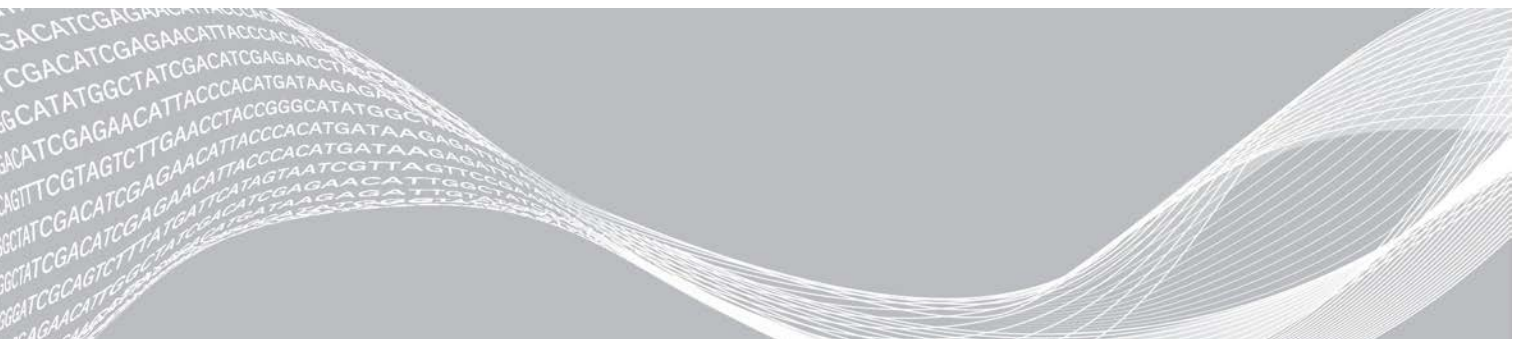


VeriSeq NIPT Solution v2

Guia do software



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 ao uso contratual de seu cliente 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 nenhuma outra finalidade nem comunicados, divulgados ou reproduzidos de nenhuma forma sem o consentimento prévio por escrito da Illumina. A Illumina não concede nenhuma licença sob seus direitos de patente, marca comercial, 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 neste 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 PODE RESULTAR EM DANOS AO(S) PRODUTO(S), FERIMENTOS A PESSOAS, INCLUSIVE USUÁRIOS OU OUTROS, E DANOS A OUTROS BENS, ANULANDO TODA 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).

© 2021 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 v06	Agosto de 2021	Atualizado o endereço do Representante autorizado da 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 Gerenciador de fluxo de trabalho. • Atualizado o Mapeamento de unidades do servidor para indicar permissões somente de usuário administrador e atualizada a compatibilidade entre versões SMB. • Adicionada a consulta à seção Criptografia de backup para arquivamento de dados para o Onsite Server. • Adicionada observação à introdução da IU da web do software de ensaio 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 parâmetros para legibilidade humana na seção Relatórios de resultados e notificações. • Atualizada a convenção de nomenclatura para o Gerenciador de fluxo de trabalho para exibir o nome completo do software VeriSeq NIPT Workflow Manager consistentemente.
Documento n.º 1000000067940 v04	Fevereiro de 2020	<ul style="list-style-type: none"> • Atualizados os tópicos Entrada da planilha de amostras e Fazer o upload da planilha de amostras para esclarecer a limitação da funcionalidade do upload 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 software do VeriSeq NIPT Solution v2 para uso pelo cliente.
Documento n.º 1000000067940 v00	Novembro de 2018	Versão inicial somente para uso interno.

Índice

Histórico de revisões	iii
Capítulo 1 VeriSeq NIPT Solution v2	1
Introdução	1
Arquitetura do sistema	3
Capítulo 2 VeriSeq NIPT Workflow Manager	4
Introdução	4
VeriSeq NIPT Method	4
VeriSeq NIPT Batch Manager	4
VeriSeq NIPT Services	10
Capítulo 3 Sequenciador de última geração	14
Introdução	14
Pool de sequência	14
Integração do armazenamento de dados	14
Capacidade da produtividade das análises	15
Restrições do tráfego da rede	15
VeriSeq NIPT Local Run Manager	15
Capítulo 4 Software de ensaio v2 do VeriSeq NIPT	16
Introdução	16
Componentes do software de ensaio	17
Interface do usuário da web	20
Análise e geração de relatórios	31
VeriSeq Onsite Server v2	34
Apêndice A Métricas de CQ	38
Métricas e limites do CQ para quantificação	38
Métricas e limites do CQ para sequenciamento	38
Apêndice B Relatórios do sistema	39
Introdução	39
Resumo dos relatórios do sistema	40
Eventos de geração de relatórios	41
Relatórios de resultados e notificações	43
Relatórios de processos	51
Apêndice C Resolução de problemas	58
Introdução	58
Notificações do software de ensaio	59
Problemas do sistema	68

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

Capítulo 1 VeriSeq NIPT Solution v2

Introdução	1
Arquitetura do sistema	3

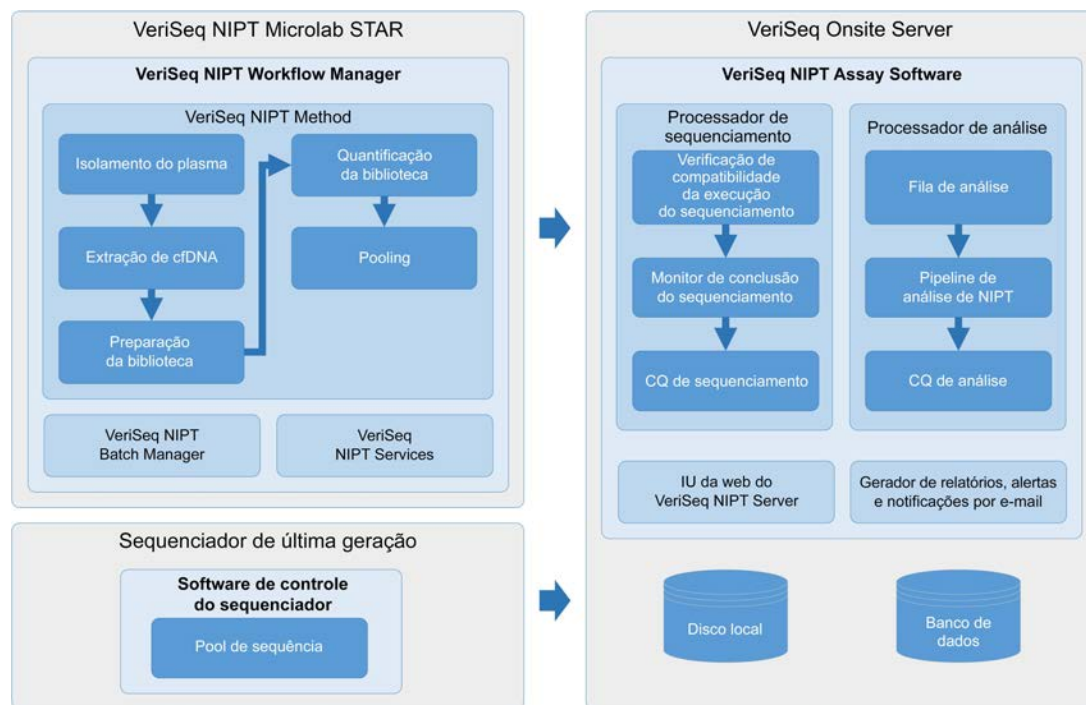
Introdução

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 deleções e duplicações parciais para todos os autossomos e o status de 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 de:

- ▶ **VeriSeq NIPT Microlab STAR (ML STAR)** — Um 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 prepara amostras destinadas a análise usando o VeriSeq NIPT Assay Software v2 de acordo com as instruções de uso encontradas no *Folheto informativo do VeriSeq NIPT Solution v2 (documento n.º 1000000078751)*.
- ▶ **Next-Generation Sequencer (NGS)** (Sequenciador de nova geração) — Instrumento de sequenciamento genômico amplo que permite o sequenciamento e a clusterização no instrumento. O software de controle de sequenciamento fornece etapas para a configuração de uma execução de sequenciamento e gera leituras de sequenciamento para todas as amostras do pool da biblioteca quantificado.
- ▶ **VeriSeq Onsite Server v2** — Servidor que aloja o VeriSeq NIPT Assay Software v2 e armazena os dados para analisar dados de sequenciamento tipo paired-end. O software de ensaio monitora e analisa continuamente dados de sequenciamento e produz resultados de amostras, relatórios de processos e notificações.

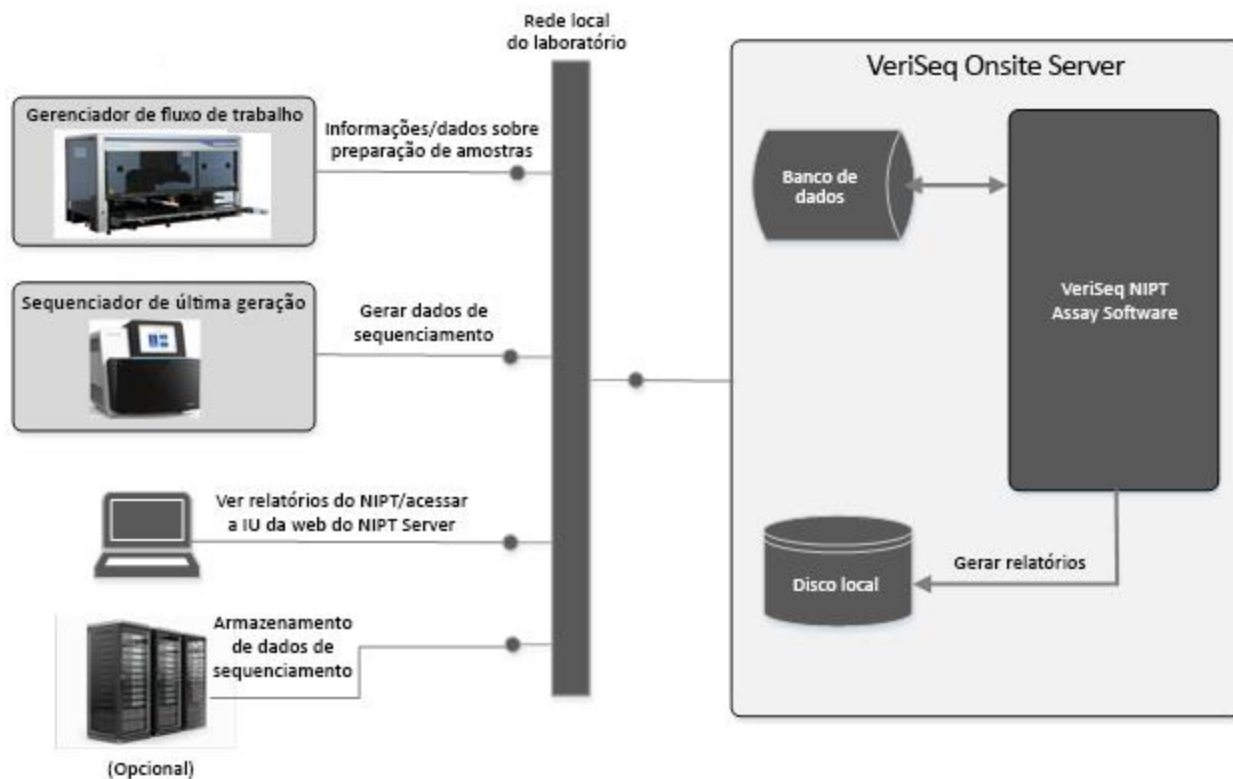
Figura 1 Componentes do VeriSeq NIPT Solution v2



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. A LAN permite um posicionamento flexível do equipamento e uma produtividade expansível por meio da conexão de sequenciadores adicionais e/ou de estações de trabalho ML STAR. A Figura 2 fornece uma visão geral.

