

# VeriSeq NIPT Solution v2

## Guida del software



L'utilizzo di questo prodotto è coperto da brevetti di proprietà di Illumina, Inc. che ne detiene la licenza. Il pagamento di questo prodotto conferisce il diritto limitato e non trasferibile all'utilizzo di questo prodotto per l'uso previsto in base alla relativa documentazione e a tutti gli altri termini e condizioni associati. Un elenco rappresentativo e non esaustivo di tali brevetti si trova nella pagina Web [www.illumina.com/patents](http://www.illumina.com/patents). Non sono concessi altri diritti, sia espressamente o implicitamente menzionati o ancora per preclusione, soggetti a qualsiasi altro brevetto o per qualsiasi altro uso.

Questo documento e il suo contenuto sono di proprietà di Illumina, Inc. e delle aziende ad essa affiliate ("Illumina") e sono destinati esclusivamente ad uso contrattuale da parte dei clienti di Illumina, per quanto concerne l'utilizzo dei prodotti qui descritti, con esclusione di qualsiasi altro scopo. Questo documento e il suo contenuto non possono essere usati o distribuiti per altri scopi e/o in altro modo diffusi, resi pubblici o riprodotti, senza previa approvazione scritta da parte di Illumina. Mediante questo documento, Illumina non trasferisce a terzi alcuna licenza ai sensi dei suoi brevetti, marchi, copyright, o diritti riconosciuti dal diritto consuetudinario, né diritti simili di alcun genere.

Al fine di assicurare un uso sicuro e corretto dei prodotti qui descritti, le istruzioni riportate in questo documento devono essere scrupolosamente ed esplicitamente seguite da personale qualificato e adeguatamente formato. Leggere e comprendere a fondo tutto il contenuto di questo documento prima di usare tali prodotti.

LA LETTURA INCOMPLETA DEL CONTENUTO DEL PRESENTE DOCUMENTO E IL MANCATO RISPETTO DI TUTTE LE ISTRUZIONI IN CONTENUTE POSSONO CAUSARE DANNI AL/I PRODOTTO/I, LESIONI PERSONALI A UTENTI E TERZI E DANNI MATERIALI E RENDERANNO NULLA QUALSIASI GARANZIA APPLICABILE AL/I PRODOTTO/I.

ILLUMINA NON SI ASSUME ALCUNA RESPONSABILITÀ DERIVANTE DALL'USO IMPROPRIO DEL/DEI PRODOTTO/I QUI DESCRITTI (INCLUSI SOFTWARE O PARTI DI ESSO).

© 2019 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati.

Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, visitare la pagina Web [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## Cronologia revisioni

| Documento                         | Data             | Descrizione della modifica   |
|-----------------------------------|------------------|--|
| Documento n.<br>1000000067940 v02 | Aprile<br>2019   | Aggiunti dettagli a NIPT e ai report supplementari per allinearli con i materiali di formazione. |
| Documento n.<br>1000000067940 v01 | Febbraio<br>2019 | Release della Guida del software VeriSeq NIPT Solution v2 ad uso del cliente.                    |
| Documento n.<br>1000000067940 v00 | Novembre<br>2018 | La release iniziale è solo per uso interno.  |

# Sommario

|  |           |
|--|-----------|
| Cronologia revisioni .....   | iii       |
| <b>Capitolo 1 VeriSeq NIPT Solution v2 .....</b>                                       | <b>1</b>  |
| Introduzione .....   | 1         |
| Architettura del sistema .....   | 2         |
| <b>Capitolo 2 VeriSeq NIPT Workflow Manager .....</b>                                  | <b>4</b>  |
| Introduzione .....   | 4         |
| VeriSeq NIPT Method .....  | 4         |
| VeriSeq NIPT Batch Manager .....   | 4         |
| VeriSeq NIPT Services .....  | 11        |
| <b>Capitolo 3 Sequenziatore di nuova generazione .....</b>                             | <b>14</b> |
| Introduzione .....   | 14        |
| Raggruppamento in pool della sequenza .....  | 14        |
| Integrazione dell'archiviazione dei dati .....   | 14        |
| Capacità di processività dell'analisi .....  | 15        |
| Limitazioni del traffico di rete .....   | 15        |
| VeriSeq NIPT Local Run Manager .....   | 15        |
| <b>Capitolo 4 VeriSeq NIPT Assay Software v2 .....</b>                                 | <b>16</b> |
| Introduzione .....   | 16        |
| Componenti di Assay Software .....   | 16        |
| Interfaccia utente Web .....   | 21        |
| Analisi e creazione di report .....  | 29        |
| VeriSeq Onsite Server v2 .....   | 32        |
| <b>Appendice A Metriche di controllo qualità (QC) .....</b>                            | <b>35</b> |
| Metriche e limiti del controllo qualità della quantificazione .....                    | 35        |
| Metriche e limiti superiore e inferiore del controllo qualità del sequenziamento ..... | 35        |
| <b>Appendice B Report di sistema .....</b>   | <b>37</b> |
| Introduzione .....   | 37        |
| Riepilogo dei report di sistema .....  | 38        |
| Eventi di generazione di report .....  | 39        |
| Report dei risultati e delle notifiche .....   | 42        |
| Report di elaborazione .....   | 55        |
| <b>Appendice C Risoluzione dei problemi .....</b>                                      | <b>63</b> |
| Introduzione .....   | 63        |
| Notifiche di Assay Software .....  | 64        |
| Problemi del sistema .....   | 72        |

|                                       |    |
|---------------------------------------|----|
| Test dell'elaborazione dei dati ..... | 72 |
| Appendice D Risorse aggiuntive .....  | 74 |
| Appendice E Acronimi .....            | 75 |
| Assistenza Tecnica .....              | 76 |

# Capitolo 1 VeriSeq NIPT Solution v2

|                                |   |
|--------------------------------|---|
| Introduzione .....             | 1 |
| Architettura del sistema ..... | 2 |

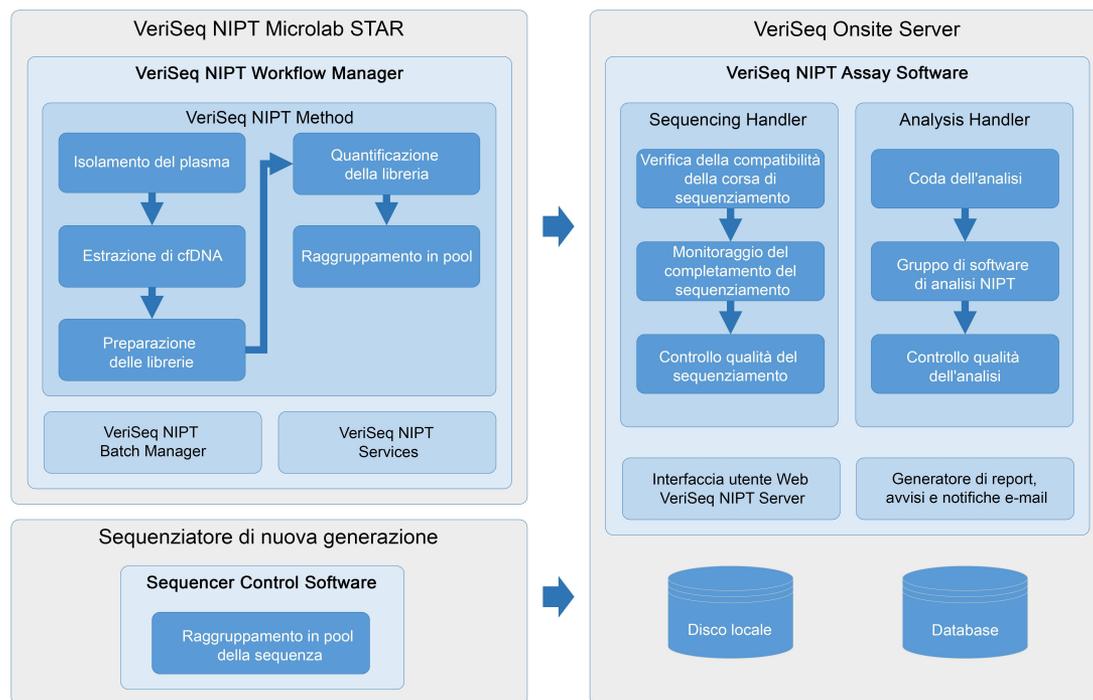
## Introduzione

VeriSeq NIPT Solution v2 è un test diagnostico *in vitro*, il cui uso è previsto come test di screening basato sul sequenziamento per il rilevamento di aneuploidie fetali da campioni di sangue intero periferico materno in donne in gravidanza ad almeno 10 settimane di gestazione. Il test offre due opzioni per tipi di screening: di base e dell'intero genoma. Lo screening di base fornisce informazioni sullo stato delle aneuploidie solo per i cromosomi 21, 18, 13, X e Y. Lo screening dell'intero genoma fornisce delezioni e duplicazioni parziali per tutti gli autosomi e lo stato delle aneuploidie per tutti i cromosomi. Entrambi i tipi di screening offrono un'opzione per richiedere di riportare l'aneuploidia del cromosoma sessuale (SCA). Con entrambi i tipi di screening, questo prodotto non può essere utilizzato come sola base per la diagnosi o altre decisioni sulla gestione della gravidanza.

L'architettura del sistema VeriSeq NIPT Solution v2 comprende:

- ▶ **VeriSeq NIPT Microlab STAR (ML STAR):** uno strumento per la manipolazione automatizzata dei liquidi che utilizza VeriSeq NIPT Workflow Manager e VeriSeq NIPT Sample Prep Kit per preparare e monitorare i campioni della libreria. ML STAR prepara i campioni previsti per l'analisi utilizzando VeriSeq NIPT Assay Software v2 in base alle istruzioni per l'uso che si trovano in *VeriSeq NIPT Solution v2 Package Insert* (documento n. 1000000078751) (Insero della confezione di VeriSeq NIPT Solution v2).
- ▶ **Sequenziatore di nuova generazione (Next-Generation Sequencer, NGS):** uno strumento per il sequenziamento dell'intero genoma che fornisce generazione di cluster e sequenziamento integrati sullo strumento. Sequencer Control Software fornisce le fasi per l'impostazione di una corsa di sequenziamento e genera le letture di sequenziamento per tutti i campioni contenuti nel raggruppamento in pool della libreria quantificata.
- ▶ **VeriSeq Onsite Server v2:** un server host per VeriSeq NIPT Assay Software v2 che archivia i dati per l'analisi dei dati del sequenziamento paired-end. Assay Software esegue il monitoraggio continuo e l'analisi dei dati del sequenziamento e genera i risultati dei campioni, i report di elaborazione e le notifiche.

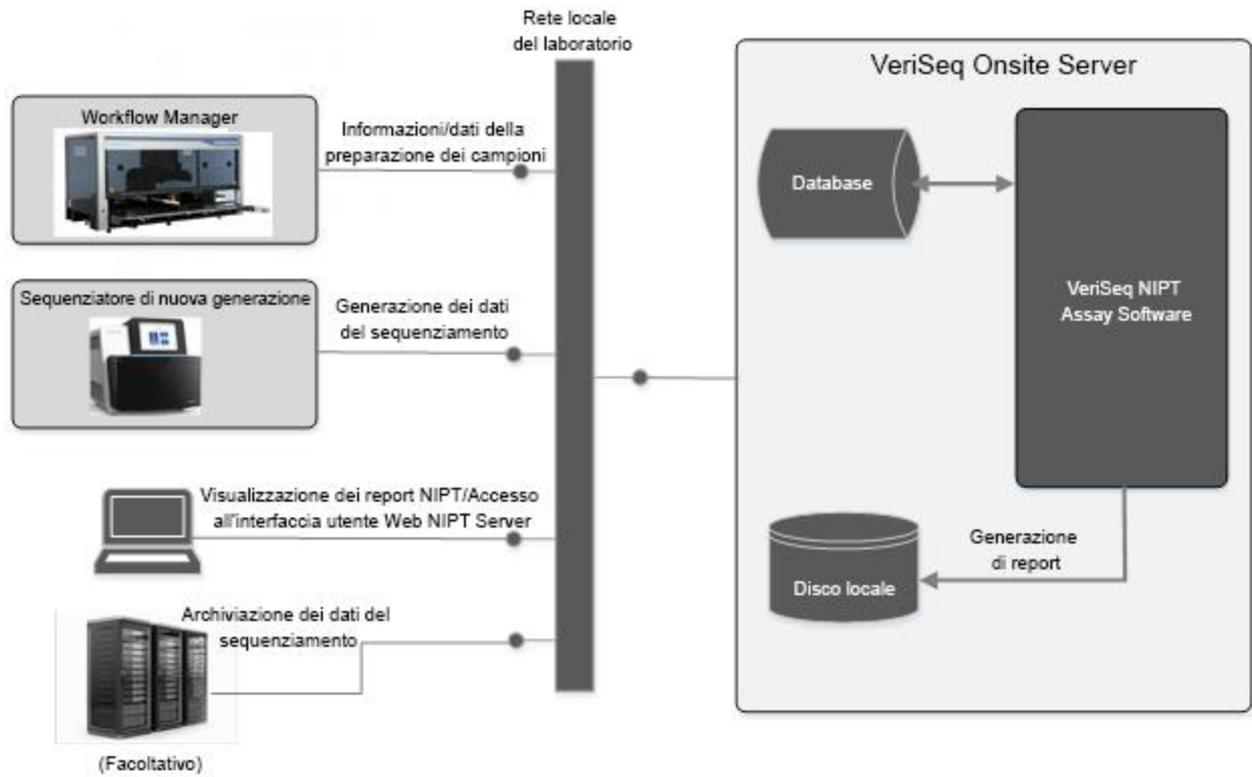
**Figura 1** Componenti di VeriSeq NIPT Solution v2



## Architettura del sistema

VeriSeq NIPT Solution v2 utilizza la rete locale del laboratorio (Local Area Network, LAN) per collegare tutta l'attrezzatura del sistema utilizzando il medesimo subnet. L'utilizzo della LAN fornisce un posizionamento flessibile e ampliabile delle apparecchiature collegando ulteriori sequenziatori e/o stazioni di lavoro ML STAR. La [Figura 2](#) fornisce una descrizione generale.

Figura 2 Descrizione generale di VeriSeq NIPT Solution v2



# Capitolo 2 VeriSeq NIPT Workflow Manager

|                                  |    |
|----------------------------------|----|
| Introduzione .....               | 4  |
| VeriSeq NIPT Method .....        | 4  |
| VeriSeq NIPT Batch Manager ..... | 4  |
| VeriSeq NIPT Services .....      | 11 |

## Introduzione

VeriSeq NIPT Workflow Manager è installato su ML STAR e fornisce un'interfaccia grafica utente semplice e intuitiva che automatizza la preparazione dei campioni di sangue in base a VeriSeq NIPT Solution v2. Workflow Manager mantiene una connessione dati a VeriSeq Onsite Server v2 per l'elaborazione dei dati, l'archiviazione, il monitoraggio dei campioni e l'imposizione della logica del flusso di lavoro.

Workflow Manager fornisce accesso ai tre diversi moduli del software, noti anche come metodi:

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

## VeriSeq NIPT Method

VeriSeq NIPT Method (Method) gestisce l'elaborazione automatizzata dei campioni su ML STAR. Il metodo completa le seguenti fasi di elaborazione:

- ▶ **Plasma Isolation** (Isolamento del plasma): trasferisce 1 ml di plasma isolato da una provetta di raccolta del sangue. La logica del processo crea un batch con Assay Software. Ciascun batch contiene i dati del campione, inclusi codice a barre del campione, tipo di campione, tipo di screening, posizione del pozzetto e indicazione del sesso.
- ▶ **cfDNA Extraction** (Estrazione di cfDNA): purifica 900 µl di plasma.
- ▶ **Preparazione delle librerie**: crea librerie da cfDNA purificato che sono pronte per il sequenziamento. Le librerie includono indici univoci per ciascun campione contenuto nel batch.
- ▶ **Quantificazione della libreria**: determina la concentrazione di cfDNA utilizzando un colorante fluorescente intercalante in un formato di micropiastra a 384 pozzetti. La piastra include un curva standard di DNA etichettato e duplicati per ciascun campione contenuto nel batch. Il sistema utilizza letture fluorescenti non elaborate ottenute dal lettore della micropiastra e calcola le concentrazioni dei campioni in base alla curva standard.
- ▶ **Raggruppamento in pool e normalizzazione**: combina le librerie in singoli raggruppamenti da sottoporre al sequenziamento. Il sistema utilizza le concentrazioni precedentemente determinate per calcolare i volumi di trasferimento corretti per ciascun campione contenuto nel raggruppamento in pool pronto per il sequenziatore.

## VeriSeq NIPT Batch Manager

VeriSeq NIPT Batch Manager gestisce lo stato dei campioni, i batch e i raggruppamenti in pool mediante l'interfaccia utente. Il sistema consente il monitoraggio dei campioni su diversi sistemi di gestione dei liquidi e sequenziatori, e mediante i software di analisi. Per maggiori informazioni sulle procedure di elaborazione dei campioni, vedere *VeriSeq NIPT Solution v2 Package Insert (documento n. 1000000078751) (Insero della confezione di VeriSeq NIPT Solution v2)*.

È possibile gestire i campioni all'interno del flusso di lavoro mediante tre diverse categorie, a cui si fa riferimento come item:

| Item                          | Descrizione   |
|-------------------------------|---|
| Sample (Campione)             | Il risultato di un singolo prelievo di 1 ml di plasma da una singola provetta di campione. I campioni sono associati al codice a barre della provetta di sangue (codice a barre del campione) e al batch. |
| Batch                         | La piastra da 24, 48 o 96 campioni elaborata mediante l'estrazione di cfDNA e il processo di preparazione delle librerie.   |
| Pool (Raggruppamento in pool) | Il volume normalizzato e diluito delle librerie a doppio indice e pronte per il sequenziamento. Ciascun raggruppamento in pool contiene fino a 48 campioni.   |

Durante l'elaborazione, le seguenti azioni possono essere applicate agli item:

| Intervento                                  | Item                          | Report generato  | Descrizione  |
|---|-------------------------------|--|--|
| Invalidation (Invalidamento)                | Sample (Campione)             | Sample Invalidation (Invalidamento del campione)             | Il campione indicato dall'utente come non più valido per l'elaborazione. Non viene generato alcun risultato per i campioni invalidati. Esempio: carry-over visibile di cellule del sangue durante l'isolamento del plasma.   |
|   | Batch                         | Batch Invalidation (Invalidamento del batch)                 | Il batch indicato dall'utente come non più valido per l'elaborazione. Se l'invalidamento del batch si è verificato prima della generazione del raggruppamento in pool, tutti i campioni sono invalidati. Esempio: piastra fatta cadere o altrimenti manipolata in modo errato.                             |
|   | Pool (Raggruppamento in pool) | Pool Invalidation (Invalidamento del raggruppamento in pool) | Il raggruppamento in pool indicato dall'utente come non più valido per l'elaborazione. Dopo due invalidamenti del raggruppamento in pool, tutti i campioni contenuti nel raggruppamento sono invalidati. Esempio: il volume completo del raggruppamento in pool durante due fallimenti del sequenziamento. |
| QC Failure (Controllo qualità non riuscito) | Sample (Campione)             | Sample Invalidation (Invalidamento del campione)             | VeriSeq NIPT Solution v2 indica automaticamente il campione come non valido perché la metrica di controllo qualità specificata non è stata superata o il sistema ha rilevato un mancato funzionamento nella manipolazione dei liquidi.   |
|   | Batch                         | Batch Invalidation (Invalidamento del batch)                 | VeriSeq NIPT Solution v2 indica automaticamente l'intero batch come invalido. Esempio: guasto al sistema durante la manipolazione dei liquidi.   |
| Cancelation (Annullamento)                  | Sample (Campione)             | Sample Cancelation (Annullamento del campione)               | Il sistema LIMS ha indicato il campione come annullato. Non viene generato alcun risultato.  |

| Intervento  | Item     | Report generato                                  | Descrizione  |
|---|----------|--|--|
| Edit Sample Attributes<br>(Modifica degli attributi dei campioni) | Campione | Sex Reporting<br>(Report sul sesso del campione) | Il report sul sesso indicato dall'utente come Yes (Sì), No (No) o SCA (Aneuploidia del cromosoma sessuale). Quando il report sul sesso del campione viene indicato come Yes (Sì), viene generato il sesso del campione. Quando il report sul sesso del campione viene indicato come No (No), non viene generato il sesso del campione. Quando il report sul sesso del campione viene indicato come SCA (Aneuploidia del cromosoma sessuale), vengono riportate solo le aneuploidia del cromosoma sessuale. |
|   | Campione | Sample Type<br>(Tipo di campione)                | Il tipo di campione indicato dall'utente come Singleton (Singolo), Twin (Gemellare) o No Template Control (NTC) (Controllo non templatato, NTC). La designazione del tipo di sesso del campione incide direttamente sull'analisi del test. Per assicurare risultati del test accurati, il tipo di campione deve essere corretto.   |
|   | Campione | Screen Type<br>(Tipo di screening)               | Il tipo di screening indicato dall'utente come di base (solo 21, 18, 13, X e Y) o dell'intero genoma (tutti i cromosomi).  |

Dopo un invalidamento, un fallimento del controllo qualità o un'azione di annullamento, l'item non viene ulteriormente elaborato. I sistemi di gestione delle informazioni del laboratorio (LIMS) possono utilizzare i report Sample Invalidation (Invalidamento del campione) per indicare la rielaborazione del campione dalla provetta di raccolta del sangue.

## Input del foglio campioni

Il foglio campioni contenente gli input fornisce le informazioni del campione relative al paziente inclusi il tipo di campione lo stato dei cromosomi sessuali. Il sistema richiede informazioni del campione complete prima di poter generare i raggruppamenti di sequenziamento.



### ATTENZIONE

Al fine di evitare errori, non includere alcuna informazione sui campioni per gli NTC nel foglio campioni. Non inserirle e non includere righe per gli NTC. Il sistema applica automaticamente i codici a barre, il tipo di screening e il report sul sesso per gli NTC.

Il foglio campioni contenente gli input deve essere un file di testo delimitato da tabulazioni, \*.txt. I nomi delle intestazioni della colonna contenuti nel file devono corrispondere esattamente ai nomi delle intestazioni della colonna come vengono visualizzati nella seguente tabella.

| Intestazione colonna                        | Tipo di dati  | Requisito          | Descrizione   |
|---|---------------|--------------------|---|
| batch_name<br>(nome_batch)                  | Stringa/vuoto | Campo obbligatorio | Indica il nome del batch del campione.<br>Deve corrispondere al nome del batch inserito nel metodo di identificazione (Workflow Manager) per confermare che il foglio campioni contenente gli input sia associato al batch corretto. Il limite massimo è di 26 caratteri. La colonna può essere lasciata vuota.<br>NOTA: i fogli campioni che non presentano una colonna batch_name (nome_batch) non saranno accettati. |
| sample_barcode<br>(codice a barre campione) | Stringa       | Campo obbligatorio | I codici a barre sulle provette dei campioni di sangue caricati su ML STAR.<br>Se un valore intero viene utilizzato come codice a barre del campione, questo valore non dovrebbe superare le 15 cifre. Un codice a barre del campione alfanumerico può essere costituito da un massimo di 32 caratteri. Utilizzare solo i numeri, le lettere, i trattini (-) e trattini bassi (_).                                      |
| sample_type<br>(tipo campione)              | Stringa       | Campo obbligatorio | Indica il tipo di campione per l'analisi.<br>I valori permessi sono Singleton (Singola), Twin (Gemellare), Control (Controllo) e NTC (Controllo con template).  |
| sex_chromosomes<br>(Cromosomi sessuali)     | Stringa       | Campo obbligatorio | Indica lo stato dei cromosomi sessuali fetali.<br>I valori permessi sono yes (Sì) e no (No) (non riportati) e sca (aneuploidia del cromosoma sessuale) (riportato sono per le aneuploidie dei cromosomi sessuali).  |
| screen_type<br>(tipo screening)             | Stringa       | Campo obbligatorio | Indica il tipo di screening per l'analisi. I valori permessi sono "basic" (di base) e "genomewide" (intero genoma).   |

Il foglio campioni contenente i dati viene caricato durante Plasma Isolation (Isolamento del plasma) o Pooling (Raggruppamento in pool) e possono essere caricati mediante Batch Manager. Le informazioni sul campione vengono confermate durante la procedura di scaricamento dei campioni. I campioni caricati durante Plasma Isolation (Isolamento del plasma) possono includere un elenco di campioni completo o un sotto gruppo di campioni. Durante Pooling (Raggruppamento in pool), il sistema richiede qualsiasi informazione mancante sul campione non caricato durante Plasma Isolation (Isolamento del plasma).

