pool – utilizar segunda alíquota)	Preparação da biblioteca	O utilizador invalidou o primeiro pool possível (de um determinado tipo) do lote.	Atenção	Sim	Não aplicável.
Sequencing Completed Pool Invalidated (Sequenciação concluída, pool invalidado)	Sequenciação	O ensaio de sequenciação foi concluído, mas o pool foi invalidado pelo utilizador.	Atenção	Sim	Não aplicável.
Sequencing QC passed – All samples are invalid (O CQ de sequenciação foi aprovado – todas as amostras são inválidas)	CQ de sequenciação	A verificação de CQ do ensaio de sequenciação foi concluída, mas todas as amostras são inválidas.	Atenção	Sim	Não aplicável.
Analysis Completed Pool Invalidated (Análise concluída, pool invalidado)	Pós-análise	A análise foi concluída, mas o pool foi invalidado pelo utilizador.	Atenção	Sim	Não aplicável.

Notificações de erros recuperáveis

Os erros recuperáveis são condições das quais o VeriSeq NIPT Assay Software consegue recuperar se o utilizador seguir a ação recomendada. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte Técnico da Illumina.

Notificação	Passo	When (Quando)	Nível do alerta	E-mail	Ação recomendada
Missing Instrument Path (Caminho do instrumento em falta)	Sequenciação	O sistema não consegue localizar/ligar a uma pasta de sequenciação externa.	Alerta	Sim	<ul style="list-style-type: none"> Se utilizar um NAS, verifique a ligação de rede. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 67</i> Possível falha de hardware. Reinicie o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte Técnico da Illumina.
Insufficient Disk Space for Sequencing (Espaço no disco insuficiente para sequenciação)	Sequenciação	O sistema detetou uma pasta de dados de sequenciação nova, mas calcula que não existe espaço no disco suficiente para os dados.	Alerta	Sim	<ol style="list-style-type: none"> Verifique o espaço no disco disponível. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 67</i>. Limpe o espaço no disco ou crie cópia de segurança dos dados. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 67</i>.

Notificação	Passo	When (Quando)	Nível do alerta	E-mail	Ação recomendada
Sequencing Run Invalid Folder (Pasta inválida para o ensaio de sequenciação)	Sequenciação	Carateres inválidos na pasta do ensaio de sequenciação.	Aviso	Sim	O nome da pasta do ensaio de sequenciação foi mudado incorretamente. Mude o nome do ensaio para um que seja válido.
Sequencing Started but Pool Barcode File Missing (A sequenciação foi iniciada mas o ficheiro de código de barras do pool está em falta)	Sequenciação	O software não detetou o ficheiro com o código de barras do pool 30 minutos após o início da sequenciação.	Aviso	Sim	Possível falha do sequenciador ou do NAS. Verifique a configuração do sequenciador e a ligação de rede. O sistema irá continuar a procurar o ficheiro de código de barras do pool até terminar a sequenciação.
Cannot Verify Sequencing Run Completion (Não foi possível verificar a conclusão do ensaio de sequenciação)	Sequenciação	O software não conseguiu ler o ficheiro de estado de conclusão do ensaio na pasta de sequenciação.	Aviso	Sim	Possível falha de hardware. Reinicie o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte Técnico da Illumina.
Missing Sample Attributes (Atributos da amostra em falta)	Pré-análise	O software não conseguiu encontrar uma definição para o tipo de amostra, opção do cromossoma sexual ou tipo de rastreio em algumas das amostras.	Atenção	Sim	Um ou mais atributos de amostras não foram fornecidos para a amostra especificada. Introduza os atributos da amostra em falta no Gestor do fluxo de trabalho ou invalide a amostra para permitir que o software continue.
Sample Sheet Generation failed (Falha na geração da ficha de amostras)	Pré-análise	O software falhou ao gerar a ficha de amostras.	Alerta	Sim	<ul style="list-style-type: none"> • Verifique o espaço no disco disponível. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 67</i>. Se o espaço for reduzido, limpe espaço no disco ou crie uma cópia de segurança dos dados. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 67</i>. • Se utilizar um NAS, verifique a ligação de rede. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 67</i>. • Possível falha de hardware. Reinicie o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte Técnico da Illumina.
Unable to check disk space (Não é possível verificar o espaço no disco)	Pré-análise	O software não conseguiu verificar o espaço no disco.	Alerta	Sim	<ul style="list-style-type: none"> • Se utilizar um NAS, verifique a ligação de rede. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados ID da ação 2 na página 67</i>. • Possível falha de hardware. Reinicie o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte Técnico da Illumina.

