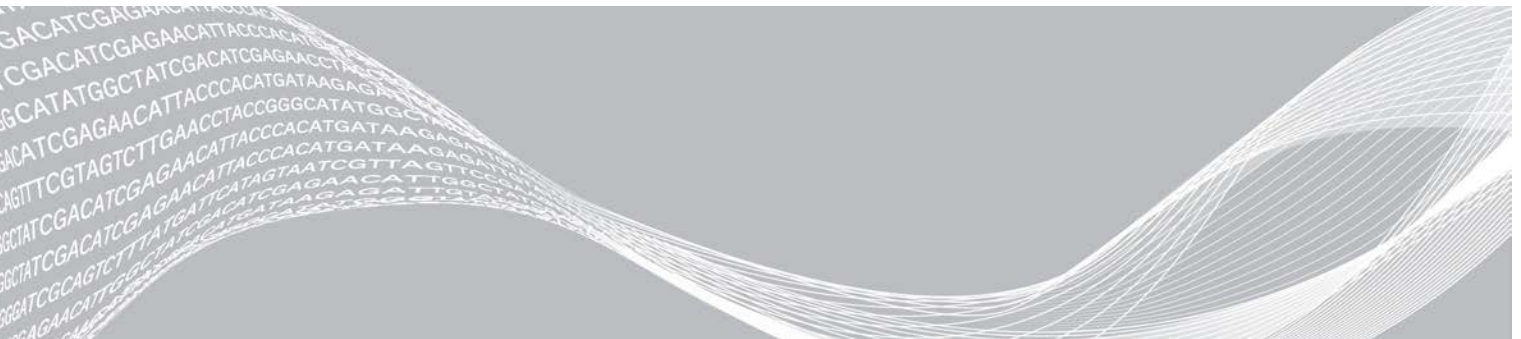


VeriSeq NIPT Solution v2

Guida del software



L'utilizzo di questo prodotto è coperto da brevetti di proprietà di Illumina, Inc., che ne detiene la licenza. Il pagamento di questo prodotto conferisce il diritto limitato e non trasferibile all'utilizzo di questo prodotto per l'uso previsto in base alla relativa documentazione e a tutti gli altri termini e condizioni associati. Un elenco rappresentativo e non esaustivo di tali brevetti si trova nella pagina web www.illumina.com/patents. Non sono concessi altri diritti, sia espressamente o implicitamente menzionati o ancora per preclusione, soggetti a qualsiasi altro brevetto o per qualsiasi altro uso.

Questo documento e il suo contenuto sono di proprietà di Illumina, Inc. e delle aziende ad essa affiliate ("Illumina") e sono destinati esclusivamente ad uso contrattuale da parte dei clienti di Illumina, per quanto concerne l'utilizzo dei prodotti qui descritti, con esclusione di qualsiasi altro scopo. Questo documento e il suo contenuto non possono essere usati o distribuiti per altri scopi e/o in altro modo diffusi, resi pubblici o riprodotti, senza previa approvazione scritta da parte di Illumina. Mediante questo documento, Illumina non trasferisce a terzi alcuna licenza ai sensi dei suoi brevetti, marchi, copyright, o diritti riconosciuti dal diritto consuetudinario, né diritti simili di alcun genere.

Al fine di assicurare un uso sicuro e corretto dei prodotti qui descritti, le istruzioni riportate in questo documento devono essere scrupolosamente ed esplicitamente seguite da personale qualificato e adeguatamente addestrato. Leggere e comprendere a fondo tutto il contenuto di questo documento prima di usare tali prodotti.

LA LETTURA INCOMPLETA DEL CONTENUTO DEL PRESENTE DOCUMENTO E IL MANCATO RISPETTO DI TUTTE LE ISTRUZIONI IN CONTENUTE POSSONO CAUSARE DANNI AL/I PRODOTTO/I, LESIONI PERSONALI A UTENTI E TERZI E DANNI MATERIALI E RENDERANNO NULLA QUALSIASI GARANZIA APPLICABILE AL/I PRODOTTO/I.

ILLUMINA NON SI ASSUME ALCUNA RESPONSABILITÀ DERIVANTE DALL'USO IMPROPRIO DEL/DEI PRODOTTO/I QUI DESCRITTI (INCLUSI SOFTWARE O PARTI DI ESSO).

© 2021 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati.

Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, visitare la pagina web www.illumina.com/company/legal.html.

Cronologia revisioni

Documento	Data	Descrizione della modifica
Documento n. 1000000067940 v06	Agosto 2021	Aggiornati gli indirizzi dei rappresentanti autorizzati nell'Unione Europea.
Documento n. 1000000067940 v05	Settembre 2020	<ul style="list-style-type: none"> • Aggiunte le istruzioni per le nuove funzioni Codifica del backup e Password della rete. • Aggiornata la sezione Download e installazione di un certificato con istruzioni più dettagliate. • Aggiunta una fase per immettere la Password di rete e un promemoria per generare un certificato nella sezione Configurazione del server per Workflow Manager. • Aggiornato Mappatura dei dischi rigidi del server per indicare che solo l'amministratore dispone dei permessi utente e aggiornata la compatibilità della versione SMB. • Aggiunti i riferimenti a Codifica del backup alla sezione Archiviazione dei dati per Onsite Server. • Aggiunta una nota all'introduzione di Interfaccia utente sul Web di Assay Software indicante che non si può accedere al software mediante dispositivi mobili. • Aggiunte note per chiarire l'utilizzo di caratteri maiuscoli e minuscoli per gli output di NIPT Report (Report NIPT). • Aggiornata la presentazione delle informazioni delle opzioni di valore per formati leggibili nella sezione Report dei risultati e delle notifiche. • Aggiornata la convenzione per i nomi di Workflow Manager per visualizzare il nome VeriSeq NIPT Workflow Manager in modo coerente.
Documento n. 1000000067940 v04	Febbraio 2020	<ul style="list-style-type: none"> • Aggiornati gli argomenti Input del foglio campioni e Caricamento del foglio campioni per chiarire la limitazione funzionale del caricamento del foglio campioni.. • Aggiornato l'indirizzo dello sponsor Australiano e l'indirizzo Illumina nei Paesi Bassi.
Documento n. 1000000067940 v03	Ottobre 2019	<ul style="list-style-type: none"> • Aggiunta una sezione Vincoli ambientali per VeriSeq Onsite Server v2. • Aggiornata la presentazione dei risultati sulle anomalie nei cromosomi sessuali nella sezione Report dei risultati e delle notifiche dell'Appendice B per adattarla alla presentazione mostrata nel NIPT Report (Report NIPT).
Documento n. 1000000067940 v02	Aprile 2019	Aggiunti dettagli ai report NIPT e Supplementare per adattarli ai materiali didattici.
Documento n. 1000000067940 v01	Febbraio 2019	Publicazione della Guida di VeriSeq NIPT Solution v2 Software per la consultazione da parte del cliente.
Documento n. 1000000067940 v00	Novembre 2018	Publicazione iniziale solo per uso interno.

Sommario

Cronologia revisioni	iii
Capitolo 1 VeriSeq NIPT Solution v2	1
Introduzione	1
Architettura del sistema	3
Capitolo 2 VeriSeq NIPT Workflow Manager	4
Introduzione	4
VeriSeq NIPT Method	4
VeriSeq NIPT Batch Manager	4
VeriSeq NIPT Services	11
Capitolo 3 Sequenziatore di nuova generazione	14
Introduzione	14
Raggruppamento della sequenza	14
Integrazione dell'archiviazione dei dati	14
Capacità di processività dell'analisi	15
Limitazioni del traffico di rete	15
VeriSeq NIPT Local Run Manager	15
Capitolo 4 VeriSeq NIPT Assay Software v2	16
Introduzione	16
Componenti Assay Software	17
Interfaccia utente Web	20
Analisi e creazione di report	32
VeriSeq Onsite Server v2	34
Appendice A Metriche di controllo qualità (QC)	38
Metriche e limiti del controllo qualità della quantificazione	38
Metriche e limiti superiore e inferiore del controllo qualità del sequenziamento	39
Appendice B Report di sistema	40
Introduzione	40
Riepilogo dei report di sistema	41
Eventi di generazione di report	43
Report dei risultati e delle notifiche	45
Report di elaborazione	54
Appendice C Risoluzione dei problemi	62
Introduzione	62
Notifiche di Assay Software	63
Problemi del sistema	72

Test dell'elaborazione dei dati	72
Appendice D Risorse aggiuntive	74
Appendice E Acronimi	75
Assistenza Tecnica	76

Capitolo 1 VeriSeq NIPT Solution v2

Introduzione	1
Architettura del sistema	3

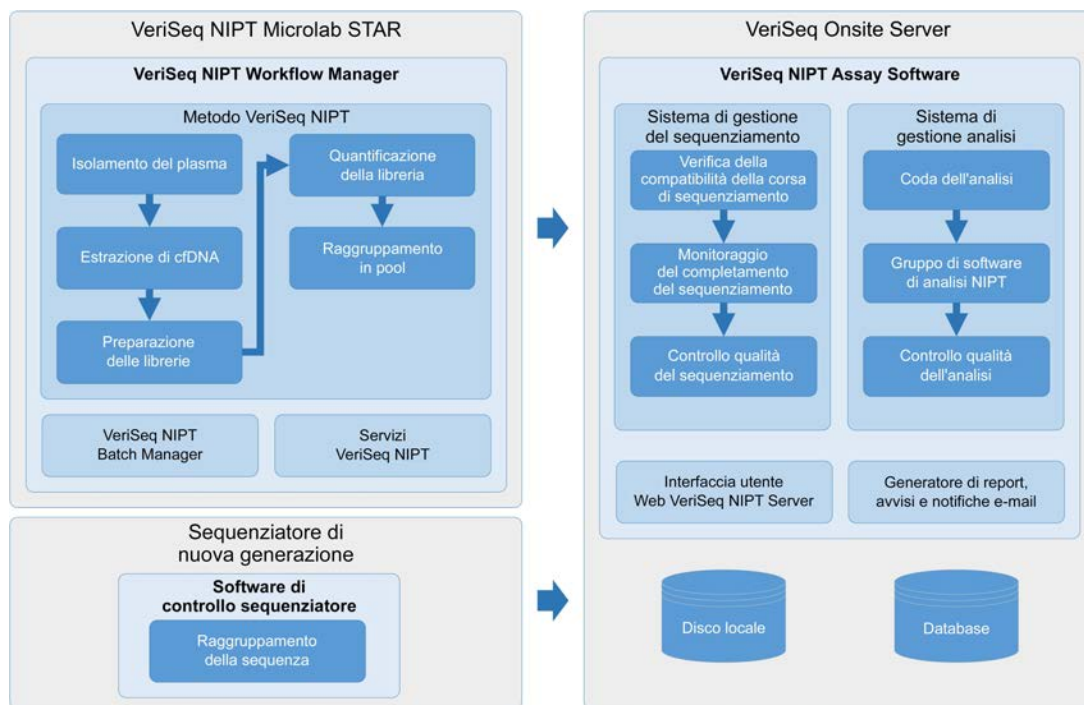
Introduzione

VeriSeq NIPT Solution v2 è un test diagnostico *in vitro*, il cui uso è previsto come screening basato sul sequenziamento per il rilevamento di aneuploidie fetali da campioni di sangue intero periferico materno in donne in gravidanza ad almeno dieci settimane di gestazione. Il test offre due opzioni di tipi di screening: di base e dell'intero genoma. Lo screening di base fornisce informazioni sullo stato dell'aneuploidia esclusivamente per i cromosomi 21, 18, 13, X e Y. Gli screening dell'intero genoma forniscono eliminazioni e duplicazioni parziali per tutti gli autosomi e lo stato di aneuploidia per tutti i cromosomi. Entrambi i tipi di screening offrono un'opzione per richiedere l'identificazione della aneuploidia cromosomica sessuale. Con entrambi i tipi di screening, il prodotto non deve essere utilizzato come base univoca per la diagnosi o altra decisione di gestione di gravidanza.

L'architettura del sistema VeriSeq NIPT Solution v2 comprende:

- ▶ **VeriSeq NIPT Microlab STAR (ML STAR):** uno strumento per la gestione automatizzata dei liquidi che utilizza VeriSeq NIPT Workflow Manager e VeriSeq NIPT Sample Prep Kit per preparare e monitorare i campioni delle librerie. ML STAR prepara i campioni previsti per l'analisi utilizzando VeriSeq NIPT Assay Software v2 in base alle istruzioni per l'uso di *Inserito della confezione di VeriSeq NIPT Solution v2* (documento n. 1000000078751).
- ▶ **Sequenziatore di nuova generazione (Next-Generation Sequencer, NGS):** uno strumento per il sequenziamento dell'intero genoma che fornisce generazione di cluster e sequenziamento integrati sullo strumento. Il software di controllo del sequenziatore fornisce le fasi per l'impostazione di una corsa di sequenziamento e genera le letture di sequenziamento per tutti i campioni contenuti nel raggruppamento della libreria quantificata.
- ▶ **VeriSeq Onsite Server v2:** un server che esegue l'hosting di VeriSeq NIPT Assay Software v2 e archivia i dati per analizzare i dati del sequenziamento paired-end. Assay Software monitora e analizza continuamente i dati di sequenziamento e produce risultati dei campioni, report di elaborazione e notifiche.