Figura 2 Visão geral do VeriSeq NIPT Solution v2



Capítulo 2 VeriSeq NIPT Workflow Manager

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

Introdução

O VeriSeq NIPT Workflow Manager está instalado no ML STAR e fornece uma interface gráfica do usuário simples e intuitiva, que automatiza a preparação de amostras de sangue de acordo com o the VeriSeq NIPT Solution v2. O Gerenciador do fluxo de trabalho 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 Gerenciador do fluxo de trabalho fornece acesso a três módulos de software diferentes, também conhecidos como métodos:

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

VeriSeq NIPT Method

O VeriSeq NIPT Method 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 software de ensaio. 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 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 a transferência adequada de volumes de cada amostra no pool pronto 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 múltiplos sistemas e sequenciadores de manuseio de líquidos 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:

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 sequenciador. Cada pool contém até 48 amostras.

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

Ação	Objeto	Relatório gerado	Descrição
Invalidação	Amostra	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 de placa ou manuseio incorreto da mesma.
	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 a falha de uma métrica específica de CQ ou 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). No caso de informações sobre o sexo da amostra designadas como Yes (Sim), é gerado o sexo da amostra. No caso de informações sobre o sexo da amostra designadas como No (Não), é gerado o sexo da amostra. No caso de informações sobre o sexo da amostra designadas como SCA (ACS), somente aneuploidias do cromossomo sexual são informadas.
	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 de sexo da amostra afeta diretamente a análise do teste. Para garantir resultados de teste precisos, o tipo da amostra tem de ser preciso.
	Amostra	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 continuará a ser processado. Os sistemas de gerenciamento de informações de laboratório (LIMS) podem usar relatórios de invalidação de amostras para indicar o reprocessamento de amostras a partir do 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.



CUIDADO

Para evitar erros, não inclua quaisquer informações de amostra para NTCs na planilha de amostras. Exclua-as por completo e não inclua qualquer linha para essas amostras. O sistema aplica automaticamente códigos de barra, tipo de triagem, tipo de amostra e informações sobre sexo para NTCs.

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	Necessário	Indica o nome do lote da amostra. Deve corresponder ao nome do lote inserido no método de chamada (Gerenciador de fluxo de trabalho) para confirmar que a planilha de amostras de entrada está associada ao lote correto. Existe um máximo de 26 caracteres. A coluna pode ser deixada em branco. OBSERVAÇÃO: planilhas de amostras sem uma coluna batch_name (nome de lote) não serão aceitas.
sample_barcode	Cadeia de texto	Necessário	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 (_).
sample_type	Cadeia de texto	Necessário	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	Necessário	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	Necessário	Indica o tipo de triagem para análise. Os valores permitidos são "basic" (básica) e "genomewide" (genômica ampla).

O upload da planilha de amostras de entrada é feito durante o isolamento do plasma ou pooling. O upload de planilhas de amostras atualizadas também pode ser feito usando o Gerenciador de lote para mudar todos os atributos das amostras, exceto o tipo de triagem. As informações da amostra são confirmadas durante o processo de upload da amostra. Os uploads 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 de amostras que não foram obtidas no upload durante o isolamento do plasma.

O usuário pode controlar o carregamento de amostras para todas as amostras do lote (para lotes gerados pelo LIMS do cliente) ou para repetições de testes (com as posições abertas remanescentes preenchidas com amostras disponíveis).

Selecione uma das três formas de usar planilhas de amostras:

- ▶ Lotes predefinidos (Lotes criados pelo LIMS)
- ▶ Criação de lotes ad-hoc (lotes criados pelo Gerenciador de fluxo de trabalho)
- ▶ Criação de lotes híbridos (amostras prioritárias do LIMS)

Lotes predefinidos — Lotes criados pelo LIMS

Os lotes podem ser criados pelo LIMS do cliente 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, juntamente com todas as informações das amostras. As planilhas de amostras de lotes criados pelo LIMS devem incluir a coluna do ID para garantir que o nome correto do ID do lote tenha sido manualmente inserido no Gerenciador de fluxo de trabalho no início do processamento.

Essa abordagem tem a vantagem de identificar as amostras exatas carregadas porque o sistema requer que todas as amostras da planilha estejam no lote. Não são necessárias outras informações e o laboratório pode prosseguir para o relatório final sem a introdução de dados adicionais.

- ▶ **Vantagens** — Permite o controle completo do conteúdo dos lotes. Evita o carregamento de amostras indesejadas.
- ▶ **Desvantagens** — 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 ou pode ser necessário um sistema de armazenamento de amostras avançado.

Criação de lotes ad-hoc — Lotes criados

Os lotes podem ser criados no laboratório ao se carregarem fisicamente tubos de amostra no ML STAR durante o isolamento do plasma. Não é necessária a associação prévia de amostras com lotes e o usuário, no laboratório, determina as amostras que serão incluídas no lote.

Quando solicitado, o usuário seleciona **No Sample Sheet** (Nenhuma planilha de amostras) durante o isolamento do plasma. O Gerenciador de fluxo de trabalho associa as amostras carregadas com o ID de lote introduzido manualmente e gera um relatório de início de lote. O relatório pode ser enviado para o sistema LIMS para indicar que o lote foi criado e fornecer uma lista das amostras associadas.

- ▶ **Vantagens** — Não é necessário um LIMS ou uma planilha de amostras. Os usuários podem modificar o relatório de início de lote com informações sobre tipo de amostra, tipo de triagem e sexo para upload durante o pooling. Flexível, qualquer amostra pode ser adicionada a qualquer momento.
- ▶ **Desvantagens** — Não existe um controle automático sobre quais amostras estão incluídas no lote. O usuário pode carregar uma amostra não desejada. O upload dos dados das amostras tem de ser feito durante o pooling.

Criação de lotes híbridos — Amostras prioritárias do LIMS

O sistema LIMS do cliente pode criar um lote com um subconjunto das amostras predefinidas. As amostras restantes no lote são preenchidas pelo Gerenciador de fluxo de trabalho com as amostras carregadas. Nesse caso, o usuário faz o upload de uma planilha de amostras parcial durante o isolamento do plasma. Por outro lado, os laboratórios são incentivados a preencher a coluna de ID do lote se desejarem predefinir os nomes dos lotes. Às vezes, o usuário pode optar por fazer o upload de uma planilha de amostras vazia que só contenha o nome do lote para conferir o nome do lote inserido manualmente. Essa estratégia funciona bem para priorizar amostras de valor elevado, como a realização de repetições de testes,

para garantir que estas amostras de valor elevado sejam incluídas na execução. A decisão de incluir determinadas amostras no lote é determinada parcialmente pelo LIMS e parcialmente pelo usuário no laboratório.

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

Editar atributos da amostra

Em qualquer instante antes de iniciar uma execução de sequenciamento, é possível usar o VeriSeq NIPT Batch Manager para alterar informações do cromossomo sexual da amostra, tipo de triagem e atributos do tipo da amostra.

- 1 Acesse o Gerenciador de lote.
- 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 desejada.
- 4 Confirme se a amostra correta é exibida e, em seguida, selecione um atributo Sample Type (Tipo de amostra) na lista suspensa Sample Type (Tipo de amostra).
- 5 Selecione um atributo Sex Reporting (Informações sobre sexo) na lista suspensa Sex Reporting (Informações sobre sexo).
- 6 Selecione um atributo Screen Type (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, o usuário 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 Gerenciador de lote para invalidar uma ou mais amostras.

Invalidação usando o VeriSeq NIPT Method

- 1 Durante o processamento das amostras, na janela Well Comments (Comentários do poço) no fim de cada processo do Gerenciador do fluxo de trabalho, 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 Gerenciador de lote

Use o Gerenciador de lote 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 Gerenciador de lote.

Acessar o Gerenciador de lote

- 1 Para acessar o Gerenciador de lote, execute uma das seguintes opções:
 - ▶ 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 Gerenciador de lote (**VeriSeqNIPT_Batch_Manager.med**) com o Hamilton Run Controller.

Invalidação de amostras

- 1 Acesse o Gerenciador de lote.
- 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.

Batch Invalidation (Invalidação do lote)

- 1 Acesse o Gerenciador de lote.
- 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 Gerenciador de lote.
- 2 Insira o ID do lote e o nome do usuário ou as iniciais do operador e selecione **Gerenciador de pool**.
- 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).

Fazer o upload de planilha de amostras

O usuário pode fazer o upload de uma planilha que contenha informações da amostra por meio do Gerenciador de lote. Ao usar esse recurso, o usuário pode, por exemplo, fazer o upload ou alterar informações da amostra em grandes grupos. É possível alterar os atributos de todas as amostras quando for feito o upload de uma planilha de amostras, exceto o tipo de triagem.

- 1 Acesse o Gerenciador de lote.
- 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** (Fazer o upload de nova planilha de amostras).
- 4 Procure e selecione a planilha de amostras desejada e, em seguida, selecione **OK**.

Cancelamento de amostras

- 1 Acesse o Gerenciador de lote.
- 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 Gerenciador do fluxo de trabalho. 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



OBSERVAÇÃO

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

Para acessar o VeriSeq NIPT Services, execute uma das seguintes opções:

- ▶ 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 permite dois tipos de teste:

- ▶ **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 Gerenciador de fluxo de trabalho.

Testes individuais

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

Teste do sistema	Descrição
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.
Vácuo BVS	Testa o funcionamento do sistema de vácuo básico (BVS) para confirmar se é possível gerar o vácuo e atingir as pressões operacionais.
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.
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.

Para executar testes individuais:

- 1 Selecione um teste específico para ser executado.



OBSERVAÇÃO

A Execução IOQ completa executa 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** (Interromper) para sair do método.
- 4 Se você for solicitado a fornecer 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 Gerenciador de fluxo de trabalho e de alguns parâmetros de ensaio.

Teste do sistema	Descrição
Configuração do servidor	Configura e testa a conexão entre o VeriSeq NIPT Workflow Manager e o Assay Software. A comunicação apropriada entre esses sistemas é necessária para a execução do Gerenciador de fluxo de trabalho.
Configuração de ensaios	Usada para redefinir a concentração padrão da biblioteca.
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 Gerenciador de fluxo de trabalho para o novo endereço.

- 1 No menu Services Tools (Ferramentas de serviços) selecione **Server Configuration** (Configuração do servidor).
- 2 Atualize o URL com o novo endereço do Onsite Server.
- 3 Digite a senha da rede para o Onsite Server no campo da senha.
- 4 Selecione **Test Connection** (Conexão de teste) para enviar uma mensagem de teste. Se essa mensagem não for recebida, entre em contato com o Suporte técnico da Illumina.
- 5 Na tela System Configuration (Configuração do sistema), selecione **OK** e 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 Gerenciador de fluxo de trabalho. Acesse o VeriSeq NIPT Assay Software v2 por esse PC e consulte [Download e instalação de um certificado na página 28](#).