L'utente ha il controllo sul caricamento dei campioni sia su tutti i campioni nel batch (per i batch generati dal sistema LIMS del cliente) che sulla ripetizione dell'analisi (con le posizioni rimaste aperte riempite con i campioni disponibili).

Sono disponibili tre modi per l'utilizzo del foglio campioni:

- ▶ Batch predefiniti (batch creati dal sistema LIMS)
- ▶ Batch ad hoc (batch creati da Workflow Manager)
- ▶ Batch ibridi (campioni con priorità LIMS)

## Batch predefiniti - batch creati dal sistema LIMS

I batch possono essere creati dal sistema LIMS del cliente prima dell'avvio dell'elaborazione del campione. Nei batch predefiniti, tutti i campioni sono già associati con un batch prima che vengano caricati su ML STAR. Il foglio campioni caricato durante l'isolamento del plasma include ogni campione nel batch assieme alle informazioni relative a tutti i campioni. I fogli campioni per i batch creati mediante il sistema LIMS devono includere la colonna dell'ID del batch per assicurarsi che il nome dell'ID del batch corretto sia stato inserito manualmente in Workflow Manager all'avvio dell'elaborazione.

Questo approccio presenta il vantaggio di bloccare i campioni effettivamente caricati, poiché il sistema richiede che tutti i campioni contenuti nel foglio campioni siano presenti nel batch. Non sono richieste ulteriori informazioni e il laboratorio può procedere con il report finale senza ulteriori input di dati.

- ▶ **Vantaggi:** consente il controllo completo dei contenuti dei batch. Impedisce di caricare campioni non desiderati.
- ▶ **Svantaggi:** richiede l'utilizzo di un sistema per la creazione di batch dall'inventario (LIMS avanzato). Può richiedere al personale del laboratorio di recuperare i campioni corretti dall'archiviazione o richiedere un sistema di archiviazione dei campioni avanzato.

## Batch ad hoc - Batch creati

I batch possono essere creati nel laboratorio raccogliendo fisicamente le provette di campione e caricandole su ML STAR durante l'isolamento del plasma. Non è richiesta alcuna precedente associazione campione-batch e l'utente nel laboratorio determina quali campioni includere nel batch.

Quando suggerito, l'utente seleziona **No Sample Sheet** (Nessun foglio campioni) durante la fase di isolamento. Workflow Manager associa i campioni caricati con gli ID del batch inseriti manualmente e genera un report di avvio del batch. Il report può essere inviato al sistema LIMS del laboratorio per indicare che il batch è stato creato e per fornire un elenco dei campioni associati.

- ▶ **Vantaggi:** non sono richiesti LIMS o foglio campioni. Gli utenti possono modificare il report di avvio del batch con le informazioni sul tipo di campione, tipo di screening e sul sesso. Queste informazioni possono essere caricate durante il raggruppamento in pool. La procedura è flessibile in quanto qualsiasi campione può essere aggiunto in qualsiasi momento.
- ▶ **Svantaggi:** non è presente un controllo automatico sui campioni inclusi nel batch. L'utente può caricare un campione non previsto. I dati dei campioni devono essere caricati durante il raggruppamento in pool.

## Batch ibridi - campioni con priorità LIMS

Il sistema LIMS del cliente può creare un batch con un sotto gruppo di campioni predefiniti. I campioni rimanenti nel batch vengono riempiti tramite Workflow Manager dai campioni caricati. In questo caso, l'utente carica un foglio campioni parziale durante l'isolamento del plasma. Si invitano nuovamente i laboratori a compilare la colonna Batch ID (ID batch) se desiderano predefinire i nomi dei batch. A volte, un utente potrebbe scegliere di caricare un foglio campioni vuoto che contiene solo il nome del batch per verificare il nome del batch inserito manualmente. Questa strategia funziona bene per dare priorità ai campioni di elevato valore, come quelli sottoposti a nuova analisi, per assicurarsi che questi campioni di elevato valore siano inclusi nella corsa. La scelta dei campioni da includere nel batch viene determinata parzialmente dal sistema LIMS e parzialmente dall'utente nel laboratorio.

- ▶ **Vantaggi:** mantiene la flessibilità della strategia dei batch ad-hoc mantenendo al contempo la possibilità di decidere il nome del batch e alcuni dei campioni nel batch (ossia i campioni sottoposti a nuova analisi).
- ▶ **Svantaggi:** non detta completamente la scelta dei campioni; quindi, un campione non desiderato può comunque essere caricato. Questa strategia, durante il raggruppamento in pool, richiede sempre le informazioni su qualche campione.

## Modifica degli attributi dei campioni

In qualsiasi momento prima dell'avvio di una corsa di sequenziamento, è possibile utilizzare VeriSeq NIPT Batch Manager per modificare i singoli report dei cromosomi sessuali per il campione, il tipo di screening e gli attributi per il tipo di campione.

- 1 Accedere a Batch Manager.

- 2 Immettere Batch ID (ID batch) e User Name (Nome utente) o le iniziali dell'operatore e selezionare **OK** (Ok).
- 3 Sul diagramma della piastra per il batch, selezionare la posizione del pozzetto associata al campione desiderato.
- 4 Confermare che sia visualizzato il campione corretto, quindi selezionare un attributo per Sample Type (Tipo campione) dall'elenco a discesa Sample Type (Tipo campione).
- 5 Selezionare un attributo per Sex Reporting (Report sesso) dall'elenco a discesa Sex Reporting (Report sesso).
- 6 Selezionare un attributo per Screen Type (Tipo di screening) dall'elenco a discesa Screen Type (Tipo di screening).
- 7 Selezionare **Edit** (Modifica).

## Invalidamento di campione, batch e raggruppamento in pool

In base alla fase nell'elaborazione del campione, l'utente può invalidare un singolo campione, un batch o un raggruppamento in pool del campione. Dopo l'invalidamento, il campione, il batch o il raggruppamento in pool non viene più elaborato.

In qualsiasi momento prima della generazione di un report del test, utilizzare VeriSeq NIPT Method o Batch Manager per invalidare uno o più campioni.

### Invalidamento utilizzando VeriSeq NIPT Method

- 1 Durante l'elaborazione del campione, nella finestra Well Comments (Commenti pozzetto) al termine di ogni processo di Workflow Manager, selezionare i singoli pozzetti da invalidare e selezionare **OK** (Ok).
- 2 Selezionare almeno un'annotazione dai menu a discesa o selezionare la casella di controllo **Other** (Altro) per inserire un commento.
- 3 Selezionare la casella **Fail Sample** (Invalida campione) e selezionare **OK** (Ok).
- 4 Confermare che il sistema invalidi il campione.

### Invalidamento utilizzando Batch Manager

Utilizzare Batch Manager per invalidare:

- ▶ Un campione
- ▶ Un batch prima del completamento della fase di raggruppamento in pool.
- ▶ Un campione dopo il completamento della fase Pool (Raggruppamento in pool) e prima della generazione di un report dell'analisi.



#### **NOTA**

Uscire da qualsiasi metodo di analisi in corso prima di eseguire Batch Manager.

### Accesso a Batch Manager

- 1 Per accedere a Batch Manager, eseguire una delle seguenti operazioni:
  - ▶ Su App Launcher (Launcher applicazione), selezionare **VeriSeq NIPT Batch Manager**.
  - ▶ Su un computer connesso alla rete, andare a **C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT** e aprire il file di metodo Batch Manager (**VeriSeqNIPT\_Batch\_Manager.med**) con Hamilton Run Controller.

## Sample Invalidation (Invalidamento del campione)

- 1 Accedere a Batch Manager.
- 2 Immettere Batch ID (ID batch) e User Name (Nome utente) o le iniziali dell'operatore e selezionare **OK** (Ok).
- 3 Sul diagramma della piastra per il batch, selezionare la posizione del pozzetto associato al campione fallito.
- 4 Confermare che sia visualizzato il campione corretto e selezionare **Invalidate Sample** (Invalida il campione).
- 5 Immettere un motivo per la mancata riuscita e selezionare **Invalidate** (Invalida).  
Sul diagramma della piastra per il batch, il campione invalidato passa da verde a rosso e l'etichetta di stato passa da valido a fallito.

## Batch Invalidation (Invalidamento del batch)

- 1 Accedere a Batch Manager.
- 2 Immettere Batch ID (ID batch) e User Name (Nome utente) o le iniziali dell'operatore e selezionare **OK** (Ok).
- 3 Sul diagramma della piastra per il batch, selezionare **Invalidate Batch** (Invalida batch).
- 4 Immettere un motivo per la mancata riuscita e selezionare **Invalidate** (Invalida).  
Se sul diagramma della piastra per il batch non sono presenti raggruppamenti validi per il batch, tutti i campioni passano da verde a rosso. I raggruppamenti validi all'interno del batch rimangono validi.

## Pool Invalidation (Invalidamento del raggruppamento in pool)

- 1 Accedere a Batch Manager.
- 2 Immettere Batch ID (ID batch) e User Name (Nome utente) o le iniziali dell'operatore e selezionare **Pool Manager** (Gestione raggruppamento).
- 3 Eseguire la scansione del codice a barre del raggruppamento in pool.
- 4 Immettere User Name (Nome utente) o le iniziali dell'operatore e selezionare **OK** (Ok).
- 5 Immettere un motivo per la mancata riuscita e selezionare **Invalidate** (Invalida).

## Caricamento del foglio campioni

Batch Manager consente di caricare un foglio campioni contenente le informazioni sui campioni. Grazie a questa funzione, l'utente può, ad esempio, caricare o modificare le informazioni sul campione in grossi gruppi di campioni.

- 1 Accedere a Batch Manager.
- 2 Immettere Batch ID (ID batch) e User Name (Nome utente) o le iniziali dell'operatore e selezionare **OK** (Ok).
- 3 Selezionare **Upload New Sample Sheet** (Carica nuovo foglio campioni).
- 4 Andare alla posizione in cui si trova il foglio campioni desiderato, quindi selezionare **OK** (Ok).

## Annullamento del campione

- 1 Accedere a Batch Manager.
- 2 Immettere Batch ID (ID batch) e User Name (Nome utente) o le iniziali dell'operatore e selezionare **OK** (Ok).
- 3 Sul diagramma della piastra per il batch, selezionare la posizione del pozzetto associato al campione annullato.
- 4 Confermare che sia visualizzato il campione corretto e selezionare **Cancel Sample** (Annulla il campione).
- 5 Immettere un motivo per il fallimento e selezionare **Cancel** (Annulla).  
Sul diagramma della piastra per il batch, il campione cancellato passa da verde a rosso.

## VeriSeq NIPT Services

VeriSeq NIPT Services (Services) include diversi strumenti utilizzati per la configurazione e la verifica di ML STAR e di Workflow Manager. Questi strumenti non sono richiesti durante il normale funzionamento del sistema, ma potrebbero essere richiesti per contribuire alla risoluzione dei problemi del sistemi da parte dell'Assistenza Tecnica Illumina o Hamilton. Questi strumenti sono inoltre utilizzati per regolare i parametri del sistema in seguito a scostamenti nella densità dei cluster.

## Lancio di VeriSeq NIPT Services



### NOTA

Chiudere tutti i metodi in corso prima di eseguire Services.

Per accedere a VeriSeq NIPT Services, eseguire una delle seguenti operazioni:

- ▶ Su App Launcher (Launcher applicazione), selezionare **VeriSeq NIPT Services** (Servizi di VeriSeq NIPT).
- ▶ Su un computer connesso alla rete, andare a C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT\ e aprire il file di metodo VeriSeq NIPT Services (**VeriSeqNIPT\_Service.med**) con Hamilton Run Controller.

Lo strumento Services (Servizi) consente due tipi di test:

- ▶ **Test singoli:** testano i componenti utilizzati per la risoluzione dei problemi dell'hardware di ML STAR.
- ▶ **Strumenti di manutenzione:** gli strumenti utilizzati per configurare Workflow Manager.

## Test singoli

Per contribuire alla risoluzione dei problemi di hardware riscontrati su Workflow Manager, potrebbero essere richiesti i seguenti test di sistema:

| Test del sistema   | Descrizione   |
|--|---|
| Barcode/Autoload (Codice a barre/caricamento automatico) | Testa la corretta configurazione del piano del sistema, dell'AutoLoader e la funzionalità di scansione dei codici a barre.                                |
| CPAC   | Testa il funzionamento dei sistemi di riscaldamento sul piano CPAC. Verifica inoltre il corretto cablaggio delle singole unità alla scatola di controllo. |

| Test del sistema                                 | Descrizione  |
|--|--|
| BVS Vacuum (Vuoto del sistema di base del vuoto) | Testa il funzionamento del sistema di base del vuoto (Basic Vacuum System, BVS) per confermare che il vuoto sia stato attivato e che abbia raggiunto le pressioni operative.                         |
| Independent Channel (Canale indipendente)        | Testa la funzionalità dei canali indipendenti delle pipette. Esegue il test di ritenzione dei liquidi per rilevare il gocciolamento dei canali delle pipette e la coerenza dei volumi di erogazione. |
| iSwap  | Testa il funzionamento del braccio robotico iSwap e conferma le posizioni complessive richieste sul piano.   |
| 96-Head (Testata a 96 campioni)                  | Testa il funzionamento della testata per pipette CO-RE 96. Esegue il test di ritenzione dei liquidi per rilevare il gocciolamento dei canali delle pipette e la coerenza dei volumi di erogazione.   |

Per eseguire i singoli test:

- 1 Selezionare il test prescelto da eseguire.



#### NOTA

Full IOQ Execution (Esecuzione completa della qualificazione di installazione/funzionamento) esegue tutti i sei test sequenzialmente.

- 2 Attenersi alle istruzioni sullo schermo, annotando le osservazioni per il funzionamento delle apparecchiature e qualsiasi errore di sistema verificatosi.
- 3 Una volta terminato, selezionare **Abort** (Interrompi) per uscire dal metodo.
- 4 Se viene richiesto di fornire i registri di tracciamento del sistema generati durante la corsa, i registri sono disponibili in C:\Program Files (x86)\HAMILTON\LogFiles e iniziano con VeriSeqNIPT\_Services.

## Service Tools (Strumenti di servizio)

Service Tools (Strumenti di servizio) consente di configurare Workflow Manager e alcuni parametri del saggio.

| Test del sistema  | Descrizione   |
|---|---|
| Server Configuration (Configurazione del server)                    | Configura e testa la connessione tra VeriSeq NIPT Workflow Manager e Assay Software. La corretta comunicazione tra questi sistemi è richiesta per l'esecuzione di Workflow Manager. |
| Assay Configuration (Configurazione del saggio)                     | Utilizzato per reimpostare la concentrazione predefinita della libreria.  |
| Deck Teach Tool (Strumento per le posizioni preimpostate del piano) | Utilizzato per esportare e importare dal un file le posizioni predefinite del piano.  |

## Configurazione del server

Se viene cambiato l'indirizzo della rete per VeriSeq Onsite Server v2, indirizzare Workflow Manager al nuovo indirizzo.

- 1 Dal menu Services Tools (Strumenti servizi), selezionare **Server Configuration** (Configurazione server).
- 2 Aggiornare l'URL con il nuovo indirizzo di Onsite Server.
- 3 Selezionare **Test Connection** (Testa connessione) per inviare un messaggio di test.

Se il messaggio non viene ricevuto, contattare l'Assistenza Tecnica Illumina.

- 4 Dalla schermata System Configuration (Configurazione del sistema), selezionare **OK** (Ok) e selezionare **Apply** (Applica) per salvare il nuovo indirizzo.

## Assay Configuration (Configurazione del saggio)

È possibile regolare la concentrazione delle librerie del sequenziatore nei raggruppamenti in pool per il sequenziatore, corsa per corsa, in Workflow Manager durante il processo di raggruppamento in pool (vedere *VeriSeq NIPT Solution v2 Package Insert (documento n. 1000000078751) (Inserito della confezione di VeriSeq NIPT Solution v2)*). Lo strumento Assay Configuration (Configurazione del saggio) può inoltre essere utilizzato per modificare il valore predefinito per questa concentrazione.

È inoltre possibile utilizzare lo strumento Assay Configuration (Configurazione del saggio) per modificare i valori di altri parametri. È possibile impostare il parametro Default Sex Chromosome Reporting (Report predefinito del cromosoma sessuale) su Yes (Sì) o No (No). Questa impostazione determina l'attributo da assegnare ai campioni quando il pulsante Use Default (Utilizza predefinito) viene selezionato durante la preparazione dei campioni. Il parametro Screen Type (Tipo di screening) può essere impostato su Basic (Di base) o Genomewide (Intero genoma) e determina il tipo di screening per un campione.

- 1 Selezionare **Assay Configuration** (Configurazione saggio).
- 2 Aggiornare la casella Target Library Concentration (pg/μl) (Concentrazione della libreria target - pg/μl) al valore desiderato.
- 3 Aggiornare Default Sex Chromosome Reporting (Report predefinito del cromosoma sessuale) al valore desiderato.
- 4 Aggiornare Screen Type (Tipo screening) al valore desiderato.
- 5 Selezionare **Apply** (Applica).

## Deck Teach Tool (Strumento per le posizioni preimpostate del piano)

Durante la risoluzione dei problemi, potrebbe essere necessario esportare i valori delle posizioni preimpostate. Utilizzare Deck Teach Tool (Strumento per le posizioni preimpostate del piano) per generare un elenco delle posizioni assieme ai relativi valori.

- 1 Selezionare **Deck Teach Tool** (Strumento per le posizioni preimpostate del piano).
- 2 Selezionare **Export** (Esporta).
- 3 Selezionare una posizione di output per il file di testo contenente le posizioni preimpostate del piano.
- 4 Selezionare **OK** (Ok).  
Deck Teach Tool (Strumento per le posizioni preimpostate del piano) salva il file contenente i valori per tutte le posizioni preimpostate dell'attrezzatura da laboratorio per l'installazione di Workflow Manager.
- 5 Selezionare **Cancel** (Annulla) per tornare alla schermata Method Selection (Selezione metodo).

# Capitolo 3 Sequenziatore di nuova generazione

|  |    |
|--|----|
| Introduzione .....                             | 14 |
| Raggruppamento in pool della sequenza .....    | 14 |
| Integrazione dell'archiviazione dei dati ..... | 14 |
| Capacità di processività dell'analisi .....    | 15 |
| Limitazioni del traffico di rete .....         | 15 |
| VeriSeq NIPT Local Run Manager .....           | 15 |

## Introduzione

Un sistema di sequenziamento di nuova generazione genera letture di sequenziamento per tutti i campioni contenuti nel raggruppamento in pool della libreria quantificata con VeriSeq NIPT Solution v2 tramite Onsite Server. I dati del sequenziamento vengono valutati da Analysis Handler di Assay Software.

Prendere in considerazione quanto segue quando si integra un sistema di sequenziamento di nuova generazione con VeriSeq NIPT Solution v2.

- ▶ Integrazione dell'archiviazione dei dati.
- ▶ Capacità di processività dell'analisi.
- ▶ Limitazioni del traffico di rete.

## Raggruppamento in pool della sequenza

Assay Software richiede un sequenziatore di nuova generazione in grado di generare dati del sequenziamento su un raggruppamento in pool di librerie preparate in base alle seguenti specifiche:

- ▶ Produzione di 2 x 36 letture paired-end.
- ▶ Compatibile con gli adattatori indici contenuti in VeriSeq NIPT Sample Prep Kit.
- ▶ Chimica a due canali.
- ▶ Creazione automatica di file .BCL.

## Integrazione dell'archiviazione dei dati

Una tipica corsa di sequenziamento per VeriSeq NIPT Solution v2 richiede 25-30 GB per i dati generati dal sistema di sequenziamento di nuova generazione. L'effettiva dimensione dei dati può variare in base alla densità finale dei cluster. Onsite Server fornisce più di 7,5 TB di spazio di archiviazione, spazio sufficiente per circa 300 corse di sequenziamento ( $7.500 / 25 = 300$ ).

Ai fini dell'archiviazione dei dati, mappare il sistema di sequenziamento di nuova generazione a Onsite Server per uno dei seguenti metodi:

- ▶ Utilizzare Onsite Server come archivio dei dati. In questa configurazione, il sequenziatore viene mappato direttamente al server e mantiene i dati sull'unità locale.
- ▶ Per un laboratorio ad elevata processività, utilizzare un sistema di archiviazione collegato alla rete (NAS). Configurare il sistema di sequenziamento di nuova generazione affinché mantenga i dati del sequenziamento direttamente in una posizione specifica sul sistema NAS.

In questa impostazione, configurare Onsite Server affinché esegua il monitoraggio della posizione specifica sul sistema NAS per permettere al server di monitorare le future corse di sequenziamento. È possibile aggiungere diversi sistemi di sequenziamento di nuova generazione per aumentare la processività dei campioni. Per maggiori informazioni su come mappare il server al sistema NAS, vedere *Gestione di un'unità di rete condivisa a pagina 26*.

Per maggiori informazioni su come mappare i sistemi di sequenziamento di nuova generazione al server o al sistema NAS, vedere la guida per l'utente del sistema.

## Capacità di processività dell'analisi

Il gruppo di software di analisi VeriSeq NIPT di solito elabora i dati per una singola corsa di sequenziamento in circa cinque ore. Quando si amplia il laboratorio per la processività dei campioni, tenere presente che un solo server è in grado di elaborare un massimo di quattro corse al giorno, per un totale di 48 campioni x 4 = 192 campioni al giorno. Rivolgersi all'Assistenza Illumina per ulteriori soluzioni di processività.

## Limitazioni del traffico di rete

VeriSeq NIPT Solution v2 utilizza la rete locale (Local Area Network, LAN) del laboratorio per la trasmissione dei dati tra il sistema di sequenziamento di nuova generazione, Onsite Server e il sistema NAS (se configurato). Quando si pensa di ampliare la processività dei campioni, prendere in considerazione le seguenti limitazioni relative al traffico dell'infrastruttura informatica:

- ▶ Il traffico medio dei dati di circa 25 GB generati in circa 10 ore è di circa 0,7 MB/sec per sequenziatore.
- ▶ L'infrastruttura del laboratorio potrebbe inoltre supportare altre sorgenti di traffico delle quali occorre tenere conto.

## VeriSeq NIPT Local Run Manager

Se si utilizza un sistema di sequenziamento di nuova generazione che dispone del modulo VeriSeq NIPT Local Run Manager (LRM), prepararsi al sequenziamento eseguendo le seguenti operazioni:

- 1 In Local Run Manager, selezionare **Create Run** (Crea corsa).
- 2 Nel menu a discesa, selezionare **VeriSeq NIPT**.
- 3 Completare i campi seguenti.
  - ▶ Run Name (Nome corsa)
  - ▶ Run Description (Descrizione corsa), facoltativo
  - ▶ Pool Barcode (Codice a barre del raggruppamento in pool)



### ATTENZIONE

Il valore inserito per Pool Barcode (Codice a barre del raggruppamento in pool) immesso nel modulo LRM deve corrispondere al valore inserito per Pool Barcode (Codice a barre del raggruppamento in pool) in Workflow Manager. Le configurazioni errate della corsa sono rifiutate da Assay Software e potrebbero richiedere il risequenziamento.

- 4 Selezionare **Save Run** (Salva corsa).

Al termine dell'impostazione della corsa, avviare la corsa utilizzando il software dello strumento.

# Capitolo 4 VeriSeq NIPT Assay Software v2

|                                     |    |
|-------------------------------------|----|
| Introduzione .....                  | 16 |
| Componenti di Assay Software .....  | 16 |
| Interfaccia utente Web .....        | 21 |
| Analisi e creazione di report ..... | 29 |
| VeriSeq Onsite Server v2 .....      | 32 |

## Introduzione

VeriSeq NIPT Assay Software v2 genera statistiche per valutare il numero di copie dei cromosomi dei campioni analizzati e fornisce una determinazione dell'aneuploidia sui cromosomi selezionati per l'analisi. La selezione di cromosomi per l'analisi dipende dal tipo di screening scelto: di base (cromosomi 21, 18, 13, X e Y) o dell'intero genoma (tutti i cromosomi). Quando viene selezionata l'opzione per l'intero genoma, il software verifica anche la presenza di regioni sotto-cromosomiche del guadagno o della perdita del numero di copie in un autosoma. Uno strumento di sequenziamento di nuova generazione genera input di analisi sotto forma di letture paired-end di 36 basi.

