

NextSeq 550Dx

Guia de referência do instrumento

PROPRIEDADE DA ILLUMINA

Documento n.º 1000000009513 v08

Maior de 2023

PARA UTILIZAÇÃO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO.

Este documento e respetivo conteúdo são propriedade da Illumina, Inc. e das suas filiais (“Illumina”) e destinam-se unicamente a utilização contratual por parte dos clientes, relativamente à utilização do(s) produto(s) descrito(s) 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 do(s) referido(s) produto(s).

A NÃO OBSERVÂNCIA DA RECOMENDAÇÃO PARA LEITURA INTEGRAL E SEGUIMENTO EXPLÍCITO DE TODAS AS INSTRUÇÕES AQUI CONTIDAS PODE RESULTAR EM DANOS NO(S) PRODUTO(S), LESÕES EM PESSOAS, INCLUINDO NOS UTILIZADORES OU OUTROS, E EM DANOS MATERIAIS, E IRÁ ANULAR QUALQUER GARANTIA APLICÁVEL AO(S) PRODUTO(S).

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

© 2023 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 revisões

Documento	Data	Descrição da alteração
Documento n.º 1000000009513 v08	Maio 2023	Adicionada referência ao servidor opcional Illumina DRAGEN para NextSeq 550Dx com o Illumina Run Manager. Número de peça do filtro de ar atualizado. Limite de estabilidade atualizado para o cartucho de reagente.
Documento n.º 1000000009513 v07	Outubro de 2021	Foi adicionado um Compartimento de filtros de ar que inclui 3 filtros suplentes. Foi alterado o limite de estabilidade do cartucho de reagentes. Foi adicionado um novo cartucho de lavagem de tampão à secção de lavagem manual. Atualização da secção System Check (Verificação do sistema) para incluir instruções para as credenciais de utilizador do LRM. Atualização da secção Checks for Sequencing Runs (Verificações para ensaios de sequenciação).
Documento n.º 1000000009513 v06	Agosto de 2021	Foi atualizada a morada do Representante autorizado na UE.

Documento	Data	Descrição da alteração
Documento n.º 1000000009513 v05	Novembro de 2020	Atualização dos requisitos de nome de utilizador e palavra-passe das contas de serviços. Atualização da barra de estado com informações de cores adicionais. Criação de uma nova secção designada “Definir a pasta de saída predefinida”. Adição de exemplos de caminhos da pasta de saída. Adicionou-se a resolução de problemas para erros de armazenamento de rede. Adição de informações sobre a expiração da palavra-passe.
Documento n.º 1000000009513 v04	Abril de 2020	Foi atualizada a morada do Representante autorizado na UE. Foi atualizada a morada do Promotor australiano.
Documento n.º 1000000009513 v03	Março de 2019	Foram adicionadas informações sobre os kits de reagentes v2.5 (75 ciclos).

Documento	Data	Descrição da alteração
Documento n.º 1000000009513 v02	Janeiro de 2019	Foram adicionadas informações sobre os kits de reagentes v2.5 (300 ciclos). Foi atualizada a lista de recursos adicionais. Foi assinalado que as instruções para o Local Run Manager neste manual destinam-se a ser utilizadas no modo de diagnóstico do instrumento. Foram adicionadas instruções sobre a reinicialização a partir do modo de investigação para o modo de diagnóstico com base na versão do NextSeq Control Software (NCS) nas unidades do modo de investigação. Foi corrigido o botão Shut Down Options (Opções de encerramento) para o botão Reboot/Shutdown (Reinicializar/encerrar). Foi corrigido o procedimento para sair para o Windows ao adicionar um passo para seleccionar Reboot / Shutdown (Reinicializar/encerrar).
Documento n.º 1000000009513 v01	Março de 2018	Adição de informações sobre o serviço de monitorização proativa da Illumina na secção Personalizar as definições do sistema. Foram atualizadas as instruções na secção Substituir o filtro de ar. Foram alteradas as referências aos ficheiros de identificação de bases de *.bcl para *.bcl.bgzf, para esclarecer que os ficheiros estão comprimidos. Foram atualizadas as instruções sobre como resolver um erro de verificação do sistema referente ao software. Foi adicionada a marcação regulamentar da Austrália.
Documento n.º 1000000009513 v00	Novembro de 2017	Edição inicial.

Índice

Histórico de revisões	iii
Descrição geral	1
Funcionalidades de sequenciação	1
Recursos adicionais	1
Componentes do instrumento	2
Descrição geral dos consumíveis de sequenciação	5
Consumíveis e equipamento fornecidos pelo utilizador	9
Software NextSeq 550Dx	11
Descrição geral do software NextSeq 550Dx	11
Descrição geral do Local Run Manager	14
Palavras-passe do utilizador	21
Introdução	23
Ligar o instrumento	23
Personalizar as definições do sistema	24
Opções de reinicialização e encerramento	26
Sequenciação	29
Introdução	29
Fluxo de trabalho de sequenciação	30
Criar ensaio	31
Preparar o cartucho de reagentes	31
Preparar a célula de fluxo	32
Preparar bibliotecas para sequenciação	32
Carregar bibliotecas no cartucho de reagentes	32
Configurar um ensaio de sequenciação	33
Monitorizar o progresso do ensaio	38
Ver dados do ensaio e amostra	40
Recolocar a análise em fila de espera ou parar a análise	43
Lavagem automática pós-ensaio	45
Manutenção	46
Introdução	46
Manutenção preventiva	46
Realizar uma lavagem manual	46
Substituição do filtro de ar	50

Definições e tarefas administrativas do Local Run Manager	52
Introdução	52
Gestão de utilizadores	52
Definições do sistema	55
Definições do módulo	57
Registos de auditoria	57
Resolução de problemas	61
Introdução	61
Verificação do sistema	61
Ficheiros de resolução de problemas	63
Resolver erros de verificação automática	65
O recipiente de reagentes gastos está cheio	66
Mensagem de erro RAID	67
Erro de armazenamento de rede	67
Configurar as definições do sistema	68
Real-Time Analysis	70
Descrição geral da Real-Time Analysis	70
Fluxo de trabalho da Real-Time Analysis	71
Ficheiros e pastas de saída	76
Estrutura da pasta de saída	76
Ficheiros de saída de sequenciação	78
Blocos da célula de fluxo	79
Numeração das pistas	80
Numeração das faixas	80
Numeração das câmaras	80
Numeração dos blocos	81
Índice	82
Assistência Técnica	86

Descrição geral

Funcionalidades de sequenciação

- **Sequenciação de elevada produtividade** — O instrumento NextSeq[™] 550Dx permite a sequenciação de bibliotecas de ADN.
- **Real-Time Analysis (RTA)** — Efetua o processamento das imagens e a identificação de bases. Para mais informações, consulte [Real-Time Analysis on page 70](#).
- **Capacidade de análise dos dados no instrumento** — Local Run Manager Os módulos de análise do software especificados para o ensaio podem analisar os dados do ensaio.
- **Off-instrument data analysis capability** (Capacidade de análise de dados fora do instrumento) — Illumina Run Manager permite a análise de dados secundária quando o Instrumento NextSeq 550Dx está emparelhado com um **opcional** Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx. O servidor Illumina DRAGEN para NextSeq 550Dx é opcional e só está disponível em países selecionados. Contacte um representante da Illumina para obter informações sobre a disponibilidade na região.
- **Dual Boot**— O Instrumento NextSeq 550Dx contém discos rígidos separados que suportam os modos de diagnóstico (Dx) e de investigação (RUO).

Recursos adicionais

A seguinte documentação está disponível para transferência no sítio Web da Illumina.

Recurso	Descrição
<i>NextSeq 550Dx Instrument Site Prep Guide (document # 100000009869)</i>	Fornece as especificações para o espaço laboratorial, requisitos elétricos e considerações ambientais.
<i>NextSeq 550Dx Instrument Safety and Compliance Guide (document # 100000009868)</i>	Fornece informações sobre considerações de segurança operacional, declarações de conformidade e etiquetas do instrumento.
<i>RFID Reader Compliance Guide (document # 100000030332)</i>	Fornece informações sobre o leitor RFID no instrumento, certificações de conformidade e considerações de segurança.

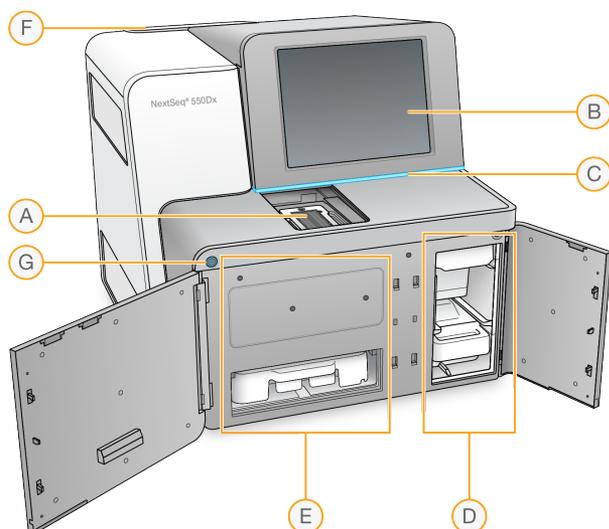
Recurso	Descrição
<i>NextSeq 550Dx Research Mode Instrument Reference Guide (document # 1000000041922)</i>	Fornecer instruções de utilização do instrumento e procedimentos de resolução de problemas. Para utilizar quando operar o instrumento NextSeq 550Dx no modo de investigação com o NextSeq Control Software (NCS) v3.0.
<i>NextSeq 550 System Guide (document # 15069765)</i>	Fornecer instruções de utilização do instrumento e procedimentos de resolução de problemas. Para utilizar quando operar o instrumento NextSeq 550Dx no modo de investigação com o NextSeq Control Software (NCS) v4.0 ou posterior.
<i>Illumina Run Manager for NextSeq 550Dx Software Guide (document # 200025239)</i>	Fornecer informações sobre a utilização do Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx <i>opcional</i> com Illumina Run Manager e opções de análise disponíveis.

Visite a [página de suporte Instrumento NextSeq 550Dx](#) no sítio Web da Illumina para aceder a documentação, transferências de software, formações online e perguntas frequentes.

Componentes do instrumento

O sistema Instrumento NextSeq 550Dx inclui um monitor com ecrã tátil, uma barra de estado e 4 compartimentos.

Figure 1 Componentes do instrumento



- A. **Compartimento de aquisição de imagens** — Inclui a célula de fluxo durante um ensaio de sequenciação.
- B. **Monitor com ecrã tátil** — Permite a configuração no instrumento e a preparação utilizando a interface do software operativo.
- C. **Barra de estado** — Indica o estado do instrumento como em processamento (azul), necessita de atenção (laranja), pronto para sequenciar (verde), a iniciar (alterna entre azul e branco), ainda não iniciado (branco) ou necessária lavagem nas próximas 24 horas (amarelo).
- D. **Compartimento de tampão** — Inclui o cartucho de tampão e o recipiente de reagentes gastos.
- E. **Compartimento de reagentes** — Inclui o cartucho de reagentes.
- F. **Compartimento do filtro de ar** — Inclui o filtro de ar. Aceda ao filtro a partir da parte traseira do instrumento.
- G. **Botão de alimentação** — Liga ou desliga o instrumento e o computador do instrumento.

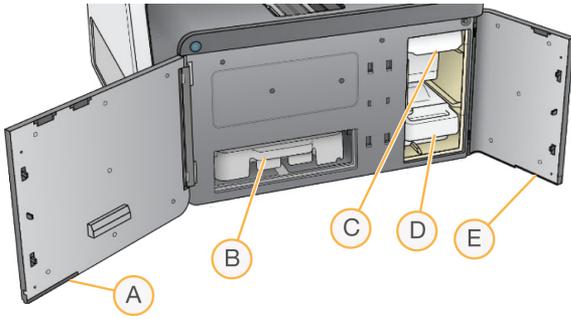
Compartimento de aquisição de imagens

O compartimento de aquisição de imagens inclui o estrado, que inclui três pinos de alinhamento para posicionar a célula de fluxo. Depois de carregar a célula de fluxo, a porta do compartimento de aquisição de imagens fecha-se automaticamente e move os componentes para a posição.

Compartimentos de reagentes e tampão

A configuração de um ensaio de sequenciação no Instrumento NextSeq 550Dx requer o acesso ao compartimento de reagentes e ao compartimento de tampão para carregar os consumíveis do ensaio e esvaziar o recipiente de reagentes gastos.

Figure 2 Compartimentos de reagentes e tampão



- A. **Porta do compartimento de reagentes** — Delimita o compartimento de reagentes com um trinco por baixo da área inferior direita da porta. O compartimento de reagentes inclui o cartucho de reagentes.
- B. **Cartucho de reagentes** — O cartucho de reagentes é um consumível de uma única utilização previamente cheio.
- C. **Cartucho de tampão** — O cartucho de tampão é um consumível de uma única utilização previamente cheio.
- D. **Recipiente de reagentes gastos** — Os reagentes gastos são recolhidos para eliminação após cada ensaio.
- E. **Porta do compartimento de tampão** — Delimita o compartimento de tampão com um trinco por baixo do canto inferior esquerdo da porta.

Compartimento do filtro de ar

O compartimento do filtro de ar inclui o filtro de ar e está localizado na parte traseira do instrumento. Substitua o filtro de ar a cada 90 dias. Para obter informações sobre a substituição do filtro, consulte [Substituição do filtro de ar on page 50](#).

Botão de alimentação

O botão de alimentação na parte frontal do NextSeq 550Dx liga a alimentação do instrumento e o computador do instrumento. O botão de alimentação executa as ações seguintes, dependendo do estado de alimentação do instrumento. Por predefinição, o NextSeq 550Dx arranca no modo de diagnóstico.

Para obter informações sobre a ligação inicial do instrumento, consulte [Ligar o instrumento on page 23](#). Para obter informações sobre o encerramento do instrumento, consulte [Encerrar o instrumento on page 27](#).

Estado de alimentação	Ação
A alimentação do instrumento está desligada	Prima o botão para ligar a alimentação.
A alimentação do instrumento está ligada	Prima o botão para desligar a alimentação. É apresentada uma caixa de diálogo no ecrã para confirmar o encerramento do instrumento.
A alimentação do instrumento está ligada	Prima e mantenha premido o botão de alimentação durante 10 segundos para causar um encerramento forçado do instrumento e do computador do instrumento. Utilize este método para desligar o instrumento apenas se o instrumento não responder às suas ações.

NOTA Desligar o instrumento durante um ensaio de sequenciação termina imediatamente o ensaio. Terminar um ensaio é uma ação final. Os consumíveis do ensaio não podem ser reutilizados e os dados de sequenciação do ensaio não são guardados.

Descrição geral dos consumíveis de sequenciação

Os consumíveis de sequenciação necessários para executar o NextSeq 550Dx são fornecidos separadamente num kit de utilização única. Cada kit inclui uma célula de fluxo, um cartucho de reagentes, um cartucho de tampão e um tampão de diluição de bibliotecas. Para obter mais informações, consulte o folheto informativo do *Kit de reagentes de saída elevada NextSeq 550Dx v2.5 (300 ciclos)*, ou do *Kit de reagentes de saída elevada NextSeq 550Dx v2.5 (75 ciclos)*.

A célula de fluxo, o cartucho de reagentes e o cartucho de tampão utilizam a identificação por radiofrequência (RFID) para o controlo e compatibilidade exatos dos consumíveis.



ATENÇÃO

Os kits de reagentes de saída elevada NextSeq 550Dx v2.5 necessitam do NOS 1.3 ou versão posterior para que o instrumento aceite o Cartucho de célula de fluxo v2.5. Execute as atualizações de software antes de preparar as amostras e os consumíveis de modo a evitar desperdiçar reagente e/ou amostras.

NOTA Mantenha os consumíveis de sequenciação armazenados nas respetivas embalagens até estarem prontos a serem utilizados.

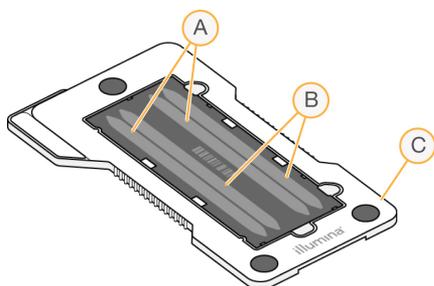
Armazenamento de consumíveis de sequenciação requeridos

Item (1 por ensaio)	Requisito de armazenamento
Tampão de diluição de bibliotecas	-25 °C a -15 °C
Cartucho de reagentes	-25 °C a -15 °C
Cartucho de tampão	15 °C a 30 °C
Cartucho de célula de fluxo	2 °C a 8 °C*

*O Cartucho de célula de fluxo de saída elevada NextSeq 550Dx v2.5 é enviado à temperatura ambiente.

Descrição geral da célula de fluxo

Figure 3 Cartucho da célula de fluxo



- A. Par de pistas A — Pistas 1 e 3
- B. Par de pistas B — Pistas 2 e 4
- C. Quadro do cartucho da célula de fluxo

A célula de fluxo é um substrato à base de vidro no qual os clusters são gerados e a reação de sequenciação é realizada. A célula de fluxo é encaixada num cartucho da célula de fluxo.

A célula de fluxo contém 4 pistas cujas imagens são adquiridas em pares.

- Para as pistas 1 e 3 (par de pistas A), são adquiridas as imagens ao mesmo tempo.
- Para as pistas 2 e 4 (par de pistas B), são adquiridas as imagens quando a aquisição de imagens do par de pistas A estiver concluída.

Embora a célula de fluxo tenha 4 pistas, apenas uma biblioteca individual ou conjunto de bibliotecas agrupadas é sequenciada na célula de fluxo. As bibliotecas são carregadas no cartucho de reagentes a partir de um reservatório único e são transferidas automaticamente para a célula de fluxo para todas as 4 pistas.

São adquiridas imagens de cada pista em pequenas áreas de aquisição de imagens, designadas blocos. Para mais informações, consulte [Blocos da célula de fluxo on page 79](#).

Descrição geral do cartucho de reagentes

O cartucho de reagentes é um consumível de uma única utilização com reservatórios de controlo RFID e com selo de alumínio que são previamente cheios com reagentes de sequenciação e clustering.

Figure 4 Cartucho de reagentes



O cartucho de reagentes inclui um reservatório designado para carregar bibliotecas preparadas. Após o início do ensaio, as bibliotecas são transferidas automaticamente do reservatório para a célula de fluxo. Vários reservatórios estão reservados para a lavagem automática pós-ensaio. A solução de lavagem é introduzida a partir do cartucho de tampão nos reservatórios reservados, através do sistema, e depois para o recipiente de reagentes gastos.

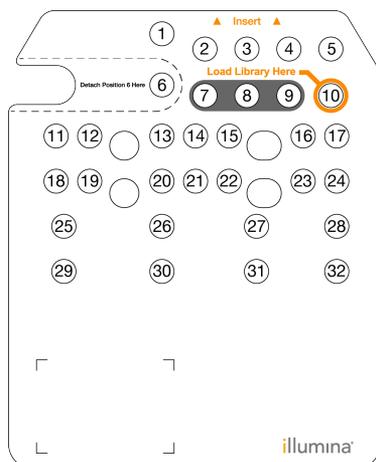


ATENÇÃO

Este conjunto de reagentes contém químicos potencialmente perigosos. Podem ocorrer danos corporais por inalação, ingestão, contacto com a pele e contacto ocular. Use equipamento de proteção, incluindo proteção ocular, luvas e bata de laboratório adequados para o risco de exposição. Manuseie os reagentes usados como resíduos químicos e elimine-os de acordo com a legislação e os regulamentos locais, regionais e nacionais aplicáveis. Para informações adicionais relativas ao ambiente, saúde e segurança, consulte as fichas SDS em support.illumina.com/sds.html.

Reservatórios reservados

Figure 5 Reservatórios numerados



Posição	Descrição
7, 8 e 9	Reservados para os primers personalizados opcionais
10	Carregar bibliotecas

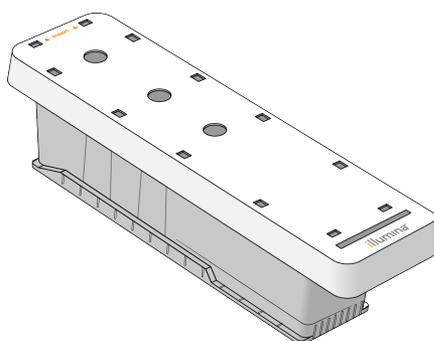
Reservatório amovível na posição n.º 6

O cartucho de reagentes previamente cheio inclui um reagente de desnaturação na posição 6 que contém formamida. Para facilitar a eliminação segura de qualquer reagente não usado após o ensaio de sequenciação, o reservatório na posição 6 é amovível. Para mais informações, consulte [Remover o reservatório usado da posição n.º 6 on page 37](#).