Configuração de ensaios

É possível ajustar a concentração das bibliotecas do sequenciador nos pools de sequenciamento no Gerenciador de fluxo de trabalho para cada execução durante o processo de pooling (consulte o *Folheto informativo do VeriSeq NIPT Solution v2 (documento n.º 1000000078751)*). A ferramenta de configuração de ensaios também pode ser usada para alterar o valor padrão dessa concentração.

Também é possível usar a ferramenta de configuração de ensaios para alterar o valor de outros parâmetros. Você pode definir o parâmetro das informações padrão do cromossomo sexual para Sim ou Não. Essa definição determina o atributo que será designado às amostras quando o botão Use Default (Usar padrão) for selecionado durante a preparação das amostras. O parâmetro Screen Type (Tipo de triagem) pode ser definido como Basic (Básica) ou Genomewide (Genômica ampla) e determina o tipo de triagem de uma amostra.

- 1 Selecione **Assay Configuration** (Configuração de ensaios).
- 2 Atualize a caixa Target Library Concentration (Concentração pretendida da biblioteca) (pg/ μ l) com o valor desejado.
- 3 Atualize as informações padrão do cromossomo sexual para o valor desejado.
- 4 Atualize o Tipo de triagem para o desejado.
- 5 Selecione **Apply** (Aplicar).

Ferramenta de obtenção

Durante a solução de problemas, pode 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 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 Gerenciador de fluxo de trabalho.
- 5 Selecione **Cancel** (Cancelar) para retornar à tela Method Selection (Seleção do método).

Capítulo 3 Sequenciador de última geração

Introdução	14
Pool de sequência	14
Integração do armazenamento de dados	14
Capacidade da produtividade das análises	15
Restrições do tráfego da rede	15
VeriSeq NIPT Local Run Manager	15

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 Onsite Server. Os dados de sequenciamento são avaliados pelo Processador de análise do software de ensaio.

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 software de ensaio de 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 .BCL.

Integração do armazenamento de dados

Uma execução de sequenciamento típica do VeriSeq NIPT Solution v2 requer 25–30 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 Onsite Server dispõe de mais de 7,5 TB de espaço de armazenamento, o que é suficiente para cerca de 300 execuções de sequenciamento ($7500/25 = 300$).

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

- ▶ Use o Onsite Server como repositório de dados. Nessa configuração, o sequenciador 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 Onsite Server é configurado para monitorar o local específico do NAS que permite que o servidor monitore execuções de 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 26.

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 da produtividade das análises

O Pipeline de análise do VeriSeq NIPT normalmente processa dados para uma única execução de sequenciamento em aproximadamente 5 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 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 Onsite Server 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 suportar 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 com o módulo VeriSeq NIPT Local Run Manager (LRM), prepare o sequenciamento executando as seguintes etapas:

- 1 No Local Run Manager, selecione **Create Run** (Criar execução).
- 2 No menu suspenso, selecione **VeriSeq NIPT**.
- 3 Preencha os campos a seguir.
 - ▶ Nome da execução
 - ▶ Descrição da execução (opcional)
 - ▶ Código de barras do pool



CUIDADO

O código de barras do pool inserido no módulo LRM deve corresponder ao código de barras do pool inserido no Gerenciador de fluxo de trabalho. Configurações incorretas de execuções são rejeitadas pelo software de ensaio, podendo ser necessário o ressequenciamento.

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

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

Capítulo 4 Software de ensaio v2 do VeriSeq NIPT

Introdução	16
Componentes do software de ensaio	17
Interface do usuário da web	20
Análise e geração de relatórios	31
VeriSeq Onsite Server v2	34

Introdução

O VeriSeq NIPT Assay Software v2 gera estatísticas 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 sob a forma de leituras tipo paired-end de 36 bases.

O VeriSeq NIPT Assay Software v2 funciona no VeriSeq Onsite Server v2. O Onsite Server 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.

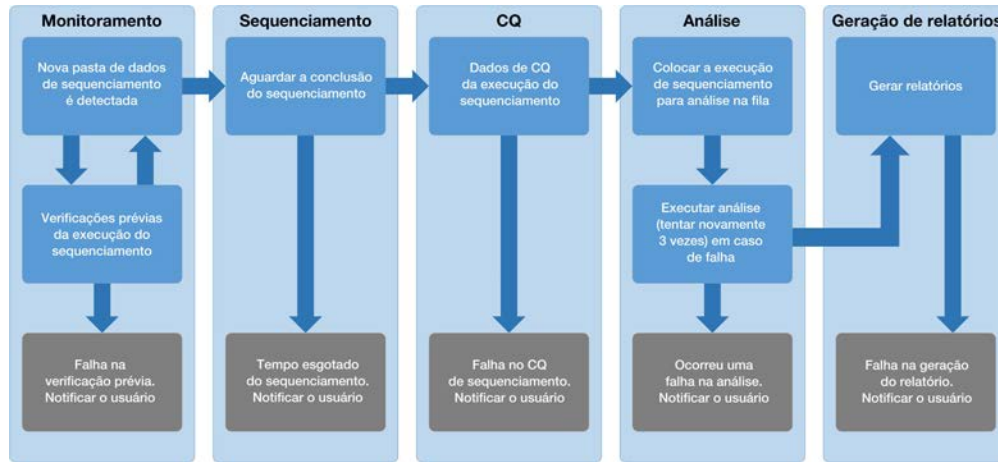
O software de ensaio alinha as leituras com relação ao genoma humano de referência e efetua análises nas leituras que se alinham com uma localização ou local exclusivo do genoma. O software de ensaio exclui leituras duplicadas e locais que estão associados a uma variação elevada na cobertura de amostras 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 software de ensaio também avalia a estatística 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 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 software de ensaio 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 software de ensaio

O software de ensaio executa e monitora continuamente novos dados de sequenciamento à medida que eles são adicionados à pasta Input (Entrada) do Onsite Server. Quando é identificada uma nova execução de sequenciamento, o fluxo a seguir é acionado.

Figura 3 Diagrama de fluxo de dados



- 1 **Monitoramento** — Verifica previamente a validade da nova execução de sequenciamento. A verificação de validade inclui verificações da compatibilidade dos parâmetros de execução (se os valores correspondem aos valores esperados), a associação da lâmina de fluxo com um tubo de pool conhecido e existente e a garantia de que os resultados não foram informados anteriormente para as mesmas amostras desse pool (repetição de ensaio). Se qualquer uma destas verificações falhar, o usuário será notificado pelo sistema de notificações por e-mail e pelo registro de alertas na 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 software de ensaio 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 múltiplas execuções de 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). Após a conclusão bem-sucedida da análise, é iniciada a próxima análise agendada da fila. Se uma execução de análise falhar ou atingir o tempo limite, o software de ensaio reiniciará automaticamente essa análise até um máximo de 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 software de ensaio

O software de ensaio executa tarefas automáticas e tarefas iniciadas pelo usuário.

Tarefas automáticas

O software de ensaio 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). Para obter mais informações, consulte *Estrutura de arquivos de relatório na página 40* para obter uma visão geral e *Relatórios de processos na página 51* 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 software de ensaio determina se continuará com o processo e se os resultados devem ser comunicados. O software de ensaio 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 da sequência** — Analisa os dados de sequência não processados relativos a cada amostra transmitida no pool usando o software de análise do NIPT. O software de ensaio determina os resultados 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 43*.
- ▶ **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 43*.
- ▶ **Geração de relatórios** — O software de ensaio gera informações complementares de resultados, notificações e relatórios de processos. Para obter mais informações, consulte *Relatórios do sistema na página 39*.
- ▶ **Invalidação de amostras, pools e lotes** —
 - ▶ **Invalidação de amostras** — O software de ensaio 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 50*.
 - ▶ **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 o sistema pode continuar a processá-los. Entretanto, não é possível criar novos pools novos com base em lotes invalidados. Quando um pool é invalidado, o sistema emite um Relatório de pedido de novo teste de 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 para repetição do teste do pool na página 50](#).

► **Gerenciamento de novos testes** —

- **Falhas em pools** — Os pools com falha geralmente são os que falharam nas métricas de CQ de sequenciamento. O software de ensaio 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 incluídas 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 sucesso. A repetição da execução em uma amostra pode ser feita colocando-se a amostra em uma placa em um lote novo.

Tarefas do usuário

O VeriSeq NIPT Solution v2 permite que os usuários executem as seguintes tarefas:

Usando o Gerenciador de fluxo de trabalho:

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

Usando o software de ensaio:

- Configurar o software a ser instalado e integrado à infraestrutura da rede do laboratório.
- Alterar 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

Os usuários podem executar determinadas tarefas, dependendo das permissões do usuário. Para obter mais informações, consulte [Atribuir funções de usuário na página 24](#).

Processador de sequenciamento

O software de ensaio gerencia as execuções de sequenciamento geradas pelos instrumentos de sequenciamento por meio do Processador de sequenciamento. Ele identifica novas execuções de 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 é possível fazer uma associação, é gerada uma notificação para o usuário e o processamento da execução do sequenciamento é interrompido.

Após a validação ser concluída com sucesso, o software de ensaio continua a monitorar as execuções de sequenciamento quanto à conclusão. As execuções de sequenciamento concluídas são colocadas em fila para processamento pelo Processador de pipeline analítico (consulte [Processador de pipeline analítico na página 20](#)).

Compatibilidade da execução do sequenciamento

O servidor só analisa execuções de 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.

Processador de pipeline analítico

O processador de pipeline analítico inicia o pipeline de análise para detecção de aneuploidia. O pipeline processa uma execução de sequenciamento de cada vez com uma duração média inferior a 5 horas por pool. Se a análise não conseguir processar o pool ou não for concluída devido a falhas de energia ou tempo esgotado, o Processador de pipeline analítico recolocará automaticamente a execução na fila. Se o processamento do pool falhar três vezes consecutivas, o ensaio será identificado como falho e o usuário será notificado.

A execução de uma análise bem-sucedida aciona a geração de relatórios do NIPT. Para obter mais informações, consulte *Relatório do NIPT na página 43*.

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 software de ensaio contém uma IU do usuário que permite o fácil acesso ao Onsite Server de qualquer local da rede.



OBSERVAÇÃO

A IU da web do software de ensaio não é compatível com o uso de dispositivos móveis.

A IU da web oferece as seguintes funções:

- ▶ **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 software de ensaio na página 59*.


- ▶ **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 software de ensaio na página 59*.
- ▶ **Configure the server network settings** (Configurar as definições 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 *Alterar configurações de rede e de servidor na página 27*.
- ▶ **Manage server access** (Gerenciar acesso ao servidor) — O Onsite Server 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 24*.
- ▶ **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 *Gerenciar uma unidade de rede compartilhada na página 26*.
- ▶ **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 29*.
- ▶ **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 *Configuração da criptografia de backup na página 30*.
- ▶ **Configure network passwords** (Definir 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 *Configuração das senhas da rede na página 30*.
- ▶ **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 36* e *Desligar o servidor na página 36*.