VeriSeq NIPT Assay Software v2 viene eseguito su VeriSeq Onsite Server v2. Onsite Server è un componente fondamentale di VeriSeq NIPT Solution v2 e funge da punto di connessione tra VeriSeq NIPT Workflow Manager, il sistema di sequenziamento di nuova generazione e l'utente.

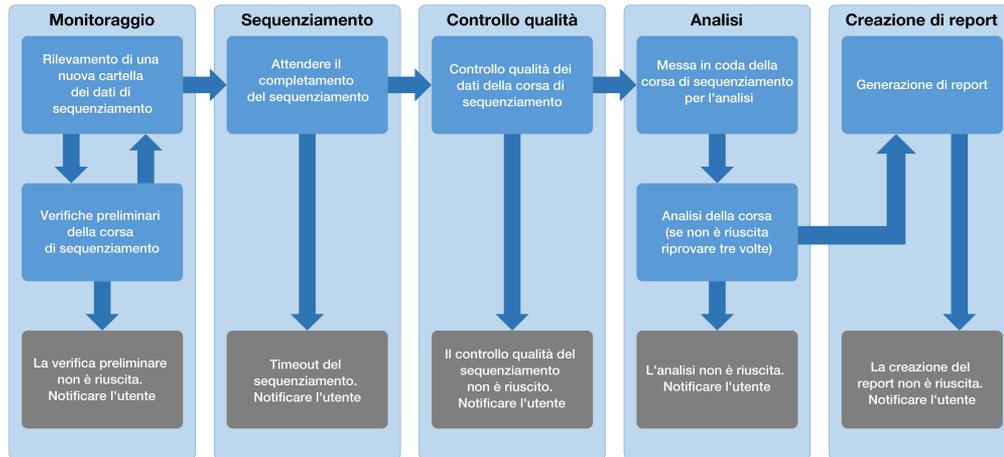
Assay Software allinea le letture sul genoma umano di riferimento ed esegue l'analisi sulle letture che si allineano con una posizione o sito univoco nel genoma. Assay Software elimina le letture e i siti duplicati associati con elevata variazione nella copertura su campioni euploidi. I dati del sequenziamento sono normalizzati per contenuto nucleotide e per correggere gli effetti del batch e altre fonti di variabilità indesiderata. Le informazioni sulla lunghezza del frammento di cfDNA derivano dalle letture di sequenziamento paired-end. Assay Software valuta inoltre le statistiche della copertura del sequenziamento su regioni note da arricchire per cfDNA fetale o materno. I dati generati dall'analisi della copertura e della lunghezza del frammento sono utilizzati per stimare la frazione fetale (FF) per ciascun campione.

Per ciascuna opzione di screening selezionata per un campione dal menu di analisi, Assay Software riporta se è stata o meno rilevata un'anomalia. Nello screening di base, tutte le anomalie sono aneuploidie. Per lo screening dell'intero genoma, un'anomalia può essere un'aneuploidia oppure una delezione o duplicazione parziale.

## Componenti di Assay Software

Assay Software esegue e monitora continuamente i nuovi dati di sequenziamento man mano che vengono aggiunti alla cartella degli input su Onsite Server. Quando viene identificata una nuova corsa di sequenziamento, si avvia la procedura seguente.

Figura 3 Diagramma del flusso dei dati



- 1 **Monitoraggio:** esegue verifiche preliminari della nuova corsa di sequenziamento. Le verifiche di convalida includono le verifiche della compatibilità dei parametri della corsa (corrispondenza tra i valori e i valori previsti), l'associazione della cella a flusso con una provetta di un raggruppamento in pool esistente e nota e l'accertamento che i risultati non siano stati riportati precedentemente per gli stessi campioni in quel raggruppamento in pool (ripetizione della corsa). Se una qualsiasi di queste verifiche non viene superata, l'utente viene notificato grazie al sistema di notifica e-mail e al registro degli avvisi sull'interfaccia utente Web.
- 2 **Sequenziamento:** monitora costantemente il completamento della corsa di sequenziamento. Un timer viene impostato per definire un timeout per il completamento della corsa. Se il timeout è scaduto, l'utente viene notificato grazie al sistema di notifica e-mail e al registro degli avvisi sull'interfaccia utente Web.
- 3 **Controllo qualità:** esamina i file di controllo qualità InterOp generati dal sequenziatore. Assay Software verifica il numero totale di cluster, la densità dei cluster e i punteggi qualitativi delle letture. Se il controllo qualità non viene superato, l'utente viene notificato grazie al sistema di notifica e-mail e al registro degli avvisi sull'interfaccia utente Web.
- 4 **Analisi:** gestisce la coda dell'analisi per più corse di sequenziamento generate da diversi strumenti configurati con il server. Il server elabora una singola analisi alla volta in base al principio "primo entrato, primo uscito" (First In, First Out, FIFO). Una volta che l'analisi è stata completata correttamente, viene avviata la successiva analisi in coda programmata. Se l'analisi della corsa fallisce o è stato raggiunto il timeout, Assay Software riavvia automaticamente l'analisi per tre volte. Dopo ogni esito negativo, l'utente viene notificato tramite il sistema di notifica e-mail e il registro degli avvisi sull'interfaccia utente Web.
- 5 **Generazione di report:** al completamento dell'analisi, genera il report che contiene i risultati finali. Se si verifica un errore e i report non vengono generati, l'utente viene notificato tramite il sistema di notifica e-mail e il registro degli avvisi sull'interfaccia utente Web.

## Attività di Assay Software

Assay Software esegue sia le attività automatiche che quelle avviate dall'utente.

## Attività automatizzate

Assay Software completa le seguenti attività automatizzate:

- ▶ **Creazione e archiviazione del registro della preparazione dei campioni:** genera un set di file di output al termine di ciascuna fase e archivia i dati nella cartella ProcessLogs (Registri procedura) che si trova nella cartella Output (Output). Per maggiori informazioni, vedere *Struttura del file dei report a pagina 37* per una descrizione generale e *Report di elaborazione a pagina 55* per i dettagli.
- ▶ **Generazione di notifiche per avvisi, e-mail e report:** monitora la validità dello stato per ciascun batch, raggruppamento in pool e campione durante la procedura di preparazione dei campioni e il controllo qualità dei dati di sequenziamento e i risultati dell'analisi per il campione. In base a queste verifiche, Assay Software determina se proseguire con l'elaborazione e se i risultati possono essere riportati. Assay Software termina l'elaborazione quando un batch o un raggruppamento in pool viene invalidato in base ai risultati di controllo qualità. Viene inviata una notifica e-mail all'utente, viene generato un report e viene registrato un avviso sull'interfaccia utente Web.
- ▶ **Analisi dei dati della sequenza:** analizza i dati non elaborati della sequenza per ciascun multiplex campioni nel raggruppamento in pool utilizzando NIPT Analysis Software integrato. Assay Software determina i risultati dell'aneuploidia per ciascun campione. Il sistema non riporta i risultati per i campioni invalidati o annullati dall'utente. Per i campioni che non superano i criteri del controllo qualità, viene fornita un motivo esplicito per il mancato superamento; tuttavia, i risultati per i campioni che non hanno superato i criteri vengono soppressi. Per maggiori informazioni, vedere *NIPT Report (Report NIPT) a pagina 42*.
- ▶ **Generazione del file dei risultati:** fornisce i risultati per il campione in un formato file con valori separati da tabulazione, che viene salvato nella cartella Output (Output). Per maggiori informazioni, vedere *NIPT Report (Report NIPT) a pagina 42*.
- ▶ **Generazione di report:** Assay Software genera ulteriori report con le informazioni sui risultati, notifiche ed elaborazione. Per maggiori informazioni, vedere *Report di sistema a pagina 37*.

► **Invalidamento di campione, raggruppamento in pool e batch:**

- **Invalidamento del campione:** Assay Software indica i singoli campioni come invalidati quando l'utente:

- Invalida esplicitamente il campione.
- Invalida l'intera piastra durante la preparazione delle librerie prima della creazione del raggruppamento in pool.

Quando un campione viene indicato come invalidato, viene generato automaticamente un Sample Invalidation Report (Report di invalidamento del campione), vedere *Sample Invalidation Report (Report di invalidamento del campione)* a pagina 54.

- **Generazione di report di invalidamento per raggruppamento in pool e batch:** i raggruppamenti e i batch possono essere invalidati solo dall'utente. I raggruppamenti invalidati non vengono elaborati dal sistema. I raggruppamenti che sono già stati creati da un singolo batch non vengono invalidati automaticamente e possono essere ulteriormente elaborati dal sistema. Tuttavia, non è possibile creare nuovi raggruppamenti da un batch invalidato. Quando un raggruppamento in pool viene invalidato, il sistema genera un Pool Retest Request Report (Report richiesta ripetizione test del raggruppamento in pool) in base alle seguenti condizioni:

- Il batch è valido.
- Non vi sono raggruppamenti disponibili per questo batch.
- Il numero di raggruppamenti consentiti per il batch è stato raggiunto.

Per maggiori informazioni, vedere *Pool Retest Request Report (Report richiesta ripetizione test del raggruppamento in pool)* a pagina 54.

► **Gestione della ripetizione dei test:**

- **Mancata riuscita del raggruppamento in pool:** i raggruppamenti non riusciti sono di solito i raggruppamenti che non hanno superato le metriche di controllo qualità del sequenziamento. Se la corsa è stata terminata, Assay Software non prosegue l'elaborazione di raggruppamenti non riusciti. Ripsequenziare utilizzando una seconda aliquota del raggruppamento in pool.
- **Campioni non riusciti:** il software, se necessario, consente di testare nuovamente i campioni non riusciti. I campioni non riusciti devono essere incorporati in un nuovo batch ed elaborati nuovamente mediante le fasi del saggio.
- **Ripetizione di corse:** il sistema non rianalizza i raggruppamenti con campioni che sono già stati elaborati e riportati correttamente. La rielaborazione di un campione può essere eseguita rimettendo il campione sulla piastra in un nuovo batch.

## Attività dell'utente

VeriSeq NIPT Solution v2 consente agli utenti di eseguire le attività seguenti:

Utilizzando Workflow Manager:

- Indicare come non valido un singolo campione, tutti i campioni nel batch o tutti i campioni associati con un raggruppamento in pool.
- Indicare un determinato campione come annullato. Assay Software indica il risultato come annullato nel report finale dei risultati.

Utilizzando Assay Software:

- Configurare il software per essere installato e configurato nell'infrastruttura della rete del laboratorio.
- Modificare le impostazioni di configurazione come le impostazioni di rete, i percorsi delle cartelle condivise e la gestione degli account utenti.

- ▶ Visualizzare lo stato del sistema e del batch, i report di elaborazione dei risultati e dei batch, i registri delle attività e di audit e i risultati del saggio.



#### NOTA

Gli utenti possono eseguire determinate attività in base alle autorizzazioni dell'utente. Per maggiori informazioni, vedere [Assegnazione dei ruoli utente a pagina 24](#).

## Sequencing Handler

Assay Software gestisce le corse di sequenziamento generate dagli strumenti di sequenziamento mediante Sequencing Handler. Identifica le nuove corse di sequenziamento, convalida i parametri della corsa e collega il codice a barre del raggruppamento in pool a un raggruppamento noto creato durante la procedura di preparazione delle librerie. Se non è possibile eseguire un'associazione, viene generata una notifica per l'utente e l'elaborazione della corsa di sequenziamento viene interrotta.

Al termine della corretta convalida, Assay Software continua il monitoraggio delle corse di sequenziamento fino al completamento. Le corse di sequenziamento sono messe in coda per l'elaborazione mediante il sistema di gestione dei software di analisi (vedere [Sistema di gestione dei software di analisi a pagina 20](#)).

## Compatibilità della corsa di sequenziamento

Il server analizza solo le corse di sequenziamento compatibili con il flusso di lavoro analitico di cfDNA.

Per generare identificazioni delle basi, utilizzare solo metodi di sequenziamento e versioni software compatibili.



#### NOTA

Monitorare regolarmente le metriche delle prestazioni dei dati del sequenziamento per assicurarsi che la qualità dei dati rientri nelle specifiche.

Il modulo VeriSeq NIPT Local Run Manager configura il sequenziamento utilizzando i seguenti parametri delle letture:

- ▶ Corsa paired-end con letture da 2 x 36 cicli.
- ▶ Doppia indicizzazione con due letture indici da 8 cicli.

## Sistema di gestione dei software di analisi

Il sistema di gestione dei software di analisi lancia i software di analisi per rilevare le aneuploidie. I software elaborano una corsa di sequenziamento alla volta per una durata media di meno di cinque ore per raggruppamento in pool. Se l'analisi non riesce a elaborare il raggruppamento in pool o non viene completata a causa di mancata alimentazione o timeout, il sistema di gestione dei software di analisi rimette automaticamente in coda la corsa. Se l'elaborazione del raggruppamento in pool non riesce per tre volte consecutive, la corsa viene indicata come non riuscita e l'utente viene notificato.

Una corsa di analisi completata con successo avvia la generazione del report NIPT. Per maggiori informazioni, vedere [NIPT Report \(Report NIPT\) a pagina 42](#).

## Requisiti di timeout e di archiviazione del flusso di lavoro

Il flusso di lavoro analitico di cfDNA è soggetto alle limitazioni seguenti per timeout e archiviazione.

| Parametro   | Valore predefinito |
|---|--------------------|
| Maximum Sequencing Time (Durata massima del sequenziamento)                   | 20 ore             |
| Maximum Analysis Time (Durata massima dell'analisi)                           | 10 ore             |
| Minimum Scratch Space Storage (Spazio di archiviazione minimo a disposizione) | 900 GB             |

## Interfaccia utente Web

Assay Software ospita un'interfaccia utente Web che permette di accedere facilmente a Onsite Server da qualsiasi luogo sulla rete. L'interfaccia utente Web fornisce le seguenti funzioni:

- ▶ **View recent activities** (Visualizza attività recenti): identifica le fasi completate durante l'elaborazione di un saggio. L'utente viene avvisato di molte di queste attività mediante il sistema di notifiche e-mail. Per maggiori informazioni, vedere [Notifiche di Assay Software a pagina 64](#).
- ▶ **View errors and alerts** (Visualizza errori e avvisi): identifica i problemi che potrebbero impedire l'ulteriore elaborazione del saggio. I messaggi di errore e gli avvisi vengono inviati all'utente mediante il sistema di notifiche e-mail. Per maggiori informazioni, vedere [Notifiche di Assay Software a pagina 64](#).
- ▶ **Configure the server network settings** (Configura le impostazioni della rete per il server): il personale Illumina di solito configura la rete durante l'installazione del sistema. Eventuali modifiche potrebbero essere richieste se la rete locale necessita di modifiche al sistema informatico. Per maggiori informazioni, vedere [Modifica delle impostazioni della rete e del server a pagina 28](#).
- ▶ **Manage server access** (Gestisci accesso al server): Onsite Server permette l'accesso a livello di Administrator (Amministratore) e Operator (Operatore). Questi livelli di accesso controllano la visualizzazione dei registri delle attività, degli avvisi e degli errori nonché la modifica della rete e le impostazioni per la mappatura dei dati. Per maggiori informazioni, vedere [Gestione degli utenti a pagina 24](#).
- ▶ **Configure sequencing data folder** (Configura la cartella dei dati di sequenziamento): per impostazione predefinita, il server archivia i dati del sequenziamento. Tuttavia, può essere aggiunto un sistema NAS per ampliare la capacità di archiviazione. Per maggiori informazioni, vedere [Mappatura delle unità del server a pagina 33](#).
- ▶ **Configure email notification subscribers list** (Configura l'elenco dei sottoscrittori alle notifiche e-mail): gestisce un elenco di sottoscrittori ai quali vengono inviate le notifiche e-mail che comprendono i messaggi di errore e gli avvisi relativi all'elaborazione del saggio. Per maggiori informazioni, vedere [Configurazione delle notifiche e-mail del sistema a pagina 29](#).
- ▶ **Reboot or shutdown the server** (Riavvia o spegni il server): riavvia o spegne il server, se necessario. Può essere necessario eseguire un riavvio o uno spegnimento per far sì che un'impostazione di configurazione abbia effetto o come rimedio per un errore del server. Per maggiori informazioni, vedere [Riavvio del server a pagina 34](#) e [Spegnimento del server a pagina 34](#).

## Contratto di licenza per l'utente finale

Al primo accesso all'interfaccia utente Web, all'utente viene chiesto di accettare il contratto di licenza dell'utente finale (End User License Agreement, EULA). Selezionando **Download EULA** (Scarica EULA), è possibile scaricare il contratto di licenza sul computer. Il software richiede di accettare il contratto EULA prima di poter continuare a lavorare con l'interfaccia utente Web.

Dopo aver accettato il contratto EULA, è possibile tornare alla pagina EULA e, se necessario, scaricare il documento.

## Configurazione dell'interfaccia utente Web

Selezionare l'icona Settings (Impostazioni)  per visualizzare un elenco a discesa delle impostazioni di configurazione. Le impostazioni vengono visualizzate in base al ruolo utente e alle autorizzazioni associate. Per maggiori informazioni, vedere *Assegnazione dei ruoli utente a pagina 24*.



### NOTA

Un tecnico non ha accesso a nessuna di queste funzioni.

| Impostazione  | Descrizione   |
|---|---|
| User Management (Gestione utenti)   | Aggiunge, attiva/disattiva e modifica le credenziali degli utenti. Solo per amministratori e personale dell'assistenza. |
| Email Configuration (Configurazione e-mail)                                   | Modifica l'elenco dei sottoscrittori alle notifiche e-mail.   |
| Change Shared Folder Password (Modifica la password delle cartelle condivise) | Cambiare la password di sbsuser per accedere alle cartelle condivise di Onsite Server.                                  |
| Reboot Server (Riavvia il server)   | Solo per amministratori o personale dell'assistenza.  |
| Shut Down Server (Spegnimento server)   | Solo per amministratori o personale dell'assistenza.  |

## Accesso all'interfaccia utente Web

Per accedere all'interfaccia di Assay Software ed eseguire il login:

- 1 Su un computer connesso alla stessa rete di Onsite Server, aprire uno dei seguenti browser Web:
  - ▶ Chrome v69 o versione successiva
  - ▶ Firefox v62 o versione successiva
  - ▶ Internet Explorer v11 o versione successiva
- 2 Inserire l'indirizzo IP del server o il nome del server fornito da Illumina al momento dell'installazione, equivalente a \\<VeriSeq Onsite Server v2 IP address>\login.  
Ad esempio, \\10.10.10.10\login.
- 3 Se viene visualizzata un'avvertenza di sicurezza, aggiungere un'eccezione di sicurezza per procedere alla schermata di login.
- 4 Nella schermata di login, inserire il nome utente e la password sensibili a maiuscolo/minuscolo forniti da Illumina e selezionare **Log In** (Accedi).



### NOTA

Dopo dieci minuti di inattività Assay Software esegue automaticamente il logout per l'utente attualmente collegato.

## Utilizzo di Dashboard (Pannello strumenti)

Il Dashboard (Pannello strumenti) di VeriSeq NIPT Assay Software v2 viene visualizzato dopo l'accesso e rappresenta la finestra di navigazione principale. Per tornare al Dashboard (Pannello strumenti) in qualsiasi momento, selezionare l'opzione di menu **Dashboard** (Pannello strumenti).

Il Dashboard (Pannello strumenti) mostra sempre le 50 attività più recenti che sono state registrate (se vi sono meno di 50 attività, mostra solo quelle registrate). Per ottenere le 50 attività precedenti e scorrere la cronologia delle attività, selezionare **Previous** (Precedente) nell'angolo inferiore destro della tabella delle attività.

**Figura 4** Dashboard (Pannello strumenti) di VeriSeq NIPT Assay Software

The screenshot shows the 'Dashboard' page with a navigation bar containing 'Recent activities', 'Recent errors', and 'Server status'. The 'Recent activities' tab is active, displaying a table with the following data:

| WHEN                 | USER | SUBSYSTEM | DETAILS  | LEVEL    |
|----------------------|------|-----------|--|----------|
| 2016-07-29 09:17 PDT |      | Assay     | Aneuploidy Detection Report generated for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGX' | Activity |
| 2016-07-29 09:17 PDT |      | Assay     | Analysis started for '160728_NS500411_0171_AHCLGJBGX'                      | Activity |
| 2016-07-29 05:23 PDT |      | Assay     | Sequencing QC passed for '160728_NS500411_0171_AHCLGJBGX'                  | Activity |
| 2016-07-29 05:14 PDT |      | Assay     | Analysis started for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGX'                      | Activity |
| 2016-07-29 05:14 PDT |      | Assay     | Sequencing QC passed for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGX'                  | Activity |
| 2016-07-28 19:56 PDT |      | Assay     | Sequencing started for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGX'                    | Activity |
| 2016-07-28 19:55 PDT |      | Assay     | Sequencing started for '160728_NS500411_0171_AHCLGJBGX'                    | 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 |

## Visualizzazione delle attività recenti

La scheda Recent Activities (Attività recenti) contiene una breve descrizione delle attività recenti di Assay Software e di Onsite Server.

| Nome                        | Descrizione  |
|-----------------------------|--|
| When<br>(Quando)            | La data e l'ora dell'attività  |
| User (Utente)               | Se applicabile, identifica l'utente che ha eseguito l'attività   |
| Subsystem<br>(Sottosistema) | L'entità o la procedura che ha eseguito l'attività, come utente, saggio o configurazione   |
| Details<br>(Dettagli)       | Descrizione dell'attività  |
| Level (Livello)             | Il livello assegnato all'attività in base alle seguenti opzioni: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Activity</b> (Attività): indica un'attività nel server come un riavvio del sistema o il login/logout di un utente.</li> <li>• <b>Notice</b> (Avviso): indica una fase non eseguita correttamente. Ad esempio, invalidamento di un campione e controllo qualità non riuscito.</li> <li>• <b>Warning</b> (Avvertenza): indica che si è verificato un errore durante la normale esecuzione e il corretto funzionamento hardware. Ad esempio, parametri della corsa non riconosciuti e analisi non eseguita.</li> </ul> |

## Visualizzazione degli errori recenti

La scheda Recent Errors (Errori recenti) contiene una breve descrizione degli errori software e server recenti.

| Nome                     | Descrizione  |
|--------------------------|--|
| When (Quando)            | La data e l'ora dell'attività  |
| User (Utente)            | Se applicabile, identifica l'utente che ha eseguito l'attività   |
| Subsystem (Sottosistema) | L'entità o la procedura che ha eseguito l'attività, come utente, saggio o configurazione   |
| Details (Dettagli)       | Descrizione dell'attività  |
| Level (Livello)          | <p>Il livello assegnato all'attività in base alle seguenti opzioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Urgent</b> (Urgente): errore hardware importante che compromette il funzionamento del sistema. Contattare l'Assistenza Tecnica Illumina.</li> <li>• <b>Alert</b> (Avviso): errore in normali condizioni di funzionamento. Ad esempio, un disco danneggiato, problema con lo spazio o configurazione che impedisce la generazione di un report o di notifiche e-mail.</li> <li>• <b>Error</b> (Errore): errore di sistema o del server in normali condizioni di funzionamento. Ad esempio, un problema con il file di configurazione o un errore hardware.</li> </ul> |

## Visualizzazione dello stato del sistema e degli avvisi

Per visualizzare il riepilogo dello stato del server, da Dashboard (Pannello strumenti), selezionare la scheda **Server Status** (Stato del server).

Il riepilogo visualizza le informazioni seguenti:

- ▶ **Date** (Data): la data e l'ora attuali
- ▶ **Time zone** (Fuso orario): il fuso orario configurato per il server; utilizzato per la data e l'ora di e-mail, avvisi e report
- ▶ **Hostname** (Nome host): il nome del sistema consiste di un nome host della rete e un nome di dominio DNS
- ▶ **Disk space usage** (Utilizzo spazio su disco): la percentuale di spazio su disco attualmente utilizzata per l'archiviazione dei dati
- ▶ **Software** (Software): la configurazione regolamentata del software (ad es., CE-IVD)
- ▶ **Version** (Versione): la versione di VeriSeq NIPT Assay Software v2

Il riepilogo potrebbe inoltre visualizzare un pulsante **Server alarm** (Allarme server) che silenzia l'allarme del controller RAID. Questo pulsante viene visualizzato solo per gli amministratori. Se viene premuto questo pulsante, contattare l'Assistenza Tecnica Illumina per ulteriore assistenza.