Notificação	Passo	When (Quando)	Nível do alerta	E-mail	Ação recomendada
Insufficient Disk Space for Analysis (Espaço no disco insuficiente para análise)	Pré-análise	O software detetou que não há espaço no disco suficiente para iniciar um ensaio de análise novo.	Alerta	Sim	Limpe o espaço no disco ou crie cópia de segurança dos dados. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados</i> ID da ação 3 na página 67.
Unable to launch Analysis Pipeline (Não é possível iniciar o Pipeline de Análise)	Pré-análise	O software não conseguiu iniciar um ensaio de análise da pasta de sequenciação especificada.	Alerta	Sim	Possível falha de hardware. Reinicie o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte Técnico da Illumina.
Sequencing folder Read/Write permission failed (Falha na permissão de Leitura/Escrita da pasta de sequenciação)	Pré-análise	O teste do software que verifica a permissão de Leitura/Escrita na pasta do ensaio de sequenciação falhou.	Aviso	Sim	<ul style="list-style-type: none"> Se utilizar um NAS, verifique a ligação de rede. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 67</i>. Possível falha de hardware. Reinicie o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte Técnico da Illumina.
Analysis Failed - Retry (Falha na análise – Repetir)	Análise	A análise falhou. Repita.	Atenção	Sim	Nenhuma
Results Already Reported (Resultados já comunicados)	Sistema	O software determinou que já foi gerado um relatório NIPT para o tipo de pool atual.	Atividade	Sim	Nenhuma
Unable to deliver email notifications (Não é possível enviar notificações por e-mail)	Sistema	O sistema não consegue enviar notificações por e-mail.	Aviso	N/D	<ol style="list-style-type: none"> Verifique a validação da configuração do e-mail definido no sistema. Consulte as instruções em <i>Configurar as notificações por e-mail do sistema na página 27</i>. Envie um e-mail de teste. Consulte as instruções em <i>Configurar as notificações por e-mail do sistema na página 27</i>. Reinicie o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte Técnico da Illumina.
Time Skew Detected (Desfasamento de tempo detetado)	Preparação da biblioteca	O software detetou um desfasamento de tempo de mais de 1 minuto entre o carimbo de data/hora fornecido pelo Workflow Manager e a hora local do servidor.	Aviso	Não	<ol style="list-style-type: none"> Verifique a hora local no computador do Workflow Manager. Verifique a hora local do Onsite Server reportada na Interface de utilizador da Web (separador Server Status [Estado do servidor]).

Notificações de erros não recuperáveis

Os erros não recuperáveis são condições que atingem um estado terminal em que nenhuma outra ação pode retomar a execução do ensaio.