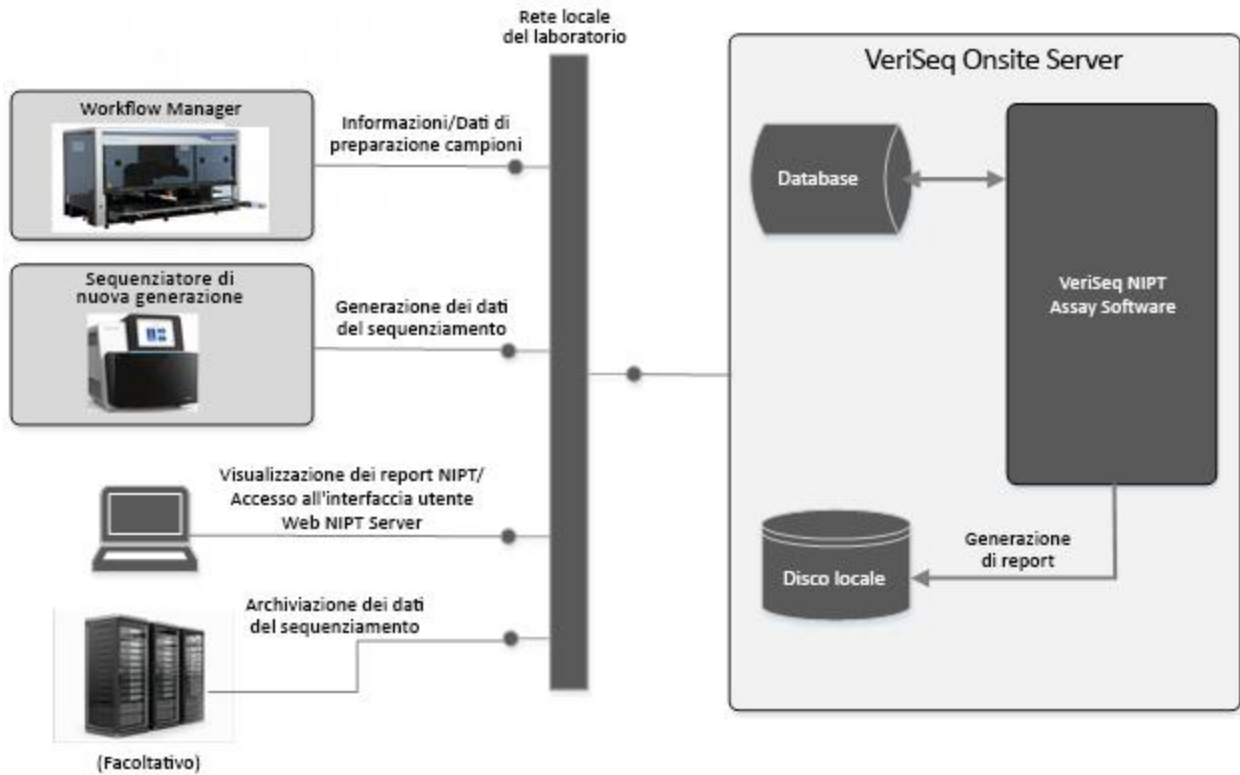
Figura 1 Componenti di VeriSeq NIPT Solution v2



Architettura del sistema

VeriSeq NIPT Solution v2 utilizza la rete locale del laboratorio (Local Area Network, LAN) per collegare tutta l'attrezzatura del sistema utilizzando il medesimo subnet. L'utilizzo della LAN fornisce un posizionamento flessibile e ampliabile delle apparecchiature collegando ulteriori sequenziatori e/o stazioni di lavoro ML STAR. La Figura 2 fornisce una descrizione generale.

Figura 2 Descrizione generale di VeriSeq NIPT Solution v2



Capitolo 2 VeriSeq NIPT Workflow Manager

Introduzione	4
VeriSeq NIPT Method	4
VeriSeq NIPT Batch Manager	4
VeriSeq NIPT Services	11

Introduzione

VeriSeq NIPT Workflow Manager è installato su ML STAR e fornisce un'interfaccia grafica utente semplice e intuitiva che automatizza la preparazione dei campioni di sangue in base a VeriSeq NIPT Solution v2. Workflow Manager mantiene una connessione dati a VeriSeq Onsite Server v2 per l'elaborazione dei dati, l'archiviazione, il monitoraggio dei campioni e l'imposizione della logica del flusso di lavoro.

Workflow Manager fornisce l'accesso a tre diversi moduli software, noti anche come metodi:

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

VeriSeq NIPT Method

VeriSeq NIPT Method (Method) gestisce l'elaborazione automatizzata dei campioni su ML STAR. Il metodo completa le seguenti fasi di elaborazione:

- ▶ **Plasma Isolation** (Isolamento del plasma): trasferisce 1 ml di plasma isolato da una provetta di raccolta del sangue. La logica del processo crea un batch con Assay Software. Ciascun batch contiene i dati del campione inclusi codice a barre del campione, tipo di campione, tipo di screening, posizione del pozzetto e indicazione del sesso.
- ▶ **cfDNA Extraction** (Estrazione di cfDNA): purifica cfDNA da 900 µl di plasma.
- ▶ **Preparazione delle librerie**: crea librerie da cfDNA purificato che sono pronte per il sequenziamento. Le librerie includono indici univoci per ciascun campione contenuto nel batch.
- ▶ **Quantificazione della libreria**: determina la concentrazione di cfDNA utilizzando un colorante fluorescente intercalante in un formato di micropiastra a 384 pozzetti. La piastra include un curva standard di DNA etichettato e duplicati per ciascun campione contenuto nel batch. Il sistema utilizza letture fluorescenti non elaborate ottenute dal lettore della micropiastra e calcola le concentrazioni del campione in base alla curva standard.
- ▶ **Raggruppamento e normalizzazione**: combina le librerie in singoli raggruppamenti da sottoporre al sequenziamento. Il sistema utilizza le concentrazioni precedentemente determinate per calcolare i corretti volumi di trasferimento per ciascun campione contenuto nel raggruppamento pronto per il sequenziatore.

VeriSeq NIPT Batch Manager

VeriSeq NIPT Batch Manager gestisce lo stato di campioni, batch e raggruppamenti attraverso l'interfaccia utenti. Il sistema consente il monitoraggio dei campioni su diversi sistemi di gestione dei liquidi e sequenziatori, e mediante i software di analisi. Per maggiori informazioni sulle procedure di elaborazione dei campioni, vedere *Inserto della confezione per VeriSeq NIPT Solution v2 (documento n. 1000000078751)*.

È possibile gestire i campioni nell'ambito del flusso di lavoro tramite tre diverse categorie, indicate come oggetti:

Oggetto	Descrizione
Campione	Il risultato di un singolo prelievo di 1 ml di plasma da una singola provetta di campione. I campioni sono associati al codice a barre della provetta di sangue (codice a barre del campione) e al batch.
Batch	La piastra da 24, 48 o 96 campioni elaborata mediante l'estrazione di cfDNA e il processo di preparazione delle librerie.
Raggruppamento	Il volume normalizzato e diluito delle librerie a doppio indice e pronte per il sequenziamento. Ciascun raggruppamento contiene fino a 48 campioni.

Durante l'elaborazione, le seguenti azioni possono essere applicate agli oggetti:

Intervento	Oggetto	Report generato	Descrizione
Invalidation (Invalidamento)	Campione	Sample Invalidation (Invalidamento del campione)	Il campione viene indicato dall'utente come non più valido per l'elaborazione. Per i campioni invalidati non viene generato alcun risultato. Esempio: carry-over visibile di cellule del sangue durante l'isolamento del plasma.
	Batch	Batch Invalidation (Invalidamento del batch)	Il batch viene indicato dall'utente come non più valido per l'elaborazione. Se l'invalidamento del batch si è verificato prima della generazione del raggruppamento, tutti i campioni sono invalidati. Esempio: piastra fatta cadere o altrimenti manipolata in modo errato.
	Raggruppamento	Pool Invalidation (Invalidamento del raggruppamento)	Il raggruppamento indicato dall'utente come non più valido per l'elaborazione. Dopo due invalidamenti del raggruppamento, tutti i campioni contenuti nel raggruppamento sono invalidati. Esempio: il volume completo del raggruppamento durante due mancate riuscite del sequenziamento.
QC Failure (Controllo qualità non riuscito)	Campione	Sample Invalidation (Invalidamento del campione)	VeriSeq NIPT Solution v2 indica automaticamente il campione come non valido perché la metrica di controllo qualità specificata non è stata superata o il sistema ha rilevato un mancato funzionamento nella manipolazione dei liquidi.
	Batch	Batch Invalidation (Invalidamento del batch)	VeriSeq NIPT Solution v2 indica automaticamente l'intero batch come non valido. Esempio: guasto al sistema durante la manipolazione dei liquidi.
Cancelation (Annullamento)	Campione	Sample Cancelation (Annullamento del campione)	Il sistema LIMS ha indicato il campione come annullato. Non viene generato alcun risultato.

Intervento	Oggetto	Report generato	Descrizione
Edit Sample Attributes (Modifica degli attributi dei campioni)	Campione	Sex Reporting (Report sul sesso)	Il report sul sesso indicato dall'utente come Yes (Sì), No (No) o SCA (Aneuploidia del cromosoma sessuale). Quando il report sul sesso del campione viene indicato come Yes (Sì), viene generato il sesso del campione. Quando il report sul sesso del campione viene indicato come No (No), non viene generato il sesso del campione. Quando il report sul sesso del campione viene indicato come SCA (Aneuploidia del cromosoma sessuale), vengono riportate solo le aneuploidie del cromosoma sessuale.
	Campione	Sample Type (Tipo di campione)	Tipo di campione segnalato dall'utente come Singleton (Singola), Twin (Gemellare), Control (Controllo) o NTC (No Template Control). La designazione del tipo di sesso del campione incide direttamente sull'analisi del test. Per assicurare risultati accurati del test, il tipo di campione deve essere corretto.
	Campione	Sample Type (Tipo di screening)	Tipo di screening segnalato dall'utente come di base (solo 21, 18, 13, X e Y) o intero genoma (tutti i cromosomi).

Dopo l'invalidamento, il controllo qualità non riuscito o l'azione di annullamento, l'oggetto non viene ulteriormente elaborato. I sistemi di gestione delle informazioni del laboratorio (LIMS) possono utilizzare il report Sample Invalidation (Invalidamento del campione) per indicare la rielaborazione del campione dalla provetta di raccolta del sangue.

Input del foglio campioni

Il foglio campioni contenente gli input fornisce le informazioni del campione relative al paziente inclusi il tipo di campione lo stato dei cromosomi sessuali. Il sistema richiede informazioni del campione complete prima di poter generare i raggruppamenti di sequenziamento.



ATTENZIONE

Per evitare errori, non includere le informazioni sui campioni per gli NTC nel foglio campioni. Escluderle completamente e non lasciare righe per inserirle. Il sistema applica automaticamente codici a barre, tipo di screening, tipo di campione e identificazione del sesso per gli NTC.

Il foglio campioni contenente gli input deve essere un file di testo delimitato da tabulazioni, *.txt. I nomi delle intestazioni della colonna contenuti nel file devono corrispondere esattamente ai nomi delle intestazioni della colonna come vengono visualizzati nella seguente tabella.

Intestazione colonna	Tipo di dati	Requisito	Descrizione
batch_name (nome_batch)	Stringa/vuoto	Campo obbligatorio	Indica il nome del batch del campione. Deve corrispondere al nome del batch inserito nel metodo di identificazione (Workflow Manager) per confermare che il foglio campioni contenente gli input sia associato al batch corretto. Il limite massimo è di 26 caratteri. La colonna può essere lasciata vuota. NOTA: i fogli campioni che non presentano una colonna batch_name (nome_batch) non saranno accettati.
sample_barcode (codice a barre campione)	Stringa	Campo obbligatorio	I codici a barre sulle provette dei campioni di sangue caricati su ML STAR. Se un valore intero viene utilizzato come codice a barre del campione, questo valore non deve superare le 15 cifre. Un codice a barre del campione alfanumerico può essere costituito da un massimo di 32 caratteri. Utilizzare solo i numeri, le lettere, i trattini (-) e trattini bassi (_).
sample_type (tipo campione)	Stringa	Campo obbligatorio	Indica il tipo di campione per l'analisi. I valori permessi sono Singleton (Singola), Twin (Gemellare), Control (Controllo) e NTC (Controllo con template).
sex_chromosomes (Cromosomi sessuali)	Stringa	Campo obbligatorio	Indica lo stato dei cromosomi sessuali fetali. I valori permessi sono "yes" (Sì, refertato) e "no" (No, non refertato) e "sca" (refertato solo per aneuploidie dei cromosomi sessuali).
screen_type (tipo di screening)	Stringa	Campo obbligatorio	Indica il tipo di screening per l'analisi. I valori consentiti sono "basic" e "genomewide".