Descrição geral do cartucho de tampão

O cartucho de tampão é um consumível de uma única utilização que contém três reservatórios que são previamente cheios com tampões e solução de lavagem. O conteúdo do cartucho de tampão é suficiente para sequenciar uma célula de fluxo.

Figure 6 Cartucho de tampão



Descrição geral do tampão de diluição de bibliotecas

O tampão de diluição de bibliotecas encontra-se na Embalagem de acessórios do NextSeq 550Dx. Utilize o tampão conforme necessário para diluir as bibliotecas de acordo com as instruções de preparação de bibliotecas, de modo a alcançar as densidades recomendadas dos clusters.

Consumíveis e equipamento fornecidos pelo utilizador

Os consumíveis e equipamentos seguintes são utilizados para a preparação dos consumíveis, sequenciação e manutenção do instrumento.

Consumíveis para sequenciação

Consumível	Fornecedor	Finalidade
Toalhitas com álcool isopropílico a 70% ou Etanol a 70%	VWR, catálogo n.º 95041-714 (ou equivalente) Fornecedor geral do laboratório	Finalidade geral e limpeza da célula de fluxo
Pano de laboratório, libertação reduzida de pelo	VWR, catálogo n.º 21905-026 (ou equivalente)	Finalidade geral e limpeza da célula de fluxo

Consumíveis para manutenção e resolução de problemas

Consumível	Fornecedor	Finalidade
NaOCl, 5% (hipoclorito de sódio)	Sigma-Aldrich, catálogo n.º 239305 (ou equivalente laboratorial)	Lavar o instrumento utilizando a lavagem manual pós-ensaio; diluído para 0,12%

Consumível	Fornecedor	Finalidade
Tween 20	Sigma-Aldrich, catálogo n.º P7949	Lavar o instrumento utilizando as opções de lavagem manual; diluído para 0,05%
Água, grau laboratorial	Fornecedor geral do laboratório	Lavar o instrumento (lavagem manual)
Filtro de ar	Illumina, catálogo n.º 20063988	Limpar o ar que o instrumento aspira para efeitos de arrefecimento

Equipamento

Item	Origem
Congelador, -25 °C a -15 °C, sem gelo	Fornecedor geral do laboratório
Frigorífico, 2 °C a 8 °C	Fornecedor geral do laboratório

Diretrizes para água laboratorial

Utilize água laboratorial ou desionizada para realizar procedimentos no instrumento. Nunca utilize água da torneira. Utilize apenas água dos seguintes graus ou equivalente:

- Água desionizada
- Illumina PW1
- Água de 18 Megaohms (MΩ)
- Água Milli-Q
- Água Super-Q
- Água para biologia molecular

Software NextSeq 550Dx

Descrição geral do software NextSeq 550Dx

O software descrito neste capítulo é utilizado para configurar, executar e analisar dados a partir do instrumento NextSeq 550Dx. O software do instrumento inclui aplicações integradas que realizam ensaios de sequenciação. As atualizações do software são realizadas por técnicos da Illumina.

- **Local Run Manager software**— Solução de software integrada para criar um ensaio e analisar os resultados (análise secundária). O software também controla as permissões do utilizador. Para obter mais informações, consulte [Descrição geral do Local Run Manager on page 14](#).
- **Gestor de ensaios Illumina** —Solução de software fora do instrumento para criar um ensaio e permitir a realização de análises de dados secundárias. Para obter mais informações, consulte [Illumina Run Manager for NextSeq 550Dx Software Guide \(document # 200025239\)](#).
- **NextSeq 550Dx Operating Software (NOS)**—Controla o funcionamento do instrumento.
 - O software é previamente instalado no NextSeq 550Dx e é executado no instrumento. O NOS executa o ensaio de acordo com os parâmetros especificados no módulo do software Local Run Manager.
 - Antes de iniciar um ensaio de sequenciação, o utilizador seleciona um ensaio que criou com o Local Run Manager. A interface do software NOS orienta-o ao longo dos passos para carregar a célula de fluxo e os reagentes.
 - Durante o ensaio, o software opera o estrado da célula de fluxo, distribui os reagentes, controla os fluidos, define as temperaturas, captura imagens dos clusters na célula de fluxo e fornece um resumo visual das estatísticas de qualidade. Pode monitorizar o ensaio no NOS ou no Local Run Manager.
- **Software Real-Time Analysis (RTA)** — O RTA efetua a análise das imagens e a identificação de bases, designada também como a análise principal, durante o ensaio. Para mais informações, consulte [Real-Time Analysis on page 70](#).

Espaço em disco necessário

O computador do instrumento integrado tem aproximadamente 1,5 TB de capacidade de armazenamento.

Antes de iniciar um ensaio, o software verifica o espaço em disco disponível. A quantidade de espaço em disco necessária depende do módulo de análise do Local Run Manager. Se não existir espaço em disco suficiente para o ensaio, é apresentada uma mensagem do software. A mensagem indica a quantidade de espaço em disco necessária para o ensaio e a quantidade de espaço em disco que deve

ser libertada antes de poder prosseguir com o ensaio. Se não existir espaço suficiente, elimine as pastas do ensaio que não precisam de ser reanalisadas no Local Run Manager. Para obter mais informações, consulte [Eliminar uma pasta do ensaio on page 20](#).

Ícones de estado

Um ícone de estado no canto superior direito do NOS assinala quaisquer alterações nas condições durante a configuração do ensaio ou durante o ensaio.

Ícone de estado	Nome do estado	Descrição
	Estado OK	O sistema está normal.
	A processar	O sistema está a processar.
	Aviso	Ocorreu um aviso. Os avisos não interrompem um ensaio nem exigem uma ação antes de prosseguir.
	Erro	Ocorreu um erro. Os erros exigem uma ação antes de prosseguirem o ensaio.
	Assistência necessária	Ocorreu uma notificação que exige a atenção. Consulte a mensagem para obter informações adicionais.

Quando ocorre uma alteração na condição, o ícone pisca para o alertar. Selecione o ícone para ver uma descrição da condição. Selecione **Acknowledge** (Confirmar) para aceitar a mensagem e **Close** (Fechar) para fechar a caixa de diálogo.

NOTA Confirmar uma mensagem restabelece o ícone e a mensagem é apresentada a cinzento. A mensagem continua a ser visível para o utilizador se este selecionar o ícone, mas desaparece assim que se reinicia o NOS.

Ícones da barra de navegação

O ícone Minimize (Minimizar) do NOS encontra-se no canto superior direito da interface do software operativo e está visível apenas aos utilizadores Admin.

Ícone de acesso	Nome do ícone	Descrição
	Terminar sessão (Terminar sessão)	Selecione para terminar a sessão do software.
	Minimize NOS (Minimizar o NOS)	Selecione para minimizar o NOS para aceder às aplicações do Windows e pastas. Este ícone é apresentado apenas para utilizadores Admin.

Ecrã inicial do NOS

O ecrã Home (Início) do NOS apresenta os seguintes quatro ícones.

Bem-vindo ao NextSeqDx



- **Sequenciação** — Selecione para iniciar um ensaio de sequenciação a partir de uma lista de ensaios predefinidos.
- **Local Run Manager** — Selecione para iniciar o Local Run Manager para criar um ensaio, monitorizar o estado do ensaio, analisar os dados de sequenciação e ver os resultados. Consulte [Descrição geral do Local Run Manager on page 14](#).

NOTA Quando utilizar o **opcional** Illumina DRAGEN Server for NextSeq 550Dx com o Illumina Run Manager, **Illumina Run Manager** é apresentado. Para obter mais informações sobre a utilização do Illumina Run Manager, consulte [Illumina Run Manager for NextSeq 550Dx Software Guide \(document # 200025239\)](#).

- **Gerir instrumento** — Selecione para controlar as definições do sistema, reinicializar para o modo de investigação ou encerrar o software do instrumento.
- **Realizar lavagem** — Selecione para realizar uma lavagem rápida ou a lavagem manual pós-ensaio.

Descrição geral do Local Run Manager

O software Local Run Manager é uma solução integrada no instrumento para criar um ensaio, monitorizar o estado, analisar os dados de sequenciação e ver os resultados.

As instruções do Local Run Manager presentes neste guia aplicam-se quando se encontra no modo de diagnóstico do instrumento. Os detalhes apresentados nesta secção abrangem as funcionalidades gerais do Local Run Manager. Algumas funcionalidades poderão não ser aplicáveis a todos os módulos de análise. Para as funcionalidades específicas ao módulo, consulte o respetivo manual do Local Run Manager.

O Local Run Manager tem as seguintes funcionalidades:

- É executado como um serviço no computador do instrumento e integra-se no software operativo do instrumento.
- Regista as amostras que serão sequenciadas.
- Fornece uma interface de configuração do ensaio específica ao módulo de análise.
- Executa uma série de passos de análise específicos ao módulo de análise selecionado.
- Mostra as métricas de análise no formato de tabelas e gráficos após a conclusão da análise.

Visualizar Local Run Manager

A interface do Local Run Manager é visualizada no NOS ou através de um browser da Internet. O browser suportado é o Chromium.

NOTA Se utilizar um browser não suportado, transfira o browser suportado quando for solicitado na mensagem "Confirm Unsupported Browser" (Confirmar browser não suportado). Selecione "**here**" (aqui) para transferir a versão suportada do Chromium.

Ver num computador ligado em rede

Abra o browser Chromium num computador com acesso à mesma rede que o instrumento e ligue utilizando o endereço IP do instrumento ou o nome do instrumento. Por exemplo, `http://myinstrument`.

Ver no monitor do instrumento

Para ver a interface do Local Run Manager no monitor do instrumento, selecione uma das seguintes opções:

- No ecrã inicial do NOS, selecione **Local Run Manager**.
Selecione o X no canto superior direito para voltar ao NOS.

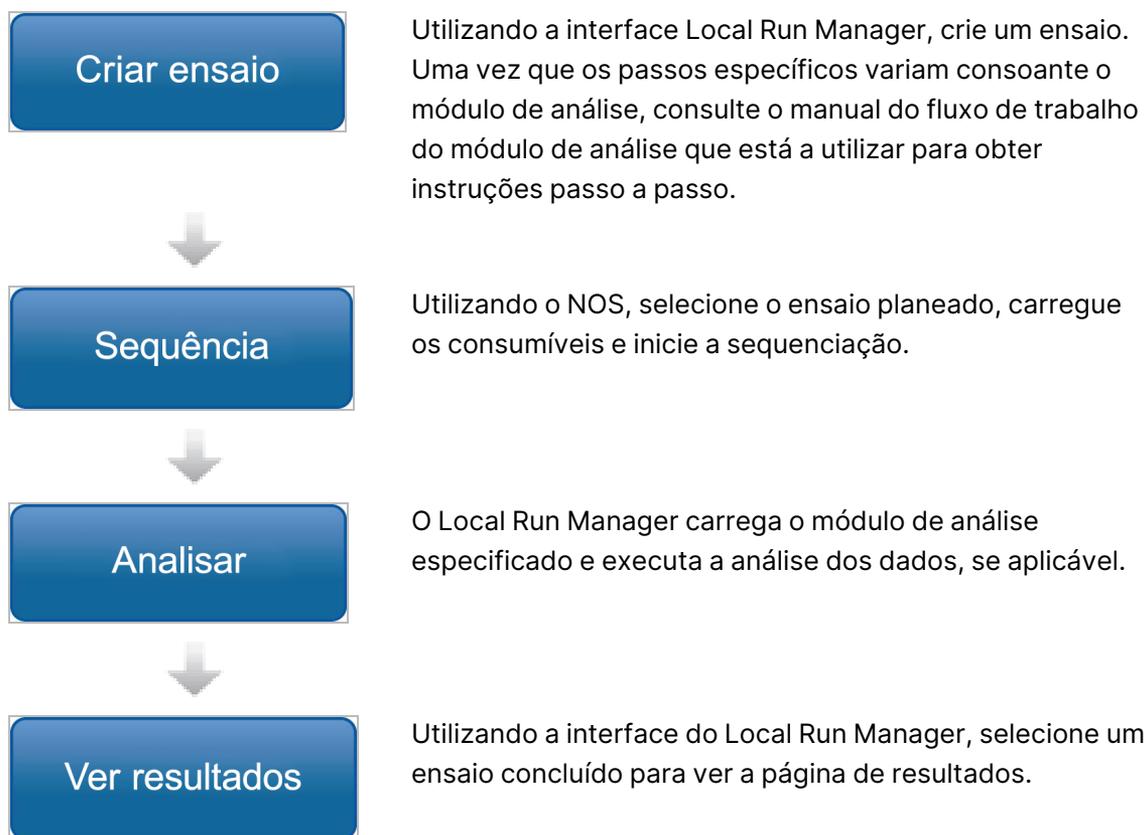
- Minimize o NOS e, em seguida, abra o browser Chromium no instrumento. Introduza **http://localhost** na barra de endereço.
Apenas os utilizadores Admin podem minimizar o NOS.

Sequenciação durante a análise

Os recursos de computação do sistema NextSeq 550Dx dedicam-se à sequenciação ou análise. Se for necessário um novo ensaio de sequenciação no NextSeq 550Dx antes da conclusão da análise secundária de um ensaio anterior, o utilizador pode cancelar a análise secundária no Local Run Manager e, em seguida, iniciar um novo ensaio de sequenciação.

Para reiniciar a análise realizada pelo Local Run Manager, utilize a funcionalidade Requeue (Recolocar em fila de espera) na interface do Local Run Manager após a conclusão do novo ensaio de sequenciação. Nesse momento, a análise secundária começa a partir do início. Consulte [Recolocar a análise em fila de espera ou parar a análise on page 43](#).

Local Run ManagerFluxo de trabalho



Descrição geral do painel

Depois de iniciar sessão no software Local Run Manager, o painel abre-se. A partir do painel, pode executar as seguintes tarefas:

- Controlar o estado da análise e da sequenciação
- Ordenar e filtrar ensaios
- Criar e editar ensaios
- Parar ou recolocar a análise em fila de espera
- Ver resultados da análise
- Ocultar ensaios
- Marcar ensaios
- Gerir a pasta de ensaio

O painel apresenta todos os ensaios executados no instrumento, 10 ensaios por página. Utilize as setas de navegação na parte inferior da lista para percorrer as páginas.

Cada ensaio listado inclui o nome do ensaio, o módulo de análise, o estado do ensaio e a data na qual o ensaio foi modificado pela última vez. Para ordenar os ensaios, selecione os nomes das colunas.

- **Run Name / ID** (Nome/ID do ensaio) — Indica o nome do ensaio atribuído e liga-se às páginas de resultados do ensaio. Após a conclusão da análise, o nome da pasta de análise é adicionado à coluna de nome do ensaio.
- **Module** (Módulo) — Indica o módulo de análise atribuído ao ensaio.
- **Status** (Estado) – Indica o estado do ensaio e inclui uma barra de estado do progresso. Para obter mais informações, consulte [Possíveis estados do ensaio on page 42](#).
- **Last Modified** (Última modificação) — Indica a data e hora nas quais um ensaio ou sessão de análise foi modificado pela última vez. Por predefinição, a página Active Runs (Ensaio ativos) é ordenada por esta coluna.

Local Run Manager Ícones

Os ícones que se seguem são utilizados no Local Run Manager para executar várias tarefas. Tenha em atenção que dependendo do tamanho do ecrã, alguns ícones são condensados sob o ícone  More options (Mais opções).

Ícone	Nome	Descrição
	Copiar para a área de transferência	Copia um campo para a área de transferência do computador.
	Eliminar a pasta do ensaio	Elimina os dados de um ensaio para libertar espaço do disco rígido.
	Editar	Permite a edição dos parâmetros do ensaio antes da sequenciação.

Ícone	Nome	Descrição
	Editar a localização da pasta de saída	Permite a edição do caminho da pasta do ensaio.
	Editar utilizadores	Permite a edição das palavras-passe e dos utilizadores.
	Exportar	Comando para exportar os itens.
	Ocultar o ensaio	Transfere um ensaio das páginas de ensaios ativos para a página de ensaios ocultos. Visualize os ensaios ocultos utilizando o menu no canto inferior direito da página de ensaios ativos.
	Bloqueado	Indica que o ensaio está a ser sequenciado ou que outro utilizador está a editar um ensaio noutra sessão de browser.
	Mais opções	Abre as opções disponíveis para uma entrada no painel. Dependendo do tamanho do ecrã, os pontos podem parecer mais redondos.
	Marcar	Marca um ensaio na página de ensaios ativos para garantir que a pasta do ensaio não será eliminada.
	Restaurar ensaio	Transfere um ensaio da página de ensaios ocultos para a página de ensaios ativos.
	Voltar a ligar a pasta do ensaio	Permite que um ensaio seja novamente ligado após o restauro de uma pasta do ensaio eliminada. O ensaio pode depois ser recolocado em fila de espera para análise.
	Recolocar em fila de espera	Reinicia a análise do ensaio selecionado.
	O ensaio está marcado	Indica que um ensaio foi marcado para a página de ensaios ativos.
	Ensaio eliminado	Indica um ensaio eliminado.
	Guardar a localização da pasta de saída	Guarda as edições no caminho da pasta de saída do ensaio.
	Pesquisar	Abre o campo de pesquisa para pesquisar nomes de ensaios e ID de amostras. Dependendo do tamanho do ecrã, o ícone pode ser condensado sob o ícone More options (Mais opções).
	Mostrar filtros	Mostra os filtros.
	Parar análise	Interrompe a análise pelo módulo do Local Run Manager.

Ícone	Nome	Descrição
	Desmarcar	Desmarca um ensaio.
	Utilizador	Abre o menu da conta do utilizador.
	Avisos detetados	Consulte o texto da notificação para obter informações sobre os avisos.

Página de ensaios ativos

O painel abre-se para mostrar a página Active Runs (Ensaio ativos). Na parte superior da página Active Runs (Ensaio ativos), um resumo dos ensaios ativos fornece uma contagem dos ensaios em cada uma das seguintes categorias de estado do ensaio. Para filtrar os ensaios ativos por estado, selecione o número.

- **Ready** (Pronto) — Indica que o ensaio está pronto para a sequenciação.
- **In Progress** (Em curso) — Indica que o ensaio está a executar a sequenciação ou a análise dos dados.
- **Stopped or Unsuccessful** (Interrompido ou malsucedido) — Indica que a análise foi interrompida manualmente ou que a análise foi malsucedida.
- **Complete** (Concluído) — Indica que a análise foi concluída com êxito.
- **Total** — O número total de ensaios na página Active Runs (Ensaio ativos).

Filtrar ensaios

1. Selecione uma categoria do estado do ensaio no resumo de ensaios ativos para filtrar a página Active Runs (Ensaio ativos) da seguinte forma.
 - **Ready** (Pronto) — Filtra a lista para mostrar apenas os ensaios que estão prontos para a sequenciação.
 - **In Progress** (Em curso) — Filtra a lista para mostrar apenas os ensaios que estão em curso.
 - **Stopped or Unsuccessful** (Interrompido ou malsucedido) — Filtra a lista para mostrar apenas os ensaios que foram interrompidos ou malsucedidos.
 - **Complete** (Concluído) — Filtra a lista para mostrar apenas os ensaios que estão concluídos.
 - **Total** — Remove os filtros e mostra todos os ensaios ativos.

Ocultar e restaurar ensaios

1. Na página Active Runs (Ensaio ativos), selecione o ícone More Options (Mais opções)  e, em seguida, clique em  **Hide** (Ocultar).
2. Quando lhe for pedido para confirmar a transferência, selecione **Hide** (Ocultar). O ensaio é movido para a página Hidden Runs (Ensaio ocultos).

3. Para mostrar a página Hidden Runs (Ensaios ocultos), selecione a seta pendente Active Runs (Ensaios ativos) e, em seguida, selecione **Hidden Runs** (Ensaios ocultos).
4. Na página Hidden Runs (Ensaios ocultos), selecione o ícone Restore (Restaurar) .
5. Quando lhe for pedido para confirmar a transferência, selecione **Restore** (Restaurar). O ensaio é restaurado para a página Active Runs (Ensaios ativos).
6. Para mostrar a página Active Runs (Ensaios ativos), selecione a seta pendente Hidden Runs (Ensaios ocultos) e, em seguida, selecione **Active Runs** (Ensaios ativos).