## Gestione degli utenti



### NOTA

Solo il personale dell'assistenza e gli amministratori dispongono dell'autorizzazione per aggiungere, modificare o eliminare le autorizzazioni per i tecnici e altri utenti a questo livello.

## Assegnazione dei ruoli utente

I ruoli utente definiscono l'accesso e i diritti per eseguire determinati compiti.

| Ruolo                          | Descrizione  |
|--------------------------------|--|
| Service (Servizio)             | Un tecnico dell'assistenza Illumina che esegue l'installazione e l'impostazione del sistema iniziali (inclusa la creazione del ruolo Administrator - Amministratore). Inoltre risolve eventuali problemi, esegue le riparazioni del server, imposta e modifica le impostazioni di configurazione e fornisce un supporto software continuo. |
| Administrator (Amministratore) | L'amministratore del laboratorio che imposta e gestisce le impostazioni di configurazione, amministra gli utenti, definisce l'elenco di sottoscrittori all'e-mail, modifica la password alle cartelle condivise e riavvia o spegne il server.  |
| Technician (Tecnico)           | Un tecnico di laboratorio che visualizza lo stato e gli avvisi del sistema.  |

## Aggiunta di utenti

Al momento dell'installazione iniziale, il personale dell'Assistenza Illumina aggiunge l'utente Administrator (Amministratore).

Per aggiungere un utente:

- 1 Dalla schermata User Management (Gestione utenti), selezionare **Add New User** (Aggiungi nuovo utente).



### NOTA

Sono richiesti tutti i campi.

- 2 Inserire il nome utente.



### NOTA

I caratteri accettabili per il nome utente sono solo i caratteri sensibili alle maiuscole e minuscole, i caratteri alfanumerici (ad es, a-z, e 0-9), il "\_" (trattino basso) e il "-" (trattino). I nomi utenti devono essere composti da 4-20 caratteri e devono contenere almeno un carattere numerico. Il primo carattere del nome utente non può essere un carattere numerico.

Assay Software utilizza i nomi utente per identificare la persona coinvolta nei diversi aspetti dell'elaborazione del saggio e le interazioni con Assay Software.

- 3 Inserire il nome completo dell'utente. Il nome completo viene visualizzato solo nel profilo utente.
- 4 Inserire e confermare la password.



### NOTA

La password deve essere composta da 8-20 caratteri e contenere almeno una lettera maiuscola, una lettera minuscola e un carattere numerico.

- 5 Inserire un indirizzo e-mail dell'utente.  
È richiesto un indirizzo e-mail univoco per ciascun utente.
- 6 Selezionare il ruolo utente desiderato dell'elenco a discesa.
- 7 Selezionare la casella **Active** (Attivo) per attivare l'utente immediatamente o deselezionare la casella per attivare l'utente in un secondo momento (ossia, dopo la formazione).
- 8 Selezionare **Save** (Salva) per salvare e confermare le modifiche.  
Il nuovo utente appare ora sulla schermata User Management (Gestione utenti).

## Modifica di utenti

Per modificare le informazioni relative agli utenti:

- 1 Dalla schermata User Management (Gestione utenti), selezionare il nome utente per l'utente prescelto.

- 2 Modificare le informazioni per l'utente in base a necessità e, una volta completato, selezionare **Save** (Salva).
- 3 Quando viene visualizzata la finestra di dialogo per la conferma delle modifiche, selezionare di nuovo **Save** (Salva).  
Le modifiche all'utente vengono ora visualizzate nella schermata User Management (Gestione utenti).

## Disattivazione di utenti

Per disattivare un utente:

- 1 Dalla schermata User Management (Gestione utenti), selezionare il nome utente prescelto.
- 2 Deselezionare la casella di controllo **Activate** (Attiva) e selezionare **Save** (Salva).
- 3 Sul messaggio di conferma, selezionare **Save** (Salva).  
Nella schermata User Management (Gestione utenti) lo stato dell'utente passa a Disabled (Disattivato).

## Gestione di un'unità di rete condivisa



### NOTA

Solo il personale dell'assistenza o gli amministratori dispongono dell'autorizzazione per aggiungere, modificare o eliminare i percorsi delle cartelle condivise.

## Aggiunta di un'unità di rete condivisa

Configurare il sistema in modo che i dati del sequenziamento vengano archiviati su un sistema NAS dedicato piuttosto che su un server connesso al sistema di sequenziamento. Un sistema NAS può fornire una maggiore capacità di archiviazione e backup continuo dei dati.

- 1 Dal menu Dashboard (Pannello strumenti), selezionare **Folders** (Cartelle).
- 2 Selezionare **Add folder** (Aggiungi cartella).
- 3 Immettere le seguenti informazioni fornite dall'amministratore IT:
  - ▶ **Location** (Posizione): il percorso completo alla posizione del sistema NAS compresa la cartella in cui sono stati archiviati i dati.
  - ▶ **Username** (Nome utente): il nome utente assegnato a Onsite Server quando questo accede al sistema NAS.
  - ▶ **Password** (Password): la password assegnata a Onsite Server quando questo accede al sistema NAS.
- 4 Selezionare **Save** (Salva).
- 5 Selezionare **Test** (Verifica) per verificare la connessione al sistema NAS.  
Se la connessione non riesce, confermare il nome del server, il nome della posizione, il nome utente e la password con l'amministratore IT.
- 6 Riavviare il server per applicare le modifiche.



### NOTA

La configurazione di un'unità di rete condivisa può supportare solo una cartella di dati del sequenziamento.

## Modifica di un'unità di rete condivisa

- 1 Dal menu Dashboard (Pannello strumenti), selezionare **Folders** (Cartelle).

- 2 Modificare il percorso Location (Posizione) e selezionare **Save** (Salva).
- 3 Selezionare **Test** (Verifica) per verificare la connessione al sistema NAS.  
Se la connessione non riesce, confermare il nome del server, il nome della posizione, il nome utente e la password con l'amministratore IT.

## Eliminazione di un'unità di rete condivisa

- 1 Dal menu Dashboard (Pannello strumenti), selezionare **Folders** (Cartelle).
- 2 Selezionare il percorso Location (Posizione) per eseguire la modifica.
- 3 Selezionare **Delete** (Elimina) per rimuovere la cartella di sequenziamento esterna.

## Configurazione delle impostazioni di rete e certificato

Il personale dell'Assistenza Illumina utilizza la schermata Network Configuration (Configurazione rete) per configurare la rete e impostare il certificato durante l'installazione iniziale.



### NOTA

Solo il personale dell'assistenza e gli amministratori dispongono dell'autorizzazione per modificare le impostazioni di rete e del certificato.

- 1 Da Dashboard (Pannello strumenti), selezionare **Configuration** (Configurazione).
- 2 Selezionare la scheda **Network Configuration** (Configurazione rete) e configurare le impostazioni di rete, in base alle necessità.
- 3 Selezionare la scheda **Certification Configuration** (Configurazione certificato) per generare il certificato SSL.

## Modifica delle impostazioni del certificato

Un certificato di connessione protetta (Secure Socket Layer, SSL) è un file di dati che permette la connessione sicura da Onsite Server a un browser.

- 1 Utilizzare la scheda Certificate Configuration (Configurazione del certificato) per aggiungere o modificare le impostazioni del certificato SSL.
  - ▶ **Laboratory Email** (E-mail del laboratorio): l'e-mail di contatto presso il laboratorio di analisi (richiede un indirizzo e-mail con formato valido).
  - ▶ **Organization Unit** (Unità dell'organizzazione): il dipartimento.
  - ▶ **Organization** (Organizzazione): il nome del laboratorio di analisi.
  - ▶ **Location** (Posizione): l'indirizzo del laboratorio di analisi.
  - ▶ **State** (Regione): la regione del laboratorio di analisi (si popola automaticamente in base all'indirizzo e-mail).
  - ▶ **Country** (Paese): il paese del laboratorio di analisi (si popola automaticamente in base all'indirizzo e-mail).
  - ▶ **Certificate Thumbprint (SHA1)** (Certificato di identificazione digitale - SHA1): il numero di identificazione della certificazione.  
Certificate Thumbprint (SHA1) (Certificato di identificazione digitale - SHA1) assicura che l'utente non riceva avvisi di certificato quando accede a VeriSeq NIPT Assay Software v2. Il certificato SHA1 viene visualizzato dopo la generazione o la rigenerazione di un certificato. Per maggiori informazioni, vedere [Rigenerazione di un certificato a pagina 28](#).
- 2 Selezionare **Save** (Salva) per implementare qualsiasi modifica eseguita.

## Modifica delle impostazioni della rete e del server



### NOTA

Coordinare tutte le modifiche alle impostazioni di rete e server con l'amministratore IT per evitare errori di connessione al server.

- 1 Utilizzare la scheda Network Configuration (Configurazione rete) per impostare o modificare le impostazioni di rete o di Onsite Server.
  - ▶ **Static IP Address** (Indirizzo IP statico): l'indirizzo IP designato per Onsite Server.
  - ▶ **Subnet Mask** (Maschera di sottorete): la maschera di sottorete della rete locale.
  - ▶ **Default Gateway Address** (Indirizzo gateway predefinito): l'indirizzo IP predefinito del router.
  - ▶ **Hostname** (Nome host): il nome designato per fare riferimento a Onsite Server sulla rete (definito come localhost per impostazione predefinita).
  - ▶ **DNS Suffix** (Suffisso DNS): il suffisso DNS designato.
  - ▶ **Nameserver 1 and 2** (Nome server 1 e 2): gli indirizzi o nomi IP del server DNS.
  - ▶ **NTP Time Server 1 and 2** (Server 1 e 2 per orario NTP): i server di sincronizzazione dell'orario mediante il protocollo NTP.
  - ▶ **MAC Address** (Indirizzo MAC): l'indirizzo MAC della rete del server (solo lettura).
  - ▶ **Timezone** (Fuso orario): il fuso orario locale del server.
- 2 Confermare che le voci inserite siano corrette e selezionare **Save** (Salva) per riavviare il server e implementare le modifiche applicate.



### ATTENZIONE

Eventuali impostazioni errate possono alterare la connessione con il server.

## Download e installazione di un certificato

Per scaricare e installare un certificato SSL:

- 1 Da Dashboard (Pannello strumenti), selezionare **Configuration** (Configurazione).
- 2 Selezionare la scheda **Certification Configuration** (Configurazione certificazione).
- 3 Selezionare **Download Certificate** (Scarica certificato) dalla schermata Network Configuration (Configurazione rete).
- 4 Aprire il file scaricato e selezionare **Install Certificate** (Installa certificato).
- 5 Attenersi alle istruzioni contenute nell'importazione guidata per installare il certificato.
- 6 Selezionare **OK** (Ok) nella finestra di dialogo per chiudere le istruzioni.

## Rigenerazione di un certificato



### NOTA

Solo il personale dell'assistenza e gli amministratori dispongono dell'autorizzazione per rigenerare i certificati e riavviare il sistema.

Per rigenerare un certificato dopo la modifica delle impostazioni della rete o del certificato:

- 1 Selezionare **Regenerate Certificate** (Rigenera certificato) dalla schermata Network Configuration (Configurazione rete).

- 2 Selezionare **Regenerate Certificate and Reboot** (Rigenera certificato e riavvia) per procedere oppure selezionare **Cancel** (Annulla) per uscire.

## Configurazione delle notifiche e-mail del sistema

VeriSeq NIPT Assay Software v2 comunica con gli utenti inviando notifiche e-mail che indicano lo stato del saggio e gli avvisi per gli errori o le azioni richieste all'utente. *Notifiche di Assay Software a pagina 64* descrive le diverse notifiche e-mail inviate dal sistema.



### NOTA

Assicurarsi che le impostazioni delle e-mail indesiderate (spam) consentano le notifiche e-mail provenienti dal server. Le notifiche e-mail sono inviate da un account denominato **VeriSeq@<domain e-mail del cliente>**, dove **<domain e-mail del cliente>** viene specificato dal team IT locale al momento dell'installazione del server.

## Creazione di un elenco di sottoscrittori all'e-mail

Le notifiche e-mail vengono inviate a un elenco di determinati sottoscrittori che possono essere definiti nelle fasi seguenti.

Per specificare un elenco di sottoscrittori:

- 1 Da Dashboard (Pannello strumenti), selezionare l'icona  Settings (Impostazioni).
- 2 Selezionare **Email Configuration** (Configurazione e-mail).
- 3 Nel campo **Subscribers** (Sottoscrittori), inserire gli indirizzi e-mail separati da virgole. Verificare che gli indirizzi e-mail siano inseriti correttamente. Il software non convalida il formato degli indirizzi e-mail.
- 4 Selezionare **Send test message** (Invia messaggio di prova) per generare un'e-mail di prova per l'elenco dei sottoscrittori. Controllare i messaggi nella propria posta in arrivo per verificare che l'e-mail sia stata inviata.
- 5 Selezionare **Save** (Salva).

## Logout

- Selezionare l'icona del profilo utente nell'angolo superiore destro della schermata, quindi selezionare **Log Out** (Logout).

## Analisi e creazione di report

Dopo la raccolta dei dati del sequenziamento, questi vengono sottoposti a demultiplex, convertiti in un formato FASTQ, allineati su un genoma di riferimento e analizzati per rilevare le aneuploidie. Le diverse metriche, descritte sopra, sono determinate per qualificare la risposta finale per un dato campione.

## Demultiplex e generazione di file in formato FASTQ

I dati di sequenziamento archiviati in formato BCL vengono elaborati mediante il software di conversione `bcl2fastq`, che sottopone a demultiplex i dati e converte i file BCL nei formati file standard FASTQ per l'analisi a valle. Per ogni corsa di sequenziamento, Assay Software crea un foglio campioni (`SampleSheet.csv`). Questo file contiene le informazioni sul campione inserite nel software durante la procedura di preparazione dei campioni (utilizzando il software API). Questi fogli campioni contengono un'intestazione con le informazioni relative alla corsa e le descrizioni per i campioni elaborati in una determinata cella a flusso.

La tabella seguente fornisce i dettagli relativi ai dati contenuti nel foglio campioni.



### ATTENZIONE

NON modificare o cambiare questo file contenente il foglio campioni. È un file generato dal sistema e qualsiasi modifica può incidere negativamente a valle, inclusi risultati errati o analisi fallite.

| Nome colonna                        | Descrizione  |
|-------------------------------------|--|
| SampleID (ID campione)              | Identificazione del campione.  |
| SampleName (Nome campione)          | Nome del campione. Predefinito: lo stesso di SampleID (ID campione).   |
| Sample_Plate (Piastra_campioni)     | Identificazione della piastra per un dato campione. Predefinito: vuoto.  |
| Sample_Well (Pozzetto_campione)     | Identificazione del pozzetto sulla piastra per un dato campione.   |
| I7_Index_ID (ID_indice_i7)          | Identificazione del primo adattatore indice.   |
| index (indice)                      | Sequenza nucleotidica del primo adattatore.  |
| I5_Index_ID (ID_indice_15)          | Identificazione del secondo indice.  |
| index2 (indice 2)                   | Sequenza nucleotidica del secondo adattatore.  |
| Sample_Project (Progetto_campione)  | Identificazione del progetto per un dato campione. Predefinito: vuoto.   |
| SexChromosomes (Cromosomi sessuali) | Analisi relativa ai cromosomi sessuali. Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Yes</b> (S): richiede l'identificazione dell'aneuploidia del cromosoma sessuale e il sesso.</li> <li>• <b>No</b> (No): non richiede né l'identificazione dell'aneuploidia del cromosoma sessuale né il sesso.</li> <li>• <b>SCA</b> (Aneuploidia del cromosoma sessuale): richiede l'identificazione dell'aneuploidia del cromosoma sessuale, non richiede l'identificazione del sesso.</li> </ul> |
| SampleType (Tipo campione)          | Tipo di campione. Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Singleton</b> (Singola): gravidanza di singolo embrione.</li> <li>• <b>Twin</b> (Gemellare): gravidanza di più embrioni.</li> <li>• <b>Control</b> (Controllo): campione di controllo di sesso noto e classificazione dell'aneuploidia.</li> <li>• <b>NTC</b> (Controllo non templato): campione di controllo non templato (non DNA).</li> </ul>   |

## Controllo qualità del sequenziamento

Le metriche di controllo qualità del sequenziamento identificano le celle a flusso che probabilmente non supereranno l'analisi. Le metriche relative alla densità dei cluster, alla percentuale di letture che attraversano il filtro (PF), alla predeterminazione delle fasi (prephasing) e alla determinazione delle fasi (phasing) descrivono la qualità generale dei dati del sequenziamento e sono comuni a molte applicazioni di sequenziamento di nuova generazione. La metrica delle letture allineate previste stima il livello di profondità di sequenziamento della cella a flusso. Se i dati di bassa qualità non soddisfano la metrica delle letture allineate, l'elaborazione della corsa viene terminata. Per maggiori informazioni, vedere *Metriche e limiti superiore e inferiore del controllo qualità del sequenziamento* a pagina 35.

## Stime della frazione fetale

Con il termine frazione fetale si indica la percentuale di cellule libere, il DNA libero fetale circolante in un campione di sangue materno derivato dalla placenta. Assay Software utilizza informazioni sia dalla distribuzione della dimensione dei frammenti di cfDNA che dalle differenze nella copertura genomica tra il cfDNA materno e fetale per calcolare una stima della frazione fetale.<sup>1</sup>

## Statistiche utilizzate nel punteggio finale

Per tutti i cromosomi, i dati ottenuti dal sequenziamento paired-end vengono allineati con il genoma di riferimento (HG19). Le letture univoche allineate e non duplicate sono aggregate in intervalli di 100 kb. I conteggi degli intervalli corrispondenti sono regolati per distorsioni GC e in base alla precedente copertura genomica stabilita per regioni specifiche. Utilizzando tali conteggi di raggruppamenti normalizzati, i punteggi statistici sono derivati per ciascun autosoma dal confronto tra le regioni di copertura che possono essere influenzate dalla presenza di un'aneuploidia con il resto degli autosomi. La distribuzione dei rapporti di log-verosimiglianza (LLR) viene calcolata per ciascun campione, tenendo conto dei punteggi basati sulla copertura e della frazione fetale stimata. La distribuzione LLR rappresenta la probabilità che un campione sia affetto in base alla copertura osservata e la frazione fetale rispetto alla probabilità di un campione di non essere affetto in base alla stessa copertura. Il calcolo di questa distribuzione tiene conto anche della stima di incertezza nella frazione fetale. Per i calcoli successivi, viene utilizzato il logaritmo naturale di LLR. Assay Software valuta il valore LLR per ciascun cromosoma target e ciascun campione per fornire una determinazione dell'aneuploidia.

Le statistiche per i cromosomi X e Y sono diverse dalle statistiche utilizzate per gli autosomi. Per i feti identificati come femmina, le identificazioni delle SCA richiedono una concordanza di classificazione in base ai valori cromosomici normalizzati e LLR.<sup>2</sup> I punteggi LLR specifici sono calcolati per [45,X] (sindrome di Turner) e per [47,XXX]. Per i feti identificati come maschio, le identificazioni delle SCA sia per [47,XXY] (sindrome di Klinefelter) che per [47,XYY] possono essere basate sulla relazione tra i valori cromosomici normalizzati per i cromosomi X e Y (NCV\_X e NCV\_Y). I campioni relativi ai feti maschili per i quali NCV\_X rientra nell'intervallo osservato nei campioni euploidi femminili possono essere identificati come [47,XXY]. I campioni relativi ai campioni maschili per i quali NCV\_X rientra nell'intervallo osservato nei campioni euploidi maschili ma per i quali il cromosoma Y è sovrarappresentato possono essere identificati come [47,XYY].

Per alcuni valori di NCV\_Y e NCV\_X il sistema non è in grado di determinare le SCA. I campioni forniscono un risultato Not Reportable (Non riportabile) per la classificazione XY. Se vengono superate tutte le altre metriche di controllo qualità, a questi campioni vengono sempre forniti i risultati autosomici.

## Controllo qualità dell'analisi

Le metriche di controllo qualità analitica sono metriche calcolate durante l'analisi e vengono utilizzate per rilevare i campioni che deviano eccessivamente dal comportamento previsto. I dati per i campioni che non superano queste metriche sono da considerarsi non affidabili e sono indicati come non riusciti. Quando i campioni forniscono risultati che non rientrano nell'intervallo di queste metriche, NIPT Report (Report NIPT) fornisce un motivo di controllo qualità sotto forma di un'avvertenza o una causa di fallimento. Fare riferimento a [Messaggi del motivo di controllo qualità a pagina 48](#) per maggiori informazioni sui motivi di controllo qualità.

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

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

## Controllo qualità dei campioni NTC (Controllo non templatato)

VeriSeq NIPT Solution consente di aggiungere campioni NTC (Controllo non templatato) come parte della corsa. ML STAR può generare fino a due NTC per corsa per batch da 24 campioni e 48 campioni e fino a quattro NTC per batch da 96 campioni. Indipendentemente da quanti campioni NTC (Controllo non templatato) vengano aggiunti, il software controlla una media minima di 4.000.000 di frammenti mappati univocamente per campione per raggruppamento in pool. Per questo motivo, non aggiungere più di due campioni NTC per raggruppamento in pool. Per maggiori informazioni, vedere *Metriche e limiti superiore e inferiore del controllo qualità del sequenziamento* a pagina 35.

Gli stati di controllo qualità per i campioni NTC (Controllo non templatato) sono:

- ▶ **NTC sample processing** (Elaborazione campione NTC): quando viene elaborato un campione NTC (Controllo non templatato), il software assegna un risultato PASS QC (Controllo qualità superato) quando la copertura per il campione è bassa, come previsto per un campione NTC (Controllo non templatato).
- ▶ **Patient sample as NTC** (Campione paziente come NTC): quando un campione della paziente, indicato come NTC (Controllo non templatato), viene elaborato, viene rilevata una copertura elevata. Poiché il campione è indicato come NTC (Controllo non templatato), il software indica lo stato del controllo qualità del campione come FAIL (Non superato) con il motivo seguente: NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (Campione NTC con copertura elevata).

## VeriSeq Onsite Server v2

VeriSeq Onsite Server v2 viene eseguito su un sistema operativo su base Linux e fornisce circa 7,5 TB di capacità di archiviazione dei dati. Se si presume una dimensione di dati di 25 GB per corsa di sequenziamento, il server è in grado di archiviare fino a 300 corse. Quando non è disponibile la capacità di archiviazione minima, viene inviata una notifica automatica. Il server viene installato sulla rete locale.

### Disco locale

Assay Software rende disponibili determinate cartelle su Onsite Server per l'utente. Queste cartelle possono essere mappate mediante il protocollo di condivisione Samba su qualsiasi workstation o computer portatile sulla rete locale.

| Nome cartella | Descrizione  | Accesso              |
|---------------|--|----------------------|
| Input         | Contiene i dati di sequenziamento generati dal sistema di sequenziamento di nuova generazione mappato al server. | Lettura e scrittura. |
| Output        | Contiene tutti i report generati dal software.   | Solo lettura.        |
| Backup        | Contiene tutti i backup del database.  | Solo lettura.        |



#### NOTA

La mappatura del disco locale si basa sul protocollo Server Message Block (SMB). Il software al momento supporta le versioni SMB1 e SMB2. Il server richiede una firma SMB. Abilita queste versioni sull'apparecchiatura (portatile/workstation) che si sta mappando.

### Database locale

Assay Software gestisce un database locale in cui le informazioni sulla libreria, le informazioni sulla corsa di sequenziamento e i risultati dell'analisi vengono salvati in modo permanente. Il database è una parte integrante di Assay Software e non è accessibile all'utente. Il sistema gestisce un meccanismo automatico

per il backup del database su Onsite Server. Oltre alle seguenti procedure relative al database, gli utenti sono invitati ad eseguire il backup del database regolarmente in un percorso esterno.

