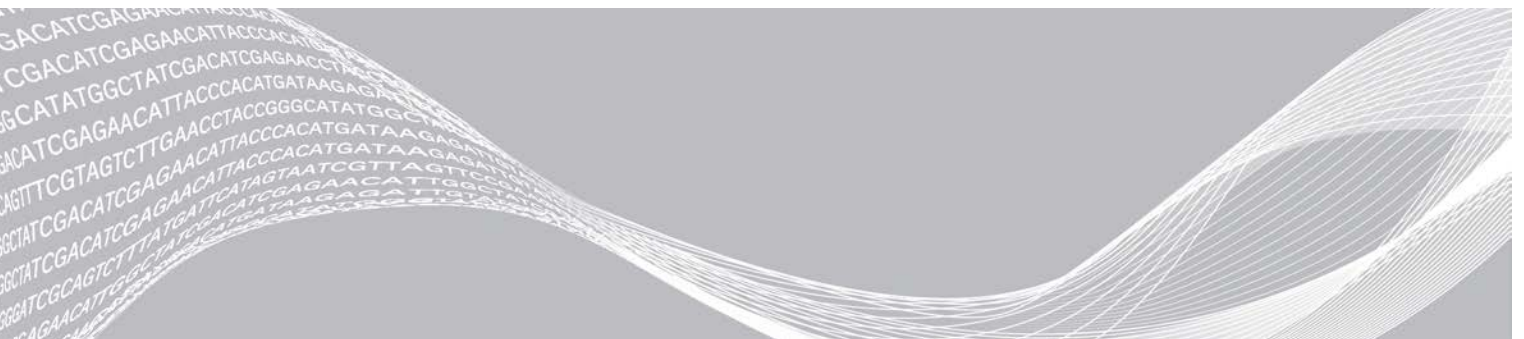


VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples)

Guia do utilizador



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

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

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

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

© 2020 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados.

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

Histórico de revisão

Documento	Data	Descrição da alteração
Documento n.º 1000000012693 v05	Abril de 2020	Foi atualizada a morada do Representante autorizado na UE.
Documento n.º 1000000012693 v04	Julho de 2018	Foram adicionadas as limitações do procedimento e o Anexo B - Estudo de comparação de métodos.
Documento n.º 1000000012693 v03	Janeiro de 2017	<ul style="list-style-type: none"> • Estimativa de fração fetal - foram adicionadas novas clarificações relativamente à estimativa de fração fetal. • Tabela 4 Notificações de alteração do estado normal e pedidos de ação - nota adicionada ao exemplo do conteúdo do e-mail de notificação de deteção de IDs de amostra inválidos na folha de amostras. • Especificação de folhas de amostras e regras de validação - conteúdo da segunda nota substituído. • Tabela 8 Folha de amostras do NGS opção 1 Regras de validação (secção de dados) - adicionado "O ID da amostra não pode conter espaços. Evite combinar múltiplos caracteres de sublinhado e traços de forma consecutiva. A partir da versão 1.4, o Sample_ID (ID da amostra) não pode começar por 0 (zero)." para as Regras de validação na linha de ID da amostra. • Tabela 11 Folha de amostras do NGS opção 2 Regras de validação (secção de dados) - adicionado "O ID da amostra não pode conter espaços. Evite combinar múltiplos caracteres de sublinhado e traços de forma consecutiva. A partir da versão 1.4, o Sample_ID (ID da amostra) não pode começar por 0 (zero)." para as Regras de validação na linha de ID da amostra.
Documento n.º 1000000012693 v02	Agosto de 2016	Conteúdo atualizado para a edição v1.4
Documento n.º 1000000012693 v01	Junho de 2016	<p>Atualizado:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Morada do Representante Autorizado Europeu e marcação CE de IVD na contracapa. • Descrição geral do sistema • Regras de validação de Sample_ID (ID da amostra) • "Recolocação da análise em fila de espera" para maior clareza e para fornecer informações de resolução de problemas
Documento n.º 1000000012693 v00	Abril de 2016	Edição inicial.

Índice

Capítulo 1 Descrição geral	1
Descrição geral do sistema	1
Conceitos do VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Amostras)	3
Capítulo 2 Funcionamento do sistema	5
Início de sessão	5
Organização de dados	5
Compatibilidade de ensaios de sequenciação	6
Tempos limites do fluxo de trabalho e requisitos de armazenamento	7
Fluxo de dados do sistema	7
Encerramento do sistema	23
Capítulo 3 Análise e relatórios	24
Especificação de folhas de amostras e regras de validação	24
Desmultiplexagem e geração de ficheiros FASTQ	35
Recolocação da análise em fila de espera	36
Arquivar e fazer cópias de segurança dos dados	38
Especificações de relatórios e interpretação de indicadores	39
Verificar se o ATMS está em execução	42
Apêndice A Indicadores de CQ	43
Indicadores de CQ e limites superiores e inferiores (NGS opção 1)	44
Indicadores de CQ e limites superiores e inferiores (NGS opção 2)	49
Apêndice B Estudo de comparação do método	54
Dados de comparação do método	54
Assistência técnica	55

Descrição geral

Descrição geral do sistema	1
Conceitos do VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Amostras)	3

Descrição geral do sistema

O VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) está disponível já instalado no VeriSeq NIPT Analysis Server (16 Samples), Illumina Número de catálogo RH-400-1001. O servidor e o software pré-instalado proporcionam:

- ▶ Um servidor analítico com capacidade suficiente para análise de dados de sequenciação gerados por um máximo de 2 instrumentos de sequenciação da próxima geração (NGS). As 2 opções de instrumentos NGS são:
 - ▶ Um sequenciador de duas células de fluxo com células de fluxo de 2 vias (NGS opção 1).
 - ▶ Um sequenciador de uma só célula de fluxo com uma célula de fluxo de 4 vias (NGS opção 2).
- ▶ Um pacote de software capaz de analisar dados de sequenciação em formato BCL, gerados pelo software de sequenciação a partir de bibliotecas preparadas de acordo com os protocolos de sequenciação de cfDNA, para detetar aneuploidias fetais com base na representação cromossómica. O software tem 2 componentes:
 - ▶ **Analysis Task Manager Service (ATMS)**—Um serviço (daemon) de segundo plano que:
 - ▶ Monitoriza as vias de saída para novas pastas de ensaios.
 - ▶ Analisa metadados relativos aos ensaios, de modo a comparar a configuração dos parâmetros do ensaio de sequenciação com um conjunto de fluxos de trabalho analíticos pré-configurados.
 - ▶ Carrega a folha de amostras associada a cada ensaio de sequenciação, mapeando identidades de amostras individuais numa determinada célula de fluxo com os índices.
 - ▶ Prepara entradas para o pipeline analítico.
 - ▶ Executa o pipeline.
 - ▶ Controla todos os dados de entrada e saída numa base de dados.
 - ▶ Gera um relatório de ensaio para cada uma das amostras individuais numa célula de fluxo.
 - ▶ **cADAS**—Um pipeline analítico para a deteção de aneuploidia fetal com base em dados de sequenciação gerados a partir de cfDNA isolado de plasma materno.
 - ▶ Analisa os dados de sequenciação através de processamento por via de alinhamento, cálculo de cobertura, normalização de dados e resumo por cromossoma.
 - ▶ Gera indicadores de CQ e atribui um estatuto de aprovação, de reprovação ou de alerta a todas as amostras.
 - ▶ Gera uma pontuação que caracteriza material cromossómico sobre ou subrepresentado para cada um dos cromossomas-alvo.



NOTA

O número máximo permitido de amostras falhadas num único lote é de 4. Não processe lotes na análise que tenham menos de 11 amostras válidas.

Utilização prevista

O VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Amostras) gera pontuações quantitativas para auxiliar na deteção e diferenciação do estado de aneuploidia fetal para os cromossomas 21, 18, 13, X e Y analisando dados de sequenciação gerados a partir de fragmentos de ADN isento de células (cfDNA) isolados de amostras de sangue total periférico materno em grávidas de, pelo menos, 10 semanas de gestão.

As pontuações quantitativas são desvios aleatórios padrão associados à sub ou sobre-representação de um cromossoma-alvo em relação a uma expectativa de um genoma diploide.

Limitações do procedimento

- ▶ O VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) foi concebido para ser utilizado como parte de um teste de rastreio, que não deve ser considerado isoladamente de outros resultados clínicos e resultados de teste. Os cortes definidos pelo utilizador aplicados aos resultados de dados deste software devem considerar os benefícios relativos ao aumento da sensibilidade à custa da especificidade e vice versa. Nenhum corte individual alcança uma sensibilidade de 100% e uma especificidade de 100% simultaneamente. Embora seja raro, as amostras com uma FF relativamente baixa para a profundidade de sequenciação sob a qual foram processadas podem ter resultados de dados próximos do limiar e podem ter uma precisão baixa.
- ▶ O VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) apresenta dados para serem utilizados para reportar o seguinte:
 - ▶ a sobre-representação dos cromossomas 21, 18 e 13
 - ▶ As seguintes aneuploidias de cromossomas sexuais: XO, XXX, XXY e XYY
- ▶ O VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) não se destina a ser utilizado para reportar poliploidia.
- ▶ Os algoritmos utilizados no VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) podem ser confundidos por determinados fatores maternos e fetais incluindo, entre outros, os seguintes:
 - ▶ transfusão de sangue recente por parte da mãe
 - ▶ transplante de órgãos por parte da mãe
 - ▶ procedimento cirúrgico por parte da mãe
 - ▶ imunoterapia ou terapia com células estaminais por parte da mãe
 - ▶ doença oncológica por parte da mãe
 - ▶ mosaicismo materno
 - ▶ mosaicismo confinado à placenta
 - ▶ morte fetal
 - ▶ desaparecimento de gémeo
 - ▶ trissomia parcial ou monossomia parcial fetal
 - ▶ mosaicismo fetal

Conceitos do VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Amostras)

Os seguintes conceitos e termos são comuns no VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Amostras).

Conceito	Descrição
cADAS	O software de pipelines de análise. Uma aplicação do lado do servidor utilizada para a análise de dados de sequenciação e a deteção de aneuploidia.
cfDNA	O ADN livre de células é o ADN de material de origem materna e fetal que circula livremente na corrente sanguínea materna. A análise do cfDNA proporciona um método de teste pré-natal não invasivo.
Pasta de ensaio	A estrutura de pastas criada pelo instrumento de sequenciação NGS e preenchida pela análise em tempo real (RTA - Real-Time Analysis) de dados primários.
Folha de amostras	Um ficheiro de valores separados por vírgulas (*.csv) que contém informações necessárias para configurar e analisar um ensaio de sequenciação, incluindo uma lista de amostras e respetivas sequências de índice.
Fluxo de trabalho	Um processo analítico para analisar ensaios de sequenciação executados pelo VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Amostras). O fluxo de trabalho de cada ensaio está especificado na folha de amostras.

Descrição geral da análise do software

O VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) avalia o número de cópias de cromossomas de teste em amostras experimentais. Os dados introduzidos para análise consistem em leituras de base 36 criadas por um instrumento de sequenciação da próxima geração (NGS). As leituras são comparadas com o genoma humano completo. Apenas são utilizadas as leituras que correspondam a uma localização ou a uma posição única no genoma para análise posterior. As leituras duplicadas são retiradas da análise. As leituras são ainda filtradas para excluir os locais associados a uma elevada variação de cobertura nas amostras euploides. A cobertura bruta é ajustada através da normalização do teor de GC e de outros fatores a nível subcromossómico, sendo em seguida resumida em cobertura cromossómica por média de cobertura robusta ao longo do cromossoma.

Os cromossomas de teste incluem o 21, o 18 e o 13, o X e o Y. A cobertura normalizada em cromossomas de teste é normalizada para os cromossomas de referência predefinida (denominador) para criar o rácio (R) de teste cromossómico. Os cromossomas denominadores predefinidos são otimizados para reduzir ao máximo a variância nos rácios cromossómicos para amostras euploides. Os rácios cromossómicos para amostras de teste são convertidos em valores cromossómicos normalizados (NCV) com uma correção para a média de rácio ajustado por célula de fluxo e o escalonamento em função da variação esperada predefinida em amostras euploides normais (estimada com base nos dados de treinamento).

Figura 1 Exemplo de Rácio (R) Cromossómico de Teste

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

O valor cromossómico normalizado (NCV) é determinado de acordo com a equação apresentada na Figura 2. O valor NCV é equivalente a um desvio aleatório padrão. Um desvio aleatório padrão descreve a diferença entre um valor e a média da população em termos do desvio padrão. O limite para considerar uma amostra como não afetada ou afetada em função do NCV é determinado pelos clientes antes da respetiva validação clínica do fluxo de trabalho e pode ser ajustado em função do resultado do estudo de validação clínica.