Il foglio campioni contenente gli input viene caricato durante Plasma Isolation (Isolamento del plasma) o Pooling (Raggruppamento in pool). I fogli campioni aggiornati possono inoltre essere caricati in Batch Manager per modificare tutti gli attributi dei campioni, fatta eccezione per il tipo di schermo. Le informazioni sul campione vengono confermate durante la procedura di scaricamento dei campioni. I campioni caricati durante Plasma Isolation (Isolamento del plasma) possono includere un elenco di campioni completo o un sotto gruppo di campioni. Durante Pooling (Raggruppamento in pool), il sistema richiede qualsiasi informazione mancante sul campione non caricato durante Plasma Isolation (Isolamento del plasma).

L'utente ha il controllo sul caricamento dei campioni sia su tutti i campioni nel batch (per i batch generati dal sistema LIMS del cliente) che sulla ripetizione dell'analisi (con le posizioni rimaste aperte riempite con i campioni disponibili).

Scegliere uno dei tre modi per utilizzare i fogli campioni:

- ▶ Batch predefiniti (batch creati dal sistema LIMS)
- ▶ Batch ad hoc (batch creati da Workflow Manager)
- ▶ Batch ibridi (campioni con priorità LIMS)

Batch predefiniti - batch creati dal sistema LIMS

I batch possono essere creati dal sistema LIMS del cliente prima dell'avvio dell'elaborazione del campione. Nei batch predefiniti, tutti i campioni sono già associati con un batch prima che vengano caricati su ML STAR. Il foglio campioni caricato durante l'isolamento del plasma include ogni campione nel batch assieme alle informazioni relative a tutti i campioni. I fogli campioni per i batch creati mediante il sistema LIMS devono includere la colonna dell'ID del batch per assicurarsi che il nome dell'ID del batch corretto sia stato inserito manualmente in Workflow Manager all'avvio dell'elaborazione.

Questo approccio presenta il vantaggio di bloccare i campioni effettivamente caricati, poiché il sistema richiede che tutti i campioni contenuti nel foglio campioni siano presenti nel batch. Non sono richieste ulteriori informazioni e il laboratorio può procedere con il report finale senza ulteriori input di dati.

- ▶ **Vantaggi:** consente il controllo completo dei contenuti dei batch. Impedisce di caricare campioni non desiderati.
- ▶ **Svantaggi:** richiede l'utilizzo di un sistema per la creazione di batch dall'inventario (LIMS avanzato). Può richiedere al personale del laboratorio di recuperare i campioni corretti dall'archiviazione o richiedere un sistema di archiviazione dei campioni avanzato.

Batch ad hoc - Batch creati

I batch possono essere creati nel laboratorio raccogliendo fisicamente le provette di campione e caricandole su ML STAR durante l'isolamento del plasma. Non è richiesta alcuna precedente associazione campione-batch e l'utente nel laboratorio determina quali campioni includere nel batch.

Quando suggerito, l'utente seleziona **No Sample Sheet** (Nessun foglio campioni) durante la fase di isolamento. Workflow Manager associa i campioni caricati con gli ID del batch inseriti manualmente e genera un report di inizializzazione del batch. Il report può essere inviato al sistema LIMS del laboratorio per indicare che il batch è stato creato e per fornire un elenco dei campioni associati.

- ▶ **Vantaggi:** non sono richiesti LIMS o foglio campioni. Gli utenti possono modificare il report di inizializzazione del batch con le informazioni sul tipo di campione, sul tipo di screening e sul sesso. Queste informazioni possono essere caricate durante il raggruppamento. La procedura è flessibile in quanto qualsiasi campione può essere aggiunto in qualsiasi momento.
- ▶ **Svantaggi:** non è presente un controllo automatico sui campioni inclusi nel batch. L'utente potrebbe caricare un campione non previsto. I dati dei campioni devono essere caricati durante il raggruppamento.

Batch ibridi - campioni con priorità LIMS

Il sistema LIMS del cliente può creare un batch con un sottogruppo di campioni predefiniti. I campioni rimanenti nel batch vengono riempiti tramite Workflow Manager dai campioni caricati. In questo caso, l'utente carica un foglio campioni parziale durante l'isolamento del plasma. Si invitano nuovamente i laboratori a compilare la colonna Batch ID (ID batch) se desiderano predefinire i nomi dei batch. A volte, un utente potrebbe scegliere di caricare un foglio campioni vuoto contenente solo il nome del batch per verificare il nome del batch inserito manualmente. Questa strategia funziona bene per dare priorità ai campioni di elevato valore, come quelli sottoposti a nuova analisi, per assicurarsi che questi campioni di elevato valore siano inclusi nella corsa. La scelta dei campioni da includere nel batch viene determinata in parte dal sistema LIMS e in parte dall'utente nel laboratorio.

- ▶ **Vantaggi:** mantiene la flessibilità della strategia dei batch ad hoc mantenendo al contempo la possibilità di decidere il nome del batch e alcuni dei campioni nel batch (ossia i campioni sottoposti a nuova analisi).
- ▶ **Svantaggi:** non detta completamente la scelta dei campioni; quindi potrebbe comunque essere caricato un campione non desiderato. Questa strategia, durante il raggruppamento, richiede sempre le informazioni su qualche campione.

Modifica degli attributi dei campioni

In qualsiasi momento prima dell'avvio di una corsa di sequenziamento, utilizzare VeriSeq NIPT Batch Manager per modificare i singoli report dei cromosomi sessuali per il campione, il tipo di screening e gli attributi per il tipo di campione.

- 1 Accedere a Batch Manager.
- 2 Inserire Batch ID (ID batch) e User Name (Nome utente) o le iniziali dell'operatore e selezionare **OK** (Ok).
- 3 Sul diagramma della piastra per il batch, selezionare la posizione del pozzetto associata al campione desiderato.
- 4 Confermare che sia visualizzato il campione corretto, quindi selezionare un attributo per Sample Type (Tipo di campione) dall'elenco a discesa Sample Type (Tipo di campione).
- 5 Selezionare un attributo per Sex Reporting (Report sesso) dall'elenco a discesa Sex Reporting (Report sesso).
- 6 Selezionare un attributo Screen Type (Tipo di screening) dall'elenco a discesa Screen Type (Tipo di screening).
- 7 Selezionare **Edit** (Modifica).

Invalidamento di campione, batch e raggruppamento

In base alla fase nell'elaborazione del campione, l'utente può invalidare un singolo campione, un batch o un raggruppamento di campioni. Dopo l'invalidamento, il campione, il batch o il raggruppamento non viene più elaborato.

In qualsiasi momento prima della generazione di un report del test, utilizzare VeriSeq NIPT Method o Batch Manager per invalidare uno o più campioni.

Invalidamento del campione utilizzando VeriSeq NIPT Method

- 1 Durante l'elaborazione del campione, nella finestra Well Comments (Commenti pozzetto) al termine di ogni processo di Workflow Manager, selezionare i singoli pozzetti da invalidare e fare clic su **OK** (Ok).
- 2 Selezionare almeno un'annotazione dai menu a discesa o selezionare la casella di controllo **Other** (Altro) per inserire un commento.
- 3 Selezionare la casella **Fail Sample** (Invalida campione) e fare clic su **OK** (Ok).
- 4 Confermare che il sistema invalidi il campione.

Invalidamento utilizzando Batch Manager

Utilizzare Batch Manager per invalidare:

- ▶ Un campione
- ▶ Un batch prima del completamento della fase di raggruppamento.
- ▶ Un campione dopo il completamento della fase Pool (Raggruppamento) e prima della generazione di un report dell'analisi.



NOTA

Uscire da qualsiasi metodo di analisi in corso prima di eseguire Batch Manager.

Accesso a Batch Manager

- 1 Per accedere a Batch Manager, eseguire una delle seguenti operazioni:
 - ▶ Su App Launcher (Launcher applicazione), selezionare **VeriSeq NIPT Batch Manager**.

- ▶ Su un computer collegato alla rete, accedere a C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT\ e aprire il file di metodo Batch Manager (**VeriSeqNIPT_Batch_Manager.med**) con Hamilton Run Controller.

Invalidamento del campione

- 1 Accedere a Batch Manager.
- 2 Inserire Batch ID (ID batch) e User Name (Nome utente) o le iniziali dell'operatore e selezionare **OK** (Ok).
- 3 Sul diagramma della piastra per il batch, selezionare la posizione del pozzetto associata al campione non riuscito.
- 4 Confermare che sia visualizzato il campione corretto e fare clic su **Invalidate Sample** (Invalida il campione).
- 5 Inserire il motivo per la mancata riuscita e selezionare **Invalidate** (Invalida).
Sul diagramma della piastra per il batch, il campione invalidato passa da verde a rosso e l'etichetta di stato passa da valido a fallito.

Batch Invalidation (Invalidamento del batch)

- 1 Accedere a Batch Manager.
- 2 Inserire Batch ID (ID batch) e User Name (Nome utente) o le iniziali dell'operatore e selezionare **OK** (Ok).
- 3 Sul diagramma della piastra per il batch, selezionare **Invalidate Batch** (Batch invalidato).
- 4 Inserire il motivo per la mancata riuscita e selezionare **Invalidate** (Invalida).
Se sul diagramma della piastra per il batch non sono presenti raggruppamenti validi per il batch, tutti i campioni passano da verde a rosso. I raggruppamenti validi all'interno del batch rimangono validi.

Pool Invalidation (Invalidamento del raggruppamento)

- 1 Accedere a Batch Manager.
- 2 Inserire Batch ID (ID batch) e User Name (Nome utente) o le iniziali dell'operatore, quindi selezionare **Pool Manager** (Gestione raggruppamento).
- 3 Eseguire la scansione del codice a barre del raggruppamento.
- 4 Immettere User Name (Nome utente) o le iniziali dell'operatore, quindi selezionare **OK** (Ok).
- 5 Inserire il motivo per la mancata riuscita e selezionare **Invalidate** (Invalida).

Caricamento del foglio campioni

Batch Manager consente di caricare un foglio campioni contenente le informazioni sui campioni. Grazie a questa funzione, l'utente può, ad esempio, caricare o modificare le informazioni sul campione in grossi gruppi di campioni. Tutti gli attributi dei campioni possono essere modificati quando si carica un foglio campioni, fatta eccezione per il tipo di screening.

- 1 Accedere a Batch Manager.
- 2 Inserire Batch ID (ID batch) e User Name (Nome utente) o le iniziali dell'operatore e selezionare **OK** (Ok).
- 3 Selezionare **Upload New Sample Sheet** (Carica nuovo foglio campioni).
- 4 Andare alla posizione in cui si trova il foglio campioni desiderato e selezionarlo, quindi fare clic su **OK** (Ok).

Sample Cancelation (Annullamento del campione)

- 1 Accedere a Batch Manager.
- 2 Inserire Batch ID (ID batch) e User Name (Nome utente) o le iniziali dell'operatore e selezionare **OK (Ok)**.
- 3 Sul diagramma della piastra per il batch, selezionare la posizione del pozzetto associata al campione annullato.
- 4 Confermare che sia visualizzato il campione corretto e selezionare **Cancel Sample (Annulla il campione)**.
- 5 Inserire il motivo per la mancata riuscita e selezionare **Cancel (Annulla)**.
Sul diagramma della piastra per il batch, il campione annullato passa da verde a rosso.

VeriSeq NIPT Services

VeriSeq NIPT Services include diversi strumenti utilizzati per la configurazione e la verifica di ML STAR e di Workflow Manager. Questi strumenti non sono richiesti durante il normale funzionamento del sistema, ma potrebbero essere richiesti per contribuire alla risoluzione dei problemi del sistema da parte dell'Assistenza Tecnica Illumina o Hamilton. Questi strumenti sono inoltre utilizzati per regolare i parametri del sistema in seguito a scostamenti nella densità dei cluster.

Lancio di VeriSeq NIPT Services



NOTA

Chiudere tutti i metodi in corso prima di eseguire Services.

Per accedere a VeriSeq NIPT Services, eseguire una delle seguenti operazioni:

- ▶ In App Launcher (Sistema di avvio applicazioni), selezionare **VeriSeq NIPT Services**.
- ▶ Su un computer collegato alla rete, accedere a **C:\Program Files (x86)\HAMILTON-Methods\VeriSeqNIPT** e aprire il file di metodo VeriSeq NIPT Services (**VeriSeqNIPT_Service.med**) con Hamilton Run Controller.

Lo strumento Services consente due tipi di test:

- ▶ **Test singoli:** testano i componenti utilizzati per la risoluzione dei problemi dell'hardware di ML STAR.
- ▶ **Strumenti di manutenzione:** gli strumenti utilizzati per configurare Workflow Manager.