- ▶ **Database backup** (Backup del database): un'istantanea del database viene automaticamente salvata su base oraria, giornaliera, settimanale o mensile. I backup orari vengono rimossi dopo la creazione di un backup giornaliero. Nello stesso modo, i backup giornalieri vengono rimossi quando è pronto un backup settimanale. I backup settimanali sono rimossi dopo la creazione di un backup mensile e viene archiviato solo un backup mensile. La pratica raccomandata è creare uno script automatico che possa essere salvato in modo permanente nella cartella di backup su un sistema NAS locale.
- ▶ **Database restore** (Ripristino del database): il database può essere ripristinato da una determinata istantanea di backup. I ripristini vengono eseguiti solo dal personale dell'Assistenza Illumina.
- ▶ **Data backup** (Backup dei dati): sebbene Onsite Server possa essere utilizzato come punto di archiviazione principale per le corse di sequenziamento, può solo archiviare circa 300 corse. Illumina raccomanda l'impostazione di un backup automatico dei dati che venga eseguito su base continua su un altro dispositivo di archiviazione a lungo termine o un sistema NAS.
- ▶ **Maintenance** (Manutenzione): oltre al backup dei dati, Onsite Server non richiede alcuna manutenzione da parte dell'utente. Gli aggiornamenti per Assay Software o Onsite Server stesso sono forniti dall'Assistenza Tecnica Illumina.

## Archiviazione dei dati

Consultare la politica locale di archiviazione informatica della sede per determinare come archiviare le directory di input e di output. Assay Software monitora lo spazio su disco rimanente nella directory di input e invia un'e-mail di notifica agli utenti quando la capacità di archiviazione rimanente scende al di sotto di 1 TB.

Non utilizzare Onsite Server per archiviare i dati. Trasferire i dati a Onsite Server e archivarli regolarmente.

Una tipica corsa di sequenziamento compatibile con il flusso di lavoro di analisi di cfDNA richiede 25-30 GB per le corse sul sequenziatore di nuova generazione. La dimensione effettiva della cartella della corsa dipende dalla densità dei cluster finale.

Archiviare i dati solo quando il sistema è inattivo e quando non viene eseguita alcuna analisi o corsa di sequenziamento.

## Mappatura delle unità del server

Onsite Server dispone di tre cartelle che possono essere mappate singolarmente a qualsiasi computer che esegue Microsoft Windows:

- ▶ **input**: esegue la mappatura alle cartelle dei dati del sequenziamento. Installata sul computer collegato al sistema di sequenziamento. Configura il sistema di sequenziamento per ottimizzare i dati nella cartella di input.
- ▶ **output**: esegue la mappatura al report di Analysis Server e ai report di elaborazione del saggio.
- ▶ **backup**: esegue la mappatura ai file di backup del database.

Per mappare ciascuna cartella:

- 1 Accedere al computer nella sottorete di Onsite Server.
- 2 Fare doppio clic su **Computer** (Computer) e selezionare **Map network drive** (Mappa unità di rete).
- 3 Selezionare una lettera dall'elenco a discesa Drive (Unità).
- 4 Nel campo Folder (Cartella), inserire \\<VeriSeq Onsite Server v2 IP address>\<nome cartella>. Ad esempio: \\10.50.132.92\input.

- Inserire il nome utente e la password.  
Le cartelle mappate correttamente vengono visualizzate come installate sul computer.



#### NOTA

La mappatura del disco locale si basa sul protocollo Server Message Block (SMB). Il software al momento supporta le versioni SMB1 e SMB2. Il server richiede una firma SMB. Abilita queste versioni sull'apparecchiatura (portatile/workstation) che si sta mappando.

## Riavvio del server



#### NOTA

Solo il personale dell'assistenza e gli amministratori dispongono dell'autorizzazione per riavviare il server.

Per riavviare il server:

- Nell'elenco a discesa **Settings** (Impostazioni), selezionare **Reboot Server** (Riavvia il server).
- Selezionare **Reboot** (Riavvia) per riavviare il sistema oppure **Cancel** (Annulla) per uscire senza eseguire il riavvio.
- Inserire un motivo per cui il server verrà spento.  
Il motivo viene registrato per la risoluzione dei problemi.



#### NOTA

Il riavvio del sistema può richiedere alcuni minuti.

## Spegnimento del server



#### NOTA

Solo il personale dell'assistenza e gli amministratori dispongono dell'autorizzazione per spegnere il server.

Per arrestare Onsite Server:

- Nell'elenco a discesa **Settings** (Impostazioni), selezionare **Shut Down Server** (Spegnimento server).
- Selezionare **Shut Down** (Spegni) per arrestare Onsite Server oppure selezionare **Cancel** (Annulla) per uscire senza arrestare il server.
- Inserire un motivo per cui Onsite Server verrà arrestato.  
Il motivo viene registrato per la risoluzione dei problemi.

## Recupero da uno spegnimento inaspettato

Se durante una corsa di analisi si verifica un'interruzione dell'alimentazione o uno spegnimento involontario da parte dell'utente, il sistema:

- ▶ Riavvia automaticamente Assay Software al riavvio.
- ▶ Riconosce la corsa di analisi come non eseguita e rimette la corsa in coda per l'elaborazione.
- ▶ Genera output quando l'analisi viene completata correttamente.



#### NOTA

Se l'analisi non riesce, Assay Software permette al sistema di rimettere in coda la corsa per l'analisi fino a tre volte.

# Appendice A Metriche di controllo qualità (QC)

|  |    |
|--|----|
| Metriche e limiti del controllo qualità della quantizzazione .....                     | 35 |
| Metriche e limiti superiore e inferiore del controllo qualità del sequenziamento ..... | 35 |

## Metriche e limiti del controllo qualità della quantizzazione

| Metrica   | Descrizione  | Limite inferiore | Limite superiore | Ragione  |
|---|--|------------------|------------------|--|
| standard_r_squared (r_al quadrato_standard)       | Il valore R al quadrato del modello della curva degli standard.                    | 0,980            | N/A              | I modelli della curva degli standard che mostrano la linearità nello spazio log-log non predicono le vere concentrazioni dei campioni.   |
| standard_slope (pendenza_standard)                | Pendenza del modello della curva degli standard.                                   | 0,95             | 1,15             | I modelli della curva degli standard la cui pendenza fuoriesce dalle bande delle prestazioni previste indicano un modello non affidabile.  |
| ccn_library_pg_ul (concentrazione_libreria_pg_ul) | La concentrazione massima consentita del campione.                                 | N/A              | 1.000 pg/μl      | I campioni con concentrazioni calcolate di DNA che superano le specifiche indicano un'eccessiva contaminazione del DNA genomico.   |
| median_ccn_pg_ul (concentrazione_media_pg_ul)     | Il valore mediano della concentrazione calcolata per tutti i campioni in un batch. | 16 pg/μl         | N/A              | Un raggruppamento in pool di sequenziamento di volume appropriato non può presentare un numero eccessivo di campioni eccessivamente diluiti. I batch con un elevato numero di campioni diluiti indicano che si è verificato un errore durante la procedura di preparazione dei campioni. |

## Metriche e limiti superiore e inferiore del controllo qualità del sequenziamento

| Metrica                                     | Descrizione  | Limite inferiore            | Limite superiore            | Ragione   |
|---|--|-----------------------------|-----------------------------|---|
| cluster_density (densità_cluster)           | Densità dei cluster del sequenziamento.                        | 152.000 per mm <sup>2</sup> | 338.000 per mm <sup>2</sup> | La cella a flusso con la densità dei cluster inferiore non genera letture sufficienti. Le celle a flusso con troppi cluster di solito producono dati di sequenziamento di scarsa qualità. |
| pct_pf (percentuale_attraversano il filtro) | La percentuale di letture che attraversano il filtro chastity. | ≥50%                        | N/A                         | Le celle a flusso con %PF estremamente bassa può fornire una rappresentazione delle basi anomala e probabilmente indicano problemi con le letture PF.                                     |

| Metrica  | Descrizione   | Limite inferiore | Limite superiore | Ragione   |
|--|---|------------------|------------------|---|
| prephasing<br>(predeterminazione delle fasi)         | Frazione della predeterminazione delle fasi.                            | N/A              | ≤0,003           | Raccomandazioni empiricamente ottimizzate per VeriSeq NIPT Solution v2. |
| phasing<br>(determinazione delle fasi)               | Frazione della determinazione delle fasi.                               | N/A              | ≤0,004           | Raccomandazioni empiricamente ottimizzate per VeriSeq NIPT Solution v2. |
| predicted_aligned_reads (letture_allineate_previste) | Il numero medio stimato di frammenti mappati univocamente per campione. | ≥4.000.000       | N/A              | Determinato come siti non esclusi (NES) sulla popolazione normale.      |

# Appendice B Report di sistema

|  |    |
|--|----|
| Introduzione .....                           | 37 |
| Riepilogo dei report di sistema .....        | 38 |
| Eventi di generazione di report .....        | 39 |
| Report dei risultati e delle notifiche ..... | 42 |
| Report di elaborazione .....                 | 55 |

## Introduzione

Assay Software genera due categorie di report:

- ▶ Report dei risultati e delle notifiche.
- ▶ Report di elaborazione.

Sono disponibili altri due tipi di report:

- ▶ **Informational** (Informativo): report relativo alla procedura che fornisce informazioni sullo stato del saggio e può essere utilizzato per confermare il completamento di una determinata fase. Il report fornisce inoltre informazioni come i risultati del controllo qualità e i numeri di ID.
- ▶ **Actionable** (Perseguibile): report asincrono avviato da un evento di sistema o da un'azione dell'utente che richiede l'attenzione dell'utente.

Questa sezione descrive ciascun report e fornisce i dettagli del report per l'integrazione LIMS.

## File di output

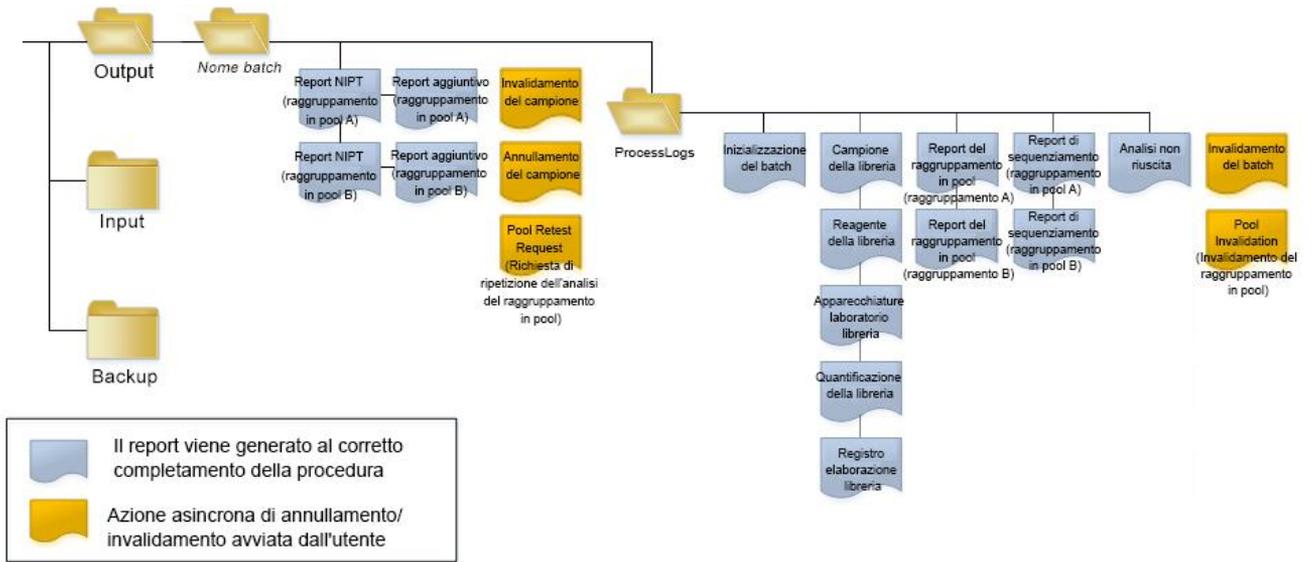
I report di Assay Software vengono generati sul disco rigido di Onsite Server interno mappato al disco dell'utente come una cartella di output di solo lettura. Ciascun report viene generato con un file checksum MD5 corrispondente, che permette di verificare che non siano state apportate modifiche al file.

Tutti i report sono in formato testo formattato come delimitato da tabulazioni. I report possono essere aperti con qualsiasi editor di testo o con un programma di dati tabulari, come Microsoft Excel.

## Struttura del file dei report

Assay Software salva i report in una determinata struttura nella cartella di output.

Figura 5 Struttura della cartella dei report di Assay Software



Assay Software salva i report nella cartella *Batch Name* (Nome batch) con la seguente organizzazione:

- ▶ **Cartella principale (cartella Batch Name - Nome cartella):** contiene i report che forniscono i risultati o sono associati con le notifiche e-mail generate dal sistema LIMS. Per i dettagli, vedere *Report dei risultati e delle notifiche a pagina 42*.
- ▶ **Cartella ProcessLogs (Registri procedura):** contiene i report relativi alla procedura. Per i dettagli, vedere *Report di elaborazione a pagina 55*

Un elenco di tutti i report è fornito in *Riepilogo dei report di sistema a pagina 38*.

## Riepilogo dei report di sistema

| Nome del report  | Tipo di report | Entità del report                     | Formato del nome del file del report   |
|--|----------------|---------------------------------------|--|
| <i>NIPT Report</i> (Report NIPT)   | Perseguibile   | Raggruppamento in pool/cella a flusso | <nome_batch>_<tipo_pool>_<codice barre_pool>_<cella a flusso>_nipt_report_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab          |
| <i>Supplementary Report</i> (Report supplementare)   | Informativo    | Raggruppamento in pool/cella a flusso | <nome_batch>_<tipo_pool>_<codice barre_pool>_<cella a flusso>_supplementary_report_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab |
| <i>Sample Invalidation Report</i> (Report di invalidamento del campione)                         | Perseguibile   | Sample (Campione)                     | <nome_batch>_<codice barre_pool>_sample_invalidation_report_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab                        |
| <i>Sample Cancellation Report</i> (Report di annullamento del campione)                          | Perseguibile   | Sample (Campione)                     | <nome_batch>_<codice barre_pool>_sample_cancellation_report_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab                        |
| <i>Pool Retest Request Report</i> (Report richiesta ripetizione test del raggruppamento in pool) | Perseguibile   | Pool (Raggruppamento in pool)         | <nome_batch>_<tipo_pool>_pool_retest_request_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab                                       |
| <i>Batch Initiation Report</i> (Report di inizializzazione del batch)                            | Informativo    | Batch                                 | ProcessLogs/<nome_batch>_batch_initiation_report_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab                                   |

| Nome del report  | Tipo di report | Entità del report                     | Formato del nome del file del report  |
|--|----------------|---------------------------------------|---|
| <i>Batch Invalidation Report</i> (Report di invalidamento del batch)                       | Informativo    | Batch                                 | ProcessLogs/<nome_batch>_batch_invalidation_report_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab  |
| <i>Library Sample Report</i> (Report dei campioni della libreria)                          | Informativo    | Batch                                 | ProcessLogs/<nome_batch>_library_sample_report_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab  |
| <i>Library Reagent Report</i> (Report dei reagenti della libreria)                         | Informativo    | Batch                                 | ProcessLogs/<nome_batch>_library_reagent_report_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab   |
| <i>Library Labware Report</i> (Report sulle apparecchiature di laboratorio della libreria) | Informativo    | Batch                                 | ProcessLogs/<nome_batch>_library_labware_report_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab   |
| <i>Library Quant Report</i> (Report di quantificazione della libreria)                     | Informativo    | Batch                                 | ProcessLogs/<nome_batch>_library_quant_report_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab   |
| <i>Library Process Log</i> (Registro elaborazione libreria)                                | Informativo    | Batch                                 | ProcessLogs/<nome_batch>_library_process_log.tab  |
| <i>Pool Report</i> (Report sul raggruppamento in pool)                                     | Informativo    | Pool (Raggruppamento in pool)         | ProcessLogs/<nome_batch>_<codice barre_pool>_pool_report_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab                                    |
| <i>Pool Invalidation Report</i> (Report di invalidamento del raggruppamento in pool)       | Informativo    | Pool (Raggruppamento in pool)         | ProcessLogs/<nome_batch>_<codice barre_pool>_pool_invalidation_report_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab                       |
| <i>Sequencing Report</i> (Report di sequenziamento)  | Informativo    | Raggruppamento in pool/cella a flusso | ProcessLogs/<nome_batch>_<tipo_pool>_<codice barre_pool>_<cella a flusso>_sequencing_report_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab |
| <i>Analysis Failure Report</i> (Report di analisi non riuscita)                            | Informativo    | Raggruppamento in pool/cella a flusso | ProcessLogs/<nome_batch>_<codice barre_pool>_analysis_failure_report_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab                        |

## Eventi di generazione di report

| Report   | Descrizione  | Evento di generazione   |
|--|--|---|
| NIPT Report (Report NIPT)                        | Contiene i risultati finali di una corsa di analisi corretta.        | <ul style="list-style-type: none"> <li>L'analisi della corsa di sequenziamento è stata completata.</li> </ul>                           |
| Supplementary Report (Report supplementare)      | Contiene i risultati supplementari di una corsa di analisi corretta. | <ul style="list-style-type: none"> <li>Sia l'analisi della corsa di sequenziamento che il report NIPT sono stati completati.</li> </ul> |
| Sample Invalidation (Invalidamento del campione) | Contiene le informazioni su un campione invalidato.                  | <ul style="list-style-type: none"> <li>L'utente ha invalidato un campione.</li> </ul>   |
| Sample Cancellation (Annullamento del campione)  | Contiene le informazioni su un campione annullato.                   | <ul style="list-style-type: none"> <li>L'utente ha annullato un campione.</li> </ul>  |

| Report  | Descrizione  | Evento di generazione  |
|---|--|--|
| Pool Retest Request<br>(Richiesta di ripetizione dell'analisi del raggruppamento in pool) | Indica che può essere generato un secondo raggruppamento in pool da un batch esistente. Contiene informazioni sullo stato del raggruppamento in pool reimpostato. <sup>1</sup> | <ul style="list-style-type: none"> <li>L'utente ha invalidato un raggruppamento in pool.</li> </ul>  |
| Batch Initiation<br>(Inizializzazione del batch)  | Indica che è stata avviata l'elaborazione di un nuovo batch.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>L'utente ha avviato un nuovo batch.</li> </ul>  |
| Batch Invalidation<br>(Invalidamento del batch)   | Contiene informazioni su un batch invalidato dall'utente.  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Il batch è stato invalidato.</li> </ul>   |
| Library Sample (Campione della libreria)  | Elenca tutti i campioni nel batch.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Il batch è stato invalidato.</li> <li>Il metodo di preparazione delle librerie è stato completato.</li> <li>La quantificazione del batch non è riuscita.</li> </ul>   |
| Library Reagent (Reagente della libreria)   | Contiene le informazioni sui reagenti per l'elaborazione della libreria.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Il batch è stato invalidato.</li> <li>Il metodo di preparazione delle librerie è stato completato.</li> <li>La quantificazione del batch non è riuscita.</li> </ul>   |
| Library Labware<br>(Apparecchiature laboratorio libreria)                                 | Contiene le informazioni sulle apparecchiature del laboratorio della libreria.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Il batch è stato invalidato.</li> <li>Il metodo di preparazione delle librerie è stato completato.</li> <li>La quantificazione del batch non è riuscita.</li> </ul>   |
| Library Quant<br>(Quantificazione della libreria)   | Contiene i risultati del test della quantificazione della libreria.  | <ul style="list-style-type: none"> <li>Il batch è stato invalidato.</li> <li>Il metodo di preparazione delle librerie è stato completato.</li> <li>La quantificazione del batch non è riuscita.</li> </ul>   |
| Library Process Log<br>(Registro elaborazione libreria)                                   | Contiene le fasi eseguite durante l'elaborazione della libreria.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Il batch è stato invalidato.</li> <li>Il metodo di preparazione delle librerie è stato completato.</li> <li>La quantificazione del batch non è riuscita.</li> <li>L'elaborazione del batch è stata completata.</li> </ul> |
| Pool (Raggruppamento in pool)   | Contiene i volumi del raggruppamento in pool dei campioni.   | <ul style="list-style-type: none"> <li>Il metodo di raggruppamento in pool è stato completato.</li> </ul>  |
| Pool Invalidation<br>(Invalidamento del raggruppamento in pool)                           | Contiene le informazioni su un raggruppamento in pool avviato dall'utente e invalidato.  | <ul style="list-style-type: none"> <li>L'utente ha invalidato un raggruppamento in pool.</li> </ul>  |

| Report                                  | Descrizione   | Evento di generazione   |
|---|---|---|
| Sequencing (Sequenziamento)             | Contiene i risultati del controllo qualità del sequenziamento.                    | <ul style="list-style-type: none"><li>• Il controllo qualità del sequenziamento è stato superato.</li><li>• Il sequenziamento non è riuscito.</li><li>• Timeout del sequenziamento.</li></ul> |
| Analysis Failure (Analisi non riuscita) | Contiene le informazioni sull'analisi per un raggruppamento in pool non riuscito. | <ul style="list-style-type: none"><li>• L'analisi della corsa di sequenziamento non è riuscita.</li></ul>   |

<sup>1</sup> L'utente invalida un raggruppamento in pool da un batch valido che non ha superato il numero massimo di raggruppamenti.