Figura 2 Valor cromossómico normalizado (NCV)

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

i - Cromossoma

k - Amostra

U - Amostra não afetada

R_{ik} - Rácio do cromossoma *i* na *k*^a amostra

$\overline{R_{U_i}}$ - Rácio cromossómico médio ajustado por célula de fluxo

σ_{U_i} - Desvio padrão para o rácio do cromossoma *i* nas amostras não afetadas com base no conjunto de dados de formação

Estimativa de fração fetal

Fração fetal refere-se à percentagem de ADN circulante livre de células numa amostra de sangue materno obtida através da placenta. O VeriSeq NIPT Analysis Software calcula a fração fetal estimada com base nas diferenças de cobertura genómica entre cfDNA materno e fetal.¹

O VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) utiliza as estatísticas geradas durante a sequenciação para fornecer uma estimativa da fração fetal (EFF) para cada amostra. A EFF é o componente fetal estimado de cfDNA que é recuperado pelo ensaio e reportado como percentagem arredondada para cada amostra. O desvio padrão médio desta estimativa em todas as amostras é de 2%. Não pode utilizar isoladamente a EFF para excluir amostras quando reportar 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

Funcionamento do sistema

Início de sessão	5
Organização de dados	5
Compatibilidade de ensaios de sequenciação	6
Tempos limites do fluxo de trabalho e requisitos de armazenamento	7
Fluxo de dados do sistema	7
Encerramento do sistema	23

Início de sessão

O servidor analítico é configurado como uma máquina Linux CentOS 6.6 com uma conta de utilizador SBS.

O início de sessão no servidor não faz parte do funcionamento normal. É apenas necessário para iniciar uma reiniciação ou um encerramento.

Inicie a sessão no servidor utilizando um terminal ou uma ligação SSH com as credenciais predefinidas iniciais:

- ▶ **Nome de utilizador**—sbsuser
- ▶ **Palavra-passe**—Envie um e-mail para o Suporte Técnico da Illumina para obter uma palavra-passe.
- ▶ **Grupo**—sbsuser

Organização de dados

O servidor analítico dispõe de uma configuração de serviço de partilha em rede que permite aceder ao disco rígido a partir de sistemas Windows através de um protocolo de partilha Samba. O nome de utilizador predefinido e a palavra-passe inicial para partilhas Samba é “sbsuser” e “sbs123”. A partilha de disco para esta conta de utilizador através do protocolo Samba permite aceder às seguintes partilhas:

Localização no servidor Linux	Nome da partilha	Nome de utilizador	Palavra-passe inicial	Direitos de acesso
/data01/runs	runs	sbsuser	Envie um e-mail para o Suporte Técnico da Illumina para obter uma palavra-passe.	Leitura/Escrita
/data01/analysis_output	analysis_output	sbsuser	Envie um e-mail para o Suporte Técnico da Illumina para obter uma palavra-passe.	Leitura

Durante a configuração de um ensaio de sequenciação, configure a saída para o diretório runs. Navegue até ao diretório \\<SERVER.IP.ADDRESS>\runs através dos ecrãs de configuração de ensaios do software de controlo do instrumento de sequenciação, em que <SERVER.IP.ADDRESS> é o endereço IP do servidor local.

O diretório “analysis_output” contém relatórios relativos a todas as células de fluxo processadas através do fluxo de trabalho analítico do cfDNA. O sistema organiza os relatórios de acordo com o nome original da pasta de ensaio criado pelo software de sequenciação e acrescenta aos mesmos a data e a hora da análise.

Por exemplo, a análise do ensaio “140806_SN7001227_0199_AHABHTADXX” cria uma pasta de saída com o nome “140806_SN7001227_0199_AHABHTADXX_140806_230337”.

Utilize o formato predefinido para os nomes das pastas de ensaios indicado pelo seu sistema de sequenciação. O VeriSeq NIPT Analysis Software exige que o nome da pasta de ensaio contenha apenas os seguintes caracteres alfanuméricos: a–z, A–Z, 0–9 e o carácter de sublinhado (“_”). Não são permitidos espaços ou outros caracteres.

Compatibilidade de ensaios de sequenciação

O servidor apenas analisa ensaios de sequenciação compatíveis com o fluxo de trabalho analítico do cfDNA. Configure a sequenciação com parâmetros de leitura compatíveis.

Para o NGS opção 1:

- ▶ **Read 1 (Leitura 1)**—36 bases
- ▶ **Index 1 (i7) (Índice 1 [i7])**—7 bases

Para o NGS opção 2:

- ▶ **Read 1 (Leitura 1)**—36 bases
- ▶ **Index 1 (i7) (Índice 1 [i7])**—6 bases

Utilize apenas métodos de sequenciação e versões de software compatíveis para gerar chamadas de bases.



NOTA

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

Tabela 1 Métodos de sequenciação e versões de software compatíveis para o NGS opção 1

Parâmetro	Valor compatível
SBS	Kit TruSeq Rapid SBS Kit TruSeq Rapid SBS v1 ou Kit HiSeq Rapid SBS v2
Index (Índice)	Kit TruSeq Rapid SR Cluster Kit TruSeq Rapid SR Cluster v1 ou Kit HiSeq Rapid SR Cluster v2
Clustering Choice (Opção de clustering)	OnBoardClustering
Application Name (Nome da aplicação)	Software de controlo HiSeq
Application Version (Versão da aplicação)	2.0.12 ou 2.2.38 ou 2.2.58
FPGA Version (Versão FPGA)	3.10.3 ou 7.7.2.5 ou 7.9.7
RTA Version (Versão RTA)	1.17.21 ou 1.18.61 ou 1.18.64

Tabela 2 Métodos de sequenciação e versões de software compatíveis para o NGS opção 2

Parâmetro	Valor compatível
Application Name (Nome da aplicação)	NextSeq Control Software
Application Version (Versão da aplicação)	1.3.0 ou 2.0.0 ou 2.1.0
RTA Version (Versão RTA)	2.1.3 ou 2.4.6 ou 2.4.11

Tempos limites do fluxo de trabalho e requisitos de armazenamento

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

Tabela 3 Tempos limites do fluxo de trabalho e requisitos de armazenamento

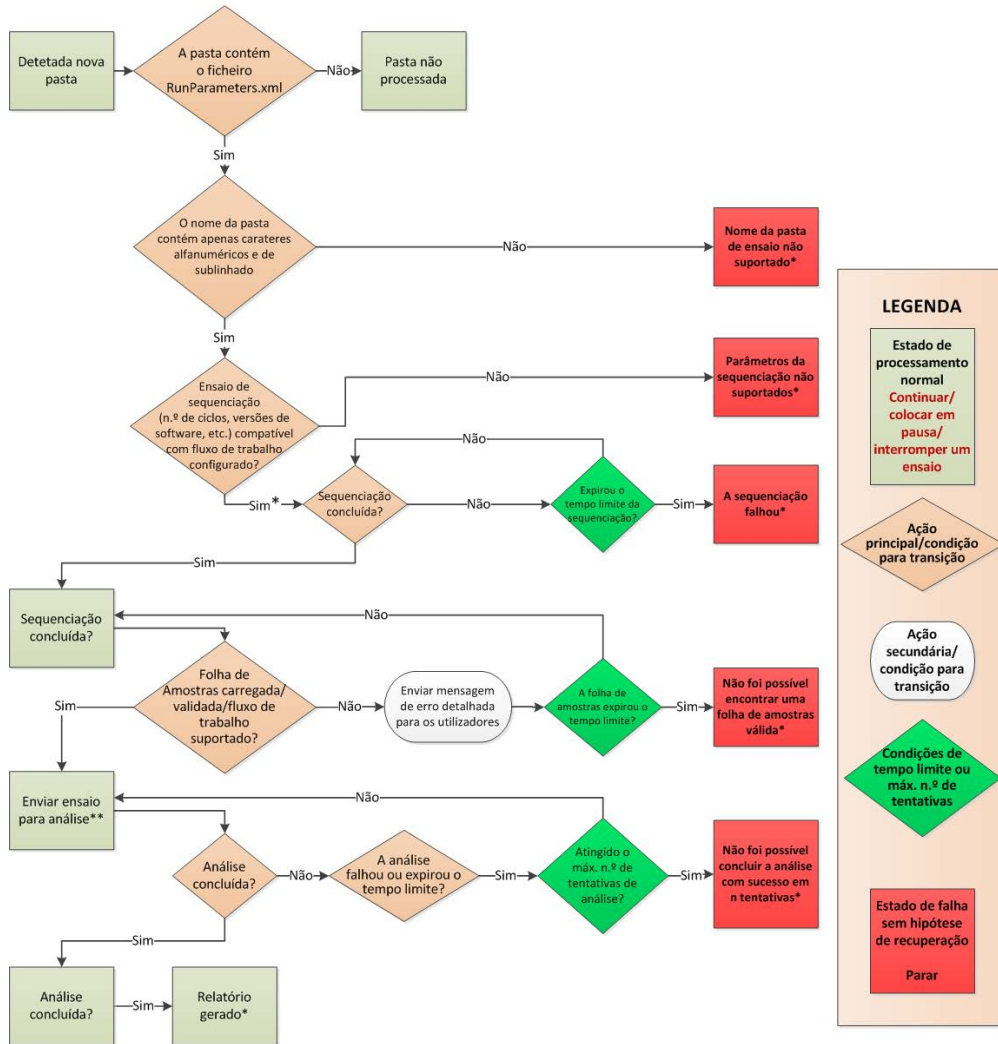
Parâmetro	Valor predefinido
Maximum Run Parameters Wait Time (Tempo máximo de espera por parâmetros do ensaio)	4 horas
Maximum Sequencing Time (Duração máxima da sequenciação)	20 horas
Maximum Sample Sheet Wait Time (Tempo máximo de espera por folha de amostras)	96 horas
Maximum Analysis Time (Duração máxima da análise)	3,5 horas
Minimum Scratch Space Storage (Espaço de armazenamento mínimo para rascunho)	200 GB

Fluxo de dados do sistema

Em condições normais, o ATMS envia aos utilizadores notificações do estado dos ensaios de sequenciação e das análises através de um sistema de e-mail. A [Figura 3](#) apresenta o fluxo de dados através do sistema e os estados com as respetivas notificações por e-mail.

- ▶ **Retângulos cinzentos**— Estados de processamento normal
- ▶ **Losangos**— Condições primárias para transição para o estado seguinte
- ▶ **Ovais**— Condições secundárias para transição para o estado seguinte
- ▶ **Retângulos vermelhos**— Estados de falha

Figura 3 Diagrama do fluxo de dados



* O sistema gera uma notificação por e-mail.

** Se o espaço de armazenamento disponível no servidor for inadequado, o sistema gera uma notificação por e-mail.

Durante o processamento normal, o ATMS:

- ▶ Monitoriza o diretório predefinido (/data01/runs) para detetar novos ensaios de sequenciação. Os novos ensaios de sequenciação são definidos como pastas contendo um ficheiro runParameters.xml [NGS opção 1] ou um ficheiro RunParameters.xml [NGS opção 2].
- ▶ Verifica a compatibilidade dos parâmetros dos ensaios de sequenciação com fluxos de trabalho de análise predefinidos.
- ▶ Carrega a folha de amostras.
- ▶ Agenda e executa o processamento analítico para gerar relatórios finais.

A análise é realizada numa célula de fluxo de cada vez. As células de fluxo adicionais que aguardam análise são colocadas em fila de espera no servidor e enviadas para análise pela ordem de carregamento.

Notificações do sistema

O sistema envia notificações por e-mail para indivíduos ou grupos de distribuição por e-mail configurados durante o processo de instalação do servidor. A Illumina recomenda a utilização de grupos de distribuição por e-mail, que o administrador de e-mail pode modificar. Se esses grupos forem configurados com endereços individuais, tem de modificar a configuração do e-mail do servidor de análise em caso de alterações nos utilizadores. As notificações por e-mail indicam o estado durante o funcionamento normal e alertam o utilizador sobre eventuais erros surgidos durante a análise.

A [Tabela 4](#) descreve as várias notificações por e-mail enviadas pelo sistema. As convenções de atribuição de nomes na tabela são exigidas pelo VeriSeq NIPT Analysis Software para importar os ficheiros de saída do NGS.



NOTA

Certifique-se de que as definições de spam do seu e-mail não bloqueiam as notificações do servidor. As notificações por e-mail são enviadas a partir de uma conta chamada `atms@<domínio de e-mail do cliente>`, em que o `<domínio de e-mail do cliente>` é especificado pela equipa local de TI quando o servidor for instalado.

