

Software de análisis VeriSeq NIPT (16 muestras)

Guía del usuario



Este documento y su contenido son propiedad de Illumina, Inc. y sus afiliados ("Illumina") y están previstos solamente para el uso contractual de sus clientes en conexión con el uso de los productos descritos en él y no para ningún otro fin. Este documento y su contenido no se utilizarán ni distribuirán con ningún otro fin ni tampoco se comunicarán, divulgarán ni reproducirán en ninguna otra forma sin el consentimiento previo por escrito de Illumina. Illumina no transfiere mediante este documento ninguna licencia bajo sus derechos de patente, marca comercial, copyright ni derechos de autor o similares derechos de terceros.

Para asegurar el uso correcto y seguro de los productos descritos en este documento, el personal cualificado y adecuadamente capacitado debe seguir las instrucciones incluidas en este de manera rigurosa y expresa. Se debe leer y entender completamente todo el contenido de este documento antes de usar estos productos.

SI NO SE LEE COMPLETAMENTE EL DOCUMENTO Y NO SE SIGUEN EXPRESAMENTE TODAS LAS INSTRUCCIONES DESCRITAS EN ESTE, PODRÍAN PRODUCIRSE DAÑOS EN EL PRODUCTO, LESIONES PERSONALES, INCLUIDOS LOS USUARIOS U OTRAS PERSONAS Y DAÑOS EN OTROS BIENES Y QUEDARÁ ANULADA TODA GARANTÍA APLICABLE AL PRODUCTO.

ILLUMINA NO ASUME RESPONSABILIDAD ALGUNA DERIVADA DEL USO INCORRECTO DE LOS PRODUCTOS AQUÍ DESCRITOS (INCLUIDAS LAS PIEZAS O EL SOFTWARE).

© 2020 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados.

Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Para obtener información específica sobre las marcas comerciales, consulte www.illumina.com/company/legal.html.

Historial de revisiones

Documento	Fecha	Descripción del cambio
N.º de documento 1000000012693 v05	Abril de 2020	Se ha modificado la dirección del representante autorizado en la UE.
N.º de documento 1000000012693 v04	Julio de 2018	Adición de Limitaciones del procedimiento y del Apéndice B Estudio de comparación de métodos.
N.º de documento 1000000012693 v03	Enero de 2017	<ul style="list-style-type: none"> • Cálculo de la fracción fetal: Se ha añadido una nueva aclaración sobre el cálculo de la fracción fetal. • Tabla 4 Notificaciones de cambio de estado normales y solicitudes de acción: Se añadió una nota al ejemplo de contenido de una notificación por correo electrónico para los ID de muestra no válidos encontrados en la hoja de muestras. • Reglas de validación y especificaciones de la hoja de muestras: Se ha sustituido el contenido de la segunda nota. • Tabla 8 Reglas de validación de la hoja de muestras de NGS Option 1 (Opción de NGS 1) (sección de datos): Se ha añadido el texto "El ID de muestra no puede contener espacios. Evite combinar varios guiones bajos y guiones juntos. A partir de la versión 1.4, el valor ID de muestra no puede empezar con el número cero (0)". a las reglas de validación de la fila de ID de la muestra. • Tabla 11 Reglas de validación de la hoja de muestras de NGS Option 2 (Opción de NGS 2) (sección de datos): Se ha añadido el texto "El ID de muestra no puede contener espacios. Evite combinar varios guiones bajos y guiones juntos. A partir de la versión 1.4, el valor ID de muestra no puede empezar con el número cero (0)". a las reglas de validación de la fila de ID de la muestra.
N.º de documento 1000000012693 v02	Agosto de 2016	Contenido actualizado para la versión 1.4
N.º de documento 1000000012693 v01	Junio de 2016	Actualización: <ul style="list-style-type: none"> • Dirección del representante autorizado en la Unión Europea y las marcas CE e IVD en la contraportada. • Descripción general del sistema • Reglas de validación de Sample_ID (ID de muestra). • Actualización de la sección Volver a poner en cola un análisis para clarificar y ofrecer información sobre resolución de problemas.
N.º de documento 1000000012693 v00	Abril de 2016	Publicación inicial.

Contenido

Capítulo 1 Descripción general	1
Descripción general del sistema	1
Conceptos del software de análisis VeriSeq NIPT (16 muestras)	3
Capítulo 2 Funcionamiento del sistema	5
Inicio de sesión	5
Organización de datos	5
Compatibilidad de experimentos de secuenciación	6
Tiempos de espera del flujo de trabajo y requisitos de almacenamiento	7
Flujo de datos del sistema	7
Apagado del sistema	23
Capítulo 3 Análisis y generación de informes	24
Reglas de validación y especificaciones de la hoja de muestras	24
Demultiplexado y generación de archivos FASTQ	35
Volver a poner en cola un análisis	36
Archivo y copia de seguridad de los datos	38
Especificaciones del informe e interpretación de los criterios de medición	39
Verificación de ejecución del ATMS	42
Apéndice A Criterios de medición de CC	43
Criterios de medición de CC y límites superior e inferior (NGS Option 1 [Opción de NGS 1])	44
Criterios de medición de CC y límites superior e inferior (NGS Option 2 [Opción de NGS 2])	50
Apéndice B Estudio de comparación de métodos	56
Datos de comparación de métodos	56
Asistencia técnica	57

Descripción general

Descripción general del sistema	1
Conceptos del software de análisis VeriSeq NIPT (16 muestras)	3

Descripción general del sistema

El software de análisis VeriSeq NIPT (16 muestras) está disponible ya preinstalado en el VeriSeq NIPT Analysis Server (16 Samples) y su número de catálogo de Illumina es RH-400-1001. El servidor y el software preinstalado ofrecen:

- ▶ Un servidor analítico con capacidad suficiente para analizar los datos de secuenciación generados por medio de hasta dos instrumentos de secuenciación de próxima generación (NGS). Las dos opciones de instrumentos de NGS son:
 - ▶ Un secuenciador de dos celdas de flujo que utiliza celdas de flujo de dos carriles (NGS Option 1 [Opción de NGS 1]).
 - ▶ Un secuenciador de una celda de flujo que utiliza una celda de flujo de cuatro carriles (NGS Option 2 [Opción de NGS 2]).
- ▶ Un paquete de software apto para analizar datos de secuenciación con formato BCL que el software de secuenciación genera a partir de bibliotecas preparadas según los protocolos de secuenciación del ADN sin células para detectar aneuploidías fetales según la representación cromosómica. El paquete de software contiene dos componentes:
 - ▶ **Servicio del administrador de tareas de análisis (ATMS):** un servicio en segundo plano (daemon) que:
 - ▶ Supervisa las rutas de salida de las carpetas de experimento nuevo.
 - ▶ Analiza los metadatos sobre los experimentos para comparar la configuración de parámetros del experimento de secuenciación conforme a un conjunto de flujos de trabajo analíticos preconfigurados.
 - ▶ Carga la hoja de muestras asociada con cada experimento de secuenciación, con lo que asigna las identidades de las muestras individuales de una celda de flujo determinada a los índices.
 - ▶ Prepara las entradas para el proceso analítico.
 - ▶ Ejecuta el proceso.
 - ▶ Realiza un seguimiento de todos los datos de entrada y salida en una base de datos.
 - ▶ Genera un informe de experimento para cada una de las muestras individuales de una celda de flujo.
 - ▶ **cADAS:** Proceso analítico para la detección de aneuploidías fetales a partir de datos de secuenciación generados con el ADN sin células aislado del plasma materno.
 - ▶ Analiza los datos de secuenciación mediante procesamiento, con operaciones de alineación, cálculo de cobertura, normalización de datos y resumen por cromosoma.
 - ▶ Genera criterios de medición de CC y un estado superado, erróneo o de advertencia para cada muestra.
 - ▶ Genera una puntuación que caracteriza el material cromosómico representado en exceso o por defecto para cada uno de los cromosomas objetivo.



NOTA

El número máximo permitido de muestras con error en un único lote es 4. No procese los lotes con análisis que tengan menos de once muestras válidas.

Uso previsto

El software de análisis VeriSeq NIPT (16 muestras) genera puntuaciones cuantitativas para ayudar a detectar y diferenciar aneuploidía fetal en los cromosomas 21, 18, 13, X e Y mediante el análisis de los datos de secuenciación generados a partir de fragmentos de ADN sin células aislado de muestras de sangre total periférica de mujeres embarazadas de al menos 10 semanas.

Las puntuaciones cuantitativas son puntuaciones z asociadas con una representación por debajo o por encima de un cromosoma objetivo en relación con la expectativa de un genoma diploide.

Limitaciones del procedimiento

- ▶ El software de análisis VeriSeq NIPT (16 muestras) se ha concebido para formar parte de una prueba de cribado, por lo que no debe considerarse aislada de otros hallazgos clínicos y resultados de pruebas. Los valores de corte definidos por el usuario que se aplican a los resultados de los datos de este software deben tener en cuenta los beneficios relativos de aumentar la sensibilidad en detrimento de la especificidad, y viceversa. Ningún valor de corte logra una concordancia del 100 % en términos de sensibilidad y especificidad. Si bien hay muestras poco comunes con una FF relativamente baja para la profundidad de secuenciación a la que deben procesarse, estas pueden presentar unos resultados próximos al umbral, además de una menor precisión.
- ▶ El software de análisis VeriSeq NIPT (16 muestras) genera datos para su uso en la elaboración de informes sobre los siguientes aspectos:
 - ▶ Sobrerrepresentación de cromosomas 21, 18 y 13
 - ▶ Las siguientes aneuploidías de cromosomas sexuales: XO, XXX, XXY y XYY
- ▶ El software de análisis VeriSeq NIPT (16 muestras) no se ha concebido para su uso en la elaboración de informes sobre poliploidías.
- ▶ Los algoritmos empleados en el software de análisis VeriSeq NIPT (16 muestras) pueden confundirse con algunos factores fetales y maternos, incluidos, sin carácter restrictivo, los siguientes:
 - ▶ Transfusión de sangre materna reciente
 - ▶ Trasplante de órgano materno
 - ▶ Intervención quirúrgica materna
 - ▶ Inmunoterapia o terapia con células madre
 - ▶ Tumor maligno materno
 - ▶ Mosaicismo materno
 - ▶ Mosaicismo placentario confinado
 - ▶ Pérdida del feto
 - ▶ Gemelo evanescente
 - ▶ Trisomía parcial o monosomía parcial del feto
 - ▶ Mosaicismo fetal

Conceptos del software de análisis VeriSeq NIPT (16 muestras)

Los términos y conceptos siguientes son comunes en el software de análisis VeriSeq NIPT (16 muestras).

Concepto	Descripción
cADAS	Software de análisis del proceso. Aplicación del lado del servidor que se utiliza para analizar los datos de la secuenciación y detectar las aneuploidías.
cfDNA	El ADN sin células es ADN de origen materno y fetal que circula libremente por el torrente sanguíneo materno. El análisis del ADN sin células proporciona un método de pruebas prenatales no invasivo.
Carpeta del experimento	Estructura de carpetas generada por medio del instrumento de secuenciación NGS y propagada mediante el análisis de datos principales en tiempo real (RTA).
Hoja de muestras	Archivo de valores separados por comas (*.csv) que almacena la información necesaria para configurar y analizar un experimento de secuenciación, incluida una lista de muestras y sus secuencias de índice.
Flujo de trabajo	Proceso analítico para analizar los experimentos de secuenciación del software de análisis VeriSeq NIPT (16 muestras). El flujo de trabajo de cada experimento se especifica en la hoja de muestras.

Descripción general del software de análisis

El software de análisis VeriSeq NIPT (16 muestras) evalúa el número de copias de cromosomas de prueba en muestras experimentales. La entrada del análisis consiste en las lecturas de 36 bases generadas mediante el instrumento de secuenciación de próxima generación. Las lecturas se alinean con respecto al genoma humano completo. Para realizar análisis posteriores, solo se utilizan las lecturas que se alinean con una única ubicación o zona del genoma. Las lecturas duplicadas se eliminan del análisis. Las lecturas se siguen filtrando para excluir las zonas que se relacionan con una alta variación de cobertura en las muestras euploidías. La cobertura sin procesar se ajusta mediante la normalización del contenido de GC y otros factores a nivel subcromosómico y, a continuación, se resume en cobertura cromosómica por medio de la media robusta de la cobertura a lo largo del cromosoma.

La prueba incluye los cromosomas 21, 18 y 13, así como el X y el Y. La cobertura normalizada de los cromosomas de la prueba se normaliza según los cromosomas (denominadores) de referencia predefinidos para obtener la relación cromosómica de la prueba (R). Los cromosomas denominadores predefinidos se optimizan para reducir al máximo la varianza de las relaciones cromosómicas en las muestras euploidías. Las relaciones cromosómicas de las muestras de la prueba se convierten en valores cromosómicos normalizados (NCV) con una corrección de la media de la relación ajustada por celda de flujo y obteniendo la escala mediante la variación esperada predefinida en las muestras euploidías normales (estimada a partir de los datos de la formación).

Figura 1 Ejemplo de relación cromosómica de la prueba (R)

$$R = \frac{\text{X}^{21}}{\text{X}^4 + \text{X}^7 + \text{X}^{15} \dots}$$

El valor cromosómico normalizado (NCV) se determina conforme a la ecuación que se muestra en la [Figura 2](#). El valor NCV es equivalente a la puntuación z. Una puntuación z describe la diferencia entre un valor y la media de la población en términos de desviación estándar. El umbral para denominar a una muestra no afectada o afectada a partir del NCV lo determinan los clientes antes de la validación clínica del flujo de trabajo y se puede ajustar a partir del resultado del estudio de validación clínica.

Figura 2 Valor cromosómico normalizado (NCV)

$$NCV_{ik} = \frac{R_{ik} - \overline{R_{U_i}}}{\sigma_{U_i}}$$

i: Cromosoma

k: Muestra

U: Muestra no afectada

R_{ik}: Relación cromosómica *i* en la muestra *k*^a

$\overline{R_{U_i}}$: Media de la relación cromosómica ajustada por celda de flujo

σ_{U_i} : Desviación estándar de la relación del cromosoma *i* en las muestras no afectadas a partir del conjunto de datos de formación

Cálculo de la fracción fetal

La fracción fetal es el porcentaje de ADN circulante sin células en una muestra de sangre materna procedente de la placenta. VeriSeq NIPT Analysis Software calcula una estimación de la fracción fetal basada en las diferencias de la cobertura genómica entre el ADN sin células materno y el fetal.¹

VeriSeq NIPT Assay Software (16 Samples) usa estadísticas generadas durante la secuenciación para ofrecer una estimación de la fracción fetal (FFE) de cada muestra. La FFE es el componente de ADN sin células fetal estimado que se recupera en el ensayo y sobre el cual se informa con un porcentaje redondeado para cada muestra. La desviación estándar media de esta estimación en todas las muestras es del 2 %. La FFE no se debe usar de manera aislada para excluir muestras al generar informes de los resultados.

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

Funcionamiento del sistema

Inicio de sesión	5
Organización de datos	5
Compatibilidad de experimentos de secuenciación	6
Tiempos de espera del flujo de trabajo y requisitos de almacenamiento	7
Flujo de datos del sistema	7
Apagado del sistema	23

Inicio de sesión

El servidor analítico está configurado como una máquina Linux CentOS 6.6 con una cuenta de sbsuser.

El inicio de sesión en el servidor no forma parte del procedimiento normal. Solo es necesario para efectuar el reinicio o el apagado.

Inicie sesión en el servidor con un terminal o una conexión ssh con las credenciales predefinidas iniciales:

- ▶ **Nombre de usuario:** sbsuser
- ▶ **Contraseña:** envíe un correo electrónico al servicio de asistencia técnica de Illumina para saber la contraseña.
- ▶ **Grupo:** sbsuser

Organización de datos

El servidor analítico tiene una configuración de servicio de intercambio de información a través de la red que permite acceder al disco duro desde sistemas Windows mediante un protocolo de intercambio samba. El nombre de usuario predefinido y la contraseña inicial para el intercambio de información samba son "sbsuser" y "sbs123". El intercambio de información del disco para esta cuenta de usuario por medio del protocolo samba permite acceder a la siguiente información compartida:

Ubicación en el servidor de Linux	Nombre de info. compartida	Nombre de usuario	Contraseña inicial	Derechos de acceso
/data01/runs	runs	sbsuser	Envíe un correo electrónico al servicio de asistencia técnica de Illumina para saber la contraseña.	Lectura/escritura
/data01/analysis_output	analysis_output	sbsuser	Envíe un correo electrónico al servicio de asistencia técnica de Illumina para saber la contraseña.	Lectura

Durante la configuración del experimento de secuenciación, establezca la salida al directorio runs. Navegue hasta \\<SERVER.IP.ADDRESS>\runs a través de las pantallas de configuración del experimento del software de control del instrumento de secuenciación; <SERVER.IP.ADDRESS> indica la dirección IP del servidor Onsite.

El directorio analysis_output contiene informes de todas las celdas de flujo procesadas mediante el flujo de trabajo analítico cfDNA. El sistema organiza los informes conforme al nombre de la carpeta del experimento original que se genera mediante el software de secuenciación y añade la fecha y la hora del análisis.

Por ejemplo, el análisis del experimento 140806_SN7001227_0199_AHABHTADXX genera una carpeta de salida denominada 140806_SN7001227_0199_AHABHTADXX_140806_230337.

Utilice el formato de nombre de carpeta del experimento predeterminado que se suministra con el sistema de secuenciación. El software de análisis VeriSeq NIPT requiere que el nombre de la carpeta del experimento contenga solo los caracteres alfanuméricos a-z, A-Z, 0-9 y guiones bajos ("_"). No se permite el uso de espacios y otros caracteres.

Compatibilidad de experimentos de secuenciación

El servidor solo analiza los experimentos de secuenciación que son compatibles con el flujo de trabajo analítico cfDNA.

Configure la secuenciación con los parámetros de lectura compatibles.

Para NGS Option 1 (Opción de NGS 1):

- ▶ **Read 1** (Lectura 1): 36 bases
- ▶ **Index 1 (i7)** (Índice 1 [i7]): 7 bases

Para NGS Option 2 (Opción de NGS 2):

- ▶ **Read 1** (Lectura 1): 36 bases
- ▶ **Index 1 (i7)** (Índice 1 [i7]): 6 bases

Utilice solo los métodos de secuenciación y las versiones de software compatibles para generar las llamadas de bases.



NOTA

Supervise de forma periódica los criterios de medición de rendimiento de los datos de secuenciación para asegurarse de que la calidad de los datos se encuentre dentro de las especificaciones.

Tabla 1 Métodos de secuenciación y versiones de software compatibles con NGS Option 1 (Opción de NGS 1)

Parámetro	Valor compatible
SBS	Kit TruSeq Rapid SBS TruSeq Rapid SBS Kit v1 o HiSeq Rapid SBS Kit v2
Índice	Kit TruSeq Rapid SR Cluster TruSeq Rapid SR Cluster Kit v1 o HiSeq Rapid SR Cluster Kit v2
Elección de generación de grupos	OnBoardClustering
Nombre de aplicación	Software de control de HiSeq
Versión de aplicación	2.0.12, 2.2.38 o 2.2.58
Versión de FPGA	3.10.3, 7.7.2.5 o 7.9.7
Versión RTA	1.17.21, 1.18.61 o 1.18.64

Tabla 2 Métodos de secuenciación y versiones de software compatibles con NGS Option 2 (Opción de NGS 2)

Parámetro	Valor compatible
Nombre de aplicación	Software de control del NextSeq
Versión de aplicación	1.3.0, 2.0.0 o 2.1.0
RTA Version (Versión RTA)	2.1.3, 2.4.6 o 2.4.11

Tiempos de espera del flujo de trabajo y requisitos de almacenamiento

El flujo de trabajo analítico del ADN sin células está sujeto a las siguientes limitaciones de tiempo de espera y almacenamiento.

Tabla 3 Tiempos de espera del flujo de trabajo y requisitos de almacenamiento

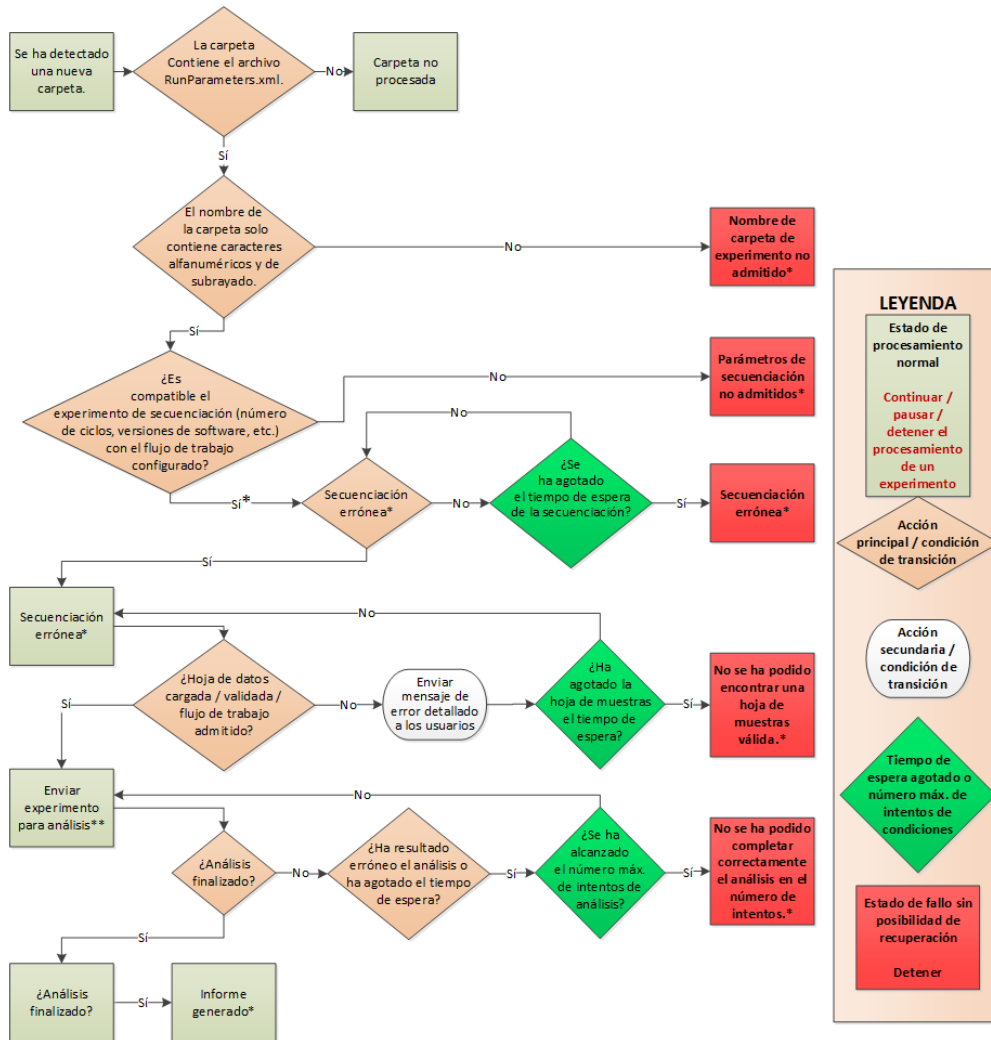
Parámetro	Valor predeterminado
Máximo tiempo de espera de los parámetros del experimento	4 horas
Máximo tiempo de secuenciación	20 horas
Máximo tiempo de espera de la hoja de muestras	96 horas
Máximo tiempo de análisis	3,5 horas
Mínimo espacio de almacenamiento vacío	200 GB

Flujo de datos del sistema

En condiciones normales, el ATMS envía notificaciones sobre el estado de los análisis y los experimentos de secuenciación a los usuarios a través de un sistema de correo electrónico. La [Figura 3](#) muestra el flujo de datos por el sistema y los estados con las notificaciones de correo electrónico asociadas.

- ▶ **Rectángulos grises:** procesamiento normal
- ▶ **Rombos:** condiciones principales para la transición al estado siguiente
- ▶ **Óvalos:** condición secundaria para la transición al estado siguiente
- ▶ **Rectángulos rojos:** errores

Figura 3 Diagrama del flujo de datos



* El sistema genera una notificación por correo electrónico.

** Si el espacio de almacenamiento disponible en el servidor es inadecuado, el sistema genera una notificación por correo electrónico.

Durante el procesamiento normal, el ATMS:

- ▶ Supervisa su directorio predeterminado (/data01/runs) para detectar nuevos experimentos de secuenciación. Los nuevos experimentos de secuenciación son carpetas que contienen un archivo runParameters.xml [NGS Option 1] (Opción de NGS 1) o un archivo RunParameters.xml [NGS Option 2] (Opción de NGS 2).
- ▶ Comprueba la compatibilidad de los parámetros del experimento de secuenciación con los flujos de trabajo de análisis predefinidos.
- ▶ Carga la hoja de muestras.
- ▶ Programa y ejecuta el procesamiento analítico para generar los informes finales.

Se realiza el análisis en una celda de flujo cada vez. Las celdas de flujo adicionales que están esperando para someterse al análisis se ponen en cola en el servidor y se someten al análisis siguiendo el orden en el que se cargan.

Notificaciones del sistema

El sistema envía notificaciones por correo electrónico a las personas concretas o a los grupos de distribución de correo electrónico que se han configurado durante la instalación del servidor. Illumina recomienda el uso de grupos de distribución de correo electrónico, que el administrador de correo electrónico puede modificar. Si se configura utilizando direcciones individuales y se producen cambios de usuarios, es necesario modificar la configuración del correo electrónico del servidor de análisis. Las notificaciones por correo electrónico indican el estado durante el funcionamiento normal y alertan al usuario de los errores que se generen durante el análisis.

La [Tabla 4](#) describe las diversas notificaciones de correo electrónico enviadas por el sistema. VeriSeq NIPT Analysis Software exige las convenciones de nomenclatura de la tabla para importar los archivos de resultados de NGS.



NOTA

Asegúrese de que la configuración de spam del correo electrónico permite las notificaciones por correo electrónico desde el servidor. Las notificaciones por correo electrónico se envían desde una cuenta denominada `atms@<dominio de correo electrónico del cliente>`. El parámetro `<dominio de correo electrónico del cliente>` lo especifica su personal de TI al instalar el servidor.

Tabla 4 Notificaciones de cambio de estado normales y solicitudes de acción

Condición	Normal/Advertencia/Error	Ejemplo de contenido de una notificación por correo electrónico
<p>Secuenciación iniciada. Esta notificación se envía cuando el servidor detecta una carpeta de experimento nueva. La carpeta del experimento contiene el archivo de parámetros del experimento, que indica que la secuenciación se ha iniciado con los parámetros de secuenciación adecuados. Nombre del archivo de parámetros del experimento: [NGS Option 1] (Opción de NGS 1) runParameters.xml [NGS Option 2] (Opción de NGS 2) RunParameters.xml</p>	Funcionamiento normal	<p>Sequencing Run Folder Name (Nombre de la carpeta del experimento de secuenciación): 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX Sequencing Run Status: Sequencing started (Estado del experimento de secuenciación: Secuenciación iniciada) Sequencing Start Time (Hora de inicio de secuenciación): 2014-05-12 08:15 PDT Sequencing Complete Time: NA (Hora de finalización de secuenciación: ND) Workflow Name: NA (Nombre del flujo de trabajo: ND) Analysis Scheduled Time: NA (Hora programada del análisis: ND) Analysis Start Time: NA (Hora de inicio del análisis: ND) Analysis Finish Time: NA (Hora de finalización del análisis: ND) Analysis Output Directory: NA (Directorio de salida del análisis: ND)</p>
<p>Experimento de secuenciación finalizado.</p>	Funcionamiento normal	<p>Sequencing Run Folder Name (Nombre de la carpeta del experimento de secuenciación): 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX Sequencing Run Status: Sequencing completed (Estado del experimento de secuenciación: Secuenciación completada) Sequencing Start Time (Hora de inicio de secuenciación): 2014-05-12 08:15 PDT Sequencing Complete Time (Hora de finalización de secuenciación): 2014-05-12 08:16 PDT Workflow Name: NA (Nombre del flujo de trabajo: ND) Analysis Scheduled Time: NA (Hora programada del análisis: ND) Analysis Start Time: NA (Hora de inicio del análisis: ND) Analysis Finish Time: NA (Hora de finalización del análisis: ND) Analysis Output Directory: NA (Directorio de salida del análisis: ND)</p>

Condición	Normal/Advertencia/Error	Ejemplo de contenido de una notificación por correo electrónico
Los parámetros del experimento de secuenciación no son compatibles.	Error (no recuperable)	<p>Sequencing run parameters for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' are not supported by any of the configured workflows (Los parámetros del experimento de secuenciación para el experimento de secuenciación "140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX" no son compatibles con ninguno de los flujos de trabajo configurados).</p> <p>This sequencing run folder will not be processed further (La carpeta del experimento de secuenciación no se procesará más). See the following errors (Consulte los siguientes errores):</p> <p>Workflow Name (Nombre del flujo de trabajo): [NGS Option 1] (Opción de NGS 1) cfDNAHiSeqv1.0 [NGS Option 2] (Opción de NGS 2) cfDNANextSeqv1.0</p> <p>Mismatching Sequence Run Parameters found (Se han encontrado parámetros de experimento de secuenciación discordantes): NumCycles2, NumIndexed2</p> <p>Found NumCycles2 value (Valor NumCycles2 encontrado): 10; expected value (valor esperado): 7</p> <p>Found NumIndexed2 value (Valor NumIndexed2 encontrado): 10; expected value (valor esperado): 7</p>

Condición	Normal/Advertencia/Error	Ejemplo de contenido de una notificación por correo electrónico
<p>Se ha encontrado un código de barras de celda de flujo incorrecto en la hoja de muestras.</p>	<p>Advertencia (recuperable en un plazo de 96 horas)</p>	<p>The sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' found in the sequencing run folder generated the following error (La hoja de muestras del experimento de secuenciación "140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX" que se encuentra en la carpeta del experimento de secuenciación ha generado el siguiente error):</p> <p>The flow cell ID (barcode) recorded in the sample sheet ('Experiment Name' slot) is '' (El ID de celda de flujo [código de barras] registrado en la hoja de muestras [campo "Experiment Name" {"Nombre del experimento"}] es '').</p> <p>This barcode is required to be identical to the barcode associated with the run folder 'H8HT6ADXX' (Este código de barras debe ser idéntico al código de barras asociado con la carpeta del experimento "H8HT6ADXX").</p> <p>Please correct the error in order to proceed with analysis (Corrija el error para continuar con el análisis).</p> <p>The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute (La hoja de muestras se cargará de nuevo en un minuto aproximadamente).</p> <p>The sample sheet is located in the run folder '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' (La hoja de muestras se encuentra en la carpeta del experimento "/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX").</p>

Condición	Normal/Advertencia/Error	Ejemplo de contenido de una notificación por correo electrónico
<p>Flujo de trabajo no compatible especificado en la fila del encabezado "Description" (Descripción) de la hoja de muestras.</p>	<p>Advertencia (recuperable en un plazo de 96 horas)</p>	<p>The sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' found in the sequencing run folder generated the following error (La hoja de muestras del experimento de secuenciación "140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX" que se encuentra en la carpeta del experimento de secuenciación ha generado el siguiente error):</p> <p>The workflow indicated in the sample sheet 'NIPT template1' is not supported by any of the configured workflows (El flujo de trabajo indicado en la hoja de muestras "NIPT template1" no es compatible con ninguno de los flujos de trabajo configurados). The supported workflow names are (Los nombres de flujo de trabajo compatibles son):</p> <p>[NGS Option 1] (Opción de NGS 1) cfDNAHiSeqv1.0 [NGS Option 2] (Opción de NGS 2) cfDNANextSeqv1.0</p> <p>Please correct the error in order to proceed with analysis (Corrija el error para continuar con el análisis). The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute (La hoja de muestras se cargará de nuevo en un minuto aproximadamente).</p> <p>The sample sheet is located in the run folder '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' (La hoja de muestras se encuentra en la carpeta del experimento "/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX").</p>

Condición	Normal/Advertencia/Error	Ejemplo de contenido de una notificación por correo electrónico
<p>No existe el archivo SampleSheet.csv en la carpeta del experimento de secuenciación.</p>	<p>Advertencia (recuperable en un plazo de 96 horas)</p>	<p>The sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' in the sequencing run folder generated the following error (La hoja de muestras del experimento de secuenciación "140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX" que se encuentra en la carpeta del experimento de secuenciación ha generado el siguiente error): "/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX/SampleSheet.csv (No such file or directory [No existe dicho archivo o directorio])". Please correct the error in order to proceed with analysis (Corrija el error para continuar con el análisis). The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute (La hoja de muestras se cargará de nuevo en un minuto aproximadamente). The sample sheet is located in the run folder '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' (La hoja de muestras se encuentra en la carpeta del experimento "/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX").</p>

Condición	Normal/Advertencia/Error	Ejemplo de contenido de una notificación por correo electrónico
ID de muestra no válidos en la hoja de muestras	Error (recuperable al corregir los ID de muestras)	<p>Parsing the sample sheet for sequencing run '160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX' in the sequencing run folder generated the following error(s): Error: Invalid Sample IDs found (contain characters other than alpha-numeric / dashes / underscores) (El análisis de la hoja de muestras del experimento de secuenciación "160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX" de la carpeta del experimento de secuenciación ha generado el error siguiente: Error: Se han encontrado ID de muestra no válidos [contienen caracteres que no son alfanuméricos, barras o guiones bajos]). Invalid Sample ID values are: Plasma Control (Los valores de ID de muestra no válidos son: Control de plasma). Correct the error to proceed with analysis (Corrija el error para continuar con el análisis). The sample sheet will be uploaded again in approximately 1.0 minutes (La hoja de muestras se cargará de nuevo en un minuto aproximadamente).</p> <p>Sample sheet should be located in the run folder '/data01/runs/160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX' (La hoja de muestras debe estar en la carpeta del experimento "/data01/runs/160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX").</p> <p>Note: This error is generated if any invalid characters, including spaces, are included in the sample sheet (Nota: Este error se genera si se incluyen caracteres no válidos, incluidos espacios, en la hoja de muestras).</p>

Condición	Normal/Advertencia/Error	Ejemplo de contenido de una notificación por correo electrónico
No existe la fila del encabezado en la hoja de muestras.	Advertencia (recuperable en un plazo de 96 horas)	<p>Attempt to load sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' generated the following error (Al intentar cargar la hoja de muestras del experimento de secuenciación "140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX", se ha generado el siguiente error): Error: Invalid Sample Sheet Header (Error: Encabezado en la hoja de muestras no válido). Missing required fields: Description (Faltan los campos necesarios: Descripción)</p> <p>Please correct the error in order to proceed with analysis (Corrija el error para continuar con el análisis). The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute (La hoja de muestras se cargará de nuevo en un minuto aproximadamente).</p> <p>The sample sheet is located in the run folder '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' (La hoja de muestras se encuentra en la carpeta del experimento "/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX").</p>

Condición	Normal/Advertencia/Error	Ejemplo de contenido de una notificación por correo electrónico
Valores de índice duplicados en la hoja de muestras	Error (recuperable al corregir la hoja de muestras)	<p>Parsing the sample sheet for sequencing run '140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2' in the sequencing run folder generated the following error(s) (El análisis de la hoja de muestras del experimento de secuenciación "140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2" de la carpeta del experimento de secuenciación ha generado los errores siguientes):</p> <p>Error: Duplicate Index value found: ACTGAT (A025) for Lane: 1 (Error: Se ha encontrado un valor de índice duplicado: ACTGAT (A025) para el carril: 1)</p> <p>Invalid sample record found: S109_S109__A7_A025_ACTGAT__Test_62 for Index: ACTGAT (Se ha encontrado un registro de muestra no válido: S109_S109__A7_A025_ACTGAT__Test_62 para el índice: ACTGAT)</p> <p>Duplicate Index value found: ATTCCT (A027) for Lane: 1 (Se ha encontrado un valor de índice duplicado: ATTCCT (A027) para el carril: 1)</p> <p>Invalid sample record found (Se ha encontrado un registro de muestra no válido): S113_S113__B7_A027__ATTCCT__Test_62 for Index: ATTCCT</p> <p>Duplicate Index value found: ACTGAT (A025) for Lane: 2 (Se ha encontrado un valor de índice duplicado: ACTGAT (A025) para el carril: 2)</p> <p>Invalid sample record found (Se ha encontrado un registro de muestra no válido): S109_S109__A7_A025_ACTGAT__Test_62 for Index: ACTGAT</p> <p>Duplicate Index value found: ATTCCT (A027) for Lane: 2 (Se ha encontrado un valor de índice duplicado: ATTCCT (A027) para el carril: 2)</p> <p>Invalid sample record found (Se ha encontrado un registro de muestra no válido): S113_S113__B7_A027__ATTCCT__Test_62 for Index: ATTCCT</p> <p>Correct the error to proceed with analysis (Corrija el error para continuar con el análisis). The sample sheet will be uploaded again in approximately 1.0 minutes (La hoja de muestras se cargará de nuevo en un minuto aproximadamente).</p> <p>Sample sheet should be located in the run folder '/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2' (La hoja de muestras debe estar en la carpeta del experimento "/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2").</p>

Condición	Normal/Advertencia/Error	Ejemplo de contenido de una notificación por correo electrónico
<p>Valor de carril no válido o inexistente (solo NGS Option 1 [Opción de NGS 1])</p>	<p>Error (recuperable al corregir los ID de muestras)</p>	<p>Parsing the sample sheet for sequencing run '140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY' in the sequencing run folder generated the following error(s) (El análisis de la hoja de muestras del experimento de secuenciación "140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY" de la carpeta del experimento de secuenciación ha generado los errores siguientes):</p> <p>Error: Invalid Lane value found at row: 47 (Error: Se ha encontrado un valor de carril no válido en la fila: 47). Invalid value: Invalid Lane value found at row: 47 (Valor no válido: Se ha encontrado un valor de carril no válido en la fila: 47).</p> <p>Invalid value: Invalid Sample IDs found (contain characters other than alpha-numeric / dashes / underscores) (Valor no válido: Se han encontrado ID de muestra no válidos [contienen caracteres que no son alfanuméricos, barras o guiones bajos]). Invalid Sample ID values are (Los valores de ID de muestra no válidos son): <blank></p> <p>Correct the error to proceed with analysis (Corrija el error para continuar con el análisis). The sample sheet will be uploaded again in approximately 1.0 minutes (La hoja de muestras se cargará de nuevo en un minuto aproximadamente).</p> <p>Sample sheet should be located in the run folder '/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY' (La hoja de muestras debe estar en la carpeta del experimento "/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY").</p>

Condición	Normal/Advertencia/Error	Ejemplo de contenido de una notificación por correo electrónico
<p>Experimento de secuenciación erróneo. No existe el archivo de finalización RTA. Esta notificación se envía si no se encuentra el archivo de finalización RTA tras 20 horas.</p>	<p>Error (no recuperable: archivo RTAComplete.txt después de un tiempo de espera máximo de 20 horas)</p>	<p>Sequencing Run Folder Name (Nombre de la carpeta del experimento de secuenciación): 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_D12_NO_RTAComplete_TC_SC_3 Sequencing Run Status: Failed sequencing (Estado del experimento de secuenciación: Secuenciación errónea) Sequencing Start Time (Hora de inicio de secuenciación): 2014-05-12 19:45 PDT Sequencing Start Time (Hora de finalización de secuenciación): ND Workflow Name (Nombre del flujo de trabajo): ND Analysis Scheduled Time: NA (Hora programada del análisis: ND) Analysis Start Time: NA (Hora de inicio del análisis: ND) Analysis Finish Time: NA (Hora de finalización del análisis: ND) Analysis Output Directory: NA (Directorio de salida del análisis: ND)</p>
<p>Análisis iniciado. Esta notificación se envía cuando se inicia el análisis. Se muestra después de que aparezca el mensaje de finalización RTA, que inicia el análisis. El análisis se ejecuta en una o dos horas.</p>	<p>Funcionamiento normal</p>	<p>Sequencing Run Folder Name (Nombre de la carpeta del experimento de secuenciación): 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX Sequencing Run Status: Analysis started (Estado del experimento de secuenciación: Análisis iniciado) Sequencing Start Time (Hora de inicio de secuenciación): 2014-05-12 19:45 PDT Sequencing Complete Time (Hora de finalización de secuenciación): 2014-05-12 19:55 PDT Workflow Name (Nombre del flujo de trabajo): [NGS Option 1] (Opción de NGS 1) cfDNAHiSeqv1.0 [NGS Option 2] (Opción de NGS 2) cfDNANextSeqv1.0 Analysis Scheduled Time (Hora programada del análisis): 2014-05-12 20:05 PDT Analysis Start Time (Hora de inicio del análisis): 2014-05-12 20:06 PDT Analysis Finish Time: NA (Hora de finalización del análisis: ND) Analysis Output Directory: NA (Directorio de salida del análisis: ND)</p>

Condición	Normal/Advertencia/Error	Ejemplo de contenido de una notificación por correo electrónico
<p>Análisis erróneo El sistema vuelve a procesar el experimento de forma automática tres veces.</p>	<p>Advertencia (recuperable mediante el intento de volver a ejecutar el análisis; el ATMS lo vuelve a poner en cola para su procesamiento hasta tres veces)</p>	<p>Sequencing Run Folder Name (Nombre de la carpeta del experimento de secuenciación): 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX Sequencing Run Status: Analysis failed (Estado del experimento de secuenciación: Análisis erróneo). It will automatically be restarted to reprocess the run (Se reiniciará de forma automática para volver a procesar el experimento). Sequencing Start Time (Hora de inicio de secuenciación): 2014-05-11 08:26 PDT Sequencing Complete Time (Hora de finalización de secuenciación): 2014-05-11 08:27 PDT Workflow Name (Nombre del flujo de trabajo): [NGS Option 1] (Opción de NGS 1) cfDNAHiSeqv1.0 [NGS Option 2] (Opción de NGS 2) cfDNANextSeqv1.0 Analysis Scheduled Time (Hora programada del análisis): 2014-05-11 08:47 PDT Analysis Start Time (Hora de inicio del análisis): 2014-05-11 08:57 PDT Analysis Finish Time (Hora de finalización del análisis): 2014-05-11 08:59 PDT Analysis Output Directory: NA (Directorio de salida del análisis: ND)</p>

Condición	Normal/Advertencia/Error	Ejemplo de contenido de una notificación por correo electrónico
<p>Número máximo de intentos de análisis erróneo. Esta notificación se envía después del tercer intento de análisis sin éxito.</p>	<p>Error (no recuperable)</p>	<p>Sequencing Run Folder Name (Nombre de la carpeta del experimento de secuenciación): 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_TC_A_3 Sequencing Run Status: Maximum number of analysis attempts were exhausted (Estado del experimento de secuenciación: Número máximo de intentos de análisis agotado). Please contact Illumina Technical Support (Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina). Sequencing Start Time (Hora de inicio de secuenciación): 2014-05-13 07:00 PDT Sequencing Complete Time (Hora de finalización de secuenciación): 2014-05-13 07:01 PDT Workflow Name (Nombre del flujo de trabajo): [NGS Option 1] (Opción de NGS 1) cfDNAHiSeqv1.0 [NGS Option 2] (Opción de NGS 2) cfDNANextSeqv1.0 Analysis Scheduled Time (Hora programada del análisis): 2014-05-13 07:09 PDT Analysis Start Time (Hora de inicio del análisis): 2014-05-13 07:11 PDT Analysis Finish Time (Hora de finalización del análisis): 2014-05-13 07:12 PDT Analysis Output Directory: NA (Directorio de salida del análisis: ND)</p>
<p>El nombre de la carpeta del experimento contiene caracteres no válidos.</p>	<p>Error (recuperable mediante eliminación de los caracteres no válidos)</p>	<p>Invalid Sequencing Run Folder name found (Nombre de la carpeta del experimento de secuenciación no válido): "140207 D00409 0027 AH8HT6ADXX". The Sequencing Run Folder name can only contain the following alphanumeric characters: a-z, A-Z, 0-9, and underscores ("_") (El nombre de la carpeta del experimento de secuenciación solo puede contener los caracteres alfanuméricos: a-z, A-Z, 0-9 y guiones bajos ["_"]). No spaces or other characters are allowed (No se permite el uso de espacios y otros caracteres). This sequencing run folder will not be processed further (La carpeta del experimento de secuenciación no se procesará más). Correct the run folder name to requeue for analysis (Corrija el nombre de la carpeta del experimento para volver a ponerlo en cola para su análisis).</p>

Condición	Normal/Advertencia/Error	Ejemplo de contenido de una notificación por correo electrónico
Se ha generado un informe de cfDNA Sequencing (secuenciación cfDNA).	Funcionamiento normal	Sequencing Run Folder Name (Nombre de la carpeta del experimento de secuenciación): 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX Sequencing Run Status: Reports generated (Estado del experimento de secuenciación: Informes generados) Sequencing Start Time (Hora de inicio de secuenciación): 2014-05-12 19:45 PDT Sequencing Complete Time (Hora de finalización de secuenciación): 2014-05-12 19:55 PDT Workflow Name (Nombre del flujo de trabajo): [NGS Option 1] (Opción de NGS 1) cfDNAHiSeqv1.0 [NGS Option 2] (Opción de NGS 2) cfDNANextSeqv1.0 Analysis Scheduled Time (Hora programada del análisis): 2014-05-12 20:05 PDT Analysis Start Time (Hora de inicio del análisis): 2014-05-12 20:06 PDT Analysis Finish Time (Hora de finalización del análisis): 2014-05-12 21:24 PDT Analysis Output Directory (Directorio de salida del análisis): /data01/analysis_output/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_140512_200514

Apagado del sistema

Recuperación tras un apagado inesperado

En el caso de que se produzca un corte de corriente o el usuario lo apague de forma accidental durante la ejecución del análisis, el sistema:

- ▶ Vuelve a arrancar el software de forma automática al reiniciar.
- ▶ Reconoce como fallido el último análisis en ejecución en el momento del apagado y lo vuelve a enviar a la cola para su procesamiento.
- ▶ Genera resultados cuando el análisis finaliza correctamente.



NOTA

Si el análisis falla, el software permite al sistema volver a enviar el experimento para su análisis hasta tres veces.

Análisis y generación de informes

Reglas de validación y especificaciones de la hoja de muestras	24
Demultiplexado y generación de archivos FASTQ	35
Volver a poner en cola un análisis	36
Archivo y copia de seguridad de los datos	38
Especificaciones del informe e interpretación de los criterios de medición	39
Verificación de ejecución del ATMS	42

Reglas de validación y especificaciones de la hoja de muestras

Esta sección ofrece instrucciones para crear la hoja de muestras, que es necesaria para analizar una carpeta de experimento mediante el software de análisis VeriSeq NIPT. Siga las instrucciones para la opción de NGS que está utilizando.



NOTA

Compruebe que el ID de la muestra que se asigna a los índices asociados es exacto. Es necesario que la asignación sea exacta para mantener la integridad de la muestra. Cuento con una segunda persona, distinta de la persona que lo ha creado, para verificar la hoja de muestras antes de iniciar el experimento de secuenciación. Todos los errores de correspondencia entre las muestras y los índices correctos pueden ocasionar que se registren resultados potencialmente incorrectos para las muestras mal identificadas.



NOTA

Incluya siempre un control de procesos y un control negativo (sin cadena molde) en el lote de muestras. El control de procesos (pero no el control negativo) debería añadirse a la agrupación de bibliotecas e identificarse como el mismo tipo de control en la hoja de muestras. No añada el control negativo al lote ni a la hoja de muestras.

NGS Option 1 (Opción de NGS 1)

El software de análisis VeriSeq NIPT (16 muestras) requiere una hoja de muestras por cada celda de flujo. En cuanto al flujo de trabajo NGS Option 1 (Opción de NGS 1), las hojas de muestras se cargan durante la configuración del experimento de secuenciación y se ubican en la carpeta de destino con el nombre "SampleSheet.csv". La hoja de muestras es un archivo separado por comas que contiene dos secciones: un encabezado, que recoge la información del experimento, y una sección de datos, que recoge los atributos específicos de la muestra. NGS Option 1 (Opción de NGS 1) utiliza una celda de flujo de 2 carriles. En ambos carriles (1 y 2) se analiza el mismo grupo de muestras. Al introducir la información de la muestra en la hoja de muestras, cada combinación de Sample_ID (ID de muestra), pocillo e índice debe aparecer en los carriles 1 y 2. La combinación Sample_ID (ID de muestra), pocillo e índice debe ser única en un mismo carril.

Compruebe que la asignación del ID de la muestra a los índices asociados es exacta. Es necesario que la asignación sea exacta para mantener la integridad de la muestra.

Consulte la [Tabla 5](#) y la [Tabla 6](#) para ver ejemplos de secciones de encabezado y datos de hojas de muestras.



NOTA

VeriSeq NIPT Analysis Software exige las convenciones de nomenclatura de la tabla para importar los archivos de resultados de NGS.

Tabla 5 Ejemplo de hoja de muestras de NGS Option 1 (Opción de NGS 1) (sección del encabezado)

[Header (Encabezado)]	
Versión del archivo de IEM	4
Nombre del investigador	
Nombre del experimento	H9KY7ADXX
Fecha	
Flujo de trabajo	Generar FASTQ
Aplicación	Solo HiSeq FASTQ
Ensayo	TruSeq LT
Descripción	cfDNAHiSeqv1.0
Composición química	Predeterminada
[Reads (Lecturas)]	
	36
[Settings (Configuración)]	



NOTA

La sección del encabezado de la hoja de muestras debe contener el ID de celda de flujo exacto (todas las letras deben estar en mayúsculas) en el campo Nombre del experimento y el campo Descripción debe contener el texto "cfDNAHiSeqv1.0".

Tabla 6 Ejemplo de hoja de muestras de NGS Option 1 (Opción de NGS 1) (sección de datos)

[Data (Datos)]										
Carril	Sample_ID (ID de muestra)	Sample_Name (Nombre_de_muestra)	Sample_Plate (Placa de muestra)	Sample_Well (Pocillo de muestra)	I7_Index_ID (ID de índice I7)	Índice	Sample_Project (Proyecto de muestra)	Descripción	SampleType (Tipo de muestra)	Library_nM (Biblioteca nM)
1	Sample1	Sample1		A1	A002	CGATGT			Prueba	80,87774
1	Sample2	Sample2		B1	A005	ACAGTG			Prueba	75,3396
1	Sample3	Sample3		C1	A007	CAGATC			Prueba	87,35632
1	Sample4	Sample4		D1	A012	CTTGTA			Prueba	68,02508
1	Sample5	Sample5		E1	A013	AGTCAA			Prueba	97,49216
1	Sample6	Sample6		F1	A014	AGTTCC			Prueba	93,20794
1	Sample7	Sample7		G1	A018	GTCCGC			Prueba	63,63636
1	Sample8	Sample8		H1	A019	GTGAAA		Failed Library (Error en biblioteca)	Prueba	5,2
1	Sample9	Sample9		A2	A001	ATCACG			Prueba	84,6395
1	Sample10	Sample10		B2	A003	TTAGGC			Prueba	81,5047
1	Sample11	Sample11		C2	A008	ACTTGA			Prueba	78,78788
1	Sample12	Sample12		D2	A010	TAGCTT			Prueba	83,17659
1	Sample13	Sample13		E2	A020	GTGGCC			Prueba	79,62382
1	Sample14	Sample14		F2	A022	CGTACG			Prueba	62,59143
1	Control-ID	Control-ID		G2	A025	ACTGAT			Control	65,20376
2	Sample1	Sample1		A1	A002	CGATGT			Prueba	80,87774
2	Sample2	Sample2		B1	A005	ACAGTG			Prueba	75,3396
2	Sample3	Sample3		C1	A007	CAGATC			Prueba	87,35632
2	Sample4	Sample4		D1	A012	CTTGTA			Prueba	68,02508
2	Sample5	Sample5		E1	A013	AGTCAA			Prueba	97,49216
2	Sample6	Sample6		F1	A014	AGTTCC			Prueba	93,20794
2	Sample7	Sample7		G1	A018	GTCCGC			Prueba	63,63636

2	Sample8	Sample8	H1	A019	GTGAAA	Failed Library (Error en biblioteca)	Prueba	5,2
2	Sample9	Sample9	A2	A001	ATCACG		Prueba	84,6395
2	Sample10	Sample10	B2	A003	TTAGGC		Prueba	81,5047
2	Sample11	Sample11	C2	A008	ACTTGA		Prueba	78,78788
2	Sample12	Sample12	D2	A010	TAGCTT		Prueba	83,17659
2	Sample13	Sample13	E2	A020	GTGGCC		Prueba	79,62382
2	Sample14	Sample14	F2	A022	CGTACG		Prueba	62,59143
2	Control-ID	Control-ID	G2	A025	ACTGAT		Control	65,20376

Las reglas de validación de la hoja de muestras correspondientes a las secciones de datos y encabezado se describen en la [Tabla 7](#) y en la [Tabla 8](#). Los datos de cada celda de la hoja de muestras no pueden sobrepasar los 100 caracteres.



NOTA

VeriSeq NIPT Analysis Software exige las convenciones de nomenclatura de la tabla para importar los archivos de resultados de NGS.

Tabla 7 Reglas de validación de la hoja de muestras (sección del encabezado)

Campo	Necesario	Reglas de validación
Versión del archivo de IEM	Sí	Debe ser 4.
Nombre del investigador	Sí	Sin reglas de validación.
Nombre del experimento	Sí	Debe ser el ID de celda de flujo (todas las letras deben ser mayúsculas). Se valida contrastándolo con el código de barras de runParameters.xml.
Fecha	Sí	Sin reglas de validación.
Flujo de trabajo	Sí	Sin reglas de validación.
Aplicación	Sí	Sin reglas de validación.
Ensayo	Sí	Sin reglas de validación.
Descripción	Sí	Debe ser cfDNAHiSeqv1.0.
Composición química	Sí	Sin reglas de validación.

Tabla 8 Reglas de validación de la hoja de muestras de NGS Option 1 (Opción de NGS 1) (sección de datos)

Nombre de la columna	Interpretación	Clase	Entradas válidas	Necesario	Reglas de validación
Carril	Carril en el que se ubica la muestra	Entero	1, 2	Sí	Debe ser 1 o 2.
Sample_ID (ID de muestra)	ID de muestra (se utiliza para generar informes de salida cADAS)	Cadena de caracteres	Único por índice en la celda de flujo	Sí	Para un ID de muestra determinado, todos los valores de los datos de la hoja de muestras deben ser idénticos salvo por el carril. El ID de muestra solo puede contener caracteres alfanuméricos, como a-z, A-Z, 0-9, guiones bajos y guiones ("-"). El ID de muestra no puede contener espacios. Evite combinar varios guiones bajos y guiones juntos. A partir de la versión 1.4, el valor ID de muestra no puede empezar con el número cero (0).

Nombre de la columna	Interpretación	Clase	Entradas válidas	Necesario	Reglas de validación
Sample_Name (Nombre_de_muestra)	Nombre de la muestra	Cadena de caracteres	Desconocido	No	Este campo puede estar vacío. No se aplican reglas de validación. El nombre de la muestra está limitado a 100 caracteres.
Sample_Plate (Placa de muestra)	ID de placa de muestras	Cadena de caracteres	PXXXX, donde XXXX es un número	No	Este campo puede estar vacío. No se aplican reglas de validación. El ID de placa de muestras está limitado a 100 caracteres.
Sample_Well (Pocillo de muestra)	ID de pocillo de muestra	Cadena de caracteres	A01 – A08 B01 – B08	Sí	Los formatos A1 y A01 son compatibles. Los valores se validan conforme a una expresión regular. El primer carácter es A-H y los dos siguientes pueden ser 1-12 o 01-12.
I7_Index_ID (ID de índice I7)	ID de índice	Cadena de caracteres	A001 – A024	Sí	El primer carácter siempre es A y, a continuación, tres dígitos numéricos. Consulte la Tabla 12 .
Índice	Composición del índice	Cadena de caracteres		Sí	Están permitidas todas las secuencias de índice presentes en la Tabla 12 . El número total de valores de índice dentro de un carril determinado debe ser ocho o más. Si es menor que ocho, se genera un error. La validación adicional se realiza para emparejar los pares de valor de I7_Index_ID (ID de índice I7) e Index (Índice). Para un valor de carril determinado, todos los valores de índice deben ser únicos.
Sample_Project (Proyecto de muestra)	Nombre del proyecto	Cadena de caracteres	Desconocido	No	Este campo puede estar vacío.
Descripción	Descripción de la muestra	Cadena de caracteres	Desconocido	No	Este campo puede estar vacío. Si se incluye la palabra "error" en este campo, la muestra queda marcada como tal y no se notifican resultados sobre ella.
SampleType (Tipo de muestra)	Tipo de muestra	Cadena de caracteres	"Patient" (Paciente), "Test" (Prueba) o "Control" (Control)	Sí	Debe ser "Patient" (Paciente), "Test" (Prueba) o "Control" (Control). (La validación distingue entre mayúsculas y minúsculas).
Library_nM (Biblioteca nM)	Concentración de bibliotecas	Real	Valores numéricos	Sí	Debe ser numérico.

El usuario puede excluir una muestra del análisis para la que se indique "failed" (error) (no distingue mayúsculas y minúsculas) en el campo de la descripción de esa muestra en la hoja de muestras. Al hacerlo, se realiza un seguimiento de las muestras a través de todo el flujo de trabajo que no se someten a secuenciación por un error de CC previo a la secuenciación. El valor del campo de la descripción de la muestra se incluye en el archivo de resultados y los campos de datos se encuentran vacíos.

NGS Option 2 (Opción de NGS 2)

El flujo de trabajo de la configuración del experimento con NGS Option 2 (Opción de NGS 2) no ofrece ninguna posibilidad de cargar una hoja de muestras manualmente al configurar el experimento. En lugar de ello, tras detectar un nuevo experimento, el usuario debe ubicar la hoja de muestras denominada "samplesheet.csv" en la carpeta del experimento de salida que está dentro de la carpeta del experimento ubicada en el servidor de análisis. El ATMS envía al usuario un correo electrónico para informarle de que se ha detectado un nuevo experimento después de que el archivo RunParameters.xml se haya guardado en la carpeta del experimento ubicada en el directorio /data01/runs del servidor de análisis y después de empezar la secuenciación. La hoja de muestras se debe ubicar en la carpeta del experimento antes de que finalice el experimento de secuenciación (antes de que el archivo RTAComplete.txt se haya guardado en la carpeta del experimento).



NOTA

Si el archivo samplesheet.csv no está en la carpeta del experimento de salida en el momento en que se guarda el archivo RTAComplete.txt, el software de análisis enviará una notificación. Consulte el [Capítulo 2 Funcionamiento del sistema](#), [Notificaciones del sistema](#), [Tabla 4 en la página 10](#).

Con la NGS Option 2 (Opción de NGS 2), se utiliza el mismo grupo de muestras en toda la celda de flujo. Los números de carril no se especifican en la hoja de muestras. Al introducir la información de la muestra en la hoja de muestras, cada combinación de Sample_ID (ID de muestra), pocillo e índice aparecerá una vez en la sección de datos de la hoja de muestras. Cada combinación de Sample_ID (ID de muestra), pocillo e índice debe ser única.

Compruebe que la asignación del ID de la muestra a los índices asociados es exacta. Es necesario que la asignación sea exacta para mantener la integridad de la muestra.

Consulte la [Tabla 9](#) y la [Tabla 10](#) para ver ejemplos de secciones de encabezado y datos de hojas de muestras.



NOTA

VeriSeq NIPT Analysis Software exige las convenciones de nomenclatura de la tabla para importar los archivos de resultados de NGS.

Tabla 9 Ejemplo de hoja de muestras de NGS Option 2 (Opción de NGS 2) (sección del encabezado)

[Header (Encabezado)]	
Versión del archivo de IEM	4
Nombre del investigador	Nombre
Nombre del experimento	ID de celda de flujo
Fecha	2/4/2014
Flujo de trabajo	Generar FASTQ
Aplicación	Solo FASTQ
Ensayo	TruSeq LT
Descripción	cfDNANextSeqv1.0
Composición química	Predeterminada
[Reads (Lecturas)]	
	36
[Settings (Configuración)]	
ReverseComplement (Invertir complemento)	0



NOTA

La sección del encabezado de la hoja de muestras debe contener el ID de celda de flujo exacto (todas las letras deben ser mayúsculas) en el campo Nombre del experimento y el campo Descripción debe contener el texto "cfDNANextSeqv1.0".

Tabla 10 Ejemplo de hoja de muestras de NGS Option 2 (Opción de NGS 2) (sección de datos)

[Data (Datos)]									
Sample_ID (ID de muestra)	Sample_Name (Nombre_de_muestra)	Sample_Plate (Placa de muestra)	Sample_Well (Pocillo de muestra)	I7_Index_ID (ID de índice I7)	Índice	Sample_Project (Proyecto de muestra)	Descripción	SampleType (Tipo de muestra)	Library_nM (Biblioteca nM)
Sample1	Sample1		A2	A002	CGATGT			Prueba	53,2
Sample2	Sample2		B2	A005	ACAGTG			Prueba	51
Sample3	Sample3		C2	A007	CAGATC			Prueba	83,3
Sample4	Sample4		D2	A012	CTTGTA			Prueba	79
Sample5	Sample5		E2	A013	AGTCAA			Prueba	67
Sample6	Sample6		F2	A014	AGTTCC			Prueba	44,3
Sample7	Sample7		G2	A018	GTCCGC			Prueba	61,9
Sample8	Sample8		H2	A019	GTGAAA			Prueba	62,9
Sample9	Sample9		A4	A001	ATCACG			Prueba	76,8
Sample10	Sample10		B4	A003	TTAGGC			Prueba	71,1
Sample11	Sample11		C4	A008	ACTTGA		Failed_QC (CC erróneo)	Prueba	5
Sample12	Sample12		D4	A010	TAGCTT			Prueba	71,1
Sample13	Sample13		E4	A020	GTGGCC			Prueba	55
Sample14	Sample14		F4	A022	CGTACG			Prueba	88,6
Control-ID	Control-ID		G4	A025	ACTGAT			Control	64,7

Las reglas de validación de la hoja de muestras correspondientes a las secciones de datos se describen en la [Tabla 11](#). Los datos de cada celda de la hoja de muestras no pueden sobrepasar los 100 caracteres.

Tabla 11 Reglas de validación de la hoja de muestras de NGS Option 2 (Opción de NGS 1) (sección de datos)

Nombre de la columna	Interpretación	Clase	Entradas válidas	Necesario	Reglas de validación
Sample_ID (ID de muestra)	ID de muestra (se utiliza para generar informes de salida cADAS)	Cadena de caracteres	Único por índice en la celda de flujo	Sí	El ID de muestra solo puede contener caracteres alfanuméricos, como a–z, A–Z, 0–9, guiones bajos y guiones ("-"). El ID de muestra no puede contener espacios. Evite combinar varios guiones bajos y guiones juntos. A partir de la versión 1.4, el valor ID de muestra no puede empezar con el número cero (0).
Sample_Name (Nombre de muestra)	Nombre de la muestra	Cadena de caracteres	Texto libre	No	Este campo puede estar vacío. No se aplican reglas de validación. El nombre está limitado a 100 caracteres.
Sample_Plate (Placa de muestra)	ID de placa de muestras	Cadena de caracteres	PXXXX, donde XXXX es un número	No	Este campo puede estar vacío. No se aplican reglas de validación. El ID de placa de muestras está limitado a 100 caracteres.
Sample_Well (Pocillo de muestra)	ID de pocillo de muestra	Cadena de caracteres	A01 – A08 B01 – B08	Sí	Los formatos A1 y A01 son compatibles. Los valores se validan conforme a una expresión regular. El primer carácter es A-H y los dos siguientes pueden ser 1-12 o 01-12.
I7_Index_ID (ID de índice I7)	ID de índice	Cadena de caracteres	A001 – A024	Sí	El primer carácter siempre es A y, a continuación, tres dígitos numéricos.
Índice	Composición del índice	Cadena de caracteres		Sí	Están permitidas todas las secuencias de índice presentes en la Tabla 12 . El número total de valores de índice dentro de un carril determinado debe ser ocho o más. Si es menor que ocho, se genera un error. La validación adicional se realiza para emparejar los pares de valor de I7_Index_ID (ID de índice I7) e Index (Índice). Para cada hoja de muestras, todos los valores de índice son únicos. Estos no pueden ser duplicados.
Sample_Project (Proyecto de muestra)	Nombre del proyecto	Cadena de caracteres	Desconocido	No	Este campo puede estar vacío.

Nombre de la columna	Interpretación	Clase	Entradas válidas	Necesario	Reglas de validación
Descripción	Descripción de la muestra	Cadena de caracteres	Desconocido	No	Este campo puede estar vacío. Si se incluye la palabra "error" en este campo, la muestra queda marcada como tal y no se notifican resultados sobre ella.
SampleType (Tipo de muestra)	Tipo de muestra	Cadena de caracteres	"Patient", "Test", "Control"	Sí	Debe ser "Patient" (Paciente), "Test" (Prueba) o "Control" (Control). (La validación distingue entre mayúsculas y minúsculas).
Library_nM (Biblioteca nM)	Concentración de bibliotecas	Real	Valores numéricos	Sí	Debe ser numérico.

El usuario puede excluir una muestra del análisis para la que se indique "failed" (error) (no distingue mayúsculas y minúsculas) en el campo de la descripción de esa muestra en la hoja de muestras. Al hacerlo, se realiza un seguimiento de las muestras a través de todo el flujo de trabajo que no se someten a secuenciación por un error de CC previo a la secuenciación. El valor del campo de la descripción de la muestra se incluye en el archivo de resultados y los campos de datos se encuentran vacíos. Consulte la [Tabla 12](#) para ver los valores de índice correctos.

Valores de índice válidos

Tabla 12 Valores de índice válidos

i7_Index_ID (ID de índice I7)	Índice
A001	ATCACG
A002	CGATGT
A003	TTAGGC
A004	TGACCA
A005	ACAGTG
A006	GCCAAT
A007	CAGATC
A008	ACTTGA
A009	GATCAG
A010	TAGCTT
A011	GGCTAC
A012	CTTGTA
A013	AGTCAA
A014	AGTTCC
A015	ATGTCA
A016	CCGTCC
A018	GTCCGC
A019	GTGAAA
A020	GTGGCC
A021	GTTTCG
A022	CGTACG
A023	GAGTGG
A025	ACTGAT
A027	ATTCCT

Demultiplexado y generación de archivos FASTQ

NGS Option 1 (Opción de NGS 1) utiliza un demultiplexador personalizado. NGS Option 2 (Opción de NGS 2) utiliza el convertidor bcl2fastq v2 para el demultiplexado y la generación de archivos FASTQ. Ambas opciones de análisis, además del archivo SampleSheet.csv original, producen un archivo relacionado con la hoja de muestras en la carpeta del experimento.

- ▶ **SampleSheet.csv:** El archivo de muestras original proporcionado por el usuario.
- ▶ **sample_sheet_processed_YYYY_MM_DD_hh-mm-ss.txt:** Archivo generado por el ATMS tras leer la hoja de muestras proporcionada por el usuario. Este archivo contiene la información que se transmite a las etapas posteriores del análisis de datos.



NOTA

No acceda a la hoja de datos durante la ejecución del análisis, a menos que haya recibido instrucciones para hacerlo en el paso de validación de la hoja de muestras.

Volver a poner en cola un análisis



NOTA

Ponga en cola un análisis SOLO después de recibir una notificación de correo electrónico desde el servidor con relación a un error de la hoja de muestras.

Puede volver a poner en cola el experimento para el análisis si su hoja de muestras contiene errores que no afectan a la validación ni al análisis. Como se indica a continuación, los cambios en la hoja de muestras solo deben hacerse después de recibir una notificación por correo electrónico desde el servidor que indique un error en la hoja de muestras. Por ejemplo:

- ▶ Filas o columnas vacías
- ▶ Ausencia de la fila de encabezado
- ▶ Flujo de trabajo incompatible en la fila del encabezado Description (Descripción)
- ▶ Código de barras de la celda de flujo incorrecto

Carpeta del experimento ubicada en el servidor

Este procedimiento describe cómo volver a poner en cola un análisis cuando la carpeta del experimento está ubicada en el servidor.

- 1 En un ordenador de la misma red que la del servidor de análisis, abra el Explorador de Windows y busque el directorio de los experimentos.
- 2 Localice la carpeta del experimento que desea volver a poner en cola para el análisis.
- 3 Haga clic con el botón derecho en esa carpeta y seleccione **Copy** (Copiar).
- 4 Haga clic con el botón derecho en un punto cualquiera del directorio de experimentos y seleccione **Paste** (Pegar).

Se crea una copia de la carpeta del experimento, con " - Copy" (Copia) al final del nombre de la carpeta. Por ejemplo, Run_Folder_Name - Copy.

El sistema envía una notificación por correo electrónico sobre los caracteres no válidos del nombre de la carpeta, que puede descartar.



NOTA

No vaya al paso siguiente hasta que la carpeta del experimento esté copiada completamente (unos 30 minutos).

- 5 Abra la carpeta del experimento copiada y borre el archivo siguiente:
sample_sheet_processed_YYYY_MM_DD_hh-mm-ss.txt
- 6 En la carpeta del experimento copiada, modifique el archivo SampleSheet.csv para corregir los errores. Quite las filas o columnas vacías.
- 7 Guarde la hoja de muestras con el nombre SampleSheet.csv en la carpeta del experimento copiada para sobrescribir el archivo existente.
Confirme que el archivo sigue teniendo el formato CSV (valores separados por comas). Algunos paquetes de software de hojas de cálculo modifican el formato de archivo sin avisar y cambian las comas por otros símbolos. No modifique la hoja de muestras después de que la haya guardado en la carpeta del experimento copiada.

- 8 Para iniciar el análisis, cambie el nombre de la carpeta del experimento copiada como sigue:
 - a Haga clic con el botón derecho en esa carpeta y seleccione **Rename** (Cambiar el nombre).
 - b Sustituya los espacios y la barra por un guión bajo (_). Por ejemplo, Run_Folder_Name_Copy.



NOTA

No añada caracteres delante del nombre de la carpeta. Por ejemplo, Copy_Run_Folder_Name. Añada caracteres solo al final del nombre de la carpeta del experimento. Para ello, utilice solo los caracteres alfanuméricos siguientes: a–z, A–Z, 0–9 y guiones bajos ("_"). No están permitidos los espacios, las barras ni otros caracteres.

El sistema analiza automáticamente Run_Folder_Name_Copy.

- 9 Si sample_sheet_processed_YYYY_MM_DD_hh-mm-ss.txt no se ha creado en 30 minutos, consulte [Resolución de problemas al volver a poner en cola un análisis en la página 38](#).

Copiar un experimento completado en el servidor y ponerlo en cola para el análisis

Este procedimiento describe cómo copiar manualmente una carpeta de experimento en el servidor y poner en cola el análisis.



NOTA

Siga el procedimiento en el orden exacto descrito a continuación.

Los pasos del 1 al 5 deben haberse completado antes de copiar la carpeta del experimento en el servidor de análisis.

- 1 Abra la carpeta del experimento y mueva el archivo **RTAcomplete.txt** a una ubicación fuera de la carpeta del experimento.
- 2 Borre el archivo siguiente de la carpeta del experimento:
sample_sheet_processed_YYYY_MM_DD_hh-mm-ss.txt
- 3 Si es necesario, modifique la hoja de muestras original para corregir los errores o efectuar otros cambios. Quite las filas o columnas vacías.
- 4 Guarde la hoja de muestras en la carpeta del experimento con el nombre SampleSheet.csv para sobrescribir el archivo existente.
No modifique la hoja de muestras después de que la haya guardado en la carpeta del experimento.
- 5 Confirme que la carpeta del experimento sigue sin tener ningún archivo RTAComplete.txt.
- 6 Haga clic con el botón derecho en esa carpeta y seleccione **Copy** (Copiar).
- 7 En un ordenador de la misma red que la del servidor de análisis, abra el Explorador de Windows y busque el directorio de los experimentos.
- 8 Haga clic con el botón derecho en un punto cualquiera del directorio de experimentos y seleccione **Paste** (Pegar).



NOTA

No vaya al paso siguiente hasta que la carpeta del experimento esté copiada completamente. Pueden transcurrir unos 30 minutos o más, según la velocidad de la red.



No añada caracteres delante del nombre de la carpeta. Por ejemplo, Copy_Run_Folder_Name. Añada caracteres solo al final del nombre de la carpeta del experimento. Para ello, utilice solo los caracteres alfanuméricos siguientes: a–z, A–Z, 0–9 y guiones bajos ("_"). No están permitidos los espacios, las barras ni otros caracteres.

- 9 Para iniciar el análisis, copie el archivo **RTAcomplete.txt** desde la ubicación a la que lo movió y péguelo en la carpeta del experimento.
El sistema vuelve a analizar automáticamente la carpeta del experimento.
- 10 Si `sample_sheet_processed_YYYY_MM_DD_hh-mm-ss.txt` no se ha creado en 30 minutos, consulte [Resolución de problemas al volver a poner en cola un análisis en la página 38](#).

Resolución de problemas al volver a poner en cola un análisis

- 1 Busque un mensaje de correo electrónico de notificación de error.
- 2 Lea el correo electrónico para obtener información sobre los errores de la hoja de muestras.
Lea todo el mensaje de correo electrónico, puesto que el error asociado al problema puede aparecer al final del mensaje.
- 3 Si los errores se pueden corregir, repita el procedimiento para volver a poner en cola el análisis correspondiente a la carpeta del experimento.
- 4 Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina si ocurre lo siguiente:
 - ▶ No recibe ninguna notificación.
 - ▶ El análisis no funciona.
 - ▶ La hoja de muestras no contiene erroresMencione NIPT16 en la llamada o inclúyalo en la línea del asunto del mensaje.

Archivo y copia de seguridad de los datos

Illumina recomienda archivar los directorios `/data01/runs` y `/data01/analysis_output` de acuerdo con la política de archivo de su departamento de TI. El software supervisa el espacio libre del disco en el directorio `/data01/runs` y envía una notificación por correo electrónico a los usuarios cuando la capacidad de almacenamiento restante es inferior a 200 GB.

No se debe utilizar el VeriSeq NIPT Analysis Server para el almacenamiento de datos. Los datos se deben transferir desde el servidor de análisis y archivar de forma periódica.

Un experimento de secuenciación típico que es compatible con el flujo de trabajo del análisis de ADN sin células requiere aproximadamente 11–13 GB para NGS Option 1 (Opción de NGS 1) y aproximadamente 11–16 GB para NGS Option 2 (Opción de NGS 2). El tamaño real de la carpeta de experimentos depende de la densidad de grupos final. El servidor proporciona más de 4 TB de espacio de almacenamiento, que es el espacio suficiente para más de 200 experimentos de secuenciación.

Archive solo los datos cuando el sistema esté inactivo y no haya ningún análisis o experimento de secuenciación en curso.

Especificaciones del informe e interpretación de los criterios de medición

La carpeta de destino de los resultados de los análisis de secuenciación del ADN sin células contiene dos archivos de texto con valores separados por comas. El primer archivo, <nombre_carpeta_experimento>_NIPT_Results.csv, contiene todos los datos de las muestras y las celdas de flujo, así como los criterios de medición de CC. Este archivo identifica también la versión del software utilizado para generar los resultados. El segundo archivo, <nombre_carpeta_experimento>_Misindexed_Results.csv, contiene una tabla con el número de lecturas de la celda de flujo con relación a los índices identificados durante el demultiplexado y que no se especifican en la hoja de muestras. Existe un tercer archivo .txt, REPORT.Complete.txt, que está ubicado en la carpeta de salida de los resultados. Este archivo contiene información sobre la configuración del análisis, el tiempo de análisis, la ubicación de los archivos de resultados y los valores de la suma de comprobación MD5 de los archivos NIPT_Results.csv y MISINDEXED_Results.csv. Se puede encontrar una lista completa de los criterios de medición de CC y otros valores en *Criterios de medición de CC y límites superior e inferior (NGS Option 1 [Opción de NGS 1])* en la página 44, y *Criterios de medición de CC y límites superior e inferior (NGS Option 2 [Opción de NGS 2])* en la página 50.



PRECAUCIÓN

Para evitar la modificación accidental de los archivos originales de resultados del análisis, copie los archivos <nombre_carpeta_experimento>_NIPT_Results.csv y <nombre_carpeta_experimento>_Misindexed_Results.csv en otro ordenador antes de abrirlos y editarlos.



NOTA

Ilumina recomienda que los archivos de resultados generados mediante el análisis del ADN sin células o VeriSeq NIPT Analysis Software se integren en el sistema de gestión de la información del laboratorio, de tal manera que el personal del laboratorio clínico pueda utilizar esta información para generar y, posteriormente, revisar los informes de los pacientes.

Tabla 13 Valores de anotación de hoja de muestras registrados (<nombre_carpeta_experimento>_NIPT_Results.csv)

Nombre de la columna	Campo de fuente de la hoja de muestras
SampleID (ID de muestra)	Sample_ID (ID de muestra)
SampleType (Tipo de muestra)	SampleType (Tipo de muestra)
Flowcell ID (ID de celda de flujo)	Experiment name (Nombre del experimento)
IndexID (ID de índice)	I7_Index_ID (ID de índice I7)
Well (Pocillo)	Sample_Well (Pocillo de muestra)
Library_nM (Biblioteca nM)	Library_nM (Biblioteca nM)

Tabla 14 Criterios de medición de puntuación por muestra registrados (<nombre_carpeta_experimento>_NIPT_Results.csv)

Nombre de la columna	Interpretation (Interpretación)
Ratio_13	Relación cromosómica 13
Ratio_18	Relación cromosómica 18
Ratio_21	Relación cromosómica 21
Ratio_X	Relación cromosómica X
Ratio_Y	Relación cromosómica Y
NCV_13	Valor cromosómico normalizado (puntuación z) 13

Nombre de la columna	Interpretation (Interpretación)
NCV_18	Valor cromosómico normalizado (puntuación z) 18
NCV_21	Valor cromosómico normalizado (puntuación z) 21
NCV_X	Valor cromosómico normalizado (puntuación z) X
NCV_Y	Valor cromosómico normalizado (puntuación z) Y
FF_Formatted (FF_Formateado)	Componente fetal calculado de ADN sin células que ha obtenido el ensayo. Aparece como un porcentaje discreto redondeado que proporciona información adicional de cada muestra.

Tabla 15 Criterios de medición de CC por muestra registrados (<nombre_carpeta_experimento>_NIPT_Results.csv)

Nombre de la columna	Interpretation (Interpretación)	Motivos de error
QCFlag	Indicador general de CC superado (0), advertencia (1), error (2)	Consulte la Tabla 20 .
QCWarning	Concatenación de todos los motivos de advertencia sobre la muestra (separados por ";")	Consulte la Tabla 20 .
QCFailure	Concatenación de todos los motivos de error de la muestra (separados por ";")	Consulte la Tabla 20 .
Clusters (Grupos)	Número total de grupos en los carriles (registrado por cada celda de flujo)	Densidad de grupos baja/alta
TotalReads2Clusters	Relación de lecturas recuperadas con respecto al número de grupos en los carriles (registrado por cada celda de flujo)	Archivos BCL corruptos
MaxMisindexedReads2Clusters	Relación de lecturas indexadas de forma incorrecta en los carriles con respecto a los grupos de un carril virtual (registrado por cada celda de flujo)	Lecturas con índices inesperados que se han detectado en los carriles
IndexedReads (Lecturas indexadas)	Número total de lecturas indexadas por muestra en los carriles	Problemas técnicos en la lectura del índice; muestras incorrectas en los carriles de secuenciación
TotalIndexedReads2Clusters	Relación de lecturas indexadas con respecto a los grupos (registrado por cada celda de flujo)	Problemas técnicos en la lectura del índice
Tags (Etiquetas)	Número de lecturas asignadas a un único lugar del genoma	Tasa de error de secuenciación o PCR alta; tendencia introducida durante la construcción de la biblioteca
NonExcludedSites	Número de etiquetas con exclusión de las regiones del genoma filtradas y lecturas de duplicados que se asignan a la misma ubicación	Número de grupos bajo, errores de secuenciación, complejidad de la biblioteca baja, normalmente se puede recuperar si se vuelve a procesar
NonExcludedSites2Tags	Relación de NonExcludedSites con respecto a las etiquetas	Complejidad de la biblioteca
Tags2IndexedReads	Relación de las etiquetas con respecto a las lecturas indexadas	Número de lecturas que no se alinean con el genoma mayor de lo esperado
PerfectMatchTags2Tags	Relación de etiquetas perfectamente asignadas con respecto a todas las etiquetas	Tasa de error de secuenciación o PCR alta