Test singoli

Per contribuire alla risoluzione dei problemi di hardware riscontrati su Workflow Manager, potrebbero essere richiesti i seguenti test di sistema:

Test del sistema	Descrizione
Barcode/Autoload (Codice a barre/caricamento automatico)	Testa la corretta configurazione del piano del sistema, dell'AutoLoader e la funzionalità di scansione dei codici a barre.
CPAC	Testa il funzionamento dei sistemi di riscaldamento sul piano CPAC. Verifica inoltre il corretto cablaggio delle singole unità alla scatola di controllo.

Test del sistema	Descrizione
BVS Vacuum (Vuoto del sistema di base del vuoto)	Testa il funzionamento del sistema di base del vuoto (Basic Vacuum System, BVS) per confermare che il vuoto sia stato attivato e che abbia raggiunto le pressioni operative.
Independent Channel (Canale indipendente)	Testa la funzionalità dei canali indipendenti delle pipette. Esegue il test di ritenzione dei liquidi per rilevare il gocciolamento dei canali delle pipette e la coerenza dei volumi di erogazione.
iSwap	Testa il funzionamento del braccio robotico iSwap e conferma le posizioni complessive richieste sul piano.
96-Head (Testata a 96 campioni)	Testa il funzionamento della testata per pipette CO-RE 96. Esegue il test di ritenzione dei liquidi per rilevare il gocciolamento dei canali delle pipette e la coerenza dei volumi di erogazione.

Per eseguire i singoli test:

- 1 Selezionare il test prescelto da eseguire.



NOTA

Full IOQ Execution (Esecuzione completa della qualificazione di installazione/funzionamento) esegue tutti i sei test sequenzialmente.

- 2 Attenersi alle istruzioni sullo schermo, annotando le osservazioni per il funzionamento delle apparecchiature e qualsiasi errore di sistema verificatosi.
- 3 Una volta terminato, selezionare **Abort** (Interrompi) per uscire dal metodo.
- 4 Se viene richiesto di fornire i file di registro di rilevamento generati durante il test, questi sono disponibili in C:\Program Files (x86)\HAMILTON\LogFiles e iniziano con VeriSeqNIPT_Services.

Service Tools (Strumenti di manutenzione)

Service Tools (Strumenti di manutenzione) consente di configurare Workflow Manager e alcuni parametri del saggio.

Test del sistema	Descrizione
Server Configuration (Configurazione del server)	Configura e testa la connessione tra VeriSeq NIPT Workflow Manager e Assay Software. La corretta comunicazione tra questi sistemi è richiesta per l'esecuzione di Workflow Manager.
Assay Configuration (Configurazione del saggio)	Utilizzato per reimpostare la concentrazione predefinita della libreria.
Deck Teach Tool (Strumento per le posizioni preimpostate del piano)	Utilizzato per esportare e importare da un file le posizioni predefinite del piano.

Configurazione del server

Se viene cambiato l'indirizzo della rete per VeriSeq Onsite Server v2, indirizzare Workflow Manager al nuovo indirizzo.

- 1 Dal menu Services Tools (Strumenti servizi), selezionare **Server Configuration** (Configurazione server).
- 2 Aggiornare l'URL con il nuovo indirizzo di Onsite Server.

- 3 Immettere Network Password (Password della rete) per Onsite Server nel campo della password.
- 4 Selezionare **Test Connection** (Connessione test) per inviare un messaggio di testo.
Se il messaggio non viene ricevuto, contattare l'Assistenza Tecnica Illumina.
- 5 Dalla schermata System Configuration (Configurazione del sistema), fare clic su **OK** (Ok) e fare clic su **Apply** (Applica) per salvare il nuovo valore.

Quando viene aggiornato l'indirizzo della rete, è possibile aggiornare anche il di connessione protetta (Secure Socket Layer, SSL) per il PC che esegue Workflow Manager. Accedere a VeriSeq NIPT Assay Software v2 mediante questo PC e fare riferimento a *Download e installazione di un certificato a pagina 28*.

Assay Configuration (Configurazione del saggio)

È possibile regolare la concentrazione delle librerie per il sequenziatore nei raggruppamenti per il sequenziatore, corsa per corsa, in Workflow Manager durante il processo di raggruppamento (vedere *Inserto della confezione di VeriSeq NIPT Solution v2 - documento n. 1000000078751*). Lo strumento Assay Configuration (Configurazione del saggio) può inoltre essere utilizzato per modificare il valore predefinito per questa concentrazione.

Lo strumento Assay Configuration (Configurazione del saggio) consente inoltre di modificare i valori di altri parametri. Il parametro Default Sex Chromosome Reporting (Report predefinito sul cromosoma sessuale) può essere impostato su Sì o No e determina l'attributo da assegnare ai campioni quando il pulsante Use Default (Utilizza predefinito) viene selezionato durante la preparazione dei campioni. Il parametro Screen Type (Tipo di screening) può essere impostato sul valore Basic (Di base) o Genomewide (Intero genoma) e determina il tipo di screening per un campione.

- 1 Selezionare **Assay Configuration** (Configurazione del saggio).
- 2 Aggiornare la casella Target Library Concentration (pg/μl) (Concentrazione della libreria target - pg/μl) al valore desiderato.
- 3 Aggiornare Default Sex Chromosome Reporting (Report predefinito del cromosoma sessuale) al valore desiderato.
- 4 Aggiornare Screen Type (Tipo di screening) selezionando il valore desiderato.
- 5 Selezionare **Apply** (Applica).

Deck Teach Tool (Strumento per le posizioni preimpostate del piano)

Durante la risoluzione dei problemi, potrebbe essere necessario esportare i valori delle posizioni preimpostate. Utilizzare Deck Teach Tool (Strumento per le posizioni preimpostate del piano) per generare un elenco delle posizioni assieme ai relativi valori.

- 1 Selezionare **Deck Teach Tool** (Strumento per le posizioni preimpostate del piano).
- 2 Selezionare **Export** (Esporta).
- 3 Selezionare una posizione di output per il file di test contenente le posizioni preimpostate del piano.
- 4 Selezionare **OK** (Ok).
Deck Teach Tool (Strumento per le posizioni preimpostate del piano) salva il file contenente i valori per tutte le posizioni preimpostate dell'attrezzatura da laboratorio per l'installazione di Workflow Manager.
- 5 Fare clic su **Cancel** (Annulla) per tornare alla schermata Method Selection (Selezione metodo).

Capitolo 3 Sequenziatore di nuova generazione

Introduzione	14
Raggruppamento della sequenza	14
Integrazione dell'archiviazione dei dati	14
Capacità di processività dell'analisi	15
Limitazioni del traffico di rete	15
VeriSeq NIPT Local Run Manager	15

Introduzione

Un sistema di sequenziamento di nuova generazione esegue letture di sequenziamento per tutti i campioni contenuti nel raggruppamento della libreria quantificata con VeriSeq NIPT Solution v2 tramite Onsite Server. I dati del sequenziamento vengono valutati da Analysis Handler di Assay Software.

Prendere in considerazione quanto segue quando si integra un sistema di sequenziamento di nuova generazione con VeriSeq NIPT Solution v2.

- ▶ Integrazione dell'archiviazione dei dati
- ▶ Capacità di processività dell'analisi
- ▶ Limitazioni del traffico di rete

Raggruppamento della sequenza

Assay Software richiede un sequenziatore di nuova generazione in grado di generare dati del sequenziamento su un raggruppamento di librerie preparate in base alle seguenti specifiche:

- ▶ Produzione di 2x36 letture paired-end.
- ▶ Compatibile con gli adattatori indici contenuti in VeriSeq NIPT Sample Prep Kit.
- ▶ Chimica a due canali.
- ▶ Produzione automatica di file .BCL.

Integrazione dell'archiviazione dei dati

Una tipica corsa di sequenziamento per VeriSeq NIPT Solution v2 richiede 25-30 GB per i dati di sequenziamento ottenuti dal sistema di sequenziamento di nuova generazione. L'effettiva dimensione dei dati può variare in base alla densità finale dei cluster. Onsite Server fornisce più di 7,5 TB di spazio di archiviazione, spazio sufficiente per circa 300 corse di sequenziamento ($7.500 / 25 = 300$).

Ai fini dell'archiviazione dei dati, mappare il sistema di sequenziamento di nuova generazione a Onsite Server per uno dei seguenti metodi:

- ▶ Utilizzare Onsite Server come archivio dei dati. In questa configurazione, il sequenziatore viene mappato direttamente al server e mantiene i dati sull'unità locale.
- ▶ Per un laboratorio ad elevata processività, utilizzare un sistema di archiviazione collegato alla rete (NAS). Configurare il sistema di sequenziamento di nuova generazione affinché mantenga i dati del sequenziamento direttamente in una posizione specifica sul sistema NAS.

In questa impostazione, configurare Onsite Server affinché esegua il monitoraggio della posizione specifica sul sistema NAS per permettere al server di monitorare le future corse di sequenziamento. È possibile aggiungere diversi sistemi di sequenziamento di nuova generazione per aumentare la processività dei campioni. Per maggiori informazioni su come mappare il server al sistema NAS, vedere [Gestione di un'unità di rete condivisa a pagina 26](#).

Per maggiori informazioni su come mappare i sistemi di sequenziamento di nuova generazione al server o al sistema NAS, vedere la guida utente del sistema.

Capacità di processività dell'analisi

Il gruppo di software di analisi VeriSeq NIPT di solito elabora i dati per una singola corsa di sequenziamento in circa cinque ore. Quando si amplia il laboratorio per la processività dei campioni, tenere presente che un solo server è in grado di elaborare un massimo di quattro corse al giorno, per un totale di 48 campioni x 4 = 192 campioni al giorno. Rivolgersi all'Assistenza Illumina per ulteriori soluzioni di processività.

Limitazioni del traffico di rete

VeriSeq NIPT Solution v2 utilizza la rete locale (Local Area Network, LAN) del laboratorio per la trasmissione dei dati tra il sistema di sequenziamento di nuova generazione, Onsite Server e il sistema NAS (se configurato). Quando si pensa di ampliare la trasmissione dei dati, prendere in considerazione le seguenti limitazioni relative al traffico dell'infrastruttura informatica:

- ▶ Il traffico medio dei dati di circa 25 GB generati in circa 10 ore è di circa 0,7 MB/sec per sequenziatore.
- ▶ L'infrastruttura del laboratorio potrebbe inoltre supportare altre sorgenti di traffico delle quali occorre tenere conto.

VeriSeq NIPT Local Run Manager

Se si utilizza un sistema di sequenziamento di nuova generazione dotato del modulo VeriSeq NIPT Local Run Manager (LRM), preparare il sequenziamento completando la procedura descritta di seguito.

- 1 In Local Run Manager, selezionare **Create Run** (Crea corsa).
- 2 Nel menu a discesa, selezionare **VeriSeq NIPT**.
- 3 Compilare i seguenti campi:
 - ▶ Run Name (Nome corsa)
 - ▶ Run Description (Descrizione corsa)
 - ▶ Pool Barcode (Codice a barre raggruppamento)



ATTENZIONE

Il codice a barre raggruppamento inserito nel modulo LRM deve corrispondere al codice a barre raggruppamento immesso in Workflow Manager. Le configurazioni errate della corsa sono rifiutate da Assay Software e potrebbero richiedere il risequenziamento.

- 4 Selezionare **Save Run** (Salva corsa).

Terminata la configurazione, è possibile avviare la corsa utilizzando il software dello strumento.

Capitolo 4 VeriSeq NIPT Assay Software v2

Introduzione	16
Componenti Assay Software	17
Interfaccia utente Web	20
Analisi e creazione di report	32
VeriSeq Onsite Server v2	34

Introduzione

VeriSeq NIPT Assay Software v2 genera statistiche per valutare il numero di copie dei cromosomi dei campioni analizzati e fornisce una determinazione di aneuploidia sui cromosomi selezionati per l'analisi. La selezione dei cromosomi per l'analisi dipende dal tipo di screening prescelto: di base (cromosomi 21, 18, 13, X e Y) o dell'intero genoma (tutti i cromosomi). Se si seleziona l'opzione intero genoma, il software verifica anche la presenza di regioni subcromosomiche con guadagno o perdita del numero di copie all'interno dell'autosoma. Uno strumento di sequenziamento di nuova generazione genera input di analisi sotto forma di letture paired-end di 36 basi.

VeriSeq NIPT Assay Software v2 viene eseguito su VeriSeq Onsite Server v2. Onsite Server è un componente fondamentale di VeriSeq NIPT Solution v2 e funge da punto di connessione tra VeriSeq NIPT Workflow Manager, sistema di sequenziamento di nuova generazione e utente.