Notificação	Passo	When (Quando)	Nível do alerta	E-mail	Ação recomendada
Batch Failure (Falha do lote)	Preparação da biblioteca	CQ do lote falhou.	Atenção	Sim	Reinicie o plaqueamento da biblioteca.
Report Generating Failure (Falha ao gerar o relatório)	Geração de relatórios	O sistema falhou ao gerar um relatório.	Alerta	Sim	<ul style="list-style-type: none"> • Verifique o espaço no disco disponível. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 67</i>. Se o espaço for reduzido, limpe espaço no disco ou crie uma cópia de segurança dos dados. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 67</i>. • Possível falha de hardware. Reinicie o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte Técnico da Illumina.
Failed to Parse Run Parameters file (Falha ao analisar o ficheiro Parâmetros do ensaio)	Sequenciação	O sistema não conseguiu abrir/analisar o ficheiro RunParameters.xml.	Aviso	Sim	O ficheiro RunParameters.xml está danificado. Verifique a configuração do sequenciador e volte a sequenciar o pool.
Unrecognized Run Parameters (Parâmetros do ensaio não reconhecidos)	Sequenciação	O software leu Parâmetros do ensaio que não são compatíveis.	Aviso	Sim	O software não conseguiu criar parâmetros de ensaio de sequenciação a partir do ficheiro de configuração do sequenciador. Verifique a configuração do sequenciador e volte a sequenciar o pool.
Invalid Run Parameters (Parâmetros do ensaio inválidos)	Sequenciação	O software leu Parâmetros do ensaio necessários que não são compatíveis com o ensaio.	Aviso	Sim	A verificação de compatibilidade do software falhou. Verifique a configuração do sequenciador e volte a sequenciar o pool.
No Pool Barcode found (Nenhum Código de barras de pool encontrado)	Sequenciação	O software não conseguiu associar a célula de fluxo do ensaio de sequenciação a um código de barras de pool conhecido.	Aviso	Sim	Possível entrada de código de barras de pool incorreta. Volte a sequenciar o pool.
Sequencing Completed but Pool Barcode File Missing (A sequenciação foi concluída mas o ficheiro de código de barras do pool está em falta)	Sequenciação	O ensaio de sequenciação foi concluído, mas o ficheiro com o código de barras do pool não foi detetado.	Alerta	Sim	Possível falha do sequenciador. Contacte o Suporte Técnico da Illumina para obter assistência.
Unable to read Pool Barcode File (Não foi possível ler o ficheiro de código de barras do pool)	Sequenciação	O ficheiro com o código de barras do pool está danificado.	Alerta	Sim	Possível falha do sequenciador ou da rede. Contacte o Suporte Técnico da Illumina para obter assistência.

Notificação	Passo	When (Quando)	Nível do alerta	E-mail	Ação recomendada
Pool Barcode File Mismatch (Divergência no ficheiro de código de barras do pool)	Sequenciação	O ficheiro de código de barras do pool detetado faz referência a um ID de flowcell diferente do associado ao ensaio de sequenciação.	Alerta	Sim	Possível falha do sequenciador. Contacte o Suporte Técnico da Illumina para obter assistência.
Sequencing Timed Out (A sequenciação atingiu o tempo limite)	Sequenciação	O ensaio de sequenciação não foi concluído dentro de um determinado intervalo de tempo.	Aviso	Sim	Verifique o sequenciador e a ligação de rede. Volte a sequenciar o pool.
Sequencing QC files generation failed (A geração de ficheiros de CQ de sequenciação falhou)	CQ de sequenciação	O ensaio de sequenciação foi concluído, mas os ficheiros de CQ InterOp estão danificados.	Alerta	Sim	Verifique o sequenciador e a ligação de rede. Volte a sequenciar o pool.
Sequencing QC failed (O CQ de sequenciação falhou)	CQ de sequenciação	O ensaio de sequenciação foi concluído e a verificação de CQ de sequenciação falhou.	Atenção	Sim	Volte a sequenciar o pool.
Analysis Failed for Maximum number of attempts (A análise falhou o número máximo de tentativas)	Análise	Todas as tentativas de análise falharam. Não vai ser repetida.	Aviso	Sim	Volte a sequenciar o segundo pool.
Analysis Post-Processing Failed (Falha no pós-processamento da análise)	Pós-análise	O software falhou ao pós-processar os resultados da análise.	Alerta	Sim	<ul style="list-style-type: none"> Se utilizar um NAS, verifique a ligação de rede. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 67</i>. Possível falha de hardware. Reinicie o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte Técnico da Illumina.
Analysis Upload Failed (Falha no carregamento da análise)	Pós-análise	O software falhou ao carregar os resultados da análise para a base de dados.	Alerta	Sim	<ul style="list-style-type: none"> Se utilizar um NAS, verifique a ligação de rede. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 67</i>. Possível falha de hardware. Reinicie o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte Técnico da Illumina.