Pesquisar ensaios ou amostras

1. Na barra de navegação do painel, selecione o ícone Search (Pesquisar) .
2. No campo de pesquisa, introduza o nome de um ensaio ou ID da amostra. À medida que escreve, é apresentada uma lista de possíveis correspondências para ajudar na sua pesquisa.
3. Selecione uma opção correspondente na lista ou prima **Enter**.
 - Se tiver pesquisado um nome do ensaio, abre-se um separador Run Overview (Descrição geral do ensaio).
 - Se tiver pesquisado um ID de amostra, abre-se o separador Samples and Results (Amostras e resultados).
Para obter mais informações, consulte [Ver dados do ensaio e amostra on page 40](#).

Editar um ensaio

1. Na página Active Runs (Ensaios ativos), selecione o ícone More Options  (Mais opções) junto ao nome do ensaio que pretende editar.
2. Selecione  **Edit** (Editar).
3. Quando lhe for pedido para confirmar a ação, selecione **Continue** (Continuar).
4. Edite os parâmetros do ensaio conforme necessário.
5. Quando concluir, selecione **Save Run** (Guardar ensaio)
As datas Last Modified (Última modificação) para o ensaio são atualizadas na página Active Runs (Ensaios ativos).

Marcar um ensaio

Os ensaios marcados não podem ser eliminados ou ocultos. Não é possível marcar um ensaio se o ensaio estiver oculto ou se a sua pasta do ensaio tiver sido eliminada.

1. Na página Active Runs (Ensaios ativos), clique no ícone More options (Mais opções)  junto a um ensaio.

2. Selecione  **Pin** (Marcar).

As opções para eliminar a pasta do ensaio e ocultar estão desativadas. Pin (Marcar) é substituído por  **Unpin** (Desmarcar).

Eliminar uma pasta do ensaio

Pode eliminar manualmente as pastas do ensaio para gerir o espaço de armazenamento. O ensaio não pode estar marcado e tem de se encontrar num dos seguintes estados:

- Sequencing Complete (Sequenciação concluída)
- Primary Analysis Complete (Análise principal concluída)
- Primary Analysis Unsuccessful (Análise principal malsucedida)
- Sequencing Errored (Erro na sequenciação)
- Analysis Errored (Erro na análise)
- Analysis Complete (Análise concluída)
- Sequencing Stopped (Sequenciação interrompida)
- Analysis Stopped (Análise interrompida)

1. Na página Active Runs (Ensaio ativos), clique no ícone More options (Mais opções)  junto ao nome do ensaio que pretende eliminar.

2. Selecione  **Delete Run Folder** (Eliminar a pasta do ensaio).

A opção Delete Run Folder (Eliminar a pasta do ensaio) é substituída por  Relink Run Folder (Voltar a ligar a pasta do ensaio). O ícone Run Deleted (Ensaio eliminado)  é apresentado no ensaio.

Voltar a ligar uma pasta do ensaio

Apenas um utilizador Admin pode voltar a ligar pastas do ensaio eliminadas.

1. Copie a pasta do ensaio novamente na sua localização original.
Se o ensaio não for guardado na sua localização original, o software apresenta uma mensagem de erro após uma tentativa de restauro.
2. Passe com o rato por cima do ícone More options (Mais opções)  junto do ensaio.
3. Selecione  **Relink Run Folder** (Voltar a ligar a pasta do ensaio).
4. Confirme para prosseguir e restaurar o ensaio.
O ensaio é restaurado para o estado no qual se encontrava antes de eliminar a pasta do ensaio.

Palavras-passe do utilizador

Para aceder à interface do Local Run Manager, necessita de um nome de utilizador e uma palavra-passe válidos para iniciar sessão no sistema. Apenas um utilizador Admin pode atribuir credenciais a utilizadores.

NOTA As contas de utilizadores são específicas para um instrumento. As palavras-passe dos utilizadores não são universais em vários instrumentos.

Quando uma palavra-passe está prestes a atingir uma data de expiração, é apresentada uma mensagem na parte superior da interface para o lembrar que deve repor a sua palavra-passe.

A minha conta

Em My Account (A minha conta), pode ver o seu nome de utilizador, a sua função atribuída, as permissões e pode alterar a sua palavra-passe.

Depois de iniciar sessão pela primeira vez, pode alterar a sua palavra-passe existente em qualquer altura na janela My Account (A minha conta).

A sua palavra-passe atual é apresentada encriptada. Desta forma, tem de saber a sua palavra-passe atual para a poder alterar para uma nova palavra-passe. Caso se esqueça da sua palavra-passe, é necessário obter assistência do administrador do sistema ou utilizador Admin.

Estados da palavra-passe

Em seguida, são apresentados os possíveis estados da palavra-passe:

- **Palavra-passe temporária** — Quando um utilizador Admin cria uma conta de utilizador, o utilizador Admin atribui uma palavra-passe temporária para o novo utilizador.
- **Palavra-passe do utilizador** — Aquando do primeiro acesso, é solicitado a um novo utilizador que altere a palavra-passe temporária no ecrã de início de sessão para uma palavra-passe atribuída pelo utilizador.
- **Palavra-passe esquecida** — Se um utilizador se esquecer de uma palavra-passe, um utilizador Admin pode reatribuir uma palavra-passe temporária que pode ser alterada no acesso seguinte.
- **Palavra-passe usada** — Nenhum utilizador pode reutilizar uma palavra-passe durante até cinco ciclos de alteração de palavras-passe.
- **Bloqueio do utilizador** — O número de tentativas para iniciar a sessão utilizando uma palavra-passe é configurado por um utilizador Admin. Se um utilizador exceder o número de tentativas permitidas, a conta do utilizador é bloqueada. Apenas um utilizador Admin pode desbloquear a conta ou atribuir uma palavra-passe temporária.

Alterar a sua palavra-passe

1. Na barra de navegação na parte superior da interface, seleccione o ícone **User**  (Utilizador) junto ao seu nome.

NOTA Dependendo do tamanho do ecrã no qual está a ver o software, o ícone **User** (Utilizador)  poderá estar condensado sob **More Options**  (Mais opções).

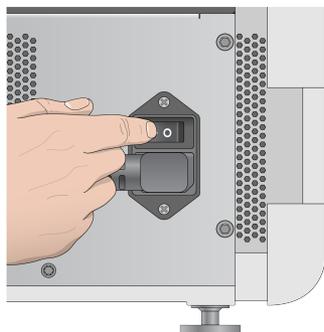
2. Na lista pendente, seleccione **My Account** (A minha conta).
3. Seleccione o ícone **Edit**  (Editar) na secção Password (Palavra-passe).
4. No campo Old Password (Palavra-passe antiga), introduza a sua palavra-passe antiga.
5. No campo New Password (Nova palavra-passe), introduza a sua nova palavra-passe.
6. No campo Confirm New Password (Confirmar nova palavra-passe), introduza novamente a sua nova palavra-passe.
7. Seleccione **Save** (Guardar).

Introdução

Ligar o instrumento

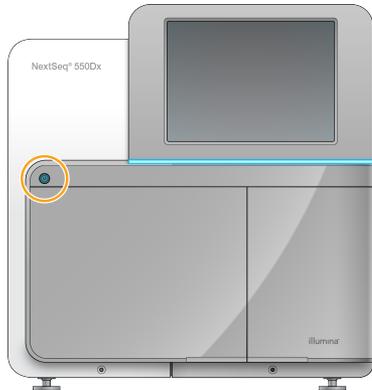
Coloque o interruptor de alimentação na posição I (ligada).

Figure 7 Interruptor de alimentação localizado na parte traseira do instrumento



1. Prima o botão de alimentação acima do compartimento de reagentes. O botão de alimentação liga a alimentação do instrumento e inicia o computador e o software do instrumento integrado.

Figure 8 Botão de alimentação localizado na parte frontal do instrumento



2. Aguarde até que o sistema operativo termine o carregamento. O NextSeq 550Dx Operating Software (NOS) inicia e inicializa o sistema automaticamente. Após a conclusão do passo de inicialização, abre-se o ecrã Home (Início).
3. Introduza o seu nome de utilizador e palavra-passe do Local Run Manager. Para obter informações sobre as palavras-passe, consulte [Palavras-passe do utilizador on page 21](#). Para obter informações sobre como configurar uma conta no Local Run Manager, consulte [Introdução on page 52](#).
4. Selecione **Login** (Iniciar sessão).
Abre-se o ecrã Home (Início), com os ícones Sequence (Sequência), Local Run Manager, Manage Instrument (Gerir instrumento) e Perform Wash (Realizar lavagem).

Indicadores de modo do instrumento

O modo predefinido do NextSeq 550Dx é o modo de diagnóstico. No ecrã NOS , o modo do instrumento é indicado pelo que se segue.

Modo	Ecrã inicial	Barra de cores	Orientação do ícone de estado
Modo de diagnóstico	Bem-vindo ao NextSeqDx	Azul	Horizontal
Modo de investigação	Bem-vindo ao NextSeq	Laranja	Vertical

Personalizar as definições do sistema

O software operativo inclui definições do sistema personalizáveis para a identificação do instrumento, preferências de entrada, definições de áudio e localização da pasta de saída. Para alterar as definições de configuração da rede, consulte [Configurar as definições do sistema on page 68](#).

- Opções de personalização:
- Personalizar a identificação do instrumento (avatar e alcunha)
- Definir a opção de entrada e indicador de áudio
- Definir as opções de configuração do ensaio
- Opções de encerramento
- Configurar o início do instrumento após a verificação pré-ensaio
- Optar por enviar os dados de desempenho do instrumento para a Illumina
- Designar uma pasta de saída do ensaio

Personalizar o avatar e a alcunha do instrumento

1. No ecrã Home (Início), selecione **Manage Instrument** (Gerir instrumento).
2. Selecione **System Customization** (Personalização do sistema).
3. Para atribuir uma imagem de avatar preferida para o seu instrumento, selecione **Browse** (Procurar) e navegue até à imagem.
4. No campo Nick Name (Alcunha), introduza um nome preferido para o instrumento.
5. Selecione **Save** (Guardar) para guardar as definições e avançar o ecrã.
A imagem e o nome são apresentados no canto superior esquerdo de cada ecrã.

Definir a opção do teclado e indicador de áudio

1. No ecrã Home (Início), selecione **Manage Instrument** (Gerir instrumento).

2. Selecione **System Customization** (Personalização do sistema).
3. Selecione a caixa de verificação **Use on-screen keyboard** (Utilizar o teclado no ecrã) para ativar o teclado no ecrã para introduzir os dados no instrumento.
4. Selecione a caixa de verificação **Play audio** (Reproduzir o áudio) para ligar os indicadores de áudio para os seguintes eventos.
 - Aquando da inicialização do instrumento
 - Quando se inicia um ensaio
 - Quando ocorrem certos erros
 - Quando é necessária a interação do utilizador
 - Quando um ensaio concluir
5. Selecione **Save** (Guardar) para guardar as definições e avançar o ecrã.

Definir o início do ensaio e os dados de desempenho do instrumento

1. No ecrã Home (Início), selecione **Manage Instrument** (Gerir instrumento).
2. Selecione **System Customization** (Personalização do sistema).
3. [Opcional] Selecione a caixa de verificação **Automatically start run after pre-run check** (Iniciar automaticamente o ensaio após a verificação pré-ensaio) para iniciar a sequenciação automaticamente após uma verificação pré-ensaio bem-sucedida.
4. Selecione **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Enviar dados de desempenho do instrumento para a Illumina) para ativar o serviço de monitorização proativa da Illumina. O nome da definição na interface do software pode ser diferente do nome neste manual, dependendo da versão do NOS utilizada.

Com esta definição ativada, os dados de desempenho do instrumento são enviados para a Illumina. Estes dados ajudam a Illumina a resolver problemas mais facilmente e a detetar potenciais falhas, permitindo uma manutenção proativa e maximizando o tempo de atividade do instrumento. Para mais informações sobre os benefícios deste serviço, consulte a *Nota de proatividade técnica da Illumina (documento n.º 1000000052503)*.

Este serviço:

- Não envia dados de sequenciação
 - Requer que o instrumento esteja ligado a uma rede com acesso à Internet
 - Está desativado por predefinição. Para ativar este serviço, ative a definição **Send Instrument Performance Data to Illumina** (Enviar dados de desempenho do instrumento para a Illumina).
5. Selecione **Save** (Guardar) para guardar as definições e voltar ao ecrã Manage Instrument (Gerir instrumento).

Definir a pasta de saída predefinida

Tanto a Conta do Windows no Local Run Manager como a Conta do Windows no sistema operativo do instrumento exigem a permissão de leitura e escrita na pasta de saída. Para verificar as permissões, consulte o seu administrador de TI. Para configurar a Conta do Windows no Local Run Manager, consulte [Especificar as definições das contas de serviços do sistema on page 56](#).

1. No ecrã Home (Início), selecione **Manage Instrument** (Gerir instrumento).
2. Selecione **System Customization** (Personalização do sistema).
3. Selecione **Browse** (Procurar) para aceder à localização da pasta.
4. Na pasta de saída, introduza o caminho do ficheiro Universal Naming Convention (UNC) completo.
 - O caminho UNC inclui duas barras invertidas, o nome do servidor e o nome do diretório, mas não inclui uma letra para uma unidade de rede mapeada.
 - Os caminhos para a pasta de saída que são de um nível exigem uma barra invertida no fim (por ex., \\servername\directory1\).
 - Os caminhos para a pasta de saída que são de dois ou mais níveis não exigem uma barra invertida no fim (por ex., \\servername\directory1\directory2).
 - Os caminhos para uma unidade de rede mapeada causam erros. Não utilize estes caminhos.
5. Selecione **Save** (Guardar) para guardar as definições e voltar ao ecrã Manage Instrument (Gerir instrumento).

Opções de reinicialização e encerramento

Aceda às seguintes funcionalidades ao selecionar o botão Reboot / Shutdown (Reinicializar/encerrar):

- Reinicializar para o RUO — O instrumento abre-se no modo de investigação.
- Reiniciar — O instrumento abre no modo de diagnóstico.
- Reiniciar para o modo de diagnóstico a partir do RUO — O instrumento abre-se no modo de diagnóstico.
- Encerrar — Quando é novamente ligado, o instrumento abre-se no modo de diagnóstico.
- Sair para o Windows — Dependendo das permissões, pode fechar o NOS e ver o Windows.

Reinicializar para o modo RUO

Utilize o comando Reboot to RUO (Reinicializar para o RUO) para alterar o software do sistema para o modo de investigação. O administrador concede a permissão ao utilizador para aceder a esta funcionalidade.

1. Selecione **Manage Instrument** (Gerir instrumento).
2. Selecione **Reboot / Shut Down** (Reinicializar/encerrar).
3. Selecione **Reboot to RUO** (Reinicializar para o RUO).

Reiniciar para o modo de diagnóstico

Utilize o comando Restart (Reiniciar) para encerrar o instrumento em segurança e reinicializar no modo de diagnóstico. O modo de diagnóstico é o modo de arranque predefinido.

1. Selecione **Manage Instrument** (Gerir instrumento).
2. Selecione **Reboot / Shutdown** (Reinicializar/encerrar).
3. Selecione **Restart** (Reiniciar).

Voltar ao modo de diagnóstico a partir do modo de investigação

O comando para mudar do modo de investigação para o modo de diagnóstico difere com base na versão do NextSeq Control Software (NCS) nos discos do modo de investigação.

1. Quando se encontra no modo de investigação, selecione **Manage Instrument** (Gerir instrumento).
2. Selecione uma das seguintes opções para voltar ao modo de diagnóstico.
 - NCS v3.0 — Selecione **Shutdown Options** (Opções de encerramento) e, em seguida, **Restart** (Reiniciar).
 - NCS v4.0 ou posterior — Selecione **Shutdown Options** (Opções de encerramento) e, em seguida, **Reboot to Dx** (Reinicializar para o modo de diagnóstico).

Encerrar o instrumento

1. Selecione **Manage Instrument** (Gerir instrumento).
2. Selecione **Reboot / Shutdown** (Reinicializar/encerrar).
3. Selecione **Shutdown** (Encerrar).

O comando Shutdown (Encerrar) encerra o software em segurança e desliga a alimentação do instrumento. Aguarde, pelo menos, 60 segundos antes de ligar novamente o instrumento.

NOTA Por predefinição, o instrumento arranca no modo de diagnóstico quando é ligado.



ATENÇÃO

Não repositicione o instrumento. Posicionar o instrumento incorretamente pode afetar o alinhamento ótico e comprometer a integridade dos dados. Se for necessário repositicionar o instrumento, contacte o seu representante da Illumina.

Sair para o Windows

O comando Exit to Windows (Sair para o Windows) permite o acesso ao sistema operativo do instrumento e a qualquer pasta no computador do instrumento. O comando encerra em segurança o software e sai do Windows. Apenas um utilizador Admin pode sair para o Windows.

1. Selecione **Manage Instrument** (Gerir instrumento).

2. Selecione **Reboot / Shutdown** (Reinicializar/encerrar).
3. Selecione **Exit to Windows** (Sair para o Windows).

Sequenciação

Introdução

Para realizar um ensaio de sequenciação no Instrumento NextSeq 550Dx, prepare um cartucho de reagentes e célula de fluxo e, em seguida, siga as indicações do software para configurar e iniciar o ensaio. A geração de clusters e a sequenciação são realizadas no instrumento. Após o ensaio, inicia automaticamente uma lavagem do instrumento utilizando os componentes já carregados no instrumento.

Geração de clusters

Durante a geração de clusters, as moléculas de ADN individuais estão vinculadas à superfície da célula de fluxo e, em seguida, são amplificadas para formar clusters.

Sequenciação

É realizada a aquisição de imagens dos clusters utilizando química de sequenciação de dois canais e combinações de filtros específicas a cada um dos nucleótidos identificados com fluorescência. Após a conclusão da aquisição de imagens de um bloco na célula de fluxo, é adquirida a imagem do bloco seguinte. O processo é repetido para cada ciclo de sequenciação. Após a análise das imagens, o software executa a identificação de bases, a filtragem e a pontuação de qualidade.

Analysis (Análise)

À medida que o ensaio avança, o software operativo transfere automaticamente os ficheiros de identificação de bases (BCL) para a localização de saída especificada para a análise secundária.

Duração do ensaio de sequenciação

A duração do ensaio de sequenciação depende do número de ciclos realizados. O comprimento máximo do ensaio é um ensaio de extremidade emparelhada de 150 ciclos cada leitura (2 x 150), mais até 8 ciclos cada para 2 leituras de indexação.

Número de ciclos numa leitura

Num ensaio de sequenciação, o número de ciclos realizados numa leitura é 1 ciclo adicional ao número de ciclos analisados. Por exemplo, um ensaio de 150 ciclos de extremidade emparelhada executa leituras de 151 ciclos (2 x 151) para um total de 302 ciclos. No final do ensaio, são analisados 2 x 150 ciclos. O ciclo extra é necessário para os cálculos de faseamento e pré-faseamento.

Fluxo de trabalho de sequenciação

Criar ensaio

Crie o ensaio utilizando o módulo de gestão de ensaios. Consulte os guias do módulo de ensaio, da aplicação e do fluxo de trabalho de análise para o seu módulo específico.



Prepare um novo cartucho de reagentes: descongele e inspecione.
Prepare uma nova célula de fluxo: deixe atingir a temperatura ambiente, desembulhe e inspecione.



Desnature e dilua as bibliotecas. Consulte o folheto informativo de preparação de bibliotecas para obter instruções.



Carregue a diluição da biblioteca no cartucho de reagentes no reservatório n.º 10.



No ecrã inicial do instrumento NOS, selecione **Sequence** (Sequência), o seu ID do ensaio e inicie os passos de configuração do ensaio. Selecione **Run** (Ensaio).



Carregue a célula de fluxo.



Esvazie e recarregue o recipiente de reagentes gastos.
Carregue o cartucho de tampão e cartucho de reagentes.



Reveja os resultados de verificação pré-ensaio. Selecione **Start** (Iniciar). (Não é necessário se estiver configurado para iniciar automaticamente).



Monitorize o ensaio a partir da interface do software operativo ou a partir de um computador ligado à rede com o Local Run Manager ou com o Illumina Run Manager.



Uma lavagem do instrumento inicia automaticamente quando a sequenciação estiver concluída.

Criar ensaio

Crie um ensaio de sequenciação utilizando o software Local Run Manager ou Illumina Run Manager. As instruções de utilização do Local Run Manager estão incluídas abaixo. Para obter instruções sobre como utilizar o Illumina Run Manager, incluindo como selecionar entre Local Run Manager ou Illumina Run Manager, consulte o Illumina Run Manager for NextSeq 550Dx Software Guide (document # 200025239). O processo para configurar um ensaio varia dependendo do módulo de fluxo de trabalho de análise particular que estiver a utilizar e inclui os seguintes passos.