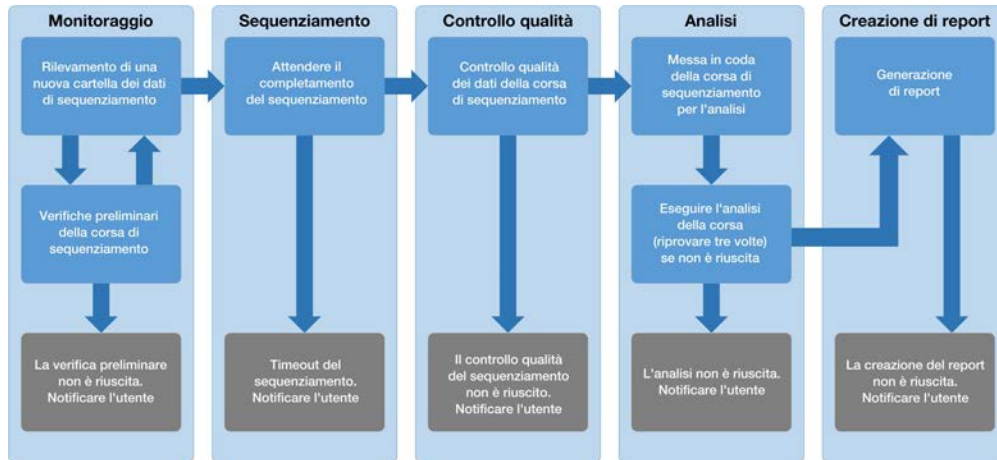
Assay Software allinea le letture sul genoma umano di riferimento ed esegue l'analisi sulle letture che si allineano con una posizione o sito univoco nel genoma. Elimina le letture e i siti duplicati associati con elevata variazione nella copertura su campioni euploidi. I dati del sequenziamento sono normalizzati per contenuto nucleotide e per correggere gli effetti del batch e altre fonti di variabilità indesiderata. Le informazioni sulla lunghezza del frammento di cfDNA sono derivate dalle letture di sequenziamento paired-end. Assay Software valuta inoltre le statistiche della copertura del sequenziamento su regioni note da arricchire per cfDNA fetale o materno. I dati generati dall'analisi della copertura e della lunghezza del frammento sono utilizzati per stimare la frazione fetale (FF) per ciascun campione.

Per ogni opzione di screening selezionata per un campione dall'offerta di test, Assay Software segnala se sono state rilevate o meno anomalie. Nello screening di base, tutte le anomalie sono aneuploidie. Nello screening dell'intero genoma, un'anomalia può essere un'aneuploidia o una delezione o duplicazione parziale.

Componenti Assay Software

Assay Software esegue e monitora continuamente i nuovi dati di sequenziamento man mano che vengono aggiunti alla cartella degli input su Onsite Server. Quando viene identificata una nuova corsa di sequenziamento, si avvia la procedura seguente.

Figura 3 Diagramma del flusso dei dati



- 1 **Monitoraggio:** esegue verifiche preliminari della nuova corsa di sequenziamento. Le verifiche di convalida includono le verifiche della compatibilità dei parametri della corsa (corrispondenza tra i valori e i valori previsti), l'associazione della cella a flusso con una provetta di un raggruppamento esistente e nota e l'accertamento che i risultati non siano stati riportati precedentemente per gli stessi campioni in quel raggruppamento (ripetizione della corsa). Se una qualsiasi di queste verifiche non viene superata, l'utente viene notificato grazie al sistema di notifica e-mail e al registro degli avvisi sull'interfaccia utente Web.
- 2 **Sequenziamento:** monitora costantemente il completamento della corsa di sequenziamento. Un timer viene impostato per definire un timeout per il completamento della corsa. Se il timeout è scaduto, l'utente viene notificato grazie al sistema di notifica e-mail e al registro degli avvisi sull'interfaccia utente Web.
- 3 **Controllo qualità:** esamina i file di controllo qualità InterOp generati dal sequenziatore. Assay Software verifica il numero totale di cluster, la densità dei cluster e i punteggi qualitativi delle letture. Se il controllo qualità non viene superato, l'utente viene notificato grazie al sistema di notifica e-mail e al registro degli avvisi sull'interfaccia utente Web.
- 4 **Analisi:** gestisce la coda dell'analisi per più corse di sequenziamento generate da diversi strumenti configurati con il server. Il server elabora una singola analisi alla volta in base al principio "primo entrato, primo uscito" (First In, First Out, FIFO). Una volta che l'analisi è stata completata correttamente, viene avviata la successiva analisi in coda programmata. Se un'analisi non viene completata correttamente o è stato raggiunto il timeout, Assay Software riavvia automaticamente l'analisi per tre volte. Dopo ogni esito negativo, l'utente viene notificato tramite il sistema di notifica e-mail e il registro degli avvisi sull'interfaccia utente Web.
- 5 **Generazione di report:** al completamento dell'analisi, genera il report che contiene i risultati finali. Se si verifica un errore e i report non vengono generati, l'utente viene notificato tramite il sistema di notifica e-mail e il registro degli avvisi sull'interfaccia utente Web.

Attività di Assay Software

Assay Software esegue sia le attività automatiche che quelle avviate dall'utente.

Attività automatizzate

Assay Software completa le seguenti attività automatizzate:

- ▶ **Creazione e archiviazione del registro della preparazione dei campioni:** produce un set di file di output per ciascuna fase e archivia i dati nella cartella ProcessLogs (RegistriProcedura) che si trova nella cartella Output (Output). Per maggiori informazioni, vedere *Struttura del file dei report a pagina 41* per una descrizione generale e *Report di elaborazione a pagina 54* per i dettagli.
- ▶ **Generazione di notifiche per avvisi, e-mail e report:** monitora la validità dello stato per ciascun batch, raggruppamento e campione durante la procedura di preparazione dei campioni e il controllo qualità dei dati di sequenziamento e i risultati dell'analisi per il campione. In base a queste verifiche, Assay Software determina se proseguire con l'elaborazione e se i risultati possono essere riportati. Assay Software termina l'elaborazione quando un batch o un raggruppamento viene invalidato in base ai risultati del controllo qualità. Viene inviata una notifica e-mail all'utente, viene generato un report e viene registrato un avviso sull'interfaccia utente Web.
- ▶ **Analisi dei dati del sequenziamento:** analizza i dati non elaborati del sequenziamento per i multiplex campioni nel raggruppamento utilizzando NIPT Analysis Software. Assay Software determina i risultati dell'aneuploidia per ciascun campione. Il sistema non riporta i risultati per i campioni invalidati o annullati dall'utente. Per i campioni che non superano i criteri del controllo qualità, viene fornito un motivo esplicito per il mancato superamento; tuttavia, i risultati per i campioni che non hanno superato i criteri vengono soppressi. Per maggiori informazioni, vedere *NIPT Report (Report NIPT) a pagina 45*.
- ▶ **Generazione del file dei risultati:** fornisce i risultati per il campione in un formato file con valori separati da tabulazione, che viene salvato nella cartella Output (Output). Per maggiori informazioni, vedere *NIPT Report (Report NIPT) a pagina 45*.
- ▶ **Generazione dei report:** Assay Software genera informazioni supplementari su risultati, notifiche e report di elaborazione. Per maggiori informazioni, vedere *Report di sistema a pagina 40*.
- ▶ **Invalidamento di campione, raggruppamento e batch:**
 - ▶ **Invalidamento del campione:** Assay Software indica i singoli campioni come invalidati quando l'utente:
 - ▶ Invalida esplicitamente il campione.
 - ▶ Invalida l'intera piastra durante la preparazione delle librerie prima della creazione del raggruppamento.
 Quando un campione viene indicato come invalidato, viene generato automaticamente un Sample Invalidation Report (Report di invalidamento del campione), vedere *Sample Invalidation Report (Report di invalidamento del campione) a pagina 53*.
 - ▶ **Generazione di report di invalidamento per raggruppamento e batch:** i raggruppamenti e i batch possono essere invalidati solo dall'utente. I raggruppamenti invalidati non vengono elaborati dal sistema. I raggruppamenti che sono già stati creati da un singolo batch non vengono invalidati automaticamente e possono essere ulteriormente elaborati dal sistema. Tuttavia, non è possibile creare nuovi raggruppamenti da un batch invalidato. Quando un raggruppamento viene invalidato, il sistema genera un Pool Retest Request Report (Report richiesta ripetizione test del raggruppamento) in base alle seguenti condizioni:
 - ▶ Il batch è valido.

- ▶ Non vi sono raggruppamenti disponibili per questo batch.
- ▶ Il numero di raggruppamenti consentiti per il batch è stato raggiunto.

Per maggiori informazioni, vedere *Pool Retest Request Report (Report richiesta ripetizione test del raggruppamento)* a pagina 53.

▶ Gestione della ripetizione dei test:

- ▶ **Mancata riuscita del raggruppamento:** i raggruppamenti non riusciti sono di solito i raggruppamenti che non hanno superato le metriche di controllo qualità del sequenziamento. Se la corsa è stata terminata, Assay Software non prosegue l'elaborazione di raggruppamenti non riusciti. Ripsequenziare utilizzando una seconda aliquota del raggruppamento.
- ▶ **Campioni non riusciti:** il software, se necessario, consente di testare nuovamente i campioni non riusciti. I campioni non riusciti devono essere incorporati in un nuovo batch ed elaborati nuovamente mediante le fasi del saggio.
- ▶ **Ripetizione di corse:** il sistema non rianalizza i raggruppamenti con campioni che sono già stati elaborati e riportati correttamente. La rielaborazione di un campione può essere eseguita rimettendo il campione sulla piastra in un nuovo batch.

Attività dell'utente

VeriSeq NIPT Solution v2 permette agli utenti di eseguire le attività seguenti:

Uso di Workflow Manager:

- ▶ Indicare come non valido un singolo campione, tutti i campioni nel batch o tutti i campioni associati con un raggruppamento.
- ▶ Indicare un determinato campione come annullato. Assay Software indica il risultato come annullato nel report finale dei risultati.

Uso di Assay Software:

- ▶ Configurare il software per essere installato e configurato nell'infrastruttura della rete del laboratorio.
- ▶ Modificare le impostazioni di configurazione come le impostazioni di rete, i percorsi delle cartelle condivise e la gestione degli account utenti.
- ▶ Visualizzare lo stato del sistema e del batch, i report di elaborazione dei risultati e dei batch, i registri delle attività e di audit e i risultati del saggio.



NOTA

Gli utenti possono eseguire determinate attività in base alle autorizzazioni dell'utente. Per maggiori informazioni, vedere *Assegnazione dei ruoli utente* a pagina 25.

Sistema di gestione del sequenziamento

Assay Software gestisce le corse di sequenziamento generate dagli strumenti di sequenziamento mediante Sequencing Handler. Identifica le nuove corse di sequenziamento, convalida i parametri della corsa e collega il codice a barre del raggruppamento a un raggruppamento noto creato durante la procedura di preparazione delle librerie. Se non è possibile eseguire un'associazione, viene generata una notifica per l'utente e l'elaborazione della corsa di sequenziamento viene interrotta.

Al termine della corretta convalida, Assay Software continua il monitoraggio delle corse di sequenziamento fino al completamento. Le corse di sequenziamento sono messe in coda per l'elaborazione mediante il sistema di gestione del software di analisi (vedere *Sistema di gestione del software di analisi* a pagina 20).

Compatibilità della corsa di sequenziamento

Il server analizza solo le corse di sequenziamento compatibili con il flusso di lavoro analitico di cfDNA.

Per generare identificazioni delle basi, utilizzare solo metodi di sequenziamento e versioni software compatibili.



NOTA

Monitorare regolarmente le metriche delle prestazioni dei dati del sequenziamento per assicurarsi che la qualità dei dati rientri nelle specifiche.

Il modulo VeriSeq NIPT Local Run Manager configura il sequenziamento mediante i seguenti parametri:

- ▶ Corsa paired-end con letture da 2 x 36 cicli.
- ▶ Doppia indicizzazione con letture indici da otto cicli.

Sistema di gestione dei software di analisi

Il sistema di gestione dei software di analisi lancia i software di analisi per rilevare le aneuploidie. I software elaborano una corsa di sequenziamento alla volta per una durata media di meno di cinque ore per raggruppamento. Se l'analisi non riesce a elaborare il raggruppamento o non viene completata a causa di mancata alimentazione o timeout, il sistema di gestione dei software di analisi rimette automaticamente in coda la corsa. Se l'elaborazione del raggruppamento non riesce per tre volte consecutive, la corsa viene indicata come non riuscita e l'utente viene notificato.

Una corsa di analisi completata con successo avvia la generazione del report NIPT. Per maggiori informazioni, vedere *NIPT Report (Report NIPT)* a pagina 45.

Timeout e requisiti di archiviazione di Workflow

Il flusso di lavoro analitico di cfDNA è soggetto alle limitazioni seguenti per timeout e archiviazione.

Parametro	Valore predefinito
Maximum Sequencing Time (Durata massima del sequenziamento)	20 ore
Maximum Analysis Time (Durata massima dell'analisi)	10 ore
Minimum Scratch Space Storage (Spazio di archiviazione minimo a disposizione)	900 GB

Interfaccia utente Web

Assay Software ospita un'interfaccia utente Web che permette di accedere facilmente a Onsite Server da qualsiasi luogo sulla rete.



NOTA

L'interfaccia Web di Assay Software non supporta l'utilizzo di dispositivi mobili.