Nombre de la columna	Interpretation (Interpretación)	Motivos de error
GCBias	Tendencia de GC residual en la distribución de lecturas después de la corrección	Error preanalítico en la recolección o manipulación de muestras; artefactos de secuenciación
GCR2	R2 de la corrección de GC (porcentaje de varianza explicado por la corrección de GC)	
NCD_13	Puntuación de probabilidad de los denominadores del cromosoma 13	Perfil inesperado de los denominadores del cromosoma 13
NCD_18	Puntuación de probabilidad de los denominadores del cromosoma 18	Perfil inesperado de los denominadores del cromosoma 18
NCD_21	Puntuación de probabilidad de los denominadores del cromosoma 21	Perfil inesperado de los denominadores del cromosoma 21
NCD_X	Puntuación de probabilidad de los denominadores del cromosoma X	Perfil inesperado de los denominadores del cromosoma X
NCD_Y	Puntuación de probabilidad de todo el perfil cromosómico	Perfil inesperado de todos los cromosomas

Tabla 16 Criterios de medición de puntuación por muestra registrados (<nombre_carpeta_experimento>_NIPT_Results.csv)

Nombre de la columna	Interpretation (Interpretación)
Chr1, ..., Chr22, ChrX, ChrY	Número total de NonExcludedSites utilizado para el análisis del cromosoma correspondiente (valor entero)
Chr1_Coverage, ..., Chr22_Coverage, ChrX_Coverage, ChrY_Coverage	Cobertura normalizada de cada cromosoma utilizado en la evaluación de relaciones cromosómicas

Tabla 17 Criterios de medición de puntuación por lote registrados (<nombre_carpeta_experimento>_NIPT_Results.csv)

Nombre de la columna	Interpretation (Interpretación)
Median_13, Median_18, Median_21, Median_X, Median_Y	Mediana por lote de las relaciones cromosómicas de muestras supuestamente diploides Nota: chrX y chrY se basan solo en supuestas muestras femeninas
Stdev_13, Stdev_18, Stdev_21, Stdev_X, Stdev_Y	Desviación estándar por lote de las relaciones cromosómicas de muestras supuestamente diploides Nota: chrX y chrY se basan solo en supuestas muestras femeninas

Tabla 18 Más campos por muestra de la hoja de muestras registrados (<nombre_carpeta_experimento>_NIPT_Results.csv)

Nombre de la columna	Campo de fuente de la hoja de muestras
SampleProject (Proyecto de muestra)	Sample_Project (Proyecto de muestra)
Descripción	Descripción
Índice	índice

Tabla 19 Lecturas indexadas de forma incorrecta por celda de flujo registradas (<nombre_carpeta_experimento>_Misindexed_Results.csv)

Nombre de la columna	Interpretation (Interpretación)
Celda de flujo	ID de celda de flujo
Carril	ID de carril
IndexID (ID de índice)	Nota sobre el ID de índice: El ID de índice A000 es cualquier secuencia, excepto los 24 índices que se encuentran en la Tabla 12
IndexedReads (Lecturas indexadas)	Número de lecturas indexadas dentro de la celda de flujo, el carril o el índice

Verificación de ejecución del ATMS

Al iniciar el sistema, automáticamente se lanza el proceso ATMS en segundo plano para supervisar los experimentos de secuenciación y análisis.

Para confirmar que el ATMS está en ejecución:

- 1 Ejecute la instrucción para conectarse al servidor analítico como sbsuser (se supone que \$HOSTNAME es el nombre del servidor conforme a la configuración realizada durante el proceso de inicialización inicial):
ssh -l sbsuser \$HOSTNAME
- 2 Ejecute la instrucción para comprobar el proceso del ATMS:
ps aux | grep jsvc

Si la salida contiene jsvc.exec, el proceso del ATMS se está ejecutando en segundo plano. Hay tres líneas de salida: una que indica la instancia que se está ejecutando desde el usuario raíz, una que indica la instancia se está ejecutando desde el usuario del ATMS y otra que indica la instancia que se está ejecutando desde el usuario que ejecuta la instrucción.

Si no se está ejecutando el proceso del ATMS, el ATMS no hará el seguimiento ni procesará nuevos experimentos mientras no se reinicie el servicio. El apagado o reinicio de la máquina provocará un reinicio automático del servicio. Un ingeniero de servicio de Illumina puede reiniciar el servicio usando privilegios de raíz en la máquina.



NOTA

Si se produce una desconexión repentina, el sistema tratará de reiniciar el ATMS por sus medios.

Criterios de medición de CC

Criterios de medición de CC y límites superior e inferior (NGS Option 1 [Opción de NGS 1])	44
Criterios de medición de CC y límites superior e inferior (NGS Option 2 [Opción de NGS 2])	50

Criterios de medición de CC y límites superior e inferior (NGS Option 1 [Opción de NGS 1])

Tabla 20 Instrumento NGS Option 1 (Opción de NGS 1): Posición de dos celdas de flujo y celda de flujo de dos carriles; criterios de medición de CC, límites superior e inferior, designación como error o advertencia, tasa de error/advertencia esperada y causas posibles.

Categoría	Criterio de medición	Límite inferior	Límite superior	Error/ Advertencia	Muestra Tipo	Tasa de error/ advertencia esperada	Causas posibles
Recuento de CC	Grupos	250 000 000	450 000 000	Advertencia		<5 % de celdas de flujo	Densidad de grupos baja (más probable) o alta (muy poco probable).
Recuento de CC	Reads2Clusters	0,95	1	Advertencia		<1 % de celdas de flujo	El software no ha podido recuperar más del 5 % de las lecturas registradas por el instrumento.
Recuento de CC	MaxMisindexedReads2Clusters	0	0,0002	Advertencia		<0,1 %	
Recuento de CC	TotallIndexedReads2Clusters	0,7	1	Advertencia		<0,1 %	Error al indexar la secuencia.
Recuento de CC	NonExcludedSites	8 000 000	100 000 000	Error		<=2 %	Biblioteca deficiente o cuantificación de biblioteca incorrecta; números de grupos bajos; posiblemente se pueda recuperar si se vuelve a ejecutar a partir del plasma.
Recuento de CC	NonExcludedSites2Tags	0,8	1	Advertencia		<0,1 %	Diversidad de biblioteca deficiente; posiblemente se pueda recuperar si se vuelve a ejecutar a partir del plasma.
Recuento de CC	Tags2Reads	0,75	0,9	Advertencia		<0,1 %	Tasa de error alta en la secuenciación o el PCR; posiblemente se pueda recuperar por resecuenciación de la misma biblioteca.
Recuento de CC	PerfectMatchTags2Tags	0,7	1	Advertencia		1 %	Tasa de error alta en la secuenciación o el PCR; posiblemente se pueda recuperar por resecuenciación de la misma biblioteca.

Categoría	Criterio de medición	Límite inferior	Límite superior	Error/ Advertencia	Muestra Tipo	Tasa de error/ advertencia esperada	Causas posibles
Mediana de las relaciones cromosómicas	Median_13	0,1986891	0,2012977	Advertencia		<0,1 %	Mediana de relación cromosómica inesperadamente alta o baja en toda la celda de flujo; fuerte efecto de lote no corregido, asociado con la extracción o el lote de la biblioteca. Intente volver a procesar las muestras del plasma para resolver el problema.
Mediana de las relaciones cromosómicas	Median_18	0,2483363	0,2517526	Advertencia		<0,1 %	Mediana de relación cromosómica inesperadamente alta o baja en toda la celda de flujo; fuerte efecto de lote no corregido, asociado con la extracción o el lote de la biblioteca. Intente volver a procesar las muestras del plasma para resolver el problema.
Mediana de las relaciones cromosómicas	Median_21	0,2476093	0,2524342	Advertencia		<0,1 %	Mediana de relación cromosómica inesperadamente alta o baja en toda la celda de flujo; fuerte efecto de lote no corregido, asociado con la extracción o el lote de la biblioteca. Intente volver a procesar las muestras del plasma para resolver el problema.
Mediana de las relaciones cromosómicas	Median_X	0,3260502	0,3396256	Advertencia		<0,1 %	Mediana de relación cromosómica inesperadamente alta o baja en toda la celda de flujo; fuerte efecto de lote no corregido, asociado con la extracción o el lote de la biblioteca. Intente volver a procesar las muestras del plasma para resolver el problema.

Categoría	Criterio de medición	Límite inferior	Límite superior	Error/ Advertencia	Muestra Tipo	Tasa de error/ advertencia esperada	Causas posibles
Mediana de las relaciones cromosómicas	Median_Y	0	1,47E-08	Advertencia		<0,1 %	Mediana de relación cromosómica inesperadamente alta o baja en toda la celda de flujo; fuerte efecto de lote no corregido, asociado con la extracción o el lote de la biblioteca. Intente volver a procesar las muestras del plasma para resolver el problema.
Desviación estándar de las relaciones cromosómicas	Stdev_13	0	6,73E-04	Advertencia		<0,1 %	Desviación estándar de las relaciones cromosómicas inesperadamente alta, lo que supone más fuentes de varianza no vistas con anterioridad. Vigile la tendencia con el tiempo.
Desviación estándar de las relaciones cromosómicas	Stdev_18	0	1,37E-03	Advertencia		<0,1 %	Desviación estándar de las relaciones cromosómicas inesperadamente alta, lo que supone más fuentes de varianza no vistas con anterioridad. Vigile la tendencia con el tiempo.
Desviación estándar de las relaciones cromosómicas	Stdev_21	0	1,33E-03	Advertencia		<0,1 %	Desviación estándar de las relaciones cromosómicas inesperadamente alta, lo que supone más fuentes de varianza no vistas con anterioridad. Vigile la tendencia con el tiempo.
Desviación estándar de las relaciones cromosómicas	Stdev_X	0	3,27E-03	Advertencia		<0,1 %	Desviación estándar de las relaciones cromosómicas inesperadamente alta, lo que supone más fuentes de varianza no vistas con anterioridad. Vigile la tendencia con el tiempo.

Categoría	Criterio de medición	Límite inferior	Límite superior	Error/ Advertencia	Muestra Tipo	Tasa de error/ advertencia esperada	Causas posibles
Desviación estándar de las relaciones cromosómicas	Stdev_Y	0	4,94E-09	Advertencia		<0,1 %	Desviación estándar de las relaciones cromosómicas inesperadamente alta, lo que supone más fuentes de varianza no vistas con anterioridad. Vigile la tendencia con el tiempo.
Puntuación de probabilidad de los denominadores cromosómicos	NCD_13	-50	1000	Error		<0,1 %	Representación cromosómica inesperada de los cromosomas denominadores (de referencia); es poco probable que se resuelva volviendo a procesar la muestra; sugiere que "los datos están fuera del rango esperado".
Puntuación de probabilidad de los denominadores cromosómicos	NCD_18	-50	1000	Error		<0,1 %	Representación cromosómica inesperada de los cromosomas denominadores (de referencia); es poco probable que se resuelva volviendo a procesar la muestra; sugiere que "los datos están fuera del rango esperado".
Puntuación de probabilidad de los denominadores cromosómicos	NCD_21	-50	1000	Error		<0,1 %	Representación cromosómica inesperada de los cromosomas denominadores (de referencia); es poco probable que se resuelva volviendo a procesar la muestra; sugiere que "los datos están fuera del rango esperado".
Puntuación de probabilidad de los denominadores cromosómicos	NCD_X	-50	1000	Error		<0,1 %	Representación cromosómica inesperada de los cromosomas denominadores (de referencia); es poco probable que se resuelva volviendo a procesar la muestra; sugiere que "los datos están fuera del rango esperado".

Categoría	Criterio de medición	Límite inferior	Límite superior	Error/ Advertencia	Muestra Tipo	Tasa de error/ advertencia esperada	Causas posibles
Puntuación de probabilidad de los denominadores cromosómicos	NCD_Y	-100	1000	Error		<0,5 %	Representación cromosómica inesperada en algún lugar del genoma; es poco probable que se resuelva volviendo a procesar la muestra; sugiere que "los datos están fuera del rango esperado".
NCV de las muestras de control	NCV_13	-5	4	Advertencia	Control		Límites NCV para los controles (sin monosomía ni trisomía).
NCV de las muestras de control	NCV_18	-5	4	Advertencia	Control		Límites NCV para los controles (sin monosomía ni trisomía).
NCV de las muestras de control	NCV_21	-5	4	Advertencia	Control		Límites NCV para los controles (sin monosomía ni trisomía).
NCV de las muestras de prueba	NCV_13	-5	200	Advertencia	Prueba		Límites NCV para las muestras de prueba (sin monosomía; fracción fetal en el rango [amplio] esperado).
NCV de las muestras de prueba	NCV_18	-5	200	Advertencia	Prueba		Límites NCV para las muestras de prueba (sin monosomía; fracción fetal en el rango [amplio] esperado).
NCV de las muestras de prueba	NCV_21	-5	200	Advertencia	Prueba		Límites NCV para las muestras de prueba (sin monosomía; fracción fetal en el rango [amplio] esperado).
NCV de las muestras de prueba	NCV_X	-100	200	Advertencia	Prueba		Límites NCV para las muestras de prueba (sin monosomía; fracción fetal en el rango [amplio] esperado).
NCV de las muestras de prueba	NCV_Y	-6	2000	Advertencia	Prueba		Límites NCV para las muestras de prueba (sin monosomía; fracción fetal en el rango [amplio] esperado).

Categoría	Criterio de medición	Límite inferior	Límite superior	Error/ Advertencia	Muestra Tipo	Tasa de error/ advertencia esperada	Causas posibles
Tendencia de GC de las muestras de control	GCBias	-0,5	0,5	Advertencia	Control		Tendencia de GC restante después de la corrección de GC (se espera que esté centrado en torno a cero, solo a título informativo).
Tendencia de GC de las muestras de prueba	GCBias	-0,5	0,5	Advertencia	Prueba		Tendencia de GC restante después de la corrección de GC (se espera que esté centrado en torno a cero, solo a título informativo).
R2 de GC de las muestras de control	GC R2	0	0,9999	Advertencia	Control		R2 asociado con la corrección de GC (solo a título informativo).
R2 de GC de las muestras de prueba	GC R2	0	0,9999	Advertencia	Prueba		R2 asociado con la corrección de GC (solo a título informativo).