Acordo de licença de usuário final

No primeiro logon à IU da web, você é solicitado a aceitar o Acordo de licença de usuário final (EULA). Selecionando **Download EULA** (Fazer o download do EULA), você pode fazer o download do acordo de licença para seu computador. 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 fazer o download do documento, se necessário.

Configurar a IU da web

Selecione o ícone Settings  (Configurações) para ver 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 24*.



OBSERVAÇÃO

Um técnico não tem acesso a nenhuma dessas 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.
Criptografia de backup	Habilitar a criptografia de backups do banco de dados e a geração de um backup temporário não criptografado.
Senhas da rede	Definir senhas da rede para comunicação entre o servidor e os componentes da solução.
Reboot Server (Reinicializar o servidor)	Somente engenheiros de atendimento ou administradores.
Shut Down Server (Desligar o servidor)	Somente engenheiros de atendimento ou administradores.

Fazer logon na IU da web

Para acessar a interface do software de ensaio e fazer logon:

- Em um computador conectado à mesma rede que o Onsite Server, abra um dos seguintes navegadores da web:
 - ▶ Chrome v69 ou posterior
 - ▶ Firefox v62 ou posterior
 - ▶ Internet Explorer v11 ou posterior
- Insira o endereço IP ou o nome do servidor fornecido pela Illumina durante a instalação, equivalente a \\<VeriSeq Onsite Server v2 IP address>\login.
Por exemplo, \\10.10.10.10\login.
- Se for exibido um aviso de segurança do navegador, adicione uma exceção de segurança para continuar para a tela de logon.
- Na tela de logon, insira o nome do usuário e a senha que diferenciam maiúsculas e minúsculas fornecidos pela Illumina e selecione **Log In** (Fazer logon).



OBSERVAÇÃO

Depois de 10 minutos de inatividade, o software de ensaio termina automaticamente a sessão do usuário atual.

Usar o painel

O painel do VeriSeq NIPT Assay Software v2 é exibido após o logon e é a janela de navegação principal. 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 mostra as que estão registradas). É possível obter as 50 atividades anteriores e procurar no histórico de atividades selecionando **Previous** (Anterior) no canto inferior direito da tabela de atividades.

Figura 4 Painel do VeriSeq NIPT Assay

The screenshot shows a web dashboard with a header 'Dashboard' and a navigation menu with 'Recent activities', 'Recent errors', and 'Server status'. The 'Recent activities' tab is active, displaying a table with the following data:

WHEN	USER	SUBSYSTEM	DETAILS	LEVEL
2016-07-29 09:17 PDT		Assay	Aneuploidy Detection Report generated for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGXY'	Activity
2016-07-29 09:17 PDT		Assay	Analysis started for '160728_NS500411_0171_AHCLJBGXY'	Activity
2016-07-29 05:23 PDT		Assay	Sequencing QC passed for '160728_NS500411_0171_AHCLJBGXY'	Activity
2016-07-29 05:14 PDT		Assay	Analysis started for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGXY'	Activity
2016-07-29 05:14 PDT		Assay	Sequencing QC passed for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGXY'	Activity
2016-07-28 19:56 PDT		Assay	Sequencing started for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGXY'	Activity
2016-07-28 19:55 PDT		Assay	Sequencing started for '160728_NS500411_0171_AHCLJBGXY'	Activity
2016-07-28 17:18 PDT		Assay	Batch 'DVT0151_PL02_1': pool 'PT2008505' created	Activity
2016-07-28 17:18 PDT		Assay	Batch 'DVT0151_PL02_1': pool 'PT2008521' created	Activity
2016-07-28 16:14 PDT		Assay	Batch 'DVT0151_PL02_1' completed library	Activity
2016-07-28 10:30 PDT		Assay	Batch 'DVT0151_PL02_1' initiated	Activity

Visualizar atividades recentes

A guia Recent Activities (Atividades recentes) contém uma breve descrição das atividades recentes do Assay Software e do Onsite Server.

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"> • 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

Nome	Descrição
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. Entre em contato com 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 alertas e status do sistema

Para ver o resumo do status do servidor, em Dashboard (Painel), selecione a guia **Server Status** (Status do servidor).

O resumo exibe as seguintes informações:

- ▶ **Date** (Data) — Data e hora atuais
- ▶ **Time zone** (Fuso horário) — Fuso horário configurado para o servidor; utilizado para hora e data de e-mails, alertas e relatórios
- ▶ **Hostname** (Nome de host) — O nome do sistema consiste no nome de host da rede e no nome de domínio DNS
- ▶ **Disk space usage** (Uso do espaço no disco) — Percentagem do espaço no 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, reinicializa e encerra o servidor.
Técnico	Um Técnico do laboratório que visualiza o status e alertas do sistema.

Adicionar usuários

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

- 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.



OBSERVAÇÃO

Os caracteres aceitáveis para o nome do usuário não diferenciam maiúsculas de minúsculas e só devem incluir caracteres alfanuméricos (p. ex., a–z e 0–9), “_” (sublinhado) e “-” (hífen). Os nomes de usuário devem ter entre 4 e 20 caracteres e conter, pelo menos, um caractere numérico. O primeiro caractere do nome do usuário não pode ser numérico.

O software de ensaio usa nomes de usuário para identificar as pessoas envolvidas nos diferentes aspectos do processo dos ensaios e as interações com o software de ensaio.

- 3 Insira o nome completo do usuário. O nome completo só é mostrado no perfil do usuário.
- 4 Insira e confirme a senha.



OBSERVAÇÃO

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 (depois do treinamento).
- 8 Selecione **Save** (Salvar) para salvar e confirmar as alterações.
O novo usuário agora é exibido na tela User Management (Gerenciamento de usuários).

Editar usuários

Para editar informações do usuário:

- 1 Na tela User Management (Gerenciamento de usuários), selecione o nome do usuário desejado.
- 2 Edite as informações do usuário conforme necessário e selecione **Save** (Salvar) quando terminar.
- 3 Selecione **Save** (Salvar) novamente quando a caixa de diálogo for exibida para confirmar as alterações.
As alterações feitas no usuário agora são exibidas na tela User Management (Gerenciamento de usuários).

Desativar usuários

Para desativar um usuário:

- 1 Na tela User Management (Gerenciamento de usuários), selecione o nome do usuário desejado.

- 2 Limpe a caixa de seleção **Activate** (Ativar) e 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 Introduza as informações a seguir, fornecidas pelo administrador de TI.
 - ▶ **Location** (Local) — Caminho completo para a localização do NAS, incluindo a pasta de armazenamento de dados.
 - ▶ **Username** (Nome de usuário) — Nome do usuário designado para o Onsite Server quando ele acessa o NAS.
 - ▶ **Password** (Senha) — Senha designada para o Onsite Server 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 pode suportar somente 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.

Configurar as definições de redes e de certificados

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



OBSERVAÇÃO

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

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

Alterar configurações de certificados

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

- 1 Utilize a guia Certificate Configuration (Configuração do certificado) para adicionar ou alterar as configurações do certificado SSL.
 - ▶ **E-mail do laboratório** (E-mail do laboratório) — E-mail de contato do laboratório do ensaio (requer um formato de endereço de e-mail válido).
 - ▶ **Organization Unit** (Unidade organizacional) — Departamento.
 - ▶ **Organization** (Organização) — Nome do laboratório do ensaio.
 - ▶ **Location** (Local) — Endereço do laboratório do ensaio.
 - ▶ **State** (Estado) — Estado em que o laboratório do ensaio está localizado (preenchido automaticamente com base no endereço de e-mail).
 - ▶ **Country** (País) — País em que o laboratório do ensaio está localizado (preenchido automaticamente com base no endereço de e-mail).
 - ▶ **Certificate Thumbprint (SHA1)** (Impressão digital do certificado (SHA1)) — Número de identificação do certificado.

A impressão digital do certificado (SHA1) garante que os usuários não obtenham alertas relativos aos certificados ao acessar o VeriSeq NIPT Assay Software v2. O SHA1 é exibido depois da geração ou restauração de um certificado. Consulte [Gerar novamente um certificado na página 29](#) para obter mais informações.

- 2 Selecione **Save** (Salvar) para implementar as alterações feitas.

Alterar 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 configurar ou alterar as configurações de rede e do Onsite Server.
 - ▶ **Static IP Address** (Endereço IP estático) — Endereço IP designado para o Onsite Server.
 - ▶ **Subnet Mask** (Máscara de sub-rede) — Máscara 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 Onsite Server 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 NTP 1 e 2) — Servidores para sincronização de horário do NTP.
 - ▶ **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 eventuais alterações feitas.



CUIDADO

Configurações incorretas podem interromper a conexão com o servidor.

Download e instalação de um certificado

Para fazer o download e instalar um certificado SSL:

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



OBSERVAÇÃO

Se você for solicitado a salvar o arquivo, escolha um local memorizável. Caso não seja, 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).
Se for exibida uma janela de aviso de segurança, selecione **Open** (Abrir) para abrir o arquivo.
- 6 Na janela Welcome (Boas-vindas) do Certificate Import Wizard (Assistente para importação de certificados), selecione **Local Machine** (Máquina local) como local de armazenagem e, em seguida, selecione **Next** (Avançar).
- 7 Selecione a opção **Place all certificates in the following store** (Colocar todos os certificados no seguinte repositório) e, a seguir, selecione o botão **Browse...** (Navegar...).
- 8 Na janela Select Certificate Store (Selecionar repositório de certificados), selecione **Trusted Root Certification Authorities** (Autoridades de certificação raiz confiáveis) e, a seguir, selecione **OK**.
- 9 Certifique-se de que o campo Certificate Store (Repositório de certificados) exiba as Autoridades de certificação raiz confiáveis e, em seguida, selecione **Next** (Avançar).
- 10 Na janela Completing the Certificate Import Wizard (Concluindo o assistente para importação de certificados, selecione **Finish** (Finalizar)).
Se for exibida uma janela de aviso de segurança, selecione **Yes** (Sim) para instalar o certificado.
- 11 Na caixa de diálogo de importação bem-sucedida, selecione **OK** para sair do Assistente.

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 Selecione **Regenerate Certificate** (Gerar novamente certificado) na tela Network Configuration (Configuração de rede).
- 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. *Notificações do software de ensaio na página 59* descrevem as diversas notificações por e-mail enviadas pelo sistema.



OBSERVAÇÃO

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 **<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 que podem ser definidos nas etapas a seguir.

Para especificar uma lista de assinantes:

- 1 No 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 vírgulas. Verifique se os endereços de e-mail foram inseridos corretamente. O software não valida o formato dos endereços de e-mail.
- 4 Selecione **Send test message** (Enviar mensagem de teste) para gerar um e-mail de teste para a lista de assinantes. Verifique sua caixa de entrada de e-mail para confirmar se o e-mail foi enviado.
- 5 Selecione **Save** (Salvar).

Configuração da criptografia de backup


O VeriSeq NIPT Assay Software v2 permite que os administradores habilitem ou desabilitem a criptografia de backup. Eles 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. Certifique-se de armazenar a senha em um local seguro para consultas futuras.



OBSERVAÇÃO

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

Para configurar a criptografia de backup, faça o que é mostrado a seguir.

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

Geração de um backup não criptografado


O VeriSeq NIPT Assay Software v2 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 só existe por 24 horas antes de ser automaticamente excluído.