L'interfaccia utente Web fornisce le seguenti funzioni:

- ▶ **View recent activities** (Visualizza attività recenti): identifica le fasi completate durante l'elaborazione di un saggio. L'utente viene avvisato di molte di queste attività mediante il sistema di notifiche e-mail. Per maggiori informazioni, vedere *Notifiche di Assay Software* a pagina 63.
- ▶ **View errors and alerts** (Visualizza errori e avvisi): identifica i problemi che potrebbero impedire l'ulteriore elaborazione del saggio. I messaggi di errore e gli avvisi vengono inviati all'utente mediante il sistema di notifiche e-mail. Per maggiori informazioni, vedere *Notifiche di Assay Software* a pagina 63.

- ▶ **Configure the server network settings** (Configura le impostazioni della rete per il server): il personale Illumina di solito configura la rete durante l'installazione del sistema. Eventuali modifiche potrebbero essere richieste se la rete locale necessita di modifiche al sistema informatico. Per maggiori informazioni, vedere [Modifica delle impostazioni della rete e del server a pagina 28](#).
- ▶ **Manage server access** (Gestisci accesso al server): Onsite Server permette l'accesso a livello di Administrator (Amministratore) e Operator (Operatore). Questi livelli di accesso controllano la visualizzazione dei registri delle attività, degli avvisi e degli errori nonché la modifica della rete e le impostazioni per la mappatura dei dati. Per maggiori informazioni, vedere [Gestione degli utenti a pagina 24](#).
- ▶ **Configure sequencing data folder** (Configura la cartella dei dati di sequenziamento): per impostazione predefinita, il server archivia i dati del sequenziamento. Tuttavia, può essere aggiunto un sistema NAS per ampliare la capacità di archiviazione. Per maggiori informazioni, vedere [Gestione di un'unità di rete condivisa a pagina 26](#).
- ▶ **Configure email notification subscribers list** (Configura l'elenco dei sottoscrittori alle notifiche e-mail): gestisce un elenco di sottoscrittori ai quali vengono inviate le notifiche e-mail che comprendono i messaggi di errore e gli avvisi relativi all'elaborazione del saggio. Per maggiori informazioni, vedere [Configurazione delle notifiche e-mail del sistema a pagina 29](#).
- ▶ **Configure database backup encryption** (Configurazione della codifica per il backup del database): consente la codifica e l'impostazione di una password di codifica per i backup del database sul server. Questa funzione consente anche di generare un backup non codificato temporaneo. Per maggiori informazioni, vedere [Configurazione di Backup Encryption \(Codifica backup\) a pagina 30](#).
- ▶ **Configure network passwords** (Configurazione delle password della rete): imposta le password della rete per la comunicazione tra il server, entrambi i sequenziatori e gli strumenti VeriSeq NIPT Microlab STAR. Per maggiori informazioni, vedere [Configurazioni delle password della rete a pagina 31](#).
- ▶ **Reboot or shutdown the server** (Riavvia o spegni il server): riavvia il server, se necessario. Può essere necessario eseguire un riavvio o uno spegnimento per far sì che un'impostazione di configurazione abbia effetto o come rimedio per un errore del server. Per maggiori informazioni, vedere [Riavvio del server a pagina 36](#) e [Spegnimento del server a pagina 37](#).

Contratto di licenza per l'utente finale

Al primo accesso all'interfaccia utente Web, all'utente viene chiesto di accettare il contratto di licenza per l'utente finale (End User License Agreement, EULA). Selezionando **Download EULA** (Scarica EULA), è possibile scaricare il contratto di licenza sul computer. Il software richiede di accettare il contratto EULA prima di poter continuare a lavorare con l'interfaccia utente Web.

Dopo aver accettato il contratto EULA, è possibile tornare alla pagina EULA e, se necessario, scaricare il documento.

Configurazione dell'interfaccia utente Web

Selezionare l'icona Settings (Impostazioni)  per visualizzare un elenco a discesa delle impostazioni di configurazione. Le impostazioni vengono visualizzate in base al ruolo utente e alle autorizzazioni associate. Per maggiori informazioni, vedere [Assegnazione dei ruoli utente a pagina 25](#).



NOTA

Un tecnico non ha accesso a nessuna di queste funzioni.

Impostazione	Descrizione
User Management (Gestione utenti)	Aggiunge, attiva/disattiva e modifica le credenziali degli utenti. Solo per amministratori e personale dell'assistenza.
Email Configuration (Configurazione e-mail)	Modifica l'elenco dei sottoscrittori alle notifiche e-mail.
Backup Encryption (Codifica backup)	Consente l'attivazione della codifica dei backup del database e della generazione di un backup temporaneo codificato.
Network Passwords (Password della rete)	Imposta le password della rete per la comunicazione tra il server e i componenti della soluzione.
Reboot Server (Riavvia il server)	Solo per amministratori o personale dell'assistenza.
Shut Down Server (Spegnimento server)	Solo per amministratori o personale dell'assistenza.

Accesso all'interfaccia utente Web

Per accedere all'interfaccia di Assay Software ed eseguire il login:

- 1 Su un computer connesso alla stessa rete di Onsite Server, aprire uno dei seguenti browser Web:
 - ▶ Chrome v69 o versione successiva
 - ▶ Firefox v62 o versione successiva
 - ▶ Internet Explorer v11 o versione successiva
- 2 Inserire l'indirizzo IP del server o il nome del server fornito da Illumina al momento dell'installazione, equivalente a \\<Indirizzo IP VeriSeq Onsite Server v2>\login.
Ad esempio, \\10.10.10.10\login.
- 3 Se viene visualizzata un'avvertenza di sicurezza, aggiungere un'eccezione di sicurezza per procedere alla schermata di login.
- 4 Nella schermata di login, inserire il nome utente e la password sensibili a maiuscolo/minuscolo forniti da Illumina e selezionare **Log In** (Accedi).



NOTA

Dopo dieci minuti di inattività Assay Software esegue automaticamente il logout per l'utente attualmente collegato.

Utilizzo di Dashboard (Pannello strumenti)

Il Dashboard (Pannello strumenti) di VeriSeq NIPT Assay Software v2 viene visualizzato dopo l'accesso e rappresenta la finestra di navigazione principale. Per tornare al Dashboard (Pannello strumenti) in qualsiasi momento, selezionare l'opzione di menu **Dashboard** (Pannello strumenti).

Il Dashboard (Pannello strumenti) mostra sempre le 50 attività più recenti che sono state registrate (se vi sono meno di 50 attività, mostra solo quelle registrate). Per ottenere le 50 attività precedenti e scorrere la cronologia delle attività, fare clic su **Previous** (Precedente) nell'angolo inferiore destro della tabella delle attività.

Figura 4 Dashboard (Pannello strumenti) di VeriSeq NIPT Assay Software

The screenshot shows a web dashboard with a header 'Dashboard' and a navigation bar with 'Recent activities', 'Recent errors', and 'Server status'. Below is a table with columns: WHEN, USER, SUBSYSTEM, DETAILS, and LEVEL. The table lists various activities such as 'Aneuploidy Detection Report generated', 'Analysis started', 'Sequencing QC passed', and 'Batch' creation/completion.

WHEN	USER	SUBSYSTEM	DETAILS	LEVEL
2016-07-29 09:17 PDT		Assay	Aneuploidy Detection Report generated for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGXY'	Activity
2016-07-29 09:17 PDT		Assay	Analysis started for '160728_NS500411_0171_AHCLGJBGXY'	Activity
2016-07-29 05:23 PDT		Assay	Sequencing QC passed for '160728_NS500411_0171_AHCLGJBGXY'	Activity
2016-07-29 05:14 PDT		Assay	Analysis started for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGXY'	Activity
2016-07-29 05:14 PDT		Assay	Sequencing QC passed for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGXY'	Activity
2016-07-28 19:56 PDT		Assay	Sequencing started for '160728_NB551043_0005_AHCLWJBGXY'	Activity
2016-07-28 19:55 PDT		Assay	Sequencing started for '160728_NS500411_0171_AHCLGJBGXY'	Activity
2016-07-28 17:18 PDT		Assay	Batch 'DVT0151_PL02_1': pool 'PT2008505' created	Activity
2016-07-28 17:18 PDT		Assay	Batch 'DVT0151_PL02_1': pool 'PT2008521' created	Activity
2016-07-28 16:14 PDT		Assay	Batch 'DVT0151_PL02_1' completed library	Activity
2016-07-28 10:30 PDT		Assay	Batch 'DVT0151_PL02_1' initiated	Activity

Visualizzazione delle attività recenti

La scheda Recent Activities (Attività recenti) contiene una breve descrizione delle attività recenti di Assay Software e di Onsite Server.

Nome	Descrizione
When (Quando)	Data e ora dell'attività
User (Utente)	Se pertinente, identifica l'utente che ha eseguito l'attività
Subsystem (Sottosistema)	Indica l'entità o la procedura che ha eseguito l'attività, come utente, saggio o configurazione
Details (Dettagli)	Descrizione dell'attività
Level (Livello)	Il livello assegnato all'attività in base alle seguenti opzioni: <ul style="list-style-type: none"> • Activity (Attività): indica un'attività nel server come un riavvio del sistema o il login/logout di un utente. • Notice (Avviso): indica una fase non eseguita correttamente. Ad esempio, invalidamento di un campione e controllo qualità non riuscito. • Warning (Avvertenza): indica che si è verificato un errore durante la normale esecuzione e il corretto funzionamento hardware. Ad esempio, parametri della corsa non riconosciuti e analisi non eseguita.

Visualizzazione degli errori recenti

La scheda Recent Errors (Errori recenti) contiene una breve descrizione degli errori software e server recenti.

Nome	Descrizione
When (Quando)	Data e ora dell'attività
User (Utente)	Se pertinente, identifica l'utente che ha eseguito l'attività
Subsystem (Sottosistema)	Indica l'entità o la procedura che ha eseguito l'attività, come utente, saggio o configurazione
Details (Dettagli)	Descrizione dell'attività
Level (Livello)	<p>Il livello assegnato all'attività in base alle seguenti opzioni:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Urgent (Urgente): errore hardware importante che compromette il funzionamento del sistema. Contattare l'Assistenza Tecnica Illumina. • Alert (Avviso): errore in normali condizioni di funzionamento. Ad esempio, un disco danneggiato, problema con lo spazio o configurazione che impedisce la generazione di un report o di notifiche e-mail. • Error (Errore): errore di sistema o del server in normali condizioni di funzionamento. Ad esempio, un problema con il file di configurazione o un errore hardware.

Visualizzazione dello stato del sistema e degli avvisi

Per visualizzare il riepilogo dello stato del server, da Dashboard (Pannello strumenti), selezionare la scheda **Server Status** (Stato del server).

Il riepilogo visualizza le seguenti informazioni:

- ▶ **Date** (Data): la data e l'ora attuali
- ▶ **Time zone** (Fuso orario): il fuso orario configurato per il server; utilizzato per la data e l'ora di e-mail, avvisi e report
- ▶ **Hostname** (Nome host): il nome del sistema consiste di un nome host della rete e un nome di dominio DNS
- ▶ **Disk space usage** (Utilizzo spazio su disco): la percentuale di spazio su disco attualmente utilizzata per l'archiviazione dei dati
- ▶ **Software** (Software): la configurazione regolamentata del software (ad es. CE-IVD)
- ▶ **Version** (Versione): la versione di VeriSeq NIPT Assay Software v2

Il riepilogo potrebbe contenere anche un pulsante **Server alarm** (Allarme server) che silenzia l'allarme del controller RAID. Il pulsante viene visualizzato solo dagli amministratori. Se si preme questo pulsante, contattare l'Assistenza Tecnica Illumina per richiedere ulteriore supporto.

Gestione degli utenti



NOTA

Solo il personale dell'assistenza e gli amministratori dispongono dell'autorizzazione per aggiungere, modificare o eliminare le autorizzazioni per i tecnici e altri utenti a questo livello.

Assegnazione dei ruoli utente

I ruoli utente definiscono l'accesso e i diritti per eseguire determinati compiti.

Ruolo	Descrizione
Service (Servizio)	Un tecnico dell'assistenza Illumina che esegue l'installazione e l'impostazione del sistema iniziali (inclusa la creazione del ruolo Administrator - Amministratore). Inoltre risolve eventuali problemi, esegue le riparazioni del server, imposta e modifica le impostazioni di configurazione e fornisce un'assistenza software continua.
Administrator (Amministratore)	Un amministratore del laboratorio che imposta e gestisce le impostazioni di configurazione, amministra gli utenti, definisce l'elenco di sottoscrittori all'e-mail e riavvia o spegne il server.
Technician (Tecnico)	Un tecnico di laboratorio che visualizza lo stato e gli avvisi del sistema.

Aggiunta di utenti

Al momento dell'installazione iniziale, il personale dell'Assistenza Illumina aggiunge l'utente Administrator (Amministratore).

Per aggiungere un utente:

- 1 Dalla schermata User Management (Gestione utenti), selezionare **Add New User** (Aggiungi nuovo utente).