## Report dei risultati e delle notifiche

### NIPT Report (Report NIPT)

NIPT Report (Report NIPT) per VeriSeq NIPT Assay Software v2 contiene i risultati della classificazione dei cromosomi formattato come un campione per riga per ciascun campione nel raggruppamento in pool.

| Colonna   | Descrizione   | Opzioni di valore preimpostato   | Tipo  | Espressione regolare (regex)                                       |
|---|---|--|-------|--|
| batch_name<br>(nome_batch)                          | Il nome del batch.  | Non applicabile.   | testo | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$   |
| sample_<br>barcode (codice<br>a barre_<br>campione) | Il codice a barre univoco del campione.   | Non applicabile.   | testo | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$   |
| sample_type<br>(tipo_campione)                      | Le informazioni sul tipo di campione fornite dal punto di raccolta o dall'utente del laboratorio. Determina la presentazione della classificazione delle aneuploidie. | Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Singleton</b> (Singola): gravidanza di singolo embrione.</li> <li>• <b>Twin</b> (Gemellare): gravidanza di più embrioni.</li> <li>• <b>Control</b> (Controllo): campione di controllo di sesso noto e classificazione dell'aneuploidia.</li> <li>• <b>NTC</b> (Controllo non templatato): campione di controllo non templatato (non DNA).</li> <li>• <b>Not specified</b> (Non specificato): per questo campione non è stato fornito un tipo di campione.</li> </ul>   | enum  | <i>I valori specificati nelle opzioni dei valori preimpostati.</i> |
| sex_chrom<br>(cromosoma_<br>sessuale)               | È richiesta l'analisi dei cromosomi sessuali. Determina la presentazione della classificazione dell'aneuploidia e delle informazioni sul cromosoma sessuale.          | Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Yes</b> (Sì): richiesta l'identificazione dell'aneuploidia del cromosoma sessuale e il sesso.</li> <li>• <b>No</b> (No): non richiesta né l'identificazione dell'aneuploidia del cromosoma sessuale né il sesso.</li> <li>• <b>SCA</b> (Aneuploidia del cromosoma sessuale): richiesta l'identificazione dell'aneuploidia del cromosoma sessuale, non richiesta l'identificazione del sesso.</li> <li>• <b>Not specified</b> (Non specificato): per questo campione non è stata fornita l'opzione per un report del cromosoma sessuale.</li> </ul> | enum  | <i>I valori specificati nelle opzioni dei valori preimpostati.</i> |

| Colonna                         | Descrizione   | Opzioni di valore preimpostato  | Tipo  | Espressione regolare (regex)                                       |
|---------------------------------|---|---|-------|--|
| screen_type<br>(tipo_screening) | Il tipo di screening.                                     | Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Basic</b> (Di base): screening dei cromosomi 13, 18 o 21.</li> <li>• <b>Genomewide</b> (Genoma intero): screening dell'intero genoma.</li> <li>• <b>Not specified</b> (Non specificato): per questo campione non è stato fornito un tipo di screening.</li> </ul> | testo | <i>I valori specificati nelle opzioni dei valori preimpostati.</i> |
| flowcell (cella a flusso)       | Il codice a barre della cella a flusso di sequenziamento. | Non applicabile.  | testo | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$   |

| Colonna                                 | Descrizione  | Opzioni di valore preimpostato   | Tipo                                    | Espressione regolare (regex)                                       |
|---|--|--|---|--|
| class_sx<br>(classificazione_ sessuale) | Classificazione dell'aneuploidia del cromosoma sessuale. | <p>Uno dei seguenti in base alle opzioni per tipo di campione e report del cromosoma sessuale selezionati:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ANOMALY DETECTED – XO</b> (Anomalia rilevata, XO): monosomia X.</li> <li>• <b>ANOMALY DETECTED – XXX</b> (Anomalia rilevata, XXX): trisomia X.</li> <li>• <b>ANOMALY DETECTED – XXY</b> (Anomalia rilevata - XXY): due cromosomi X in un feto maschile.</li> <li>• <b>ANOMALY DETECTED – XYY</b> (Anomalia rilevata, XYY): due cromosomi Y.</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED</b> (Nessuna anomalia rilevata): non sono stati riportati campioni negativi o sessuali.</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED – XX</b> (Nessuna anomalia rilevata - XX): campione negativo con un feto femmina.</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED – XY</b> (Nessuna anomalia rilevata - XY): campione negativo con un feto maschio.</li> <li>• <b>NOT REPORTABLE</b> (Cromosomi sessuali non riportabili): il software non è stato in grado di riportare cromosomi sessuali.</li> <li>• <b>NO CHR Y PRESENT</b> (Non è presente un cromosoma Y): nella gravidanza gemellare non è stato rilevato alcun cromosoma Y.</li> <li>• <b>CHR Y PRESENT</b> (È presente un cromosoma Y): nella gravidanza gemellare è stato rilevato un cromosoma Y.</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (Annullato): il campione è stato annullato dall'utente.</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Invalidato): il campione non ha superato il controllo qualità o è stato invalidato dall'utente.</li> <li>• <b>NOT TESTED</b> (Non testato): il cromosoma sessuale non è stato testato.</li> <li>• <b>NA</b> (Non applicabile): la categoria non è applicabile al campione.</li> </ul> | class_sx<br>(classificazione_ sessuale) | <i>I valori specificati nelle opzioni dei valori preimpostati.</i> |

| Colonna   | Descrizione  | Opzioni di valore preimpostato   | Tipo  | Espressione regolare (regex)  |
|---|--|--|-------|---|
| class_auto<br>(classificazione_ autosomi)       | Classificazione per le aneuploidie negli autosomi. Riportato come ANOMALY DETECTED (Anomalia rilevata) se per il campione è stata rilevata un'anomalia nel tipo di screening selezionato.                                    | Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ANOMALY DETECTED</b> (Anomalia rilevata): rilevata un'anomalia nel cromosoma autosomico.</li> <li>• <b>NO ANOMALY DETECTED</b> (Nessuna anomalia rilevata): non è stata rilevata alcuna anomalia autosomica.</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (Annullato): il campione è stato annullato dall'utente.</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Invalidato): il campione non ha superato il controllo qualità o è stato invalidato dall'utente.</li> <li>• <b>NA</b> (Non applicabile): la categoria non è applicabile al campione.</li> </ul> | testo | <i>I valori specificati nelle opzioni dei valori preimpostati.</i>  |
| anomaly_ description<br>(descrizione_ anomalia) | Stringa in stile ISCN che descrive tutte le anomalie riportabili. Più anomalie sono separate da punti e virgole.   | <b>DETECTED:</b> (Rilevato:) seguito da stringhe separate da punti e virgole concatenate nel formato seguente, in ordine cromosomico:<br>$(\+ -)[12]?[0-9]$<br>$(del dup)\{([12]?[0-9])\}\{((p q)[0-9]\{1,2\}\{0-9\}\{1,2\})?\{2\}\}$<br>$XO XXX XXY XYY$<br>oppure <b>NO ANOMALY DETECTED   NA   INVALIDATED   CANCELLED</b> (Nessuna anomalia rilevata   Non applicabile   Invalidato   Cancellato).   | testo | <i>Le stringhe separate da punti e virgole e altri valori descritti nella sezione <b>Regole per la descrizione di anomalie</b> (Regole per la descrizione di anomalie).</i> |
| qc_flag<br>(indicatore_ controllo qualità)      | I risultati dell'analisi di controllo qualità.<br>Solo i valori qc_flag qc_flag (indicatore_controllo qualità) WARNING (Avvertenza) e PASS (Superato) forniscono risultati. Tutti gli altri valori non forniscono risultati. | Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>PASS</b> (Superato)</li> <li>• <b>WARNING</b>(Avvertenza)</li> <li>• <b>FAIL</b> (Non superato)</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (Annullato)</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Invalidato)</li> <li>• <b>NTC_PASS</b> (NTC non superato)</li> </ul>  | enum  | <i>I valori specificati nelle opzioni dei valori preimpostati.</i>  |

| Colonna                  | Descrizione  | Opzioni di valore preimpostato   | Tipo  | Espressione regolare (regex)                                       |
|--------------------------|--|--|-------|--|
| qc_reason<br>(motivo_qc) | Informazioni sul fallimento del controllo qualità o sull'avvertenza. | <p>Uno dei seguenti:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>NONE</b> (QC status = PASS) (Nessuno - stato controllo qualità = superato)</li> <li>• <b>MULTIPLE ANOMALIES DETECTED</b> (QC status = WARNING) (Rilevate diverse anomalie - stato controllo qualità = avvertenza)</li> <li>• <b>FAILED iFACT</b> (iFACT non riuscito)</li> <li>• <b>DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE</b> (Dati fuori dall'intervallo previsto)</li> <li>• <b>FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE</b> (Distribuzione della dimensione del frammento fuori dall'intervallo previsto)</li> <li>• <b>FLOWCELL DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE</b> (Dati della cella a flusso fuori dall'intervallo previsto)</li> <li>• <b>FAILED TO ESTIMATE FETAL FRACTION</b> (Stima della frazione fetale stimata non riuscita)</li> <li>• <b>SEQUENCING DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE</b> (Dati del sequenziamento fuori dall'intervallo previsto)</li> <li>• <b>UNEXPECTED DATA</b> (Dati imprevisti)</li> <li>• <b>NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE</b> (Campione di controllo non templato con elevata copertura)</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (Annullato)</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Invalidato)</li> </ul> | testo | <i>I valori specificati nelle opzioni dei valori preimpostati.</i> |
| ff (frazione fetale)     | La frazione fetale stimata.  | Percentuale di cfDNA del campione dal feto arrotondato al numero intero più vicino. Risultati inferiori all'1% sono presentati come < 1%.  | testo | <i>Non applicabile.</i>  |

## Regole per la descrizione di anomalie

Se l'analisi con VeriSeq NIPT Assay Software v2 identifica un'anomalia, il campo anomaly\_description (anomalia\_descrizione) in NIPT Report (Report NIPT) visualizza il valore DETECTED (Rilevata) seguito da una stringa di testo. Questo testo descrive tutte le anomalie riportabili in base allo stile dell'International Standing Committee on Cytogenetic Nomenclature (ISCN). La stringa contiene più elementi separati da punti e virgole. Ciascun elemento rappresenta una trisomia o una monosomia in un autosoma, un'aneuploidia del cromosoma sessuale oppure una delezione o duplicazione parziale.

Gli elementi per trisomia e monosomia sono annotati come +<crom> e -<crom>, rispettivamente, dove <crom> è il numero del cromosoma.

Ad esempio, un campione con una trisomia sul cromosoma 5 viene visualizzato come:

+5

Ad esempio, un campione con una monosomia sul cromosoma 6 viene visualizzato come:

-6

Le aneuploidie dei cromosomi sessuali utilizzano l'annotazione standard con quattro valori possibili:

- ▶ XO - per monosomia sul cromosoma X.
- ▶ XXX - per trisomia sul cromosoma X.
- ▶ XXY - per due cromosomi X nei maschi.
- ▶ XYY - per due cromosomi Y nei maschi.

Le delezioni o duplicazioni parziali riportano solo gli autosomi e vengono visualizzati solo per gli screening dell'intero genoma. La sintassi di una delezione o duplicazione parziale è <tipo>(<crom>)(<band di avvio><band di arresto>), dove:

- ▶ <tipo> è il tipo di evento, ossia del per delezione o dup per duplicazione.
- ▶ <crom> è il numero del cromosoma.
- ▶ <band di avvio> è il cytoband contenente l'avvio dell'evento.
- ▶ <band di arresto> è il cytoband contenente la fine dell'evento.

Ad esempio, una delezione o duplicazione parziale nella quale il cytoband tra p14 e q15 sul cromosoma 22 presenta una duplicazione, viene visualizzata nel seguente modo:

dup (22) (p14q15)

Il campo anomaly\_description (descrizione\_anomalia) si attiene a tre regole di ordinamento:

- 1 Gli elementi sono ordinati in base al numero del cromosoma, indipendentemente dal fatto che sia un cromosoma intero o una delezione o duplicazione parziale. Un'aneuploidia del cromosoma sessuale, se presente, viene visualizzata per ultima.
- 2 Per le delezioni o duplicazioni parziali nello stesso cromosoma, le delezioni vengono visualizzate prima delle duplicazioni.
- 3 Le delezioni o duplicazioni parziali dello stesso tipo nello stesso cromosoma sono ordinate a partire dalla base di partenza, che viene visualizzata in Supplementary Report (Report aggiuntivo).

## Messaggi del motivo di controllo qualità

La colonna qc\_reason (motivo\_controllo qualità) in NIPT Report (Report NIPT) visualizza un fallimento QC o un avvertimento quando i risultati dell'analisi non rientrano nell'intervallo previsto per una metrica di controllo qualità analitica. Con il fallimento del controllo qualità si ottiene la soppressione completa dei risultati per l'aneuploidia cromosomica, la classificazione del sesso, i risultati del report supplementare e la stima della frazione fetale, che corrispondono ai campi seguenti in NIPT Report (Report NIPT): class\_auto (classificazione\_automatica), class\_sx (classificazione\_sesso), anomaly\_description (descrizione\_anomalia) e ff (frazione fetale).

| Messaggio del motivo di controllo qualità  | Descrizione   | Azione raccomandata                       |
|--|---|---|
| FAILED iFACT (iFACT non riuscito)  | individual Fetal Aneuploidy Confidence Test (iFACT) (test di sicurezza fetale delle aneuploidie individuale - iFACT): le metriche di controllo qualità che combinano la stima della frazione fetale con le metriche della corsa associate con la copertura per determinare se il sistema garantisce l'attendibilità statistica per eseguire un'identificazione su un dato campione. | Rielaborare il campione.                  |
| DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Dati fuori dall'intervallo previsto)   | La deviazione standard ottenuta dalla copertura dell'euploidia non è coerente con la distribuzione dei dati di training. Probabilmente causato dalla contaminazione o dall'elaborazione non corretta del campione.  | Rielaborare il campione.                  |
| FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Distribuzione della dimensione del frammento fuori dall'intervallo previsto) | La distribuzione della dimensione del frammento non è coerente con la distribuzione dei dati di training. Probabilmente causato dalla contaminazione o dall'elaborazione non corretta del campione.   | Rielaborare il campione.                  |
| FLOWCELL DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Dati della cella a flusso fuori dall'intervallo previsto)                                 | I dati della cella a flusso non sono coerenti con la distribuzione dei dati di training. Probabilmente causato da un errore nell'impostazione della cella a flusso.   | Rielaborare il campione.                  |
| FAILED TO ESTIMATE FETAL FRACTION (Stima della frazione fetale stimata non riuscita)   | Impossibile generare una stima della frazione fetale valida.  | Rielaborare il campione.                  |
| SEQUENCING DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Dati del sequenziamento fuori dall'intervallo previsto)                                 | I dati dell'input del sequenziamento non sono coerenti con la distribuzione dei dati di training. Probabilmente causato dalla contaminazione o dall'elaborazione non corretta del campione.   | Risequenziare la cella a flusso.          |
| UNEXPECTED DATA (Dati imprevisti)  | Il report genera un dubbio sul controllo qualità che non corrisponde a nessun altro dei motivi di controllo qualità contenuti in questa tabella.  | Contattare l'Assistenza Tecnica Illumina. |

| Messaggio del motivo di controllo qualità  | Descrizione  | Azione raccomandata      |
|--|--|--------------------------|
| MULTIPLE ANOMALIES DETECTED (Rilevate diverse anomalie)                                  | <p>Due o più anomalie riportabili (incluse aneuploidie cromosomiche e delezioni o duplicazioni parziali) sono rilevate nel campione.</p> <p>Il rilevamento di diverse anomalie potrebbe indicare una manipolazione errata del campione o un evento più raro, come una malignità nella madre.</p> <p>Questo messaggio è un avvertimento. Non rappresenta un fallimento del controllo qualità. I risultati sono riportati in modo da poter vedere le anomalie rilevate. Potrebbe tuttavia essere necessario rielaborare il campione.</p> | Rielaborare il campione. |
| NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (Campione di controllo non templato con elevata copertura) | <p>Rilevata elevata copertura di un campione NTC (non è previsto materiale di DNA). Probabilmente causato dalla contaminazione o dall'elaborazione non corretta del campione.</p>  | Rielaborare il campione. |
| CANCELLED (Annullato)  | Il campione è stato annullato da un utente.  | Non applicabile.         |
| INVALIDATED (Invalidato)   | Il campione è stato invalidato da un utente.   | Non applicabile.         |

## Supplementary Report (Report supplementare)

Supplementary Report (Report supplementare) contiene i dati per ulteriori metriche in base al batch, al campione o alla regione. In questo report, ciascuna riga rappresenta una metrica. Più metriche si applicano allo stesso batch, campione o regione.

Il file separato da tabulazione dispone di sei colonne, come descritto nella tabella successiva.

| Colonna                                  | Descrizione  | Tipo  | Espressione regolare (regex)   |
|--|--|-------|--|
| flowcell (cella a flusso)                | Il codice a barre per la cella a flusso.   | testo | <code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>  |
| batch_name (nome_batch)                  | Il nome del batch pertinente.  | testo | <code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>  |
| sample_barcode (codice a barre campione) | Il codice a barre per il campione.   | testo | NA (not applicable) for per-batch metrics. (NA - non applicabile - per le metriche su base batch.)<br><code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>  |
| region (regione)                         | Il cromosoma intero o una descrizione della regione della delezione o duplicazione parziale. | testo | NA (not applicable) – for per-batch or per-sample metrics. (NA - non applicabile - per le metriche su base batch o su base campione.)<br><code>chr[12]?[0-9X]</code> – for whole chromosome region metrics. ( <code>crom[12]?[0-9X]</code> - per le metriche della regione dell'intero cromosoma.)<br><code>(del dup)\([12]?[0-9X]\)\(((p q)[0-9]{1,2}\.[0-9]{1,2})?\{2\}\)</code> – for partial deletion or duplication region metrics. ( <code>(del dup)\([12]?[0-9X]\)\(((p q)[0-9]{1,2}\.[0-9]{1,2})?\{2\}\)</code> - per le metriche delle regioni di delezione o duplicazione parziale.) |
| metric_name (nome_metrica)               | Il nome della metrica descritta.   | testo | <code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>  |
| metric_value (valore_metrica)            | Il valore della metrica.   | varia | <i>Fare riferimento a <a href="#">Metriche di Supplementary Report (Report supplementare)</a> .</i>  |

## Metriche di Supplementary Report (Report supplementare)

Supplementary Report (Report supplementare) contiene i dati per le metriche seguenti. Ciascuna metrica viene visualizzata in base al batch, al campione o alla regione.

Le metriche per il cromosoma X vengono visualizzate solo se vengono selezionate le opzioni del cromosoma sessuale Yes (Si) o SCA (Aneuploidia del cromosoma sessuale).

I valori vengono visualizzati come Minimum Value (Valore minimo), Maximum Value (Valore massimo) tra parentesi tonde o parentesi quadre. Le parentesi tonde indicano che un valore limite è escluso dall'intervallo, mentre le parentesi quadre indicano che un valore limite è incluso nell'intervallo. Inf è l'abbreviazione di infinito.

| Nome della metrica   | Frequenza       | Descrizione   | Tipo   | Regex o valore dell'intervallo                          |
|--|-----------------|---|--------|---|
| genome_<br>assembly<br>(assemblaggio_<br>genoma)               | Per batch       | Il sistema delle coordinate per l'allineamento dei dati del sequenziamento e delle coordinate della regione del report. Sempre GRCh37 per VeriSeq NIPT Solution v2.   | testo  | ^GRCh37\$   |
| frag_size_dist<br>(distribuzione_<br>dimensione_<br>frammento) | Per<br>campione | Deviazione standard delle differenze tra le distribuzioni cumulative della dimensione del frammento rilevata e prevista.  | mobile | (0, Inf)  |
| fetal_fraction<br>(frazione_fetale)                            | Per<br>campione | La frazione fetale riportata.   | mobile | (0, 1)  |
| NCV_X  | Per<br>campione | Valore normalizzato del cromosoma per il cromosoma X.<br>Viene visualizzato solo se l'opzione di report del cromosoma sessuale lo consente. In caso contrario, questa metrica viene visualizzata come NOT TESTED (Non analizzato).  | mobile | (-Inf, Inf)   |
| NCV_Y  | Per<br>campione | Valore normalizzato del cromosoma per il cromosoma Y.<br>Viene visualizzato solo se l'opzione di report del cromosoma sessuale lo consente. In caso contrario, questa metrica viene visualizzata come NOT TESTED (Non analizzato).  | mobile | (-Inf, Inf)   |
| number_of_cnv_<br>events<br>(numero_di_<br>eventi_cnv)         | Per<br>campione | Il numero delle regioni di delezione o duplicazione parziale rilevate nel campione.   | intero | (0, Inf)  |
| non_excluded_<br>sites (siti_non_<br>esclusi)                  | Per<br>campione | Il numero delle letture restanti dopo il filtraggio e conteggiate per l'analisi.  | intero | (0, Inf)  |
| region_<br>classification<br>(classificazione_<br>regione)     | Per<br>regione  | La classificazione della regione da parte del sistema nello stesso formato del campo anomaly_<br>description (descrizione_anomalia) in NIPT Report (Report NIPT).<br>Per il cromosoma X, se non sono state rilevate anomalie riportabili del cromosoma sessuale, la classificazione della regione corrisponderà al valore class_sx (classificazione_sessuale) in NIPT Report (Report NIPT).<br>Opzioni di valore (regex):<br>DETECTED: (\+ -)[12]?[0-9] (Rilevato: (\+ -)[12]?[0-9])<br>DETECTED: (del dup)\([12]?[0-9]\)\(((p q)[0-9]{1,2}\.[0-9]{1,2})?)\{2}\) (Rilevato: (del dup)\([12]?[0-9]\)\(((p q)[0-9]{1,2}\.[0-9]{1,2})?)\{2}\))<br>NO ANOMALY DETECTED (Nessuna anomalia rilevata)<br>DETECTED: (XO XXX XXY XYY) NO ANOMALY DETECTED - XX NO ANOMALY DETECTED - XY NOT REPORTABLE CHR Y PRESENT CHR Y NOT PRESENT (Rilevato: (XO XXX XXY XYY) nessuna anomalia rilevata - XX nessuna anomalia rilevata - XY non riportabile cromosoma Y presente cromosoma Y assente) | testo  | <i>Valori specificati in Description (Descrizione).</i> |

| Nome della metrica   | Frequenza   | Descrizione  | Tipo   | Regex o valore dell'intervallo  |
|--|-------------|--|--------|---------------------------------|
| chromosome (cromosoma)   | Per regione | Il simbolo del cromosoma.  | testo  | chr[12]?[0-9X]                  |
| start_base (prima_base)  | Per regione | La prima base inclusa nella regione.   | intero | [1, Inf)                        |
| end_base (ultima_base)   | Per regione | L'ultima base inclusa nella regione.   | intero | [1, Inf)                        |
| start_cytoband (cytoband_iniziale)                                     | Per regione | Il cytoband della prima base incluso nella regione.  | testo  | (p q)[0-9]{1,2} (\.[0-9]{1,2})? |
| end_cytoband (cytoband_finale)   | Per regione | Il cytoband dell'ultima base incluso nella regione.  | testo  | (p q)[0-9]{1,2} (\.[0-9]{1,2})? |
| region_size_mb (dimensione_regione_mb)                                 | Per regione | La dimensione della regione in megabasi.   | mobile | (0, Inf)                        |
| region_llr_trisomy (trisomia_llr_regione)                              | Per regione | Il punteggio dei rapporti di log-verosimiglianza (LLR) per la trisomia per la regione. Evidenzia una trisomia rispetto all'evidenza di nessun cambiamento (disomia). Una trisomia viene identificata se questo punteggio LLR supera una soglia predeterminata. Per le delezioni o duplicazioni parziali, questa metrica viene visualizzata solo se il tipo è un guadagno (dup). In caso contrario, questa metrica viene visualizzata come NA (Non applicabile).  | mobile | (-Inf, Inf)                     |
| region_llr_monosomy (monosomia_llr_regione)                            | Per regione | Il punteggio LLR per la monosomia per la regione. Evidenzia una monosomia rispetto all'evidenza di nessun cambiamento (disomia). Una monosomia viene identificata se questo punteggio LLR supera una soglia predeterminata. Per le delezioni o duplicazioni parziali, questa metrica viene visualizzata solo se il tipo è un perdita (del). In caso contrario, questa metrica viene visualizzata come NA (Non applicabile). Questa metrica viene visualizzata come NOT TESTED (Non analizzata), se è stato selezionato il tipo di screening di base.   | mobile | (-Inf, Inf)                     |
| region_t_stat_long_reads (letture_lunghe_profilo_statistica_t_regione) | Per regione | La statistica t per la regione. La statistica t è la differenza nella copertura tra la regione e il resto del genoma, rispetto alla variazione nel campione. Questa è una metrica del rapporto segnale-rumore che cattura la rilevabilità di qualsiasi scostamento nella copertura in una regione. "long_reads" (letture_lunghe) indica che la copertura utilizzata per questa statistica t include l'intero intervallo delle dimensioni dei frammenti utilizzati nell'analisi. La statistica t è combinata con la stima della frazione fetale per il campione al fine di generare i punteggi LLR. | mobile | (-Inf, Inf)                     |

| Nome della metrica   | Frequenza   | Descrizione   | Tipo   | Regex o valore dell'intervallo |
|--|-------------|---|--------|--------------------------------|
| region_mosaic_ratio (rapporto_mosaico_regione)             | Per regione | La proporzione del materiale fetale che è aneuploide. Questa metrica si basa sul rapporto della frazione fetale dedotta dalla copertura della regione rispetto alla frazione fetale del campione. Nei campioni in cui la frazione fetale è vicina allo zero, i rapporti di mosaicismo possono risultare in valori negativi a causa della variabilità nella stima della frazione fetale del campione utilizzato nei calcoli.   | mobile | (-Inf, Inf)                    |
| region_mosaic_llr_trisomy (trisomia_llr_mosaico_regione)   | Per regione | Il punteggio LLR per la trisomia calcolato utilizzando la frazione fetale dedotta dalla copertura nella regione invece della frazione fetale per il campione. Per le delezioni o duplicazioni parziali, questa metrica viene visualizzata solo se il tipo è un guadagno (dup). In caso contrario, questa metrica viene visualizzata come NA (Non applicabile).  | mobile | (-Inf, Inf)                    |
| region_mosaic_llr_monosomy (monosomia_llr_mosaico_regione) | Per regione | Il punteggio LLR per la monosomia calcolato utilizzando la frazione fetale dedotta dalla copertura nella regione invece della frazione fetale per il campione. Per le delezioni o duplicazioni parziali, questa metrica viene visualizzata solo se il tipo è un perdita (del). In caso contrario, questa metrica viene visualizzata come NA (Non applicabile). Questa metrica viene visualizzata come NOT TESTED (Non analizzata), se è stato selezionato il tipo di screening di base. | mobile | (-Inf, Inf)                    |

## Sample Invalidation Report (Report di invalidamento del campione)

Il sistema genera un Sample Invalidation Report (Report di invalidamento del campione)

| Colonna                                  | Descrizione  | Tipo                  | Espressione regolare (regex) |
|--|--|-----------------------|------------------------------|
| batch_name (nome_batch)                  | Il nome del batch.   | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| sample_barcode (codice a barre_campione) | Il codice a barre univoco del campione invalidato.   | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| reason (motivo)                          | Il motivo fornito dall'utente per l'invalidamento del campione.  | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| operator (operatore)                     | Il nome utente dell'operatore che ha invalidato il campione o che non ha portato a termine l'analisi del campione. | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| timestamp                                | Data e ora dell'invalidamento del campione.  | timestamp<br>ISO 8601 |                              |