Tabela 4 Notificações de alteração do estado normal e pedidos de ação

Condição	Normal/Alerta/Erro	Exemplo do conteúdo do e-mail de notificação
<p>Sequenciação iniciada.</p> <p>Esta notificação é enviada quando o servidor deteta uma nova pasta do ensaio. A pasta do ensaio contém o ficheiro de parâmetros do ensaio, o qual indica que a sequenciação teve início com os parâmetros de sequenciação apropriados.</p> <p>Nome do ficheiro de parâmetros do ensaio: [NGS opção 1] runParameters.xml [NGS opção 2] RunParameters.xml</p>	Funcionamento normal	<p>Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (Nome da pasta do ensaio de sequenciação: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX)</p> <p>Sequencing Run Status: Sequencing started (Estado do ensaio de sequenciação: sequenciação iniciada)</p> <p>Sequencing Start Time: 2014-05-12 08:15 PDT (Hora de início da sequenciação: 12-05-2014 08:15 PDT)</p> <p>Sequencing Complete Time: NA (Hora de conclusão da sequenciação: NA)</p> <p>Workflow Name: NA (Nome do fluxo de trabalho: NA)</p> <p>Analysis Scheduled Time: NA (Hora agendada para a análise: NA)</p> <p>Analysis Start Time: NA (Hora de início da análise: NA)</p> <p>Analysis Finish Time: NA (Hora de conclusão da análise: NA)</p> <p>Analysis Output Directory: NA (Diretório de saída da análise: NA)</p>
<p>Ensaio de sequenciação concluído.</p>	Funcionamento normal	<p>Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (Nome da pasta do ensaio de sequenciação: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX)</p> <p>Sequencing Run Status: Sequencing completed (Estado do ensaio de sequenciação: sequenciação concluída)</p> <p>Sequencing Start Time: 2014-05-12 08:15 PDT (Hora de início da sequenciação: 12-05-2014 08:15 PDT)</p> <p>Sequencing Complete Time: 2014-05-12 08:16 PDT (Hora de conclusão da sequenciação: 12-05-2014 08:16 PDT)</p> <p>Workflow Name: NA (Nome do fluxo de trabalho: NA)</p> <p>Analysis Scheduled Time: NA (Hora agendada para a análise: NA)</p> <p>Analysis Start Time: NA (Hora de início da análise: NA)</p> <p>Analysis Finish Time: NA (Hora de conclusão da análise: NA)</p> <p>Analysis Output Directory: NA (Diretório de saída da análise: NA)</p>

Condição	Normal/Alerta/Erro	Exemplo do conteúdo do e-mail de notificação
<p>Parâmetros do ensaio de sequenciação não suportados.</p>	<p>Erro (não recuperável)</p>	<p>Sequencing run parameters for sequencing run "140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX" are not supported by any of the configured workflows. (Os parâmetros de ensaio de sequenciação do ensaio de sequenciação "140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX" não são suportados em qualquer um dos fluxos de trabalho configurados). This sequencing run folder will not be processed further. (Esta pasta de ensaio de sequenciação deixará de ser processada). See the following errors: (Veja os seguintes erros:) Workflow Name: (Nome do fluxo de trabalho:) [NGS Option 1] cfDNAHiSeqv1.0 ([NGS opção 1] cfDNAHiSeqv1.0) [NGS Option 2] cfDNANextSeqv1.0 ([NGS opção 2] cfDNANextSeqv1.0) Mismatching Sequence Run Parameters found: NumCycles2, NumIndexed2 (Parâmetros do ensaio de sequenciação com erros de correspondência: NumCycles2, NumIndexed2) Found NumCycles2 value: 10, expected value: 7 (Valor NumCycles2 encontrado: 10, valor esperado: 7) Found NumIndexed2 value: 10, expected value: 7 (Valor NumIndexed2 encontrado: 10, valor esperado: 7)</p>

Condição	Normal/Alerta/Erro	Exemplo do conteúdo do e-mail de notificação
<p>Detetado código de barras de célula de fluxo incorreto na folha das amostras.</p>	<p>Alerta (recuperável no prazo 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: (A folha de amostras do ensaio de sequenciação “140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX” localizada na pasta do ensaio de sequenciação gerou o seguinte erro:)</p> <p>The flow cell ID (barcode) recorded in the sample sheet (“Experiment Name” slot) is “. [O ID da célula de fluxo (código de barras) registado na folha de amostras (campo “Nome da experiência”) é “.”.]</p> <p>This barcode is required to be identical to the barcode associated with the run folder ‘H8HT6ADXX’. (Este código de barras tem de ser obrigatoriamente igual ao código de barras associado à pasta de ensaio “H8HT6ADXX”).</p> <p>Please correct the error in order to proceed with analysis. (Corrija o erro para que a análise possa ser retomada.)</p> <p>The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute. (A folha de amostras vai ser novamente carregada dentro de, aproximadamente, 1 minuto.)</p> <p>The sample sheet is located in the run folder “/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX”. (A folha de amostras encontra-se na pasta de ensaio “/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX”).</p>

Condição	Normal/Alerta/Erro	Exemplo do conteúdo do e-mail de notificação
<p>Especificado fluxo de trabalho não suportado na linha "Description" (Descrição) do cabeçalho da folha das amostras.</p>	<p>Alerta (recuperável no prazo 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: (A folha de amostras do ensaio de sequenciação "140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX" localizada na pasta do ensaio de sequenciação gerou o seguinte erro:) The workflow indicated in the sample sheet 'NIPT template1' is not supported by any of the configured workflows. (O fluxo de trabalho indicado na folha de amostras "NIPT template1" não é suportado por qualquer um dos fluxos de trabalho configurados.) The supported workflow names are: (Os nomes de fluxo de trabalho suportados são:) [NGS Option 1] cfDNAHiSeqv1.0 ([NGS opção 1] cfDNAHiSeqv1.0) [NGS Option 2] cfDNANextSeqv1.0 ([NGS opção 2] cfDNANextSeqv1.0) Please correct the error in order to proceed with analysis. (Corrija o erro para que a análise possa ser retomada.) The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute. (A folha de amostras vai ser novamente carregada dentro de, aproximadamente, 1 minuto.) The sample sheet is located in the run folder "/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX". (A folha de amostras encontra-se na pasta de ensaio "/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX".)</p>

Condição	Normal/Alerta/Erro	Exemplo do conteúdo do e-mail de notificação
<p>Ficheiro SampleSheet.csv em falta na pasta do ensaio de sequenciação.</p>	<p>Alerta (recuperável no prazo de 96 horas)</p>	<p>The sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' in the sequencing run folder generated the following error: (A folha de amostras do ensaio de sequenciação "140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX" localizada na pasta do ensaio de sequenciação gerou o seguinte erro:) '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX/SampleSheet.csv (No such file or directory)'. ["/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX/SampleSheet.csv (Nenhum ficheiro nem diretório existentes)"] Please correct the error in order to proceed with analysis. (Corrija o erro para que a análise possa ser retomada.) The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute. (A folha de amostras vai ser novamente carregada dentro de, aproximadamente, 1 minuto.) The sample sheet is located in the run folder "/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX". (A folha de amostras encontra-se na pasta de ensaio "/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX".)</p>

Condição	Normal/Alerta/Erro	Exemplo do conteúdo do e-mail de notificação
<p>Foram detetados ID da amostra inválidos na folha de amostras</p>	<p>Erro (recuperável mediante correção dos ID da amostra)</p>	<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). [A análise da folha de amostras para o ensaio de sequenciação "160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX" na pasta do ensaio de sequenciação gerou os seguintes erros: Erro: foram encontrados ID da amostra inválidos (contêm caracteres diferentes de caracteres alfanuméricos/traços/de sublinhado.)] Invalid Sample ID values are: Plasma Control. (Os valores de ID da amostra inválidos são: controlo plasmático.)</p> <p>Correct the error to proceed with analysis. (Corrija o erro para que a análise possa ser retomada.) The sample sheet will be uploaded again in approximately 1,0 minutes. (A folha de amostras vai ser novamente carregada dentro de, aproximadamente, 1 minuto.) Sample sheet should be located in the run folder "/data01/runs/160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX". (A folha de amostras deverá estar localizada na pasta de ensaio "/data01/runs/160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX".)</p> <p>Nota: este erro é gerado se quaisquer caracteres inválidos, incluindo espaços, estiverem incluídos na folha de amostras.</p>

Condição	Normal/Alerta/Erro	Exemplo do conteúdo do e-mail de notificação
Linha do cabeçalho em falta na folha de amostras.	Alerta (recuperável no prazo de 96 horas)	<p>Attempt to load sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' generated the following error: (A tentativa de carregamento da folha de amostras do ensaio de sequenciação "140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX" gerou o seguinte erro:) Error: Invalid Sample Sheet Header. (Erro: cabeçalho de folha de amostras inválido.) Missing required fields: Description (Campos obrigatórios em falta: Descrição) Please correct the error in order to proceed with analysis. (Corrija o erro para que a análise possa ser retomada.) The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute. (A folha de amostras vai ser novamente carregada dentro de, aproximadamente, 1 minuto.) The sample sheet is located in the run folder "/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX". (A folha de amostras encontra-se na pasta de ensaio "/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX".)</p>

Condição	Normal/Alerta/Erro	Exemplo do conteúdo do e-mail de notificação
<p>Valores do índice duplicados listados na folha de amostras.</p>	<p>Erro (recuperável mediante correção da folha de amostras)</p>	<p>Parsing the sample sheet for sequencing run '140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2' in the sequencing run folder generated the following error(s): (A análise da folha de amostras para o ensaio de sequenciação "140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2" na pasta do ensaio de sequenciação gerou os seguintes erros:)</p> <p>Error: Duplicate Index value found: ACTGAT (A025) for Lane: 1 [Erro: foi encontrado um valor de índice duplicado: ACTGAT (A025) para a via: 1]</p> <p>Invalid sample record found: S109_S109__A7_A025__ACTGAT__Test_62 for Index: ACTGAT (Foi encontrado um registo da amostra inválido: S109_S109__A7_A025__ACTGAT__Test_62 para o índice: ACTGAT)</p> <p>Duplicate Index value found: ATTCCT (A027) for Lane: 1 [Foi encontrado um valor de índice duplicado: ATTCCT (A027) para a via: 2]</p> <p>Invalid sample record found: S113_S113__B7_A027__ATTCCT__Test_62 for Index: ATTCCT (Foi encontrado um registo da amostra inválido: S113_S113__B7_A027__ATTCCT__Test_62 para o índice: ATTCCT)</p> <p>Duplicate Index value found: ACTGAT (A025) for Lane: 2 .[Foi encontrado um valor de índice duplicado: ACTGAT (A025) para a via: 2]</p> <p>Invalid sample record found: S109_S109__A7_A025__ACTGAT__Test_62 for Index: ACTGAT (Foi encontrado um registo da amostra inválido: S109_S109__A7_A025__ACTGAT__Test_62 para o índice: ACTGAT)</p> <p>Duplicate Index value found: ATTCCT (A027) for Lane: 2 [Foi encontrado um valor de índice duplicado: ATTCCT (A027) para a via: 2]</p> <p>Invalid sample record found: S113_S113__B7_A027__ATTCCT__Test_62 for Index: ATTCCT (Foi encontrado um registo da amostra inválido: S113_S113__B7_A027__ATTCCT__Test_62 para o índice: ATTCCT)</p> <p>Correct the error to proceed with analysis. (Corrija o erro para que a análise possa ser retomada.) The sample sheet will be uploaded again in approximately 1,0 minutes. (A folha de amostras vai ser novamente carregada dentro de, aproximadamente, 1 minuto.) Sample sheet should be located in the run folder '/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2'. (A folha de amostras deve estar localizada na pasta de ensaio "/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2".)</p>

Condição	Normal/Alerta/Erro	Exemplo do conteúdo do e-mail de notificação
Valor da via em falta ou inválida (Apenas NGS opção 1).	Erro (recuperável mediante correção dos ID da amostra)	<p>Parsing the sample sheet for sequencing run '140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY' in the sequencing run folder generated the following error(s): (A análise da folha de amostras para o ensaio de sequenciação "140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY" na pasta do ensaio de sequenciação gerou os seguintes erros:)</p> <p>Error: Invalid Lane value found at row: 47. (Erro: foi encontrado um valor da via inválido na fila: 47.) Invalid value: Invalid Lane value found at row: 47. (Valor inválido: foi encontrado um valor da via inválido na fila: 47.)</p> <p>Invalid value: Invalid Sample IDs found (contain characters other than alpha-numeric / dashes / underscores). [Valor inválido: foram encontrados ID da amostra inválidos (contêm caracteres que não são alfanuméricos/travessões/de sublinhado).] Invalid Sample ID values are: <blank> (Os valores de ID da amostra inválidos são: <blank>)</p> <p>Correct the error to proceed with analysis. (Corrija o erro para que a análise possa ser retomada.) The sample sheet will be uploaded again in approximately 1,0 minutes. (A folha de amostras vai ser novamente carregada dentro de, aproximadamente, 1 minuto.) Sample sheet should be located in the run folder "/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY" (A folha de amostras deve estar localizada na pasta de ensaio "/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY".)</p>