NOTA

Sono richiesti tutti i campi.

- 2 Inserire il nome utente.



NOTA

I caratteri accettabili per il nome utente sono solo i caratteri sensibili alle maiuscole e minuscole, i caratteri alfanumerici (ad es, a-z, e 0-9), il "_" (trattino basso) e il "-" (trattino). I nomi utenti devono essere composti da 4-20 caratteri e devono contenere almeno un carattere numerico. Il primo carattere del nome utente non può essere un carattere numerico.

Assay Software utilizza i nomi utente per identificare la persona coinvolta nei diversi aspetti dell'elaborazione del saggio e le interazioni con Assay Software.

- 3 Inserire il nome completo dell'utente. Il nome completo viene visualizzato solo nel profilo utente.
- 4 Inserire e confermare la password.



NOTA

La password deve essere composta da 8-20 caratteri e contenere almeno una lettera maiuscola, una lettera minuscola e un carattere numerico.

- 5 Inserire un indirizzo e-mail dell'utente.
È richiesto un indirizzo e-mail univoco per ciascun utente.
- 6 Selezionare il ruolo utente desiderato dell'elenco a discesa.
- 7 Selezionare la casella **Active** (Attivo) per attivare l'utente immediatamente o deselezionare la casella per attivare l'utente in un secondo momento (ossia, dopo la formazione).
- 8 Selezionare **Save** (Salva) per salvare e confermare le modifiche.
Il nuovo utente appare ora nella schermata User Management (Gestione utenti).

Modifica di utenti

Per modificare le informazioni relative agli utenti:

- 1 Dalla schermata User Management (Gestione utenti), selezionare il nome utente dell'utente desiderato.
- 2 Modificare le informazioni per l'utente in base alle necessità e, una volta completato, selezionare **Save** (Salva).
- 3 Quando viene visualizzata la finestra di dialogo per la conferma delle modifiche, selezionare nuovamente **Save** (Salva).
Le modifiche all'utente vengono ora visualizzate nella schermata User Management (Gestione utenti).

Disattivazione di utenti

Per disattivare un utente:

- 1 Dalla schermata User Management (Gestione utenti), selezionare il nome utente prescelto.
- 2 Deselezionare la casella di controllo **Activate** (Attiva) e selezionare **Save** (Salva).
- 3 Sul messaggio di conferma, fare clic su **Save** (Salva).
Nella schermata User Management (Gestione utenti) lo stato dell'utente passa a Disabled (Disattivato).

Gestione di un'unità di rete condivisa



NOTA

Solo il personale dell'assistenza o gli amministratori dispongono dell'autorizzazione per aggiungere, modificare o eliminare i percorsi delle cartelle condivise.

Aggiunta di un'unità di rete condivisa

Configurare il sistema in modo che i dati del sequenziamento vengano archiviati su un sistema NAS dedicato piuttosto che su un server connesso al sistema di sequenziamento. Un sistema NAS può fornire una maggiore capacità di archiviazione e backup continuo dei dati.

- 1 Da Dashboard (Pannello strumenti), selezionare **Folders** (Cartelle).
- 2 Selezionare **Add folder** (Aggiungi cartelle).
- 3 Inserire le seguenti informazioni fornite dall'amministratore IT:
 - ▶ **Location** (Posizione): il percorso completo alla posizione del sistema NAS compresa la cartella in cui sono stati archiviati i dati.
 - ▶ **Username** (Nome utente): il nome utente assegnato a Onsite Server quando questo accede al sistema NAS.
 - ▶ **Password** (Password): la password assegnata a Onsite Server quando questo accede al sistema NAS.
- 4 Selezionare **Save** (Salva).
- 5 Selezionare **Test** (Verifica) per verificare la connessione al sistema NAS.
Se la connessione non riesce, confermare il nome del server, il nome della posizione, il nome utente e la password con l'amministratore IT.
- 6 Riavviare il server per applicare le modifiche.



NOTA

La configurazione di un'unità di rete condivisa può supportare solo una cartella di dati del sequenziamento.

Modifica di un'unità di rete condivisa

- 1 Da Dashboard (Pannello strumenti), selezionare **Folders** (Cartelle).
- 2 Modificare il percorso Location (Posizione) e selezionare **Save** (Salva).
- 3 Selezionare **Test** (Verifica) per verificare la connessione al sistema NAS.
Se la connessione non riesce, confermare il nome del server, il nome della posizione, il nome utente e la password con l'amministratore IT.

Eliminazione di un'unità di rete condivisa

- 1 Da Dashboard (Pannello strumenti), selezionare **Folders** (Cartelle).
- 2 Selezionare il percorso Location (Posizione) per eseguire la modifica.
- 3 Selezionare **Delete** (Elimina) per rimuovere la cartella di sequenziamento esterna.

Configurazione delle impostazioni di rete e certificato

Il personale dell'Assistenza Illumina utilizza la schermata Network Configuration (Configurazione rete) per configurare la rete e impostare il certificato durante l'installazione iniziale.



NOTA

Solo il personale dell'assistenza e gli amministratori dispongono dell'autorizzazione per modificare le impostazioni di rete e del certificato.

- 1 Da Dashboard (Pannello strumenti), selezionare **Configuration** (Configurazione).
- 2 Selezionare la scheda **Network Configuration** (Configurazione rete) e configurare le impostazioni di rete, in base alle necessità.
- 3 Selezionare la scheda **Certification Configuration** (Configurazione certificato) per generare il certificato SSL.

Modifica delle impostazioni del certificato

Un certificato di connessione protetta (Secure Socket Layer, SSL) è un file di dati che permette la connessione sicura da Onsite Server a un browser.

- 1 Utilizzare la scheda Certificate Configuration (Configurazione del certificato) per aggiungere o modificare le impostazioni del certificato SSL.
 - ▶ **Laboratory Email** (E-mail del laboratorio): l'e-mail di contatto presso il laboratorio di analisi (richiede un formato di indirizzo e-mail valido).
 - ▶ **Organization Unit** (Unità dell'organizzazione): dipartimento.
 - ▶ **Organization** (Organizzazione): nome del laboratorio di analisi.
 - ▶ **Location** (Posizione): l'indirizzo del laboratorio di analisi.
 - ▶ **State** (Regione): la regione del laboratorio di analisi (si popola automaticamente in base all'indirizzo e-mail).
 - ▶ **Country** (Paese): il paese del laboratorio di analisi (si popola automaticamente in base all'indirizzo e-mail).

- ▶ **Certificate Thumbprint (SHA1)** (Certificato di identificazione digitale - SHA1): numero di identificazione della certificazione.

Il Certificate Thumbprint (SHA1) assicura che l'utente non riceva avvisi di certificato quando accede a VeriSeq NIPT Assay Software v2. Il certificato SHA1 viene visualizzato dopo la generazione o la rigenerazione di un certificato. Per maggiori informazioni, vedere *Rigenerazione di un certificato a pagina 29*.

- 2 Fare clic su **Save** (Salva) per implementare qualsiasi modifica eseguita.

Modifica delle impostazioni della rete e del server



NOTA

Coordinare tutte le modifiche alle impostazioni di rete e server con l'amministratore IT per evitare errori di connessione al server.

- 1 Utilizzare la scheda Network Configuration (Configurazione rete) per impostare o modificare le impostazioni di rete o di Onsite Server.
 - ▶ **Static IP Address** (Indirizzo IP statico): l'indirizzo IP designato per Onsite Server.
 - ▶ **Subnet Mask** (Maschera di sottorete): la maschera di sottorete della rete locale.
 - ▶ **Default Gateway Address** (Indirizzo gateway predefinito): l'indirizzo IP predefinito del router.
 - ▶ **Hostname** (Nome host): il nome designato per fare riferimento a Onsite Server sulla rete (definito come localhost per impostazione predefinita).
 - ▶ **DNS Suffix** (Suffisso DNS): il suffisso DNS designato.
 - ▶ **Nameserver 1 and 2** (Nome server 1 e 2): indirizzi IP o nomi del server DNS.
 - ▶ **NTP Time Server 1 and 2** (Server 1 e 2 per orario NTP): i server di sincronizzazione dell'orario mediante il protocollo NTP.
 - ▶ **MAC Address** (Indirizzo MAC): l'indirizzo MAC della rete del server (sola lettura).
 - ▶ **Timezone** (Fuso orario): il fuso orario locale del server.
- 2 Confermare che le voci inserite siano corrette e selezionare **Save** (Salva) per riavviare il server e implementare le modifiche applicate.



ATTENZIONE

Eventuali impostazioni errate possono alterare la connessione con il server.

Download e installazione di un certificato

Per scaricare e installare un certificato SSL:

- 1 Da Dashboard (Pannello strumenti), selezionare **Configuration** (Configurazione).
- 2 Selezionare la scheda **Certification Configuration** (Configurazione certificazione).
- 3 Selezionare **Download Certificate** (Scarica certificato) dalla schermata Network Configuration (Configurazione rete).
Il file del certificato root_cert.der viene scaricato.



NOTA

Se viene suggerito di salvare il file, scegliere una posizione facile da ricordare. In caso contrario, identificare la posizione di download predefinita. Alcuni browser salvano il file direttamente in una cartella Downloads (Download).

- 4 Individuare sul computer la cartella sul computer in cui salvare il file.

- 5 Fare clic con il pulsante destro sul file **root_cert.der** e selezionare **Install Certificate** (Installa certificato). Se viene visualizzata una finestra Security Warning (Avviso di sicurezza), selezionare **Open** (Apri) per aprire il file.
- 6 Nella finestra Welcome (Benvenuto) per Certificate Import Wizard (Creazione guidata per l'importazione dei certificati), selezionare **Local Machine** (Macchina locale) per Store Location (Posizione di archiviazione), quindi selezionare **Next** (Avanti).
- 7 Selezionare l'opzione **Place all certificates in the following store** (Colloca tutti i certificati nella seguente posizione di archiviazione), quindi selezionare **Browse...** (Sfoglia...).
- 8 Nella finestra Select Certificate Store (Seleziona posizione di archiviazione dei certificati), selezionare **Trusted Root Certification Authorities** (Autorità di certificazione fonti attendibili), quindi selezionare **OK** (Ok).
- 9 Assicurarsi che il campo Certificate Store (Posizione di archiviazione del certificato) visualizzi Trusted Root Certification Authorities (Autorità di certificazione fonti attendibili), quindi selezionare **Next** (Avanti).
- 10 Nella finestra Completing the Certificate Import Wizard (Completamento della creazione guidata per l'importazione dei certificati), selezionare **Finish** (Termina). Se viene visualizzata una finestra Security Warning (Avviso di sicurezza), selezionare **Yes** (Sì) per installare il certificato.
- 11 Nella finestra di conferma dell'importazione avvenuta correttamente, selezionare **OK** (Ok) per uscire dalla creazione guidata.

Rigenerazione di un certificato



NOTA

Solo il personale dell'assistenza e gli amministratori dispongono dell'autorizzazione per rigenerare i certificati e riavviare il sistema.

Per rigenerare un certificato dopo la modifica delle impostazioni della rete o del certificato:

- 1 Selezionare **Regenerate Certificate** (Rigenera certificato) dalla schermata Network Configuration (Configurazione rete).
- 2 Selezionare **Regenerate Certificate and Reboot** (Rigenera certificato e riavvia) per procedere oppure selezionare **Cancel** (Annulla) per uscire.

Configurazione delle notifiche e-mail del sistema

VeriSeq NIPT Assay Software v2 comunica con gli utenti inviando notifiche e-mail che indicano lo stato del saggio e gli avvisi per gli errori o le azioni richieste all'utente. *Notifiche di Assay Software a pagina 63* descrive le diverse notifiche e-mail inviate dal sistema.




NOTA

Assicurarsi che le impostazioni delle e-mail indesiderate (spam) consentano le notifiche e-mail provenienti dal server. Le notifiche e-mail sono inviate da un account denominato **VeriSeq@<dominio e-mail del cliente>**, dove <dominio e-mail del cliente> viene specificato dal team IT locale al momento dell'installazione del server.

Creazione di un elenco di sottoscrittori e-mail

Le notifiche e-mail vengono inviate a un elenco di determinati sottoscrittori che possono essere definiti nelle fasi seguenti.

Per specificare un elenco di sottoscrittori:

- 1 Da Dashboard (Pannello strumenti), selezionare l'icona  Settings (Impostazioni).
- 2 Selezionare **Email Configuration** (Configurazione e-mail).
- 3 Nel campo **Subscribers** (Sottoscrittori), inserire gli indirizzi e-mail separati da virgole. Verificare che gli indirizzi e-mail siano inseriti correttamente. Il software non convalida il formato degli indirizzi e-mail.
- 4 Selezionare **Send test message** (Invia messaggio di prova) per generare un'e-mail di prova per l'elenco dei sottoscrittori. Controllare i messaggi nella propria posta in arrivo per verificare che l'e-mail sia stata inviata.
- 5 Selezionare **Save** (Salva).