OBSERVAÇÃO

Somente administradores têm permissão para gerar um backup não criptografado.

Para criar um backup não criptografado, faça o que é mostrado a seguir.

- 1 No Painel, selecione o ícone Settings (Configurações) .
- 2 Selecione **Backup Encryption** (Criptografia de backup).
- 3 Selecione o botão **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 v2 e consultando a tabela Recent Activities (Atividades recentes). Uma nova atividade deve confirmar a criação bem-sucedida de um backup não criptografado.

Configuração das senhas da rede


Um administrador ou engenheiro de atendimento de campo da Illumina pode usar a página Senhas da rede para configurar senhas para comunicação entre o Onsite Server e os componentes do VeriSeq NIPT Solution v2.



OBSERVAÇÃO

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

Para configurar as senhas da rede, faça o que é mostrado a seguir.

- 1 No Painel, selecione o ícone Settings (Configurações) .
- 2 Selecione **Network Passwords** (Senhas da rede).
- 3 Digite uma senha para os sequenciadores no campo Sequencer Password (Senha dos sequenciadores).
- 4 Digite novamente a senha para os sequenciadores 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 dos sequenciadores).
O servidor armazena a senha para o sequenciador. Atualize todos os sequenciadores conectados ao servidor para usarem essa senha.
- 6 Digite uma senha para o VeriSeq NIPT Microlab STAR no campo Automation Password (Senha de automação).
- 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.



CUIDADO

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

Fazer logoff

- ▶ Selecione o ícone do perfil do usuário no canto superior direito da tela e selecione **Log Out** (Fazer logoff).

Análise e geração de relatórios

Após a coleta dos dados de sequenciamento, eles são desmultiplexados, convertidos em formato FASTQ, alinhados com um genoma de referência e analisados quanto à detecção de aneuploidia. São determinadas várias métricas, conforme descrito abaixo, para qualificar a resposta final relativa a uma determinada amostra.

Desmultiplexação e geração de arquivos FASTQ

Os dados de sequenciamento armazenados em formato BCL são processados por meio do software de conversão bcl2fastq, que desmultiplexa os dados e converte os arquivos BCL em formatos de arquivo FASTQ padrão para análise posterior. Para cada ensaio de sequenciamento, o 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 este 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.
índice	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 que apresentam uma grande probabilidade de apresentar falha na análise. As métricas de densidade do 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 do CQ para sequenciamento* na página 38.

Estimativas da fração fetal

A fração fetal se refere ao percentual de DNA livre que circula em uma amostra de sangue materno originário da placenta. O software de ensaio utiliza 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 fração fetal.¹

Estatística usada 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 tendência de GC e de acordo com a cobertura genômica específica da região estabelecida anteriormente. Usando essas contagens de

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

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 tendo em conta a cobertura observada e a fração fetal versus a probabilidade de uma amostra não ser afetada dada a mesma cobertura observada. O cálculo dessa relação também considera a incerteza estimada da fração fetal. Para cálculos subsequentes, é utilizado o logaritmo natural da relação. O software de ensaio 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 ACS exigem concordância de classificação por parte da LLR e do valor cromossômico normalizado.¹ 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 pertençam a fetos do sexo masculino relativamente às quais o NCV_X está dentro do intervalo observado para amostras do sexo feminino de euploides podem ser denominadas [47,XXY]. As amostras que pertençam a amostras do sexo masculino relativamente às quais o NCV_X está no intervalo observado para amostras do sexo masculino de euploides, mas em que o cromossomo Y está sobrerrepresentado, 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 todos as demais métricas de CQ forem aprovadas.

CQ de análise

As métricas de CQ de análise são indicadores calculados durante a análise e são usados para detectar amostras que se desviam em demasia do comportamento esperado. Os dados das amostras que não cumprem estes indicadores 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 46* para obter mais informações sobre esses motivos de CQ.

CQ de amostras NTC

O VeriSeq NIPT Solution permite a adição de amostras NTC como parte da sua execução. O ML STAR pode gerar até 2 NTCs por execução para lotes de 24 amostras e de 48 amostras e até 4 NTCs para lotes de 96 amostras. Independentemente da quantidade de amostras NTC adicionadas, o software verifica uma média mínima de 4 000 000 fragmentos exclusivos mapeados por amostra e por pool. Por este motivo, não adicione mais de 2 amostras NTC por pool. Para obter mais informações, consulte *Métricas e limites do CQ para sequenciamento na página 38*.

Os statuses do CQ das amostras NTC são:

- ▶ **NTC sample processing** (Processamento de amostras NTC) — Quando processar uma amostra NTC, o software aplica um resultado PASS QC (APROVADA PELO CQ) quando a cobertura da amostra é baixa, conforme esperado para NTC.

¹Bianchi 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.

- ▶ **Patient sample as NTC** (Amostra de paciente como NTC) — Quando uma amostra de paciente, marcada como NTC, é processada, é detectada cobertura elevada. Como a amostra está marcada como NTC, o software marca o status da amostra de CQ como FAIL (REPROVADA) com o seguinte motivo: NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (AMOSTRA NTC COM COBERTURA ELEVADA).

VeriSeq Onsite Server v2

O VeriSeq Onsite Server v2 possui um sistema operacional baseado em Linux e fornece cerca de 7,5 TB de capacidade de armazenamento de dados. Partindo do princípio de 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 software de ensaio disponibiliza pastas específicas no Onsite Server 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
Entrada	Contém dados de sequenciamento gerados pelo sistema de sequenciamento de última geração mapeados para o servidor.	Leitura e gravação.
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 suporta, atualmente, 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 software de ensaio contém 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 software de ensaio e não está acessível para o usuário. O sistema mantém um mecanismo automático para backup do banco de dados no Onsite Server. Além dos processos a seguir, referentes ao banco de dados, é recomendável que os usuários regularmente façam 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, sendo 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 [Configuração da criptografia de backup na página 30](#) 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 Onsite Server como o ponto de armazenamento principal das execuções de sequenciamento, ele só pode armazenar cerca de 300 execuções. A Illumina recomenda a configuração de um backup de dados automático que seja executado continuamente em outro dispositivo de armazenamento de longo prazo ou em um NAS.
- ▶ **Manutenção** — As atualizações do software de ensaio ou do próprio Onsite Server 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 software de ensaio monitora o espaço restante no disco 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 Onsite Server para armazenamento de dados. Transfira os dados para o Onsite Server e archive-os regularmente.

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

Arquive os dados somente quando o sistema estiver inativo e não quando estiverem em andamento análises ou execuções de sequenciamento.

Mapear unidades do servidor

O Onsite Server tem 3 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.

Para mapear cada pasta:

- 1 Faça logon no computador da sub-rede do Onsite Server.
- 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 \\<VeriSeq Onsite Server v2 IP address>\<folder name>. Por exemplo: \\10.50.132.92\input.
- 5 Digite seu nome e senha (como administrador ativo) do VeriSeq NIPT Assay Software v2.

Pastas mapeadas com sucesso 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.



OBSERVAÇÃO

O mapeamento do disco local é baseado no protocolo SMB (Server Message Block). O software suporta, atualmente, 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 o 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.



OBSERVAÇÃO

A reinicialização do sistema pode demorar vários minutos.

Desligar o servidor



OBSERVAÇÃO

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

Para desligar o servidor do Onsite Server:

- 1 Na lista suspensa **Settings** (Configurações), selecione **Shut Down Server** (Desligar o servidor).
- 2 Selecione **Shut Down** (Desligar) para desligar o Onsite Server ou selecione **Cancel** (Cancelar) para sair sem desligar.
- 3 Informe um motivo para desligar o Onsite Server.
O motivo é registrado para fins de solução de problemas.

Recuperação de um desligamento inesperado

Caso ocorra uma falha de alimentação ou um desligamento acidental por parte do usuário durante a execução de uma análise, o sistema:

- ▶ Reinicia automaticamente o software de ensaio após a reinicialização.
- ▶ Reconhece que a execução da análise apresentou falha e reenvia a execução para a fila de processamento.
- ▶ Gera resultados quando a análise é concluída com sucesso.



OBSERVAÇÃO

Se ocorrer falha na análise, o software de ensaio permitirá que o sistema reenvie a execução para análise até um máximo de 3 vezes.

Considerações ambientais

As considerações da temperatura ambiente para o Onsite Server são mostradas na tabela a seguir.

Tabela 1 Temperaturas ambientes para o VeriSeq Onsite Server v2

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 equipamento eletrônico (ou seja, Resíduos de Equipamentos Elétricos e Eletrônicos (REEE; em inglês, WEEE, Waste Electrical and Electronic Equipment) conforme aplicável) são fornecidas no site da Illumina em <https://support.illumina.com/weee-recycling.html>.

Apêndice A Métricas de CQ

Métricas e limites do CQ para quantificação	38
Métricas e limites do CQ para sequenciamento	38

Métricas e limites do 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 de 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 ultrapassem as especificações indicam uma contaminação excessiva do DNA genômico.
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 de amostras.

Métricas e limites do 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, as lâminas de fluxo com cluster em excesso produzem dados de sequenciamento de baixa qualidade.
pct_pf	Percentual de leituras que passam pelo filtro de pureza.	≥ 50%	N/A	Lâminas de fluxo com %PF extremamente baixo podem ter uma representação de base anormal e provavelmente indicam problemas com leituras de PF.
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 mínimo observado em toda a população normal.

Apêndice B Relatórios do sistema

Introdução	39
Resumo dos relatórios do sistema	40
Eventos de geração de relatórios	41
Relatórios de resultados e notificações	43
Relatórios de processos	51

Introdução

O software de ensaio gera duas categorias de relatórios:

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

Também existem dois tipos de relatório:

- ▶ **Informational** (Informativo) — Um relatório relacionado com processos que 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.
- ▶ **Actionable** (Acionável) — Um 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

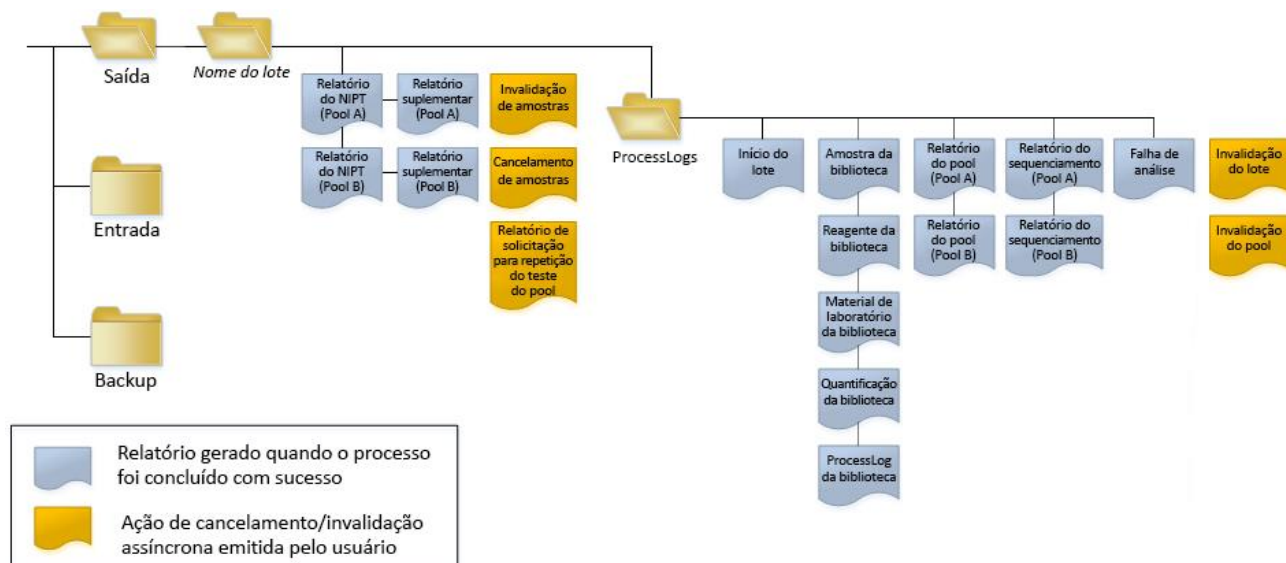
Os relatórios do software de ensaio são gerados no disco rígido interno do Onsite Server mapeado para a unidade do usuário como uma pasta Output (Saída) de somente leitura. Cada relatório é gerado com um arquivo de soma de verificação MD5 padrão correspondente, que é usado para confirmar que o arquivo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

Todos os relatórios têm o formato de texto simples delimitado por tabulações. Os relatórios podem ser abertos com qualquer editor de texto ou programa de dados tabulados, como o Microsoft Excel.

Estrutura de arquivos de relatório

O software de ensaio salva relatórios em uma estrutura específica na pasta Output (Saída).

Figura 5 Estrutura da pasta de relatórios do software de ensaio



O software de ensaio salva relatórios na pasta *Batch Name* (Nome do lote) com a seguinte organização:

- ▶ **Main folder (Batch Name folder)** (Pasta principal [pasta Nome do lote]) — Contém relatórios que fornecem resultados ou que estão associados a notificações por e-mail geradas pelo LIMS. Para obter detalhes, consulte *Relatórios de resultados e notificações na página 43*.
- ▶ **ProcessLogs folder** (Pasta ProcessLogs) — Contém relatórios relacionados com processos. Para obter detalhes, consulte *Relatórios de processos na página 51*.

Uma lista de todos os relatórios é fornecida em *Resumo dos relatórios do sistema na página 40*.

Resumo dos relatórios do sistema

Nome do relatório	Tipo de relatório	Entidade do relatório	Formato do nome do arquivo do relatório
<i>Relatório do NIPT</i>	Acionável	Pool/lâmina de fluxo	<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_nipt_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório suplementar</i>	Informativo	Pool/lâmina de fluxo	<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_supplementary_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de invalidação de amostras</i>	Acionável	Amostra	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de cancelamento de amostras</i>	Acionável	Amostra	<batch_name>_<sample_barcode>_sample_cancellation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de solicitação para repetição do teste do pool</i>	Acionável	Pool	<batch_name>_<pool_type>_pool_retest_request_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de início de lote</i>	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_batch_initiation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab

Nome do relatório	Tipo de relatório	Entidade do relatório	Formato do nome do arquivo do relatório
<i>Relatório de invalidação de lote</i>	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_batch_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de amostra da biblioteca</i>	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_library_sample_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de reagente da biblioteca</i>	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_library_reagent_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório do material de laboratório da biblioteca</i>	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_library_labware_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de quantificação da biblioteca</i>	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_library_quant_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Registro de processo da biblioteca</i>	Informativo	Lote	ProcessLogs/<batch_name>_library_process_log.tab
<i>Relatório do pool</i>	Informativo	Pool	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de invalidação de pool</i>	Informativo	Pool	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_barcode>_pool_invalidation_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório do sequenciamento</i>	Informativo	Pool/lâmina de fluxo	ProcessLogs/<batch_name>_<pool_type>_<pool_barcode>_<flowcell>_sequencing_report_<YYYYMMDD_hhmmss>.tab
<i>Relatório de falha de análise</i>	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 bem-sucedida.	<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 bem-sucedida.	<ul style="list-style-type: none"> Análise de execução de 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.
Relatório de solicitação para 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.

Relatório	Descrição	Evento de geração
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.
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.
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 parâmetros
batch_name	Nome do lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
sample_barcode	Código de barras exclusivo da amostra.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
sample_type	Informações do tipo de amostra fornecidas pelo usuário do ponto de coleta ou do laboratório. Determina a apresentação da classificação de aneuploidia.	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.
sex_chrom	Análise do cromossomo sexual solicitada. Determina a apresentação de classificação de aneuploidia e informações do cromossomo sexual.	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. • Not specified (Não especificado) – não foi fornecida uma opção de informações do cromossomo sexual para essa amostra. <p>O relatório do NIPT exibe os parâmetros sim, não e acs todos em letras minúsculas.</p>
screen_type	Tipo de triagem.	Uma das opções a seguir: <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 especificado) – não foi fornecido um tipo de triagem para essa amostra <p>O relatório do NIPT exibe os parâmetros de básica e genômica ampla todos em letras minúsculas.</p>
lâmina de fluxo	Código de barras da lâmina de fluxo do sequenciamento.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.

Coluna	Descrição	Opções de parâmetros
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) — Foi detectada uma anomalia do cromossomo sexual. • NO ANOMALY DETECTED (NENHUMA ANOMALIA DETECTADA) — Amostra negativa e sexo não informado • NO ANOMALY DETECTED – XX (NENHUMA ANOMALIA DETECTADA) — Amostra negativa com feto do sexo feminino. • NO ANOMALY DETECTED – XY (NENHUMA ANOMALIA DETECTADA) — 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. • NA — Categoria não aplicável à amostra.
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.	<p>Uma das opções a seguir:</p> <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. • NA — Categoria não aplicável à amostra.
anomaly_description	Cadeia de texto em estilo ICSN que descreve todas as anomalias relatáveis. Múltiplas anomalias são separadas por ponto e vírgula.	<p>DETECTED (DETECTADA): seguida por cadeias de texto separadas por ponto e vírgula (consulte <i>Regras de descrição de anomalias na página 45</i>).</p> <p>ou NO ANOMALY DETECTED (NENHUMA ANOMALIA DETECTADA) NA INVALIDATED (INVALIDADA) CANCELLED (CANCELADA).</p>
qc_flag	Resultados da análise de CQ. Apenas os parâmetros qc_flag de WARNING (ADVERTÊNCIA) e PASS (APROVADA) informam resultados. Todos os outros valores não o fazem.	<p>Uma das opções a seguir:</p> <ul style="list-style-type: none"> • PASS (APROVADA) • WARNING (ADVERTÊNCIA) • FAIL (REPROVADA) • CANCELLED (CANCELADA) • INVALIDATED (INVALIDADA) • NTC_PASS

Coluna	Descrição	Opções de parâmetros
qc_reason	Informação ou advertência de falha no CQ.	<p>Uma das opções a seguir:</p> <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 CÉLULA 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)
ff	Fração fetal estimada.	<p>Percentual do cfDNA do feto arredondado para o número inteiro mais próximo. Resultados inferiores a 1% são apresentados como < 1%.</p>

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 um 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 quatro parâmetros possíveis:

- ▶ 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:

- ▶ <type> é o tipo de evento, del para deleção ou dup para duplicação.
- ▶ <chr> é o número do cromossomo.

- ▶ <start band> é a faixa citogenética que contém o início do evento.
- ▶ <end band> é a faixa citogenética que contém o fim do evento.

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

dup (22) (p14q15)

O campo anomaly_description segue três regras de ordenação:

- 1 Os elementos são ordenados pelo número do cromossomo, independentemente de se tratar de um cromossomo inteiro ou de uma deleção ou duplicação. Uma aneuploidia do cromossomo sexual, se presente, aparece por último.
- 2 Para deleções ou duplicações parciais no mesmo cromossomo, as deleções aparecem antes das duplicações.
- 3 Deleções ou duplicações parciais do mesmo tipo no mesmo cromossomo são ordenadas pela base inicial, mostrada no Relatório suplementar.

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 CÉLULA DE FLUXO FORA DO INTERVALO ESPERADO)	Os dados da célula 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.	Entre em contato com 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 deleções ou duplicações parciais). 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 de 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. Neste 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	Opções de parâmetros
lâmina de fluxo	Código de barras da lâmina de fluxo.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
batch_name	Nome do lote em questão.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.

Coluna	Descrição	Opções de parâmetros
sample_ barcode	Código de barras da amostra.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens. NA (não se aplica) para métricas de cada lote.
região	Um cromossomo inteiro ou uma descrição da região da deleção ou duplicação parcial.	Para métricas de região de cromossomo, chr e o número do cromossomo (p. ex., chr21). Métricas de região de deleção ou duplicação parcial são mostradas conforme explicado em <i>Regras de descrição de anomalias</i> na página 45 NA (não se aplica) para métricas de cada lote ou amostra.
metric_ name	Nome da métrica descrita.	Consulte <i>Métricas do relatório suplementar</i> .
metric_ value	Valor da métrica.	Consulte <i>Métricas do relatório suplementar</i> .

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 é 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 é excluído do intervalo e os colchetes indicam que um valor limite é incluído no intervalo. Inf é a abreviatura de infinito.

Nome da métrica	Frequência	Descrição
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.
frag_size_ dist	Por amostra	O desvio padrão das diferenças entre as distribuições do tamanho de fragmento cumulativo reais e esperadas.
fetal_fraction	Por amostra	Fração fetal informada.
NCV_X	Por amostra	Valor cromossômico normalizado para o cromossomo X. Só é exibido se a opção do cromossomo sexual no relatório permitir. Caso contrário, essa métrica é exibida como NOT TESTED (NÃO TESTADA).
NCV_Y	Por amostra	Valor cromossômico normalizado para o cromossomo Y. Só é exibido se a opção do cromossomo sexual no relatório permitir. Caso contrário, essa métrica é exibida como NOT TESTED (NÃO TESTADA).
number_of_ cnv_events	Por amostra	Número de regiões de deleção ou duplicação parcial detectadas na amostra.
non_ excluded_ sites	Por amostra	Número de leituras restantes após a filtragem que são levadas em conta para análise.

Nome da métrica	Frequência	Descrição
region_classification	Por região	Classificação da região pelo sistema no mesmo formato que o do campo anomaly_description no Relatório do NIPT. 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. Opções de parâmetros: <ul style="list-style-type: none"> • DETECTED (DETECTADA): seguida por cadeias de texto separadas por ponto e vírgula (consulte <i>Regras de descrição de anomalias na página 45</i>). • NO ANOMALY DETECTED (NENHUMA ANOMALIA DETECTADA) • NO ANOMALY DETECTED (NENHUMA ANOMALIA DETECTADA) - XX • NO ANOMALY DETECTED (NENHUMA ANOMALIA DETECTADA) - XY • NOT REPORTABLE (NÃO RELATÁVEL) • CHR Y PRESENT (CROMOSSOMO Y PRESENTE) • CHR Y NOT PRESENT (CROMOSSOMO Y NÃO PRESENTE)
cromossomo	Por região	O símbolo do cromossomo.
start_base	Por região	Primeira base incluída na região.
end_base	Por região	Última base incluída na região.
start_cytoband	Por região	Banda citogenética da primeira base incluída na região.
end_cytoband	Por região	Banda citogenética da última base incluída na região.
region_size_mb	Por região	Tamanho da região em megabases.
region_llr_trisomy	Por região	Pontuação da razão logarítmica de verossimilhança (LLR) 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 é exibida se o tipo for um ganho (dup). Caso contrário, essa métrica é exibida como NA (não aplicável).
region_llr_monosomy	Por região	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. Para deleções ou duplicações parciais, essa métrica só é exibida se o tipo for uma perda (del). Caso contrário, essa métrica é exibida como NA (não aplicável). Essa métrica é exibida como NOT TESTED (NÃO TESTADA) se você opta pelo tipo de triagem básica.
region_t_stat_long_reads	Por região	Estatística T da região. A estatística T é a diferença de cobertura entre a região e o resto do genoma, em comparação com a variação na amostra. Essa 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. A estatística T é combinada com a fração fetal estimada da amostra, para gerar pontuações de LLR.
region_mosaic_ratio	Por região	Proporção do material fetal com aneuploidia. Essa métrica se baseia 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 respetivo cálculo.

Nome da métrica	Frequência	Descrição
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 é exibida se o tipo for um ganho (dup). Caso contrário, essa métrica é exibida como NA (não aplicável).
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 é exibida se o tipo for uma perda (del). Caso contrário, essa métrica é exibida como NA (não aplicável). Essa métrica é exibida como NOT TESTED (NÃO TESTADA) se você opta pelo tipo de triagem básica.

Relatório de invalidação de amostras

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

Coluna	Descrição	Opções de parâmetros
batch_name	Nome do lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
sample_barcode	Código de barras exclusivo da amostra invalidada.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
motivo	Motivo fornecido pelo usuário para a invalidação da amostra.	Até 512 caracteres.
operador	Nome de usuário do operador que invalidou a amostra.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
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	Opções de parâmetros
batch_name	Nome do lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
sample_barcode	Código de barras exclusivo da amostra cancelada.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
motivo	Motivo fornecido pelo usuário para cancelamento da amostra.	Até 512 caracteres.
operador	Nome de usuário do operador que cancelou a amostra.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
timestamp	Data e hora do cancelamento da amostra.	Carimbo de data/hora ISO 8601

Relatório de solicitação para repetição do teste do pool

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

Coluna	Descrição	Opções de parâmetros
batch_name	Nome do lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
pool_type	Tipo do pool.	Um de A, B, C ou E.
motivo	Motivo fornecido pelo usuário para a invalidação do pool anterior.	Até 512 caracteres.
timestamp	Data e hora da solicitação.	Carimbo de data/hora ISO 8601

Relatórios de processos

Relatório de início de lote

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

Coluna	Descrição	Opções de parâmetros
batch_name	Nome do lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
sample_barcode	Código de barras exclusivo da amostra.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
sample_type	Tipo de amostra do código de barras da amostra.	<ul style="list-style-type: none"> • gestação única • controle • gêmeos • ntc
poço	Poço associado a uma amostra.	A-H seguido por um número 1-12.
ensaio	Nome do ensaio.	Até 100 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
method_version	Versão do método de automação do ensaio.	Até 100 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços, pontos ou hifens.
workflow_manager_version	Versão do Gerenciador de fluxo de trabalho associado ao lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços, pontos ou hifens.

Relatório de invalidação de lote

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

Coluna	Descrição	Opções de parâmetros
batch_name	Nome do lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
motivo	Motivo fornecido pelo usuário para a invalidação do lote.	Até 512 caracteres.
operador	Iniciais do operador que invalidou o lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
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 bem-sucedida da biblioteca e na conclusão bem-sucedida da quantificação.

Coluna	Descrição	Opções de parâmetros
batch_name	Nome do lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
sample_barcode	Código de barras exclusivo da amostra.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
qc_status	Status da amostra após a conclusão das etapas do ensaio.	<ul style="list-style-type: none"> • pass (aprovada) • fail (reprovada)
qc_reason	Motivo do status do CQ.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
starting_volume	Volume inicial do tubo de coleta de sangue em ml na ocasião do isolamento do plasma.	Qualquer número positivo.
índice	Índice associado a uma amostra.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
ccn_library_pg_ul	Concentração da biblioteca em pg/μl.	Qualquer número positivo.
plasma_isolation_comments	Comentários do usuário ao realizar um isolamento de plasma (texto livre).	Até 512 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
cfdna_extraction_comments	Comentários do usuário ao realizar extração de cfDNA (texto livre).	Até 512 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
library_prep_comments	Comentários do usuário ao realizar a preparação da biblioteca (texto livre).	Até 512 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
quantitation_comments	Comentários do usuário ao realizar quantificação (texto livre).	Até 512 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.

Relatório de reagente da biblioteca

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

Coluna	Descrição	Opções de parâmetros
batch_name	Nome do lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
processo	Nome do processo, no formato de PROCESS:sub-process.	<ul style="list-style-type: none"> • ISOLATION (ISOLAMENTO) — batch_validation, prespin, postspin, data_transact. • EXTRACTION (EXTRAÇÃO) — setup, chemistry, data_transact. • LIBRARY (BIBLIOTECA) — setup, chemistry, data_transact, complete. • QUANT (QUANTIFICAÇÃO) — setup, build_standards, build_384, analysis, data_transact. • POOLING (POOLING) — analysis, setup, pooling, data_transact, complete.
reagent_name	Nome do reagente.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
lote	Código de barras do reagente.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
expiration_date	Data de validade no formato do fabricante.	Até 100 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços, dois pontos, barras invertidas ou hifens.
operador	Nome de usuário do operador.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
initiated (iniciado)	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 bem-sucedida da biblioteca e na conclusão bem-sucedida da quantificação.

Coluna	Descrição	Opções de parâmetros
batch_name	Nome do lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
labware_name	Nome do material de laboratório.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
labware_barcode	Código de barras do material de laboratório.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
initiated (iniciado)	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 bem-sucedida da quantificação.

Coluna	Descrição	Opções de parâmetros
batch_name	Nome do lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
quant_id	Identificação numérica.	Números positivos.
instrument (instrumento)	Nome do instrumento de quantificação (texto livre).	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
standard_r_squared	R ao quadrado.	Qualquer número positivo.
standard_intercept	Interseção.	Qualquer número.
standard_slope	Inclinação.	Qualquer número.
median_ccn_pg_ul	Concentração mediana da amostra.	Qualquer número positivo.
qc_status	Status de CQ de quantificação.	<ul style="list-style-type: none"> • pass (aprovada) • fail (reprovada)
qc_reason	Descrição do motivo da falha, se houver.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
initiated (iniciado)	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	Opções de parâmetros
batch_name	Nome do lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
processo	Nome do processo do lote, no formato de PROCESS:sub-process.	ISOLATION (ISOLAMENTO) — batch_validation, prespin, postspin, data_transact. EXTRACTION (EXTRAÇÃO) — setup, chemistry, data_transact. LIBRARY (BIBLIOTECA) — setup, chemistry, data_transact, complete. QUANT (QUANTIFICAÇÃO) — setup, build_standards, build_384, analysis, data_transact. POOLING (POOLING) — analysis, setup, pooling, data_transact, complete.
operador	Iniciais do operador.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
instrumento	Nome do instrumento.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
iniciado	Data e hora do início do processo do lote.	Carimbo de data/hora ISO 8601

Coluna	Descrição	Opções de parâmetros
concluído	Data e hora da conclusão ou falha do processo do lote.	Carimbo de data/hora ISO 8601
status	Lote atual.	<ul style="list-style-type: none"> • concluído • com falha • iniciado • interrompido

Relatório do pool

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

Coluna	Descrição	Opções de parâmetros
batch_name	Nome do lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
sample_barcode	Código de barras exclusivo da amostra.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
pool_barcode	Código de barras do pool associado a uma amostra.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
pool_type	Tipo de pool associado a uma amostra.	Um de A, B, C ou E.
pooling_volume_ul	Volume do pooling em µl.	Qualquer número positivo.
pooling_comments	Comentários do usuário ao realizar pooling (texto livre).	Até 512 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.

Relatório de invalidação de pool

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

Coluna	Descrição	Opções de parâmetros
batch_name	Nome do lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
pool_barcode	Código de barras do pool invalidado.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
motivo	Motivo fornecido pelo usuário para a invalidação do pool.	Até 512 caracteres.
operador	Iniciais do operador que invalidou o pool.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
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 de sequenciamento quando o sequenciamento é concluído ou o tempo limite é atingido.

Coluna	Descrição	Opções de parâmetros
batch_name	Nome do lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
pool_ barcode	Código de barras do pool associado à execução do sequenciamento.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
instrumento	Número de série do sequenciador.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
lâmina de fluxo	Lâmina de fluxo associada à execução do sequenciamento.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
software_ version	Concatenação do aplicativo/versão do software usada para gerar os dados no sequenciador.	Caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, barras invertidas, pontos, dois pontos, pontos e vírgulas ou hifens.
run_folder	Nome da pasta de execução do sequenciamento.	Caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
sequencing_ status	Status da execução do sequenciamento.	<ul style="list-style-type: none"> • concluído • tempo esgotado • com falha
qc_status	Status do CQ da execução do sequenciamento.	<ul style="list-style-type: none"> • pass (aprovada) • fail (reprovada) • erro
qc_reason	Motivos de CQ para falha no CQ, parâmetros separados por ponto e vírgula.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados, espaços ou hifens.
cluster_ density	Densidade de cluster (mediana por lâmina de fluxo nos blocos).	Qualquer número positivo.
pct_q30	Percentual de bases acima de Q30.	Qualquer número positivo.
pct_pf	Percentual de leituras que passam pelo filtro.	Qualquer número positivo.
phasing	Phasing.	Qualquer número positivo.
prephasing	Prephasing.	Qualquer número positivo.
predicted_ aligned_ reads	Leituras alinhadas previstas.	Qualquer número positivo.
iniciado	Carimbo de data/hora associado ao início do sequenciamento.	Carimbo de data/hora ISO 8601
concluído	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 quando o número máximo de tentativas de análise falha na execução do sequenciamento.

Coluna	Descrição	Opções de parâmetros
batch_name	Nome do lote.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
pool_barcode	Código de barras do pool associado à análise com falha.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
lâmina de fluxo	Código de barras da lâmina de fluxo associada à análise com falha.	Até 36 caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
sequencing_run_folder	Pasta da execução do sequenciamento associada à análise com falha.	Caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
analysis_run_status	Status da execução do sequenciamento associado à análise com falha.	Caracteres alfanuméricos maiúsculos e minúsculos, sublinhados ou hifens.
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

Apêndice C Resolução de problemas

Introdução	58
Notificações do software de ensaio	59
Problemas do sistema	68
Testes de processamento de dados	68

Introdução

A assistência para solução de problemas do VeriSeq NIPT Solution v2 abrange:

- ▶ Notificações do software de ensaio e do sistema.
- ▶ Ações recomendadas para problemas do sistema.
- ▶ Instruções para a realização de análises preventivas e de falhas usando dados de teste pré-instalados.