## Sample Cancelation Report (Report di annullamento del campione)

Il sistema genera un Sample Cancelation Report (Report di annullamento del campione) per ciascun campione annullato.

| Colonna                                  | Descrizione  | Tipo                  | Espressione regolare (regex) |
|--|--|-----------------------|------------------------------|
| batch_name (nome_batch)                  | Il nome del batch.   | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| sample_barcode (codice a barre_campione) | Il codice a barre univoco del campione annullato.              | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| reason (motivo)                          | Il motivo fornito dall'utente per l'annullamento del campione. | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| operator (operatore)                     | Il nome utente dell'operatore che ha annullato il campione.    | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| timestamp                                | Data e ora dell'annullamento del campione.                     | timestamp<br>ISO 8601 |                              |

## Pool Retest Request Report (Report richiesta ripetizione test del raggruppamento in pool)

Pool Retest Request Report (Report richiesta ripetizione test del raggruppamento in pool) indica che un raggruppamento invalidato può essere nuovamente raggruppato in pool. Il sistema genera un report Pool Retest Request (Richiesta ripetizione test del raggruppamento in pool) quando la prima delle due possibili corse di sequenziamento (raggruppamenti in pool) per quel tipo di raggruppamento in pool è invalidata.

| Colonna                                 | Descrizione   | Tipo                  | Espressione regolare (regex) |
|---|---|-----------------------|------------------------------|
| batch_name (nome_batch)                 | Il nome del batch.  | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| pool_type (tipo_raggruppamento in pool) | Il tipo del raggruppamento in pool.   | enum                  | A   B   C   E                |
| reason (motivo)                         | Motivo fornito dall'utente per l'invalidamento del precedente raggruppamento in pool. | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| timestamp                               | La data e l'ora della richiesta.  | timestamp<br>ISO 8601 |                              |

## Report di elaborazione

### Batch Initiation Report (Report di inizializzazione del batch)

Il sistema genera un Batch Initiation Report (Report di inizializzazione del batch) quando viene avviato e convalidato un batch prima dell'isolamento del plasma.

| Colonna  | Descrizione  | Tipo  | Espressione regolare (regex)                             |
|--|--|-------|--|
| batch_name (nome_batch)                              | Il nome del batch.                                   | testo | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$                                   |
| sample_barcode (codice a barre_campione)             | Il codice a barre univoco del campione.              | testo | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$                                   |
| sample_type (tipo_campione)                          | Il tipo di campione del codice a barre del campione. | enum  | singola   controllo   gemellare   controllo non templato |
| well (pozzetto)                                      | Il pozzetto associato a un campione.                 | testo | ^[a-zA-Z]{1,1}[0-9]{1,2}\$                               |
| assay (saggio)                                       | Il nome del saggio.                                  | testo | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$                                  |
| method_version (versione_metodo)                     | La versione del metodo di automazione del saggio.    | testo | VeriSeq v2 NIPT Assay                                    |
| Workflow_manager_version (versione_workflow_manager) | La versione di Workflow Manager associata al saggio  | testo | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$                                  |

### Batch Invalidation Report (Report di invalidamento del batch)

Il sistema genera un Batch Invalidation Report (Report di invalidamento del batch) quando il batch viene invalidato o non riesce.

| Colonna                 | Descrizione  | Tipo                  | Espressione regolare (regex) |
|-------------------------|--|-----------------------|------------------------------|
| batch_name (nome_batch) | Il nome del batch.   | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| reason (motivo)         | Il motivo fornito dall'utente per l'invalidamento del batch. | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| operator (operatore)    | Le iniziali dell'operatore che ha invalidato il batch.       | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| timestamp               | La data e ora dell'invalidamento del batch.                  | timestamp ISO<br>8601 |                              |

## Library Sample Report (Report dei campioni della libreria)

Il sistema genera un Library Sample Report (Report dei campioni della libreria) quando il batch non viene portato a termine correttamente o invalidato, al completamento corretto della libreria e al completamento corretto della quantificazione.

| Colonna  | Descrizione   | Tipo   | Espressione regolare (regex)          |
|--|---|--------|---------------------------------------|
| batch_name (nome_batch)                                | Il nome del batch.  | testo  | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$                |
| sample_barcode (codice a barre_campione)               | Il codice a barre univoco del campione.   | testo  | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$                |
| qc_status (stato_qc)                                   | Lo stato del campione dopo il completamento delle fasi del saggio.                                    | enum   | pass   fail (superato   non superato) |
| qc_reason (motivo_qc)                                  | Il motivo per lo stato del controllo qualità.   | testo  | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$                |
| starting_volume (volume_iniziale)                      | Il volume iniziale della provetta di raccolta del sangue in ml al momento dell'isolamento del plasma. | mobile |                                       |
| index (indice)   | L'indice associato a un campione.   | testo  | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$                |
| ccn_library_pg_µl (concentrazione_libreria_pg_µl)      | La concentrazione della libreria in pg/µl.  | mobile |                                       |
| plasma_isolation_comments (commenti_isolamento_plasma) | I commenti dell'utente quando si esegue l'isolamento del plasma (testo libero).                       | testo  | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$               |
| cfDNA_extraction_comments (commenti_estrazione_cfDNA)  | I commenti dell'utente quando si esegue l'estrazione del cfDNA (testo libero).                        | testo  | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$               |
| library_prep_comments (commenti_preparazione_librerie) | I commenti dell'utente quando si esegue la preparazione delle librerie (testo libero).                | testo  | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$               |
| quantitation_comments (commenti_quantitazione)         | I commenti dell'utente quando si esegue la quantificazione (testo libero).                            | testo  | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$               |

## Library Reagent Report (Report dei reagenti della libreria)

Il sistema genera un Library Reagent Report (Report dei reagenti della libreria) quando il batch non viene portato a termine correttamente o invalidato, al completamento corretto della libreria e al completamento corretto della quantificazione.

| Colonna                            | Descrizione  | Tipo                  | Espressione regolare (regex)    |
|------------------------------------|--|-----------------------|---------------------------------|
| batch_name<br>(nome_batch)         | Il nome del batch.   | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$          |
| process<br>(procedura)             | Il nome della procedura, nel formato PROCESS:sub-process. Opzioni: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ISOLATION</b> (Isolamento): batch_validation (convalida_batch), prespin (pre-centrifuga), postspin (post-centrifuga), data_transact (transazione_dati).</li> <li>• <b>EXTRACTION</b> (Estrazione): setup (impostazione), chemistry (chimica), data_transact (transazione_dati).</li> <li>• <b>LIBRARY</b> (Libreria): setup (impostazione), chemistry (chimica), data_transact (transazione_dati), complete (completo).</li> <li>• <b>QUANT</b> (Quantificazione): setup (impostazione), build_standards (standard_build), build_384 (build_384), analysis (analisi), data_transact (transazione_dati).</li> <li>• <b>POOLING</b> (Raggruppamento in pool): analysis (analisi), setup (impostazione), pooling (raggruppamento in pool), data_transact (transazione_dati), complete (completo).</li> </ul> | testo                 | ^[A-Z]{1,36}: [a-z0-9_]{1,36}\$ |
| reagent_name<br>(nome_reagente)    | Il nome del reagente.  | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$          |
| lot (lotto)                        | Il codice a barre del reagente.  | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$          |
| expiration_date<br>(data_scadenza) | La data di scadenza nel formato del produttore.  | testo                 | ^[a-zA-Z0-9:/_-]{1,100}\$       |
| operator<br>(operatore)            | Il nome utente dell'operatore.   | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$          |
| initiated<br>(avviato)             | Il timestamp di avvio associato con il reagente.   | timestamp<br>ISO 8601 |                                 |

## Library Labware Report (Report sulle apparecchiature di laboratorio della libreria)

Il sistema genera un Library Labware Report (Report sulle apparecchiature di laboratorio della libreria) alla mancata riuscita o convalida del batch, al completamento corretto della libreria e al completamento corretto della quantificazione.

| Colonna  | Descrizione   | Tipo               | Espressione regolare (regex) |
|--|---|--------------------|------------------------------|
| batch_name (nome_batch)                                      | Il nome del batch.  | testo              | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| labware_name (nome_apparecchiatura_laboratorio)              | Il nome dell'apparecchiatura di laboratorio.                          | testo              | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| labware_barcode (codice a barre_apparecchiatura_laboratorio) | Il codice a barre dell'apparecchiatura di laboratorio.                | testo              | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| initiated (avviato)  | Il timestamp di avvio associato con l'apparecchiatura di laboratorio. | timestamp ISO 8601 |                              |

## Library Quant Report (Report di quantificazione della libreria)

Il sistema genera un Library Quant Report (Report di quantificazione della libreria) al completamento corretto della quantificazione.

| Colonna                                       | Descrizione   | Tipo               | Espressione regolare (regex)          |
|---|---|--------------------|---------------------------------------|
| batch_name (nome_batch)                       | Il nome del batch.  | testo              | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$                |
| quant_id (id_quantificazione)                 | Identificazione numerica.                                   | lungo              |                                       |
| instrument (strumento)                        | Il nome dello strumento di quantificazione (testo libero).  | testo              | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$                |
| standard_r_squared (r_al quadrato_standard)   | R al quadrato.  | mobile             |                                       |
| standard_intercept (intercetta_standard)      | Intercetta.   | mobile             |                                       |
| standard_slope (pendenza_standard)            | Pendenza.   | mobile             |                                       |
| median_ccn_pg_ul (concentrazione_media_pg_ul) | Concentrazione media del campione.                          | mobile             |                                       |
| qc_status (stato_qc)                          | Stato del controllo qualità relativo alla quantificazione.  | enum               | pass   fail (superato   non superato) |
| qc_reason (motivo_qc)                         | Descrizione del motivo della mancata riuscita, se presente. | testo              | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$                |
| initiated (avviato)                           | Timestamp di avvio associato alla quantificazione.          | timestamp ISO 8601 |                                       |

## Library Process Log (Registro elaborazione libreria)

Il sistema genera un Library Process Log (Registro elaborazione libreria) all'avvio e al completamento o al mancato superamento di ciascuna elaborazione del batch; al mancato superamento o convalida del batch; al completamento dell'analisi (generato per raggruppamento in pool).

| Colonna                    | Descrizione  | Tipo                  | Espressione regolare (regex)  |
|----------------------------|--|-----------------------|---|
| batch_name<br>(nome_batch) | Il nome del batch.   | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$  |
| process<br>(procedura)     | Il nome della procedura in batch, nel formato PROCESS:sub-process. Opzioni:<br><b>ISOLATION</b> (Isolamento): batch_validation (convalida_batch), prespin (pre-centrifuga), postspin (post-centrifuga), data_transact (transazione_dati).<br><b>EXTRACTION</b> (Estrazione): setup (impostazione), chemistry (chimica), data_transact (transazione_dati).<br><b>LIBRARY</b> (Libreria): setup (impostazione), chemistry (chimica), data_transact (transazione_dati), complete (completo).<br><b>QUANT</b> (Quantificazione): setup (impostazione), build_standards (standard_build), build_384 (build_384), analysis (analisi), data_transact (transazione_dati).<br><b>POOLING</b> (Raggruppamento in pool): analysis (analisi), setup (impostazione), pooling (raggruppamento in pool), data_transact (transazione_dati), complete (completo). | testo                 | ^[A-Z]{1,36}:[a-z0-9_-]{1,36}\$   |
| operator<br>(operatore)    | Le iniziali dell'operatore.  | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$  |
| instrument<br>(strumento)  | Nome dello strumento.  | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$  |
| started<br>(avviato)       | La data e l'ora dell'avvio dell'elaborazione del batch.  | timestamp<br>ISO 8601 |   |
| finished<br>(terminato)    | La data e l'ora del completamento o della mancata riuscita dell'elaborazione del batch.  | timestamp<br>ISO 8601 |   |
| status<br>(stato)          | Il batch attuale.  | enum                  | completed   failed   started   aborted<br>(completato - fallito - avviato - interrotto) |

## Pool Report (Report sul raggruppamento in pool)

Il sistema genera un Pool Report (Report sul raggruppamento in pool) in caso di completamento corretto della libreria, batch non riuscito e batch invalidato se l'evento si verifica dopo l'avvio del raggruppamento.

| Colonna  | Descrizione   | Tipo   | Espressione regolare (regex) |
|--|---|--------|------------------------------|
| batch_name (nome_batch)                              | Il nome del batch.  | testo  | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| sample_barcode (codice a barre_campione)             | Il codice a barre univoco del campione.   | testo  | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| pool_barcode (codice a barre_raggruppamento in pool) | Il codice a barre del raggruppamento in pool associato con un campione.           | testo  | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| pool_type (tipo_raggruppamento in pool)              | Il tipo di raggruppamento in pool associato a un campione.                        | enum   | A   B   C   E                |
| pooling_volume_ul (volume_ul_raggruppamento in pool) | Il volume in µl del raggruppamento in pool.                                       | mobile |                              |
| pooling_comments (commenti_raggruppamento in pool)   | I commenti dell'utente quando si esegue il raggruppamento in pool (testo libero). | testo  | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$      |

## Pool Invalidation Report (Report di invalidamento del raggruppamento in pool)

Il sistema genera un Pool Invalidation Report (Report di invalidamento del raggruppamento in pool) quando il raggruppamento in pool viene invalidato.

| Colonna  | Descrizione  | Tipo               | Espressione regolare (regex) |
|--|--|--------------------|------------------------------|
| batch_name (nome_batch)                              | Il nome del batch.   | testo              | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| pool_barcode (codice a barre_raggruppamento in pool) | Il codice a barre del raggruppamento in pool per il raggruppamento invalidato. | testo              | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| reason (motivo)                                      | Il motivo fornito dall'utente per l'invalidamento del raggruppamento in pool.  | testo              | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| operator (operatore)                                 | Le iniziali dell'operatore che ha invalidato il raggruppamento in pool.        | testo              | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| timestamp  | Data e ora dell'invalidamento del raggruppamento in pool.                      | timestamp ISO 8601 |                              |

## Sequencing Report (Report di sequenziamento)

Il sistema genera un Sequencing Report (Report di sequenziamento) per la corsa di sequenziamento al termine del sequenziamento o al timeout del sequenziamento.

| Colonna  | Descrizione   | Tipo      | Espressione regolare (regex)                                    |
|--|---|-----------|---|
| batch_name (nome_batch)                              | Il nome del batch.  | testo     | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$  |
| pool_barcode (codice a barre_raggruppamento in pool) | Il codice a barre del raggruppamento in pool associato con la corsa di sequenziamento.            | testo     | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$  |
| instrument (strumento)                               | Il numero di serie del sequenziatore.   | testo     | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$  |
| flowcell (cella a flusso)                            | La cella a flusso associata con la corsa di sequenziamento.                                       | testo     | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$  |
| software_version (versione_software)                 | L'insieme di applicazione/versione del software utilizzato per generare i dati sul sequenziatore. | testo     |   |
| run_folder (cartella_corsa)                          | Il nome della cartella della corsa di sequenziamento.   | testo     | ^[a-zA-Z0-9_-]+\$   |
| sequencing_status (stato_sequenziamento)             | Lo stato della corsa di sequenziamento.   | enum      | completed   timed out   failed (completato - timeout - fallito) |
| qc_status (stato_qc)                                 | Lo stato del controllo qualità della corsa di sequenziamento.                                     | enum      | pass   fail   error (superato   non superato   errore)          |
| qc_reason (motivo_qc)                                | I motivi del fallimento del controllo qualità, valori separati dal punto e virgola.               | testo     | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$  |
| cluster_density (densità_cluster)                    | La densità dei cluster (mediana per cella a flusso sulle tile).                                   | mobile    |   |
| pct_q30 (percentuale_q30)                            | La percentuale di basi che superano il punteggio qualitativo di Q30.                              | mobile    |   |
| pct_pf (percentuale_attraversano il filtro)          | La percentuale di letture che attraversano il filtro.   | mobile    |   |
| phasing (determinazione delle fasi)                  | Determinazione delle fasi.  | mobile    |   |
| prephasing (predeterminazione delle fasi)            | Predeterminazione delle fasi.   | mobile    |   |
| predicted_aligned_reads (letture_allineate_previste) | Letture allineate previste.   | lungo     |   |
| started (avviato)                                    | Il timestamp associato con l'avvio del sequenziamento.  | timestamp | ISO 8601  |
| completed (completato)                               | Il timestamp associato con il completamento del sequenziamento.                                   | timestamp | ISO 8601  |

## Analysis Failure Report (Report di analisi non riuscita)

Il sistema genera un Analysis Failure Report (Report di analisi non riuscita) quando l'analisi per la corsa di sequenziamento non viene completata entro il numero massimo di tentativi consentito.

| Colonna   | Descrizione   | Tipo                  | Espressione regolare (regex) |
|---|---|-----------------------|------------------------------|
| batch_name (nome_batch)                               | Il nome del batch.  | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| pool_barcode (codice a barre_raggruppamento in pool)  | Il codice a barre del raggruppamento in pool con l'analisi non riuscita.        | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| flowcell (cella a flusso)                             | Il codice a barre della cella a flusso associato con l'analisi non riuscita.    | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$       |
| sequencing_run_folder (cartella_corsa_sequenziamento) | La cartella della corsa di sequenziamento associato con l'analisi non riuscita. | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_]+\$             |
| analysis_run_status (stato_analisi_corsa)             | Lo stato della corsa di sequenziamento associato con l'analisi non riuscita.    | testo                 | ^[a-zA-Z0-9_]+\$             |
| timestarted (momento dell'avvio)                      | Il timestamp associato con l'avvio dell'analisi.                                | timestamp<br>ISO 8601 |                              |
| timefinished (momento dell'arresto)                   | Il timestamp associato con l'arresto dell'analisi.                              | timestamp<br>ISO 8601 |                              |

# Appendice C Risoluzione dei problemi

|                                       |    |
|---------------------------------------|----|
| Introduzione .....                    | 63 |
| Notifiche di Assay Software .....     | 64 |
| Problemi del sistema .....            | 72 |
| Test dell'elaborazione dei dati ..... | 72 |

## Introduzione

L'assistenza alla risoluzione dei problemi per VeriSeq NIPT Solution v2 comprende:

- ▶ Le notifiche di sistema e di Assay Software.
- ▶ Le azioni raccomandate per eventuali problemi del sistema.
- ▶ Le istruzioni su come eseguire analisi preventive e di fallimento utilizzando i dati dei test preinstallati.

## Notifiche di Assay Software

Questa sezione descrive le notifiche di Assay Software:

### Notifiche di stato

Le notifiche di stato indicano il normale stato di esecuzione del saggio. Queste notifiche sono registrate come "Activities" (Attività) e non richiedono alcuna azione da parte dell'utente.

| Notifica  | Fase                        | Quando   | Livello avviso | E-mail | Azione raccomandata |
|---|-----------------------------|--|----------------|--------|---------------------|
| Batch initiation (Inizializzazione del batch)   | Preparazione delle librerie | L'utente ha creato un nuovo batch.   | Attività       | Sì     | Non applicabile.    |
| Batch Library Complete (Libreria completata per il batch)   | Preparazione delle librerie | È stata completata la libreria per il batch attuale.   | Attività       | No     | Non applicabile.    |
| Pool Complete (Raggruppamento in pool completato)   | Preparazione delle librerie | È stato generato il raggruppamento in pool da un batch.  | Attività       | No     | Non applicabile.    |
| Sequencing Started (Sequenziamento avviato)   | Sequenziamento              | Il sistema ha rilevato una nuova cartella dei dati del sequenziamento.   | Attività       | No     | Non applicabile.    |
| Sequencing QC passed (Controllo qualità del sequenziamento superato)                                  | Sequenziamento              | La corsa di sequenziamento è stata completata e la verifica del controllo qualità del sequenziamento è stata superata. | Attività       | No     | Non applicabile.    |
| Sequencing Run Associated With Pool (Corsa di sequenziamento associata con il raggruppamento in pool) | Sequenziamento              | La corsa di sequenziamento è stata correttamente associata con un raggruppamento in pool noto.                         | Attività       | No     | Non applicabile.    |
| Analysis Started (Analisi avviata)  | Analisi                     | L'analisi è stata avviata per la corsa di sequenziamento selezionata.  | Attività       | Sì     | Non applicabile.    |
| Analysis Completed NIPT Report Generated (Analisi completata e report NIPT generato)                  | Post-analisi                | L'analisi è stata completata e il report è stato generato.   | Attività       | Sì     | Non applicabile.    |

### Notifiche di invalidamento

Le notifiche di invalidamento indicano eventi che si verificano nel sistema nel momento in cui un utente invalida un batch o un raggruppamento in pool mediante Workflow Manager. Queste notifiche sono registrate come "Notices" (Avvisi) e non richiedono alcuna azione da parte dell'utente.

| Notifica   | Fase                                 | Quando  | Livello avviso | E-mail | Azione raccomandata |
|--|--------------------------------------|---|----------------|--------|---------------------|
| Batch Invalidation (Invalidamento del batch)   | Preparazione delle librerie          | L'utente ha invalidato un batch.  | Avviso         | Sì     | Non applicabile.    |
| Pool Invalidation – Repool (Invalidamento del raggruppamento in pool - raggruppare in pool di nuovo)                                 | Preparazione delle librerie          | L'utente ha invalidato il primo raggruppamento in pool possibile (di un certo tipo) per il batch.                         | Avviso         | Sì     | Non applicabile.    |
| Pool Invalidation – Use second aliquot (Invalidamento del raggruppamento in pool - usare seconda aliquota)                           | Preparazione delle librerie          | L'utente ha invalidato il primo raggruppamento in pool possibile (di un certo tipo) per il batch.                         | Avviso         | Sì     | Non applicabile.    |
| Sequencing Completed Pool Invalidated (Sequenziamento completato e raggruppamento in pool invalidato)                                | Sequenziamento                       | La corsa di sequenziamento è stata completata ma l'utente ha invalidato il raggruppamento in pool.                        | Avviso         | Sì     | Non applicabile.    |
| Sequencing QC passed – All samples are invalid (Superato il controllo qualità del sequenziamento - tutti i campioni non sono validi) | Controllo qualità del sequenziamento | La verifica del controllo qualità per la corsa di sequenziamento è stata completata, ma tutti i campioni non sono validi. | Avviso         | Sì     | Non applicabile.    |
| Analysis Completed Pool Invalidated (Analisi completata e raggruppamento in pool invalidato)   | Post-analisi                         | L'analisi è stata completata ma l'utente ha invalidato il raggruppamento in pool.   | Avviso         | Sì     | Non applicabile.    |

## Notifiche di errore reversibile

Gli errori reversibili sono condizioni dalle quali VeriSeq NIPT Assay Software può recuperare quando l'utente si attiene all'azione raccomandata. Se l'errore persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.