Configurazione di Backup Encryption (Codifica backup)


VeriSeq NIPT Assay Software v2 consente agli amministratori di attivare o disattivare la crittografia per il backup. Possono inoltre impostare o aggiornare la password di crittografia per i backup del database. Questa password è necessaria per ripristinare un backup del database. Assicurarsi di conservare la password in una posizione sicura per riferimento futuro.



NOTA

Solo gli amministratori hanno il permesso di impostare la crittografia per il backup del database.

Per impostare la crittografia del backup, attenersi a quanto segue.

- 1 Da Dashboard (Pannello strumenti), selezionare l'icona  Settings (Impostazioni).
- 2 Selezionare **Backup Encryption** (Codifica backup).
- 3 Selezionare la casella di controllo **Encrypt Backups** (Esegui crittografia dei backup).
- 4 Immettere la password scelta per la crittografia nel campo **Encryption Password** (Password crittografia).
- 5 Nel campo **Confirm Password** (Conferma password), reimmettere la stessa password.
- 6 Selezionare **Save** (Salva).

Generazione di un backup non codificato


VeriSeq NIPT Assay Software v2 consente agli amministratori di generare un file di backup non codificato che può essere utilizzato dall'Assistenza Tecnica Illumina. Il file di backup non codificato è disponibile solo per 24 ore prima che venga automaticamente eliminato.



NOTA

Solo gli amministratori dispongono dei permessi per generare un backup non codificato.

Per creare un backup non codificato, attenersi a quanto segue.

- 1 Da Dashboard (Pannello strumenti), selezionare l'icona  Settings (Impostazioni).
- 2 Selezionare **Backup Encryption** (Codifica backup).
- 3 Selezionare il pulsante **Generate Unencrypted Backup** (Genera backup non codificato).
- 4 Nella finestra di conferma, selezionare **Yes** (Sì).
Viene visualizzato un messaggio di conferma della richiesta di backup non codificato.
- 5 Selezionare **OK** (Ok).
È possibile confermare la creazione di un backup non codificato tornando a Dashboard (Pannello strumenti) di VeriSeq NIPT Assay Software v2 e visualizzare la tabella Recent Activities (Attività recenti).
Una nuova attività dovrebbe confermare la corretta creazione di un backup non codificato.

Configurazioni delle password della rete


Un amministratore o un tecnico dell'assistenza Illumina può utilizzare la pagina Network Passwords (Password della rete) per la comunicazione tra Onsite Server e i componenti di VeriSeq NIPT Solution v2.



NOTA

Solo il personale dell'assistenza e gli amministratori dispongono dei permessi per modificare le password della rete.

Per configurare le password della rete, attenersi a quanto segue.

- 1 Da Dashboard (Pannello strumenti), selezionare l'icona  Settings (Impostazioni).
- 2 Selezionare **Network Passwords** (Password della rete).
- 3 Immettere una password per i sequenziatori nel campo Sequencer Password (Password sequenziatori).
- 4 Nel campo Confirm Password (Conferma password), reimmettere la password per i sequenziatori.



ATTENZIONE

L'aggiornamento della password dei sequenziatori durante una corsa di sequenziamento può causare la perdita dei dati.

- 5 Selezionare **Save Sequencer Password** (Salva password sequenziatori).
Il server archivia la password per il sequenziatore. Assicurarsi di aggiornare qualsiasi sequenziatore collegato al server al fine di utilizzare questa password.
- 6 Immettere una password per VeriSeq NIPT Microlab STAR nel campo Automation Password (Password automazione).
- 7 Nel campo Confirm Password (Conferma password), reimmettere la password per ML STAR.
- 8 Selezionare **Save Automation Password** (Salva password automazione).

Il server archivia la password per ML STAR. Assicurarsi di aggiornare qualsiasi strumento ML STAR collegato al server al fine di utilizzare questa password.



ATTENZIONE

L'aggiornamento della password di automazione durante la preparazione dei campioni può causare la perdita dei dati.

Logout

- Selezionare l'icona del profilo utente nell'angolo superiore destro della schermata, quindi selezionare **Log Out** (Logout).

Analisi e creazione di report

Dopo la raccolta dei dati del sequenziamento, questi vengono sottoposti a demultiplex, convertiti in un formato FASTQ, allineati su un genoma di riferimento e analizzati per rilevare le aneuploidie. Le diverse metriche, descritte sopra, sono determinate per qualificare la risposta finale per un dato campione.

Demultiplex e generazione di file in formato FASTQ

I dati di sequenziamento archiviati in formato BCL vengono elaborati mediante il software di conversione bcl2fastq, che sottopone a demultiplex i dati e converte i file BCL nei formati file standard FASTQ per l'analisi a valle. Per ogni corsa di sequenziamento, Assay Software crea un foglio campioni (SampleSheet.csv). Il file contiene le informazioni sul campione incluse nel software durante la procedura di preparazione dei campioni (utilizzando il software API). Questi fogli campioni contengono un'intestazione con le informazioni relative alla corsa e le descrizioni per i campioni elaborati in una determinata cella a flusso.

La tabella seguente fornisce i dettagli relativi ai dati contenuti nel foglio campioni.



ATTENZIONE

NON modificare in alcun modo il foglio campioni. Poiché viene generato dal sistema, eventuali modifiche possono causare eventi avversi a valle, compresi errori nei risultati o analisi non riuscite.

Nome colonna	Descrizione
SampleID (ID campione)	Identificazione del campione.
SampleName (Nome campione)	Nome del campione. Predefinito: lo stesso di SampleID (ID campione).
Sample_Plate (Piastra_campioni)	Identificazione della piastra per un dato campione. Predefinito: vuoto.
Sample_Well (Pozzetto_campione)	Identificazione del pozzetto sulla piastra per un dato campione.
i7_Index_ID (ID_indice_i7)	Identificazione del primo adattatore indice.
index (indice)	Sequenza nucleotidica del primo adattatore.
i5_Index_ID (ID_indice_i5)	Identificazione del secondo adattatore.
index2 (indice 2)	Sequenza nucleotidica del secondo adattatore.
Sample_Project (Progetto_campione)	Identificazione del progetto per un dato campione. Predefinito: vuoto.

Nome colonna	Descrizione
SexChromosomes (Cromosomi sessuali)	Analisi relativa ai cromosomi sessuali. Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> • Yes (Sì): richiesta l'identificazione delle aneuploidie dei cromosomi sessuali e del sesso. • No (No): non richiesta l'identificazione né delle aneuploidie dei cromosomi sessuali né del sesso. • SCA (Aneuploidia del cromosoma sessuale): richiesta l'identificazione delle aneuploidie dei cromosomi sessuali, non richiesta l'identificazione del sesso.
SampleType (Tipo di campione)	Tipo di campione. Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> • Singleton (Singola): gravidanza di singolo embrione. • Twin (Gemellare): gravidanza di più embrioni. • Control (Controllo): campione di controllo di sesso noto e classificazione dell'aneuploidia. • NTC (Controllo non template): campione di controllo non template (non DNA).

Controllo qualità del sequenziamento

Le metriche di controllo qualità del sequenziamento identificano le celle a flusso che probabilmente non supereranno l'analisi. Le metriche relative alla densità dei cluster, alla percentuale di letture che attraversano il filtro (PF), alla predeterminazione delle fasi (prephasing) e alla determinazione delle fasi (phasing) descrivono la qualità generale dei dati del sequenziamento e sono comuni a molte applicazioni di sequenziamento di nuova generazione. La metrica delle letture allineate previste stima il livello di profondità di sequenziamento della cella a flusso. Se i dati di bassa qualità non soddisfano la metrica delle letture allineate, l'elaborazione della corsa viene terminata. Per maggiori informazioni, vedere *Metriche e limiti superiore e inferiore del controllo qualità del sequenziamento a pagina 39*.

Stime della frazione fetale

Con il termine frazione fetale si indica la percentuale di DNA libero circolante in un campione di sangue materno ottenuto dalla placenta. Per calcolare una stima della frazione fetale, Assay Software utilizza le informazioni derivanti sia dalla distribuzione della dimensione del frammento di cfDNA che dalle differenze nella copertura genomica tra cfDNA materno e fetale.¹

Statistiche utilizzate nel punteggio finale

Per tutti i cromosomi, dati autosomici ottenuti dal sequenziamento paired-end vengono allineati con il genoma di riferimento (HG19). Le letture univoche allineate e non duplicate sono aggregate in intervalli di 100 kb. I conteggi degli intervalli corrispondenti sono regolati per distorsioni GC e in base alla precedente copertura genomica stabilita per regioni specifiche. Utilizzando tali conteggi di intervalli normalizzati, i punteggi statistici sono derivati per ogni autosoma dal confronto tra le regioni di copertura che possono essere influenzate dalla presenza di un'aneuploidia e il resto degli autosomi. La distribuzione dei rapporti di log-verosimiglianza (LLR) viene calcolata per ciascun campione, tenendo conto dei punteggi basati sulla copertura e della frazione fetale stimata. La distribuzione LLR rappresenta la probabilità che un campione sia affetto in base alla copertura osservata e la frazione fetale rispetto alla probabilità di un campione di non essere affetto in base alla stessa copertura. Il calcolo di questa distribuzione tiene conto anche della stima di incertezza nella frazione fetale. Per i calcoli seguenti, viene utilizzato il logaritmo naturale del rapporto. Assay Software valuta il valore LLR per ciascun cromosoma target e ciascun campione per fornire una determinazione dell'aneuploidia.

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

Le statistiche per i cromosomi X e Y sono diverse dalle statistiche utilizzate per gli autosomi. Per i feti identificati come femmina, le identificazioni delle SCA richiedono una concordanza di classificazione in base ai valori cromosomici normalizzati e LLR.¹ I punteggi LLR specifici sono calcolati per [45,X] (sindrome di Turner) e per [47,XXX]. Per i feti identificati come maschio, le identificazioni delle SCA sia per [47,XXY] (sindrome di Klinefelter) che per [47,XYY] possono essere basate sulla relazione tra i valori cromosomici normalizzati per i cromosomi X e Y (NCV_X e NCV_Y). Possono essere identificati [47,XXY] i campioni relativi ai feti maschili per i quali NCV_X rientra nell'intervallo osservato per i campioni euploidi femminili. I campioni relativi ai campioni maschili per i quali NCV_X rientra nell'intervallo osservato nei campioni euploidi maschili ma per i quali il cromosoma Y è sovrarappresentato possono essere identificati come [47,XYY].

Per alcuni valori di NCV_Y e NCV_X il sistema non è in grado di determinare le SCA. I campioni forniscono un risultato Not Reportable (Non riportabile) per la classificazione XY. Se vengono superate tutte le altre metriche di controllo qualità, a questi campioni vengono sempre forniti i risultati autosomici.

Controllo qualità dell'analisi

Le metriche di controllo qualità analitica sono metriche calcolate durante l'analisi e vengono utilizzate per rilevare i campioni che deviano eccessivamente dal comportamento previsto. I dati per i campioni che non superano queste metriche sono da considerarsi non affidabili e sono indicati come non riusciti. Quando i campioni producono risultati al di fuori degli intervalli previsti per queste metriche, NIPT Report fornisce un motivo per il controllo di qualità come un'avvertenza o una causa della mancata riuscita. Consultare [Messaggi sul motivo del controllo di qualità a pagina 49](#) per ulteriori informazioni su questi motivi di controllo di qualità.

Controllo qualità dei campioni NTC (Controllo non templato)

VeriSeq NIPT Solution consente di aggiungere campioni NTC (Controllo non templato) come parte della corsa. ML STAR può generare fino a due NTC per corsa per batch da 24 e 48 campioni e fino a quattro NTC per batch da 96 campioni. Indipendentemente da quanti campioni NTC (Controllo non templato) vengano aggiunti, il software controlla una media minima di 4.000.000 di frammenti mappati univocamente per campione per raggruppamento. Per questo motivo, non aggiungere più di 2 campioni NTC per raggruppamento. Per maggiori informazioni, vedere [Metriche e limiti superiore e inferiore del controllo qualità del sequenziamento a pagina 39](#).

Gli stati di controllo qualità per i campioni NTC (Controllo non templato) sono:

- ▶ **NTC sample processing** (Elaborazione campione NTC): quando viene elaborato un campione NTC (Controllo non templato), il software assegna un risultato PASS QC (Controllo qualità superato) quando la copertura per il campione è bassa, come previsto per un campione NTC (Controllo non templato).
- ▶ **Patient sample as NTC (Campione paziente come NTC)**: quando un campione del paziente, indicato come NTC (Controllo non templato), viene elaborato, viene rilevata una copertura elevata. Poiché il campione è indicato come NTC (Controllo non templato), il software indica lo stato del controllo qualità del campione come FAIL (Non superato) con il motivo seguente: NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (Campione NTC con copertura elevata).

VeriSeq Onsite Server v2

VeriSeq Onsite Server v2 viene eseguito su un sistema operativo basato su Linux e fornisce circa 7,5 TB di capacità di archiviazione dei dati. