

illumina®

VeriSeq NIPT Solution v2

Guia do software

PROPRIEDADE DA ILLUMINA

Documento n.º 1000000067940 v08 PTB

Junho de 2023

PARA UTILIZAÇÃO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

O uso deste produto é regido por patentes de propriedade e sob licença da Illumina, Inc. O pagamento por este produto transfere direitos limitados e intransferíveis com relação ao uso previsto deste produto de acordo com sua respectiva documentação e com outros termos e condições associados. Uma lista representativa e incompleta dessas patentes pode ser acessada em www.illumina.com/patents. Nenhum direito sob qualquer outra patente ou para qualquer outro uso é expressamente transferido, por implicação ou por embargo.

Este documento e seu conteúdo são de propriedade da Illumina, Inc. e de suas afiliadas (“Illumina”) e destinam-se exclusivamente para fins contratuais junto a clientes com relação ao uso dos produtos descritos neste documento e para nenhuma outra finalidade. Este documento e seu conteúdo não devem ser usados ou distribuídos para qualquer outra finalidade, tampouco comunicados, divulgados ou reproduzidos de qualquer forma sem o consentimento prévio por escrito da Illumina. A Illumina não concede qualquer licença segundo seus direitos de patente, marca registrada, direitos autorais ou lei comum nem direitos semelhantes de terceiros por meio deste documento.

As instruções neste documento devem ser estrita e explicitamente seguidas por pessoal devidamente treinado e qualificado para garantir o uso adequado e seguro dos produtos descritos no presente documento. Todo o conteúdo deste documento deve ser lido e compreendido por completo antes da utilização de tais produtos.

NÃO LER COMPLETAMENTE E NÃO SEGUIR EXPLICITAMENTE TODAS AS INSTRUÇÕES AQUI CONTIDAS PODEM RESULTAR EM DANOS AO(S) PRODUTO(S), LESÕES PESSOAIS, INCLUSIVE USUÁRIOS OU OUTROS, E DANOS EM OUTROS BENS, ANULANDO QUALQUER GARANTIA APLICÁVEL AO(S) PRODUTO(S).

A ILLUMINA NÃO SE RESPONSABILIZA POR QUALQUER PROBLEMA CAUSADO PELO USO INDEVIDO DO(S) PRODUTO(S) MENCIONADO(S) ACIMA (INCLUINDO PARTES SEPARADAS OU O SOFTWARE).

© 2023 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados.

Todas as marcas comerciais pertencem à Illumina, Inc. ou aos respectivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte www.illumina.com/company/legal.html.

Histórico de revisões

Documento	Data	Descrição da alteração
Documento n.º 1000000067940 v08	Junho de 2023	Removidas as descrições das planilhas de amostras para lotes híbridos para alinhamento com a funcionalidade do software.
Documento n.º 1000000067940 v07	Fevereiro de 2023	<p>Modificadas as opções de configuração do servidor para aumentar a segurança. A alteração da senha de automação do ML STAR requer uma visita da equipe de serviços de campo da Illumina.</p> <p>Esclarecidas as diretrizes para a adição das informações dos códigos de barra às planilhas de amostras de entrada e para o carregamento das planilhas de amostras para lotes híbridos.</p> <p>Atualizadas as diretrizes para a criação de nomes de usuários.</p> <p>Removida a referência ao campo Network Password (Senha da rede) das instruções de configuração do servidor.</p> <p>Atualizado o exemplo fornecido para anomalia de deleção ou duplicação parcial.</p> <p>Adicionada regra de ordenação para o campo anomaly_description. Para anomalias no mesmo cromossomo, as aneuploidias cromossômicas totais vêm antes das deleções ou duplicações parciais.</p> <p>Adicionadas colunas Tipo e Regex aos relatórios Resultados e Notificações e Processo.</p> <p>Atualizado o texto em todo o documento para melhorar a clareza.</p>

Documento	Data	Descrição da alteração
Documento n.º 1000000067940 v06	Agosto de 2021	Atualizado o endereço do Representante autorizado na UE.
Documento n.º 1000000067940 v05	Setembro de 2020	<ul style="list-style-type: none"> • Adicionadas instruções para novos recursos de Criptografia de backup e Senha da rede. • Atualizada a seção Download e instalação de um certificado, com instruções mais detalhadas. • Adicionada a etapa para digitar a Senha da rede e um lembrete para gerar um certificado na seção Configuração do servidor para o Workflow Manager. • Atualizado o Mapeamento de unidades do servidor para indicar permissões somente de usuário administrador e atualizada a compatibilidade entre versões SMB. • Adicionada a referência à seção Criptografia de backup para arquivamento de dados para o servidor local. • Adicionada observação à introdução da IU da Web do Assay Software, indicando que não é possível acessar o software por meio de dispositivos móveis. • Adicionadas notas de esclarecimento sobre a capitalização de saídas no relatório de NIPT. • Atualizada a apresentação das informações das opções de valores para legibilidade humana na seção Relatórios de resultados e notificações. • Atualizada a convenção de nomenclatura para o Workflow Manager para exibir o nome completo do VeriSeq NIPT Workflow Manager de forma consistente.

Documento	Data	Descrição da alteração
Documento n.º 1000000067940 v04	Fevereiro de 2020	<ul style="list-style-type: none"> • Atualizados os tópicos Entrada da planilha de amostras e Carregar planilha de amostras para esclarecer a limitação da funcionalidade do carregamento da planilha de amostras. • Atualizados os endereços do Patrocinador australiano e da Illumina dos Países Baixos.
Documento n.º 1000000067940 v03	Outubro de 2019	<ul style="list-style-type: none"> • Adicionada uma seção de Considerações ambientais para o VeriSeq Onsite Server v2. • Atualizada a apresentação dos resultados das anomalias do cromossomo sexual na seção Relatórios de resultados e notificações do Apêndice B para corresponder à apresentação mostrada no Relatório do NIPT.
Documento n.º 1000000067940 v02	Abril de 2019	Adicionados detalhes aos relatórios do NIPT e suplementares para alinhamento com os materiais de treinamento.
Documento n.º 1000000067940 v01	Fevereiro de 2019	Lançamento do Guia do VeriSeq NIPT Solution v2 Software para uso pelo cliente.
Documento n.º 1000000067940 v00	Novembro de 2018	Versão inicial somente para uso interno

Índice

Histórico de revisões	iii
VeriSeq NIPT Solution v2	1
Introdução	1
Arquitetura do sistema	2
VeriSeq NIPT Workflow Manager	4
Introdução	4
VeriSeq NIPT Method	4
VeriSeq NIPT Batch Manager	5
Entrada da planilha de amostras	7
Invalidação de amostra, lote e pool	10
Carregar planilha de amostras	11
Cancelamento de amostras	12
VeriSeq NIPT Services	12
Iniciar o VeriSeq NIPT Services	12
Sequenciador de última geração	16
Introdução	16
Pool de sequência	16
Integração do armazenamento de dados	16
Capacidade de produtividade das análises	17
Restrições do tráfego da rede	17
VeriSeq NIPT Local Run Manager	17
VeriSeq NIPT Assay Software v2	19

Introdução	19
Componentes do VeriSeq NIPT Assay Software	19
Tarefas do VeriSeq NIPT Assay Software	21
Sequencing Handler	23
Analytic Pipeline Handler	24
Interface do usuário da Web	24
Acordo de licença de usuário final	25
Configurar a IU da Web	25
Fazer logon na IU da Web	26
O Painel	27
Gerenciar usuários	29
Gerenciar uma unidade de rede compartilhada	31
Definir configurações de redes e certificados	32
Configurar as notificações por e-mail do sistema	34
Configurar a criptografia de backup	35
Configurar as senhas da rede	36
Fazer logoff	37
Análise e geração de relatórios	37
Demultiplexação e geração de arquivos FASTQ	37
CQ de sequenciamento	38
Estimativas da fração fetal	39
Dados estatísticos usados na pontuação final	39
CQ de análise	40
CQ de amostras NTC	40
VeriSeq Onsite Server v2	40
Disco local	41
Banco de dados local	41
Arquivar dados	42
Mapear unidades do servidor	42
Reinicializar o servidor	43
Desligar o servidor	44
Recuperação após desligamento inesperado	44
Considerações ambientais	45
Métricas de controle de qualidade (CQ)	46

Métricas e limites de CQ para quantificação	46
Métricas e limites de CQ para sequenciamento	47
Relatórios do sistema	49
Introdução	49
Arquivos de saída	49
Estrutura de arquivos de relatórios	49
Resumo dos relatórios do sistema	51
Eventos de geração de relatórios	53
Relatórios de resultados e notificações	56
Relatório do NIPT	56
Relatório suplementar	66
Relatório de invalidação de amostras	72
Relatório de cancelamento de amostras	72
Relatório de solicitação de repetição do teste do pool	73
Relatórios de processos	73
Relatório de início de lote	73
Relatório de invalidação de lote	74
Relatório de amostra da biblioteca	75
Relatório de reagente da biblioteca	76
Relatório do material de laboratório da biblioteca	77
Relatório de quantificação da biblioteca	78
Registro de processo da biblioteca	78
Relatório do pool	80
Relatório de invalidação de pool	80
Relatório do sequenciamento	81
Relatório de falha de análise	82
Solução de problemas	83
Introdução	83
Notificações do Assay Software	83
Notificações de progresso	83

Notificações de invalidação	85
Notificações de erros recuperáveis	86
Notificações de erros irrecuperáveis	93
Procedimentos de ação recomendada	98
Problemas do sistema	100
Testes de processamento de dados	100
Testar o servidor	100
Dados de teste de execução de análise completa	101
Recursos e referências	103
Acrônimos	103
Assistência técnica	104

VeriSeq NIPT Solution v2

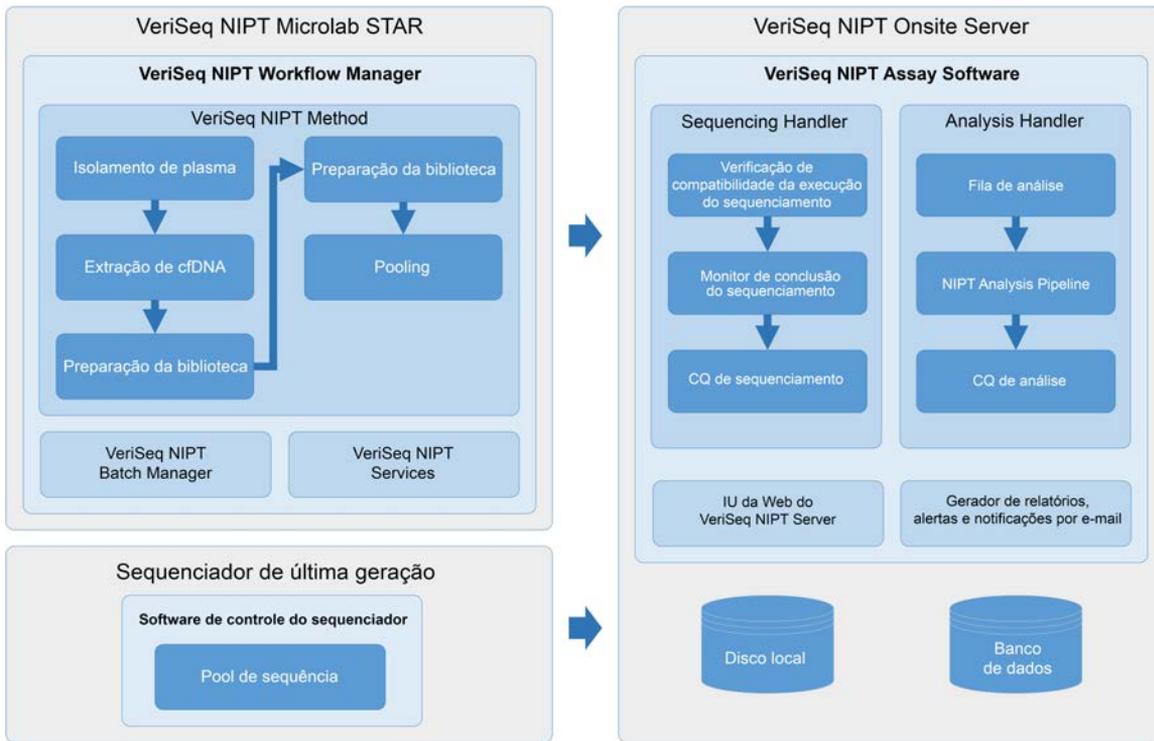
Introdução

O VeriSeq NIPT Solution v2 é um teste de diagnóstico *in vitro* para ser usado na triagem baseada em sequenciamento para a detecção de aneuploidias fetais com base em amostras de sangue total periférico de gestantes com pelo menos 10 semanas de gravidez. O teste oferece duas opções de tipos de triagem: básica e genômica ampla. A triagem básica fornece informações sobre o status da aneuploidia somente dos cromossomos 21, 18, 13, X e Y. A triagem genômica ampla fornece duplicações e deleções parciais para todos os autossomos e o status da aneuploidia de todos os cromossomos. Ambos os tipos de triagem oferecem uma opção para solicitar o relato de aneuploidia dos cromossomos sexuais (ACS). Com qualquer dos dois tipos de triagem, esse produto não deve ser usado como a única base para o diagnóstico ou para outras decisões relativas à conduta na gravidez.

A arquitetura do sistema VeriSeq NIPT Solution v2 é composta dos seguintes componentes:

- **VeriSeq NIPT Microlab STAR (ML STAR):** instrumento de manuseio automático de líquidos que usa o VeriSeq NIPT Workflow Manager e o VeriSeq NIPT Sample Prep Kits para preparar e rastrear amostras de biblioteca. O ML STAR usa o VeriSeq NIPT Assay Software v2 para preparar amostras destinadas a análise, de acordo com as instruções de uso encontradas no *Folheto informativo do VeriSeq NIPT Solution v2 (documento n.º 1000000078751)*.
- **Instrumento de sequenciamento de última geração:** instrumento de sequenciamento genômico amplo que permite o sequenciamento e a clusterização no instrumento. O software de controle fornece as etapas para a configuração de uma execução do sequenciamento e gera leituras de sequenciamento para todas as amostras do pool da biblioteca quantificada.
- **VeriSeq Onsite Server v2:** servidor que contém o VeriSeq NIPT Assay Software v2 e armazena os dados para analisar dados de sequenciamento tipo paired-end. O VeriSeq NIPT Assay Software monitora e analisa continuamente dados de sequenciamento e produz resultados de amostras, relatórios de processos e notificações.

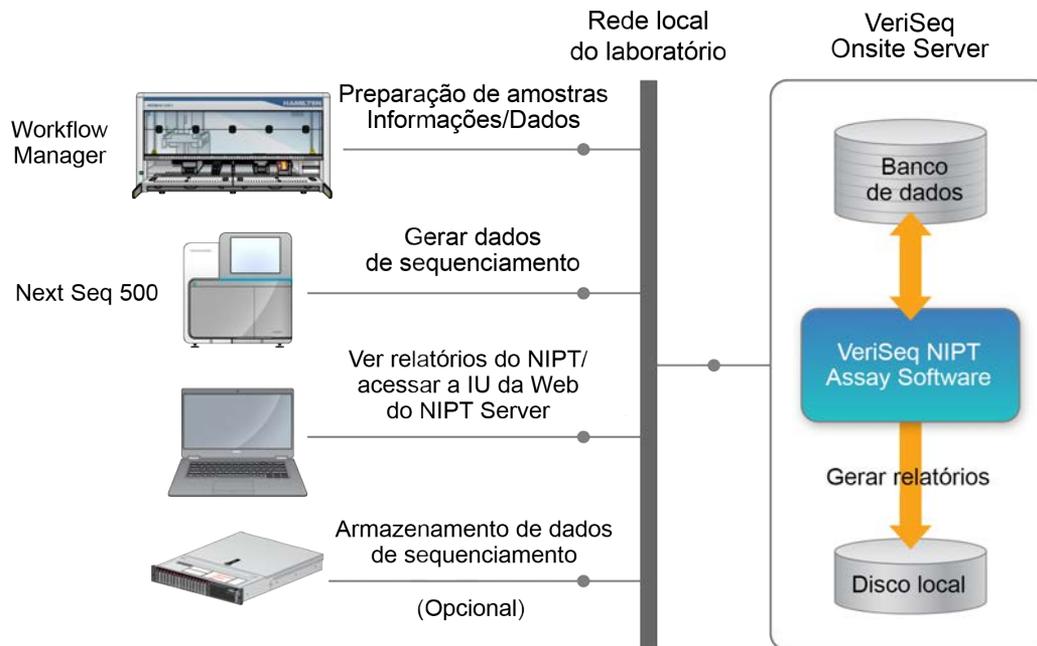
Figura 1 Componentes do VeriSeq NIPT Solution v2



Arquitetura do sistema

O VeriSeq NIPT Solution v2 usa a rede local (LAN) do laboratório para conectar todos os equipamentos do sistema usando a mesma sub-rede. O uso da LAN permite um posicionamento flexível do equipamento e uma produtividade expansível por meio da conexão de instrumentos adicionais e/ou de estações de trabalho ML STAR. A ilustração a seguir fornece uma visão geral da arquitetura do sistema.

Figura 2 Visão geral da arquitetura do VeriSeq NIPT Solution v2



VeriSeq NIPT Workflow Manager

Introdução

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

O VeriSeq NIPT Workflow Manager fornece acesso aos seguintes módulos de software, também conhecidos como métodos:

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

VeriSeq NIPT Method

O VeriSeq NIPT Method direciona o processamento automático das amostras no ML STAR. O método executa as seguintes etapas de processamento:

- **Plasma Isolation** (Isolamento de plasma): transfere 1 ml de plasma isolado de um tubo de coleta de sangue. A lógica do processo cria um lote com o VeriSeq NIPT Assay Software. Cada lote contém dados da amostra, incluindo o código de barras da amostra, o tipo de amostra, o tipo de triagem, a posição do poço e a identificação das informações sobre o sexo.
- **cfDNA Extraction** (Extração de cfDNA): purifica o cfDNA de 900 µl de plasma.
- **Library Preparation** (Preparação da biblioteca): cria bibliotecas de cfDNA purificado pronto para sequenciamento. As bibliotecas incluem índices exclusivos para cada amostra do lote.
- **Library Quantification** (Quantificação da biblioteca): determina a concentração de cfDNA usando um corante fluorescente intercalado no formato de microplaca de 384 poços. A placa inclui uma curva padrão de DNA identificada e duplicatas de cada amostra do lote. O sistema utiliza as leituras de fluorescência não processadas do leitor da microplaca e calcula as concentrações da amostra com base na curva padrão.
- **Pooling and Normalization** (Pooling e normalização): combina bibliotecas em pools únicos para sequenciamento. O sistema usa as concentrações anteriormente determinadas para calcular os volumes de transferência adequados de cada amostra no pool pronta para sequenciamento.

VeriSeq NIPT Batch Manager

O VeriSeq NIPT Batch Manager gerencia o status das amostras, dos lotes e dos pools por meio da interface do usuário. O sistema permite o rastreamento das amostras em vários sistemas de manuseio de líquidos e instrumentos de sequenciamento e por meio do pipeline de análise. Para obter mais informações sobre procedimentos de processamento de amostras, consulte o *Folheto informativo do VeriSeq NIPT Solution v2 (documento n.º 1000000078751)*.

Você pode gerenciar amostras no fluxo de trabalho por três categorias diferentes, designadas como objetos: Esses objetos são descritos na tabela a seguir.

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

A tabela a seguir descreve as ações que podem ser aplicadas aos objetos durante o processamento.

Ação	Objeto	Relatório gerado	Descrição
Invalidação	Amostra	Invalidação de amostras	Amostra identificada pelo usuário como não sendo mais válida para processamento. Nenhum resultado de teste é gerado para amostras invalidadas. Exemplo: contaminação cruzada visível de células sanguíneas durante o isolamento do plasma.
	Lote	Invalidação do lote	Lote identificado pelo usuário como não sendo mais válido. Se a invalidação do lote ocorrer antes da geração do pool, todas as amostras serão invalidadas. Exemplo: queda da placa ou manuseio incorreto dela.

Ação	Objeto	Relatório gerado	Descrição
Invalidação	Pool	Invalidação do pool	Pool identificado pelo usuário como não sendo mais válido. Depois de duas invalidações de pool, todas as amostras no pool são invalidadas. Exemplo: volume total do pool utilizado durante duas falhas de sequenciamento.
Falha no CQ	Amostra	Invalidação de amostras	O VeriSeq NIPT Solution v2 identificou a amostra automaticamente como inválida devido à falha de uma métrica específica de CQ ou a uma falha no manuseio de líquidos detectada pelo sistema.
	Lote	Invalidação do lote	O VeriSeq NIPT Solution v2 identificou todo o lote automaticamente como inválido. Exemplo: falha do sistema durante o manuseio de líquidos.
Cancelamento	Amostra	Cancelamento de amostras	A direção do laboratório identificou a amostra como cancelada. Nenhum resultado de teste gerado.
Editar atributos da amostra	Amostra	Informações sobre o sexo	Informações sobre o sexo identificadas pelo usuário como Yes (Sim), No (Não) ou SCA (ACS). <ul style="list-style-type: none"> • Yes (Sim): o sexo da amostra é gerado. • No (Não): o sexo da amostra não é gerado. • SCA (ACS): somente aneuploidias do cromossomo sexual são relatadas.
	Amostra	Tipo de amostra	Tipo de amostra identificado pelo usuário como Singleton (Gestação única), Twin (Gêmeos), Control (Controle) ou No Template Control (NTC) (Controle sem modelo [NTC]). A designação do tipo da amostra afeta diretamente a análise do teste. Para garantir resultados de teste precisos, o tipo da amostra tem de ser preciso.
	Amostra	Tipo de triagem	O tipo de triagem identificado pelo usuário como básica (21, 18, 13, X e Y apenas) ou genômica ampla (todos os cromossomos).

Após uma invalidação, uma falha de CQ ou uma ação de cancelamento, o objeto não será mais processado. Os sistemas de gerenciamento de informações de laboratório (LIMS) podem usar relatórios de invalidação de amostras para indicar o reprocessamento de amostras com o tubo de coleta de sangue.

Entrada da planilha de amostras

A planilha de amostras de entrada fornece informações sobre a amostra relacionadas com o paciente, incluindo o tipo de amostra e o status das informações dos cromossomos sexuais. O sistema solicita informações completas sobre a amostra para que possa gerar pools de sequenciamento.

A planilha de amostras de entrada precisa ser um arquivo de texto delimitado por tabulações (*.txt). Os nomes das colunas dos cabeçalhos do arquivo têm de corresponder aos nomes das colunas dos cabeçalhos exatamente como são exibidos na tabela a seguir.

Coluna do cabeçalho	Tipo de dados	Requisito	Descrição
batch_name	Cadeia de texto/em branco	Obrigatório	Indica o nome do lote da amostra. Deve corresponder ao nome do lote inserido no método de chamada (Workflow Manager) para confirmar que a planilha de amostras de entrada está associada ao lote correto. Pode ter no máximo 26 caracteres. A coluna pode ser deixada em branco. Planilhas de amostras sem uma coluna batch_name não serão aceitas.
sample_barcode	Cadeia de texto	Obrigatório	Códigos de barras dos tubos de amostras de sangue carregados no ML STAR. Se for usado um valor inteiro como código de barras da amostra, este não deverá ultrapassar 15 dígitos. Um código de barras alfanumérico da amostra pode ter no máximo 32 caracteres. Use apenas números, letras, traços (-) e sublinhados (_). O código de barras da amostra não diferencia maiúsculas de minúsculas. Códigos de barra que diferenciam maiúsculas de minúsculas não são considerados exclusivos. O código de barras da amostra deve ser exclusivo e não deve ser diferenciado somente na capitalização. Por exemplo, os nomes de amostra Sample01 e sample01 não são exclusivos.

Coluna do cabeçalho	Tipo de dados	Requisito	Descrição
sample_type	Cadeia de texto	Obrigatório	Indica o tipo de amostra para análise. Os valores permitidos são Singleton (Gestação única), Twin (Gêmeos), Control (Controle) e NTC.
sex_chromosomes	Cadeia de texto	Obrigatório	Indica as informações dos cromossomos sexuais do feto. Os valores permitidos são yes (sim) (informar), no (não) (não informar) e sca (acs) (informar apenas aneuploidias do cromossomo sexual).
screen_type	Cadeia de texto	Obrigatório	Indica o tipo de triagem para análise. Os valores permitidos são “basic” (básica) e “genomewide” (genômica ampla).

A planilha de amostras de entrada é carregada durante o isolamento ou pooling do plasma e pode ser feita com o Batch Manager. O sistema aplica automaticamente códigos de barra, tipo de triagem, tipo de amostra e informações sobre sexo para NTCs. São solicitadas informações diferentes no caso de a planilha de amostras ser carregada durante o isolamento ou pooling do plasma. As informações da amostra são confirmadas durante o processo de carregamento da amostra. Carregamentos de amostras feitos durante o isolamento do plasma podem incluir uma lista completa de amostras ou um subconjunto de amostras. Durante o pooling, o sistema solicita todas as informações ausentes das amostras não carregadas durante o isolamento do plasma, mesmo para NTCs (ou seja, cromossomo sexual e tipo de triagem).



CUIDADO

Para evitar erros, não inclua informações de amostras ou linhas para NTCs na planilha de amostras durante a etapa de isolamento do plasma.

Você pode controlar o carregamento de todas as amostras de um lote geradas pelo LIMS ou de amostras específicas que precisem ser testadas novamente. Se as amostras forem carregadas para serem testadas novamente, preencha as posições abertas remanescentes com amostras disponíveis.

Escolha entre as seguintes estratégias para usar as planilhas de amostras:

- Lotes predefinidos (lotes criados pelo LIMS)
- Lotes ad hoc (lotes criados pelo VeriSeq NIPT Workflow Manager)

Lotes predefinidos

Você pode usar o LIMS para criar lotes antes do início do processamento das amostras. Em lotes predefinidos, todas as amostras já são associadas a um lote antes de ser carregadas no ML STAR. A planilha de amostras carregada durante o isolamento do plasma inclui todas as amostras do lote e

todas as informações das amostras. As planilhas de amostras de lotes criados em um LIMNS devem incluir valores na coluna ID do lote. A inclusão do ID do lote ajuda a garantir que o nome correto do ID do lote tenha sido manualmente inserido no Workflow Manager no início do processamento.

A abordagem de lotes predefinidos identifica as amostras exatas carregadas, porque o sistema requer que todas as amostras da planilha de amostras estejam no lote. Não são necessárias outras informações. O laboratório pode ir para o relatório final sem a introdução de dados adicionais.

Os recursos e requisitos da abordagem de lotes predefinidos são indicados a seguir.

- Permite o controle completo do conteúdo dos lotes.
- Evita o carregamento de amostras indesejadas.
- Requer um sistema para a criação de lotes com base no inventário (LIMS avançado).
- Pode ser necessário que o pessoal do laboratório recupere as amostras corretas no armazenamento. Como alternativa, requer formações do cromossomo sexual da a um sistema de armazenamento de amostras avançado.

Lotes ad hoc

Você pode criar lotes no laboratório coletando fisicamente tubos de amostra e carregando-os no ML STAR durante o isolamento do plasma. Não é necessária qualquer associação prévia de amostras com lotes. Você determina quais amostras serão incluídas no lote.

Quando solicitado pelo Workflow Manager, selecione **No Sample Sheet** (Nenhuma planilha de amostras) durante o isolamento do plasma. O Workflow Manager associa as amostras carregadas ao ID do lote introduzido manualmente e gera um relatório de início de lote.

Os recursos e requisitos da abordagem de lotes ad hoc são indicados a seguir.

- Não é necessário um LIMS ou uma planilha de amostras.
- Você pode modificar o relatório de início de lote com informações sobre tipo de amostra, tipo de triagem e sexo para carregamento durante o pooling. Você pode adicionar amostras a qualquer momento.
- Não existe um controle automatizado sobre quais amostras estão incluídas no lote. Você pode carregar uma amostra não desejada.
- O carregamento dos dados das amostras tem de ser feito durante o pooling.

Editar atributos da amostra

Antes de iniciar uma execução do sequenciamento, você pode usar o VeriSeq NIPT Batch Manager para alterar informações do cromossomo sexual da amostra, o tipo de triagem e os atributos do tipo da amostra.

1. Acesse o Batch Manager. Para obter detalhes, consulte [Acessar o Batch Manager na página 10](#).
2. Insira o ID do lote e o nome do usuário ou as iniciais do operador e, em seguida, selecione **OK**.
3. No diagrama de placas do lote, selecione a posição do poço associada a uma amostra.

4. Confirme se a amostra correta é exibida e, em seguida, selecione um atributo do tipo de amostra na lista suspensa Sample Type (Tipo de amostra).
5. Selecione um atributo de informações sobre sexo na lista suspensa Sex Reporting (Informações sobre sexo).
6. Selecione um atributo de tipo de triagem na lista suspensa Screen Type (Tipo de triagem).
7. Selecione **Edit** (Editar).

Invalidação de amostra, lote e pool

Dependendo da etapa do processamento das amostras, você pode invalidar uma amostra específica, um lote ou um pool de amostras. Após a invalidação, a amostra, lote ou pool não é mais processado.

Em qualquer instante antes de gerar um relatório de teste, use o VeriSeq NIPT Method ou o Batch Manager para invalidar uma ou mais amostras.

Invalidação usando o VeriSeq NIPT Method

Para invalidar amostras, execute as etapas a seguir durante o processamento das amostras.

1. Na janela Well Comments (Comentários do poço) no fim de cada processo do Workflow Manager, selecione os poços individuais a serem invalidados e selecione **OK**.
2. Selecione pelo menos uma anotação nos menus suspensos ou marque a caixa de seleção **Other** (Outro) e insira um comentário.
3. Marque a caixa de seleção **Fail Sample** (Invalidar amostra) e selecione **OK**.
4. Certifique-se de que o sistema invalidará a amostra.

Invalidação usando o Batch Manager

Use o Batch Manager para invalidar:

- Uma amostra.
- Um lote antes da conclusão da etapa de pool.
- Um pool de amostras após a conclusão da etapa de pool e antes da geração de um relatório de teste.

OBSERVAÇÃO Saia de qualquer método de execução antes de executar o Batch Manager.

Acessar o Batch Manager

Para acessar o Batch Manager, execute uma das seguintes ações:

- No App Launcher (Iniciador de aplicativos), selecione **VeriSeq NIPT Batch Manager**.

- Em um computador conectado à rede, acesse `C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT` e abra o arquivo de método do Batch Manager (`VeriSeqNIPT_Batch_Manager.med`) com o Hamilton Run Controller.

Invalidação de amostras

1. Acesse o Batch Manager.
2. Insira o ID do lote e o nome do usuário ou as iniciais do operador e selecione **OK**.
3. No diagrama de placas do lote, selecione a posição do poço associada à amostra que apresentou falha.
4. Confirme se a amostra correta é exibida e selecione **Invalidate Sample** (Invalidar amostra).
5. Insira o motivo da falha e selecione **Invalidate** (Invalidar).
No diagrama de placas do lote, a amostra invalidada muda de verde para vermelho e a etiqueta de status muda de válida para com falha.

Invalidação do lote

1. Acesse o Batch Manager.
2. Insira o ID do lote e o nome do usuário ou as iniciais do operador e selecione **OK**.
3. No diagrama de placas do lote, selecione **Invalidate Batch** (Invalidar lote).
4. Insira o motivo da falha e selecione **Invalidate** (Invalidar).
No diagrama de placas do lote, se não existirem pools válidos para o lote, todas as amostras mudarão de verde para vermelho. Os pools válidos do lote permanecerão válidos.

Invalidação do pool

1. Acesse o Batch Manager.
2. Insira o ID do lote e o nome do usuário ou as iniciais do operador e selecione **Pool Manager**.
3. Leia o código de barras do pool.
4. Insira o nome do usuário ou as iniciais do operador e selecione **OK**.
5. Insira o motivo da falha e selecione **Invalidate** (Invalidar).

Carregar planilha de amostras

O usuário pode carregar uma planilha que contenha informações da amostra por meio do Batch Manager. Use esse recurso para carregar ou alterar as informações da amostra em grandes conjuntos.

1. Acesse o Batch Manager.
2. Insira o ID do lote e o nome do usuário ou as iniciais do operador e selecione **OK**.
3. Selecione **Upload New Sample Sheet** (Carregar nova planilha de amostras).

4. Procure e selecione a planilha de amostras desejada e, em seguida, selecione **OK**.

Para obter detalhes sobre as informações a serem incluídas na planilha de amostras, consulte [Entrada da planilha de amostras na página 7](#).

Cancelamento de amostras

1. Acesse o Batch Manager.
2. Insira o ID do lote e o nome do usuário ou as iniciais do operador e selecione **OK**.
3. No diagrama de placas do lote, selecione a posição do poço associada à amostra cancelada.
4. Confirme se a amostra correta é exibida e selecione **Cancel Sample** (Cancelar amostra).
5. Insira o motivo da falha e selecione **Cancel** (Cancelar).

No diagrama de placas do lote, a amostra cancelada muda de verde para vermelho.

VeriSeq NIPT Services

Os VeriSeq NIPT Services (Serviços) incluem várias ferramentas usadas para configurar e verificar o ML STAR e o Workflow Manager. Essas ferramentas não são necessárias para o funcionamento normal do sistema, mas podem ser necessárias para ajudar o Suporte técnico da Illumina ou da Hamilton durante a solução de problemas do sistema. Essas ferramentas também são usadas para ajustar os parâmetros do sistema em virtude de um desvio na densidade do cluster.

Iniciar o VeriSeq NIPT Services

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

Acesse o VeriSeq NIPT Services usando um dos seguintes métodos:

- No App Launcher (Iniciador de aplicativos), selecione **VeriSeq NIPT Services**.
- Em um computador conectado à rede, acesse `C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT\` e abra o arquivo de método do VeriSeq NIPT Service (`VeriSeqNIPT_Service.med`) com o Hamilton Run Controller.

A ferramenta Services habilita o seguinte:

- **Individual Tests** (Testes individuais): testes de componentes utilizados para a solução de problemas no hardware do ML STAR.
- **Service Tools** (Ferramentas de serviço): ferramentas usadas para configurar o Workflow Manager.

Testes individuais

Para ajudar na solução dos problemas de hardware encontrados no Workflow Manager, pode ser necessário realizar os testes do sistema a seguir.

Teste do sistema	Descrição
Barcode/Autoload (Código de barras/carregamento automático)	Testes para a configuração adequada da plataforma do sistema, AutoLoader e funcionalidade de leitura de códigos de barras.
CPAC	Testa o funcionamento de sistemas de aquecimento do CPAC na plataforma. Verifica também a fiação adequada entre cada unidade e a caixa de controle.
BVS Vacuum (Vácuo BVS)	Testa o funcionamento do BVS (Basic vacuum system, Sistema de vácuo básico) para confirmar se é possível gerar o vácuo e atingir as pressões operacionais.
Independent Channel (Canal independente)	Testa o funcionamento dos canais de pipetagem independentes. Executa o teste de retenção de líquido para detectar o gotejamento dos canais de pipetagem e a consistência dos volumes de distribuição.
iSwap	Testa o funcionamento do braço robótico iSwap e confirma as posições macroscópicas da plataforma.
96-Head (Cabeça de 96)	Testa o funcionamento da cabeça de 96 pipetas CO-RE. Executa o teste de retenção de líquido para detectar o gotejamento dos canais de pipetagem e a consistência dos volumes de distribuição.

Execute testes individuais conforme descrito a seguir.

1. Selecione um teste específico para ser executado.

OBSERVAÇÃO A execução completa da IOQ (Installation and Operational Qualification, Instalação e qualificação operacional) conduz todos os seis testes sequencialmente.

2. Siga as instruções na tela e anote as observações do funcionamento do equipamento e quaisquer erros do sistema encontrados.
3. Ao terminar, selecione **Abort** (Anular) para sair do método.
4. Se for solicitado que você forneça os registros de traçado do sistema gerados durante o teste, eles estarão disponíveis em C:\Program Files (x86)\HAMILTON\LogFiles e começarão com VeriSeqNIPT_Services.

Ferramentas de serviço

As ferramentas de serviço permitem a configuração do Workflow Manager e de alguns parâmetros de ensaio.

Teste do sistema	Descrição
Server Configuration (Configuração do servidor)	Configura e testa a conexão entre o VeriSeq NIPT Workflow Manager e o VeriSeq NIPT Assay Software. A comunicação apropriada entre esses sistemas é necessária para a execução do Workflow Manager.
Assay Configuration (Configuração do ensaio)	Usada para redefinir a concentração padrão da biblioteca.
Deck Teach Tool (Ferramenta de obtenção)	Usada para exportar e importar as posições de obtenção de um arquivo.

Configuração do servidor

Se o endereço de rede do VeriSeq Onsite Server v2 mudar, direcione o Workflow Manager para o novo endereço, como mostrado a seguir:

1. No menu Services Tools (Ferramentas de serviços), selecione **Server Configuration** (Configuração do servidor).
2. Atualize o URL com o novo endereço do servidor local.
3. Selecione **Test Connection** (Testar conexão) para enviar uma mensagem de teste. Se essa mensagem não for recebida, entre em contato com o Suporte técnico da Illumina.
4. Na tela System Configuration (Configuração do sistema), selecione **OK** e, em seguida, selecione **Apply** (Aplicar) para salvar o novo endereço.

Quando você atualiza o endereço da rede, também deve atualizar o certificado Secure Sockets Layer (SSL) do PC que está executando o Workflow Manager. Acesse o VeriSeq NIPT Assay Software v2 nesse PC e consulte [Baixar e instalar um certificado na página 33](#).

Somente engenheiros de atendimento de campo da Illumina podem atualizar a senha de automação do ML STAR. Antes de alterar a senha armazenada no servidor pela interface da Web, certifique-se de que um membro da equipe de atendimento de campo da Illumina tenha visitado seu local e atualizado a senha do ML STAR. Se você atualizar a senha na interface da Web do servidor sem atualizá-la no ML STAR, o sistema se tornará inutilizável.

Configuração do ensaio

Também é possível usar a ferramenta de configuração do ensaio para definir o valor dos seguintes parâmetros:

- **Target Library Concentration** (Concentração pretendida da biblioteca): define o valor da concentração padrão das bibliotecas nos pools do sequenciador no Workflow Manager. Os valores da concentração são aplicados para cada execução durante o processo de pooling. Para obter mais informações, consulte o *Folheto informativo do VeriSeq NIPT Solution v2 (documento n.º 1000000078751)*.
- **Default Sex Chromosome Reporting** (Informações padrão do cromossomo sexual): determina o atributo que será conferido às amostras quando o botão Use Default (Usar padrão) for selecionado durante a preparação das amostras. Defina esse parâmetro como Yes (Sim) ou No (Não).
- **Screen Type** (Tipo de triagem): determina o tipo de triagem de uma amostra. Defina esse parâmetro como Basic (Básica) ou Genomewide (Genômica ampla).

Configure os parâmetros de ensaio como mostrado a seguir.

1. Selecione **Assay Configuration** (Configuração do ensaio) e configure os parâmetros, conforme necessário.
 - Atualize a caixa Target Library Concentration (Concentração pretendida da biblioteca) (pg/μl) para o valor desejado.
 - Atualize as Default Sex Chromosome Reporting (Informações padrão do cromossomo sexual) para o valor desejado.
 - Atualize o Screen Type (Tipo de triagem) para a opção desejada.
2. Selecione **Apply** (Aplicar).

Ferramenta de obtenção

Durante a solução de problemas, poderá ser necessário exportar os valores da posição obtida. Use a ferramenta de obtenção para gerar uma lista das posições junto com seus respectivos valores.

1. Selecione **Deck Teach Tool** (Ferramenta de obtenção).
2. Selecione **Export** (Exportar).
3. O local de saída padrão será o local listado. Aceite o local padrão ou selecione um local de saída para o arquivo de texto que contém as posições de obtenção.
4. Selecione **OK**.

A ferramenta de obtenção salva um arquivo de texto com os valores de todas as posições do material de laboratório obtidas para a instalação do Workflow Manager.
5. Selecione **Cancel** (Cancelar) para retornar à tela Method Selection (Seleção do método).

Sequenciador de última geração

Introdução

Um sistema de sequenciamento de última geração gera leituras de sequenciamento para todas as amostras do pool de bibliotecas quantificadas e se integra com o VeriSeq NIPT Solution v2 por meio do servidor local. Os dados de sequenciamento são avaliados pelo Analysis Handler do VeriSeq NIPT Assay Software.

Considere o seguinte quando integrar um sistema de sequenciamento de última geração com o VeriSeq NIPT Solution v2.

- Integração do armazenamento de dados
- Capacidade da produtividade das análises
- Restrições do tráfego da rede

Pool de sequência

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

- Produção de 2 x 36 leituras tipo paired-end
- Compatível com adaptadores de índice do VeriSeq NIPT Sample Prep Kit
- Química de dois canais
- Produção automática de arquivos de Identificação de bases (BCL)

Integração do armazenamento de dados

Uma execução de sequenciamento típica do VeriSeq NIPT Solution v2 requer 25 a 30 GB para dados de sistemas de sequenciamento de última geração. O tamanho real dos dados pode variar com base na densidade de cluster final. O servidor local dispõe de mais de 7,5 TB de espaço de armazenamento, o que é suficiente para cerca de 300 execuções de sequenciamento ($7.500/25 = 300$).

Para fins de armazenamento de dados, mapeie o sistema de sequenciamento de última geração no servidor local para um dos seguintes métodos:

- Use o servidor local como repositório temporário de dados. Nessa configuração, o instrumento é mapeado diretamente no servidor e os dados continuam na unidade local.

- Para laboratórios com maior produtividade, use armazenamento ligado à rede (NAS). Configure o sistema de sequenciamento de última geração para manter os dados de sequenciamento diretamente em um local específico do NAS.
Nessa configuração, o servidor local é configurado para monitorar o local específico do NAS que permite que o servidor monitore execuções do sequenciamento futuras. Vários sistemas de sequenciamento de última geração podem ser adicionados para aumentar a produtividade das amostras. Para obter mais informações sobre como mapear o servidor no NAS, consulte [Gerenciar uma unidade de rede compartilhada na página 31](#).

Para obter mais informações sobre como mapear sistemas de sequenciamento de última geração no servidor ou no NAS, consulte o guia do usuário do sistema.

Capacidade de produtividade das análises

O pipeline de análise do VeriSeq NIPT normalmente processa dados para uma única execução do sequenciamento em aproximadamente cinco horas. Ao expandir o laboratório quanto à produtividade das amostras, leve em consideração que um único servidor consegue processar no máximo quatro execuções por dia, totalizando 48 amostras x 4 = 192 amostras por dia. Entre em contato com o Suporte técnico da Illumina para obter soluções adicionais de produtividade.

Restrições do tráfego da rede

O VeriSeq NIPT Solution v2 usa a LAN do laboratório para transmissão de dados entre o sistema de sequenciamento de última geração, o servidor local e o NAS (se configurado). Para aumentar a produtividade das amostras, considere as seguintes restrições de tráfego da infraestrutura de TI:

- O tráfego de dados médio de aproximadamente 25 GB gerado em cerca de 10 horas é de aproximadamente, 0,7 MB/s por sequenciador.
- A infraestrutura do laboratório também pode dar suporte a outras fontes de tráfego que precisam ser levadas em consideração.

VeriSeq NIPT Local Run Manager

Se você usa um sistema de sequenciamento de última geração que possui o módulo VeriSeq NIPT Local Run Manager, prepare o sequenciamento como descrito a seguir.

1. No VeriSeq NIPT Local Run Manager, selecione **Create Run** (Criar execução).
2. No menu suspenso, selecione **VeriSeq NIPT**.
3. Preencha os seguintes campos:
 - Nome da execução
 - Descrição da execução (opcional)

- Código de barras do pool



CUIDADO

O código de barras do pool inserido no módulo Local Run Manager deve corresponder ao código de barras do pool inserido no Workflow Manager. Configurações incorretas de execuções são rejeitadas pelo VeriSeq NIPT Assay Software, podendo ser necessário o ressequenciamento. Os códigos de barras dos pools devem ser novos e exclusivos. Ocorrerá uma falha na análise se o código de barras estiver associado a um lote previamente analisado.

4. Selecione **Save Run** (Salvar execução).

Quando terminar de configurar a execução, você poderá iniciá-la usando o software do instrumento.

VeriSeq NIPT Assay Software v2

Introdução

O VeriSeq NIPT Assay Software v2 gera dados estatísticos para avaliar o número de cópia do cromossomo das amostras testadas e fornece uma determinação de aneuploidia nos cromossomos selecionados para análise. A seleção de cromossomos para análise depende do tipo de triagem selecionado: básica (cromossomos 21, 18, 13, X e Y) ou genômica ampla (todos os cromossomos). Ao selecionar a opção genômica ampla, o software também testa a presença de regiões subcromossômicas de ganho ou perda do número de cópia no autossomo. Um instrumento de sequenciamento de última geração gera entradas de análises na forma de leituras tipo paired-end de 36 bases.

O VeriSeq NIPT Assay Software v2 funciona no VeriSeq Onsite Server v2. O servidor local é um componente central do VeriSeq NIPT Solution v2 e atua como ponto de ligação entre o VeriSeq NIPT Workflow Manager, o sistema de sequenciamento de última geração e o usuário.

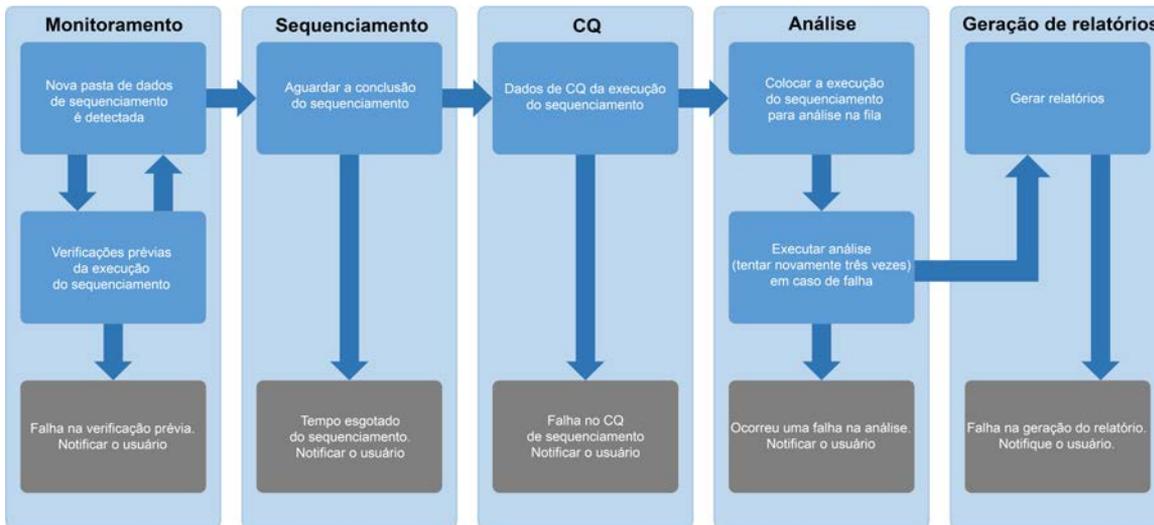
O VeriSeq NIPT Assay Software alinha as leituras com relação ao genoma humano de referência e efetua análises nas leituras que se alinham com uma localização ou local exclusivo do genoma. O VeriSeq NIPT Assay Software exclui leituras duplicadas e locais que estão associados a uma variação elevada na cobertura das amostras de euploides. Os dados de sequenciamento são normalizados quanto ao conteúdo de nucleotídeos e para corrigir efeitos dos lotes e outras fontes de variação não desejadas. As informações sobre o comprimento dos fragmentos de cfDNA são derivadas das leituras de sequenciamento tipo paired-end. O VeriSeq NIPT Assay Software também avalia os dados estatísticos da cobertura do sequenciamento em regiões conhecidas por serem enriquecidas com cfDNA fetal ou materno. São usados dados gerados com base no comprimento do fragmento e na análise de cobertura para estimar a fração fetal (FF) de cada amostra.

Para cada opção de triagem selecionada para uma amostra no menu de teste, o VeriSeq NIPT Assay Software informa se uma anomalia foi ou não detectada. Na tela Basic (Básica), todas as anomalias são aneuploidias. Na tela Genomewide (Genômica ampla), uma anomalia pode ser uma aneuploidia ou uma deleção ou duplicação parcial.

Componentes do VeriSeq NIPT Assay Software

O VeriSeq NIPT Assay Software executa e monitora continuamente novos dados de sequenciamento à medida que eles são adicionados à pasta Input (Entrada) do servidor local. Quando é identificada uma nova execução do sequenciamento, o fluxo a seguir é acionado.

Figura 3 Diagrama de fluxo de dados



1. **Monitoramento:** verifica previamente a validade da nova execução do sequenciamento. Quando o software detecta uma nova execução do sequenciamento, as seguintes verificações de validação são conduzidas:
 - a. Verifica se os parâmetros da execução são compatíveis com os valores esperados.
 - b. Associa a lâmina de fluxo a um tubo de pool existente conhecido.
 - c. Confirma que o pool não foi processado anteriormente. O sistema não permite reexecuções.
 Se qualquer verificação falhar, o usuário será notificado pelo sistema de notificações por e-mail e pelo registro de alertas na interface do usuário (IU) da Web.
2. **Sequenciamento:** monitora continuamente a conclusão da execução do sequenciamento. É usado um temporizador para definir um tempo limite para a conclusão da execução. Se o tempo limite expirar, o usuário será notificado pelo sistema de notificações por e-mail e pelo registro de alertas na IU da Web.
3. **CQ:** examina os arquivos de CQ InterOp gerados pelo sequenciador. O VeriSeq NIPT Assay Software verifica o número total de clusters, a densidade de cluster e as pontuações de qualidade das leituras. Se os critérios de CQ falharem, o usuário será notificado pelo sistema de notificações por e-mail e pelo registro de alertas na IU da Web.
4. **Análise:** gerencia a fila de análises para várias execuções do sequenciamento geradas pelos diversos instrumentos configurados com o servidor. O servidor processa uma única tarefa de análise de cada vez com base no princípio de primeiro a entrar, primeiro a sair (FIFO, First In, First Out). Após a conclusão com êxito da análise, é iniciada a próxima análise agendada da fila. Se uma execução de análise falhar ou atingir o tempo limite, o VeriSeq NIPT Assay Software reiniciará automaticamente essa análise no máximo três vezes. Após cada falha, o usuário é notificado pelo sistema de notificações por e-mail e pelo registro de alertas na IU da Web.
5. **Geração de relatórios:** gera o relatório que contém os resultados finais após a conclusão da análise. Se ocorrer uma falha e não forem gerados relatórios, o usuário será notificado pelo sistema de notificações por e-mail e pelo registro de alertas na IU da Web.

Tarefas do VeriSeq NIPT Assay Software

O VeriSeq NIPT Assay Software executa tarefas automáticas e tarefas iniciadas pelo usuário.

Tarefas automáticas

O VeriSeq NIPT Assay Software executa as seguintes tarefas automáticas:

- **Comparação e armazenamento de registros de preparação de amostras:** produz um conjunto de arquivos de saída no final de cada etapa e os armazena na pasta ProcessLogs localizada na pasta Output (Saída). Consulte [Estrutura de arquivos de relatórios na página 49](#) para obter uma visão geral e [Relatórios de processos na página 73](#) para obter detalhes.
- **Geração de alertas, e-mails e notificações de relatórios:** monitora o status de validação do lote, do pool e da amostra durante as etapas de preparação da amostra e de CQ dos dados de sequenciamento e dos resultados das análises por amostra. Com base nessas verificações de validação, o VeriSeq NIPT Assay Software determina se continuará com o processo e se os resultados deverão ser comunicados. O VeriSeq NIPT Assay Software finaliza o processo quando um lote ou um pool é invalidado com base nos resultados de CQ. Uma notificação é enviada por e-mail ao usuário, um relatório é gerado e um alerta é registrado na IU da Web.
- **Análise de dados de sequência:** analisa os dados de sequência não processados relativos a cada amostra multiplexada no pool usando o NIPT Analysis Software integrado. O VeriSeq NIPT Assay Software determina as pontuações de aneuploidia de cada amostra. O sistema não comunica os resultados de amostras invalidadas ou canceladas pelo usuário. Para as amostras que não passam nos critérios de CQ, é fornecida uma justificativa explícita para a falha; entretanto, os resultados da amostra com falha são suprimidos. Para obter mais informações, consulte [Relatório do NIPT na página 56](#).
- **Geração do arquivo de resultados:** fornece resultados de amostras em um formato de arquivo separado por tabulações, que é salvo na pasta Output (Saída). Para obter mais informações, consulte [Relatório do NIPT na página 56](#).
- **Geração de relatórios:** o VeriSeq NIPT Assay Software gera informações complementares de resultados, notificações e relatórios de processos. Para obter mais informações, consulte [Relatórios do sistema na página 49](#).

- **Invalidação de amostras, pools e lotes**

- **Invalidação de amostras:** o VeriSeq NIPT Assay Software marca amostras individuais como inválidas quando o usuário:
 - invalida a amostra explicitamente;
 - invalida a placa inteira durante a preparação da biblioteca antes da criação dos pools.

Quando uma amostra é marcada como inválida, é gerado automaticamente um relatório de invalidação de amostra. Consulte [Relatório de invalidação de amostras na página 72](#).

- **Geração de relatórios de invalidação de pools e lotes:** só o usuário pode invalidar pools e lotes. O sistema não processa pools invalidados. Os pools que já tinham sido criados com base em um lote inválido não são invalidados automaticamente e podem continuar a ser processados pelo sistema. Entretanto, não é possível criar novos pools com base em lotes invalidados. Quando um pool é invalidado, o sistema emite um relatório de solicitação de repetição do teste do pool sob as seguintes condições:

- O lote é válido.
- Não existem mais pools disponíveis para esse lote.
- O número de pools permitidos do lote não foi esgotado.

Para obter mais informações, consulte [Relatório de solicitação de repetição do teste do pool na página 73](#).

- **Gerenciamento de repetição de testes**

- **Falhas em pools:** os pools com falha geralmente são os que falharam nas métricas de CQ de sequenciamento. O VeriSeq NIPT Assay Software não continua o processamento de pools com falha se a execução é encerrada. Faça um novo sequenciamento usando uma segunda alíquota de pool.
- **Falhas em amostras:** o software permite que amostras com falha sejam testadas novamente, se necessário. As amostras com falha precisam ser incorporadas em um novo lote e reprocessadas por meio das etapas de ensaio.
- **Repetições de execuções:** o sistema não reanalisa pools com amostras que tenham sido anteriormente processadas e informadas com êxito. Repita a execução em uma amostra em um lote novo.

Tarefas do usuário

O VeriSeq NIPT Solution v2 permite que os usuários executem as tarefas como a seguir.

Usando o Workflow Manager:

- Marcar o seguinte como inválido:
 - Uma amostra individual
 - Todas as amostras de um lote
 - Todas as amostras associadas a um pool

- Marcar uma determinada amostra como cancelada. Em seguida, o VeriSeq NIPT Assay Software marca o resultado como cancelado no relatório de resultados finais.

Usando o VeriSeq NIPT Assay Software:

- Configurar o software a ser instalado e integrado à infraestrutura da rede do laboratório.
- Alterar as definições de configuração, como as configurações de rede, locais de pastas compartilhadas e o gerenciamento das contas dos usuários.
- Ver o status do sistema e dos lotes, relatórios de resultados e de processamento de lotes, registros de atividades e de auditoria e resultados de ensaios.

OBSERVAÇÃO A capacidade de executar tarefas depende das permissões do usuário. Para obter mais informações, consulte [Atribuir funções de usuário na página 29](#).

Sequencing Handler

O VeriSeq NIPT Assay Software gerencia as execuções do sequenciamento geradas pelos instrumentos de sequenciamento por meio do Sequencing Handler. Ele identifica novas execuções do sequenciamento, valida parâmetros de execuções e correlaciona o código de barras do pool com um pool conhecido criado durante o processo de preparação da biblioteca. Se não for possível fazer uma associação, será gerada uma notificação para o usuário e o processamento da execução do sequenciamento será interrompido.

Após a validação ser concluída com sucesso, o VeriSeq NIPT Assay Software continua a monitorar as execuções do sequenciamento quanto à conclusão. As execuções do sequenciamento concluídas são colocadas em fila para processamento pelo Analytic Pipeline Handler (para obter mais informações, consulte [Analytic Pipeline Handler na página 24](#)).

Compatibilidade da execução do sequenciamento

O VeriSeq NIPT Assay Software só analisa execuções do sequenciamento compatíveis com o fluxo de trabalho analítico do cfDNA.

Use somente métodos de sequenciamento e versões de software compatíveis para gerar identificações de bases.

OBSERVAÇÃO Monitore regularmente as métricas de desempenho dos dados de sequenciamento para ter certeza de que a qualidade dos dados está dentro das especificações.

O módulo VeriSeq NIPT Local Run Manager configura o sequenciamento usando os seguintes parâmetros de leitura:

- Execução tipo paired-end com 2 x 36 leituras de ciclo.
- Indexação dupla com duas leituras de índice de oito ciclos.

Analytic Pipeline Handler

O Analytic Pipeline Handler inicia o pipeline de análise para detecção de aneuploidia. O pipeline processa uma execução do sequenciamento de cada vez com uma duração média inferior a cinco horas por pool. Se a análise não conseguir processar o pool ou não for concluída devido a falhas de energia ou tempo esgotado, o Analytic Pipeline Handler recolocará automaticamente a execução na fila. Se o processamento do pool falhar por três vezes consecutivas, o Analytic Pipeline Handler identificará a execução como tendo apresentado falha e gerará uma mensagem de erro.

A execução de uma análise com êxito aciona a geração de relatórios do NIPT. Para obter mais informações, consulte [Relatório do NIPT na página 56](#).

Requisitos de armazenamento e de tempo limite do fluxo de trabalho

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

Parâmetro	Valor padrão
Tempo máximo de sequenciamento	20 horas
Tempo máximo de análise	10 horas
Armazenamento mínimo de espaço transitório	900 GB

Interface do usuário da Web

O VeriSeq NIPT Assay Software contém uma interface do usuário (IU) local da Web que permite fácil acesso ao servidor local de qualquer local da rede. A IU da Web oferece as seguintes funções:

OBSERVAÇÃO A IU da Web do VeriSeq NIPT Assay Software não é compatível com o uso de dispositivos móveis.

- **View recent activities** (Visualizar atividades recentes): identifica as etapas concluídas durante a execução do ensaio. O usuário é alertado para muitas dessas atividades pelo sistema de notificações por e-mail. Para obter mais informações, consulte [Notificações do Assay Software na página 83](#).
- **View errors and alerts** (Visualizar erros e alertas): identifica problemas que podem impedir o prosseguimento do ensaio. As mensagens de erro e os alertas são enviados ao usuário por meio do sistema de notificações por e-mail. Para obter mais informações, consulte [Notificações do Assay Software na página 83](#).

- **Configure the server network settings** (Definir as configurações de rede do servidor): a equipe da Illumina normalmente configura a rede durante a instalação do sistema. Talvez seja necessário fazer modificações se a rede local precisar de alterações de TI. Para obter mais informações, consulte [Definir configurações de rede e de servidor na página 33](#).
- **Manage server access** (Gerenciar acesso ao servidor): o servidor local permite acesso em nível de Administrador e Operador. Esses níveis de acesso controlam a visualização dos registros de atividades, de alertas, de erros e a modificação das configurações de rede e de mapeamento de dados. Para obter mais informações, consulte [Gerenciar usuários na página 29](#).
- **Configure sequencing data folder** (Configurar pasta de dados de sequenciamento): por padrão, o servidor armazena dados de sequenciamento. Entretanto, é possível adicionar um NAS central para expandir a capacidade de armazenamento. Para obter mais informações, consulte [Mapear unidades do servidor na página 42](#).
- **Configure email notification subscribers list** (Configurar lista de assinantes das notificações por e-mail): gerencia uma lista de assinantes para receber notificações por e-mail, incluindo mensagens de erro e alertas de processos de ensaios. Para obter mais informações, consulte [Configurar as notificações por e-mail do sistema na página 34](#).
- **Reboot or shutdown the server** (Reinicializar ou desligar o servidor): reinicializa ou desliga o servidor, se necessário. Poderá ser necessária uma reinicialização ou desligamento para que uma definição de configuração entre em vigor ou para solucionar uma falha no servidor. Para obter mais informações, consulte [Reinicializar o servidor na página 43](#) e [Desligar o servidor na página 44](#).
- **Configure database backup encryption** (Configurar criptografia de backup do banco de dados): permite a criptografia e a definição de uma senha de criptografia para backups do banco de dados do servidor. Esse recurso também permite a geração de um backup temporário sem criptografia. Para obter mais informações, consulte [Configurar a criptografia de backup na página 35](#).
- **Configure network passwords** (Configurar senhas de rede): define senhas da rede para comunicação entre o servidor e os sequenciadores e instrumentos do VeriSeq NIPT Microlab STAR. Para obter mais informações, consulte [Configurar as senhas da rede na página 36](#).

Acordo de licença de usuário final

No primeiro logon à IU da Web, é solicitado que você aceite o Acordo de licença de usuário final (EULA). Para baixar o acordo de licença para seu computador, selecione **Download EULA** (Baixar EULA). O software solicita que você aceite o EULA antes de continuar a trabalhar com a IU da Web. Depois de aceitar o EULA, você pode retornar à página do EULA e baixar o documento, se necessário.

Configurar a IU da Web

Selecione o ícone Settings (Configurações) para acessar uma lista suspensa de definições de configurações. As configurações são exibidas com base na função do usuário e nas permissões associadas. Para obter mais informações, consulte [Atribuir funções de usuário na página 29](#).

OBSERVAÇÃO Técnicos não têm acesso a essas funções.

Configuração	Descrição
User Management (Gerenciamento de usuários)	Adicionar, ativar/desativar e editar credenciais de usuários. Somente engenheiros de atendimento e administradores.
Email Configuration (Configuração de e-mail)	Editar listas de assinantes para envio de notificações por e-mail.
Change Shared Folder Password (Alterar a senha da pasta compartilhada)	Alterar a senha de sbsuser para acessar as pastas compartilhadas do servidor local. A senha só pode conter caracteres alfanuméricos.
Reporting Settings (Configurações de relatórios)	Somente engenheiros de atendimento ou administradores.
Reboot Server (Reinicializar o servidor)	Somente engenheiros de atendimento ou administradores.
Shut Down Server (Desligar servidor)	Somente engenheiros de atendimento ou administradores.

Fazer logon na IU da Web

Faça logon na interface do VeriSeq NIPT Assay Software como descrito a seguir.

1. Em um computador conectado à mesma rede que o servidor local, abra um dos seguintes navegadores da Web:
 - Chrome v69 ou posterior
 - Firefox v62 ou posterior
 - Internet Explorer v11 ou posterior

2. Insira o endereço IP do servidor no nome do servidor fornecido pela Illumina na instalação, equivalente a `https://<endereço IP do servidor local>/login`. (p. ex., `https://10.10.10.10/login`).
3. Se for exibido um aviso de segurança do navegador, adicione uma exceção de segurança para continuar para a tela de logon.
O aviso de segurança indica que o computador não tem o certificado Secure Sockets Layer (SSL) instalado. Siga as instruções em [Baixar e instalar um certificado na página 33](#) (Baixar e instalar um certificado) para instalar esse certificado.
4. Na tela de logon, insira o nome do usuário e a senha que diferenciam maiúsculas de minúsculas fornecidos pela Illumina e, em seguida, selecione **Log In** (Fazer logon).

OBSERVAÇÃO Depois de 10 minutos de inatividade, o VeriSeq NIPT Assay Software termina automaticamente a sessão do usuário atual.

O Painel

Após o logon, é exibido o painel do VeriSeq NIPT Assay Software v2. O Painel é a principal janela de navegação. Para retornar ao Painel a qualquer momento, selecione a opção de menu **Dashboard** (Painel).

O Painel sempre mostra as 50 atividades mais recentes registradas (se houver menos de 50, ele só mostrará as que estiverem registradas). Para obter as 50 atividades anteriores e procurar no histórico de atividades, selecione **Previous** (Anterior) no canto inferior direito da tabela de atividades.

Visualizar atividades recentes

A guia Recent Activities (Atividades recentes) contém uma breve descrição das atividades recentes do VeriSeq NIPT Assay Software e do servidor local.

Nome	Descrição
Quando	Data e hora da atividade.
Usuário	Se aplicável, identifica o usuário que realizou a atividade.
Subsistema	Entidade ou processo que realizou a atividade como usuário, ensaio ou configuração.
Detalhes	Descrição da atividade.

Nome	Descrição
Nível	Nível atribuído à atividade com base nas opções a seguir: <ul style="list-style-type: none"> • Activity (Atividade): indica uma atividade no servidor, como uma reinicialização do sistema ou logon/logoff do usuário. • Notice (Aviso): indica uma etapa executada sem sucesso. Por exemplo, invalidação da amostra ou falha de CQ. • Warning (Advertência): indica que ocorreu um erro durante a execução normal e o funcionamento adequado do hardware. Por exemplo, parâmetros de execução não reconhecidos ou análises com falha.

Visualizar erros recentes

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

Nome	Descrição
Quando	Data e hora da atividade.
Usuário	Se aplicável, identifica o usuário que realizou a atividade.
Subsistema	Entidade ou processo que realizou a atividade como usuário, ensaio ou configuração.
Detalhes	Descrição da atividade.
Nível	Nível atribuído à atividade com base nas opções a seguir: <ul style="list-style-type: none"> • Urgent (Urgente): problema de hardware grave que compromete o funcionamento do sistema. Contatar o Suporte técnico da Illumina. • Alert (Alerta): erro no funcionamento normal. Por exemplo, danos no disco, problema de espaço ou na configuração que impede a geração de relatórios ou notificações por e-mail. • Error (Erro): erro do sistema ou do servidor durante o funcionamento normal. Por exemplo, um problema no arquivo de configuração ou uma falha de hardware.

Visualizar status e alertas do sistema

A guia **Server Status** (Status do servidor) exibe as seguintes informações:

- **Date** (Data): data e hora atuais
- **Time zone** (Fuso horário): fuso horário configurado para o servidor. As informações de fuso horário são usadas para data e hora de e-mails, alertas e relatórios.
- **Hostname** (Nome de host): o nome do sistema consiste no nome de host da rede e no nome DNS (Domain Name System, Sistema de Nomes de Domínio).

- **Disk space usage** (Uso do espaço em disco): porcentagem do espaço em disco atualmente em uso para armazenar dados
- **Software**: configuração regulatória do software (por exemplo, CE-IVD)
- **Version** (Versão): versão do VeriSeq NIPT Assay Software v2.

O resumo também pode exibir um botão **Server alarm** (Alarme do servidor) que silencia o alarme do controlador RAID. Esse botão só é exibido a Administradores. Se você pressionar esse botão, entre em contato com o Suporte técnico da Illumina para obter assistência adicional.

Gerenciar usuários

OBSERVAÇÃO Somente engenheiros de atendimento e administradores têm permissão para adicionar, editar ou excluir permissões para técnicos e outros usuários do seu nível.

Atribuir funções de usuário

As funções de usuário definem o acesso e os direitos do usuário para executar determinadas tarefas.

Função	Descrição
Serviço	Um engenheiro de atendimento de campo da Illumina que executa a instalação inicial e a configuração do sistema (incluindo a criação do Administrador). Ele também soluciona problemas, executa reparos no servidor, configura e altera as definições de configuração e disponibiliza suporte contínuo para o software.
Administrador	Um administrador do laboratório que configura e mantém as definições de configuração, administra os usuários, define listas de assinantes de e-mails, altera a senha da pasta compartilhada, reinicializa e encerra o servidor.
Técnico	Um técnico do laboratório que visualiza o status e alertas do sistema.

Adicionar usuários

Na instalação inicial, um engenheiro de atendimento de campo da Illumina adiciona o usuário Administrador.

Adicione um usuário como indicado a seguir.

1. Na tela User Management (Gerenciamento de usuários), selecione **Add New User** (Adicionar novo usuário).

OBSERVAÇÃO Todos os campos são obrigatórios.

2. Insira o nome do usuário. Os requisitos são indicados a seguir.
 - Somente caracteres alfanuméricos minúsculos (a a z e 0 a 9).

- Devem ter entre 4 e 20 caracteres e conter, pelo menos, um caractere numérico.
- O primeiro caractere não pode ser numérico.

OBSERVAÇÃO O nome do usuário não diferencia caracteres maiúsculos de minúsculos.

O VeriSeq NIPT Assay Software usa nomes de usuário para identificar as pessoas envolvidas nos diferentes aspectos do processo dos ensaios e nas interações com o VeriSeq NIPT Assay Software.

3. Insira o nome completo do usuário. O nome completo só é mostrado no perfil do usuário.
4. Insira e confirme a senha.
As senhas devem ter entre 8 e 20 caracteres e conter, pelo menos, uma letra maiúscula, uma letra minúscula e um caractere numérico.
5. Insira um endereço de e-mail do usuário.
É necessário um endereço de e-mail exclusivo para cada usuário.
6. Selecione a função desejada do usuário na lista suspensa.
7. Marque a caixa **Active** (Ativo) para ativar imediatamente o usuário ou desmarque a caixa para ativar o usuário mais tarde (ou seja, depois do treinamento).
8. Selecione **Save** (Salvar) duas vezes para salvar e confirmar as alterações.
O novo usuário agora é exibido na tela User Management (Gerenciamento de usuários).

Editar usuários

Edite as informações do usuário como descrito a seguir.

1. Na tela User Management (Gerenciamento de usuários), selecione o nome do usuário.
2. Edite as informações do usuário e, em seguida, selecione **Save** (Salvar).
3. Selecione **Save** (Salvar) novamente para confirmar as alterações.
As alterações feitas no usuário agora são exibidas na tela User Management (Gerenciamento de usuários).

Desativar usuários

Desative um usuário como mostrado a seguir.

1. Na tela User Management (Gerenciamento de usuários), selecione o nome do usuário.
2. Limpe a caixa de seleção **Activate** (Ativar) e, em seguida, selecione **Save** (Salvar).
3. Na mensagem de confirmação, selecione **Save** (Salvar).
O status do usuário muda para Disabled (Desativado) na tela User Management (Gerenciamento de usuários).

Gerenciar uma unidade de rede compartilhada

OBSERVAÇÃO Somente engenheiros de atendimento ou administradores têm permissão para adicionar, editar ou excluir locais de pastas compartilhadas.

Adicionar uma unidade de rede compartilhada

Configure o sistema para armazenar dados de sequenciamento em um NAS dedicado em vez de no servidor conectado ao sistema de sequenciamento. Um NAS pode proporcionar maior capacidade de armazenamento e backup contínuo de dados.

1. Em Dashboard (Painel), selecione **Folders** (Pastas).
2. Selecione **Add folder** (Adicionar pasta).
3. Insira as informações a seguir, fornecidas pelo administrador de TI:
 - **Location** (Local): caminho completo para o local do NAS, incluindo a pasta de armazenamento de dados.
 - **Username** (Nome de usuário): nome do usuário designado para o servidor local quando ele acessa o NAS.
 - **Password** (Senha): senha designada para o servidor local quando ele acessa o NAS.
4. Selecione **Save** (Salvar).
5. Selecione **Test** (Testar) para testar a conexão ao NAS.
Se ocorrer falha na conexão, confirme o nome do servidor, o nome do local, o nome do usuário e a senha com o administrador de TI.
6. Reinicie o servidor para aplicar as alterações.

OBSERVAÇÃO A configuração de uma unidade de rede compartilhada é compatível apenas com uma pasta de dados de sequenciamento.

Editar uma unidade de rede compartilhada

1. Em Dashboard (Painel), selecione **Folders** (Pastas).
2. Edite o caminho Location (Local) e selecione **Save** (Salvar).
3. Selecione **Test** (Testar) para testar a conexão ao NAS.
Se ocorrer falha na conexão, confirme o nome do servidor, o nome do local, o nome do usuário e a senha com o administrador de TI.

Excluir uma unidade de rede compartilhada

1. Em Dashboard (Painel), selecione **Folders** (Pastas).

2. Selecione o caminho Location (Local) a ser modificado.
3. Selecione **Delete** (Excluir) para remover a pasta de sequenciamento externa.

Definir configurações de redes e certificados

Um engenheiro de atendimento de campo da Illumina usa a tela Network Configuration (Configuração de rede) para definir as configurações de redes e certificados durante a instalação inicial.

OBSERVAÇÃO Somente engenheiros de atendimento e administradores têm permissão para alterar configurações de redes e de certificados.

1. Em Dashboard (Painel), selecione **Configuration** (Configuração).
2. Selecione a guia **Network Configuration** (Configuração de rede) e defina as configurações de rede conforme adequado.
3. Selecione a guia **Certification Configuration** (Configuração de certificado) para gerar o certificado SSL.

Definir configurações do certificado

Um certificado Secure Sockets Layer (SSL) é um arquivo de dados que permite uma conexão segura do servidor local a um navegador.

1. Use a guia Certificate Configuration (Configuração do certificado) para definir as seguintes configurações do certificado SSL:
 - **Laboratory e-mail** (E-mail do laboratório): e-mail de contato do laboratório do teste (requer um formato de endereço de e-mail válido).
 - **Organization Unit** (Unidade organizacional): departamento.
 - **Organization** (Organização): nome do laboratório do teste.
 - **Location** (Local): endereço do laboratório do teste.
 - **State** (Estado): estado do laboratório do teste.
 - **Country** (País): país do laboratório do teste.
 - **Certificate Thumbprint (SHA1)** (Impressão digital do certificado [SHA1]): número de identificação do certificado.
O SHA1 garante que os usuários não recebam alertas relativos aos certificados ao acessar o VeriSeq NIPT Assay Software v2. O SHA1 é exibido depois da geração ou restauração de um certificado. Para obter mais informações, consulte [Gerar novamente um certificado na página 34](#).
2. Selecione **Save** (Salvar) para implementar as alterações feitas.

Definir configurações de rede e de servidor

OBSERVAÇÃO Coordene todas as alterações nas configurações de rede e de servidor com o administrador de TI para evitar erros de conexão ao servidor.

1. Use a guia Network Configuration (Configuração de rede) para definir as seguintes configurações da rede e do servidor local.
 - **Static IP Address** (Endereço IP estático): endereço IP designado para o servidor local.
 - **Subnet Mask** (Máscara de sub-rede): máscara de sub-rede da rede local.
 - **Default Gateway Address** (Endereço de gateway padrão): endereço IP do roteador padrão.
 - **Hostname** (Nome do host): nome designado para referenciar o servidor local na rede (definido como o host local por padrão).
 - **DNS Suffix** (Sufixo DNS): sufixo DNS designado.
 - **Nameserver 1 and 2** (Nome do servidor 1 e 2): nomes ou endereços IP do servidor DNS.
 - **NTP Time Server 1 and 2** (Servidor de horário do NTP 1 e 2): servidores para sincronização de horário do NTP (Network Time Protocol, Protocolo de horário da rede).
 - **MAC Address** (Endereço MAC): endereço MAC de rede do servidor (somente leitura).
 - **Timezone** (Fuso horário): fuso horário local do servidor.
2. Confirme se os lançamentos estão corretos e selecione **Save** (Salvar) para reinicializar o servidor e implementar as alterações feitas.



CUIDADO

Configurações incorretas podem interromper a conexão com o servidor.

Baixar e instalar um certificado

Para baixar e instalar um certificado SSL para o VeriSeq NIPT Assay Software v2:

1. Em Dashboard (Painel), selecione **Configuration** (Configuração).
2. Selecione a guia **Certification Configuration** (Configuração de certificado).
3. Selecione **Download Certificate** (Baixar certificado) na tela Network Configuration (Configuração de rede).
É baixado o arquivo root_cert.der do certificado.

OBSERVAÇÃO Se for solicitado que você salve o arquivo, escolha um local memorizável. Caso contrário, identifique o local padrão do download. Alguns navegadores salvam o arquivo automaticamente na pasta Downloads.

4. Acesse a pasta do computador onde o arquivo foi salvo.

5. Clique com o botão direito do mouse no arquivo **root_cert.der** e selecione **Install Certificate** (Instalar certificado).
6. Se for exibida uma janela de aviso de segurança, selecione **Open** (Abrir) para abrir o arquivo. O Certificate Import Wizard é aberto.
7. Na janela Welcome (Boas-vindas) do Certificate Import Wizard, selecione **Local Machine** (Máquina local) como local de armazenamento e, em seguida, selecione **Next** (Avançar).
8. Selecione a opção **Place all certificates in the following store** (Colocar todos os certificados no seguinte repositório) e, a seguir, selecione o botão **Browse...** (Procurar...).
9. Na janela Select Certificate Store (Selecionar repositório de certificados), selecione **Trusted Root Certification Authorities** (Autoridades de certificação raiz confiáveis) e, a seguir, selecione **OK**.
10. Certifique-se de que o campo Certificate Store (Repositório de certificados) exiba as Autoridades de certificação raiz confiáveis e, em seguida, selecione **Next** (Avançar).
11. Na janela Completing the Certificate Import Wizard (Concluir o assistente para importação de certificados), selecione **Finish** (Finalizar).
12. Se for exibida uma janela de aviso de segurança, selecione **Yes** (Sim) para instalar o certificado.
13. Na caixa de diálogo de importação com êxito, selecione **OK** para sair do Wizard.

Gerar novamente um certificado

OBSERVAÇÃO Somente engenheiros de atendimento e administradores têm permissão para gerar novamente certificados e reinicializar o sistema.

Para gerar novamente um certificado após alterações na configuração da rede ou no certificado:

1. Na tela Network Configuration (Configuração da rede), selecione **Regenerate Certificate** (Gerar novamente certificado).
2. Selecione **Regenerate Certificate and Reboot** (Gerar novamente certificado e reinicializar) ou selecione **Cancel** (Cancelar) para sair.

Configurar as notificações por e-mail do sistema

O VeriSeq NIPT Assay Software v2 se comunica com os usuários enviando notificações por e-mail para indicar o progresso do ensaio e alertas de erros ou ação necessária por parte do usuário. Para obter informações sobre as notificações por e-mail enviadas pelo sistema, consulte [Notificações do Assay Software na página 83](#).

Certifique-se de que as configurações de spam do e-mail não bloqueiam as notificações do servidor. As notificações por e-mail são enviadas de uma conta denominada `VeriSeq@<customer_email_domain>`, em que o `<customer_email_domain>` é especificado pela equipe local de TI quando o servidor é instalado.

Criar uma lista de assinantes de e-mails

As notificações por e-mail são enviadas para uma lista de assinantes especificados.

Especifique uma lista de assinantes como indicado a seguir.

1. No Dashboard (Painel), selecione o ícone Settings (Configurações).
2. Selecione **Email Configuration** (Configuração de e-mail).
3. No campo Subscribers (Assinantes), insira endereços de e-mail separados por vírgula.
Verifique se os endereços de e-mail foram inseridos corretamente. O software não valida o formato dos endereços de e-mail.
4. Selecione **Save** (Salvar).
5. Selecione **Send test message** (Enviar mensagem de teste) para gerar um e-mail de teste para a lista de assinantes.
Verifique sua caixa de entrada de e-mail para confirmar se o e-mail foi enviado.

OBSERVAÇÃO Não deixe de selecionar o botão **Save** (Salvar) antes de enviar uma mensagem de teste. O envio de uma mensagem de teste antes de salvar descarta todas as alterações.

Configurar a criptografia de backup

O VeriSeq NIPT Assay Software v2 permite que os administradores habilitem ou desabilitem a criptografia de backup. Os administradores também podem definir ou atualizar a senha da criptografia para backups do banco de dados. Essa senha é necessária para restaurar um backup do banco de dados. Armazene a senha em um local seguro para consultas futuras.

OBSERVAÇÃO Somente administradores têm permissão para configurar uma criptografia de backup do banco de dados.

Configure a criptografia de backup como a seguir.

1. No Dashboard (Painel), selecione o ícone Settings (Configurações).
2. Selecione **Backup Encryption** (Criptografia de backup).
3. Marque a caixa de seleção **Encrypt Backups** (Criptografar backups).
4. No campo **Encryption Password** (Senha da criptografia), digite a senha da criptografia preferencial.
5. Digite a mesma senha no campo **Confirm Password** (Confirmar senha).
6. Selecione **Save** (Salvar).

Gerar um backup não criptografado

O VeriSeq NIPT Assay Software permite que os administradores gerem um arquivo de backup não criptografado que pode ser usado pelo Suporte técnico da Illumina. O arquivo de backup não criptografado fica disponível somente por 24 horas antes de ser automaticamente excluído.

OBSERVAÇÃO Somente administradores têm permissão para gerar um backup não criptografado.

Crie um backup não criptografado conforme descrito a seguir.

1. No Dashboard (Painel), selecione o ícone Settings (Configurações).
2. Selecione **Backup Encryption** (Criptografia de backup).
3. Selecione **Generate Unencrypted Backup** (Gerar backup não criptografado).
4. Selecione **Yes** (Sim) na janela de confirmação.
É exibido um aviso confirmando a solicitação do backup não criptografado.
5. Selecione **OK**.

Você pode confirmar a criação de um backup não criptografado retornando ao painel do VeriSeq NIPT Assay Software e consultando a tabela Recent Activities (Atividades recentes). Uma nova atividade deve confirmar a criação com êxito de um backup não criptografado.

Configurar as senhas da rede

Um administrador ou engenheiro de atendimento de campo da Illumina pode usar a página Network Passwords (Senhas da rede) para configurar senhas para comunicação entre o servidor local e os componentes do VeriSeq NIPT Solution v2.



CUIDADO

Somente engenheiros de atendimento e administradores têm permissão para alterar as senhas da rede.

Configure as senhas da rede como a seguir.

1. No Dashboard (Painel), selecione o ícone Settings (Configurações).
2. Selecione **Network Passwords** (Senhas da rede).
3. No campo **Sequencer Password** (Senha do sequenciador), digite uma senha para os instrumentos de sequenciamento.
4. Digite novamente a senha no campo **Confirm Password** (Confirmar senha).



CUIDADO

Atualizar a senha do sequenciador durante a execução de um sequenciamento pode causar perda de dados.

5. Selecione **Save Sequencer Password** (Salvar senha do sequenciador).

O servidor armazena a senha para o instrumento de sequenciamento. Atualize todos os instrumentos conectados ao servidor para que eles usem essa senha.

6. No campo **Automation Password** (Senha de automação), digite uma senha para o VeriSeq NIPT Microlab STAR.



CUIDADO

Atualizar a senha de automação durante a preparação das amostras pode causar perda de dados.

Somente engenheiros de atendimento de campo da Illumina podem atualizar a senha de automação do ML STAR. Antes de alterar a senha armazenada no servidor pela interface da Web, certifique-se de que um membro da equipe de atendimento de campo da Illumina tenha visitado seu local e atualizado a senha do ML STAR. Se você atualizar a senha na interface da Web do servidor sem atualizá-la no ML STAR, o sistema se tornará inutilizável.

7. Digite novamente a senha para o ML STAR no campo **Confirm Password** (Confirmar senha).
8. Selecione **Save Automation Password** (Salvar senha de automação).
O servidor armazena a senha para o ML STAR. Atualize todos os instrumentos ML STAR já conectados ao servidor para usarem essa senha.

Fazer logoff

- No canto superior direito da tela, selecione o ícone do perfil do usuário e, em seguida, selecione **Log Out** (Fazer logoff).

Análise e geração de relatórios

Após a coleta dos dados de sequenciamento, eles são demultiplexados, convertidos em formato FASTQ, alinhados com um genoma de referência e analisados quanto à detecção de aneuploidia. Esta seção descreve as diversas métricas que são determinadas para qualquer amostra específica.

Demultiplexação e geração de arquivos FASTQ

Dados de sequenciamento armazenados em formato BCL são processados pelo software de conversão bcl2fastq. Os software de conversão bcl2fastq demultiplexa os dados e converte os arquivos BCL em formatos de arquivo FASTQ padrão para análise posterior. Para cada execução do sequenciamento, o VeriSeq NIPT Assay Software cria uma planilha de amostras (SampleSheet.csv). Esse arquivo contém informações de amostras fornecidas ao software durante o processo de preparação das amostras (com a API do software). Essas planilhas de amostras contêm um cabeçalho com informações relativas à execução e descritores para as amostras processadas em uma determinada lâmina de fluxo.

A tabela a seguir fornece detalhes dos dados das planilhas de amostras.



CUIDADO

Não modifique nem edite esse arquivo de planilhas de amostras. Ele é gerado pelo sistema, e modificações podem causar efeitos adversos posteriormente, incluindo resultados incorretos ou falhas na análise.

Nome da coluna	Descrição
SampleID	Identificação da amostra.
SampleName	Nome da amostra. Padrão: mesmo que SampleID.
Sample_Plate	Identificação da placa para uma determinada amostra. Padrão: em branco.
Sample_Well	Identificação do poço na placa para uma determinada amostra.
I7_Index_ID	Identificação do primeiro adaptador de índice.
index	Sequência nucleotídica do primeiro adaptador.
I5_Index_ID	Identificação do segundo adaptador.
index2	Sequência nucleotídica do segundo adaptador.
Sample_Project	Identificação do projeto para uma determinada amostra. Padrão: em branco.
SexChromosomes	Análise relativa a cromossomos sexuais. Uma das opções a seguir: <ul style="list-style-type: none"> • Yes (Sim): são solicitadas informações sobre aneuploidia do cromossomo sexual e sobre o sexo. • No (Não): não são solicitadas informações sobre aneuploidia do cromossomo sexual nem sobre o sexo. • SCA (ACS): são solicitadas informações sobre aneuploidia do cromossomo sexual e não são solicitadas informações sobre o sexo.
SampleType	Tipo de amostra. Uma das opções a seguir: <ul style="list-style-type: none"> • Singleton (Gestação única): gravidez de um único embrião. • Twin (Gêmeos): gravidez de múltiplos embriões. • Control (Controle): amostra de controle de sexo conhecido e classificação da aneuploidia. • NTC: amostra de controle sem modelo (sem DNA).

CQ de sequenciamento

As métricas de CQ de sequenciamento identificam lâminas de fluxo com alta probabilidade de apresentar falha na análise. As métricas de densidade de cluster, de percentual de leituras que passam pelo filtro (PF), de prephasing e phasing descrevem a qualidade geral dos dados de sequenciamento e são comuns a muitos aplicativos de sequenciamento de última geração. A métrica de leituras alinhadas

previstas estima o nível da lâmina de fluxo da profundidade do sequenciamento. Se dados de baixa qualidade falharem com relação à métrica de leituras alinhadas previstas, o processamento da execução será encerrado. Para obter mais informações, consulte [Métricas e limites de CQ para sequenciamento na página 47](#).

Estimativas da fração fetal

A fração fetal (FF) se refere ao percentual de DNA livre que circula em uma amostra de sangue materno originário da placenta. O VeriSeq NIPT Assay Software usa informações da distribuição do tamanho do fragmento de cfDNA e da diferença da cobertura genômica entre o cfDNA materno e o fetal para determinar uma estimativa da FF.¹

Dados estatísticos usados na pontuação final

Para todos os cromossomos, os dados do sequenciamento tipo paired-end são alinhados com o genoma de referência (HG19). Leituras alinhadas não duplicadas exclusivas são agregadas em subconjuntos de 100 kb. As contagens de subconjuntos correspondentes são ajustadas para viés guanina-citosina (GC) e de acordo com a cobertura genômica específica da região estabelecida anteriormente. Usando essas contagens de subconjuntos normalizadas, são geradas pontuações estatísticas para cada autossomo pela comparação das regiões de cobertura que podem ser afetadas por aneuploidias com o restante dos autossomos. É computada uma razão logarítmica de verossimilhança (LLR) para cada amostra ao serem levados em consideração esses escores baseados na cobertura e a fração fetal estimada. A LLR é a probabilidade de uma amostra ser afetada levando em conta a FF e a cobertura observada em comparação com a probabilidade de uma amostra não ser afetada dada a mesma cobertura observada. O cálculo dessa relação também considera a incerteza estimada da FF. Para cálculos subsequentes, é utilizado o logaritmo natural da relação. O Assay Software avalia a LLR para cada cromossomo-alvo e cada amostra para fornecer uma determinação de aneuploidia.

Os dados estatísticos dos cromossomos X e Y são diferentes dos dados estatísticos que são usados para os autossomos. Para fetos identificados como sendo do sexo feminino, as chamadas de aneuploidia do cromossomo sexual (ACS) exigem concordância de classificação pela LLR e do valor cromossômico normalizado.² São calculadas pontuações de LLR específicas para [45,X] (síndrome de Turner) e para [47,XXX]. Para fetos identificados como sendo do sexo masculino, as chamadas de ACS para [47,XXY] (síndrome de Klinefelter) ou para [47,XYY] podem ter por base a relação entre os valores cromossômicos normalizados para os cromossomos X e Y (NCV_X e NCV_Y). As amostras que pertencem a fetos do sexo masculino para as quais o NCV_X está dentro do intervalo observado para amostras do sexo feminino de euploides podem ser denominadas [47,XXY]. As amostras que

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

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

pertencem a amostras do sexo masculino para as quais o NCV_X está no intervalo observado para amostras do sexo masculino de euploides, mas em que o cromossomo Y está sobre-representado, podem ser denominadas [47,XYY].

Alguns valores de NCV_Y e NCV_X estão fora da capacidade do sistema de fazer uma determinação de ACS. Essas amostras produzem um resultado Não relatável para classificação de XY. Os resultados autossômicos continuarão a ser fornecidos para essas amostras se todas as demais métricas de CQ forem aprovadas.

CQ de análise

As métricas de CQ de análise são indicadores calculados durante a análise e usados para detectar amostras que se desviam em demasia do comportamento esperado. Os dados das amostras que não cumprem essas métricas são considerados não confiáveis e são marcados como apresentando falha. Quando as amostras produzem resultados fora dos intervalos esperados para essas métricas, o relatório de NIPT fornece um motivo de CQ como advertência ou causa de falha. Consulte [Mensagens de motivo de CQ na página 64](#) para obter mais informações sobre esses motivos de QC.

CQ de amostras NTC

O VeriSeq NIPT Solution sempre permite a adição de amostras NTC como parte da execução. O ML STAR pode gerar até dois NTCs por execução para lotes de 24 amostras e de 48 amostras e até quatro NTCs para lotes de 96 amostras. Independentemente da quantidade de amostras NTC adicionadas, o software verifica uma média mínima de 4.000.000 de fragmentos exclusivos mapeados por amostra e por pool. Por esse motivo, não adicione mais de duas amostras NTC por pool. Para obter mais informações, consulte [Métricas e limites de CQ para sequenciamento na página 47](#).

Os statuses do CQ das amostras NTC são mostrados a seguir.

- **NTC sample processing** (Processamento de amostras NTC): ao processar uma amostra NTC, o software aplica um resultado de CQ PASS (APROVADA) quando a cobertura da amostra é baixa, conforme esperado para NTC.
- **Patient sample as NTC** (Amostra de paciente como NTC): ao processar uma amostra de paciente, marcada como NTC, é detectada cobertura elevada. Como a amostra está marcada como NTC, o software marca o status da amostra de CQ como FAIL (REPROVADA) pelo seguinte motivo: NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (AMOSTRA NTC COM COBERTURA ELEVADA).

VeriSeq Onsite Server v2

O VeriSeq Onsite Server v2 executa um sistema operacional baseado em Linux e fornece cerca de 7,5 TB de capacidade de armazenamento de dados. Supondo que as execuções de sequenciamento têm um tamanho de dados de 25 GB, o servidor pode armazenar até 300 execuções. Se a capacidade de

armazenamento mínima não está disponível, é emitida uma notificação automática. O servidor é instalado na rede local.

Disco local

O VeriSeq NIPT Assay Software disponibiliza pastas específicas no servidor local para o usuário. É possível mapear essas pastas com um protocolo de compartilhamento Samba para qualquer computador ou laptop da rede local.

Nome da pasta	Descrição	Acesso
Input (Entrada)	Contém dados de sequenciamento gerados pelo sistema de sequenciamento de última geração mapeados para o servidor.	Leitura e gravação
Output (Saída)	Contém todos os relatórios gerados pelo software.	Somente leitura
Backup	Contém backups do banco de dados.	Somente leitura

OBSERVAÇÃO O mapeamento do disco local é baseado no protocolo SMB (Server Message Block). O software é compatível, atualmente, com as versões SMB2 e superiores. O servidor exige assinatura SMB. Ative essas versões no equipamento (laptop/estação de trabalho) que você está mapeando.

Banco de dados local

O VeriSeq NIPT Assay Software mantém um banco de dados local com as informações da biblioteca, informações de execuções de sequenciamento e resultados de análises. O banco de dados é parte integral do VeriSeq NIPT Assay Software e não está acessível ao usuário. O sistema mantém um mecanismo automático para backup do banco de dados no servidor local. Além dos processos a seguir, referentes ao banco de dados, é recomendável que os usuários façam regularmente backup do banco de dados em um local externo.

- **Backup do banco de dados:** um instantâneo do banco de dados é salvo automaticamente a cada hora, diariamente, semanalmente e mensalmente. Os backups a cada hora são removidos após a criação do backup diário. Do mesmo modo, os backups diários são removidos quando o backup semanal está pronto. Os backups semanais são removidos após a criação de um backup mensal e é mantido apenas um backup mensal. A prática recomendada é criar um script automático que possa manter a pasta de backup em um NAS local. Esses backups não incluem as pastas de entrada e saída.

OBSERVAÇÃO O VeriSeq NIPT Assay Software v2 fornece uma opção de criptografia para backup do banco de dados. Consulte [Configurar a criptografia de backup na página 35](#) para obter mais informações.

- **Restauração do banco de dados:** é possível restaurar o banco de dados com base em qualquer instantâneo de backup. As restaurações são feitas somente pelos engenheiros de atendimento de campo da Illumina. A senha de criptografia deve ser fornecida para restaurar um backup criptografado. Essa senha deve ser a senha que está em vigor na ocasião do backup.
- **Backup dos dados:** embora seja possível usar o servidor local como o ponto de armazenamento principal das execuções do sequenciamento, ele só pode armazenar cerca de 300 execuções. Você pode configurar um backup de dados automático que seja executado continuamente em outro dispositivo de armazenamento de longo prazo ou em um NAS.
- **Manutenção:** além do backup dos dados, o servidor local não exige que o usuário execute qualquer tipo de manutenção. As atualizações do VeriSeq NIPT Assay Software ou do próprio servidor local são fornecidas pelo Suporte técnico da Illumina.

Arquivar dados

Consulte a política de arquivamento do setor de TI local para determinar como arquivar os diretórios de entrada e saída. O VeriSeq NIPT Assay Software monitora o espaço em disco restante no diretório de entrada e notifica os usuários por e-mail quando a capacidade de armazenamento restante está abaixo de 1 TB.

Não use o servidor local para armazenamento de dados. Transfira os dados para o servidor local e archive-os regularmente.

Uma execução do sequenciamento compatível com o fluxo de trabalho da análise de cfDNA requer 25 a 30 GB para execuções do sequenciador de última geração. O tamanho real da pasta da execução depende da densidade final do cluster.

Archive os dados somente quando o sistema estiver inativo e quando não houver análises ou execuções do sequenciamento em andamento.

Mapear unidades do servidor

O servidor local tem três pastas que podem ser mapeadas individualmente para qualquer computador com o Microsoft Windows:

- **input** (entrada): mapeia para as pastas de dados de sequenciamento. Monte no computador conectado ao sistema de sequenciamento. Configure o sistema de sequenciamento para transmitir dados para a pasta de entrada.
- **output** (saída): mapeia para os relatórios de análise do servidor e para os relatórios de processo de ensaio.

- **backup**: mapeia para os arquivos de backup do banco de dados.

OBSERVAÇÃO Somente engenheiros de atendimento e administradores ativos têm permissão para mapear unidades do servidor.

Mapeie cada pasta como descrito a seguir.

1. Faça logon no computador da sub-rede do servidor local.
2. Clique com o botão direito em **Computer** (Computador) e selecione **Map network drive** (Mapear unidade de rede).
3. Selecione uma letra na lista suspensa Drive (Unidade).
4. No campo Folder (Pasta), digite \\<endereço IP do VeriSeq Onsite Server v2>\<nome da pasta>. Por exemplo: \\10.50.132.92\input.
5. Digite o nome e senha (como administrador ativo) do VeriSeq NIPT Assay Software v2. Pastas mapeadas com êxito são exibidas montadas no computador. Se a função, o status de ativo ou a senha do administrador mudar, a conexão ativa do servidor mapeado será finalizada. Pastas mapeadas com êxito são exibidas montadas no computador.

OBSERVAÇÃO O mapeamento do disco local é baseado no protocolo SMB (Server Message Block). O software é compatível, atualmente, com as versões SMB2 e superiores. O servidor exige assinatura SMB. Ative essas versões no equipamento (laptop/estação de trabalho) que você está mapeando.

Reinicializar o servidor

OBSERVAÇÃO Somente engenheiros de atendimento e administradores têm permissão para reinicializar o servidor.

Para reinicializar o servidor:

1. Na lista suspensa **Settings** (Configurações), selecione **Reboot Server** (Reinicializar servidor).
2. Selecione **Reboot** (Reinicializar) para reinicializar o sistema ou **Cancel** (Cancelar) para sair sem fazer a reinicialização.
3. Informe um motivo para desligar o servidor.
O motivo é registrado para fins de solução de problemas.



CUIDADO

Nenhuma execução do sequenciamento ou preparação de amostras deverá estar ativa durante a reinicialização. Se isso for feito, poderá ocorrer perda de dados. A reinicialização do sistema pode demorar vários minutos. Planeje a atividade do laboratório levando em consideração a reinicialização.

Desligar o servidor

OBSERVAÇÃO Somente engenheiros de atendimento e administradores têm permissão para desligar o servidor.

Para desligar o servidor do servidor local:

1. Na lista suspensa **Settings** (Configurações), selecione **Shut Down Server** (Desligar servidor).
2. Selecione **Shut Down** (Desligar) para desligar o servidor local ou selecione **Cancel** (Cancelar) para sair sem desligar.
3. Informe um motivo para desligar o servidor local.

O motivo é registrado para fins de solução de problemas.



CUIDADO

Nenhuma execução do sequenciamento ou preparação de amostras deverá estar ativa durante o desligamento do servidor. Ao fazer isso, poderá ocorrer perda de dados.

Recuperação após desligamento inesperado

No caso de falta de energia ou desligamento acidental por parte do usuário durante a execução de uma análise, o sistema:

- reiniciará automaticamente o VeriSeq NIPT Assay Software após a reinicialização;
- reconhecerá que a execução da análise apresentou falha e reenviará a execução para a fila de processamento;
- vai gerar resultados quando a análise for concluída com êxito.

OBSERVAÇÃO Se ocorrer falha na análise, o VeriSeq NIPT Assay Software permitirá que o sistema reenvie a execução para análise no máximo três vezes.

Considerações ambientais

A tabela a seguir fornece considerações sobre a temperatura ambiente para o servidor local.

Altitude	Temperatura ambiente operacional	Temperatura ambiente não operacional
Nível do mar	10 °C a 40 °C	0 °C a 60 °C
+3.048 metros	0 °C a 30 °C	-10 °C a 50 °C

Informações sobre o descarte de equipamentos eletrônicos segundo a diretiva de Resíduos de Equipamentos Elétricos e Eletrônicos (REEE) e os regulamentos são fornecidas no site da Illumina em <https://support.illumina.com/weee-recycling.html>.

Métricas de controle de qualidade (CQ)

Métricas e limites de CQ para quantificação

Métrica	Descrição	Limite inferior	Limite superior	Fundamento
standard_r_squared	Valor de R ao quadrado do modelo de curva padrão.	0,980	N/A	Modelos da curva padrão que apresentam fraca linearidade no espaço log-log não são bons preditores das verdadeiras concentrações das amostras.
standard_slope	Inclinação do modelo da curva padrão.	0,95	1,15	Os modelos de curva padrão com inclinação fora das faixas de desempenho esperadas indicam um modelo não confiável.
ccn_library_pg_ul	Concentração máxima permitida da amostra.	N/A	1000 pg/μl	As amostras com concentrações de DNA calculadas que ultrapassam as especificações indicam uma contaminação excessiva do DNA genômico.

Métrica	Descrição	Limite inferior	Limite superior	Fundamento
median_ccn_pg_ul	Valor da concentração mediana calculada para todas as amostras de um lote.	16 pg/μl	N/A	Um pool de sequenciamento de volume adequado não pode ter um número elevado de amostras excessivamente diluídas. Os lotes com números elevados de amostras diluídas indicam uma falha no processo de preparação das amostras.

Métricas e limites de CQ para sequenciamento

Métrica	Descrição	Limite inferior	Limite superior	Fundamento
cluster_density	Densidade de cluster do sequenciamento.	152.000 por mm ²	338.000 por mm ²	Uma lâmina de fluxo com baixa densidade de cluster não gera leituras suficientes. Geralmente, lâminas de fluxo com clusterização em excesso produzem dados de sequenciamento de baixa qualidade.
pct_pf	Percentual de leituras que passam pelo filtro (PF) de pureza.	≥50%	N/A	Lâminas de fluxo com % de PF extremamente baixo podem ter uma representação de base anormal e provavelmente indicam problemas com leituras PF.

Métrica	Descrição	Limite inferior	Limite superior	Fundamento
prephasing	Fração de prephasing.	N/A	≤0,003	Recomendações otimizadas empiricamente para o VeriSeq NIPT Solution v2.
phasing	Fração de phasing.	N/A	≤0,004	Recomendações otimizadas empiricamente para o VeriSeq NIPT Solution v2.
predicted_ aligned_ reads	Número médio estimado de fragmentos exclusivamente mapeados por amostra.	≥4.000.000	N/A	Determinado como o NES (Non-Excluded Sites, Locais não excluídos) mínimo observado em toda a população normal.

Relatórios do sistema

Introdução

O VeriSeq NIPT Assay Software gera as seguintes categorias de relatórios:

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

Um relatório pode ser informativo ou acionável.

- **Informativo:** relatório relacionado a processos que fornece informações sobre o andamento do ensaio e que pode ser usado para confirmar a conclusão de uma etapa específica. O relatório também fornece informações, como os resultados de CQ e os números de ID.
- **Acionável:** relatório assíncrono acionado por um evento do sistema ou por uma ação do usuário que necessite da atenção do usuário.

Esta seção descreve cada relatório e fornece os detalhes do relatório para integração com o LIMS.

Arquivos de saída

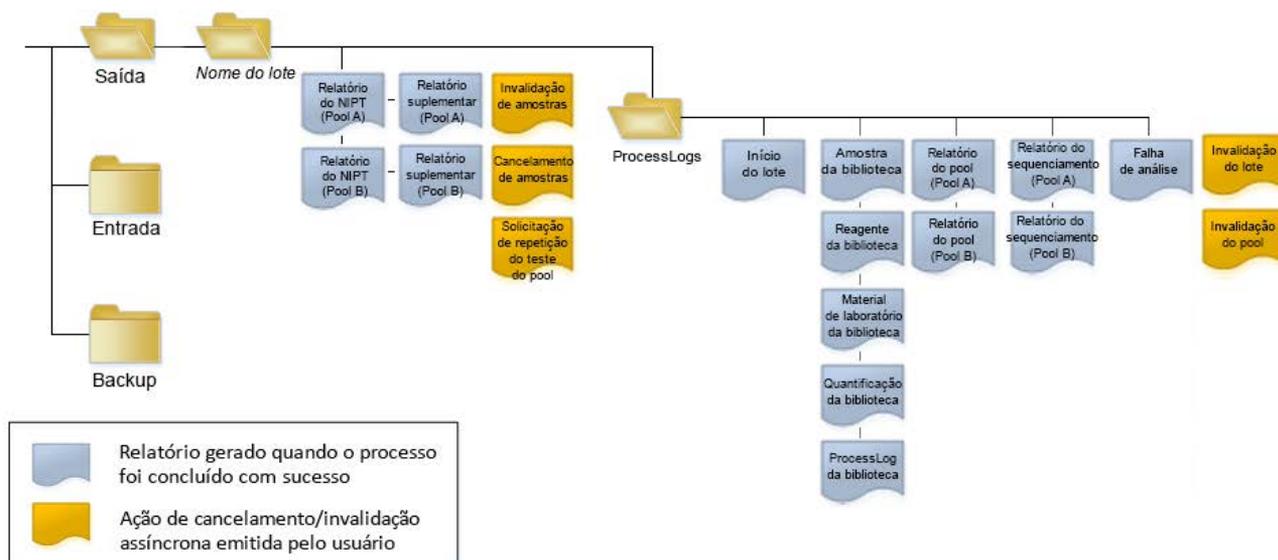
Os relatórios do VeriSeq NIPT Assay Software são gerados no disco rígido interno do servidor local mapeado para a unidade do usuário como uma pasta Output (Saída) somente leitura. Cada relatório é gerado com um arquivo de soma de verificação MD5 padrão correspondente, que é usado para confirmar que o arquivo não foi modificado.

Todos os relatórios têm o formato de texto simples delimitado por tabulações. Você pode abrir os relatórios com qualquer editor de texto ou programa de dados tabulados, como o Microsoft Excel®.

Estrutura de arquivos de relatórios

O VeriSeq NIPT Assay Software salva relatórios em uma estrutura específica na pasta Output (Saída).

Figura 4 Estrutura da pasta de relatórios do VeriSeq NIPT Assay Software



O VeriSeq NIPT Assay Software salva relatórios na pasta *Batch Name* (Nome do lote) com a seguinte organização:

- **Pasta principal (pasta Batch Name [Nome do lote]):** contém relatórios que fornecem resultados ou que estão associados a notificações por e-mail geradas pelo LIMS (Laboratory Information Management System, Sistema de gerenciamento de informações de laboratório). Para obter detalhes, consulte [Relatórios de resultados e notificações na página 56](#).
- **Pasta ProcessLogs:** contém relatórios relacionados a processos. Para obter detalhes, consulte [Relatórios de processos na página 73](#).

Uma lista de todos os relatórios é fornecida em [Resumo dos relatórios do sistema na página 51](#).

Resumo dos relatórios do sistema

Nome do relatório	Tipo de relatório	Entidade do relatório	Formato do nome do arquivo do relatório
Relatório do NIPT na página 56	Acionável	Pool/lâmina de fluxo	<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_nipt_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
Relatório suplementar na página 66	Acionável	Pool/lâmina de fluxo	<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_supplementary_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
Relatório de invalidação de amostras na página 72	Acionável	Amostra	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
Relatório de cancelamento de amostras na página 72	Acionável	Amostra	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_cancellation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
Relatório de solicitação de repetição do teste do pool na página 73	Acionável	Pool	<batch_name>_<pool_type>_pool_retest_request_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
Relatório de início de lote na página 73	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_batch_initiation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
Relatório de invalidação de lote na página 74	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_batch_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
Relatório de amostra da biblioteca na página 75	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_library_sample_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
Relatório de reagente da biblioteca na página 76	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_library_reagent_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
Relatório do material de laboratório da biblioteca na página 77	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_library_labware_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab

Nome do relatório	Tipo de relatório	Entidade do relatório	Formato do nome do arquivo do relatório
Relatório de quantificação da biblioteca na página 78	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_library_quant_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
Registro de processo da biblioteca na página 78	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_library_process_log.tab
Relatório do pool na página 80	Informativo	Pool	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
Relatório de invalidação de pool na página 80	Informativo	Pool	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
Relatório do sequenciamento na página 81	Informativo	Pool/lâmina de fluxo	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_sequencing_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
Relatório de falha de análise na página 82	Informativo	Pool/lâmina de fluxo	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_analysis_failure_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab

Eventos de geração de relatórios

Relatório	Descrição	Evento de geração
Relatório do NIPT	Contém os resultados finais de uma execução de análise com êxito.	<ul style="list-style-type: none"> A análise da execução do sequenciamento é concluída.
Relatório suplementar	Contém os resultados suplementares de uma execução de análise com êxito.	<ul style="list-style-type: none"> Análise de execução do sequenciamento e relatório do NIPT concluídos.
Invalidação de amostras	Contém informações sobre uma amostra invalidada.	<ul style="list-style-type: none"> O usuário invalida uma amostra.
Cancelamento de amostras	Contém informações sobre uma amostra cancelada.	<ul style="list-style-type: none"> O usuário cancela uma amostra.
Solicitação de repetição do teste do pool	Indica que um segundo pool pode ser gerado com base em um lote existente. Contém informações sobre o status da repetição do teste do pool. ¹	<ul style="list-style-type: none"> O usuário invalida um pool.
Início do lote	Indica o início do processamento de um novo lote.	<ul style="list-style-type: none"> O usuário inicia um novo lote.
Invalidação do lote	Contém informações sobre um lote iniciado pelo usuário invalidado.	<ul style="list-style-type: none"> O lote é invalidado.
Amostra da biblioteca	Lista todas as amostras do lote.	<ul style="list-style-type: none"> O lote é invalidado. O método de preparação da biblioteca é concluído. O lote apresenta falha na quantificação.

Relatório	Descrição	Evento de geração
Reagente da biblioteca	Contém informações do reagente de processamento da biblioteca.	<ul style="list-style-type: none"> • O lote é invalidado. • O método de preparação da biblioteca é concluído. • O lote apresenta falha na quantificação.
Material de laboratório da biblioteca	Contém informações sobre o material de laboratório de processamento da biblioteca.	<ul style="list-style-type: none"> • O lote é invalidado. • O método de preparação da biblioteca é concluído. • O lote apresenta falha na quantificação.
Quantificação da biblioteca	Contém resultados de teste de quantificação da biblioteca.	<ul style="list-style-type: none"> • O lote é invalidado. • O método de preparação da biblioteca é concluído. • O lote apresenta falha na quantificação.
Registro de processo da biblioteca	Contém as etapas executadas durante o processamento da biblioteca.	<ul style="list-style-type: none"> • O lote é invalidado. • O método de preparação da biblioteca é concluído. • O lote apresenta falha na quantificação. • O processo do lote é concluído.
Pool	Contém volumes de pooling da amostra.	<ul style="list-style-type: none"> • O método do pooling é concluído.
Invalidação do pool	Contém informações sobre um pool iniciado pelo usuário invalidado.	<ul style="list-style-type: none"> • O usuário invalida um pool.

Relatório	Descrição	Evento de geração
Sequenciamento	Contém resultados de CQ do sequenciamento.	<ul style="list-style-type: none"> Sequenciamento aprovado pelo CQ. Falha no CQ. Tempo esgotado do sequenciamento.
Falha de análise	Contém informações da análise para um pool que apresentou falha.	<ul style="list-style-type: none"> A análise da execução do sequenciamento apresenta falha.

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

Relatórios de resultados e notificações

Relatório do NIPT

O relatório do NIPT para o VeriSeq NIPT Assay Software v2 contém os resultados da classificação dos cromossomos formatados como uma amostra por linha para cada amostra do pool.

Coluna	Descrição	Opções de valores predefinidos	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	Não aplicável.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Código de barras exclusivo da amostra.	Não aplicável.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_type	Informações do tipo de amostra fornecidas pelo usuário do ponto de coleta ou do laboratório. Determinam a classificação de aneuploidia, informações sobre aneuploidia e critérios de CQ.	Uma das opções a seguir: <ul style="list-style-type: none"> • Singleton (Gestação única): gravidez de um único embrião. • Twin (Gêmeos): gravidez de múltiplos embriões. • Control (Controle): amostra de controle de sexo conhecido e classificação da aneuploidia. • NTC: amostra de controle sem modelo (sem DNA). • Not specified (Não especificado): não foi fornecido um tipo de amostra para essa amostra. 	enum	<i>Parâmetros especificados nas opções de parâmetros predefinidos.</i>

Coluna	Descrição	Opções de valores predefinidos	Tipo	Regex
sex_chrom	Análise do cromossomo sexual solicitada. Determina a apresentação de classificação da aneuploidia e informações do cromossomo sexual.	<p>Uma das opções a seguir:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Yes (Sim): são solicitadas informações sobre aneuploidia do cromossomo sexual e sobre o sexo. • No (Não): não são solicitadas informações sobre aneuploidia do cromossomo sexual nem sobre o sexo. • SCA (ACS): são solicitadas informações sobre aneuploidia do cromossomo sexual e não são solicitadas informações sobre o sexo. • Not specified (Não especificado): não foi fornecida uma opção de informações do cromossomo sexual para essa amostra. <p>O relatório do NIPT exhibe os parâmetros yes (sim), no (não) e sca (acs) em letras minúsculas.</p>	enum	<i>Parâmetros especificados nas opções de parâmetros predefinidos.</i>
screen_type	Tipo de triagem.	<p>Uma das opções a seguir:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Basic (Básica): triagem dos cromossomos 13, 18 ou 21. • Genomewide (Genômica ampla): triagem de todo o genoma. • Not specified (Não especificada): não foi fornecido um tipo de triagem para essa amostra <p>O relatório do NIPT exhibe os parâmetros basic (básica) e genomewide (genômica ampla) em letras minúsculas.</p>	texto	<i>Parâmetros especificados nas opções de parâmetros predefinidos.</i>
flowcell	Código de barras da lâmina de fluxo do sequenciamento.	Não aplicável.	texto	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>

Coluna	Descrição	Opções de valores predefinidos	Tipo	Regex
class_sx	Classificação da aneuploidia do cromossomo sexual.	<p>Uma das seguintes opções, dependendo das opções selecionadas de tipo de amostra e das informações do cromossomo sexual:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ANOMALY DETECTED (ANOMALIA DETECTADA): visualize a anomaly_description dos dados específicos da anomalia. • NO ANOMALY DETECTED (NENHUMA ANOMALIA DETECTADA): amostra negativa e sexo não informado. • NO ANOMALY DETECTED – XX (NENHUMA ANOMALIA DETECTADA – XX): amostra negativa com feto do sexo feminino. • NO ANOMALY DETECTED – XY (NENHUMA ANOMALIA DETECTADA – XY): amostra negativa com feto do sexo masculino. • NOT REPORTABLE (NÃO RELATÁVEL): o software não conseguiu relatar o cromossomo sexual. • NO CHR Y PRESENT (SEM CROM Y PRESENTE): gravidez de gêmeos sem cromossomo Y detectado. • CHR Y PRESENT (CROM Y PRESENTE): gravidez de gêmeos com cromossomo Y detectado. • CANCELLED (CANCELADA): amostra cancelada pelo usuário. • INVALIDATED (INVALIDADA): a amostra não passou no CQ ou foi invalidada pelo usuário. • NOT TESTED (NÃO TESTADA): o cromossomo sexual não foi testado. • Not applicable (Não aplicável): a categoria não é aplicável à amostra. 	class_sx	<i>Parâmetros especificados nas opções de parâmetros predefinidos.</i>

Coluna	Descrição	Opções de valores predefinidos	Tipo	Regex
class_auto	Classificação de aneuploidias em autossomos. Relatada como ANOMALY DETECTED (ANOMALIA DETECTADA) se tiver sido detectada uma anomalia no tipo de triagem selecionado para a amostra.	Uma das opções a seguir: <ul style="list-style-type: none"> • ANOMALY DETECTED (ANOMALIA DETECTADA): anomalia nos cromossomos autossômicos detectada. • NO ANOMALY DETECTED (NENHUMA ANOMALIA DETECTADA): nenhuma anomalia autossômica detectada. • CANCELLED (CANCELADA): amostra cancelada pelo usuário. • INVALIDATED (INVALIDADA): a amostra não passou no CQ ou foi invalidada pelo usuário. • Not applicable (Não aplicável): a categoria não é aplicável à amostra. 	texto	<i>Parâmetros especificados nas Opções de parâmetros predefinidos.</i>
anomaly_description	Cadeia de texto em estilo ICSN que descreve todas as anomalias relatáveis. Várias anomalias são separadas por ponto e vírgula.	DETECTED (DETECTADA): seguido por cadeias de texto separadas por ponto e vírgula, concatenando os seguintes formatos, em ordem cromossômica: (\+ -)[12]?[0-9] (del dup)\([12]?[0-9]\)\(((p q)[0-9]{1,2}\.[0-9]{1,2})?)\{2}\) XO XXX XXY XYY ou NO ANOMALY DETECTED (NENHUMA ANOMALIA DETECTADA) not applicabe (não aplicável) INVALIDATED (INVALIDADA) CANCELLED (CANCELADA).	texto	<i>Cadeias de texto separadas por ponto e vírgula e outros parâmetros descritos na seção Regras de descrição de anomalias na página 62.</i>

Coluna	Descrição	Opções de valores predefinidos	Tipo	Regex
qc_flag	Resultados da análise de CQ Apenas os resultados de parâmetros qc_flag de WARNING (ADVERTÊNCIA) e PASS (APROVADA) informam resultados. Todos os outros parâmetros não o fazem.	Uma das opções a seguir: <ul style="list-style-type: none"> • PASS (APROVADA) • WARNING (ADVERTÊNCIA) • FAIL (REPROVADA) • CANCELLED (CANCELADA) • INVALIDATED (INVALIDADA) • NTC_PASS 	enum	<i>Parâmetros especificados nas Opções de parâmetros predefinidos.</i>

Coluna	Descrição	Opções de valores predefinidos	Tipo	Regex
qc_reason	Informação ou advertência de falha no CQ.	Uma das opções a seguir: <ul style="list-style-type: none"> • NONE (NENHUMA) (status do CQ = APROVADA) • MULTIPLE ANOMALIES DETECTED (MÚLTIPLAS ANOMALIAS DETECTADAS) (status do CQ = ADVERTÊNCIA) • FAILED iFACT (FALHA NO iFACT) • DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DADOS FORA DO INTERVALO ESPERADO) • FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DO FRAGMENTO FORA DO INTERVALO ESPERADO) • FLOWCELL DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DADOS DA LÂMINA DE FLUXO FORA DO INTERVALO ESPERADO) • FAILED TO ESTIMATE FETAL FRACTION (FALHA EM ESTIMAR A FRAÇÃO FETAL) • SEQUENCING DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DADOS DE SEQUENCIAMENTO FORA DO INTERVALO ESPERADO) • UNEXPECTED DATA (DADOS INESPERADOS) • NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (AMOSTRA NTC COM COBERTURA ELEVADA) • CANCELLED (CANCELADA) • INVALIDATED (INVALIDADA) 	texto	<i>Parâmetros especificados nas Opções de parâmetros predefinidos.</i>
ff	Fração fetal estimada.	Percentual do cfDNA do feto arredondado para o número inteiro mais próximo. Resultados inferiores a 1% são apresentados como <1%.	texto	<i>Não aplicável.</i>

Regras de descrição de anomalias

Se a análise do VeriSeq NIPT Assay Software v2 identifica uma anomalia, o campo `anomaly_description` do relatório NIPT exibe o parâmetro DETECTED (DETECTADA) seguido por uma cadeia de texto. Esse texto descreve todas as anomalias relatáveis com base no estilo International Standing Committee on Cytogenetic Nomenclature (ISCN). A cadeia de texto contém diversos elementos separados por ponto e vírgula. Cada elemento representa uma trissomia ou monossomia em um autossomo, uma aneuploidia do cromossomo sexual ou uma deleção ou duplicação parcial.

Elementos de trissomia e monossomia são indicados por `+<chr>` e `-<chr>`, respectivamente, em que `<chr>` é o número do cromossomo.

Por exemplo, uma amostra com trissomia no cromossomo 5 é indicada como:

+5

Uma amostra com monossomia no cromossomo 6 é indicada como:

-6

Aneuploidias do cromossomo sexual usam notação padrão, com os possíveis parâmetros a seguir:

- XO - para monossomia no cromossomo X.
- XXX - para trissomia no cromossomo X.
- XXY - para 2 cromossomos X no sexo masculino.
- XYY - para 2 cromossomos Y no sexo masculino.

Deleções ou duplicações parciais somente são relatadas para autossomos e só aparecem na triagem genômica ampla. A sintaxe de uma deleção ou duplicação parcial é `<type>(<chr>)(<start band><end band>)`, em que o seguinte é verdadeiro:

- `<type>` é o tipo de evento, sendo `del` para deleção ou `dup` para duplicação.
- `<chr>` é o número do cromossomo.
- `<start band>` é a banda citogenética que contém o início do evento.
- `<end band>` é a banda citogenética que contém o fim do evento.

Por exemplo, uma deleção ou duplicação parcial em que a banda citogenética em p13 no cromossomo 19 tem uma duplicação é apresentada da seguinte forma:

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

O campo `anomaly_description` segue quatro regras de ordenação:

1. Os elementos são ordenados pelo número do cromossomo, independentemente de se tratar de um cromossomo inteiro ou de uma deleção ou duplicação parcial. Uma aneuploidia do cromossomo sexual, se presente, aparece por último.
2. Para anomalias no mesmo cromossomo, as aneuploidias cromossômicas totais vêm antes das deleções ou duplicações parciais.
3. Para deleções ou duplicações parciais no mesmo cromossomo, as deleções aparecem antes das duplicações.

4. Deleções ou duplicações parciais do mesmo tipo no mesmo cromossomo são ordenadas pela base inicial, mostrada no relatório suplementar.

OBSERVAÇÃO Para a triagem genômica ampla, o software pode relatar uma aneuploidia e uma deleção ou duplicação parcial como afetando o mesmo cromossomo. Na ocorrência desse resultado, consulte o relatório suplementar quanto às métricas adicionais para ajudar na interpretação.

Mensagens de motivo de CQ

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

Mensagem de motivo de CQ	Descrição	Ação recomendada
FAILED iFACT (FALHA NO iFACT)	Teste individualizado de confiança de aneuploidia fetal (iFACT): métrica de CQ que combina a estimativa da fração fetal com métricas da execução associadas à cobertura para determinar se o sistema tem confiança estatística para fazer uma identificação em uma determinada amostra.	Reprocessar a amostra.
DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DADOS FORA DO INTERVALO ESPERADO)	O desvio médio da cobertura de euploides não é consistente com a distribuição dos dados preparados. Possivelmente, provocado por contaminação ou processamento incorreto da amostra.	Reprocessar a amostra.
FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DISTRIBUIÇÃO DO TAMANHO DO FRAGMENTO FORA DO INTERVALO ESPERADO)	A distribuição do tamanho do fragmento não é consistente com a distribuição dos dados preparados. Possivelmente, provocado por contaminação ou processamento incorreto da amostra.	Reprocessar a amostra.
FLOWCELL DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DADOS DA LÂMINA DE FLUXO FORA DO INTERVALO ESPERADO)	Os dados da lâmina de fluxo não são consistentes com a distribuição dos dados preparados. Possivelmente, causado por erro na configuração da lâmina de fluxo.	Reprocessar a amostra.

Mensagem de motivo de CQ	Descrição	Ação recomendada
FAILED TO ESTIMATE FETAL FRACTION (FALHA EM ESTIMAR A FRAÇÃO FETAL)	Não é possível fazer uma estimativa válida da fração fetal.	Reprocessar a amostra.
SEQUENCING DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (DADOS DE SEQUENCIAMENTO FORA DO INTERVALO ESPERADO)	Os dados de sequenciamento inseridos não são consistentes com a distribuição dos dados preparados. Possivelmente, provocado por contaminação ou processamento incorreto da amostra.	Fazer o ressequenciamento da lâmina de fluxo.
UNEXPECTED DATA (DADOS INESPERADOS)	O relatório gera uma preocupação de CQ que não corresponde a qualquer um dos outros motivos de CQ apresentados nesta tabela.	Contatar o Suporte técnico da Illumina.
MULTIPLE ANOMALIES DETECTED (MÚLTIPLAS ANOMALIAS DETECTADAS)	São detectadas na amostra duas ou mais anomalias relatáveis (incluindo aneuploidias de cromossomos inteiros e eventos de CNV). A detecção de múltiplas anomalias pode indicar o manuseio incorreto da amostra ou um evento mais raro, como neoplasia materna. Essa mensagem é uma advertência. Ela não representa uma falha do CQ. Os resultados são informados para que seja possível ver as anomalias detectadas. Contudo, pode ser necessário reprocessar a amostra.	Reprocessar a amostra.
NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (AMOSTRA NTC COM COBERTURA ELEVADA)	Cobertura elevada detectada para uma amostra NTC (nenhum material de DNA esperado). Possivelmente, provocado por contaminação ou processamento incorreto da amostra.	Reprocessar a amostra.
CANCELLED (CANCELADA)	A amostra foi cancelada por um usuário.	Não aplicável.
INVALIDATED (INVALIDADA)	A amostra foi invalidada por um usuário.	Não aplicável.

Relatório suplementar

O Relatório suplementar contém dados de métricas adicionais, com base em um lote, uma amostra ou uma região. Nesse relatório, cada linha representa uma métrica. São aplicadas várias métricas ao mesmo lote, amostra ou região.

O arquivo separado por tabulações tem seis colunas, conforme descrito na tabela a seguir.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
flowcell	Código de barras da lâmina de fluxo.	texto	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
batch_name	Nome do lote em questão.	texto	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
sample_barcode	Código de barras da amostra.	texto	NA (não se aplica) para métricas de cada lote. <code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
region	Um cromossomo inteiro ou uma descrição da região da deleção ou duplicação parcial.	texto	NA (não se aplica) para métricas de cada lote ou amostra. chr[12]?[0-9X]: para métricas de região de cromossomo inteiro. (del dup)\([12]?[0-9X]\)\(((p q)[0-9]{1,2}(\.[0-9]{1,2})?)?{2}\): para métricas de região de deleção ou duplicação parcial.
metric_name	Nome da métrica descrita.	texto	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
metric_value	Valor da métrica.	varia	Consulte Métricas do relatório suplementar na página 66 .

Métricas do relatório suplementar

O Relatório suplementar contém dados para as métricas a seguir. Cada métrica é exibida com base no lote, na amostra ou na região.

A métrica do cromossomo X só será exibida se você selecionar as opções do cromossomo sexual Yes (Sim) ou SCA (ACS).

Os intervalos de valores são exibidos como Minimum Value (Valor mínimo), Maximum Value (Valor máximo) entre parênteses ou colchetes. Os parênteses indicam que um valor limite está excluído do intervalo. Os colchetes indicam que um valor limite está incluído no intervalo. Inf é a abreviatura de infinito.

Nome da métrica	Frequência	Descrição	Tipo	Regex ou intervalo de valores
genome_assembly	Por lote	O sistema de coordenadas do alinhamento dos dados de sequenciamento e as coordenadas da região do relatório. Sempre GRCh37 para o VeriSeq NIPT Solution v2.	texto	^GRCh37\$
frag_size_dist	Por amostra	O desvio padrão das diferenças entre as distribuições do tamanho de fragmento cumulativo reais e esperadas.	flutuante	(0, Inf)
fetal_fraction	Por amostra	Fração fetal informada.	flutuante	(0, 1)
NCV_X	Por amostra	Valor cromossômico normalizado para o cromossomo X. Só será exibido se a opção do cromossomo sexual no relatório permitir. Caso contrário, essa métrica é exibida como NOT TESTED (NÃO TESTADA).	flutuante	(-Inf, Inf)
NCV_Y	Por amostra	Valor cromossômico normalizado para o cromossomo Y. Só será exibido se a opção do cromossomo sexual no relatório permitir. Caso contrário, essa métrica é exibida como NOT TESTED (NÃO TESTADA).	flutuante	(-Inf, Inf)
number_of_cnv_events	Por amostra	Número de regiões de deleção ou duplicação parcial detectadas na amostra.	inteiro	(0, Inf)
non_excluded_sites	Por amostra	Número de leituras restantes após a filtragem que são levadas em conta para análise.	inteiro	(0, Inf)

Nome da métrica	Frequência	Descrição	Tipo	Regex ou intervalo de valores
region_classification	Por região	<p>Classificação da região pelo sistema no mesmo formato que o do campo anomaly_description no Relatório do NIPT.</p> <p>Para o cromossomo X, se não tiver sido detectada qualquer anomalia no cromossomo sexual relatável, a classificação da região corresponderá ao valor de class_sx no Relatório do NIPT.</p> <p>Opções de parâmetros (regex): DETECTED (DETECTADA): (\+ -)[12]?[0-9] DETECTED (DETECTADA): (del dup)\([12]?[0-9]\)\(((p q)[0-9]{1,2}(\.[0-9]{1,2})?)?{2}\) NO ANOMALY DETECTED (NENHUMA ANOMALIA DETECTADA) DETECTED (DETECTADA): (XO XXX XXY XYY) NO ANOMALY DETECTED - XX (NENHUMA ANOMALIA DETECTADA - XX) NO ANOMALY DETECTED - XY (NENHUMA ANOMALIA DETECTADA - XY) NOT REPORTABLE (NÃO RELATÁVEL) CHR Y PRESENT (CROM Y PRESENTE) CHR Y NOT PRESENT (SEM CROM Y PRESENTE)</p>	texto	Valores especificados em Descrição.
chromosome	Por região	O símbolo do cromossomo.	texto	chr[12]?[0-9X]
start_base	Por região	Primeira base incluída na região.	inteiro	[1, Inf)
end_base	Por região	Última base incluída na região.	inteiro	[1, Inf)
start_cytoband	Por região	Banda citogenética da primeira base incluída na região.	texto	(p q)[0-9]{1,2}(\.[0-9]{1,2})?

Nome da métrica	Frequência	Descrição	Tipo	Regex ou intervalo de valores
end_cyband	Por região	Banda citogenética da última base incluída na região.	texto	(p q)[0-9]{1,2}(\.[0-9]{1,2})?
region_size_mb	Por região	Tamanho da região em megabases.	flutuante	(0, Inf)
region_llr_trisomy	Por região	Pontuação LLR (razão logarítmica de verossimilhança) para trissomia na região. Indica evidências de trissomia em comparação com evidências de nenhuma alteração (dissomia). Será identificada uma trissomia se essa pontuação de LLR ultrapassar um limite predeterminado. Para deleções ou duplicações parciais, essa métrica só será exibida se o tipo for um ganho (dup). Caso contrário, essa métrica é exibida como não aplicável (não aplicável).	flutuante	(-Inf, Inf)

Nome da métrica	Frequência	Descrição	Tipo	Regex ou intervalo de valores
region_llr_monosomy	Por região	<p>Pontuação da LLR para monossomia na região. Indica evidências de monossomia em comparação com evidências de nenhuma alteração (dissomia). Será identificada uma monossomia se essa pontuação de LLR ultrapassar um limite predeterminado.</p> <p>Para deleções ou duplicações parciais, essa métrica só será exibida se o tipo for uma perda (del). Caso contrário, essa métrica é exibida como não aplicável (não aplicável). Essa métrica é exibida como NOT TESTED (NÃO TESTADA) se você opta pelo tipo de triagem básica.</p>	flutuante	(-Inf, Inf)
region_t_stat_long_reads	Por região	<p>Estatística T da região.</p> <p>A estatística T é a diferença de cobertura entre a região e o resto do genoma, em comparação com a variação na amostra. Esta é uma métrica de sinal/ruído que captura a capacidade de detecção de qualquer desvio na cobertura da região. "long_reads" indica que a cobertura utilizada para essa estatística T inclui o intervalo completo de tamanhos de fragmentos usados na análise.</p> <p>A estatística T é combinada com a fração fetal estimada da amostra para gerar pontuações de LLR.</p>	flutuante	(-Inf, Inf)

Nome da métrica	Frequência	Descrição	Tipo	Regex ou intervalo de valores
region_mosaic_ratio	Por região	Proporção do material fetal com aneuploidia. Essa métrica baseia-se na relação entre a fração fetal inferida com base na cobertura da região e a fração fetal da amostra. Em amostras com frações fetais próximas de zero, as relações de mosaicos podem assumir valores negativos devido à variabilidade da estimativa da fração fetal da amostra utilizada no respectivo cálculo.	flutuante	(-Inf, Inf)
region_mosaic_llr_trisomy	Por região	Pontuação de LLR para trissomia calculada usando a fração fetal inferida com base na cobertura na região, em vez da fração fetal da amostra. Para deleções ou duplicações parciais, essa métrica só será exibida se o tipo for um ganho (dup). Caso contrário, essa métrica é exibida como não aplicável (não aplicável).	flutuante	(-Inf, Inf)
region_mosaic_llr_monosomy	Por região	Pontuação de LLR para monossomia calculada usando a fração fetal inferida com base na cobertura na região, em vez da fração fetal da amostra. Para deleções ou duplicações parciais, essa métrica só será exibida se o tipo for uma perda (del). Caso contrário, essa métrica será exibida como não aplicável (não aplicável). Essa métrica é exibida como NOT TESTED (NÃO TESTADA) se você opta pelo tipo de triagem básica.	flutuante	(-Inf, Inf)

Relatório de invalidação de amostras

O sistema gera um relatório de invalidação de amostra para cada amostra invalidada ou que apresenta falha.

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

Relatório de cancelamento de amostras

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

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

Relatório de solicitação de repetição do teste do pool

O relatório de solicitação de repetição do teste do pool indica que pode ser criado um novo pool. O sistema gera um relatório de solicitação de repetição do teste do pool quando a primeira de duas execuções de sequência possíveis (pools) para este tipo de pool é invalidada.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_type	Tipo do pool.	enum	A B C E
reason	Motivo fornecido pelo usuário para a invalidação do pool anterior.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Data e hora da solicitação.	Carimbo de data/hora ISO 8601	

Relatórios de processos

Esta seção fornece detalhes sobre os relatórios de processos gerados pelo VeriSeq NIPT Assay Software.

Relatório de início de lote

O sistema gera um relatório de início de lote quando um lote é iniciado e validado com êxito antes do isolamento do plasma. O relatório pode ser enviado para o LIMS para indicar que o lote foi criado e para fornecer uma lista das amostras associadas.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Código de barras exclusivo da amostra.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_type	Tipo de amostra do código de barras da amostra.	enum	singleton control twin ntc (gestação única controle gêmeos ntc)
well	Poço associado a uma amostra.	texto	^[a-zA-Z]{1,1}[0-9]{1,2}\$
assay	Nome do ensaio.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
method_ version	Versão do método de automação do ensaio.	texto	VeriSeq NIPT v2 Assay
workflow_ manager_ version	Versão do Workflow Manager associado ao lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$

Relatório de invalidação de lote

O sistema gera um relatório de invalidação de lote quando o lote é invalidado ou apresenta falha.

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

Relatório de amostra da biblioteca

O sistema gera um relatório de amostra da biblioteca na presença de falha ou invalidação de lote, na conclusão com êxito da biblioteca e na conclusão com êxito da quantificação.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode	Código de barras exclusivo da amostra.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
qc_status	Status da amostra após a conclusão das etapas do ensaio.	enum	pass fail (aprovado reprovado)
qc_reason	Motivo do status do CQ.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
starting_volume	Volume inicial do tubo de coleta de sangue, em ml, na ocasião do isolamento do plasma.	flutuante	
index	Índice associado a uma amostra.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
ccn_library_pg_ul	Concentração da biblioteca em pg/μl.	flutuante	
plasma_isolation_comments	Comentários do usuário ao realizar um isolamento de plasma (texto livre).	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$
cfdna_extraction_comments	Comentários do usuário ao realizar extração de cfDNA (texto livre).	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$
library_prep_comments	Comentários do usuário ao realizar a preparação da biblioteca (texto livre).	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$
quantitation_comments	Comentários do usuário ao realizar quantificação (texto livre).	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,512}\$

Relatório de reagente da biblioteca

O sistema gera um relatório de reagente da biblioteca na presença de falha ou invalidação de lote, na conclusão com êxito da biblioteca e na conclusão com êxito da quantificação.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
process	Nome do processo, no formato PROCESS:sub-process. Opções de parâmetros: <ul style="list-style-type: none"> • ISOLATION (ISOLAMENTO): batch_validation, prespin, postspin, data_transact. • EXTRACTION (EXTRAÇÃO): setup, chemistry, data_transact. • LIBRARY (BIBLIOTECA): setup, chemistry, data_transact, complete. • QUANT (QUANTIFICAÇÃO): setup, build_standards, build_384, analysis, data_transact. • POOLING: analysis, setup, pooling, data_transact, complete. 	texto	^[A-Z]{1,36}: [a-z0-9_]{1,36}\$
reagent_name	Nome do reagente.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
lot	Código de barras do reagente.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
expiration_date	Data de validade no formato do fabricante.	texto	^[a-zA-Z0-9:/_-]{1,100}\$
operator	Nome de usuário do operador.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
initiated	Carimbo de data/hora associado ao reagente.	Carimbo de data/hora ISO 8601	

Relatório do material de laboratório da biblioteca

O sistema gera um relatório do material de laboratório da biblioteca na presença de falha ou invalidação de lote, na conclusão com êxito da biblioteca e na conclusão com êxito da quantificação.

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

Relatório de quantificação da biblioteca

O sistema gera um relatório de quantificação de biblioteca após a conclusão com êxito da quantificação.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
quant_id	Identificação numérica.	por extenso	
instrument	Nome do instrumento de quantificação (texto livre).	texto	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
standard_rsquared	R ao quadrado.	flutuante	
standard_intercept	Interseção.	flutuante	
standard_slope	Inclinação.	flutuante	
median_ccn_pg_ul	Concentração mediana da amostra.	flutuante	
qc_status	Status de CQ de quantificação.	enum	pass fail (aprovado reprovado)
qc_reason	Descrição do motivo da falha, se houver.	texto	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>
initiated	Carimbo de data/hora do início associado à quantificação.	Carimbo de data/hora ISO 8601	

Registro de processo da biblioteca

O sistema gera um registro de processo da biblioteca no início e na conclusão ou em caso de falha de cada processo de lote; em caso de falha ou invalidação do lote; e na conclusão da análise (gerado por pool).

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	<code>^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$</code>

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
process	Nome do processo do lote, no formato de PROCESS:sub-process. Opções de parâmetros: ISOLATION (ISOLAMENTO): batch_validation, prespin, postspin, data_transact. EXTRACTION (EXTRAÇÃO): setup, chemistry, data_transact. LIBRARY (BIBLIOTECA): setup, chemistry, data_transact, complete. QUANT (QUANTIFICAÇÃO): setup, build_standards, build_384, analysis, data_transact. POOLING : analysis, setup, pooling, data_transact, complete.	texto	^[A-Z]{1,36}:[a-z0-9_]{1,36}\$
operator	Iniciais do operador.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
instrument	Nome do instrumento.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
started	Data e hora do início do processo do lote.	Carimbo de data/hora ISO 8601	
finished	Data e hora da conclusão ou falha do processo do lote.	Carimbo de data/hora ISO 8601	
status	Lote atual.	enum	completed failed started aborted (concluído com falha iniciado interrompido)

Relatório do pool

O sistema gera um relatório de pool após a conclusão com êxito da biblioteca, quando ocorre falha do lote e na invalidação do lote se o evento ocorre depois do início do pooling.

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

Relatório de invalidação de pool

O sistema gera um relatório de invalidação de pool quando o pool é invalidado.

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

Relatório do sequenciamento

O sistema gera um relatório de sequenciamento para a execução do sequenciamento quando o sequenciamento é concluído ou o tempo limite é atingido.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode	Código de barras do pool associado à execução do sequenciamento.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
instrument	Número de série do sequenciador.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
flowcell	Lâmina de fluxo associada à execução do sequenciamento.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
software_version	Concatenação do aplicativo de software/versão usada para gerar os dados no sequenciador.	texto	
run_folder	Nome da pasta de execução do sequenciamento.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]+\$
sequencing_status	Status da execução do sequenciamento.	enum	completed timed out failed (concluído tempo esgotado apresentou falha)
qc_status	Status do CQ da execução do sequenciamento.	enum	pass fail error (aprovado reprovado erro)
qc_reason	Motivos de CQ para falha no CQ, parâmetros separados por ponto e vírgula.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
cluster_density	Densidade de cluster (mediana por lâmina de fluxo nos blocos).	flutuante	
pct_q30	Percentual de bases acima de Q30.	flutuante	
pct_pf	Percentual de leituras que passam pelo filtro.	flutuante	
phasing	Phasing.	flutuante	
prephasing	Prephasing.	flutuante	

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
predicted_ aligned_ reads	Leituras alinhadas previstas.	por extenso	
started	Carimbo de data/hora associado ao início do sequenciamento.	Carimbo de data/hora ISO 8601	
completed	Carimbo de data/hora associado à conclusão do sequenciamento.	Carimbo de data/hora ISO 8601	

Relatório de falha de análise

O sistema gera um relatório de falha de análise ao atingir o número máximo de tentativas de análise na execução do sequenciamento.

Coluna	Descrição	Tipo	Regex
batch_name	Nome do lote.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_ barcode	Código de barras do pool associado à análise com falha.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
flowcell	Código de barras da lâmina de fluxo associado à análise com falha.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sequencing_ run_folder	Pasta Sequencing Run (Execução do sequenciamento) associada à análise com falha.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]+\$
analysis_run_ status	Status da execução do sequenciamento associado à análise com falha.	texto	^[a-zA-Z0-9_-]+\$
timestarted	Carimbo de data/hora associado ao início da análise.	Carimbo de data/hora ISO 8601	
timefinished	Carimbo de data/hora associado à análise com falha.	Carimbo de data/hora ISO 8601	

Solução de problemas

Introdução

A assistência para a solução de problemas do VeriSeq NIPT Solution v2 abrange os seguintes recursos:

- Notificações do sistema e do VeriSeq NIPT Assay Software.
- Ações recomendadas para problemas do sistema.
- Instruções para a realização de análises preventivas e de falhas usando dados de teste pré-instalados.

Notificações do Assay Software

Esta seção descreve as notificações do VeriSeq NIPT Assay Software.

Notificações de progresso

As notificações de progresso indicam o progresso normal da execução do ensaio. Essas notificações são registradas como atividades e não exigem qualquer ação por parte do usuário.

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
Batch initiation (Início do lote)	Preparação da biblioteca	O usuário criou um novo lote.	Atividade	Sim	Não aplicável.
Batch Library Complete (Biblioteca do lote concluída)	Preparação da biblioteca	Biblioteca concluída para o lote atual.	Atividade	Não	Não aplicável.

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
Pool Complete (Pool concluído)	Preparação da biblioteca	O pool foi gerado com base em um lote.	Atividade	Não	Não aplicável.
Sequencing Started (Sequenciamento iniciado)	Sequenciamento	O sistema detectou uma nova pasta de dados de sequenciamento.	Atividade	Não	Não aplicável.
Sequencing QC passed (Sequenciamento aprovado pelo CQ)	Sequenciamento	A execução do sequenciamento foi concluída e o sequenciamento foi aprovado na verificação do CQ.	Atividade	Não	Não aplicável.
Sequencing Run Associated With Pool (Execução de sequenciamento associada a pool)	Sequenciamento	A execução do sequenciamento foi associada com sucesso a um pool conhecido.	Atividade	Não	Não aplicável.
Analysis Started (Análise iniciada)	Análise	Análise iniciada para a execução do sequenciamento especificada.	Atividade	Sim	Não aplicável.
Analysis Completed NIPT Report Generated (Análise concluída – Relatório do NIPT gerado)	Pós-análise	A análise foi concluída e os relatórios foram gerados.	Atividade	Sim	Não aplicável.

Notificações de invalidação

As notificações de invalidação indicam eventos que ocorrem no sistema depois que o usuário invalida um lote ou um pool por meio do Workflow Manager. Essas notificações são registradas como Avisos e não exigem qualquer ação por parte do usuário.

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
Batch Invalidation (Invalidação do lote)	Preparação da biblioteca	O usuário invalidou um lote.	Aviso	Sim	Não aplicável.
Pool Invalidation – Repool (Invalidação do pool – repetir o pool)	Preparação da biblioteca	O usuário invalidou o primeiro pool possível (de um determinado tipo) no lote.	Aviso	Sim	Não aplicável.
Pool Invalidation – Use second aliquot (Invalidação do pool – usar segunda alíquota)	Preparação da biblioteca	O usuário invalidou o primeiro pool possível (de um determinado tipo) no lote.	Aviso	Sim	Não aplicável.
Sequencing Completed Pool Invalidated (Sequenciamento concluído, pool invalidado)	Sequenciamento	A execução do sequenciamento foi concluída, mas o pool foi invalidado pelo usuário.	Aviso	Sim	Não aplicável.
Sequencing QC passed – All samples are invalid (O CQ de sequenciamento foi aprovado – todas as amostras são inválidas)	CQ de sequenciamento	A verificação de CQ da execução do sequenciamento foi concluída, mas todas as amostras são inválidas.	Aviso	Sim	Não aplicável.
Analysis Completed Pool Invalidated (Análise concluída, pool invalidado)	Pós-análise	A análise foi concluída, mas o pool foi invalidado pelo usuário.	Aviso	Sim	Não aplicável.

Notificações de erros recuperáveis

Erros recuperáveis são condições das quais o VeriSeq NIPT Assay Software consegue se recuperar se o usuário seguir a ação recomendada. Se o problema persistir, entre em contato com o Suporte técnico da Illumina.

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
Missing Instrument Path (Caminho do instrumento ausente)	Sequenciamento	O sistema não consegue localizar/se conectar a uma pasta de sequenciamento externa.	Alerta	Sim	<ul style="list-style-type: none"> Se estiver usando um NAS, verifique a conexão de rede. Consulte Procedimentos de ação recomendada na página 98 Possível falha do hardware. Reinicialize o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte técnico da Illumina.
Insufficient Disk Space for Sequencing (Espaço em disco insuficiente para o sequenciamento)	Sequenciamento	O sistema detectou uma nova pasta de dados de sequenciamento, mas estima que não existe espaço em disco suficiente para os dados.	Alerta	Sim	<ol style="list-style-type: none"> Verifique o espaço em disco disponível. Consulte Procedimentos de ação recomendada na página 98. Limpe espaço em disco ou faça backup dos dados. Consulte Procedimentos de ação recomendada na página 98.

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
Sequencing Run Invalid Folder (Pasta inválida da execução do sequenciamento)	Sequenciamento	Caracteres inválidos na pasta Sequencing Run (Execução do sequenciamento).	Advertência	Sim	O nome da pasta de execução do sequenciamento foi mudado incorretamente. Renomeie a execução com um nome válido.
Sequencing Started but Pool Barcode File Missing (Sequenciamento iniciado, mas o arquivo do código de barras do pool está ausente)	Sequenciamento	O software não detectou o arquivo com o código de barras do pool 30 minutos após o início do sequenciamento.	Advertência	Sim	Possível falha do instrumento ou do NAS. Verifique a configuração do instrumento e a conexão de rede. O sistema continuará a procurar o arquivo do código de barras do pool até a conclusão do sequenciamento.
Cannot Verify Sequencing Run Completion (Não é possível verificar a conclusão da execução do sequenciamento)	Sequenciamento	O software não conseguiu ler o arquivo de status de conclusão da execução na pasta do sequenciamento.	Advertência	Sim	Possível falha do hardware. Reinicialize o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte técnico da Illumina.

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
Missing Sample Attributes (Atributos da amostra ausentes)	Pré-análise	O software não conseguiu encontrar uma definição para o tipo de amostra, a opção do cromossomo sexual ou o tipo de triagem em algumas das amostras.	Aviso	Sim	Um ou mais atributos das amostras não foram fornecidos para a amostra especificada. Insira os atributos ausentes da amostra no Workflow Manager ou invalide a amostra para permitir que o software continue a ser executado.

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
Sample Sheet Generation failed (Falha na geração da planilha de amostras)	Pré-análise	O software não conseguiu gerar a planilha de amostras.	Alerta	Sim	<ul style="list-style-type: none">• Verifique o espaço em disco disponível. Consulte Procedimentos de ação recomendada na página 98. Se o espaço for insuficiente, limpe o espaço em disco ou faça backup dos dados. Consulte Procedimentos de ação recomendada na página 98.• Se estiver usando um NAS, verifique a conexão de rede. Consulte Procedimentos de ação recomendada na página 98.• Possível falha do hardware. Reinicialize o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte técnico da Illumina.

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
Unable to check disk space (Não é possível verificar o espaço em disco)	Pré-análise	O software não conseguiu verificar o espaço em disco.	Alerta	Sim	<ul style="list-style-type: none"> Se estiver usando um NAS, verifique a conexão de rede. Consulte Procedimentos de ação recomendada na página 98 ID da ação 2 na página 98. Possível falha do hardware. Reinicialize o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte técnico da Illumina.
Insufficient Disk Space for Analysis (Espaço em disco insuficiente para a análise)	Pré-análise	O software detectou que não há espaço em disco suficiente para iniciar a nova execução de uma análise.	Alerta	Sim	Limpe espaço em disco ou faça backup dos dados. Consulte Procedimentos de ação recomendada na página 98 ID da ação 3 na página 99 .
Unable to launch Analysis Pipeline (Não é possível iniciar o pipeline de análise)	Pré-análise	O software não conseguiu iniciar a execução de uma análise na pasta de sequenciamento especificada.	Alerta	Sim	Possível falha do hardware. Reinicialize o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte técnico da Illumina.

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
Sequencing folder Read/Write permission failed (Falha na permissão de Leitura/Gravação da pasta de sequenciamento)	Pré-análise	O teste do software que verifica a permissão de leitura/gravação na pasta da execução do sequenciamento apresentou falha.	Advertência	Sim	<ul style="list-style-type: none"> Se estiver usando um NAS, verifique a conexão de rede. Consulte Procedimentos de ação recomendada na página 98. Possível falha do hardware. Reinicialize o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte técnico da Illumina.
Analysis Failed – Retry (Falha na análise. Tentar novamente.)	Análise	Ocorreu uma falha na análise. Tente novamente.	Aviso	Sim	Nenhuma
Results Already Reported (Resultados já informados)	Sistema	O software determinou que já foi gerado um relatório do NIPT (Noninvasive Prenatal Testing, Teste pré-natal não invasivo) para o tipo de pool atual.	Atividade	Sim	Nenhuma

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
Unable to deliver email notifications (Não é possível enviar notificações por e-mail)	Sistema	O sistema não consegue enviar notificações por e-mail.	Advertência	NA	<ol style="list-style-type: none"> 1. Verifique a validação da configuração de e-mail definida no sistema. Consulte Configurar as notificações por e-mail do sistema na página 34. 2. Envie um e-mail de teste. Consulte Configurar as notificações por e-mail do sistema na página 34. 3. Reinicialize o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte técnico da Illumina.
Time Skew Detected (Detectada distorção de tempo)	Preparação da biblioteca	O software detectou uma distorção de tempo de mais de um minuto entre o carimbo de data/hora fornecido pelo Workflow Manager e a hora local do servidor.	Advertência	Não	<ol style="list-style-type: none"> 1. Verifique a hora local no computador do Workflow Manager. 2. Verifique a hora local do servidor local informada na IU da Web (guia Server Status [Status do servidor]).

Notificações de erros irrecuperáveis

Erros irrecuperáveis são condições que atingem um estado terminal em que nenhuma outra ação pode retomar a execução do ensaio.

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
Batch Failure (Falha de lote)	Preparação da biblioteca	Falha no CQ do lote.	Aviso	Sim	Reinicie o plaqueamento da biblioteca.
Report Generating Failure (Falha na geração do relatório)	Geração de relatórios	O sistema não gerou um relatório.	Alerta	Sim	<ul style="list-style-type: none"> • Verifique o espaço em disco disponível. Consulte Procedimentos de ação recomendada na página 98. Se o espaço for insuficiente, limpe o espaço em disco ou faça backup dos dados. Consulte Procedimentos de ação recomendada na página 98. • Possível falha do hardware. Reinicialize o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte técnico da Illumina.

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
Failed to Parse Run Parameters file (Falha ao analisar o arquivo Parâmetros da execução)	Sequenciamento	O sistema não conseguiu abrir/analisar o arquivo RunParameters.xml.	Advertência	Sim	O arquivo RunParameters.xml está corrompido. Verifique a configuração do instrumento e faça o ressequenciamento do pool.
Unrecognized Run Parameters (Parâmetros de execução não reconhecidos)	Sequenciamento	O software leu Parâmetros da execução que não são compatíveis.	Advertência	Sim	O software não conseguiu criar parâmetros de execução do sequenciamento com base no arquivo de configuração do instrumento. Verifique a configuração do instrumento e faça o ressequenciamento do pool.
Invalid Run Parameters (Parâmetros de execução inválidos)	Sequenciamento	O software leu Parâmetros de execução necessários que não são compatíveis com o ensaio.	Advertência	Sim	Falha no teste de compatibilidade do software. Verifique a configuração do instrumento e faça o ressequenciamento do pool.

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
No Pool Barcode found (Não foi encontrado um código de barras do pool)	Sequenciamento	O software não conseguiu associar a lâmina de fluxo da execução do sequenciamento a um código de barras de pool conhecido.	Advertência	Sim	Possível lançamento incorreto do código de barras do pool. Faça o ressequenciamento do pool.
Sequencing Completed but Pool Barcode File Missing (Sequenciamento concluído, mas o arquivo do código de barras do pool está ausente)	Sequenciamento	A execução do sequenciamento foi concluída, mas o arquivo com o código de barras do pool não foi detectado.	Alerta	Sim	Possível falha no sequenciador. Entre em contato com o Suporte técnico da Illumina para obter assistência.
Unable to read Pool Barcode File (Não foi possível ler o arquivo do código de barras do pool)	Sequenciamento	O arquivo que contém o código de barras do pool está corrompido.	Alerta	Sim	Possível falha no sequenciador ou na rede. Entre em contato com o Suporte técnico da Illumina para obter assistência.

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
Pool Barcode File Mismatch (Divergência no arquivo do código de barras do pool)	Sequenciamento	O arquivo do código de barras do pool detectado faz referência a um ID de lâmina de fluxo diferente do ID associado à execução do sequenciamento.	Alerta	Sim	Possível falha no sequenciador. Entre em contato com o Suporte técnico da Illumina para obter assistência.
Sequencing Timed Out (Tempo esgotado do sequenciamento)	Sequenciamento	A execução do sequenciamento não foi concluída em um prazo especificado.	Advertência	Sim	Verifique o sequenciador e a conexão de rede. Faça o ressequenciamento do pool.
Sequencing QC files generation failed (Falha na geração de arquivos de CQ de sequenciamento)	CQ de sequenciamento	A execução do sequenciamento foi concluída, mas os arquivos de CQ InterOp estão corrompidos.	Alerta	Sim	Verifique o sequenciador e a conexão de rede. Faça o ressequenciamento do pool.
Sequencing QC failed (Falha no CQ de sequenciamento)	CQ de sequenciamento	A execução do sequenciamento foi concluída e o sequenciamento apresentou falha na verificação do CQ.	Aviso	Sim	Faça o ressequenciamento do pool.

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
Analysis Failed for Maximum number of attempts (A análise falhou pelo número máximo de tentativas)	Análise	Todas as tentativas de análise apresentaram falha. Não haverá novas tentativas.	Advertência	Sim	Faça o ressequenciamento do segundo pool.
Analysis Post-Processing Failed (Falha no pós-processamento da análise)	Pós-análise	O software não pós-processou os resultados da análise.	Alerta	Sim	<ul style="list-style-type: none"> Se estiver usando um NAS, verifique a conexão de rede. Consulte Procedimentos de ação recomendada na página 98. Possível falha do hardware. Reinicialize o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte técnico da Illumina.
Analysis Upload Failed (Falha no carregamento da análise)	Pós-análise	O software não carregou os resultados da análise no banco de dados.	Alerta	Sim	<ul style="list-style-type: none"> Se estiver usando um NAS, verifique a conexão de rede. Consulte Procedimentos de ação recomendada na página 98. Possível falha do hardware. Reinicialize o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte técnico da Illumina.

Procedimentos de ação recomendada

ID da ação	Ação recomendada	Etapas
1	Verifique a conexão de rede.	<p>Certifique-se de que o NAS (Network Attached Storage, Armazenamento conectado à rede) de armazenamento remoto e o computador local estejam na mesma rede.</p> <ol style="list-style-type: none">1. Em uma linha de comando (cmd) do Windows, digite o comando: ping <Server IP> Se estiver usando um NAS, verifique também a conexão com o NAS.2. Certifique-se de que não existam pacotes perdidos. Se houver pacotes perdidos, entre em contato com o administrador de TI.3. Teste a conexão da seguinte maneira:<ol style="list-style-type: none">a. Faça logon na IU da Web do servidor local.b. No menu Dashboard (Painel), selecione Folder (Pasta).c. Selecione Test (Testar) e determine se o teste teve êxito. Se o teste falhar, consulte Editar uma unidade de rede compartilhada na página 31 (Editar uma unidade de rede compartilhada) e confirme se todas as definições estão configuradas corretamente.
2	Verifique o espaço em disco disponível.	<p>Certifique-se de que o computador Windows mapeie para a pasta Onsite Server Input (Entrada do servidor local). Para obter mais informações, consulte Mapear unidades do servidor na página 42. Clique com o botão direito do mouse na unidade que mapeia para a pasta Input (Entrada). Selecione Properties (Propriedades) e visualize as informações sobre o espaço livre.</p>

ID da ação	Ação recomendada	Etapas
3	Limpe espaço em disco/faça backup dos dados.	<p>A Illumina recomenda o backup periódico de dados e/ou o armazenamento dos dados de sequenciamento no servidor. Para obter mais informações, consulte Gerenciar uma unidade de rede compartilhada na página 31.</p> <ol style="list-style-type: none">1. Para dados armazenados localmente no servidor local:<ul style="list-style-type: none">Certifique-se de que o computador Windows mapeie para a pasta Onsite Server Input (Entrada do servidor local). Para obter mais informações, consulte Mapear unidades do servidor na página 42.a. Dê um clique duplo na pasta Input (Entrada) e insira as credenciais para acessá-la.b. Os dados das execuções de sequenciamentos são indicados com nomes de pastas correspondentes aos nomes das execuções de sequenciamentos.c. Exclua ou faça backup das pastas de sequenciamento processadas.2. Para dados armazenados em um NAS remoto:<ul style="list-style-type: none">Certifique-se de que o NAS de armazenamento remoto e o computador local estejam na mesma rede.Obtenha acesso à pasta na unidade remota. São necessárias credenciais de acesso do administrador de TI.a. Os dados das execuções de sequenciamentos são indicados com nomes de pastas correspondentes aos nomes das execuções de sequenciamentos.b. Exclua ou faça backup das pastas de sequenciamento processadas.

Problemas do sistema

Problema	Ação recomendada
O software não é iniciado.	Se forem detectados erros na inicialização do VeriSeq NIPT Assay Software, será exibido um resumo de todos os erros em vez da tela Log In (Fazer logon). Entre em contato com o Suporte técnico da Illumina para informar os erros indicados.
Restauração do banco de dados necessária.	Se for necessário um backup de restauração de um banco de dados, entre em contato com um engenheiro de atendimento de campo da Illumina.
Desvio do sistema detectado.	Quando é detectado um desvio do sistema, o VeriSeq NIPT Assay Software deixa de processar comunicações de outros componentes do sistema. Um administrador pode redefinir o funcionamento normal do sistema depois que este tiver entrado no estado de detecção de desvio.
O alarme do controlador RAID é ativado.	Um administrador pode selecionar o botão Server Alarm (Alarme do servidor) na guia Server Status (Status do servidor) no painel do VeriSeq NIPT Assay Software para silenciar o alarme do controlador RAID. Se você pressionar esse botão, entre em contato com o Suporte técnico da Illumina para obter assistência adicional.

Testes de processamento de dados

Conjuntos de dados pré-instalados no servidor local permitem a execução de testes operacionais do servidor e do mecanismo de análise.

Testar o servidor

Esse teste simula uma execução do sequenciamento ao mesmo tempo que simula a geração de resultados de análise sem realmente iniciar o pipeline de análise. Execute esse teste para garantir que o servidor local esteja funcionando corretamente e que sejam gerados relatórios e notificações por e-mail. Duração: Aproximadamente três a quatro minutos.

Procedimento

1. Abra o diretório de entrada montado e, em seguida, abra a pasta TestingData.
2. Faça uma cópia de uma das pastas a seguir, que podem ser encontradas na pasta TestingData:
 - Para dados do NextSeq: 170725_NB551052_0252_AH5KGJBGX9_Copy_Analysis_Workflow.
 - Para dados do NextSeqDx: 180911_NDX550152_0014_AXXXXXXXDX_Copy_Analysis_Workflow.

3. Renomeie a cópia em uma pasta com um sufixo _XXX. O sufixo _XXX representa uma contagem sequencial da execução do teste. Por exemplo, se existir _002 na pasta, renomeie a nova cópia para _003.
4. Mova a pasta renomeada para a pasta de entrada.
5. Aguarde de três a cinco minutos até que a execução seja concluída. Certifique-se de que as notificações por e-mail a seguir tenham sido recebidas:
 - a. Análise da execução do sequenciamento iniciada
 - b. Relatório do NIPT gerado para a execução do sequenciamento.
6. Associe os relatórios ao nome do sequenciamento atribuído à pasta.
7. Na pasta de saída, abra a pasta TestData_NS_CopyWorkflow ou TestData_NDx_CopyWorkflow e procure um dos seguintes relatórios:
 - Para NextSeq: TestData_NS_CopyWorkflow_C_TestData_NS_CopyWorkflow_PoolC_H5KJBGX9_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab.
 - Para NextSeqDx: TestData_NDx_CopyWorkflow_C_TestData_NDx_CopyWorkflow_PoolC_XXXXXXXXDX_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab.O tamanho de arquivo esperado é de aproximadamente 7,1 Kb.
8. Mova a execução do sequenciamento de teste de volta para a pasta TestingData. Essa prática ajuda a gerenciar o número de vezes em que o teste de sequenciamento é executado.

OBSERVAÇÃO Você pode excluir cópias antigas dos arquivos de teste para criar espaço.

Dados de teste de execução de análise completa

Esse teste efetua uma execução de análise completa. Realize esse teste se o servidor não processar/analisa os dados ou se o tempo se esgotar. Duração: Aproximadamente quatro a cinco horas.

Procedimento

1. Abra o diretório de entrada montado e abra a pasta TestingData.
2. Renomeie a pasta a seguir adicionando o sufixo _000: 180911_NDX550152_0014_XXXXXXXXDX_FullRun.

O sufixo cria um nome exclusivo para cada execução do sequenciamento. Se a execução já tiver um sufixo, renomeie a pasta aumentando o valor numérico do sufixo em 1.
3. Mova a pasta renomeada para a pasta de entrada.
4. Aguarde cerca de 4 a 5 horas até que a análise seja concluída. Certifique-se de que as notificações por e-mail a seguir tenham sido recebidas:
 - a. Análise da execução do sequenciamento iniciada
 - b. Relatório do NIPT gerado para a execução do sequenciamento

5. Associe os relatórios ao nome do sequenciamento atribuído à pasta.
6. Na pasta de saída, abra a pasta TestData_NDx_FullRun e verifique a existência do seguinte relatório:
TestData_NDx_FullRun_C_TestData_NDx_FullRun_PoolC_XXXXXXXXDX_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab.
O tamanho de arquivo esperado é de aproximadamente 7,1 Kb.
7. Mova a execução do sequenciamento de teste de volta para a pasta TestingData.

Recursos e referências

A documentação a seguir está disponível para download no site da Illumina.

Recurso	Descrição
<i>Folheto informativo do VeriSeq NIPT Solution v2 (documento n.º 1000000078751)</i>	Define o produto e o uso previsto e fornece instruções de uso e procedimentos de solução de problemas.
<i>Manual do operador da linha Microlab® STAR da Hamilton, ID do documento 624668</i>	Fornece informações sobre funcionamento e manutenção, além de especificações técnicas, do instrumento automático de manuseio de líquidos Microlab STAR da Hamilton.

Visite as [páginas de suporte](#) do VeriSeq NIPT Solution v2 no site da Illumina para acessar a documentação, downloads de software, treinamentos on-line e perguntas frequentes.

Acrônimos

Acrônimo	Definição
BCL	Arquivo de identificação de bases
CE-IVD	Marcação de conformidade europeia para produtos de diagnóstico <i>in vitro</i>
cfDNA	DNA livre de células
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNS	Sistema de Nomes de Domínio
FASTQ	Formato de arquivo baseado em texto para armazenar os resultados dos instrumentos de sequenciamento.
FF	Fração fetal
FIFO	Primeiro a entrar, primeiro a sair
iFACT	Teste individualizado de confiança de aneuploidia fetal
IP	Protocolo de Internet
LIMS	Sistema de gerenciamento de informações de laboratório
LLR	Razões logarítmicas de verossimilhança
MAC	Controle de acesso ao meio
NAS	Armazenamento ligado à rede

Acrônimo	Definição
NES	Sites não excluídos
NGS	Sequenciamento de última geração
NIPT	Teste pré-natal não invasivo
NTC	Controle sem modelo
NTP	Protocolo de tempo para redes
PF	Filtro de passagem
CQ	Controle de qualidade
Regex	Expressão regular. Uma sequência de caracteres que podem ser usados por algoritmos de compatibilidade de cadeia de caracteres para validação de dados.
ACS	Aneuploidia do cromossomo sexual
SDS	Fichas de dados de segurança
SHA1	Algoritmo hash protegido 1
SSL	Secure Sockets Layer

Assistência técnica

Para obter assistência técnica, entre em contato com o Suporte técnico da Illumina.

Site: www.illumina.com

E-mail: techsupport@illumina.com

SDSs (Safety data sheets, Fichas de dados de segurança): disponíveis no site da Illumina em support.illumina.com/sds.html.

Documentação do produto – Disponível para download em support.illumina.com.



Illumina, Inc.
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122, EUA
+1 (800) 809.ILMN (4566)
+1 (858) 202.4566 (fora da América do Norte)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

CE
2797



EC REP



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
Países Baixos

Patrocinador australiano

Illumina Australia Pty Ltd
Nursing Association Building
Level 3, 535 Elizabeth Street
Melbourne, VIC 3000
Austrália

PARA UTILIZAÇÃO DE DIAGNÓSTICO IN VITRO

© 2023 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados.

illumina®