Procedimentos de ação recomendados

ID da ação	Ação recomendada	Passos
1	Verificar a ligação de rede	<p>Confirme que o NAS de armazenamento remoto e o computador local estão na mesma rede.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Numa linha de comandos do Windows (cmd), escreva o comando ping <Server IP> Se utilizar um NAS, verifique também a ligação ao mesmo. 2. Confirme que não existem pacotes perdidos. Se houver pacotes perdidos, contacte o Administrador de TI. 3. Teste a ligação: <ol style="list-style-type: none"> a. Inicie sessão na Interface de utilizador da Web do Onsite Server. b. No menu Dashboard (Painel), seleccione Folder (Pasta). c. Seleccione Test (Analisar) e confirme se a análise foi bem-sucedida. Se a análise falhar, consulte <i>Editar uma unidade de rede partilhada na página 25</i> e confirme que todas as definições estão configuradas corretamente.
2	Verificar o espaço no disco disponível	<p>Certifique-se de que o Windows mapeia para a pasta de entrada do Onsite Server. Para mais informações, consulte <i>Mapear unidades do servidor na página 32</i>. Clique com o botão direito do rato na unidade que mapeia para a pasta Input (Entrada). Seleccione Properties (Propriedades) e veja a informação do espaço livre.</p>
3	Limpe o espaço no disco / Crie cópia de segurança dos dados	<p>A Illumina recomenda criar periodicamente cópias de segurança e/ou armazenar os dados de sequenciação no lado do servidor. Para mais informações, consulte <i>Gerir uma unidade de rede partilhada na página 24</i>.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Relativamente a dados armazenados localmente no Onsite Server: <p>Certifique-se de que o Windows mapeia para a pasta de entrada do Onsite Server. Para mais informações, consulte <i>Mapear unidades do servidor na página 32</i>.</p> <ol style="list-style-type: none"> a. Faça duplo clique na pasta Input (Entrada) e introduza as credenciais para aceder à mesma. b. São listados os dados do ensaio de sequenciação com nomes de pastas que correspondem aos nomes do ensaio de sequenciação. c. Elimine ou crie uma cópia de segurança das pastas de sequenciação processadas. 2. Relativamente a dados armazenados num NAS remoto: <p>Confirme que o NAS de armazenamento remoto e o computador local estão na mesma rede. Obtenha acesso à pasta na unidade remota. São necessárias credenciais de acesso, facultadas pelo Administrador de tecnologias de informação.</p> <ol style="list-style-type: none"> a. São listados os dados do ensaio de sequenciação com nomes de pastas que correspondem aos nomes dos ensaios de sequenciação. b. Elimine ou crie uma cópia de segurança das pastas de sequenciação processadas.

Problemas do sistema

Problema	Ação recomendada
O software não é iniciado.	Se forem detetados erros ao iniciar o Assay Software, é apresentado um resumo de todos os erros em vez do ecrã Log In (Iniciar sessão). Contacte o Suporte Técnico da Illumina para comunicar os erros enumerados.
Restauro da base de dados necessário.	Se for necessário restaurar uma cópia de segurança de uma base de dados, contacte o Técnico de assistência da Illumina.
Desvio de sistema detetado.	Quando é detetado um desvio do sistema, o Assay Software deixa de processar comunicações de outros componentes do sistema. Um administrador pode repor o funcionamento normal do sistema depois de este entrar no estado de deteção de desvio.
Atividades de alarme do controlador RAID.	Um administrador pode seleccionar o botão Server alarm (Alarme do servidor) do separador Server Status (Estado do servidor) no Painel do Assay Software para silenciar o alarme do controlador RAID. Se premir este botão, contacte o Suporte Técnico da Illumina, para obter assistência adicional.

Testes de processamento de dados

Os conjuntos de dados pré-instalados no Onsite Server permitem efetuar testes operacionais ao servidor e ao motor de análise.

Testar o servidor

Este teste simula um ensaio de sequenciação ao simular a geração de resultados de análise sem iniciar, efetivamente, o Pipeline de Análise. Execute este teste para garantir que o Onsite Server está a funcionar corretamente e que os relatórios e notificações de e-mail são gerados. Duração: aproximadamente entre 3 e 4 minutos.

Procedimento

- 1 Abra o diretório de entrada montado e, em seguida, abra a pasta TestingData.
- 2 Faça uma cópia de uma das seguintes pastas, que pode ser encontrada na pasta TestingData:
 - ▶ Para dados NextSeq: 170725_NS500110_0382_AHT3MYBGX2_Copy_Analysis_Workflow.
 - ▶ Para dados NextSeqDx: 180911_NDX550152_0014_AXXXXXXXDX_Copy_Analysis_Workflow.
- 3 Mude o nome da cópia para uma pasta com um sufixo _XXX. _XXX representa uma contagem sequencial do ensaio de teste. Por exemplo, se existir _002 na pasta, mude o nome da cópia nova para _003.
- 4 Mova a pasta com o nome novo para a pasta de entrada.
- 5 Aguarde entre três e cinco minutos pela conclusão do ensaio. Confirme que recebeu as notificações por e-mail seguintes:
 - a Sequencing Run Analysis Started (Análise de ensaio de sequenciação iniciada)
 - b NIPT Report generated for Sequencing Run (Relatório NIPT gerado para ensaio de sequenciação)

Associe ambos os relatórios ao nome da sequenciação atribuído à pasta.

- 6 Na pasta de saída, abra a pasta TestData_NS_CopyWorkflow or TestData_NDx_CopyWorkflow e procure um dos seguintes relatórios:
 - ▶ Para NextSeq: TestData_NS_CopyWorkflow_C_TestData_NS_CopyWorkflow_PoolC_HT3MYBGX2_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab.
 - ▶ Para NextSeqDx: TestData_NDx_CopyWorkflow_C_TestData_NDx_CopyWorkflow_PoolC_XXXXXXXXDX_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab.O tamanho de ficheiro esperado é de aproximadamente 7 Kb.
- 7 Mova o ensaio de sequenciação de teste novamente para a pasta TestingData. Esta prática ajuda a gerir o número de execuções do teste de sequenciação.



NOTA

Podem eliminar cópias antigas de ficheiros de teste para libertar espaço.

Executar dados de teste de análise completa

Este teste executa um ensaio de análise completa. Execute este teste se o servidor não conseguir processar/analisar dados ou se o tempo limite for excedido. Duração: aproximadamente entre quatro e cinco horas.

Procedimento

- 1 Abra o diretório de entrada montado e abra a pasta TestingData.
- 2 Mude o nome da seguinte pasta, adicionando o sufixo _000: 180911_NDX550152_0014_XXXXXXXXDX_FullRun.
O sufixo cria um nome exclusivo para cada ensaio de sequenciação. Se o ensaio já tiver um sufixo, mude o nome da pasta ao aumentar o valor numérico do sufixo em 1.
- 3 Mova a pasta com o nome novo para a pasta de entrada.
- 4 Aguarde entre quatro e cinco horas pela conclusão da análise. Confirme que recebeu as notificações por e-mail seguintes:
 - a Sequencing Run Analysis Started (Análise de ensaio de sequenciação iniciada)
 - b NIPT Report generated for Sequencing Run (Relatório NIPT gerado para ensaio de sequenciação)Associe ambos os relatórios ao nome da sequenciação atribuído à pasta.
- 5 Na pasta de saída, abra a pasta TestData_NDx_FullRun e procure o seguinte relatório: TestData_NDx_FullRun_C_TestData_NDx_FullRun_PoolC_XXXXXXXXDX_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab.
O tamanho de ficheiro esperado é de aproximadamente 7 Kb.
- 6 Mova o ensaio de sequenciação de teste novamente para a pasta TestingData.

Apêndice D Recursos adicionais

A seguinte documentação está disponível para transferência no sítio Web da Illumina.