Condição	Normal/Alerta/Erro	Exemplo do conteúdo do e-mail de notificação
O ensaio de sequenciação falhou. Não existe o ficheiro RTA Complete. Esta notificação é enviada quando o ficheiro RTA Complete não é detetado após 20 horas.	Erro (não recuperável—ficheiro RTAComplete.txt ao fim de um período máximo de espera de 20 horas)	Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_D12_NO_RTAComplete_TC_SC_3 (Nome da pasta do ensaio de sequenciação: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_D12_NO_RTAComplete_TC_SC_3) Sequencing Run Status: Failed sequencing (Estado do ensaio de sequenciação: sequenciação falhou) Sequencing Start Time: 2014-05-12 19:45 PDT (Hora de início da sequenciação: 12-05-2014 19:45 PDT) Sequencing Complete Time: NA (Hora de conclusão da sequenciação: NA) Workflow Name: NA (Nome do fluxo de trabalho: NA) Analysis Scheduled Time: NA (Hora agendada para a análise: NA) Analysis Start Time: NA (Hora de início da análise: NA) Analysis Finish Time: NA (Hora de conclusão da análise: NA) Analysis Output Directory: NA (Diretório de saída da análise: NA)
Análise iniciada. Esta notificação é enviada quando a análise é iniciada. É apresentada após o ficheiro RTA Complete ser detetado, o que ativa a análise. A análise demora 1 a 2 horas a ser executada.	Funcionamento normal	Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (Nome da pasta do ensaio de sequenciação: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX) Sequencing Run Status: Analysis started (Estado do ensaio de sequenciação: análise iniciada) Sequencing Start Time: 2014-05-12 19:45 PDT (Hora de início da sequenciação: 12-05-2014 19:45 PDT) Sequencing Complete Time: 2014-05-12 19:55 PDT (Hora de conclusão da sequenciação: 12-05-2014 19:55 PDT) Workflow Name: (Nome do fluxo de trabalho:) [NGS Option 1] cfDNAHiSeqv1.0 ([NGS opção 1] cfDNAHiSeqv1.0) [NGS Option 2] cfDNANextSeqv1.0 ([NGS opção 2] cfDNANextSeqv1.0) Analysis Scheduled Time: 2014-05-12 20:05 PDT (Hora agendada para a análise: 12-05-2014 20:05 PDT) Analysis Start Time: 2014-05-12 20:06 PDT (Hora de início da análise: 12-05-2014 20:06 PDT) Analysis Finish Time: NA (Hora de conclusão da análise: NA) Analysis Output Directory: NA (Diretório de saída da análise: NA)

Condição	Normal/Alerta/Erro	Exemplo do conteúdo do e-mail de notificação
<p>A análise falhou. O sistema reprocessa automaticamente o ensaio 3 vezes.</p>	<p>Alerta (recuperável tentando executar novamente a análise—o ATMS volta a colocar em fila de espera para processamento até um máximo de 3 vezes)</p>	<p>Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (Nome da pasta do ensaio de sequenciação: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX) (Estado do ensaio de sequenciação: análise falhou) It will automatically be restarted to reprocess the run. (Esta reiniciará automaticamente para processar o ensaio novamente.) Sequencing Start Time: 2014-05-11 08:26 PDT (Hora de início da sequenciação: 11-05-2014 08:26 PDT) Sequencing Complete Time: 2014-05-11 08:27 PDT (Hora de conclusão da sequenciação: 11-05-2014 08:27 PDT) Workflow Name: (Nome do fluxo de trabalho:) [NGS Option 1] cfDNAHiSeqv1.0 ([NGS opção 1] cfDNAHiSeqv1.0) [NGS Option 2] cfDNANextSeqv1.0 ([NGS opção 2] cfDNANextSeqv1.0) Analysis Scheduled Time: 2014-05-11 08:47 PDT (Hora agendada para a análise: 11-05-2014 08:47 PDT) Analysis Start Time: 2014-05-11 08:57 PDT (Hora de início da análise: 11-05-2014 08:57 PDT) Analysis Finish Time: 2014-05-11 08:59 PDT (Hora de conclusão da análise: 11-05-2014 08:59 PDT) Analysis Output Directory: NA (Diretório de saída da análise: NA)</p>

Condição	Normal/Alerta/Erro	Exemplo do conteúdo do e-mail de notificação
<p>Número máximo de tentativas de análise falhadas. Esta notificação é enviada após a terceira tentativa de análise mal-sucedida.</p>	<p>Erro (não recuperável)</p>	<p>Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_TC_A_3 (Nome da pasta do ensaio de sequenciação: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_TC_A_3) Sequencing Run Status: Maximum number of analysis attempts were exhausted. (Estado do ensaio de sequenciação: o número máximo de tentativas de análise foi excedido.) Please contact Illumina Technical Support. (Contacte o Suporte Técnico da Illumina) Sequencing Start Time: 2014-05-13 07:00 PDT (Hora de início da sequenciação: 13-05-2014 07:00 PDT) Sequencing Complete Time: 2014-05-13 07:01 PDT (Hora de conclusão da sequenciação: 13-05-2014 07:01 PDT) Workflow Name: (Nome do fluxo de trabalho:) [NGS Option 1] cfDNAHiSeqv1.0 ([NGS opção 1] cfDNAHiSeqv1.0) [NGS Option 2] cfDNANextSeqv1.0 ([NGS opção 2] cfDNANextSeqv1.0) Analysis Scheduled Time: 2014-05-13 07:09 PDT (Hora agendada para a análise: 13-05-2014 07:09 PDT) Analysis Start Time: 2014-05-13 07:11 PDT (Hora de início da análise: 13-05-2014 07:11 PDT) Analysis Finish Time: 2014-05-13 07:12 PDT (Hora de conclusão da análise: 13-05-2014 07:12 PDT) Analysis Output Directory: NA (Diretório de saída da análise: NA)</p>

Condição	Normal/Alerta/Erro	Exemplo do conteúdo do e-mail de notificação
<p>O nome da pasta do ensaio contém caracteres não suportados.</p>	<p>Erro (recuperável removendo os caracteres não suportados)</p>	<p>Invalid Sequencing Run Folder name found: "140207 D00409 0027 AH8HT6ADXX" The Sequencing Run Folder name can only contain the following alphanumeric characters: a-z, A-Z, 0-9, and underscores ("_"). [Foi encontrado um nome de pasta de ensaio de sequenciação inválido: "140207 D00409 0027 AH8HT6ADXX" O nome da pasta de ensaio de sequenciação apenas pode conter os seguintes caracteres alfanuméricos: a-z, A-Z, 0-9 e caracteres de sublinhado ("_").] No spaces or other characters are allowed. (Não são permitidos espaços nem quaisquer outros caracteres.) This sequencing run folder will not be processed further. (Esta pasta de ensaio de sequenciação deixará de ser processada). Correct the run folder name to requeue for analysis. (Corrija o nome da pasta do ensaio para ser recolocado em fila para análise.)</p>
<p>Criado relatório de sequenciação do cfDNA.</p>	<p>Funcionamento normal</p>	<p>Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (Nome da pasta do ensaio de sequenciação: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX) Sequencing Run Status: Reports generated (Estado de ensaio de sequenciação: relatórios gerados) Sequencing Start Time: 2014-05-12 19:45 PDT (Hora de início da sequenciação: 12-05-2014 19:45 PDT) Sequencing Complete Time: 2014-05-12 19:55 PDT (Hora de conclusão da sequenciação: 12-05-2014 19:55 PDT) Workflow Name: (Nome do fluxo de trabalho): [NGS Option 1] cfDNAHiSeqv1.0 ([NGS opção 1] cfDNAHiSeqv1.0) [NGS Option 2] cfDNANextSeqv1.0 ([NGS opção 2] cfDNANextSeqv1.0) Analysis Scheduled Time: 2014-05-12 20:05 PDT (Hora agendada para a análise: 12-05-2014 20:05 PDT) Analysis Start Time: 2014-05-12 20:06 PDT (Hora de início da análise: 12-05-2014 20:06 PDT) Analysis Finish Time: 2014-05-12 21:24 PDT (Hora de conclusão da análise: 12-05-2014 21:24 PDT) Analysis Output Directory: /data01/analysis_output/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_140512_200514 (Diretório de saída da análise: /data01/analysis_output/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_140512_200514)</p>

Encerramento do sistema

Recuperação de um encerramento inesperado

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

- ▶ Reinicia automaticamente o software após a sequência de arranque.
- ▶ Reconhece a última análise executada no momento do encerramento como tendo falhado e reenvia-a para a fila para processamento.
- ▶ Apresenta os resultados uma vez concluída a análise com sucesso.



NOTA

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

Análise e relatórios

Especificação de folhas de amostras e regras de validação	24
Desmultiplexagem e geração de ficheiros FASTQ	35
Recolocação da análise em fila de espera	36
Arquivar e fazer cópias de segurança dos dados	38
Especificações de relatórios e interpretação de indicadores	39
Verificar se o ATMS está em execução	42

Especificação de folhas de amostras e regras de validação

Esta secção contém instruções para a criação da folha de amostras, a qual é necessária para a análise de uma pasta de ensaio pelo VeriSeq NIPT Analysis Software. Siga as instruções relativas à opção NGS que estiver a utilizar.



NOTA

Confirme se o mapeamento do ID da amostra com os índices associados está correto. É necessário um mapeamento preciso para manter a integridade das amostras. A folha de amostras deve ser verificada por uma segunda pessoa, exceto a pessoa responsável pela sua criação, antes do início do ensaio de sequenciação. Eventuais erros no estabelecimento de correspondências entre as amostras e os índices apropriados podem dar origem à comunicação de resultados potencialmente incorretos para amostras erradamente identificadas.



NOTA

Inclua sempre um controlo do processo e um controlo negativo (sem modelo) no lote de amostras. O controlo do processo (mas não o controlo negativo) deve ser adicionado ao pool da biblioteca e identificado como tipo de amostra Controlo na folha de amostras. Não adicione o controlo negativo ao lote de amostras ou à folha de amostras.

NGS opção 1

O VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples) exige uma folha de amostras para cada célula de fluxo. Para o fluxo de trabalho do NGS opção 1, as folhas de amostras são carregadas durante a configuração do ensaio de sequenciação e colocadas na pasta de saída como ficheiros “SampleSheet.csv”. A folha de amostras é um ficheiro separado por vírgulas que contém 2 secções: um cabeçalho que capta informações do ensaio e uma secção de dados que capta atributos específicos das amostras. O NGS opção 1 utiliza uma célula de fluxo de 2 vias. É executado o mesmo grupo de amostras nas duas vias (1 e 2). Quando introduzir as informações da amostra na folha de amostras, cada Sample_ID (ID da amostra), bem como cada combinação de poços e índices têm de ser listados nas vias 1 e 2. A Sample_ID, bem como a combinação de poços e índices têm de ser exclusivos numa via.

Confirme se o mapeamento do ID da amostra com o respetivo índice está correto. É necessário um mapeamento preciso para manter a integridade das amostras.

Consulte a [Tabela 5](#) e a [Tabela 6](#) para exemplos de secções de cabeçalho e de dados das folhas de amostras.



NOTA

As convenções de atribuição de nomes na tabela seguinte são exigidas pelo VeriSeq NIPT Analysis Software para importar os ficheiros de saída do NGS.

Tabela 5 Exemplo de folha de amostras do NGS opção 1 (Secção do cabeçalho)

[Header] (Cabeçalho)	
IEMFileVersion (Versão do ficheiro IEM)	4
Investigator Name (Nome do investigador)	
Experiment Name (Nome da experiência)	H9KY7ADXX
Date (Data)	
Workflow (Fluxo de trabalho)	GenerateFASTQ
Application (Aplicação)	Apenas HiSeq FASTQ
Assay (Ensaio)	TruSeq LT
Description (Descrição)	cfDNAHiSeqv1.0
Chemistry (Química)	Predefinição
[Reads] (Leituras)	
	36
[Settings] (Definições)	



NOTA

A secção do cabeçalho da folha de amostras tem de apresentar o ID exato da célula de fluxo (tudo em letras maiúsculas) no campo “Experiment Name” (Nome da experiência) e o campo “Description” (Descrição) tem de conter “cfDNAHiSeqv1.0”.

Tabela 6 Exemplo de folha de amostras do NGS opção 1 (secção de dados)

[Data] (Dados)										
Lane (Via)	Sample_ ID (ID da amostra)	Sample_ Name (Nome da amostra)	Sample_ Plate (Placa da amostra)	Sample_ Well (Poço da amostra)	I7_Index_ ID (ID do índice I7)	Index (Índice)	Sample_ Project (Projeto da amostra)	Description (Descrição)	SampleType (Tipo da amostra)	Library_ nM (Biblioteca nM)
1	Sample1	Sample1		A1	A002	CGATGT			Teste	80,87774
1	Sample2	Sample2		B1	A005	ACAGTG			Teste	75,3396
1	Sample3	Sample3		C1	A007	CAGATC			Teste	87,35632
1	Sample4	Sample4		D1	A012	CTTGTA			Teste	68,02508
1	Sample5	Sample5		E1	A013	AGTCAA			Teste	97,49216
1	Sample6	Sample6		F1	A014	AGTTCC			Teste	93,20794
1	Sample7	Sample7		G1	A018	GTCCGC			Teste	63,63636
1	Sample8	Sample8		H1	A019	GTGAAA		Biblioteca falhada	Teste	5,2
1	Sample9	Sample9		A2	A001	ATCACG			Teste	84,6395
1	Sample10	Sample10		B2	A003	TTAGGC			Teste	81,5047
1	Sample11	Sample11		C2	A008	ACTTGA			Teste	78,78788
1	Sample12	Sample12		D2	A010	TAGCTT			Teste	83,17659
1	Sample13	Sample13		E2	A020	GTGGCC			Teste	79,62382
1	Sample14	Sample14		F2	A022	CGTACG			Teste	62,59143
1	Control-ID	Control-ID		G2	A025	ACTGAT			Controlo	65,20376
2	Sample1	Sample1		A1	A002	CGATGT			Teste	80,87774
2	Sample2	Sample2		B1	A005	ACAGTG			Teste	75,3396
2	Sample3	Sample3		C1	A007	CAGATC			Teste	87,35632
2	Sample4	Sample4		D1	A012	CTTGTA			Teste	68,02508
2	Sample5	Sample5		E1	A013	AGTCAA			Teste	97,49216
2	Sample6	Sample6		F1	A014	AGTTCC			Teste	93,20794
2	Sample7	Sample7		G1	A018	GTCCGC			Teste	63,63636
2	Sample8	Sample8		H1	A019	GTGAAA		Biblioteca falhada	Teste	5,2
2	Sample9	Sample9		A2	A001	ATCACG			Teste	84,6395

2	Sample10	Sample10	B2	A003	TTAGGC	Teste	81,5047
2	Sample11	Sample11	C2	A008	ACTTGA	Teste	78,78788
2	Sample12	Sample12	D2	A010	TAGCTT	Teste	83,17659
2	Sample13	Sample13	E2	A020	GTGGCC	Teste	79,62382
2	Sample14	Sample14	F2	A022	CGTACG	Teste	62,59143
2	Control-ID	Control-ID	G2	A025	ACTGAT	Controlo	65,20376

As regras de validação de folhas de amostras para as secções de cabeçalho e de dados estão descritas na [Tabela 7](#) e na [Tabela 8](#). Os dados em cada célula da folha de amostras não podem exceder 100 caracteres.



NOTA

As convenções de atribuição de nomes na tabela seguinte são exigidas pelo VeriSeq NIPT Analysis Software para importar os ficheiros de saída do NGS.

Tabela 7 Regras de validação de folhas de amostras (secção do cabeçalho)

Campo	Obrigatório	Regras de validação
IEMFileVersion (Versão do ficheiro IEM)	Sim	Tem de ser 4.
Investigator Name (Nome do investigador)	Sim	Sem regras de validação.
Experiment Name (Nome da experiência)	Sim	Tem de ser o ID da célula de fluxo (tudo em letras maiúsculas). Validado por comparação com o código de barras contido em runParameters.xml.
Date (Data)	Sim	Sem regras de validação.
Workflow (Fluxo de trabalho)	Sim	Sem regras de validação.
Application (Aplicação)	Sim	Sem regras de validação.
Assay (Ensaio)	Sim	Sem regras de validação.
Description (Descrição)	Sim	Tem de ser cfDNAHiSeqv1.0
Chemistry (Química)	Sim	Sem regras de validação.

Tabela 8 Regras de validação da folha de amostras do NGS opção 1 (Secção de dados)

Nome da coluna	Interpretação	Classe	Entradas válidas	Obrigatório	Regras de validação
Lane (Via)	Via na qual a amostra está localizada	Número inteiro	1, 2	Sim	Tem de ser 1 ou 2.
Sample_ID (ID da amostra)	ID da amostra (utilizado para gerar relatórios de saída cADAS)	Cadeia de caracteres	Exclusiva para cada índice na célula de fluxo	Sim	Para um determinado ID de amostra, todos os valores de dados da folha de amostras têm de ser idênticos, exceto no que se refere à via. O ID da amostra apenas pode conter caracteres alfanuméricos, incluindo a-z, A-Z, 0-9, caracteres de sublinhado e traços (“-”). O ID da amostra não pode conter espaços. Evite combinar múltiplos caracteres de sublinhado e traços de forma consecutiva. A partir da versão 1.4, o Sample_ID (ID da amostra) não pode começar por 0 (zero).

Nome da coluna	Interpretação	Classe	Entradas válidas	Obrigatório	Regras de validação
Sample_Name (Nome da amostra)	Nome da amostra	Cadeia de caracteres	Ignorado	Não	Este campo pode estar em branco. Não se aplicam quaisquer regras de validação. O nome da amostra fica truncado após 100 caracteres.
Sample_Plate (Placa da amostra)	ID da placa de amostras	Cadeia de caracteres	PXXXX, em que XXXX são valores numéricos	Não	Este campo pode estar em branco. Não se aplicam quaisquer regras de validação. O ID da placa de amostras fica truncado após 100 caracteres.
Sample_Well (Poço da amostra)	ID do poço da amostra	Cadeia de caracteres	A01 – A08 B01 – B08	Sim	São suportados os formatos A1 e A01. Os valores são validados por comparação com uma expressão regular. O primeiro carácter é A–H e os 2 seguintes podem ser 1–12 ou 01–12.
I7_Index_ID (ID do índice I7)	ID do índice	Cadeia de caracteres	A001 – A024	Sim	O primeiro carácter é sempre A, seguido de 3 dígitos numéricos. Consulte a Tabela 12 .
Index (Índice)	Composição do índice	Cadeia de caracteres		Sim	Qualquer sequência de índice contida na Tabela 12 é permitida. O número total de valores de índice numa determinada via tem de ser 8 ou mais. Se for inferior a 8, ocorre um erro. É efetuada uma validação adicional para corresponder o I7_Index_ID aos pares de valores de índice. Para um determinado valor de via, todos os valores de índice têm de ser exclusivos.
Sample_Project (Projeto da amostra)	Nome do projeto	Cadeia de caracteres	Ignorado	Não	Este campo pode estar em branco.
Description (Descrição)	Descrição da amostra	Cadeia de caracteres	Ignorado	Não	Este campo pode estar em branco. Se a palavra “failed” (falhou) estiver presente neste campo, a amostra é assinalada como tendo falhado, não sendo comunicados resultados para a mesma.
SampleType (Tipo da amostra)	Tipo de amostra	Cadeia de caracteres	“Patient” (Paciente), “Test” (Teste), “Control” (Controlo)	Sim	Tem de ser “Patient” (Paciente), “Test” (Teste), “Control” (Controlo) (A validação é sensível a maiúsculas e a minúsculas.)
Library_nM (Biblioteca nM)	Concentração da biblioteca	Efetiva	Valores numéricos	Sim	Tem de ser numérica.

O utilizador pode excluir uma amostra da análise ao indicar “failed” (reprovada) (não sensível a maiúsculas e a minúsculas) no campo de descrição dessa amostra na folha das amostras. Este procedimento controla as amostras não submetidas a sequenciação devido a falha do CQ pré-sequenciação ao longo de todo o fluxo de trabalho. O valor apresentado no campo de descrição da amostra é incluído no ficheiro de saída e os campos de dados contêm valores em branco.

NGS opção 2

O fluxo de trabalho da configuração de ensaios do NGS opção 2 não inclui uma opção para carregar uma folha de amostras manualmente na configuração de ensaios. Em vez disso, após a deteção de um novo ensaio, o utilizador coloca a folha de amostras com o nome `samplesheet.csv` na pasta de saída do ensaio, na pasta de ensaio existente no servidor de análise. O ATMS envia um e-mail ao utilizador a indicar que detetou um novo ensaio após o armazenamento do ficheiro `RunParameters.xml` na pasta de ensaio existente no diretório `/data01/runs` do servidor de análise e após o início da sequenciação. Deve colocar a folha de amostras na pasta de ensaio antes do final do ensaio de sequenciação (antes do ficheiro `RTAComplete.txt` ser guardado na pasta de ensaio).



NOTA

Se o ficheiro `samplesheet.csv` não estiver presente na pasta de saída do ensaio quando o ficheiro `RTAComplete.txt` for guardado, o Analysis Software enviará uma notificação. Consulte o [Capítulo 2 Funcionamento do sistema](#), [Notificações do sistema](#), [Tabela 4 na página 10](#).

Quando utiliza o NGS opção 2, é executado o mesmo grupo de amostras em toda a célula de fluxo. Os números das vias não se encontram especificados na folha de amostras. Quando introduzir as informações da amostra na folha de amostras, cada `Sample_ID` (ID da amostra), bem como cada combinação de poços e índices, serão listados na secção de dados da folha de amostras. Cada `Sample_ID`, bem como cada combinação de poços e índices, deverão ser exclusivos.

Confirme se o mapeamento do ID da amostra com os índices associados está correto. É necessário um mapeamento preciso para manter a integridade das amostras.

Consulte a [Tabela 9](#) e a [Tabela 10](#) para exemplos de secções de cabeçalho e de dados das folhas de amostras.



NOTA

As convenções de atribuição de nomes na tabela seguinte são exigidas pelo VeriSeq NIPT Analysis Software para importar os ficheiros de saída do NGS.

Tabela 9 Exemplo de folha de amostras do NGS opção 2 (Secção do cabeçalho)

[Header] (Cabeçalho)	
IEMFileVersion (Versão do ficheiro IEM)	4
Investigator Name (Nome do investigador)	Nome
Experiment Name (Nome da experiência)	FlowCellID
Date (Data)	2/4/2014
Workflow (Fluxo de trabalho)	GenerateFASTQ
Application (Aplicação)	Apenas FASTQ
Assay (Ensaio)	TruSeq LT
Description (Descrição)	cfDNANextSeqv1.0
Chemistry (Química)	Predefinição
[Reads] (Leituras)	
	36
[Settings] (Definições)	
ReverseComplement (Complemento inverso)	0



NOTA

A secção do cabeçalho da folha de amostras tem de apresentar o ID exato da célula de fluxo (tudo em letras maiúsculas) no campo “Experiment Name” (Nome da experiência) e o campo “Description” (Descrição) tem de conter “cfDNANextSeqv1.0”.

Tabela 10 Exemplo de folha de amostras do NGS opção 2 (Secção de dados)

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

As regras de validação da folha de amostras para as secções de dados estão descritas na [Tabela 11](#). Os dados em cada célula da folha de amostras não podem exceder 100 caracteres.

Tabela 11 Regras de validação da folha de amostras do NGS opção 2 (Secção de dados)

Nome da coluna	Interpretação	Classe	Entradas válidas	Obrigatório	Regras de validação
Sample_ID (ID da amostra)	ID da amostra (utilizado para gerar relatórios de saída cADAS)	Cadeia de caracteres	Exclusiva para cada índice na célula de fluxo	Sim	O ID da amostra apenas pode conter caracteres alfanuméricos, incluindo a-z, A-Z, 0-9, caracteres de sublinhado e traços ("-"). O ID da amostra não pode conter espaços. Evite combinar múltiplos sublinhados e hífenes seguidos. A partir da versão 1.4, o Sample_ID (ID da amostra) não pode começar por 0 (zero).
Sample_Name (Nome da amostra)	Nome da amostra	Cadeia de caracteres	Texto livre	Não	Este campo pode estar em branco. Não se aplicam quaisquer regras de validação. O nome fica truncado após 100 caracteres.
Sample_Plate (Placa da amostra)	ID da placa de amostras	Cadeia de caracteres	PXXXX, em que XXXX são valores numéricos	Não	Este campo pode estar em branco. Não se aplicam quaisquer regras de validação. O ID da placa de amostras fica truncado após 100 caracteres.
Sample_Well (Poço da amostra)	ID do poço da amostra	Cadeia de caracteres	A01 – A08 B01 – B08	Sim	São suportados os formatos A1 e A01. Os valores são validados por comparação com uma expressão regular. O primeiro carácter é A-H e os 2 seguintes podem ser 1-12 ou 01-12.
I7_Index_ID (ID do índice I7)	ID do índice	Cadeia de caracteres	A001 – A024	Sim	O primeiro carácter é sempre A, seguido de 3 dígitos numéricos.
Index (Índice)	Composição do índice	Cadeia de caracteres		Sim	Qualquer sequência de índice contida na Tabela 12 é permitida. O número total de valores de índice numa determinada via tem de ser 8 ou mais. Se for inferior a 8, ocorre um erro. É efetuada uma validação adicional para corresponder o I7_Index_ID aos pares de valores de índice. Para cada folha de amostras, todos os valores de Índice são exclusivos. Não podem ser duplicados.
Sample_Project (Projeto da amostra)	Nome do projeto	Cadeia de caracteres	Ignorado	Não	Este campo pode estar em branco.

Nome da coluna	Interpretação	Classe	Entradas válidas	Obrigatório	Regras de validação
Description (Descrição)	Descrição da amostra	Cadeia de caracteres	Ignorado	Não	Este campo pode estar em branco. Se a palavra “failed” (falhou) estiver presente neste campo, a amostra é assinalada como tendo falhado, não sendo comunicados resultados para a mesma.
SampleType (Tipo da amostra)	Tipo de amostra	Cadeia de caracteres	“Patient” (Paciente), “Test” (Teste), “Control” (Controlo)	Sim	Tem de ser “Patient” (Paciente), “Test” (Teste), “Control” (Controlo) (A validação é sensível a maiúsculas e a minúsculas.)
Library_nM (Biblioteca nM)	Concentração da biblioteca	Efetiva	Valores numéricos	Sim	Tem de ser numérica.

O utilizador pode excluir uma amostra da análise ao indicar “failed” (reprovada) (não sensível a maiúsculas e a minúsculas) no campo de descrição dessa amostra na folha das amostras. Este procedimento controla as amostras não submetidas a sequenciação devido a falha do CQ pré-sequenciação ao longo de todo o fluxo de trabalho. O valor apresentado no campo de descrição da amostra é incluído no ficheiro de saída e os campos de dados contêm valores em branco. Consulte os valores de índice válidos na [Tabela 12](#).

Valores de índice válidos

Tabela 12 Valores de índice válidos

I7_Index_ID (ID do índice I7)	Index (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

Desmultiplexagem e geração de ficheiros FASTQ

O NGS opção 1 utiliza um desmultiplexador personalizado. O NGS opção 2 utiliza o conversor bcl2fastq v2 para desmultiplexagem e geração de ficheiros FASTQ. As duas opções de análise produzem um ficheiro relacionado adicional da folha de amostras na pasta de ensaio, para além do ficheiro original SampleSheet.csv.

- ▶ **SampleSheet.csv**—A amostra original fornecida pelo utilizador.
- ▶ **sample_sheet_processed_YYYY_MM_DD_hh-mm-ss.txt**—Um ficheiro gerado pelo ATMS após a leitura da folha de amostras fornecida pelo utilizador. Este ficheiro contém as informações transmitidas aos passos de análise de dados posteriores.



NOTA

Não aceda à folha de amostras enquanto estiver a decorrer a análise, exceto se receber instruções para o fazer durante a etapa de validação da folha de amostras.

Recolocação da análise em fila de espera



NOTA

APENAS experimente uma recolocação em fila de espera depois de recebida uma notificação por e-mail do servidor relativamente a um erro na folha de amostras.

Pode voltar a colocar o seu ensaio em fila de espera para efeitos de análise se a folha de amostras contiver erros que não afetem a validação nem a análise. As alterações na folha de amostras descritas abaixo só devem ser feitas depois de recebida uma notificação por e-mail do servidor que indique um erro na folha de amostras. Por exemplo:

- ▶ Linhas ou colunas vazias
- ▶ Linha de cabeçalho em falta
- ▶ Fluxo de trabalho não suportado na linha de cabeçalho “Description” (Descrição)
- ▶ Código de barras da célula de fluxo incorreto

Pasta de ensaio localizada no servidor

Este procedimento descreve como voltar a colocar a análise em fila de espera quando a pasta de ensaio estiver localizada no servidor.

- 1 Num computador da mesma rede que a do servidor de análise, abra o Explorador do Windows e navegue até ao diretório /runs.
- 2 Localize a pasta de ensaio que pretenda voltar a colocar em fila de espera para efeitos de análise.
- 3 Clique com o botão direito do rato na pasta de ensaio e clique em **Copy** (Copiar).
- 4 Clique com o botão direito do rato em qualquer sítio no diretório /runs e clique em **Paste** (Colar).
O sistema cria uma cópia da pasta de ensaio com a palavra “ - Copy” acrescentada no fim do nome da pasta. Por exemplo, Run_Folder_Name - Copy.
O sistema envia uma notificação por e-mail sobre caracteres ilegais no nome da pasta, a qual o utilizador pode ignorar.



NOTA

Não avance para o passo seguinte enquanto a pasta de ensaio não estiver totalmente copiada, o que demora cerca de 30 minutos.

- 5 Abra a pasta de ensaio copiada e elimine o seguinte ficheiro:
sample_sheet_processed_YYYY_MM_DD_hh-mm-ss.txt
- 6 Trabalhando na pasta de ensaio copiada, edite o ficheiro SampleSheet.csv para corrigir os erros. Elimine quaisquer filas ou colunas vazias.
- 7 Guarde a folha de amostras na pasta de ensaio copiada como SampleSheet.csv para substituir o ficheiro existente.
Certifique-se de que o ficheiro permanece no formato CSV (valores separados por vírgulas). Alguns pacotes de software de folhas de cálculo podem alterar o formato de ficheiro sem avisar e substituir as vírgulas por outros símbolos. Não modifique a folha de amostras depois de a ter guardado na pasta de ensaio copiada.
- 8 Para iniciar a análise, mude o nome da pasta de ensaio copiada do seguinte modo:
 - a Clique com o botão direito do rato na pasta de ensaio copiada e clique em **Rename** (Mudar o Nome).

- b Substitua os espaços e o travessão por um carácter de sublinhado (_). Por exemplo, Run_Folder_Name_Copy.



NOTA

Não acrescente caracteres no início do nome da pasta. Por exemplo, Copy_Run_Folder_Name. Adicione caracteres apenas no fim do nome da pasta, utilizando apenas os seguintes caracteres alfanuméricos: a–z, A–Z, 0–9 e o carácter de sublinhado (“_”). Os espaços, travessões e outros caracteres não são permitidos.

O sistema analisa automaticamente a pasta Run_Folder_Name_Copy.

- 9 Se o ficheiro sample_sheet_processed_YYYY_MM_DD_hh-mm-ss.txt não for criado no prazo de 30 minutos, consulte *Resolução de problemas na recolocação da análise em fila de espera* na página 38.

Copiar um ensaio concluído para o servidor e colocar em fila de espera para análise

Este procedimento descreve como copiar manualmente uma pasta de ensaio para o servidor e colocá-la em fila de espera para análise.



NOTA

Siga o procedimento de acordo com a sequência exata indicada abaixo.

Antes de copiar a pasta de ensaio para o servidor de análise, os passos de 1 a 5 têm de estar executados.

- 1 Abra a pasta de ensaio e mova o ficheiro **RTAcomplete.txt** para uma localização fora da pasta de ensaio.
- 2 Elimine o seguinte ficheiro da pasta de ensaio:
sample_sheet_processed_YYYY_MM_DD_hh-mm-ss.txt
- 3 Se necessário, edite a folha de amostras original para corrigir erros ou para fazer outras alterações. Elimine quaisquer filas ou colunas vazias.
- 4 Guarde a folha de amostras na pasta de ensaio como SampleSheet.csv para substituir o ficheiro existente.
Não modifique a folha de amostras depois de a ter guardado na pasta de ensaio.
- 5 Certifique-se de que a pasta de ensaio ainda não contém o ficheiro RTAComplete.txt.
- 6 Clique com o botão direito do rato na pasta de ensaio e clique em **Copy** (Copiar).
- 7 Num computador da mesma rede que a do servidor de análise, abra o Explorador do Windows e navegue até ao diretório /runs.
- 8 Clique com o botão direito do rato em qualquer sítio no diretório /runs e clique em **Paste** (Colar).



NOTA

Não avance para o passo seguinte enquanto a pasta de ensaio não estiver totalmente copiada, o que demora cerca de 30 minutos ou mais, dependendo da velocidade da rede.

Não acrescente caracteres no início do nome da pasta. Por exemplo, Copy_Run_Folder_Name. Adicione caracteres apenas no fim do nome da pasta, utilizando apenas os seguintes caracteres alfanuméricos: a–z, A–Z, 0–9 e o carácter de sublinhado (“_”). Os espaços, travessões e outros caracteres não são permitidos.

- 9 Para iniciar a análise, copie o ficheiro **RTAcomplete.txt** na localização para onde o moveu e cole-o na pasta de ensaio.

O sistema volta a analisar automaticamente a pasta de ensaio.

- 10 Se o ficheiro `sample_sheet_processed_YYYY_MM_DD_hh-mm-ss.txt` não for criado no prazo de 30 minutos, consulte *Resolução de problemas na recolocação da análise em fila de espera* na página 38.

Resolução de problemas na recolocação da análise em fila de espera

- 1 Verifique se tem um e-mail de notificação de erro.
- 2 Analise o e-mail para obter informação sobre erros na folha de amostras.
Analise toda a mensagem de e-mail porque o erro referente ao problema em causa pode estar listado no final da mensagem.
- 3 Se não for possível corrigir os erros, repita o procedimento de recolocação da análise em fila de espera que se aplica à pasta de ensaio.
- 4 Contacte o Suporte Técnico da Illumina se ocorrerem as seguintes situações:
 - ▶ Não recebe um e-mail de notificação de erro.
 - ▶ A análise não é executada.
 - ▶ A folha de amostras não contém errosMencione NIPT16 durante a chamada ou inclua essa referência na linha de assunto do e-mail.

Arquivar e fazer cópias de segurança dos dados

A Illumina recomenda arquivar os diretórios `/data01/runs` e `/data01/analysis_output` em conformidade com as políticas de arquivo do centro de TI local. O software monitoriza o espaço que sobra no diretório `/data01/runs` e notifica os utilizadores por e-mail quando a capacidade de armazenamento restante for inferior a 200 GB.

Não deve utilizar o VeriSeq NIPT Analysis Server para o armazenamento de dados. Deve transferir os dados do servidor de análise e arquivá-los regularmente.

Um ensaio de sequenciação normal que é compatível com o fluxo de trabalho de análise cfDNA requer aproximadamente 11–13 GB para NGS opção 1 e aproximadamente 11–16 GB para NGS opção 2. O tamanho efetivo da pasta do ensaio depende da densidade final do cluster. O servidor dispõe de mais de 4 TB de espaço de armazenamento, o que constitui espaço suficiente para mais de 200 ensaios de sequenciação.

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

Especificações de relatórios e interpretação de indicadores

A pasta de saída da análise da sequenciação de cfDNA contém 2 ficheiros de texto no formato separado por vírgulas. O primeiro ficheiro, <Run_Folder_Name>_NIPT_Results.csv, contém todos os dados das amostras e da célula de fluxo, bem como os indicadores de CQ. Este ficheiro identifica também a versão do software utilizado para gerar os resultados. O segundo ficheiro, <Run_Folder_Name>_Misindexed_Results.csv, apresenta uma tabela do número de leituras na célula de fluxo para os índices identificados durante a desmultiplexagem que não estejam especificados na folha de amostras. Um terceiro ficheiro .txt, REPORT.Complete.txt, está na pasta de saída de resultados. Este ficheiro contém informações sobre a configuração da análise, a duração da análise, a localização dos ficheiros de saída e os valores de soma de verificação MD5 para os ficheiros NIPT_Results.csv e MISINDEXED_Results.csv. Pode encontrar uma lista completa de indicadores de CQ e de outros valores em *Indicadores de CQ e limites superiores e inferiores (NGS opção 1)* na página 44 e em *Indicadores de CQ e limites superiores e inferiores (NGS opção 2)* na página 49.



ATENÇÃO

Para evitar qualquer alteração não intencional nos resultados originais da análise, copie os ficheiros <Run_Folder_Name>_NIPT_Results.csv e <Run_Folder_Name>_Misindexed_Results.csv para outro computador antes de abrir e editar os ficheiros.



NOTA

A Illumina recomenda que integre os ficheiros de resultados gerados pela análise do cfDNA/VeriSeq NIPT Analysis Software num sistema de gestão de informações laboratoriais, em que seja possível posteriormente utilizar as informações fornecidas para gerar relatórios de pacientes para posterior análise por pessoal de laboratórios clínicos.

Tabela 13 Valores de anotação reportados da folha de amostras (<Run_Folder_Name>_NIPT_Results.csv)

Nome da coluna	Campo de origem da folha de amostras
SampleID (ID da amostra)	Sample_ID (ID da amostra)
SampleType (Tipo da amostra)	SampleType (Tipo da amostra)
Flowcell ID (ID da célula de fluxo)	Experiment Name (Nome da experiência)
IndexID (ID do índice)	I7_Index_ID (ID do índice I7)
Well (Poço)	Sample_Well (Poço da amostra)
Library_nM (Biblioteca nM)	Library_nM (Biblioteca nM)

Tabela 14 Indicadores de pontuação reportados por amostra (<Run_Folder_Name>_NIPT_Results.csv)

Nome da coluna	Interpretação
Ratio_13 (Rácio 13)	Rácio cromossómico 13
Ratio_18 (Rácio 18)	Rácio cromossómico 18
Ratio_21 (Rácio 21)	Rácio cromossómico 21
Ratio_X (Rácio X)	Rácio cromossómico X
Ratio_Y (Rácio Y)	Rácio cromossómico Y
NCV_13	Valor cromossómico normalizado (desvio aleatório padrão) 13
NCV_18	Valor cromossómico normalizado (desvio aleatório padrão) 18
NCV_21	Valor cromossómico normalizado (desvio aleatório padrão) 21

Nome da coluna	Interpretação
NCV_X	Valor cromossómico normalizado (desvio aleatório padrão) X
NCV_Y	Valor cromossómico normalizado (desvio aleatório padrão) Y
FF_Formatted	Componente fetal de cfDNA estimado que é recuperado pelo ensaio. Indicado como uma percentagem discreta e arredondada que fornece informações adicionais para cada amostra.

Tabela 15 Indicadores de CQ reportados por amostra (<Run_Folder_Name>_NIPT_Results.csv)

Nome da coluna	Interpretação	Motivos da reprovação
QCFlag	Indicador geral de aprovação (0), alerta (1), reprovação (2) do CQ	Ver Tabela 20.
QCWarning	Concatenação de todos os motivos de alerta relativos à amostra (separados por “;”)	Ver Tabela 20.
QCFailure	Concatenação de todos os motivos de reprovação da amostra (separados por “;”)	Ver Tabela 20.
Clusters	Número total de clusters nas várias vias (indicado por célula de fluxo)	Baixa/alta densidade de clusters
TotalReads2Clusters	Rácio de leituras recuperadas/número de clusters nas várias vias (indicado por célula de fluxo)	Ficheiros BCL corrompidos
MaxMisindexedReads2Clusters	Rácio de leituras mal indexadas nas várias vias/clusters numa via virtual (indicado por célula de fluxo)	Encontradas leituras com índices inesperados nas várias vias
IndexedReads (Leituras indexadas)	Número total de leituras indexadas por amostra nas várias vias	Problemas técnicos ao nível da leitura de índices; amostras erradas nas vias de sequenciação
TotalIndexedReads2Clusters	Rácio de leituras indexadas/clusters (indicado por célula de fluxo)	Problemas técnicos ao nível da leitura de índices
Etiquetas	Número de leituras mapeadas com uma posição única no genoma	Elevada taxa de erro na sequenciação ou na PCR; desvio tendencioso introduzido durante a construção da biblioteca
NonExcludedSites	Número de etiquetas que excluem regiões do genoma filtradas e leituras duplicadas mapeadas com a mesma localização	Baixo número de clusters, erros de sequenciação, baixa complexidade da biblioteca, normalmente recuperável mediante novo ensaio
NonExcludedSites2Tags	Rácio de NonExcludedSites para etiquetas	Complexidade da biblioteca
Tags2IndexedReads	Rácio de etiquetas/leituras indexadas	Número superior ao esperado de leituras não alinhadas com o genoma
PerfectMatchTags2Tags	Rácio de etiquetas perfeitamente mapeadas/todas as etiquetas	Elevada taxa de erro na sequenciação ou na PCR
GCBias	Desvio tendencioso da GC residual na distribuição de leituras após correção	Falha pré-analítica na colheita/manuseamento de amostras; artefactos na sequenciação
GCR2	R2 da correção da GC (percentagem de variância explicada pela correção da GC)	
NCD_13	Pontuação de probabilidade de denominadores do cromossoma 13	Perfil inesperado de cromossomas denominadores do cr 13

Nome da coluna	Interpretação	Motivos da reprovação
NCD_18	Pontuação de probabilidade de denominadores do cromossoma 18	Perfil inesperado de cromossomas denominadores do cr 18
NCD_21	Pontuação de probabilidade de denominadores do cromossoma 21	Perfil inesperado de cromossomas denominadores do cr 21
NCD_X	Pontuação de probabilidade de denominadores do cromossoma X	Perfil inesperado de cromossomas denominadores do cr X
NCD_Y	Pontuação de probabilidade para todo o perfil cromossómico	Perfil inesperado para todos os cromossomas

Tabela 16 Indicadores de pontuação reportados por amostra (<Run_Folder_Name>_NIPT_Results.csv)

Nome da coluna	Interpretação
Chr1, ..., Chr22, ChrX, ChrY	Número total de NonExcludedSites utilizados para análise de um cromossoma correspondente (valor inteiro)
Chr1_Coverage, ..., Chr22_Coverage, ChrX_Coverage, ChrY_Coverage	Cobertura normalizada de cada cromossoma utilizado na avaliação de relações cromossómicas

Tabela 17 Indicadores de pontuação reportados por lote (<Run_Folder_Name>_NIPT_Results.csv)

Nome da coluna	Interpretação
Median_13, Median_18, Median_21, Median_X, Median_Y	Mediana de lote de rácios cromossómicos para amostras diploides putativas Nota: O chrX e o chrY baseados apenas em amostras de fêmeas putativas
Stdev_13, Stdev_18, Stdev_21, Stdev_X, Stdev_Y	Mediana de desvio padrão de rácios cromossómicos para amostras diploides putativas Nota: O chrX e o chrY baseados apenas em amostras de fêmeas putativas

Tabela 18 Mais campos da folha de amostras reportados por amostra (<Run_Folder_Name>_NIPT_Results.csv)

Nome da coluna	Campo de origem da folha de amostras
SampleProject (Projeto da amostra)	Sample_Project (Projeto da amostra)
Description (Descrição)	Description (Descrição)
Index (Índice)	Index (Índice)

Tabela 19 Leituras incorretamente indexadas reportadas por célula de fluxo (<Run_Folder_Name>_Misindexed_Results.csv)

Nome da coluna	Interpretação
Flow Cell (Célula de fluxo)	ID da célula de fluxo
Lane (Via)	ID da via
IndexID (ID do índice)	Nota sobre ID do índice: O Index ID A000 – é qualquer sequência exceto os 24 índices encontrados na Tabela 12
IndexedReads (Leituras indexadas)	Número de leituras indexadas na célula de fluxo/via/índice

Verificar se o ATMS está em execução

Quando o sistema é iniciado automaticamente, o processo do ATMS em segundo plano é iniciado para monitorizar ensaios de sequenciação e análise.

Para ter a certeza de que o ATMS está em execução:

- 1 Execute o comando para estabelecer a ligação ao servidor analítico como “sbsuser” (assumindo que \$HOSTNAME é o nome do servidor, conforme configurado durante o processo de instalação inicial):
`ssh -l sbsuser $HOSTNAME`
- 2 Execute o comando para verificar o processo do ATMS:
`ps aux | grep jsvc`

Se a saída contiver jsvc.exec, o processo do ATMS está em execução em segundo plano. Há 3 linhas de saída: 1) uma que indica uma instância em execução a partir do utilizador raiz, 2) uma que indica uma instância a partir do utilizador do ATMS e 3) uma que indica uma instância em execução a partir do utilizador sob o qual o comando é executado.

Se o processo do ATMS não estiver em execução, o ATMS não monitoriza nem processa novos ensaios enquanto o serviço não for reiniciado. O encerramento ou a reinicialização da máquina ativa o reinício automático do serviço. Um técnico da Assistência Técnica da Illumina pode reiniciar o serviço utilizando privilégios de raiz no computador.



NOTA

Se ocorrer um encerramento inesperado, o sistema tenta reiniciar o ATMS por si próprio.

Indicadores de CQ

Indicadores de CQ e limites superiores e inferiores (NGS opção 1)	44
Indicadores de CQ e limites superiores e inferiores (NGS opção 2)	49

Indicadores de CQ e limites superiores e inferiores (NGS opção 1)

Tabela 20 Opção 1 de Instrumento de NGS: Duas posições de célula de fluxo, célula de fluxo de 2 vias—Indicadores de CQ, limites superiores e inferiores, designação como falha ou alerta, taxa prevista de falhas/alertas e as potenciais causas.

Categoria	Indicador	Limite inferior	Limite superior	Falha/Alerta	Tipo de amostra	Taxa prevista de falhas/alertas	Potenciais causas
CQ de contagens	Clusters	250 000 000	450 000 000	Alerta		<5% nas células de fluxo	Baixa (mais provável) ou alta (altamente improvável) densidade do cluster.
CQ de contagens	Reads2Clusters	0,95	1	Alerta		<1% nas células de fluxo	O software não conseguiu recuperar mais de 5% das leituras registadas pelo instrumento.
CQ de contagens	MaxMisindexedReads2Clusters	0	0,0002	Alerta		<0,1%	
CQ de contagens	TotalIndexedReads2Clusters	0,7	1	Alerta		<0,1%	Falha na sequência de índice.
CQ de contagens	NonExcludedSites	8000000	100000000	Falha		<=2%	Quantificação fraca ou incorreta da biblioteca; número de clusters reduzido; possivelmente recuperável após novo ensaio com plasma.
CQ de contagens	NonExcludedSites2Tags	0,8	1	Alerta		<0,1%	Fraca diversidade da biblioteca; possivelmente recuperável após novo ensaio com plasma.
CQ de contagens	Tags2Reads	0,75	0,9	Alerta		<0,1%	Elevada taxa de erro na sequenciação ou na PCR; possivelmente recuperável após nova sequenciação da mesma biblioteca.
CQ de contagens	PerfectMatchTags2Tags	0,7	1	Alerta		1%	Elevada taxa de erro na sequenciação ou na PCR; possivelmente recuperável após nova sequenciação da mesma biblioteca.
Mediana dos rácios cromossómicos	Median_13	0,1986891	0,2012977	Alerta		<0,1%	Mediana dos rácios cromossómicos inesperadamente alta/baixa em toda a célula de fluxo; forte efeito de lote não corrigido associado à extração ou ao lote da biblioteca. Tente reprocessar as amostras a partir do plasma para resolver o problema.

Categoria	Indicador	Limite inferior	Limite superior	Falha/Alerta	Tipo de amostra	Taxa prevista de falhas/alertas	Potenciais causas
Mediana dos rácios cromossómicos	Median_18	0,2483363	0,2517526	Alerta		<0,1%	Mediana dos rácios cromossómicos inesperadamente alta/baixa em toda a célula de fluxo; forte efeito de lote não corrigido associado à extração ou ao lote da biblioteca. Tente reprocessar as amostras a partir do plasma para resolver o problema.
Mediana dos rácios cromossómicos	Median_21	0,2476093	0,2524342	Alerta		<0,1%	Mediana dos rácios cromossómicos inesperadamente alta/baixa em toda a célula de fluxo; forte efeito de lote não corrigido associado à extração ou ao lote da biblioteca. Tente reprocessar as amostras a partir do plasma para resolver o problema.
Mediana dos rácios cromossómicos	Median_X	0,3260502	0,3396256	Alerta		<0,1%	Mediana dos rácios cromossómicos inesperadamente alta/baixa em toda a célula de fluxo; forte efeito de lote não corrigido associado à extração ou ao lote da biblioteca. Tente reprocessar as amostras a partir do plasma para resolver o problema.
Mediana dos rácios cromossómicos	Median_Y	0	1,47E-08	Alerta		<0,1%	Mediana dos rácios cromossómicos inesperadamente alta/baixa em toda a célula de fluxo; forte efeito de lote não corrigido associado à extração ou ao lote da biblioteca. Tente reprocessar as amostras a partir do plasma para resolver o problema.
Desvio padrão dos rácios cromossómicos	Stdev_13	0	6,73E-04	Alerta		<0,1%	Desvio padrão inesperadamente alto dos rácios cromossómicos, o que significa fontes extra de variação não observada previamente; esteja atento a tendências ao longo do tempo.
Desvio padrão dos rácios cromossómicos	Stdev_18	0	1,37E-03	Alerta		<0,1%	Desvio padrão inesperadamente alto dos rácios cromossómicos, o que significa fontes extra de variação não observada previamente; esteja atento a tendências ao longo do tempo.

Categoria	Indicador	Limite inferior	Limite superior	Falha/Alerta	Tipo de amostra	Taxa prevista de falhas/alertas	Potenciais causas
Desvio padrão dos rácios cromossómicos	Stdev_21	0	1,33E-03	Alerta		<0,1%	Desvio padrão inesperadamente alto dos rácios cromossómicos, o que significa fontes extra de variação não observada previamente; esteja atento a tendências ao longo do tempo.
Desvio padrão dos rácios cromossómicos	Stdev_X	0	3,27E-03	Alerta		<0,1%	Desvio padrão inesperadamente alto dos rácios cromossómicos, o que significa fontes extra de variação não observada previamente; esteja atento a tendências ao longo do tempo.
Desvio padrão dos rácios cromossómicos	Stdev_Y	0	4,94E-09	Alerta		<0,1%	Desvio padrão inesperadamente alto dos rácios cromossómicos, o que significa fontes extra de variação não observada previamente; esteja atento a tendências ao longo do tempo.
Pontuação de probabilidade de denominadores cromossómicos	NCD_13	-50	1000	Falha		<0,1%	Representação cromossómica inesperada de cromossomas denominadores (de referência); improvável que se resolva através de novo ensaio da amostra; sugerir “dados fora do intervalo esperado”.
Pontuação de probabilidade de denominadores cromossómicos	NCD_18	-50	1000	Falha		<0,1%	Representação cromossómica inesperada de cromossomas denominadores (de referência); improvável que se resolva através de novo ensaio da amostra; sugerir “dados fora do intervalo esperado”.
Pontuação de probabilidade de denominadores cromossómicos	NCD_21	-50	1000	Falha		<0,1%	Representação cromossómica inesperada de cromossomas denominadores (de referência); improvável que se resolva através de novo ensaio da amostra; sugerir “dados fora do intervalo esperado”.

Categoria	Indicador	Limite inferior	Limite superior	Falha/Alerta	Tipo de amostra	Taxa prevista de falhas/alertas	Potenciais causas
Pontuação de probabilidade de denominadores cromossómicos	NCD_X	-50	1000	Falha		<0,1%	Representação cromossómica inesperada de cromossomas denominadores (de referência); improvável que se resolva através de novo ensaio da amostra; sugerir “dados fora do intervalo esperado”.
Pontuação de probabilidade de denominadores cromossómicos	NCD_Y	-100	1000	Falha		<0,5%	Representação cromossómica inesperada algures no genoma; improvável que se resolva através de novo ensaio da amostra; sugerir “dados fora do intervalo esperado”.
NCV de amostras de controlo	NCV_13	-5	4	Alerta	Controlo		Limites NCV para controlos (ausência de monossomia, ausência de trissomia).
NCV de amostras de controlo	NCV_18	-5	4	Alerta	Controlo		Limites NCV para controlos (ausência de monossomia, ausência de trissomia).
NCV de amostras de controlo	NCV_21	-5	4	Alerta	Controlo		Limites NCV para controlos (ausência de monossomia, ausência de trissomia).
NCV de amostras de teste	NCV_13	-5	200	Alerta	Teste		Limites NCV para amostras de teste (ausência de monossomia, fração fetal dentro do intervalo esperado [generoso]).
NCV de amostras de teste	NCV_18	-5	200	Alerta	Teste		Limites NCV para amostras de teste (ausência de monossomia, fração fetal dentro do intervalo esperado [generoso]).
NCV de amostras de teste	NCV_21	-5	200	Alerta	Teste		Limites NCV para amostras de teste (ausência de monossomia, fração fetal dentro do intervalo esperado [generoso]).
NCV de amostras de teste	NCV_X	-100	200	Alerta	Teste		Limites NCV para amostras de teste (ausência de monossomia, fração fetal dentro do intervalo esperado [generoso]).

Categoria	Indicador	Limite inferior	Limite superior	Falha/Alerta	Tipo de amostra	Taxa prevista de falhas/alertas	Potenciais causas
NCV de amostras de teste	NCV_Y	-6	2000	Alerta	Teste		Limites NCV para amostras de teste (ausência de monossomia, fração fetal dentro do intervalo esperado [generoso]).
Desvio tendencioso da GC de amostras de controlo	GCBias	-0,5	0,5	Alerta	Controlo		Restante desvio tendencioso da GC após correção da GC (espera-se que se centre em torno de 0; apenas informativo).
Desvio tendencioso da GC de amostras de teste	GCBias	-0,5	0,5	Alerta	Teste		Restante desvio tendencioso da GC após correção da GC (espera-se que se centre em torno de 0; apenas informativo).
GC R2 de amostras de controlo	GC R2	0	0,9999	Alerta	Controlo		R ² associado à correção da GC (meramente informativo).
GC R2 de amostras de teste	GC R2	0	0,9999	Alerta	Teste		R ² associado à correção da GC (meramente informativo).

Indicadores de CQ e limites superiores e inferiores (NGS opção 2)

Tabela 21 Opção 2 de Instrumento de NGS: Uma posição de célula de fluxo, célula de fluxo de 4 vias—Indicadores de CQ, limites superiores e inferiores, designação como falha ou alerta, taxa prevista de falhas/alertas e as potenciais causas.

Categoria	Indicador	Limite inferior	Limite superior	Falha/Alerta	Tipo de amostra	Taxa prevista de falhas/alertas	Potenciais causas
CQ de contagens	Clusters	300 000 000	800 000 000	Alerta		<5% nas células de fluxo	Baixa (mais provável) ou alta (altamente improvável) densidade do cluster.
CQ de contagens	MaxMisindexedReads2Clusters	0	0,0002	Alerta		<0,1%	
CQ de contagens	TotalIndexedReads2Clusters	0,7	1	Alerta		<0,1%	Falha na sequência de índice.
CQ de contagens	NonExcludedSites	8000000	100000000	Falha		<=2%	Quantificação fraca ou incorreta da biblioteca; número de clusters reduzido; possivelmente recuperável após novo ensaio com plasma.
CQ de contagens	NonExcludedSites2Tags	0,8	1	Alerta		<0,1%	Fraca diversidade da biblioteca; possivelmente recuperável após novo ensaio com plasma.
CQ de contagens	Tags2Reads	0,75	0,9	Alerta		<0,1%	Elevada taxa de erro na sequenciação ou na PCR; possivelmente recuperável após nova sequenciação da mesma biblioteca.
CQ de contagens	PerfectMatchTags2Tags	0,7	1	Alerta		1%	Elevada taxa de erro na sequenciação ou na PCR; possivelmente recuperável após nova sequenciação da mesma biblioteca.
Mediana dos rácios cromossómicos	Median_13	0,1991238	0,2008629	Alerta		<0,1%	Mediana dos rácios cromossómicos inesperadamente alta/baixa em toda a célula de fluxo; forte efeito de lote não corrigido associado à extração ou ao lote da biblioteca. Tente reprocessar as amostras a partir do plasma para resolver o problema.

Categoria	Indicador	Limite inferior	Limite superior	Falha/Alerta	Tipo de amostra	Taxa prevista de falhas/alertas	Potenciais causas
Mediana dos rácios cromossómicos	Median_18	0,2489057	0,2511832	Alerta		<0,1%	Mediana dos rácios cromossómicos inesperadamente alta/baixa em toda a célula de fluxo; forte efeito de lote não corrigido associado à extração ou ao lote da biblioteca. Tente reprocessar as amostras a partir do plasma para resolver o problema.
Mediana dos rácios cromossómicos	Median_21	0,2484135	0,25163	Alerta		<0,1%	Mediana dos rácios cromossómicos inesperadamente alta/baixa em toda a célula de fluxo; forte efeito de lote não corrigido associado à extração ou ao lote da biblioteca. Tente reprocessar as amostras a partir do plasma para resolver o problema.
Mediana dos rácios cromossómicos	Median_X	0,329444	0,3362317	Alerta		<0,1%	Mediana dos rácios cromossómicos inesperadamente alta/baixa em toda a célula de fluxo; forte efeito de lote não corrigido associado à extração ou ao lote da biblioteca. Tente reprocessar as amostras a partir do plasma para resolver o problema.
Mediana dos rácios cromossómicos	Median_Y	0	1,236665e-08	Alerta		<0,1%	Mediana dos rácios cromossómicos inesperadamente alta/baixa em toda a célula de fluxo; forte efeito de lote não corrigido associado à extração ou ao lote da biblioteca. Tente reprocessar as amostras a partir do plasma para resolver o problema.
Desvio padrão dos rácios cromossómicos	Stdev_13	0	0,0008695377	Alerta		<0,1%	Desvio padrão inesperadamente alto dos rácios cromossómicos, o que significa fontes extra de variação não observada previamente; esteja atento a tendências ao longo do tempo.
Desvio padrão dos rácios cromossómicos	Stdev_18	0	0,00113876	Alerta		<0,1%	Desvio padrão inesperadamente alto dos rácios cromossómicos, o que significa fontes extra de variação não observada previamente; esteja atento a tendências ao longo do tempo.

Categoria	Indicador	Limite inferior	Limite superior	Falha/Alerta	Tipo de amostra	Taxa prevista de falhas/alertas	Potenciais causas
Desvio padrão dos rácios cromossómicos	Stdev_21	0	0,001608292	Alerta		<0,1%	Desvio padrão inesperadamente alto dos rácios cromossómicos, o que significa fontes extra de variação não observada previamente; esteja atento a tendências ao longo do tempo.
Desvio padrão dos rácios cromossómicos	Stdev_X	0	0,005090769	Alerta		<0,1%	Desvio padrão inesperadamente alto dos rácios cromossómicos, o que significa fontes extra de variação não observada previamente; esteja atento a tendências ao longo do tempo.
Desvio padrão dos rácios cromossómicos	Stdev_Y	0	3,454837e-09	Alerta		<0,1%	Desvio padrão inesperadamente alto dos rácios cromossómicos, o que significa fontes extra de variação não observada previamente; esteja atento a tendências ao longo do tempo.
Pontuação de probabilidade de denominadores cromossómicos	NCD_13	-50	1000	Falha		<0,1%	Representação cromossómica inesperada de cromossomas denominadores (de referência); improvável que se resolva através de novo ensaio da amostra; sugerir "dados fora do intervalo esperado".
Pontuação de probabilidade de denominadores cromossómicos	NCD_18	-50	1000	Falha		<0,1%	Representação cromossómica inesperada de cromossomas denominadores (de referência); improvável que se resolva através de novo ensaio da amostra; sugerir "dados fora do intervalo esperado".
Pontuação de probabilidade de denominadores cromossómicos	NCD_21	-50	1000	Falha		<0,1%	Representação cromossómica inesperada de cromossomas denominadores (de referência); improvável que se resolva através de novo ensaio da amostra; sugerir "dados fora do intervalo esperado".

Categoria	Indicador	Limite inferior	Limite superior	Falha/Alerta	Tipo de amostra	Taxa prevista de falhas/alertas	Potenciais causas
Pontuação de probabilidade de denominadores cromossómicos	NCD_X	-50	1000	Falha		<0,1%	Representação cromossómica inesperada de cromossomas denominadores (de referência); improvável que se resolva através de novo ensaio da amostra; sugerir “dados fora do intervalo esperado”.
Pontuação de probabilidade de denominadores cromossómicos	NCD_Y	-100	1000	Falha		<0,5%	Representação cromossómica inesperada algures no genoma; improvável que se resolva através de novo ensaio da amostra; sugerir “dados fora do intervalo esperado”.
NCV de amostras de controlo	NCV_13	-5	4	Alerta	Controlo		Limites NCV para controlos (ausência de monossomia, ausência de trissomia).
NCV de amostras de controlo	NCV_18	-5	4	Alerta	Controlo		Limites NCV para controlos (ausência de monossomia, ausência de trissomia).
NCV de amostras de controlo	NCV_21	-5	4	Alerta	Controlo		Limites NCV para controlos (ausência de monossomia, ausência de trissomia).
NCV de amostras de teste	NCV_13	-5	200	Alerta	Teste		Limites NCV para amostras de teste (ausência de monossomia, fração fetal dentro do intervalo esperado [generoso]).
NCV de amostras de teste	NCV_18	-5	200	Alerta	Teste		Limites NCV para amostras de teste (ausência de monossomia, fração fetal dentro do intervalo esperado [generoso]).
NCV de amostras de teste	NCV_21	-5	200	Alerta	Teste		Limites NCV para amostras de teste (ausência de monossomia, fração fetal dentro do intervalo esperado [generoso]).
NCV de amostras de teste	NCV_X	-100	200	Alerta	Teste		Limites NCV para amostras de teste (ausência de monossomia, fração fetal dentro do intervalo esperado [generoso]).

Categoria	Indicador	Limite inferior	Limite superior	Falha/Alerta	Tipo de amostra	Taxa prevista de falhas/alertas	Potenciais causas
NCV de amostras de teste	NCV_Y	-6	2000	Alerta	Teste		Limites NCV para amostras de teste (ausência de monossomia, fração fetal dentro do intervalo esperado [generoso]).
Desvio tendencioso da GC de amostras de controlo	GCBias	-0,5	0,5	Alerta	Controlo		Restante desvio tendencioso da GC após correção da GC (espera-se que se centre em torno de 0; apenas informativo).
Desvio tendencioso da GC de amostras de teste	GCBias	-0,5	0,5	Alerta	Teste		Restante desvio tendencioso da GC após correção da GC (espera-se que se centre em torno de 0; apenas informativo).
GC R2 de amostras de controlo	GC R2	0	0,9999	Alerta	Controlo		R ² associado à correção da GC (meramente informativo).
GC R2 de amostras de teste	GC R2	0	0,9999	Alerta	Teste		R ² associado à correção da GC (meramente informativo).

Estudo de comparação do método

Dados de comparação do método 54

Dados de comparação do método

Para este estudo, foram novamente sequenciadas e processadas bibliotecas anteriores de 105 amostras de plasma com o VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples). Estas amostras foram anteriormente executadas no teste Verifi® e foram multiplexadas em 7 bibliotecas, cada uma com 14 amostras de plasma materno, 1 amostra de controlo materno positivo agrupado e 1 controlo sem modelo ou NTC. A [Tabela 22](#) mostra a composição da amostra de cada biblioteca.

As 98 amostras individuais de não controlo foram aprovadas no CQ e foram analisadas para correspondência com os resultados Verifi. Cada amostra foi classificada com base nos valores NCV de trissomia 13 / 18 / 21 (utilizando um limiar de NCV = 4), para detetar a presença do cromossoma Y (utilizando um limiar de NCV = 10) e para detetar a monossomia do cromossoma X (utilizando um limiar de NCV_X = -4 e cromossoma Y não presente). A percentagem global de concordância entre o VeriSeq NIPT e o Verifi é apresentada na [Tabela 23](#).

Foram observadas duas discrepâncias. A primeira discrepância observada foi em relação ao Cromossoma 13 que foi classificado como trissomia 13 pelo teste do Verifi e classificado como negativo pelo VeriSeq NIPT Analysis Software (16 Samples). As informações clínicas desta amostra foram mais tarde reveladas como negativas para Trissomia 13. Outra discrepância observada foi em relação à Trissomia 18 e não estavam disponíveis resultados clínicos para esta amostra.

Tabela 22 Distribuição de amostras em bibliotecas

Biblioteca	Controlo	MX	T13	T18	T21	Não afetada
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

Tabela 23 Percentagem global de concordância entre o VeriSeq NIPT e o Verifi

	Concordância global
Classe 13	98,98%
Classe 18	98,98%
Classe 21	100%
ChrY Presente/Ausente	100%
Classe Monossomia X	100%

Assistência técnica

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

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

Números de telefone do Apoio ao Cliente da Illumina

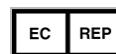
Região	Número gratuito	Regional
América do Norte	+1.800.809.4566	
Alemanha	+49 8001014940	+49 8938035677
Austrália	+1.800.775.688	
Áustria	+43 800006249	+43 19286540
Bélgica	+32 80077160	+32 34002973
China	400.066.5835	
Dinamarca	+45 80820183	+45 89871156
Espanha	+34 911899417	+34 800300143
Finlândia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

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

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



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



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



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