- Selecione Create Run (Criar ensaio) no painel do gestor de ensaios e, depois, selecione um módulo de análise.
- Na página Create Run (Criar ensaio), introduza o nome de um ensaio e, se aplicável, introduza as amostras para o ensaio e/ou importe manifestos.

Para obter instruções detalhadas sobre aplicações específicas, consulte o módulo ou o guia de aplicação para o ensaio específico.

Preparar o cartucho de reagentes

Certifique-se de que segue as instruções do cartucho de reagentes cuidadosamente para uma sequenciação bem-sucedida.

1. Retire o cartucho de reagentes do armazenamento de -25 °C a -15 °C.
2. Selecione um dos seguintes métodos para descongelar os reagentes. Não mergulhe o cartucho. Depois de o cartucho estar descongelado, seque-o antes de avançar para o passo seguinte.

Temperatura	Tempo de descongelamento	Limite de estabilidade
Banho com água de 15 °C a 30 °C	60 minutos	Não deve ultrapassar 6 horas
2 °C a 8 °C	7 horas	Não deve ultrapassar 5 dias

NOTA Se estiver a descongelar mais de um cartucho no mesmo banho de água, o tempo de descongelamento será maior.

3. Inverta o cartucho cinco vezes para misturar os reagentes.
4. Inspeccione a parte de baixo do cartucho para verificar que os reagentes estão descongelados e que não contêm precipitados. Confirme que as posições 29, 30, 31 e 32 estão descongeladas, pois são as maiores e demoram mais tempo para descongelar.
5. Bata levemente na bancada para reduzir as bolhas de ar.

Para obter os melhores resultados, avance diretamente para o carregamento de amostras e configuração do ensaio.



ATENÇÃO

Este conjunto de reagentes contém químicos potencialmente perigosos. Podem ocorrer danos corporais por inalação, ingestão, contacto com a pele e contacto ocular. Use equipamento de proteção, incluindo proteção ocular, luvas e bata de laboratório adequados para o risco de exposição. Manuseie os reagentes usados como resíduos químicos e elimine-os de acordo com a legislação e os regulamentos locais, regionais e nacionais aplicáveis. Para informações adicionais relativas ao ambiente, saúde e segurança, consulte as fichas SDS em support.illumina.com/sds.html.

Preparar a célula de fluxo

1. Retire uma nova caixa de célula de fluxo do armazenamento de 2 °C a 8 °C.
2. Remova a embalagem de alumínio da caixa e mantenha à temperatura ambiente durante 30 minutos.

NOTA Se a embalagem de alumínio estiver intacta, a célula de fluxo pode permanecer à temperatura ambiente durante até 12 horas. Evite o arrefecimento e aquecimento repetidos da célula de fluxo.

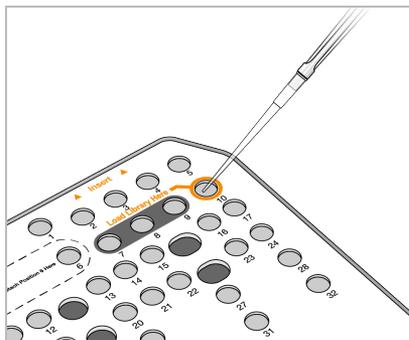
Preparar bibliotecas para sequenciação

Proceda à desnaturação e diluição das suas bibliotecas até um volume de carregamento de 1,3 ml. Na prática, a concentração de carregamento pode variar dependendo da preparação da biblioteca e dos métodos de quantificação. A diluição das bibliotecas de amostras depende da complexidade dos pools de oligonucleótidos. Para obter instruções para preparar bibliotecas de amostras para sequenciação, incluindo pooling e diluição de bibliotecas, consulte a secção das Instruções de utilização do kit de preparação de bibliotecas aplicável. É necessária a otimização da densidade do cluster no NextSeq 550Dx.

Carregar bibliotecas no cartucho de reagentes

1. Limpe o selo de alumínio que cobre o reservatório n.º 10 com a etiqueta **Load Library Here** (Carregar a biblioteca aqui) utilizando um pano com libertação reduzida de pelo.
2. Perfure o selo com a ponta de uma pipeta limpa de 1 ml.
3. Carregue 1,3 ml de bibliotecas preparadas no reservatório n.º 10 com a etiqueta **Load Library Here** (Carregar a biblioteca aqui). Evite tocar no selo de alumínio enquanto distribui as bibliotecas.

Figure 9 Carregar bibliotecas



Configurar um ensaio de sequenciação

Selecionar Run (Ensaio)

1. No ecrã Home (Início), selecione **Sequence** (Sequência).

2. Selecione um ensaio na lista.

Para obter informações sobre a criação de um ensaio de sequenciação, consulte [Local Run ManagerFluxo de trabalho on page 15](#).

A porta do compartimento de aquisição de imagens abre-se, liberta os consumíveis de um ensaio anterior e abre a série de ecrãs de configuração do ensaio. É normal ocorrer um curto atraso.

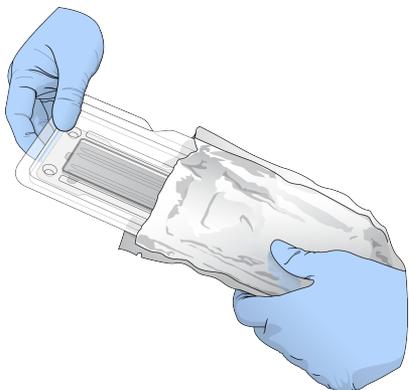
3. Selecione **Next** (Seguinte).

Carregar a célula de fluxo

1. Remova a célula de fluxo usada num ensaio anterior.

2. Remova a célula de fluxo da embalagem de alumínio.

Figure 10 Remover da embalagem de alumínio



3. Abra a embalagem de plástico transparente e remova a célula de fluxo.

Figure 11 Remover da embalagem articulada

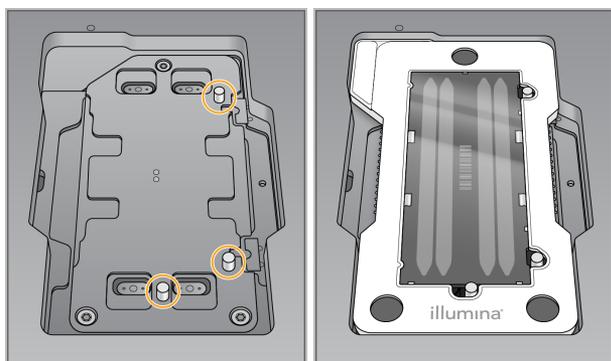


4. Limpe a superfície de vidro da célula de fluxo com um pano sem pelo e com álcool. Seque o vidro com um pano com libertação reduzida de pelo.

NOTA Certifique-se de que a superfície de vidro da célula de fluxo está limpa. Se necessário, repita o passo de limpeza.

5. Alinhe a célula de fluxo com os pinos de alinhamento e coloque a célula de fluxo no estrado.

Figure 12 Carregar a célula de fluxo



6. Selecione **Load** (Carregar).

A porta fecha automaticamente, o ID da célula de fluxo é apresentado no ecrã e os sensores são verificados.

NOTA Mantenha as mãos afastadas da porta da célula de fluxo enquanto se estiver a fechar para evitar beliscões.

7. Selecione **Next** (Seguinte).

Esvaziar o recipiente de reagentes gastos

1. Abra a porta do compartimento de tampão com o trinco por baixo do canto inferior esquerdo da porta.
2. Remova o recipiente de reagentes gastos e elimine o conteúdo de acordo com as normas aplicáveis.

Figure 13 Remover o recipiente de reagentes gastos



NOTA Enquanto remove o recipiente, coloque a sua outra mão por baixo para apoiar.

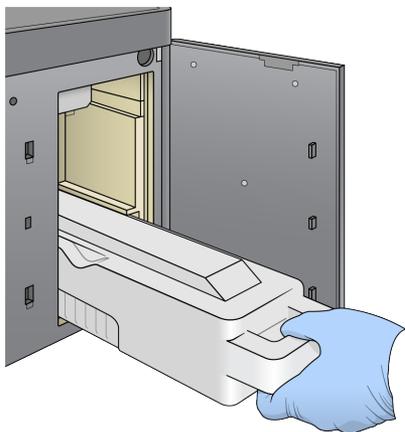


ATENÇÃO

Este conjunto de reagentes contém químicos potencialmente perigosos. Podem ocorrer danos corporais por inalação, ingestão, contacto com a pele e contacto ocular. Use equipamento de proteção, incluindo proteção ocular, luvas e bata de laboratório adequados para o risco de exposição. Manuseie os reagentes usados como resíduos químicos e elimine-os de acordo com a legislação e os regulamentos locais, regionais e nacionais aplicáveis. Para informações adicionais relativas ao ambiente, saúde e segurança, consulte as fichas SDS em support.illumina.com/sds.html.

3. Deslize o recipiente de reagentes gastos vazio para o interior do compartimento de tampão até à sua imobilização. Um clique sonoro indica que o recipiente está na posição.

Figure 14 Carregar o recipiente de reagentes gastos vazio



Colocar o cartucho de tampão

1. Remova o cartucho de tampão usado do compartimento superior.
É necessária alguma força para levantar e depois extrair o cartucho de tampão.
2. Deslize um novo cartucho de tampão para dentro do compartimento de tampão até ficar imóvel.
Um clique sonoro indica que o cartucho está na devida posição, a ID do cartucho de tampão é apresentada no ecrã e o sensor é verificado.

Figure 15 Colocar o cartucho de tampão



3. Feche a porta do compartimento de tampão e selecione **Next** (Seguinte).

Carregar o cartucho de reagentes

4. Abra a porta do compartimento de reagentes com o trinco por baixo do canto inferior direito da porta.
5. Remova o cartucho de reagentes usado do compartimento de reagentes. Elimine o conteúdo não usado de acordo com as normas aplicáveis.



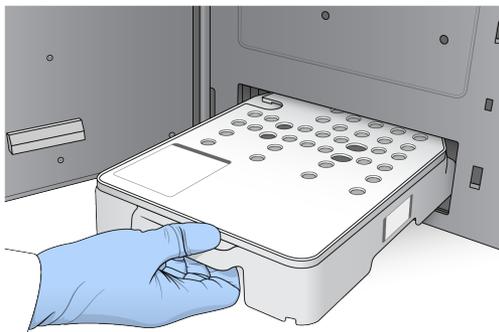
ATENÇÃO

Este conjunto de reagentes contém químicos potencialmente perigosos. Podem ocorrer danos corporais por inalação, ingestão, contacto com a pele e contacto ocular. Use equipamento de proteção, incluindo proteção ocular, luvas e bata de laboratório adequados para o risco de exposição. Manuseie os reagentes usados como resíduos químicos e elimine-os de acordo com a legislação e os regulamentos locais, regionais e nacionais aplicáveis. Para informações adicionais relativas ao ambiente, saúde e segurança, consulte as fichas SDS em support.illumina.com/sds.html.

NOTA Para facilitar a eliminação segura do reagente não usado, o reservatório na posição 6 é amovível. Para mais informações, consulte [Remover o reservatório usado da posição n.º 6 on page 37](#).

- Deslize o cartucho de reagentes no compartimento de reagentes até o cartucho ficar imóvel e, em seguida, feche a porta do compartimento de reagentes.

Figure 16 Carregar cartucho de reagentes

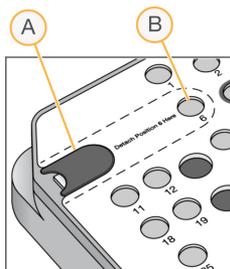


- Selecione **Load** (Carregar).
O software desloca o cartucho para a posição automaticamente (~30 segundos), a ID do cartucho de reagentes aparece no ecrã e os sensores são verificados.
- Selecione **Next** (Seguinte).

Remover o reservatório usado da posição n.º 6

- Depois de remover o cartucho de reagentes *usados* do instrumento, remova a cobertura de borracha de proteção sobre a ranhura junto à posição n.º 6.

Figure 17 Posição amovível n.º 6



- Cobertura de borracha de proteção
- Posição n.º 6

- Pressione a patilha de plástico transparente e empurre para a esquerda para ejetar o reservatório.
- Elimine o reservatório de acordo com as normas aplicáveis.

Rever a verificação pré-ensaio

O software executa uma verificação automatizada pré-ensaio do sistema. Durante a verificação, os indicadores seguintes são apresentados no ecrã:

- Marca de verificação cinzenta**  — A verificação ainda não foi realizada.

- **Ícone de progresso**  — A verificação está em curso.
- **Marca de verificação verde**  — A verificação foi aprovada.
- **Vermelho**  — A verificação foi reprovada. Para quaisquer itens reprovados, é necessária uma ação antes de poder prosseguir. Consulte [Resolver erros de verificação automática on page 65](#).

Para parar uma verificação automatizada pré-ensaio em curso, selecione o botão **Cancel** (Cancelar). Para reiniciar a verificação, selecione o botão **Retry** (Tentar novamente). A verificação é retomada na primeira verificação incompleta ou falhada.

Para ver os resultados de cada verificação individual numa categoria, selecione o separador Category (Categoria).

Se o instrumento não estiver configurado para iniciar o ensaio automaticamente, inicie o ensaio após a conclusão da verificação automatizada pré-ensaio.

Iniciar o ensaio

Quando a verificação de pré-ensaio automática estiver concluída, selecione **Start** (Iniciar). O ensaio de sequenciação inicia.

Para configurar o sistema para iniciar o ensaio automaticamente após uma verificação bem-sucedida, consulte [Definir o início do ensaio e os dados de desempenho do instrumento on page 25](#).



ATENÇÃO

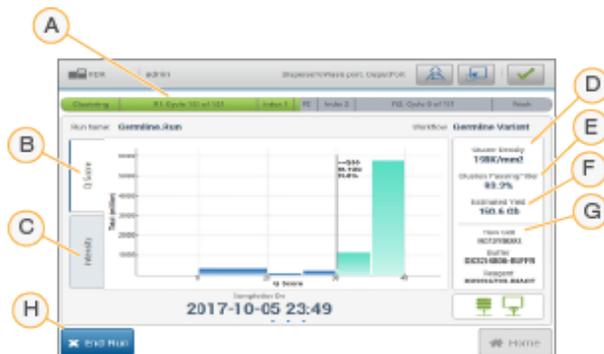
Certifique-se de que permanece com a sessão iniciada no Windows. Se terminar a sessão do sistema Windows durante um ensaio de sequenciação, o ensaio é interrompido.

NOTA Os reagentes não podem permanecer inativos no instrumento durante mais de 24 horas.

Monitorizar o progresso do ensaio

1. Monitorize o progresso do ensaio, as intensidades e as pontuações de qualidade à medida que as métricas aparecem no ecrã.

Figure 18 Progresso do ensaio de sequenciação e métricas



- A. **Run progress** (Progresso do ensaio) — Apresenta o passo atual e o número de ciclos concluídos para cada leitura. A barra de progresso não é proporcional à taxa do ensaio de cada passo. A data e hora estimadas para a conclusão do ensaio são apresentadas na parte inferior.
- B. **Q-Score** (Pontuação de Q) — Apresenta a distribuição das pontuações de qualidade (pontuações de Q). Consulte [Pontuação de qualidade on page 74](#) (Pontuação de qualidade).
- C. **Intensity** (Intensidade) — Apresenta o valor das intensidades dos clusters do 90º percentil para cada bloco. As cores do gráfico indicam cada base: vermelho é A, verde é C, azul é G e preto é T.
- D. **Cluster Density (K/mm²)** (Densidade de clusters [K/mm²]) — Apresenta o número de clusters detetados para o ensaio.
- E. **Clusters Passing Filter (%)** (Clusters que passam pelo filtro [%]) — Apresenta a percentagem de clusters que passam pelo filtro. Consulte [Clusters que passam pelo filtro on page 74](#).
- F. **Estimated Yield (Gb)** (Rendimento estimado [Gb]) — Apresenta o número de bases projetadas para o ensaio.
- G. **Lot Information** (Informações do lote) — Apresenta os números de lote dos consumíveis de sequenciação. Para a célula de fluxo, apresenta o número de série.
- H. **End Run** (Terminar ensaio) — Interrompe o ensaio de sequenciação em curso.

NOTA Depois de selecionar Home (Início), não é possível regressar para visualizar as métricas do ensaio. No entanto, é possível aceder às métricas do ensaio utilizando os gestores de ensaios. Selecione o Run Manager no ecrã Home (Início) em NOS ou por via remota utilizando um browser da Internet num computador ligado à rede.



ATENÇÃO

Se o ensaio de sequenciação for interrompido prematuramente pelo utilizador, os consumíveis utilizados para o ensaio ficam inutilizados.

Ciclos para as métricas do ensaio

As métricas do ensaio são apresentadas em diferentes pontos num ensaio.

- Durante os passos de geração de clusters, não são apresentadas quaisquer métricas.
- Os primeiros 5 ciclos são reservados para a geração de modelos.
- As métricas do ensaio são apresentadas após o ciclo 25, incluindo a densidade dos clusters, os clusters que passam pelo filtro, o rendimento e as pontuações de qualidade.

Transferência de dados

Status (Estado)	Local Run Manager	Pasta de saída
Ligado		
Ligado e a transferir os dados		
Desligado		
Desativado		

Se a transferência de dados for interrompida durante o ensaio, os dados são armazenados temporariamente no computador do instrumento. Quando a ligação é restaurada, a transferência de dados é retomada automaticamente. Se a ligação não for restaurada antes de o ensaio terminar, transfira manualmente os dados do computador do instrumento antes de iniciar um ensaio subsequente.

Ver dados do ensaio e amostra

Visualize os dados da execução e da amostra utilizando o software do gestor de ensaios que foi utilizado para criar o ensaio de sequenciação. Para ver os dados do ensaio e da amostra utilizando o Illumina Run Manager, consulte o Illumina Run Manager for NextSeq 550Dx Software Guide (document # 200025239).

Para visualizar dados do ensaio e da amostra utilizando o Local Run Manager, consulte abaixo.

No painel do Local Run Manager, selecione o run name (nome do ensaio). É apresentado um resumo dos resultados da análise nos 3 separadores seguintes:

- Run Overview (Descrição geral do ensaio)
- Sequencing Information (Informações de sequenciação)
- Samples and Results (Amostras e resultados)

Separador de descrição geral do ensaio

O separador Run Overview (Descrição geral do ensaio) apresenta as informações sobre o ensaio, um resumo das métricas de sequenciação e a localização da pasta do ensaio.

Título da secção	Descrição
Nome do ensaio/ID do ensaio	O nome do ensaio atribuído quando o ensaio foi criado.
Criado por	O nome do utilizador que criou o ensaio.
Descrição	A descrição do ensaio, se indicada.
Pasta de saída do ensaio	O caminho para a pasta de saída do ensaio de sequenciação. Selecione Copy to Clipboard (Copiar para a área de transferência)  para o acesso rápido à pasta de saída.
Total de clusters	O número de clusters num ensaio.
% Clusters PF	A percentagem de clusters que passam pelo filtro.
% ≥ Q30 [Leitura 1]	A percentagem de leituras na Leitura 1 com uma pontuação de qualidade de 30 (Q30) ou superior.
% ≥ Q30 [Leitura 2]	A percentagem de leituras na Leitura 2 com uma pontuação de qualidade de 30 (Q30) ou superior.
Último ciclo com pontuação	O último ciclo no ensaio com uma pontuação de qualidade. A não ser que o ensaio tenha terminado precocemente, este valor representa o último ciclo no ensaio.

Separador de informações de sequenciação

O separador Sequencing Information (Informações de sequenciação) fornece um resumo dos parâmetros do ensaio de sequenciação. As informações que se seguem são fornecidas no separador Sequencing Information (Informações de sequenciação).

Título da secção	Descrição
Nome do instrumento	O nome do instrumento no qual o ensaio foi executado.
Sequenciado por	O nome do utilizador que iniciou o ensaio.
Início da sequenciação	A data e hora nas quais o ensaio de sequenciação foi iniciado.
Versão RTA	Versão de software do RTA utilizado para o ensaio.
Versão do módulo	A versão do módulo de análise atribuído ao ensaio.
Comprimentos de leitura	O número de leituras e ciclos para cada leitura executada durante o ensaio.
Informações da célula de fluxo	O código de barras, o número da peça, o número do lote e a data de validade da célula de fluxo usada para o ensaio.

Título da secção	Descrição
Informações do tampão	O código de barras, o número da peça, o número do lote e a data de validade do cartucho de tampão usado para o ensaio.
Informações do cartucho de reagentes	O código de barras, o número da peça, o número do lote e a data de validade do cartucho de reagentes usado para o ensaio.

Separador de amostras e resultados

As informações fornecidas no separador Samples and Results (Amostras e resultados) são específicas ao módulo de análise utilizado para o ensaio. O separador Samples and Results (Amostras e resultados) pode incluir os seguintes campos de informações.

Título da secção	Descrição
Select Analysis (Análise)	Uma lista pendente de cada análise executada nos dados gerados a partir do ensaio de sequenciação. Sempre que a análise é executada, é atribuído um número sequencial. Os resultados são listados separadamente.
Analysis Folder (Pasta de análise)	O caminho para a pasta de análise. Selecione o ícone Copy to Clipboard (Copiar para a área de transferência)  para o acesso rápido à pasta de análise.
Recolocar a análise em fila de espera	O comando para reanalisar os dados do ensaio de sequenciação. O comando dá a opção de editar os parâmetros de análise ou continuar sem alterações.

Possíveis estados do ensaio

A coluna Estado no painel mostra o estado de cada ensaio listado. A tabela que se segue descreve os possíveis estados de um ensaio e a cor da barra de estado na coluna Estado.

Estado	Cor da barra de estado	Descrição do estado
Pronto para a sequenciação	Nenhum	Está a aguardar pelo início do ensaio de sequenciação.
Sequenciação em curso	Azul	A sequenciação está em curso.
Sequenciação malsucedida	Vermelho	Problema na sequenciação. Nenhuma atividade.

Estado	Cor da barra de estado	Descrição do estado
Sequenciação interrompida	Vermelho	A sequenciação foi interrompida. Nenhuma atividade.
Sequenciação concluída	Azul	A sequenciação foi concluída. Barra de estado a 50%.
Análise principal concluída	Azul	As métricas de sequenciação estão concluídas. Barra de estado a 50%.
Análise principal malsucedida	Vermelho	A análise RTA falhou. Barra de estado a 25%.
Análise colocada em fila de espera	Azul	Está a aguardar o início da análise.
Análise em curso	Azul	A análise está em curso.
Análise malsucedida	Vermelho	Problema na análise. Nenhuma atividade.
A parar análise	Vermelho	É recebido um pedido para parar a análise.
Análise interrompida	Vermelho	A análise foi interrompida. Nenhuma atividade.
Análise concluída	Verde	A atividade está concluída. Barra de estado a 100%.

Recolocar a análise em fila de espera ou parar a análise

Pode recolocar a análise em fila de espera após a interrupção da análise, se a análise tiver sido malsucedida ou se pretender reanalisar um ensaio com definições diferentes. Para recolocar a análise em fila de espera ou parar a análise utilizando o Illumina Run Manager, consulte o Illumina Run Manager for NextSeq 550Dx Software Guide (document # 200025239). Para recolocar a análise em fila de espera ou parar a análise utilizando o Local Run Manager, consulte abaixo.

Pode recolocar a análise em fila de espera a partir do painel do Local Run Manager ou a partir do separador Samples and Results (Amostras e resultados). Pode cancelar a análise Local Run Manager, iniciar um ensaio de sequenciação diferente e voltar, posteriormente, para recolocar a análise em fila de espera no ensaio original.

Parar uma análise do Local Run Manager

1. Na página Active Runs (Ensaio ativos), clique no ícone **More Options** (Mais opções)  junto ao nome do ensaio que pretende parar.
2. Selecione  **Stop Analysis** (Parar análise).

Recolocação da análise em fila de espera a partir dos ensaios ativos

1. Na página Active Runs (Ensaio ativos), selecione o ícone More Options (Mais opções)  junto ao nome do ensaio que pretende recolocar em fila de espera.
2. Selecione  **Requeue** (Recolocar em fila de espera).
3. Quando lhe for pedido, selecione uma das seguintes opções:
 - Selecione **Edit Setup** (Editar configuração) para alterar os parâmetros da análise. Na página Requeue Analysis (Recolocar análise em fila de espera), altere as definições escolhidas e, em seguida, selecione **Requeue Analysis** (Recolocar análise em fila de espera).
 - Selecione **Requeue** (Recolocar em fila de espera). A análise é iniciada utilizando os parâmetros de análise atuais.

Recolocar a análise em fila de espera a partir da página de resultados

1. Selecione o nome do ensaio na página Active Runs (Ensaio ativos).
2. [Opcional] Altere a pasta de saída. Consulte [Alterar a localização da pasta de saída do ensaio on page 44](#).
3. Selecione o separador de Amostras e resultados.
4. Selecione  **Requeue Analysis** (Recolocar análise em fila de espera).
5. Quando lhe for pedido, selecione uma das seguintes opções:
 - Selecione **Edit Setup** (Editar configuração) para alterar os parâmetros da análise. Na página Requeue Analysis (Recolocar análise em fila de espera), altere as definições escolhidas e, em seguida, selecione **Requeue Analysis** (Recolocar análise em fila de espera).
 - Selecione **Requeue** (Recolocar em fila de espera). A análise é iniciada utilizando os parâmetros de análise atuais.

Alterar a localização da pasta de saída do ensaio

É possível alterar a localização da pasta de saída do ensaio antes de recolocar um ensaio em fila de espera. Não é obrigatório alterar a pasta de saída, porque a recolocação da análise em fila de espera não substitui as análises mais antigas.

1. No painel Active Runs (Ensaio ativos), selecione um ensaio na lista.
2. Selecione **Run Overview** (Descrição geral do ensaio).
3. Selecione o ícone  Edit (Editar) e introduza o novo caminho da pasta.
Embora a localização do ficheiro possa ser alterada, não pode alterar o nome da pasta de saída do ensaio. Certifique-se de que segue as diretrizes sobre o caminho do ficheiro UNC conforme descrito em [Definir a pasta de saída predefinida on page 26](#).
4. Selecione o ícone Save (Guardar) .

Lavagem automática pós-ensaio

Quando o ensaio de sequenciação estiver concluído, o software inicia uma lavagem automática pós-ensaio utilizando a solução de lavagem fornecida no cartucho de tampão e NaOCl fornecido no cartucho de reagentes.

A lavagem automática pós-ensaio demora aproximadamente 90 minutos. Quando a lavagem estiver concluída, o botão Home (Início) fica ativo. Os resultados de sequenciação permanecem visíveis no ecrã durante a lavagem.

Após a lavagem

Após a lavagem, as unidades de aspiração permanecem na posição inferior para impedir a entrada de ar no sistema. Deixe os cartuchos no devido lugar até ao ensaio seguinte.

Descarregar consumíveis

Em raras ocasiões, poderá ser necessário descarregar todos os consumíveis do instrumento. Para tal, utilize o ecrã Quick Wash (Lavagem rápida) para descarregar os consumíveis.

1. Selecione Perform Wash (Realizar lavagem) e, em seguida, selecione Quick Wash (Lavagem rápida)
2. A porta da célula de fluxo abre-se e o cartucho de reagentes irá deslocar-se para a posição de descarga.
3. Remova a célula de fluxo, o cartucho de tampão e o cartucho de reagentes.
4. Remova o recipiente de reagentes gastos e elimine o conteúdo de acordo com as normas aplicáveis.
5. Deslize o recipiente de reagentes gastos vazio para o interior do compartimento de tampão até à sua imobilização. Um clique sonoro indica que o recipiente está na posição
6. Selecione Exit (Sair) para voltar ao ecrã inicial do NOS.

Manutenção

Introdução

Os procedimentos de manutenção incluem lavagens manuais do instrumento e a substituição do filtro de ar. Também são descritas as opções de encerramento e reinicialização do instrumento.

- **Lavagens do instrumento** — Uma lavagem automática pós-ensaio após cada ensaio de sequenciação mantém o desempenho do instrumento. No entanto, é necessária uma lavagem manual periodicamente em determinadas condições. Consulte [Realizar uma lavagem manual on page 46](#).
- **Substituição do filtro de ar** — A substituição regular do filtro de ar garante um fluxo de ar apropriado através do instrumento.

Manutenção preventiva

Illumina recomenda programar um serviço de manutenção preventiva por ano. Se não tiver um contrato de assistência em vigor, contacte o seu Gestor de conta territorial ou o Suporte Técnico da Illumina, para organizar um serviço de manutenção preventiva cobrável.

Realizar uma lavagem manual

As lavagens manuais são iniciadas a partir do ecrã Home (Início). As opções de lavagem incluem a Lavagem rápida e a Lavagem manual pós-ensaio.

Tipos de lavagem	Descrição
Lavagem rápida Duração: 20 minutos	Irriga o sistema com uma solução de lavagem fornecida pelo utilizador de água de grau laboratorial e Tween 20 (cartucho de lavagem de tampão). <ul style="list-style-type: none"> • É necessária a cada 14 dias em que o instrumento esteja inativo com o cartucho de reagentes e cartucho de tampão nos devidos lugares. • É necessária a cada 7 dias em que o instrumento esteja no estado seco (cartucho de reagentes e cartucho de tampão removidos).
Lavagem manual pós-ensaio Duração: 90 minutos	Irriga o sistema com uma solução de lavagem fornecida pelo utilizador de água de grau laboratorial e Tween 20 (cartucho de lavagem de tampão) e 0,12% de hipoclorito de sódio (cartucho de lavagem de reagentes). É necessária se a lavagem automática pós-ensaio não tiver sido realizada.

Uma lavagem manual exige o cartucho de lavagem de reagentes e cartucho de lavagem de tampão fornecidos com o instrumento, bem como uma célula de fluxo usada. Uma célula de fluxo usada pode ser utilizada até 20 vezes para as lavagens do instrumento.

Figure 19 Cartucho de lavagem de reagentes e cartucho de lavagem de tampão no estilo original.

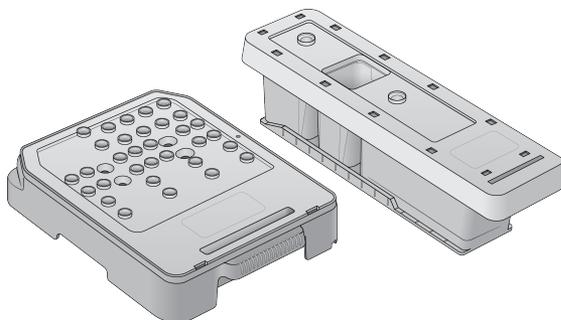
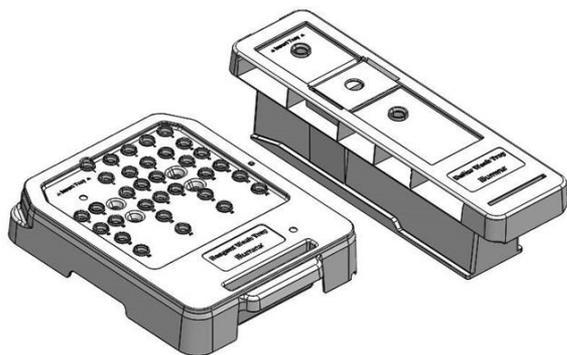


Figure 20 Cartucho de lavagem de reagentes e cartucho de lavagem de tampão no estilo novo.



Preparar uma lavagem manual pós-ensaio

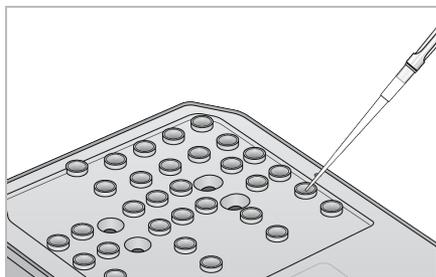
Escolha se pretende preparar uma lavagem manual pós-ensaio conforme descrito abaixo ou preparar uma lavagem rápida (secção seguinte). Se pretender realizar uma lavagem manual pós-ensaio, ignore a secção de lavagem rápida e continue para [Carregar uma célula de fluxo usada e os cartuchos de lavagem on page 49](#).

Consumíveis fornecidos pelo utilizador	Volume e descrição
NaOCl	1 ml, diluído a 0,12% Carregado no cartucho de lavagem de reagentes (posição n.º 28)
100% Tween 20 Água laboratorial	Utilizada para preparar a solução de lavagem de 125 ml de Tween 20 a 0,05% Carregado no cartucho de lavagem de tampão (reservatório central)

NOTA Utilize sempre uma diluição nova de NaOCl preparada nas últimas **24 horas**. Se preparar um volume superior a 1 ml, armazene a diluição restante entre 2 °C e 8 °C para utilizar nas 24 horas seguintes. Caso contrário, elimine a diluição restante de NaOCl.

1. Combine os seguintes volumes num tubo de microcentrifugação para obter 1 ml de NaOCl a 0,12%:
 - 5% de NaOCl (24 µl)
 - Água laboratorial (976 µl)
2. Inverta o tubo para misturar.
3. Adicione 1 ml de NaOCl a 0,12% ao cartucho de lavagem de reagentes. O reservatório correto é equivalente à posição n.º **28** no cartucho previamente cheio.

Figure 21 Carregar NaOCl



4. Combine os seguintes volumes para obter uma solução de lavagem de Tween 20 a 0,05%:
Cartucho de lavagem de tampão no estilo original
 - 100% Tween 20 (62 µl)
 - Água laboratorial (125 ml)
 - Adicione 125 ml de solução de lavagem ao reservatório central do cartucho de lavagem de tampão.Cartucho de lavagem de tampão no estilo novo
 - 100% Tween 20 (75 µl)
 - Água laboratorial (150 ml)
 - Adicione 150 ml de solução de lavagem ao reservatório central do cartucho de lavagem de tampão.
5. Selecione **Perform Wash** (Realizar lavagem) e, em seguida, selecione **Manual Post-Run Wash** (Lavagem manual pós-ensaio).

Preparar uma lavagem rápida

Pode preparar uma lavagem rápida conforme descrito abaixo como uma alternativa à opção [Preparar uma lavagem manual pós-ensaio on page 47](#).

Consumíveis fornecidos pelo utilizador	Volume e descrição
100% Tween 20 Água laboratorial	Utilizada para preparar a solução de lavagem de 40 ml de Tween 20 a 0,05% Carregado no cartucho de lavagem de tampão (reservatório central)

1. Combine os seguintes volumes para obter uma solução de lavagem de Tween 20 a 0,05%:
 - 100% Tween 20 (20 µl)
 - Água laboratorial (40 ml)
2. Adicione 40 ml de solução de lavagem ao reservatório central do cartucho de lavagem de tampão.
3. Selecione **Perform Wash** (Realizar lavagem) e, em seguida, selecione **Quick Wash** (Lavagem rápida).

Carregar uma célula de fluxo usada e os cartuchos de lavagem

1. Se não estiver presente uma célula de fluxo usada, carregue uma célula de fluxo usada. Selecione **Load** (Carregar) e, em seguida, selecione **Next** (Seguinte).
2. Remova o recipiente de reagentes gastos e elimine o conteúdo de acordo com as normas aplicáveis.



ATENÇÃO

Este conjunto de reagentes contém químicos potencialmente perigosos. Podem ocorrer danos corporais por inalação, ingestão, contacto com a pele e contacto ocular. Use equipamento de proteção, incluindo proteção ocular, luvas e bata de laboratório adequados para o risco de exposição. Manuseie os reagentes usados como resíduos químicos e elimine-os de acordo com a legislação e os regulamentos locais, regionais e nacionais aplicáveis. Para informações adicionais relativas ao ambiente, saúde e segurança, consulte as fichas SDS em support.illumina.com/sds.html.

3. Deslize o recipiente de reagentes gastos vazio para o interior do compartimento de tampão até à sua imobilização.
4. Remova o cartucho de tampão usado do ensaio anterior, se estiver presente.
5. Carregue o cartucho de lavagem de tampão que contém a solução de lavagem.
6. Remova o cartucho de reagentes usados do ensaio anterior, se estiver presente.
7. Carregue o cartucho de lavagem de reagentes.
8. Selecione **Next** (Seguinte). A verificação pré-lavagem inicia automaticamente.

Iniciar a lavagem

1. Selecione **Start** (Iniciar).
2. Quando a lavagem estiver concluída, selecione **Home** (Início).

Após a lavagem

Após a lavagem, as unidades de aspiração permanecem na posição inferior para impedir a entrada de ar no sistema. Deixe os cartuchos no devido lugar até ao ensaio seguinte.

Substituição do filtro de ar

Os novos sistemas vêm com três filtros de ar suplentes. Estes devem ser armazenados e utilizados quando o instrumento pedir para mudar o filtro.

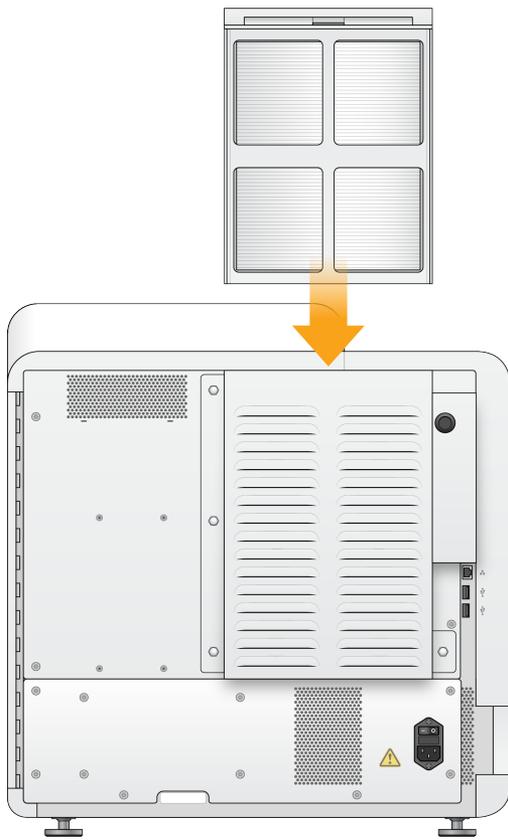
O filtro de ar garante o fluxo de ar através do instrumento. O software apresenta uma notificação para substituir o filtro de ar a cada 90 dias. Quando lhe for solicitado, selecione **Remind in 1 day** (Lembrar em 1 dia) ou siga o procedimento seguinte e selecione **Filter Changed** (Filtro trocado). A contagem de 90 dias é reiniciada depois de selecionar **Filter Changed** (Filtro trocado).

1. Remova o novo filtro de ar da embalagem e escreva a data na qual o instalou no quadro do filtro.
2. Na parte traseira do instrumento, pressione a parte superior do tabuleiro do filtro para libertar o tabuleiro.
3. Agarre na parte superior do tabuleiro do filtro e puxe para cima para levantar completamente o tabuleiro, extraíndo-o do instrumento.
4. Remova e elimine o filtro de ar usado.
5. Introduza o novo filtro de ar no tabuleiro.

NOTA O filtro de ar não funciona corretamente se estiver colocado ao contrário. Certifique-se de que introduz o filtro de ar no tabuleiro de modo a conseguir ver a seta "Para cima" e não conseguir ver a etiqueta de aviso. A seta deve apontar para a pega do tabuleiro do filtro.

6. Deslize o tabuleiro do filtro para dentro do instrumento. Empurre a parte superior do tabuleiro do filtro para baixo até encaixar no lugar.

Figure 22 Introdução do filtro de ar



Definições e tarefas administrativas do Local Run Manager

Introdução

As definições e tarefas que se seguem exigem permissões de utilizador administrativo:

- **Manage user accounts** (Gerir contas de utilizadores) — Adiciona utilizadores, atribui permissões e define palavras-passe.
- **Edit NOS system settings** (Editar definições do sistema) — Permite editar o NOS através do ícone Manage Instrument (Gerir instrumento) no ecrã Home (Início) do instrumento NextSeq 550Dx.
- **Manage Local Run Manager system settings** (Gerir definições do sistema do Local Run Manager) — Define os parâmetros de segurança do sistema, os intervalos de manutenção e as contas de serviços.
- **Relink the Run Folder** (Voltar a ligar a pasta do ensaio) — Se um ensaio foi eliminado e depois restaurado, permite a ligação do ensaio na pasta restaurada para recolocação em fila de espera para análise.
- **View audit trails** (Ver registos de auditoria) — Monitoriza a frequência de acesso e a atividade do utilizador.
- As permissões para executar as tarefas seguintes são configuráveis na gestão de utilizadores:
- **Reboot into research use only mode** (Reinicializar para o modo Apenas para efeitos de investigação) — Permite ativar o comando de reinicialização para o modo de investigação, que altera o software do sistema para o modo de investigação (RUO).
- **Edit module settings** (Editar definições do módulo) — Permite a configuração das definições do módulo, tal como o carregamento de ficheiros de manifesto para utilizar com todos os ensaios utilizando um módulo de análise específico.
- **Requeue analysis** (Recolocar a análise em fila de espera) — Permite a edição dos parâmetros e, em seguida, a nova execução da análise. Consulte [Recolocar a análise em fila de espera ou parar a análise on page 43](#).

Gestão de utilizadores

Todas as contas de utilizadores são apresentadas na página User Management (Gestão de utilizadores), que inclui o nome próprio, o apelido e o nome de utilizador para cada conta. Nos detalhes de cada conta, são geridas a função e as permissões associadas. São possíveis duas funções, Admin ou User (Utilizador).

- **Função Admin** — As funções Admin têm permissões totais, por predefinição.

- **Função User (Utilizador)** — As funções Utilizador são configuráveis com base num subconjunto de permissões possíveis. Todos os utilizadores podem criar ensaios independentemente das definições de permissões.

Apenas um utilizador Admin pode ver a página User Management (Gestão de utilizadores).

NOTA Crie mais de uma conta de utilizador Admin. Se o utilizador Admin único no instrumento for bloqueado, apenas a Assistência técnica da Illumina pode desbloquear o instrumento.

NOTA Dependendo do tamanho do ecrã no qual está a ver o software, o menu **Tools** (Ferramentas) pode ser condensado sob o menu  no canto superior esquerdo.

Autorizações do utilizador

Permissão	Descrição	Função Admin	Função Utilizador
Editar Local Run Manager definições do sistema	Definir as definições das contas de serviços, segurança e manutenção.	Permitido	Não permitido
Sair para o Windows	Sair do NOS e aceder ao computador do instrumento.	Permitido	Não permitido
Editar as definições do módulo	Carregar ficheiros de manifestos para módulos de análise.	Permitido	Permitido, se selecionado
Manage User Accounts (Gerir contas de utilizadores)	Criar e editar contas de utilizadores.	Permitido	Não permitido
Minimizar o NOS e aceder ao computador	Minimizar o NOS e aceder ao computador do instrumento.	Permitido	Não permitido
Recolocar a análise em fila de espera	Reanalisar os ensaios; editar os parâmetros de análise.	Permitido	Permitido, se selecionado
Reinicializar para o modo Apenas para efeitos de investigação	Alterar o software do instrumento para o modo RUO.	Permitido	Permitido, se selecionado
Ver registos de auditoria	Ver, filtrar e exportar registos de auditoria.	Permitido	Não permitido

Criar um novo utilizador

1. Na barra de navegação do painel, selecione o menu **Tools** (Ferramentas) e, em seguida, selecione **User Management** (Gestão de utilizadores).
2. Na página User Management (Gestão de utilizadores), selecione **Create User** (Criar utilizador).
3. Na caixa de diálogo Create New User (Criar novo utilizador), introduza o nome próprio e o apelido do novo utilizador.
4. No campo User Name (Nome de utilizador), introduza um nome de utilizador.
Os nomes de utilizadores têm de ser únicos e não podem ser reutilizados ou editados posteriormente.
5. No campo New Password (Nova palavra-passe), introduza uma palavra-passe temporária.
As palavras-passe temporárias não são armazenadas no histórico de palavras-passe e podem ser reutilizadas.
6. No campo Confirm Password (Confirmar palavra-passe), introduza novamente a palavra-passe temporária.
7. Para seleccionar uma função, selecione **Admin** (Administrador) ou **User** (Utilizador) para alternar entre as duas opções.
8. Selecione as permissões do utilizador com base na função de utilizador especificada.
9. Selecione **Create User** (Criar utilizador).

Repor a palavra-passe do utilizador

1. Na barra de navegação do painel, selecione o menu **Tools** (Ferramentas) e, em seguida, selecione **User Management** (Gestão de utilizadores).
2. Localize o nome do utilizador que pretende editar e selecione o ícone **Edit**  (Editar).
3. No campo New Password (Nova palavra-passe), introduza uma palavra-passe temporária.
As palavras-passe temporárias não são armazenadas no histórico de palavras-passe e podem ser reutilizadas.
4. No campo Confirm Password (Confirmar palavra-passe), introduza novamente a palavra-passe temporária.
5. Selecione **Update User** (Atualizar utilizador).

Desbloquear a palavra-passe do utilizador

1. Na barra de navegação do painel, selecione o menu **Tools** (Ferramentas) e, em seguida, selecione **User Management** (Gestão de utilizadores).
2. Localize o nome do utilizador que pretende editar e selecione o ícone **Edit**  (Editar).
3. Na caixa de diálogo Edit User (Editar utilizador), selecione  **Unlock User** (Desbloquear utilizador).
4. No campo New Password (Nova palavra-passe), introduza uma palavra-passe temporária.

5. No campo Confirm Password (Confirmar palavra-passe), introduza novamente a palavra-passe temporária.
6. Selecione **Update User** (Atualizar utilizador).

Alterar as permissões do utilizador

1. Na barra de navegação do painel, selecione o menu **Tools** (Ferramentas) e, em seguida, selecione **User Management** (Gestão de utilizadores).
2. Localize o nome do utilizador que pretende editar e selecione o ícone **Edit**  (Editar).
3. Para alterar uma função, selecione **Admin** ou **User** (Utilizador) para alternar entre as opções.
4. Selecione as permissões do utilizador com base na função de utilizador especificada.
5. Selecione **Update User** (Atualizar utilizador).

Eliminar um utilizador

1. Na barra de navegação do painel, selecione o menu **Tools** (Ferramentas) e, em seguida, selecione **User Management** (Gestão de utilizadores).
2. Localize o nome do utilizador que pretende editar e selecione o ícone **Edit**  (Editar).
3. Na caixa de diálogo Create New User (Criar novo utilizador), selecione **Delete User** (Eliminar utilizador).
Depois de eliminar um utilizador, não pode criar uma conta com esse nome novamente.
4. Quando lhe for solicitado para eliminar o utilizador, selecione **Delete** (Eliminar).

Definições do sistema

As definições do sistema são parâmetros globais para a segurança do utilizador e manutenção automatizada dos dados.

- As definições de segurança do utilizador incluem a duração até a palavra-passe expirar, as tentativas máximas de início de sessão e a duração do tempo limite de atividade.
- As definições de manutenção de dados incluem a limpeza automática das pastas de ensaios inativos e a frequência de criação de cópias de segurança das bases de dados e inclui um comando para a cópia de segurança imediata da base de dados.
- Configure contas de serviços de tarefas e serviço de análise para o Windows se a sua pasta de saída do ensaio se encontrar num caminho na rede. A predefinição é uma conta do sistema local.

Apenas um utilizador Admin pode ver a página System Settings (Definições do sistema).

NOTA Dependendo do tamanho do ecrã no qual está a ver o software, o menu **Tools** (Ferramentas) pode ser condensado sob o menu  no canto superior esquerdo.

Especificar as definições de segurança do sistema

1. Na barra de navegação do painel, selecione o menu **Tools** (Ferramentas) e, em seguida, selecione **System Settings** (Definições do sistema).
2. Selecione o separador **Security** (Segurança).
3. Especifique o número de dias até uma palavra-passe expirar e ter de ser reposta.
4. Especifique o número de dias em que o utilizador é relembrado para repor uma palavra-passe antes de expirar.
5. Especifique o número máximo de tentativas que um utilizador tem para introduzir credenciais de início de sessão inválidas antes de ser bloqueado do sistema.
6. Especifique o número de minutos em que o sistema pode permanecer inativo antes de ser bloqueado automaticamente.
7. Selecione **Save** (Guardar).

Especificar as definições de manutenção do sistema

1. Na barra de navegação do painel, selecione o menu **Tools** (Ferramentas) e, em seguida, selecione **System Settings** (Definições do sistema).
2. Selecione o separador **Maintenance** (Manutenção).
3. Para ativar a remoção automática das pastas inativas, selecione a caixa de verificação **Enable Automatic Deletion** (Ativar a eliminação automática).
Quando está ativada, o sistema elimina as pastas inativas da pasta de análise predefinida após o período especificado.
4. Se a caixa de verificação **Enable Automatic Deletion** (Ativar a eliminação automática) estiver selecionada, especifique um número de dias de inatividade antes da ativação do comando de eliminação automática.
5. Para especificar uma localização da cópia de segurança da base de dados, introduza um caminho preferido para a localização de uma cópia de segurança. Para restaurar uma base de dados cuja cópia de segurança foi criada, contacte a assistência técnica da Illumina.
6. No campo **Backup Period** (Período da cópia de segurança) introduza uma duração em dias entre cada cópia de segurança.
7. Para criar uma cópia de segurança imediata, selecione **Backup Now** (Criar cópia de segurança agora).
8. Selecione **Save** (Guardar).

Especificar as definições das contas de serviços do sistema

1. Na barra de navegação do painel, selecione o menu **Tools** (Ferramentas) e, em seguida, selecione **System Settings** (Definições do sistema).
2. Selecione o separador **Service Accounts** (Contas de serviços).

3. Para ativar as contas Windows Analysis Service (Serviço de análise do Windows) e Job Service (Serviço de tarefas), selecione **Windows Account** (Conta do Windows).
Certifique-se de que a conta do serviço na qual entra tem permissão para leitura e escrita na pasta de saída do ensaio.
4. No campo User Name (Nome de utilizador), introduza um nome de utilizador.
Para os instrumentos que executam o Windows 10 com uma conta local, inclua .\ no nome de utilizador (por ex., **.\nome de utilizador**). Para os utilizadores de domínio, inclua o nome do domínio e, em seguida, uma barra invertida no nome do utilizador (por ex., **domínio\nome de utilizador**).
5. No campo Password (Palavra-passe), introduza uma palavra-passe.
O sistema operativo Windows 10 exige uma alteração de palavra-passe do Windows a cada 180 dias. Certifique-se que atualize a Conta do Windows no Local Run Manager com a mesma palavra-passe do sistema operativo Windows.
6. Selecione **Save** (Guardar).

Definições do módulo

A página Module Settings (Definições do módulo) fornece uma lista dos módulos de análise instalados, no painel de navegação esquerdo. O nome de cada módulo de análise abre uma página que apresenta a versão do módulo e a data da última modificação.

Para os módulos que exigem um manifesto, adicione os ficheiros de manifesto ao módulo de forma a disponibilizá-los para todos os ensaios. São necessárias permissões de nível de utilizador Admin.

1. Na barra de navegação do painel, clique no menu **Tools** (Ferramentas) e, em seguida, clique em **Module Settings** (Definições do módulo).

NOTA Dependendo do tamanho do ecrã no qual está a ver o software, o menu **Tools** (Ferramentas) pode ser condensado sob o menu no canto superior esquerdo .

2. Clique no nome do módulo no painel de navegação esquerdo.
3. Clique em **Add Manifest(s)** (Adicionar manifesto[s]).
4. Navegue até ao ficheiro de manifesto, selecione o manifesto que pretende adicionar e clique em **Open** (Abrir).

Registos de auditoria

Os registos de auditoria registam informações sobre ações específicas, tais como o acesso do utilizador, alterações de perfis do utilizador e alterações no sistema, ensaio ou parâmetros de análise. Cada entrada do registo de auditoria inclui as informações seguintes:

- Quando, representado como data AAAA-MM-DD e hora no formato de 24 horas.
- Quem, representado pelo nome do utilizador que iniciou a ação.

- O quê, representado por uma curta descrição predefinida da ação executada.
- Item afetado, representado por 4 categorias de itens afetados: User (Utilizador), Run (Ensaio), Analysis (Análise) ou System (Sistema).
- Para ordenar a lista dos registos de auditoria, selecione o cabeçalho de qualquer uma das colunas para ordenar por ordem ascendente ou descendente.

Apenas um utilizador Admin pode ver a página Audit Trails (Registos de auditoria).

NOTA Dependendo do tamanho do ecrã no qual está a ver o software, o menu **Tools** (Ferramentas) pode ser condensado sob o menu no canto superior esquerdo .

Filtrar os registos de auditoria

1. Na barra de navegação do painel, selecione o menu **Tools** (Ferramentas) e, em seguida, selecione **Audit Trails** (Registos de auditoria).
2. Na página Audit Trails (Registos de auditoria), selecione o ícone Filter (Filtro) .

NOTA Pode aplicar os filtros em resultados filtrados anteriormente para refinar mais a lista. Para aplicar um filtro em toda a base de dados de registos de auditoria, apague os filtros anteriores antes de prosseguir.

Filtrar por data

1. Selecione o ícone Calendar (Calendário)  e selecione uma data **From** (Desde).
2. Selecione o ícone Calendar (Calendário)  e selecione uma data **To** (Até).
3. Selecione **Filter** (Filtrar).

Filtrar por nome de utilizador

1. No campo Who (Quem), introduza um nome de utilizador.
Pode introduzir qualquer parte do nome de utilizador. Não são necessários asteriscos (*).
2. Selecione **Filter** (Filtrar).

Filtrar por ação

1. No campo What (O quê), introduza a descrição de uma ação.
Pode introduzir qualquer parte da descrição de uma ação. Não são necessários asteriscos (*).
2. Selecione **Filter** (Filtrar).

Filtrar por descrição de item afetado

1. No campo de texto Affected Item (Item afetado), introduza qualquer parte da descrição do item afetado.
A descrição pode ser um nome de ensaio, nome de utilizador, nome do módulo de análise ou nome do relatório, por exemplo. Pode introduzir qualquer parte de uma descrição. Não são necessários asteriscos (*).
2. Selecione **Filter** (Filtrar).

Filtrar por categoria de item afetado

1. Para filtrar por uma categoria de item afetado, selecione o ícone Category (Categoria)  no campo Affected Item (Item afetado) e selecione uma das seguintes opções:
 -  **User** (Utilizador) — Filtra a lista para mostrar as ações do utilizador e as ações de autenticação do utilizador.
 -  **Run** (Ensaio) — Filtra a lista para mostrar as alterações nos parâmetros do ensaio ou no estado do ensaio
 -  **Analysis** (Análise) — Filtra a lista para mostrar as alterações nos parâmetros da análise ou no estado da análise.
 -  **System** (Sistema) — Filtra a lista para mostrar as ações ao nível do sistema, tais como carregamentos de ficheiros, manutenção do sistema ou definições de segurança.
2. Selecione **Filter** (Filtrar).

Exportar registos de auditoria

1. Na barra de navegação do painel, selecione o menu **Tools** (Ferramentas) e, em seguida, selecione **Audit Trails** (Registos de auditoria).
 2. Na página Audit Trails (Registos de auditoria), selecione o ícone Filter (Filtro) .
 3. Aplique os filtros à sua escolha.
 4. Selecione o ícone Export (Exportar) .
- O software gera um relatório no formato de ficheiro PDF que inclui o nome de utilizador, a data de exportação e os parâmetros do filtro.

Ícones dos registos de auditoria

São utilizados os seguintes ícones no ecrã Audit Trails (Registos de auditoria).

Ícone	Nome	Descrição
	Analysis (Análise)	Indica uma alteração nos parâmetros da análise ou no estado da análise.
	Run (Ensaio)	Indica uma alteração nos parâmetros do ensaio ou no estado do ensaio.
	System (Sistema)	Indica uma alteração nas definições do módulo ou nas definições do sistema.
	User (Utilizador)	Indica uma ação do utilizador ou uma ação de autenticação de utilizador.

Resolução de problemas

Introdução

Para problemas com a qualidade do ensaio ou desempenho, contacte o Suporte Técnico da Illumina. Consulte [Assistência Técnica on page 86](#).

Verificação do sistema

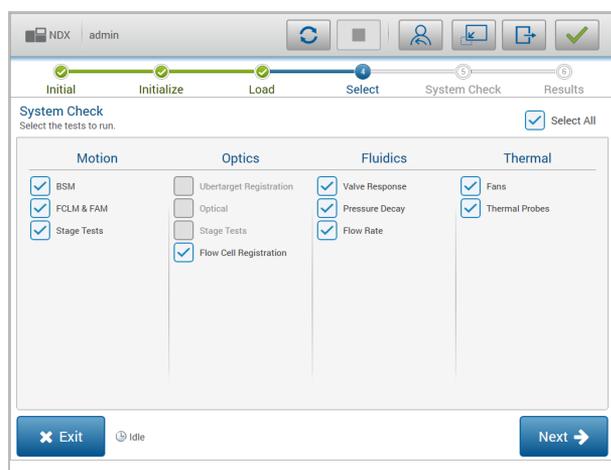
Não é necessária uma verificação do sistema para o funcionamento normal ou manutenção do instrumento. No entanto, um representante da Assistência Técnica da Illumina pode solicitar-lhe que efetue uma verificação do sistema, para fins de resolução de problemas.

NOTA Se estiver prevista uma lavagem do instrumento, efetue a lavagem antes de iniciar uma verificação do sistema.

Iniciar uma verificação do sistema automaticamente fecha o software operativo e inicia o NextSeq 550Dx (Software de serviço NextSeq 550Dx, NSS). O software de serviço é iniciado e abre o ecrã Load (Carregar), que está configurado para utilizar a opção de carregamento avançado.

As credenciais de administrador do Local Run Manager são necessárias para iniciar sessão no Service Software antes do aparecimento do ecrã de carregamento.

Figure 23 Verificações do sistema disponíveis



As caixas de verificação inativas no ecrã Select (Selecionar) indicam testes que exigem a assistência por um representante técnico da Illumina.

Executar uma verificação do sistema

1. No ecrã Manage Instrument (Gerir instrumento), selecione **System Check** (Verificação do sistema). Quando lhe for solicitado para fechar o software NOS, selecione **Yes** (Sim).
2. Carregue os consumíveis conforme se segue:
 - a. Se ainda não estiver presente uma célula de fluxo no instrumento, carregue uma célula de fluxo usada.
 - b. Esvazie o recipiente de reagentes gastos e volte a colocá-lo no instrumento.
 - c. Adicione 120 ml de água de grau laboratorial ao reservatório central do cartucho de lavagem de tampão e carregue-o.
 - d. Carregue o cartucho de lavagem de reagentes. Certifique-se de que o cartucho de lavagem de reagentes está vazio e limpo.
3. Selecione **Load** (Carregar). O software desloca a célula de fluxo e o cartucho de lavagem de reagentes para a devida posição. Selecione **Next** (Seguinte).
4. Selecione **Next** (Seguinte). A verificação do sistema inicia.
5. [Opcional] Quando a verificação do sistema estiver concluída, selecione **View** (Ver) junto ao nome da verificação para ver os valores associados a cada verificação.
6. Selecione **Next** (Seguinte). O relatório de verificação do sistema abre-se.
7. Selecione **Save** (Guardar) para guardar o relatório num ficheiro comprimido. Navegue até uma localização da rede para guardar o ficheiro.
8. Quando concluir, selecione **Exit** (Sair).
9. Quando lhe for solicitado para fechar o software de serviço e reiniciar o software NOS, selecione **Yes** (Sim). O software de controlo reinicia automaticamente.

Verificações do movimento

Verificação do sistema	Descrição
BSM	Verifica o ganho e a distância do Buffer Straw Mechanism (mecanismo de palha do tampão, BSM) para confirmar que o módulo está a funcionar corretamente.
FCLM & FAM	Verifica o ganho e a distância do Flow Cell Load Mechanism (mecanismo de carga da célula de fluxo, FCLM) e do Fluid Automation Module (módulo de automação de fluidos, FAM) para confirmar que os módulos estão a funcionar corretamente.
Testes do estrado	Verifica os limites de deslocação e o desempenho do estrado XY e 6 estrados Z, 1 para cada câmara.

Verificação da ótica

Verificação do sistema	Descrição
Registo da célula de fluxo	Mede a inclinação da célula de fluxo num plano ótico, testa a funcionalidade da câmara, testa o módulo de aquisição de imagens e verifica o registo da célula de fluxo na posição de aquisição de imagens correta.

Verificações dos fluidos

Verificação do sistema	Descrição
Resposta da válvula	Verifica a exatidão dos movimentos da válvula e da bomba e testa a amplitude de movimentação da seringa da bomba.
Queda de pressão	Verifica a taxa de fuga de um sistema de fluidos selado, que confirma que a célula de fluxo está montada corretamente na posição de sequenciação.
Taxa de fluxo	Verifica a funcionalidade dos sensores de bolhas, que são utilizados para detetar a presença de ar nas linhas de reagente. Mede as taxas de fluxo para verificar a presença de oclusões ou fugas.

Verificações térmicas

Verificação do sistema	Descrição
Ventoinhas	Verifica a velocidade das ventoinhas do sistema em impulso por minuto (IPM) para confirmar que as ventoinhas estão a funcionar. As ventoinhas que não estiverem a funcionar apresentam um valor negativo.
Sondas térmicas	Verifica a temperatura média de cada sensor térmico. Os sensores térmicos que não estiverem a funcionar apresentam um valor negativo.

Ficheiros de resolução de problemas

Um representante da Assistência técnica da Illumina pode solicitar cópias de ficheiros específicos do ensaio ou da digitalização para resolver problemas. Normalmente, são utilizados os seguintes ficheiros para a resolução de problemas.

Ficheiros de resolução de problemas para ensaios de sequenciação

Ficheiro principal	Pasta	Descrição
Ficheiro de informações do ensaio (RunInfo.xml)	Pasta raiz	Contém as seguintes informações: <ul style="list-style-type: none"> • Nome do ensaio • Número de ciclos no ensaio • Número de ciclos em cada leitura • Se a leitura é uma leitura indexada • Número de faixas e blocos na célula de fluxo
Ficheiro de parâmetros do ensaio (RunParameters.xml)	Pasta raiz	Contém informações sobre os parâmetros do ensaio e componentes do ensaio. As informações incluem a RFID, o número de série, o número da peça e a data de validade.
Ficheiro de configuração RTA (RTAConfiguration.xml)	Pasta raiz	Contém as definições de configuração RTA para o ensaio. O ficheiro RTAConfiguration.xml é criado no início do ensaio.
Ficheiros InterOp (*.bin)	InterOp	Ficheiros de comunicação binária. Os ficheiros InterOp são atualizados ao longo do ensaio.
Ficheiros de registo	Registos	Os ficheiros de registo descrevem cada passo executado pelo instrumento para cada ciclo e indicam as versões de software e firmware utilizadas com o ensaio. O ficheiro designado [InstrumentName]_CurrentHardware.csv enumera os números de série dos componentes do instrumento.
Ficheiros de registo de erros (*ErrorLog*.txt)	Registos RTA	Registo de erros RTA. Os ficheiros de registo de erros são atualizados sempre que ocorre um erro.
Ficheiros de registo globais (*GlobalLog*.tsv)	Registos RTA	Registo de todos os eventos RTA. Os ficheiros de registo globais são atualizados ao longo do ensaio.
Ficheiros de registo da pista (*LaneLog*.txt)	Registos RTA	Registo dos eventos de processamento RTA. Os ficheiros de registo da pista são atualizados ao longo do ensaio.

Erros RTA

Para a resolução de problemas com erros RTA, em primeiro lugar, verifique o registo de erros RTA, que está armazenado na pasta RTALogs (Registos RTA). Este ficheiro não está presente para ensaios bem-sucedidos. Inclua o registo de erros quando comunicar problemas à Assistência técnica da Illumina.

Resolver erros de verificação automática

Se ocorrerem erros durante a verificação automática, utilize as seguintes ações recomendadas para resolver o erro.

Verificações para ensaios de sequenciação

Se uma verificação pré-ensaio falhar, a RFID do cartucho de reagentes não é bloqueada e pode ser utilizada para um ensaio subsequente. No entanto, as RFID da célula de fluxo, do cartucho de reagentes e do cartucho de tampão serão bloqueadas durante uma iniciação do software de controlo, que pode ser necessária para resolver um erro. O utilizador deve remover a célula de fluxo, o cartucho de reagentes e o cartucho de tampão do instrumento antes de um reinício do sistema. Além disso, as RFID consumíveis são bloqueadas depois de os selos de alumínio serem perfurados. Assim que uma RFID de célula de fluxo é lida pelo software, dá-se início a um temporizador de sete horas até que a célula de fluxo seja considerada bloqueada e inutilizável.

Verificações do sistema	Ação recomendada
Portas fechadas	Certifique-se de que as portas do compartimento estão fechadas.
Consumíveis carregados	Os sensores de consumíveis não estão a registar. Certifique-se de que cada consumível é carregado corretamente. Nos ecrãs de configuração do ensaio, selecione Back (Voltar) para regressar ao passo de carregamento e repita a configuração do ensaio.
Software necessário	Estão ausentes componentes essenciais do software. Contacte a Assistência técnica da Illumina.
Espaço em disco no instrumento	O disco rígido do instrumento não tem espaço em disco suficiente para executar um ensaio. É possível que os dados de um ensaio anterior não tenham sido transferidos. Apague os dados do ensaio do disco rígido do instrumento.
Ligação de rede	A ligação de rede foi interrompida. Verifique o estado da rede e a ligação da rede física.
Espaço em disco na rede	O servidor de rede está cheio.

Temperatura	Ação recomendada
Temperatura	Contacte a Assistência Técnica da Illumina.
Sensores de temperatura	Contacte a Assistência Técnica da Illumina.
Ventoinhas	Contacte a Assistência Técnica da Illumina.
Sistema de aquisição de imagens	Ação recomendada
Limites de aquisição de imagens	Contacte a Assistência Técnica da Illumina.
Passos e instalação Z	Contacte a Assistência Técnica da Illumina.
Taxa de erro bit	Contacte a Assistência Técnica da Illumina.
Registo da célula de fluxo	<p>É possível que a célula de fluxo não esteja devidamente instalada.</p> <ul style="list-style-type: none"> Nos ecrãs de configuração do ensaio, selecione Back (Voltar) para regressar ao passo da célula de fluxo. A porta do compartimento de aquisição de imagens abre-se. Descarregue e volte a carregar a célula de fluxo para garantir que está instalada corretamente.
Administração de reagentes	Ação recomendada
Resposta da válvula	Contacte a Assistência Técnica da Illumina.
Bomba	Contacte a Assistência Técnica da Illumina.
Mecanismo de tampão	Contacte a Assistência Técnica da Illumina.
Recipiente de reagentes gastos vazio	Esvazie o recipiente de reagentes gastos e volte a carregar o recipiente vazio.

O recipiente de reagentes gastos está cheio

Inicie sempre um ensaio com um recipiente de reagentes gastos vazio.

Se iniciar um ensaio sem esvaziar o recipiente de reagentes gastos, os sensores do sistema fazem com que o software interrompa o ensaio quando o recipiente estiver cheio. Os sensores do sistema não podem interromper um ensaio durante o clustering, a ressíntese de extremidade emparelhada ou a lavagem automática pós-ensaio.

Quando o ensaio é interrompido, abre-se uma caixa de diálogo com opções para levantar as unidades de aspiração e esvaziar o recipiente completo.

Esvaziar o recipiente de reagentes gastos

1. Selecione **Raise Sippers** (Levantar unidades de aspiração).
2. Remova o recipiente de reagentes gastos e elimine o conteúdo corretamente.
3. Volte a colocar o recipiente vazio no compartimento de tampão.
4. Selecione **Continue** (Continuar). O ensaio é retomado automaticamente.

Mensagem de erro RAID

O computador NextSeq 550Dx está equipado com quatro discos rígidos, dois para o modo de diagnóstico e dois para o modo de investigação. Se um disco rígido começar a falhar, o sistema gera uma mensagem de erro RAID e sugere que contacte a Assistência técnica da Illumina. Normalmente, é necessária a substituição do disco rígido.

Pode prosseguir com os passos de configuração do ensaio e funcionamento normal. A finalidade da mensagem é programar a manutenção antecipadamente para evitar interrupções no funcionamento normal do instrumento. O aviso RAID só pode ser confirmado por um administrador. Utilizar o seu instrumento com apenas um disco rígido poderá provocar a perda de dados.

Erro de armazenamento de rede

Os erros de armazenamento de rede são provocados por um dos seguintes motivos:

- **Espaço de armazenamento insuficiente para a pasta de saída** — Aumente a quantidade de espaço no dispositivo de armazenamento ou mova a pasta de saída para uma localização com armazenamento suficiente.
- **Não é possível ligar ao armazenamento de rede** — Verifique o caminho para a pasta de saída. Consulte [Definir a pasta de saída predefinida on page 26](#).
- **O sistema não consegue escrever no armazenamento de rede**— Consulte o seu administrador de TI para verificar as permissões. A Conta do Windows no sistema operativo do instrumento exige a permissão de leitura e escrita na pasta de saída.

A Conta do Windows no Local Run Manager também exige a permissão de leitura e escrita na pasta de saída. Consulte [Especificar as definições das contas de serviços do sistema on page 56](#).

Configurar as definições do sistema

O sistema é configurado durante a instalação. No entanto, se for necessário efetuar uma alteração ou se o sistema tiver de ser reconfigurado, utilize as opções de configuração do sistema. Apenas uma conta de administrador do Windows tem a permissão para aceder às opções de configuração do sistema.

- **Network Configuration** — Fornece opções para as definições do endereço IP, endereço do servidor de nomes de domínio (DNS), nome do computador e nome do domínio.

Definir a configuração da rede

1. No ecrã Manage Instrument (Gerir instrumento), selecione **System Configuration** (Configuração do sistema).
2. Selecione **Obtain an IP address automatically** (Obter um endereço IP automaticamente) para obter o endereço IP utilizando o servidor DHCP.

NOTA O Protocolo de configuração dinâmica do anfitrião (Dynamic Host Configuration Protocol, DHCP) é um protocolo de rede padrão utilizado nas redes IP para distribuir os parâmetros de configuração da rede de forma dinâmica.

Alternativamente, selecione **Use the following IP address** (Utilizar o seguinte endereço IP) para ligar o instrumento a outro servidor manualmente conforme se segue. Contacte o seu administrador de rede para os endereços específicos à sua instituição.

- Introduza o endereço IP. O endereço IP é uma série de 4 números separados por um ponto, semelhante a 168.62.20.37, por exemplo.
 - Introduza a máscara de sub-rede, que é uma subdivisão da rede IP.
 - Introduza o gateway predefinido, que é o router na rede que liga à Internet.
3. Selecione **Obtain a DNS server address automatically** (Obter automaticamente o endereço do servidor DNS) para ligar o instrumento ao servidor do nome de domínio associado ao endereço IP.
Alternativamente, selecione **Use the following DNS server addresses** (Utilizar os seguintes endereços de servidor DNS) para ligar o instrumento ao servidor do nome de domínio manualmente conforme se segue.
 - Introduza o endereço DNS preferido. O endereço DNS é o nome do servidor utilizado para traduzir os nomes de domínio para endereços IP.
 - Introduza o endereço DNS alternativo. O endereço alternativo é utilizado se o DNS preferido não conseguir traduzir um nome de domínio particular para um endereço IP.
 4. Selecione **Save** (Guardar) para avançar para o ecrã Computer (Computador).

NOTA O nome do computador do instrumento é atribuído ao computador do instrumento na altura do fabrico. Quaisquer alterações no nome do computador podem afetar a conectividade e exigem um administrador de rede.

5. Ligue o computador do instrumento a um domínio ou grupo de trabalho conforme se segue.
 - **Para os instrumentos ligados à Internet** — Selecione **Member of Domain** (Membro do domínio) e, em seguida, introduza o nome de domínio associado à ligação à Internet na sua instituição. As alterações ao domínio exigem um nome de utilizador e palavra-passe de administrador.
 - **Para os instrumentos não ligados à Internet** — Selecione **Member of Work Group** (Membro do grupo de trabalho) e, em seguida, introduza um nome do grupo de trabalho. O nome do grupo de trabalho é exclusivo da sua instituição.
6. Selecione **Save** (Guardar).

Real-Time Analysis

Descrição geral da Real-Time Analysis

O Instrumento NextSeq 550Dx utiliza uma implementação do software Real-Time Analysis (RTA) denominada RTA2. O RTA2 é executado no computador do instrumento e extrai intensidades das imagens, efetua chamadas de base e atribui uma pontuação de qualidade à chamada de base. O RTA2 e o software operativo comunicam através de uma interface HTTP Web e ficheiros de memória partilhados. Se RTA2 terminar, o processamento não é retomado e os dados do ensaio não são guardados.

Entradas RTA2

RTA2 requer os seguintes entradas para processar:

- Imagens em bloco contidas na memória de sistema local.
- `RunInfo.xml`, que é gerado automaticamente no início do ensaio e indica o nome do ensaio, o número de ciclos, se uma leitura está indexada e o número de blocos na célula de fluxo.
- `RTA.exe.config`, que é o ficheiro de configuração do software no formato XML.

O RTA2 recebe os comandos do software operativo sobre a localização do ficheiro `RunInfo.xml` e se é especificada uma pasta de saída opcional.

Ficheiros de saída do RTA2

As imagens para cada canal são transferidas na memória como blocos. Os blocos são pequenas áreas de imagens na célula de fluxo definidos como o campo de visão pela câmara. A partir destas imagens, o software produz o elemento de saída como um conjunto de ficheiros de identificação de bases com a pontuação de qualidade e ficheiros de filtro. Todos os outros ficheiros são ficheiros de saída de suporte.

Tipo de ficheiro	Descrição
Ficheiros de identificação de bases	Cada bloco que é analisado é incluído num ficheiro de identificação de bases agregadas (*.bcl.bgzf) para cada pista e para cada ciclo. O ficheiro de identificação de bases agregadas contém a identificação de bases e a pontuação de qualidade associada para cada cluster nessa pista.
Ficheiros de filtro	Cada bloco produz informações do filtro que são agregadas em 1 ficheiro de filtro (*.filter) para cada pista. O ficheiro de filtro especifica se um cluster passa pelo filtro.

Tipo de ficheiro	Descrição
Ficheiros de localização de clusters	Os ficheiros de localização de clusters (*.locs) contêm as coordenadas X, Y para todos os clusters num bloco. É gerado um ficheiro de localização de clusters para cada pista durante a geração de modelos.
Ficheiros de índice de identificação de bases	É produzido um ficheiro de indexação de identificação de bases (*.bci) para cada pista para preservar a informação do bloco original. O ficheiro de indexação contém um par de valores para cada bloco, qual é o número do bloco e o número de clusters para esse bloco.

O RTA2 fornece métricas em tempo real da qualidade do ensaio armazenadas como ficheiros InterOp. Os ficheiros InterOp são uma saída binária que contém o bloco, ciclo e métricas do nível de leitura.

Erro ao manusear

O RTA2 cria os ficheiros de registo e grava-os na pasta RTALogs. Os erros são registados num ficheiro de erro no formato de ficheiro *.tsv.

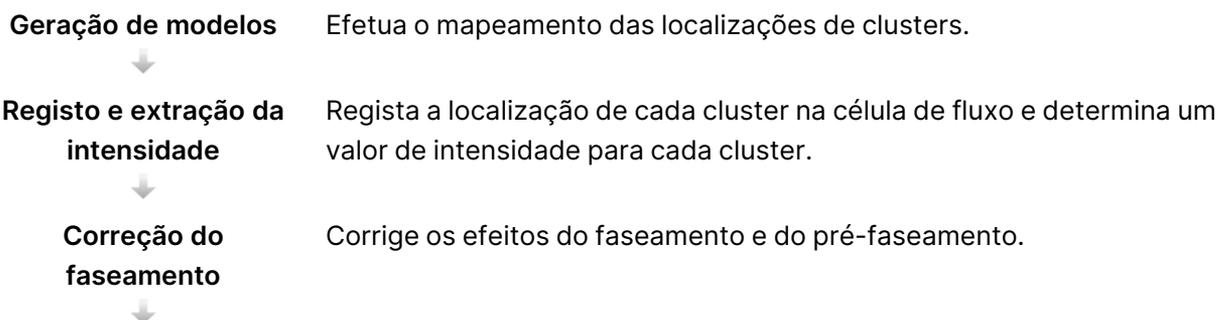
Os seguintes ficheiros de registo e erro são transferidos para o destino de saída final, no fim do processamento:

- O *GlobalLog*.tsv resume os eventos de ensaio importantes.
- O *LaneNLog*.tsv apresenta os eventos de processamento para cada pista.
- O *Error*.tsv apresenta os erros que ocorreram durante um ensaio.
- O *WarningLog*.tsv apresenta os avisos que ocorreram durante um ensaio.

Universal Copy Service

O NextSeq 550Dx inclui um Universal Copy Service. O RTA2 solicita ao serviço que copie os ficheiros de um local de origem para um local de destino e o serviço processa os pedidos de cópia pela ordem recebida. Se ocorrer uma exceção, o ficheiro é novamente colocado em fila de espera para a cópia com base no número de ficheiros na fila para cópia.

Fluxo de trabalho da Real-Time Analysis



Identificação de bases**Pontuação de qualidade**

Determina uma identificação de bases para cada cluster.

Atribui uma pontuação de qualidade a cada identificação de bases.

Geração de modelos

O primeiro passo no fluxo de trabalho RTA é a geração de modelos, que define a posição de cada cluster num bloco utilizando as coordenadas X e Y.

A geração de modelos exige dados de imagens dos primeiros 5 ciclos do ensaio. Após a aquisição de imagens do último ciclo de modelos para um bloco, é gerado o modelo.

NOTA Para detetar um cluster durante a geração de modelos, tem de existir, pelo menos, 1 base diferente de G nos primeiros **5** ciclos. Para quaisquer sequências de indexação, o RTA2 necessita de, pelo menos, 1 base diferente de G nos primeiros **2** ciclos.

O modelo é utilizado como referência para o passo subsequente de registo e extração da intensidade. As posições dos clusters para toda a célula de fluxo são gravadas nos ficheiros de localização dos clusters (*.locs), 1 ficheiro para cada pista.

Registo e extração da intensidade

O registo e a extração da intensidade começam após a geração de modelos.

- O registo alinha as imagens produzidas em cada ciclo subsequente de aquisição de imagens em relação ao modelo.
- A extração de intensidade determina um valor de intensidade para cada cluster no modelo para uma determinada imagem.

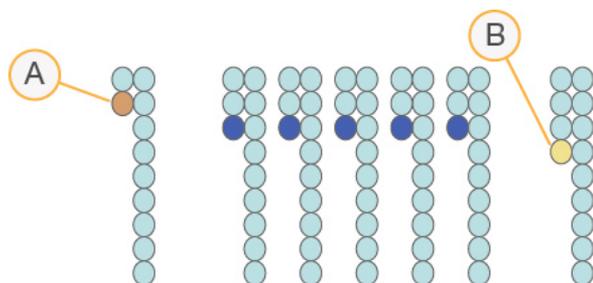
Se o registo falhar para quaisquer imagens num ciclo, não são geradas quaisquer identificações de bases para esse bloco nesse ciclo.

Correção da colocação em fase

Durante a reação de sequenciação, cada cadeia de ADN num cluster estende-se por 1 base por ciclo. O faseamento e o pré-faseamento ocorrem, quando uma cadeia fica fora de fase com o ciclo atual de incorporação.

- O faseamento ocorre quando uma base fica para trás.
- O pré-faseamento ocorre quando uma base avança.

Figure 24 Faseamento e pré-faseamento



- A. Leitura com uma base em faseamento
 B. Leitura com uma base em pré-faseamento.

O RTA2 corrige os efeitos do faseamento e do pré-faseamento, o que maximiza a qualidade dos dados em cada ciclo do ensaio.

Identificação de bases

A identificação de bases determina a base (A, C, G ou T) de cada cluster de um determinado bloco, num ciclo específico. O Instrumento NextSeq 550Dx utiliza a sequenciação de 2 canais, que exige apenas 2 imagens para codificar os dados para 4 bases de ADN, 1 do canal vermelho e 1 do canal verde.

As intensidades extraídas de uma imagem em comparação com outra imagem resultam em 4 populações distintas, cada uma correspondente a um nucleótido. O processo de identificação de bases determina a que população pertence cada cluster.

Figure 25 Visualização de intensidades de cluster

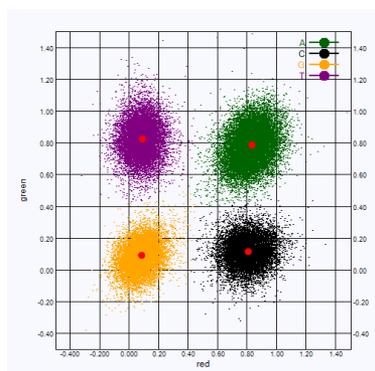


Table 1 Identificações de bases na sequenciação de 2 canais

Base	Canal vermelho	Canal verde	Resultado
A	1 (ligado)	1 (ligado)	Clusters que exibem intensidade quer no canal vermelho quer no canal verde.

Base	Canal vermelho	Canal verde	Resultado
C	1 (ligado)	0 (desligado)	Clusters que exibem intensidade apenas no canal vermelho.
G	0 (desligado)	0 (desligado)	Clusters que não exibem qualquer intensidade numa localização conhecida do cluster.
T	0 (desligado)	1 (ligado)	Clusters que exibem intensidade apenas no canal verde.

Clusters que passam pelo filtro

Durante o ensaio, o RTA2 filtra os dados em bruto para remover as leituras que não cumprem o limiar de qualidade dos dados. Os clusters sobrepostos e de baixa qualidade são removidos.

Para a análise de 2 canais, o RTA2 utiliza um sistema com base na população para determinar a pureza de uma identificação de bases. O filtro de passagem de clusters (PF) é ativado quando não houver mais do que 1 identificação de bases nos primeiros 25 ciclos com pureza < 0,63. A identificação de bases não é realizada nos clusters que não passarem no filtro.

Considerações de indexação

O processo das leituras de índice de identificação de bases é diferente da identificação de bases durante outras leituras.

As leituras de indexação têm de iniciar com pelo menos 1 base diferente de G em qualquer um dos 2 primeiros ciclos. Se uma leitura de indexação iniciar com 2 identificações de bases de G, não é gerada nenhuma intensidade do sinal. O sinal tem de estar presente em qualquer um dos 2 primeiros ciclos para garantir a execução da desmultiplexagem.

Para aumentar a robustez de desmultiplexagem, selecione sequências de indexação que forneçam um sinal em pelo menos 1 canal, de preferência em ambos os canais, para todos os ciclos. Seguir esta diretriz evita combinações de indexações que resultam em apenas bases G em qualquer ciclo.

- Canal vermelho — A ou C
- Canal verde — A ou T

Este processo de identificação de bases assegura a precisão ao analisar amostras de baixa plexagem.

Pontuação de qualidade

Uma pontuação de qualidade, ou pontuação Q, é uma previsão da probabilidade de uma identificação de bases incorreta. Uma pontuação-Q mais elevada implica que a identificação de bases tem uma qualidade mais elevada e há mais probabilidade de estar correta.

A pontuação-Q é uma forma compacta de comunicar probabilidades de pequenos erros. As pontuações de qualidade são representadas como Q(X), onde X é a pontuação. A seguinte tabela mostra a relação entre a pontuação de qualidade e a probabilidade de erro.

Pontuação-Q Q (X)	Probabilidade de erro
Q40	0,0001 (1 em 10 000)
Q30	0,001 (1 em 1000)
Q20	0,01 (1 em 100)
Q10	0,1 (1 em 10)

NOTA A pontuação de qualidade baseia-se numa versão modificada do algoritmo Phred.

A pontuação de qualidade calcula um conjunto de preditores para cada identificação de bases e, em seguida, usa os valores do preditor para verificar a pontuação-Q numa tabela de qualidade. As tabelas de qualidade são criadas para fornecer previsões de qualidade perfeitamente precisas, para ensaios gerados por uma configuração específica da plataforma de sequenciação e versão de química.

Depois de determinar a pontuação-Q, os resultados são registados nos ficheiros de identificação de bases (*.bcl.bgzf).

Ficheiros e pastas de saída

Estrutura da pasta de saída

O software operativo gera o nome da pasta de saída automaticamente.

Data

Intensities

BaseCalls

 **L001** — Ficheiros da identificação de bases para a pista 1, agregados em 1 ficheiro por ciclo.

 **L002** — Ficheiros da identificação de bases para a pista 2, agregados em 1 ficheiro por ciclo.

 **L003** — Ficheiros da identificação de bases para a pista 3, agregados em 1 ficheiro por ciclo.

 **L004** — Ficheiros da identificação de bases para a pista 4, agregados em 1 ficheiro por ciclo.

 **L001** — Um ficheiro *.locs agregado para a pista 1.

 **L002** — Um ficheiro *.locs agregado para a pista 2.

 **L003** — Um ficheiro *.locs agregado para a pista 3.

 **L004** — Um ficheiro *.locs agregado para a pista 4.

Images

Focus

 **L001** — Imagens focadas para a pista 1.

 **L002** — Imagens focadas para a pista 2.

 **L003** — Imagens focadas para a pista 3.

 **L004** — Imagens focadas para a pista 4.

 **InterOp** — Ficheiros binários.

 **Logs** — Ficheiros de registo que descrevem os passos operacionais.

 **Recipe** — Ficheiro de receitas específicas do ensaio designado com a ID do cartucho de reagentes.

 **RTALogs** — Ficheiros de registo que descrevem os passos de análise.

 RTAComplete.txt

 RTAConfiguration.xml

 RunInfo.xml

 RunParameters.xml

Ficheiros de saída de sequenciação

Tipo de ficheiro	Descrição, Localização e Nome de ficheiro
Ficheiros de identificação de bases	<p>Cada bloco analisado é incluído num ficheiro de identificação de bases, agregado em 1 ficheiro para cada pista, para cada ciclo. O ficheiro agregado contém a identificação de bases e a pontuação de qualidade codificada para cada cluster nessa pista.</p> <p><code>Data\Intensities\BaseCalls\L00[X]</code> — Os ficheiros são guardados em 1 pasta para cada pista.</p> <p><code>[Cycle].bcl.bgzf</code>, onde <code>[Cycle]</code> representa o número do ciclo em 4 dígitos. Os ficheiros de identificação de bases são comprimidos com a compressão de blocos gzip.</p>
Ficheiro de indexação de bases	<p>Para cada pista, um ficheiro de indexação binário lista as informações originais do bloco num par de valores para cada bloco, que são o número do bloco e o número de clusters para o bloco.</p> <p>Os ficheiros de indexação de identificação de bases são criados da primeira vez que é criado um ficheiro de identificação de bases para essa pista.</p> <p><code>Data\Intensities\BaseCalls\L00[X]</code> — Os ficheiros são guardados em 1 pasta para cada pista.</p> <p><code>s_[Lane].bci</code></p>
Ficheiros de localização de clusters	<p>Para cada bloco, as coordenadas XY para todos os clusters são agregadas em 1 ficheiro de localização de clusters para cada pista. Os ficheiros de localização de clusters são o resultado da geração de modelos.</p> <p><code>Data\Intensities\L00[X]</code> — Os ficheiros são guardados em 1 pasta para cada pista.</p> <p><code>s_[lane].locs</code></p>
Ficheiros de filtro	<p>O ficheiro de filtro especifica se um cluster passou pelos filtros. As informações do filtro são agregadas em 1 ficheiro de filtro para cada pista e leitura.</p> <p>Os ficheiros de filtro são gerados ao ciclo 26 com 25 ciclos de dados.</p> <p><code>Data\Intensities\BaseCalls\L00[X]</code> — Os ficheiros são guardados em 1 pasta para cada pista.</p> <p><code>s_[lane].filter</code></p>
Ficheiros InterOp	<p>Ficheiros de comunicação binária. Os ficheiros InterOp são atualizados ao longo do ensaio.</p> <p>Pasta <code>InterOp</code></p>

Tipo de ficheiro	Descrição, Localização e Nome de ficheiro
Ficheiro de configuração RTA	Criado no início do ensaio, o ficheiro de configuração RTA indica as definições para o ensaio. [Root folder], RTAConfiguration.xml
Ficheiro de informações do ensaio	Indica o nome do ensaio, o número de ciclos em cada leitura, se a leitura é uma leitura indexada e o número de faixas e blocos na célula de fluxo. O ficheiro de informações do ensaio é criado no início do ensaio. [Root folder], RunInfo.xml

Blocos da célula de fluxo

Os blocos são pequenas áreas de imagens na célula de fluxo definidos como o campo de visão pela câmara. O número total de blocos depende do número de pistas, faixas e superfícies cujas imagens são adquiridas na célula de fluxo e como as câmaras trabalham em conjunto para recolher as imagens. As células de fluxo de saída elevada têm um total de 864 blocos.

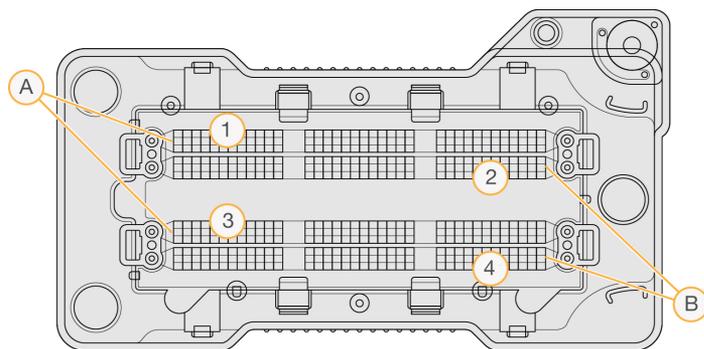
Table 2 Blocos da célula de fluxo

Componente da célula de fluxo	Saída elevada	Descrição
Pistas	4	Uma pista é um canal físico com portas de entrada e saída dedicadas.
Superfícies	2	São obtidas imagens da célula de fluxo em 2 superfícies, a superior e a inferior. É adquirida a imagem da superfície superior de 1 bloco e, em seguida, é adquirida a imagem da superfície inferior do mesmo bloco antes de se mover para o bloco seguinte.
Faixas por pista	3	Uma faixa é uma coluna de blocos numa pista.
Segmentos da câmara	3	O instrumento utiliza 6 câmaras para adquirir imagens da célula de fluxo em 3 segmentos para cada pista.
Blocos por faixa por segmento da câmara	12	Um bloco é a área na célula de fluxo que a câmara visualiza como 1 imagem.
Total de imagens dos blocos	864	O número total de blocos equivale às pistas × superfícies × faixas × segmentos da câmara × blocos por faixa por segmento.

Numeração das pistas

Pistas 1 e 3, designadas par de pistas A: são adquiridas as imagens ao mesmo tempo. Pistas 2 e 4, designadas par de pistas B: são adquiridas as imagens quando a aquisição de imagens do par de pistas A estiver concluída.

Figure 26 Numeração das pistas

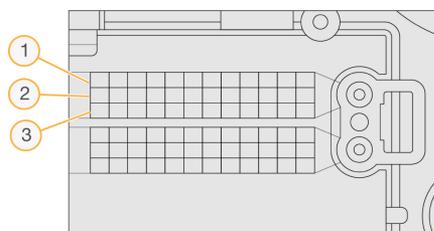


- A. Par de pistas A — Pistas 1 e 3
- B. Par de pistas B — Pistas 2 e 4

Numeração das faixas

São adquiridas as imagens de cada pista em 3 faixas. As faixas são numeradas entre 1 e 3 para as células de fluxo de saída elevada.

Figure 27 Numeração das faixas

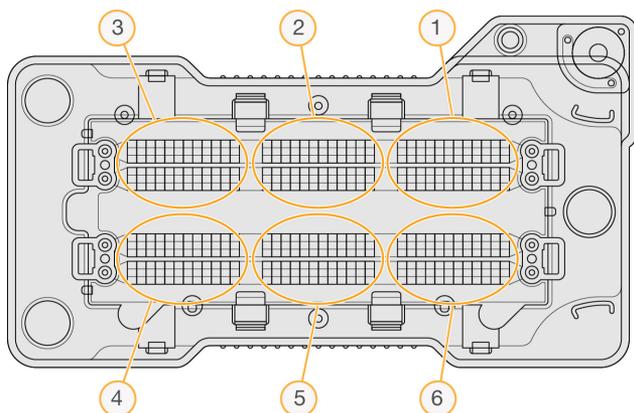


Numeração das câmaras

O Instrumento NextSeq 550Dx utiliza 6 câmaras para adquirir imagens da célula de fluxo.

As câmaras são numeradas entre 1 e 6. Pista 1 de imagens das câmaras 1 a 3. Pista 3 de imagens das câmaras 4 a 6. Após a aquisição das imagens das pistas 1 e 3, o módulo de aquisição de imagens move-se no eixo X para as pistas 2 e 4 de imagens.

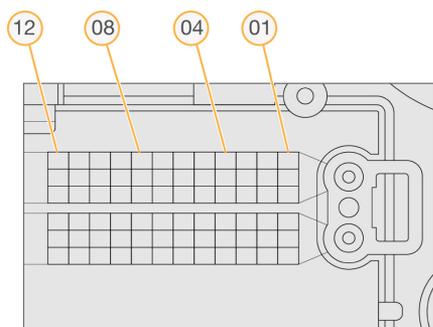
Figure 28 Numeração das câmaras e segmentos (célula de fluxo de saída elevada apresentada)



Numeração dos blocos

Existem 12 blocos em cada faixa de cada segmento da câmara. Os blocos são numerados de 01 a 12, independentemente do número da faixa ou segmento da câmara e são representados em 2 dígitos.

Figure 29 Numeração dos blocos



O número completo do bloco inclui 5 dígitos para representar a localização, conforme se segue:

- **Superfície** — 1 representa a superfície superior; 2 representa a superfície inferior
- **Faixa** — 1, 2 ou 3
- **Câmara** — 1, 2, 3, 4, 5 ou 6
- **Bloco** — 01, 02, 03, 04, 05, 06, 07, 08, 09, 10, 11 ou 12

Exemplo: O número 12508 indica a superfície superior, a faixa 2, a câmara 5 e o bloco 8.

O número completo do bloco de 5 dígitos é utilizado no nome do ficheiro das imagens miniatura e ficheiros de faseamento empírico. Para mais informações, consulte [Ficheiros de saída de sequenciação on page 78](#).

Índice

A

a minha conta 21
ajuda
 documentação 1
ajuda técnica 86
alertas de estado 12
algoritmo Phred 74
amostras
 pesquisar 19
 separador de amostras e resultados 42
análise
 ficheiros de saída 78
 recolocar em fila de espera 43
 ver resultados 40
análise, primária
 pureza do sinal 74
apoio ao cliente 86
assistência técnica 86
áudio 24

B

barra de estado 3
BaseSpace 1
botão de alimentação 4, 23

C

cartucho de reagente
 reservatório n.º 6 37
cartucho de reagentes
 descrição geral 7
 reservatório n.º 28 48
cartucho de tampão 8, 36
célula de fluxo
 aquisição de imagens 80
 blocos 79
 descrição geral 6
 embalagem 32

limpeza 32
numeração das pistas 80
numeração do blocos 81
número da faixa 80
pares de pistas 6
pinos de alinhamento 33
tipos 1
ciclos de densidade de clusters 39
ciclos numa leitura 29
clusters que passam pelo filtro 74
compartimento de aquisição de imagens 3
compartimento de reagentes 3
compartimento de tampão 3
compatibilidade
 célula de fluxo, cartucho de reagentes 5
 controlo RFID 5, 7
componentes
 barra de estado 3
 compartimento de aquisição de imagens 3
 compartimento de reagentes 3
 compartimento de tampão 3
comprimento da leitura 29
comprimento de leitura 29
considerações de indexação 74
consumíveis 5
 água laboratorial 10
 cartucho de reagentes 7
 cartucho de tampão 8
 célula de fluxo 6
 ensaio de sequenciação 9
 lavar consumíveis 46, 48
 manutenção do instrumento 9
consumíveis fornecidos pelo utilizador 9
controlo RFID 5

D

dados
 período de cópia de segurança 56
definições da conta de serviço 56

- definições de configuração 68
- definições de manutenção 56
- definições do sistema 24, 55
- definições e tarefas administrativas 52
- diretrizes de água laboratorial 10
- documentação 1, 86
- duração do ensaio 29, 31
- duração do tempo limite de atividade 56

E

- eliminar um utilizador 55
- encerrar o instrumento 27
- ensaios
 - ativos 18
 - definir o início 25
 - editar 19
 - filtrar 18
 - marcar 19
 - ocultar 18
 - pesquisar 19
 - progresso 38
 - Separador da descrição geral do ensaio 40
- erro de armazenamento de rede 67
- erros de verificação pré-ensaio 65
- erros e avisos 12, 71
- espaço em disco
 - verificar 11

F

- faseamento empírico 72
- faseamento, pré-faseamento 72
- ficheiros de filtros 78
- ficheiros de identificação de bases 78
- ficheiros de saída 78
- ficheiros de saída, sequenciação 78
- ficheiros InterOp 64, 79
- ficheiros locs 78
- filtro de ar 4, 50
- filtro de pureza 74
- fluxo de trabalho
 - cartucho de reagente 36

- cartucho de tampão 36
- célula de fluxo 33
- considerações de indexação 74
- descrição geral 30
- duração do ensaio 29, 31
- hipoclorito de sódio 48
- métricas do ensaio 38
- preparação de células de fluxo 32
- reagentes gastos 34
- sequenciação 71
- verificação pré-ensaio 37

- fluxo de trabalho de sequenciação 30, 71
- formação online 1
- formamida, posição 6 37

G

- geração de clusters 29, 39
- geração de modelos 72
- gerir instrumento
 - encerrar 27
- gestão de utilizadores 52

H

- hipoclorito de sódio, lavagem 48

I

- ícones
 - erros e avisos 12
 - estado 12
 - Local Run Manager 16
 - minimizar o NOS 12
 - registos de auditoria 59
- identificação de bases 73
 - considerações de indexação 74
- imagiologia, sequenciação de 2 canais 73
- instrumento
 - alunha 24
 - arranque 23
 - avatar 24
 - botão de alimentação 4

- dados de desempenho 25
- definições de configuração 68
- encerrar 26-27
- indicadores de modo 24
- reinicializar 26
- reiniciar 27
- intensidades 73
- interruptor de alimentação 23

L

- lavagem
 - automática 45
 - consumíveis fornecidos pelo utilizador 46
 - lavagem manual 46
 - lavar componentes 46
- lavagem do instrumento 46
- lavagem pós-ensaio 45
- Local Run Manager
 - definições do módulo 57
 - fluxo de trabalho 15
 - ícones 16
 - palavras-passe do utilizador 21
 - visualização 14-15
- localização da cópia de segurança 56
- localização de clusters 72
 - ficheiros 78

M

- manutenção do instrumento
 - consumíveis 9
- manutenção preventiva 46
- manutenção, preventiva 46
- Mensagem de erro RAID 67
- métrica
 - identificação de bases 73
- métricas 39
 - ciclos de intensidade 39
- métricas do ensaio 38
- modo RUO 26
- Modo RUO 24

N

- nome de utilizador e palavra-passe 23
- nome de utilizador e palavra-passe do sistema 23
- numeração das câmaras 80
- numeração das faixas 80
- numeração das pistas 80
- numeração dos blocos 81

P

- palavra-passe
 - alterar 22
 - criar 54
 - desbloquear 54
 - estados 21
 - expiração 56
 - gestão 52
 - repor 54
- palavras-passe
 - tentativas permitidas 56
 - utilizador 21
- pares de pistas 80
- passagem pelo filtro (PF) 74
- pasta do ensaio
 - alterar localização 44
 - definir a localização 26
 - definir localização 25
 - definir saída 26
 - eliminar 20
 - voltar a ligar 20
- permissões do utilizador
 - alterar 55
 - eliminar 55
- pontuações de Q 74
- probabilidade de erro 74

R

- reagentes
 - eliminação correta 36
 - em kits 5

- reagentes gastos
 - eliminação 34, 49
 - recipiente cheio 67
- recolocar a análise em fila de espera 43
- registos de auditoria
 - exportar 59
 - filtrar 58
 - ícones 59
 - ver 57
- reinicializar
 - instrumento 26-27
 - modo de investigação 26
- reinicializar para o modo de investigação 24
- reiniciar 27
- remover pastas inativas 56
- resolução de problemas
 - ficheiros específicos do ensaio 63-64
 - recipiente de reagentes gastos 67
 - verificação do sistema 61
 - verificação pré-ensaio 65
- RunInfo.xml 64, 78-79

S

- separador de informações de
 - sequenciação 41
- sequenciação
 - consumíveis fornecidos pelo utilizador 9
 - introdução 29
- sequenciação durante a análise 15
- serviço de monitorização proativa da
 - Illumina 25
- Serviço de monitorização proativa da
 - Illumina 25
- software
 - análise de imagens, identificação de bases 11
 - definições de configuração 68
 - duração do ensaio 29, 31
 - inicialização 23
 - no instrumento 11
 - verificação do espaço em disco 11
- software de controlo 11

- software Real-Time Analysis 1, 11
 - faseamento 72
 - fluxo de trabalho 71
 - resultados 78

T

- tamanho da leitura 31
- teclado 24
- tempo limite do sistema 56
- transferência de dados
 - serviço de cópia universal 71

U

- Universal Copy Service 71

V

- verificação do sistema 61
- verificação pré-ensaio 37

W

- Windows
 - acesso 12
 - sair 27

Assistência Técnica

Para obter assistência técnica, contacte a Assistência Técnica da Illumina.

Website: www.illumina.com

E-mail: techsupport@illumina.com

Fichas de dados de segurança (SDS) — Disponíveis no website da Illumina em support.illumina.com/sds.html.

Documentação do produto — Disponível para descarregamento em support.illumina.com.



Illumina, Inc.
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 EUA
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (fora da América do Norte)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
The Netherlands

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

PARA UTILIZAÇÃO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO.

© 2023 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados.

illumina[®]