Recurso	Descrição
Folheto informativo do VeriSeq NIPT Solution v2 (documento n.º 1000000078751)	Define o produto e a utilização prevista e fornece instruções de utilização e procedimentos de resolução de problemas.
<i>Manual do Operador do Microlab® STAR Line</i> , Hamilton, ID Doc. 624668	Fornece informações sobre o funcionamento e manutenção, bem como especificações técnicas do instrumento automático de manuseamento de líquidos Microlab STAR da Hamilton.

Visite as [páginas de suporte](#) do VeriSeq NIPT Solution v2 no sítio Web da Illumina para aceder à documentação, transferências de software, formação online e perguntas frequentes.

Apêndice E Acrónimos

Acrónimo	Definição
BCL	Ficheiro de identificação de bases
CE-IVD	Marcação de conformidade europeia para produtos de diagnóstico <i>in vitro</i> .
cfDNA	ADN livre de células
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNS	Sistema de nome de domínio
FASTQ	Formato de ficheiro baseado em texto para armazenar os resultados dos instrumentos de sequenciação.
FF	Fração fetal
FIFO	Primeiro a entrar, primeiro a sair
iFACT	Análise de confiança de aneuploidia fetal individualizada
IP	Protocolo Internet
LIMS	Sistema de gestão de informações laboratoriais
LIS	Sistema de informações laboratoriais
LLR	Razões de verosimilhança de registo
MAC	Controlo de acesso a suporte de dados
NAS	Armazenamento ligado à rede
NES	Sites não excluídos
NGS	Sequenciação de nova geração
NIPT	Teste pré-natal não invasivo
NTC	Controlo sem modelo
NTP	Protocolo de tempo de rede
PF	Filtro de passagem
PQ	Qualificação de processo
CQ	Controlo de qualidade
Regex	Expressão regular. Uma sequência de caracteres que podem ser utilizados por algoritmos de correspondência de texto para validação de dados.
RTA	Análise em tempo real
RUO	Apenas para efeitos de investigação
SCA	Aneuploidia do cromossoma sexual
SDS	Fichas de dados de segurança
SHA1	Algoritmo Hash Seguro 1
SSL	Secure Sockets Layer

Assistência técnica

Para obter assistência técnica, contacte o Suporte Técnico da Illumina.

Sítio Web: www.illumina.com
E-mail: techsupport@illumina.com

Números de telefone do Apoio ao Cliente da Illumina

Região	Número gratuito	Regional
América do Norte	+1.800.809.4566	
Alemanha	+49 8001014940	+49 8938035677
Austrália	+1.800.775.688	
Áustria	+43 800006249	+43 19286540
Bélgica	+32 80077160	+32 34002973
China	400.066.5835	
Dinamarca	+45 80820183	+45 89871156
Espanha	+34 911899417	+34 800300143
Finlândia	+358 800918363	+358 974790110
França	+33 805102193	+33 170770446
Hong Kong	800960230	
Irlanda	+353 1800936608	+353 016950506
Itália	+39 800985513	+39 236003759
Japão	0800,111.5011	
Noruega	+47 800 16836	+47 21939693
Nova Zelândia	0800,451.650	
Países Baixos	+31 8000222493	+31 207132960
Reino Unido	+44 8000126019	+44 2073057197
Singapura	+1.800.579.2745	
Suécia	+46 850619671	+46 200883979
Suíça	+41 565800000	+41 800200442
Taiwan	00806651752	
Outros países	+44 1799534000	

Fichas de dados de segurança (FDS) — Disponíveis no sítio Web da Illumina em support.illumina.com/sds.html.

Documentação do produto — Disponível para transferência em PDF a partir do sítio Web da Illumina. Aceda a support.illumina.com, selecione um produto e, em seguida, selecione **Documentation & Literature** (Documentação e literatura).



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 EUA
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (fora da América do Norte)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

CE
2797



Illumina Cambridge Limited
Chesterford Research Park, Little Chesterford
Saffron Walden, CB10 1XL
REINO UNIDO

Patrocinador australiano
Illumina Australia Pty Ltd
1 International Court
Scoresby, Victoria, 3179
Austrália