Criterios de medición de CC y límites superior e inferior (NGS Option 2 [Opción de NGS 2])

Tabla 21 Instrumento NGS Option 2 (Opción de NGS 2): Posición de la celda de flujo única y celda de flujo de cuatro carriles; criterios de medición de CC, límites superior e inferior, designación como error o advertencia, tasa de error/advertencia prevista y causas posibles.

Categoría	Criterio de medición	Límite inferior	Límite superior	Error/ Advertencia	Muestra Tipo	Tasa de error/ advertencia esperada	Causas posibles
Recuento de CC	Grupos	300 000 000	800 000 000	Advertencia		<5 % de celdas de flujo	Densidad de grupos baja (más probable) o alta (muy poco probable).
Recuento de CC	MaxMisindexedReads2Clusters	0	0,0002	Advertencia		<0,1 %	
Recuento de CC	TotallIndexedReads2Clusters	0,7	1	Advertencia		<0,1 %	Error al indexar la secuencia.
Recuento de CC	NonExcludedSites	8 000 000	100 000 000	Error		<=2 %	Biblioteca deficiente o cuantificación de biblioteca incorrecta; números de grupos bajos; posiblemente se pueda recuperar si se vuelve a ejecutar a partir del plasma.
Recuento de CC	NonExcludedSites2Tags	0,8	1	Advertencia		<0,1 %	Diversidad de biblioteca deficiente; posiblemente se pueda recuperar si se vuelve a ejecutar a partir del plasma.
Recuento de CC	Tags2Reads	0,75	0,9	Advertencia		<0,1 %	Tasa de error alta en la secuenciación o el PCR; posiblemente se pueda recuperar por resecuenciación de la misma biblioteca.
Recuento de CC	PerfectMatchTags2Tags	0,7	1	Advertencia		1 %	Tasa de error alta en la secuenciación o el PCR; posiblemente se pueda recuperar por resecuenciación de la misma biblioteca.

Categoría	Criterio de medición	Límite inferior	Límite superior	Error/ Advertencia	Muestra Tipo	Tasa de error/ advertencia esperada	Causas posibles
Mediana de las relaciones cromosómicas	Median_13	0,1991238	0,2008629	Advertencia		<0,1 %	Mediana de relación cromosómica inesperadamente alta o baja en toda la celda de flujo; fuerte efecto de lote no corregido, asociado con la extracción o el lote de la biblioteca. Intente volver a procesar las muestras del plasma para resolver el problema.
Mediana de las relaciones cromosómicas	Median_18	0,2489057	0,2511832	Advertencia		<0,1 %	Mediana de relación cromosómica inesperadamente alta o baja en toda la celda de flujo; fuerte efecto de lote no corregido, asociado con la extracción o el lote de la biblioteca. Intente volver a procesar las muestras del plasma para resolver el problema.
Mediana de las relaciones cromosómicas	Median_21	0,2484135	0,25163	Advertencia		<0,1 %	Mediana de relación cromosómica inesperadamente alta o baja en toda la celda de flujo; fuerte efecto de lote no corregido, asociado con la extracción o el lote de la biblioteca. Intente volver a procesar las muestras del plasma para resolver el problema.
Mediana de las relaciones cromosómicas	Median_X	0,329444	0,3362317	Advertencia		<0,1 %	Mediana de relación cromosómica inesperadamente alta o baja en toda la celda de flujo; fuerte efecto de lote no corregido, asociado con la extracción o el lote de la biblioteca. Intente volver a procesar las muestras del plasma para resolver el problema.

Categoría	Criterio de medición	Límite inferior	Límite superior	Error/ Advertencia	Muestra Tipo	Tasa de error/ advertencia esperada	Causas posibles
Mediana de las relaciones cromosómicas	Median_Y	0	1,236665e-08	Advertencia		<0,1 %	Mediana de relación cromosómica inesperadamente alta o baja en toda la celda de flujo; fuerte efecto de lote no corregido, asociado con la extracción o el lote de la biblioteca. Intente volver a procesar las muestras del plasma para resolver el problema.
Desviación estándar de las relaciones cromosómicas	Stdev_13	0	0,0008695377	Advertencia		<0,1 %	Desviación estándar de las relaciones cromosómicas inesperadamente alta, lo que supone más fuentes de varianza no vistas con anterioridad. Vigile la tendencia con el tiempo.
Desviación estándar de las relaciones cromosómicas	Stdev_18	0	0,00113876	Advertencia		<0,1 %	Desviación estándar de las relaciones cromosómicas inesperadamente alta, lo que supone más fuentes de varianza no vistas con anterioridad. Vigile la tendencia con el tiempo.
Desviación estándar de las relaciones cromosómicas	Stdev_21	0	0,001608292	Advertencia		<0,1 %	Desviación estándar de las relaciones cromosómicas inesperadamente alta, lo que supone más fuentes de varianza no vistas con anterioridad. Vigile la tendencia con el tiempo.
Desviación estándar de las relaciones cromosómicas	Stdev_X	0	0,005090769	Advertencia		<0,1 %	Desviación estándar de las relaciones cromosómicas inesperadamente alta, lo que supone más fuentes de varianza no vistas con anterioridad. Vigile la tendencia con el tiempo.

Categoría	Criterio de medición	Límite inferior	Límite superior	Error/ Advertencia	Muestra Tipo	Tasa de error/ advertencia esperada	Causas posibles
Desviación estándar de las relaciones cromosómicas	Stdev_Y	0	3,454837e-09	Advertencia		<0,1 %	Desviación estándar de las relaciones cromosómicas inesperadamente alta, lo que supone más fuentes de varianza no vistas con anterioridad. Vigile la tendencia con el tiempo.
Puntuación de probabilidad de los denominadores cromosómicos	NCD_13	-50	1000	Error		<0,1 %	Representación cromosómica inesperada de los cromosomas denominadores (de referencia); es poco probable que se resuelva volviendo a procesar la muestra; sugiere que "los datos están fuera del rango esperado".
Puntuación de probabilidad de los denominadores cromosómicos	NCD_18	-50	1000	Error		<0,1 %	Representación cromosómica inesperada de los cromosomas denominadores (de referencia); es poco probable que se resuelva volviendo a procesar la muestra; sugiere que "los datos están fuera del rango esperado".
Puntuación de probabilidad de los denominadores cromosómicos	NCD_21	-50	1000	Error		<0,1 %	Representación cromosómica inesperada de los cromosomas denominadores (de referencia); es poco probable que se resuelva volviendo a procesar la muestra; sugiere que "los datos están fuera del rango esperado".
Puntuación de probabilidad de los denominadores cromosómicos	NCD_X	-50	1000	Error		<0,1 %	Representación cromosómica inesperada de los cromosomas denominadores (de referencia); es poco probable que se resuelva volviendo a procesar la muestra; sugiere que "los datos están fuera del rango esperado".

Categoría	Criterio de medición	Límite inferior	Límite superior	Error/ Advertencia	Muestra Tipo	Tasa de error/ advertencia esperada	Causas posibles
Puntuación de probabilidad de los denominadores cromosómicos	NCD_Y	-100	1000	Error		<0,5 %	Representación cromosómica inesperada en algún lugar del genoma; es poco probable que se resuelva volviendo a procesar la muestra; sugiere que "los datos están fuera del rango esperado".
NCV de las muestras de control	NCV_13	-5	4	Advertencia	Control		Límites NCV para los controles (sin monosomía ni trisomía).
NCV de las muestras de control	NCV_18	-5	4	Advertencia	Control		Límites NCV para los controles (sin monosomía ni trisomía).
NCV de las muestras de control	NCV_21	-5	4	Advertencia	Control		Límites NCV para los controles (sin monosomía ni trisomía).
NCV de las muestras de prueba	NCV_13	-5	200	Advertencia	Prueba		Límites NCV para las muestras de prueba (sin monosomía; fracción fetal en el rango [amplio] esperado).
NCV de las muestras de prueba	NCV_18	-5	200	Advertencia	Prueba		Límites NCV para las muestras de prueba (sin monosomía; fracción fetal en el rango [amplio] esperado).
NCV de las muestras de prueba	NCV_21	-5	200	Advertencia	Prueba		Límites NCV para las muestras de prueba (sin monosomía; fracción fetal en el rango [amplio] esperado).
NCV de las muestras de prueba	NCV_X	-100	200	Advertencia	Prueba		Límites NCV para las muestras de prueba (sin monosomía; fracción fetal en el rango [amplio] esperado).
NCV de las muestras de prueba	NCV_Y	-6	2000	Advertencia	Prueba		Límites NCV para las muestras de prueba (sin monosomía; fracción fetal en el rango [amplio] esperado).

Categoría	Criterio de medición	Límite inferior	Límite superior	Error/ Advertencia	Muestra Tipo	Tasa de error/ advertencia esperada	Causas posibles
Tendencia de GC de las muestras de control	GCBias	-0,5	0,5	Advertencia	Control		Tendencia de GC restante después de la corrección de GC (se espera que esté centrado en torno a cero, solo a título informativo).
Tendencia de GC de las muestras de prueba	GCBias	-0,5	0,5	Advertencia	Prueba		Tendencia de GC restante después de la corrección de GC (se espera que esté centrado en torno a cero, solo a título informativo).
R2 de GC de las muestras de control	GC R2	0	0,9999	Advertencia	Control		R2 asociado con la corrección de GC (solo a título informativo).
R2 de GC de las muestras de prueba	GC R2	0	0,9999	Advertencia	Prueba		R2 asociado con la corrección de GC (solo a título informativo).

Estudio de comparación de métodos

Datos de comparación de métodos 56

Datos de comparación de métodos

Para este estudio, se volvieron a secuenciar y procesaron bibliotecas previamente preparadas de 105 muestras de plasma con el software de análisis VeriSeq NIPT (16 muestras). Estas muestras se analizaron previamente con Verifi® y se multiplexaron en siete bibliotecas, cada una de las cuales constaba de 14 muestras de plasma materno, 1 muestra materna positiva de control agrupada y 1 control (sin cadena molde) o NTC. En la [Tabla 22](#) figura la composición de muestras de cada biblioteca.

Las 98 muestras sin control pasaron el CC y se analizaron para determinar su concordancia con los resultados de Verifi. Cada muestra se clasificó según los valores de NCV para determinar la presencia de las trisomías 13/18/21 (con un umbral de NCV de 4), la presencia de cromosoma Y (con un umbral de NCV de 10) y la presencia de monosomía X (con un umbral de NCV_X de -4 y cromosoma Y no presente). La concordancia porcentual general entre VeriSeq NIPT y Verifi se muestra en la [Tabla 23](#).

Se observaron dos discrepancias. La primera discrepancia que se observó fue en relación con el cromosoma 13, el cual se clasificó como trisomía 13 en Verifi y como negativo para trisomía en el software de análisis VeriSeq NIPT (16 muestras). Posteriormente, la información clínica que se obtuvo sobre esta muestra fue negativa para trisomía 13. También se observó otra discrepancia en relación con la trisomía 18, pero no se dispuso del resultado para esta muestra.

Tabla 22 Distribución de muestras en bibliotecas

secuenciación de	Control	MX	T13	T18	T21	No afectado
01	1				2	12
02	1			1	1	12
03	1	1			1	12
04	1		1	1	1	11
05	1	1			1	12
06	1		1		1	12
07	1				1	13
Total	7	2	2	2	8	84

Tabla 23 Concordancia porcentual general entre VeriSeq NIPT y Verifi

	Coincidencia total
Clase 13	98,98 %
Clase 18	98,98 %
Clase 21	100%
CrY presente/ausente	100%
Clase monosomía X	100%

Asistencia técnica

Si necesita asistencia técnica, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

Sitio web: www.illumina.com
Correo electrónico: techsupport@illumina.com

Números del servicio de asistencia al cliente de Illumina

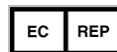
Región	Teléfono gratuito	Regional
Norteamérica	+1.800.809.4566	
Alemania	+49 8001014940	+49 8938035677
Australia	+1.800.775.688	
Austria	+43 800006249	+43 19286540
Bélgica	+32 80077160	+32 34002973
China	400.066.5835	
Dinamarca	+45 80820183	+45 89871156
España	+34 911899417	+34 800300143
Finlandia	+358 800918363	+358 974790110
Francia	+33 805102193	+33 170770446
Hong Kong	800960230	
Irlanda	+353 1800936608	+353 016950506
Italia	+39 800985513	+39 236003759
Japón	0800.111.5011	
Noruega	+47 800 16836	+47 21939693
Nueva Zelanda	0800.451.650	
Países Bajos	+31 8000222493	+31 207132960
Reino Unido	+44 8000126019	+44 2073057197
Singapur	+1.800.579.2745	
Suecia	+46 850619671	+46 200883979
Suiza	+41 565800000	+41 800200442
Taiwán	00806651752	
Otros países	+44.1799.534000	

Hojas de datos de seguridad (SDS): Disponibles en el sitio web de Illumina, support.illumina.com/sds.html.

Documentación del producto: Disponible para su descarga en formato PDF en el sitio web de Illumina. Vaya a support.illumina.com, seleccione un producto y, a continuación, seleccione **Documentation & Literature** (Documentación y bibliografía).



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 (EE. UU.)
+ 1 800 809 ILMN (4566)
+ 1 858 202 4566 (fuera de Norteamérica)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Freddy van Riemsdijkweg 15
5657 EE Eindhoven
The Netherlands



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

PARA USO DIAGNÓSTICO IN VITRO

© 2020 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados.

illumina®