| Notifica   | Fase           | Quando   | Livello avviso | E-mail | Azione raccomandata   |
|--|----------------|--|----------------|--------|---|
| Missing Instrument Path (Percorso strumento mancante)  | Sequenziamento | Il sistema non è in grado di individuare/collegarsi a una cartella di sequenziamento esterna.  | Avviso         | Sì     | <ul style="list-style-type: none"> <li>Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate a pagina 70</i></li> <li>Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.</li> </ul> |
| Insufficient Disk Space for Sequencing (Spazio su disco insufficiente per il sequenziamento) | Sequenziamento | Il sistema ha rilevato una nuova cartella dei dati del sequenziamento, ma stima che non vi sia spazio su disco sufficiente per i dati. | Avviso         | Sì     | <ol style="list-style-type: none"> <li>Verificare lo spazio su disco disponibile. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate a pagina 70</i>.</li> <li>Liberare lo spazio su disco o eseguire il backup dei dati. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate a pagina 70</i>.</li> </ol>                        |

| Notifica   | Fase           | Quando   | Livello avviso | E-mail | Azione raccomandata   |
|--|----------------|--|----------------|--------|---|
| Sequencing Run Invalid Folder (Cartella della corsa di sequenziamento non valida)  | Sequenziamento | Sono presenti caratteri non validi nella cartella Sequencing Run (Corsa di sequenziamento).  | Avvertenza     | Sì     | La cartella della corsa di sequenziamento è stata rinominata in modo errato. Rinominare la corsa con un nome valido.  |
| Sequencing Started but Pool Barcode File Missing (Sequenziamento avviato ma manca il file del codice a barre del raggruppamento in pool) | Sequenziamento | Il software non ha rilevato il file contenente il codice a barre del raggruppamento in pool nei 30 minuti che seguono l'avvio del sequenziamento.                    | Avvertenza     | Sì     | Possibile fallimento del sequenziatore o del sistema NAS. Verificare la configurazione del sequenziatore e la connessione di rete. Il sistema continuerà a cercare il file contenente il codice a barre del raggruppamento in pool fino al termine del sequenziamento.  |
| Cannot Verify Sequencing Run Completion (Impossibile verificare il completamento della corsa di sequenziamento)                          | Sequenziamento | Il software non è stato in grado di leggere il file dello stato di completamento della corsa nella cartella del sequenziamento.                                      | Avvertenza     | Sì     | Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.   |
| Missing Sample Attributes (Attributi del campione assenti)   | Pre-analisi    | Il software non è stato in grado di trovare una definizione per il tipo di campione, l'opzione di cromosoma sessuale o il tipo di screening per alcuni dei campioni. | Avviso         | Sì     | Uno o più attributi non sono stati forniti per il campione specificato. Immettere gli attributi mancanti del campione in Workflow Manager oppure invalidare il campione per consentire al software di proseguire.   |
| Sample Sheet Generation failed (Generazione del foglio campioni non riuscita)  | Pre-analisi    | Il software non è stato in grado di generare il foglio campioni.   | Avviso         | Sì     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Verificare lo spazio su disco disponibile. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate a pagina 70</i>. Se lo spazio è limitato, liberare spazio su disco o eseguire il backup dei dati. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate a pagina 70</i>.</li> <li>• Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate a pagina 70</i>.</li> <li>• Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.</li> </ul> |

| Notifica   | Fase        | Quando   | Livello avviso | E-mail | Azione raccomandata   |
|--|-------------|--|----------------|--------|---|
| Unable to check disk space (Impossibile verificare lo spazio su disco)   | Pre-analisi | Il software non è stato in grado di verificare lo spazio su disco.   | Avviso         | Sì     | <ul style="list-style-type: none"> <li>Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i>, ID azione <i>2</i> a pagina 70.</li> <li>Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.</li> </ul>  |
| Insufficient Disk Space for Analysis (Spazio su disco insufficiente per l'analisi)   | Pre-analisi | Il software ha rilevato che non vi è spazio su disco sufficiente per avviare una nuova corsa di analisi.                             | Avviso         | Sì     | Liberare lo spazio su disco o eseguire il backup dei dati. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i> , ID azione <i>3</i> a pagina 71.   |
| Unable to launch Analysis Pipeline (Impossibile avviare i software di analisi)   | Pre-analisi | Il software non è stato in grado di avviare una corsa di analisi per la cartella di sequenziamento specificata.                      | Avviso         | Sì     | Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.   |
| Sequencing folder Read/Write permission failed (Autorizzazione di lettura/scrittura nella cartella di sequenziamento non riuscita) | Pre-analisi | Il test del software che verifica l'autorizzazione di lettura/scrittura nella cartella della corsa di sequenziamento non è riuscito. | Avvertenza     | Sì     | <ul style="list-style-type: none"> <li>Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i> a pagina 70.</li> <li>Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.</li> </ul>  |
| Analysis Failed - Retry (Analisi non riuscita - Riprova)   | Analisi     | L'analisi non è riuscita. Riprovare.   | Avviso         | Sì     | Nessuna   |
| Results Already Reported (Risultati già riportati)   | Sistema     | Il software ha determinato che un report NIPT è stato già generato per l'attuale tipo di raggruppamento in pool.                     | Attività       | Sì     | Nessuna   |
| Unable to deliver email notifications (Impossibile inviare le notifiche e-mail)  | Sistema     | Il sistema non è in grado di inviare le notifiche e-mail.  | Avvertenza     | NA     | <ol style="list-style-type: none"> <li>Verificare la validità della configurazione delle e-mail definita sul sistema. Attenersi alle istruzioni indicate in <i>Configurazione delle notifiche e-mail del sistema</i> a pagina 29.</li> <li>Inviare un'e-mail di prova. Attenersi alle istruzioni indicate in <i>Configurazione delle notifiche e-mail del sistema</i> a pagina 29.</li> <li>Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.</li> </ol> |

| Notifica   | Fase                        | Quando   | Livello avviso | E-mail | Azione raccomandata  |
|--|-----------------------------|--|----------------|--------|--|
| Time Skew Detected (Rilevata differenza di orario) | Preparazione delle librerie | Il software ha rilevato una differenza di orario di più di un minuto tra il timestamp fornito da Workflow Manager e l'ora locale del server. | Avvertenza     | No     | <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Verificare l'ora locale sul computer di Workflow Manager.</li> <li>2. Verificare l'ora locale di Onsite Server riportata sull'interfaccia utente del Web (scheda Server Status - Stato server).</li> </ol> |

## Notifiche di errore irreversibile

Gli errori irreversibili sono condizioni che raggiungono uno stato terminale e per le quali non è possibile eseguire alcuna azione per riprendere l'esecuzione del saggio.

| Notifica  | Fase                        | Quando  | Livello avviso | E-mail | Azione raccomandata   |
|---|-----------------------------|---|----------------|--------|---|
| Batch Failure (Mancata riuscita del batch)  | Preparazione delle librerie | Il controllo qualità del batch non è stato superato.                            | Avviso         | Sì     | Riavviare la creazione della piastra della libreria.  |
| Report Generating Failure (Generazione del report non riuscita)                   | Creazione di report         | Il sistema non è stato in grado di generare un report.                          | Avviso         | Sì     | <ul style="list-style-type: none"> <li>• Verificare lo spazio su disco disponibile. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i> a pagina 70. Se lo spazio è limitato, liberare lo spazio su disco o eseguire il backup dei dati. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i> a pagina 70.</li> <li>• Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.</li> </ul> |
| Failed to Parse Run Parameters file (Analisi del file dei parametri non riuscita) | Sequenziamento              | Il sistema non è stato in grado di aprire/analizzare il file RunParameters.xml. | Avvertenza     | Sì     | Il file RunParameters.xml è danneggiato. Verificare la configurazione del sequenziatore e risequenziare il raggruppamento in pool.  |
| Unrecognized Run Parameters (Parametri della corsa non riconosciuti)              | Sequenziamento              | Il software ha letto parametri della corsa che non sono compatibili.            | Avvertenza     | Sì     | Il software non è stato in grado di creare i parametri della corsa di sequenziamento da file di configurazione del sequenziatore. Verificare la configurazione del sequenziatore e risequenziare il raggruppamento in pool.   |

| Notifica  | Fase                                 | Quando  | Livello avviso | E-mail | Azione raccomandata  |
|---|--------------------------------------|---|----------------|--------|--|
| Invalid Run Parameters (Parametri della corsa non validi)   | Sequenziamento                       | Il software ha letto parametri della corsa richiesti che non sono compatibili con il saggio.  | Avvertenza     | Sì     | La verifica della compatibilità del software non è riuscita. Verificare la configurazione del sequenziatore e risequenziare il raggruppamento in pool. |
| No Pool Barcode found (Non è stato trovato alcun codice a barre per il raggruppamento in pool)  | Sequenziamento                       | Il software non è stato in grado di associare la cella a flusso per la corsa di sequenziamento con un codice a barre noto.  | Avvertenza     | Sì     | La voce del codice a barre del raggruppamento in pool potrebbe essere errata. Risequenziare il raggruppamento in pool.                                 |
| Sequencing Completed but Pool Barcode File Missing (Sequenziamento completato ma manca il file del codice a barre del raggruppamento in pool) | Sequenziamento                       | La corsa di sequenziamento è stata completata ma il file contenente il codice barre del raggruppamento in pool non è stato rilevato.                                  | Avviso         | Sì     | Possibile errore sequenziatore. Contattare l'Assistenza Tecnica Illumina per assistenza.   |
| Unable to read Pool Barcode File (Impossibile leggere il file del codice a barre del raggruppamento in pool)                                  | Sequenziamento                       | Il file contenente il codice a barre del raggruppamento in pool è corrotto.   | Avviso         | Sì     | Possibile fallimento del sequenziatore o della rete. Contattare l'Assistenza Tecnica Illumina per assistenza.  |
| Pool Barcode File Mismatch (Mancata corrispondenza del file del codice a barre del raggruppamento in pool)                                    | Sequenziamento                       | Il file del codice a barre del raggruppamento in pool fa riferimento a un ID della cella a flusso diverso rispetto a quello associato con la corsa di sequenziamento. | Avviso         | Sì     | Possibile errore sequenziatore. Contattare l'Assistenza Tecnica Illumina per assistenza.   |
| Sequencing Timed Out (Timeout del sequenziamento)   | Sequenziamento                       | La corsa di sequenziamento non è stata completata nell'intervallo di tempo specificato.   | Avvertenza     | Sì     | Verificare il sequenziatore e la connessione di rete. Risequenziare il raggruppamento in pool.   |
| Sequencing QC files generation failed (La generazione dei file di controllo qualità per il sequenziamento non è riuscita)                     | Controllo qualità del sequenziamento | La corsa di sequenziamento è stata completata, ma i file di controllo qualità InterOp sono danneggiati.   | Avviso         | Sì     | Verificare il sequenziatore e la connessione di rete. Risequenziare il raggruppamento in pool.   |
| Sequencing QC failed (Il controllo qualità del sequenziamento non è riuscito)   | Controllo qualità del sequenziamento | La corsa di sequenziamento è stata completata e la verifica del controllo qualità del sequenziamento non è riuscito.  | Avviso         | Sì     | Risequenziare il raggruppamento in pool.   |

| Notifica   | Fase         | Quando  | Livello avviso | E-mail | Azione raccomandata  |
|--|--------------|---|----------------|--------|--|
| Analysis Failed for Maximum number of attempts (L'analisi non è riuscita entro il numero massimo di tentativi) | Analisi      | Tutti i tentativi di analisi non sono riusciti. Non è possibile riprovare.          | Avvertenza     | Sì     | Risequenziare il secondo raggruppamento in pool.   |
| Analysis Post-Processing Failed (L'analisi post-elaborazione non è riuscita)                                   | Post-analisi | Il software non è stato in grado di analizzare i risultati dopo l'elaborazione.     | Avviso         | Sì     | <ul style="list-style-type: none"> <li>Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate a pagina 70</i>.</li> <li>Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.</li> </ul> |
| Analysis Upload Failed (Caricamento analisi non riuscito)  | Post-analisi | Il software non è stato in grado di caricare i risultati dell'analisi nel database. | Avviso         | Sì     | <ul style="list-style-type: none"> <li>Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate a pagina 70</i>.</li> <li>Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.</li> </ul> |

## Procedure per le azioni raccomandate

| ID azione | Azione raccomandata                       | Fasi  |
|-----------|---|---|
| 1         | Verificare la connessione di rete         | <p>Assicurarsi che il sistema NAS di archiviazione remoto e la macchina locale siano sulla stessa rete.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Da una linea di comando (cmd) Windows, digitare il comando seguente: <b>ping &lt;IP Server&gt;</b><br/>                     Se si utilizza un sistema NAS, verificare anche la connessione con il sistema NAS.</li> <li>Assicurarsi che non vi siano pacchetti persi.<br/>                     Se vi sono pacchetti persi, contattare l'amministratore IT.</li> <li>Testare la connessione:                         <ol style="list-style-type: none"> <li>Accedere all'interfaccia utente Web di Onsite Server.</li> <li>Dal menu Dashboard (Pannello strumenti), selezionare <b>Folder</b> (Cartella).</li> <li>Selezionare <b>Test</b> (Testa) e determinare se il test è stato superato. Se il test non viene superato, vedere <i>Modifica di un'unità di rete condivisa a pagina 26</i> e assicurarsi che tutte le impostazioni siano configurate correttamente.</li> </ol> </li> </ol> |
| 2         | Verificare lo spazio su disco disponibile | <p>Assicurarsi che la macchina Windows venga mappata sulla cartella di Input (Input) di Onsite Server. Per maggiori informazioni, vedere <i>Mappatura delle unità del server a pagina 33</i>.</p> <p>Fare clic con il pulsante destro del mouse sull'unità che è mappata alla cartella degli input. Selezionare <b>Properties</b> (Proprietà) e visualizzare le informazioni relative allo spazio libero.</p>   |

| ID azione | Azione raccomandata                                  | Fasi  |
|-----------|--|---|
| 3         | Liberare spazio su disco/eseguire il backup dei dati | <p>Ilumina raccomanda un backup dei dati periodico e/o l'archiviazione dei dati del sequenziamento sul server. Per maggiori informazioni, vedere <i>Gestione di un'unità di rete condivisa</i> a pagina 26.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Per i dati archiviati localmente su Onsite Server: <ul style="list-style-type: none"> <li>Assicurarsi che la macchina Windows venga mappata sulla cartella di Input (Input) di Onsite Server. Per maggiori informazioni, vedere <i>Mappatura delle unità del server</i> a pagina 33.</li> <li>a. Fare doppio clic con il pulsante destro del mouse sulla cartella Input (Input) e inserire le credenziali per l'accesso.</li> <li>b. I dati della corsa di sequenziamento sono elencati con i nomi delle cartelle che corrispondono ai nomi delle corse di sequenziamento.</li> <li>c. Eliminare o eseguire il backup delle cartelle del sequenziamento elaborate.</li> </ul> </li> <li>2. Per i dati archiviati su un sistema NAS remoto: <ul style="list-style-type: none"> <li>Assicurarsi che il sistema NAS di archiviazione remoto e la macchina locale siano sulla stessa rete.</li> <li>Ottenere l'accesso alla cartella sull'unità remota. Sono richieste le credenziali di accesso che si possono ottenere dall'amministratore IT.</li> <li>a. I dati della corsa di sequenziamento sono elencati con i nomi delle cartelle che corrispondono ai nomi delle corse di sequenziamento.</li> <li>b. Eliminare o eseguire il backup delle cartelle del sequenziamento elaborate.</li> </ul> </li> </ol> |

## Problemi del sistema

| Problema                                | Azione raccomandata  |
|---|--|
| Il software non si avvia.               | Se vengono rilevati errori all'avvio di Assay Software, viene visualizzato un riepilogo di tutti gli errori invece della schermata Log In (Accesso). Rivolgersi all'Assistenza Tecnica Illumina per comunicare gli errori elencati.  |
| È richiesto il ripristino del database. | Se è richiesto un ripristino del backup di un database, rivolgersi a un tecnico dell'assistenza Illumina.  |
| Rilevato errore di sistema.             | Quando viene rilevato un errore di sistema, Assay Software non elabora più la comunicazione proveniente da altri componenti del sistema. Un amministratore può ripristinare il normale funzionamento del sistema dopo aver inserito lo stato di rilevamento dell'errore.   |
| Allarme del controller RAID si attiva.  | Un amministratore può selezionare il pulsante <b>Server alarm</b> (Allarme server) nella scheda Server Status (Stato server) nel Dashboard (Pannello strumenti) di Assay Software per silenziare l'allarme del controller RAID. Se viene premuto questo pulsante, contattare l'Assistenza Tecnica Illumina per ulteriore assistenza. |

## Test dell'elaborazione dei dati

I set di dati preinstallati su Onsite Server permettono di eseguire il test funzionale del server e del motore di analisi.

### Test del server

Questo test simula una corsa di sequenziamento simulando al contempo una generazione dei risultati dell'analisi, senza dover lanciare il gruppo di software di analisi. Eseguire questo test per assicurarsi che Onsite Server funzioni correttamente e che siano generati i report e le notifiche e-mail. Durata: circa 3-4 minuti.

### Procedura

- 1 Aprire la directory di input installata, quindi aprire la cartella TestingData (Dati del test).
- 2 Copiare una delle cartelle seguenti, che si trovano nella cartella TestingData (Dati del test):
  - ▶ Per i dati NextSeq: 170725\_NS500110\_0382\_AHT3MYBGX2\_Copy\_Analysis\_Workflow.
  - ▶ Per i dati NextSeqDx: 180911\_NDX550152\_0014\_AXXXXXXXXDX\_Copy\_Analysis\_Workflow.
- 3 Rinominare la copia in una cartella con un suffisso \_XXX. Il suffisso \_XXX rappresenta un conteggio sequenziale della corsa di prova. Ad esempio, se \_002 è presente nella cartella, rinominare la nuova copia con \_003.
- 4 Spostare la cartella rinominata nella cartella di input.
- 5 Attendere 3-5 minuti per il completamento della corsa. Assicurarsi che siano state ricevute le notifiche e-mail seguenti:
  - a Sequencing Run Analysis Started (Analisi della corsa di sequenziamento avviata)
  - b NIPT Report generated for Sequencing Run (Generato report NIPT per la corsa di sequenziamento)
 Associare entrambi i report con il nome del sequenziamento assegnato alla cartella.
- 6 Nella cartella di output, aprire la cartella TestData\_NS\_CopyWorkflow o TestData\_NDx\_CopyWorkflow e controllare uno dei report seguenti:

- ▶ Per NextSeq: TestData\_NS\_CopyWorkflow\_C\_TestData\_NS\_CopyWorkflow\_PoolC\_HT3MYBGX2\_nipt\_report\_AAAAMMGG\_HHMMSS.tab.
- ▶ Per NextSeqDx: TestData\_NDx\_CopyWorkflow\_C\_TestData\_NDx\_CopyWorkflow\_PoolC\_XXXXXXXXDX\_nipt\_report\_AAAAMMGG\_HHMMSS.tab.

La dimensione del file prevista è di circa 7 Kb.

- 7 Riportare la corsa di sequenziamento di prova nella cartella TestingData (Dati del test). Questa procedura permette di gestire il numero di volte che viene eseguita la prova di sequenziamento.



#### **NOTA**

È possibile eliminare vecchie copie dei file di analisi per creare spazio.

## **Esecuzione di un test di analisi completo sui dati**

Questo test esegue una corsa di analisi completa. Eseguire questo test se il server non elabora/analizza i dati o si verifica un timeout. Durata: circa 4-5 ore.

### **Procedura**

- 1 Aprire la directory di input installata e aprire la cartella TestingData (Dati del test).
- 2 Rinominare la cartella seguente aggiungendo il suffisso \_000: 180911\_NDX550152\_0014\_XXXXXXXXDX\_FullRun.  
Il suffisso crea un nome univoco per ciascuna corsa di sequenziamento. Se la corsa presenta già un suffisso, rinominare la cartella aumentando il valore numerico del suffisso di uno.
- 3 Spostare la cartella rinominata nella cartella di input.
- 4 Attendere circa 4-5 ore per il completamento dell'analisi. Assicurarsi che siano state ricevute le notifiche e-mail seguenti:
  - a Sequencing Run Analysis Started (Analisi della corsa di sequenziamento avviata)
  - b NIPT Report generated for Sequencing Run (Generato report NIPT per la corsa di sequenziamento)Associare entrambi i report con il nome del sequenziamento assegnato alla cartella.
- 5 Nella cartella di output, aprire la cartella TestData\_NDx\_FullRun e controllare il report seguente: TestData\_NDx\_FullRun\_C\_TestData\_NDx\_FullRun\_PoolC\_XXXXXXXXDX\_nipt\_report\_AAMMGG\_HHMMSS.tab.  
La dimensione del file prevista è di circa 7 Kb.
- 6 Riportare la corsa di sequenziamento di prova nella cartella TestingData (Dati del test).

# Appendice D Risorse aggiuntive

Dal sito Web di Illumina è possibile scaricare la seguente documentazione.

| Risorsa  | Descrizione  |
|--|--|
| VeriSeq NIPT Solution v2 Package Insert (documento n. 1000000078751) (Insero della confezione di VeriSeq NIPT Solution v2)   | Definisce il prodotto e l'uso previsto e fornisce le istruzioni per l'uso e le procedure per la risoluzione dei problemi.  |
| <i>Microlab® STAR Line Operator's Manual</i> , ID documento Hamilton 624668 (Manuale per l'operatore di Microlab® STAR Line) | Fornisce informazioni sul funzionamento e sulla manutenzione nonché specifiche tecniche per lo strumento di gestione automatizzata dei liquidi Hamilton Mircolab STAR. |

Visitare le [pagine di supporto](#) di VeriSeq NIPT Solution v2 sul sito Web Illumina per accedere alla documentazione, ai download del software, alla formazione online e alle domande frequenti.

# Appendice E Acronimi

| Acronimo | Definizione  |
|----------|--|
| BCL      | File di identificazione delle basi   |
| CE-IVD   | Marchio di conformità europeo per prodotti diagnostici <i>in vitro</i> .   |
| cfDNA    | DNA libero fetale  |
| DNA      | Acido desossiribonucleico  |
| DNS      | Sistema di nome di dominio   |
| FASTQ    | Formato file di testo per archiviare gli output ottenuti dagli strumenti di sequenziamento.  |
| FF       | Frazione fetale  |
| FIFO     | Primo entrato, primo uscito  |
| iFACT    | Test di sicurezza fetale delle aneuploidie individuale   |
| IP       | Protocollo Internet  |
| LIMS     | Sistema di gestione delle informazioni del laboratorio   |
| LIS      | Sistema delle informazioni del laboratorio   |
| LLR      | Distribuzioni dei rapporti di log-verosimiglianza  |
| MAC      | Controllo accesso media  |
| NAS      | Archiviazione collegata alla rete  |
| NES      | Siti non esclusi   |
| NGS      | Sequenziamento di nuova generazione  |
| NIPT     | Test prenatale non invasivo  |
| NTC      | Controllo non templatato   |
| NTP      | Protocollo sincronizzazione rete   |
| PF       | Che attraversano il filtro   |
| PQ       | Qualificazione del processo  |
| QC       | Controllo qualità  |
| Regex    | Espressione regolare. Una sequenza di caratteri che può essere utilizzata per algoritmi di corrispondenza di stringhe per la convalida dei dati. |
| RTA      | Real-Time Analysis   |
| RUO      | Solo a uso di ricerca  |
| SCA      | Aneuploidia del cromosoma sessuale   |
| SDS      | Schede dei dati di sicurezza   |
| SHA1     | Algoritmo di hash sicuro 1   |
| SSL      | Connessione protetta   |

# Assistenza Tecnica

Per l'assistenza tecnica, contattare l'Assistenza Tecnica Illumina.

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

## Numeri di telefono dell'Assistenza clienti Illumina

| Area geografica | Gratuito        | Regionale      |
|-----------------|-----------------|----------------|
| Nord America    | +1.800.809.4566 |                |
| Australia       | +1.800.775.688  |                |
| Austria         | +43 800006249   | +43 19286540   |
| Belgio          | +32 80077160    | +32 34002973   |
| Cina            | 400.066.5835    |                |
| Danimarca       | +45 80820183    | +45 89871156   |
| Finlandia       | +358 800918363  | +358 974790110 |
| Francia         | +33 805102193   | +33 170770446  |
| Germania        | +49 8001014940  | +49 8938035677 |
| Giappone        | 0800.111.5011   |                |
| Hong Kong       | 800960230       |                |
| Irlanda         | +353 1800936608 | +353 016950506 |
| Italia          | +39 800985513   | +39 236003759  |
| Paesi Bassi     | +31 8000222493  | +31 207132960  |
| Norvegia        | +47 800 16836   | +47 21939693   |
| Nuova Zelanda   | 0800.451.650    |                |
| Regno Unito     | +44 8000126019  | +44 2073057197 |
| Singapore       | +1.800.579.2745 |                |
| Spagna          | +34 911899417   | +34 800300143  |
| Svezia          | +46 850619671   | +46 200883979  |
| Svizzera        | +41 565800000   | +41 800200442  |
| Taiwan          | 00806651752     |                |
| Altri paesi     | +44.1799.534000 |                |

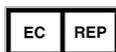
**Schede dei dati di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS):** sono disponibili sul sito Web Illumina all'indirizzo [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

**Documentazione dei prodotti:** la documentazione dei prodotti in formato PDF può essere scaricata dal sito Web Illumina. Andare alla pagina [support.illumina.com](http://support.illumina.com), selezionare un prodotto, quindi fare clic su **Documentation & Literature** (Documentazione e letteratura).



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122 U.S.A.  
+1.800.809.ILMN (4566)  
+1.858.202.4566 (fuori dal Nord America)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com

**CE**  
**2797**



Illumina Cambridge Limited  
Chesterford Research Park, Little Chesterford  
Saffron Walden, CB10 1XL  
REGNO UNITO

**Sponsor Australiano**  
Illumina Australia Pty Ltd  
1 International Court  
Scoresby, Victoria, 3179  
Australia

**PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO**

© 2019 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati.

**illumina®**