Notificações do software de ensaio

Esta seção descreve as notificações do software de ensaio:

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.
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 de 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 Gerenciador de fluxo de trabalho. 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, envie um e-mail ao 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 <i>Procedimentos de ação recomendados na página 66</i>. 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 no disco insuficiente para o sequenciamento)	Sequenciamento	O sistema detectou uma nova pasta de dados de sequenciamento, mas estima que não existe espaço no disco suficiente para os dados.	Alerta	Sim	<ol style="list-style-type: none"> Verifique o espaço no disco disponível. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 66</i>. Limpe espaço no disco ou faça backup dos dados. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 66</i>.
Sequencing Run Invalid Folder (Pasta inválida da execução do sequenciamento)	Sequenciamento	Caracteres inválidos na pasta de execução do sequenciamento.	Advertência	Sim	O nome da pasta da 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 no sequenciador ou no NAS. Verifique a configuração do sequenciador 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, opção do cromossomo sexual ou 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 Gerenciador de fluxo de trabalho ou invalide a amostra para permitir que o software continue a ser executado.
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 no disco disponível. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 66</i>. Se o espaço for insuficiente, limpe o espaço no disco ou faça backup dos dados. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 66</i>. • Se estiver usando um NAS, verifique a conexão de rede. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 66</i>. • Possível falha do hardware. Reinicialize o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte técnico da Illumina.
Unable to check disk space (Não é possível verificar o espaço no disco)	Pré-análise	O software não conseguiu verificar o espaço no disco.	Alerta	Sim	<ul style="list-style-type: none"> • Se estiver usando um NAS, verifique a conexão de rede. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados Action ID (ID da ação) 2. na página 66</i>. • 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 no disco insuficiente para a análise)	Pré-análise	O software detectou que não há espaço no disco suficiente para iniciar a nova execução de uma análise.	Alerta	Sim	Limpe espaço no disco ou faça backup dos dados. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados Action ID (ID da ação) 3 na página 67</i> .
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 de sequenciamento apresentou falha.	Advertência	Sim	<ul style="list-style-type: none"> Se estiver usando um NAS, verifique a conexão de rede. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 66</i>. 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 para o tipo de pool atual.	Atividade	Sim	Nenhuma
Unable to deliver email notifications (Não é possível enviar notificações por e-mail)	Sistema	O sistema não consegue enviar notificações por e-mail.	Advertência	N/D	<ol style="list-style-type: none"> Verifique a validação da configuração do e-mail definida no sistema. Consulte as instruções em <i>Configurar as notificações por e-mail do sistema na página 29</i>. Envie um e-mail de teste. Consulte as instruções em <i>Configurar as notificações por e-mail do sistema na página 29</i>. 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 1 minuto entre o carimbo de data/hora fornecido pelo Gerenciador de fluxo de trabalho e a hora local do servidor.	Advertência	Não	<ol style="list-style-type: none"> Verifique a hora local no computador do Gerenciador de fluxo de trabalho. Verifique a hora local do Onsite Server informada na IU da web (guia Server Status [Status do servidor]).

Notificações de erros irre recuperáveis

Erros irre recuperáveis 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 no disco disponível. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 66</i>. Se o espaço for insuficiente, limpe o espaço no disco ou faça backup dos dados. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 66</i>. Possível falha do hardware. Reinicialize o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte técnico da Illumina.
Failed to Parse Run Parameters file (Falha ao analisar o 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 sequenciador 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 de sequenciamento com base no arquivo de configuração do sequenciador. Verifique a configuração do sequenciador 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 sequenciador e faça o ressequenciamento do pool.
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.

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
Sequencing Completed but Pool Barcode File Missing (Sequenciamento concluído, mas 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.
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.
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.

Notificação	Etapa	Quando	Nível de alerta	E-mail	Ação recomendada
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 <i>Procedimentos de ação recomendados na página 66</i>. 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 upload da análise)	Pós-análise	O software não fez o upload dos resultados da análise para o banco de dados.	Alerta	Sim	<ul style="list-style-type: none"> Se estiver usando um NAS, verifique a conexão de rede. Consulte <i>Procedimentos de ação recomendados na página 66</i>. Possível falha do hardware. Reinicialize o servidor. Se o problema persistir, envie um e-mail ao Suporte técnico da Illumina.

Procedimentos de ação recomendados

ID da ação	Ação recomendada	Etapas
1.	Verifique a conexão de rede.	<p>Certifique-se de que o NAS de armazenamento remoto e o computador local estejam na mesma rede.</p> <ol style="list-style-type: none"> Em uma linha de comandos do Windows (cmd), escreva o comando: ping <Server IP> Se estiver usando um NAS, verifique também a conexão com o NAS. Certifique-se de que não existam pacotes perdidos. Se houver pacotes perdidos, entre em contato com o administrador de TI. Teste a conexão: <ol style="list-style-type: none"> Faça logon na IU da web do Onsite server. Em Dashboard (Painel), selecione Folder (Pasta). Selecione Test (Testar) e determine se o teste é bem-sucedido. Se o teste falhar, consulte <i>Editar uma unidade de rede compartilhada na página 26</i> e confirme se todas as definições estão configuradas corretamente.
2.	Verifique o espaço no disco disponível.	<p>Certifique-se de que o Windows mapeie para a pasta Input (Entrada) do Onsite Server. Para obter mais informações, consulte <i>Mapear unidades do servidor na página 35</i>. 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 no 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 26.</p> <ol style="list-style-type: none">1. Para dados armazenados localmente no Onsite Server:<p>Certifique-se de que o Windows mapeie para a pasta Input (Entrada) do Onsite Server. Para obter mais informações, consulte Mapear unidades do servidor na página 35.</p><ol style="list-style-type: none">a. Dê um clique duplo na pasta Input (Entrada) e insira as credenciais para acessá-la.b. Os dados de execuções de sequenciamentos são indicados com nomes de pastas correspondentes aos nomes de execuções de sequenciamentos.c. Exclua ou faça backup das pastas de sequenciamento processadas.2. Para dados armazenados em um NAS remoto.<p>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 de administrador de TI.</p><ol style="list-style-type: none">a. Os dados de execuções de sequenciamentos são indicados com nomes de pastas correspondentes aos nomes de 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 ao iniciar o software de ensaio, será exibido um resumo de todos os erros em vez da tela Log In (Fazer login). 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 software de ensaio 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 software de ensaio 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 Onsite Server permitem a execução de testes operacionais do servidor e do mecanismo de análise.

Testar o servidor

Esse teste simula uma execução de 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 Onsite Server esteja funcionando corretamente e que sejam gerados relatórios e notificações por e-mail. Duração: aproximadamente 3–4 minutos.

Procedimento

- 1 Abra o diretório de entrada montado e, a seguir, abra a pasta TestingData.
- 2 Faça uma cópia de uma das pastas a seguir, que podem ser encontradas na pasta TestingData:
 - ▶ Para dados NextSeq: 170725_NS500110_0382_AHT3MYBGX2_Copy_Analysis_Workflow.
 - ▶ Para dados NextSeqDx: 180911_NDX550152_0014_AXXXXXXXXDX_Copy_Analysis_Workflow.
- 3 Renomeie a cópia em uma pasta com um sufixo _XXX. _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 3–5 minutos até que a execução seja concluída. Certifique-se de que as notificações por e-mail a seguir tenham sido recebidas:
 - a Sequencing Run Analysis Started (Análise da execução do sequenciamento iniciada)
 - b NIPT Report generated for Sequencing Run (Relatório do NIPT gerado para a execução do sequenciamento)

Associe ambos os relatórios ao nome do sequenciamento atribuído à pasta.

- 6 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_HT3MYBGX2_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab.
 - ▶ Para NextSeqDx: TestData_NDx_CopyWorkflow_C_TestData_NDx_CopyWorkflow_PoolC_XXXXXXXXDX_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab.O tamanho de arquivo esperado é de aproximadamente 7 Kb.
- 7 Mova a execução de 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 da execução de análise completa

Este teste efetua uma execução de análise completa. Realize este teste se o servidor não processar/analisar os dados ou se o tempo se esgotar. Duração: aproximadamente 4–5 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 de 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 4–5 horas até que a análise seja concluída. Certifique-se de que as notificações por e-mail a seguir tenham sido recebidas:
 - a Sequencing Run Analysis Started (Análise da execução do sequenciamento iniciada)
 - b NIPT Report generated for Sequencing Run (Relatório do NIPT gerado para a execução do sequenciamento)Associe ambos os relatórios ao nome do sequenciamento atribuído à pasta.
- 5 Na pasta de saída, abra a pasta TestData_NDx_FullRun e procure o seguinte relatório: TestData_NDx_FullRun_C_TestData_NDx_FullRun_PoolC_XXXXXXXXDX_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab.
O tamanho de arquivo esperado é de aproximadamente 7 Kb.
- 6 Mova a execução de sequenciamento de teste de volta para a pasta TestingData.

Apêndice D Recursos adicionais

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

Recurso	Descrição
<i>Folheto da embalagem 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 do Microlab® STAR Line, Hamilton - ID do Doc 624668</i>	Fornecer 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 documentação, downloads de software, treinamentos on-line e perguntas frequentes.

Apêndice E 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 celular
DNA	Ácido desoxirribonucleico
DNS	Sistema de nome 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
LIS	Sistema de informações de laboratório
LLR	Razão logarítmica de verossimilhança
MAC	Controle de acesso ao meio
NAS	Armazenamento ligado à rede
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
PQ	Qualificação de processo
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.
RTA	Real-Time Analysis
RUO	Somente para pesquisa
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

Telefones do suporte ao cliente da Illumina

Região	Ligação gratuita	Regional
América do Norte	+1(800) 809-4566	
Alemanha	+49 8001014940	+49 8938035677
Austrália	1-800-775-688	
Áustria	+43 800006249	+43 19286540
Bélgica	+32 80077160	+32 34002973
China	400.066.5835	
Coreia do Sul	+82 80 234 5300	
Dinamarca	+45 80820183	+45 89871156
Espanha	+34 911899417	+34 800300143
Finlândia	+358 800918363	+358 974790110
França	+33 805102193	+33 170770446
Hong Kong, China	800960230	
Irlanda	+353 1800936608	+353 016950506
Itália	+39 800985513	+39 236003759
Japão	0800-111-5011	
Noruega	+47 800 16836	+47 21939693
Nova Zelândia	0800.451.650	
Países Baixos	+31 8000222493	+31 207132960
Reino Unido	+44 8000126019	+44 2073057197
Singapura	1-800-579-2745	
Suécia	+46 850619671	+46 200883979
Suíça	+41 565800000	+41 800200442
Taiwan, China	00806651752	
Outros países	+44-1799-534000	

Fichas de dados de segurança (SDSs) – Disponíveis no site da Illumina em support.illumina.com/sds.html.

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



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, Califórnia 92122, EUA.

+1 (800) 809-ILMN (4566)

+1 (858) 202-4566 (fora da América do Norte)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

CE
2797



Illumina Netherlands B.V.

Steenoven 19

5626 DK Eindhoven

The Netherlands

Patrocinador australiano

Illumina Australia Pty Ltd

Nursing Association Building

Level 3, 535 Elizabeth Street

Melbourne, VIC 3000

Austrália

PARA UTILIZAÇÃO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO ©

2021 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados.

illumina[®]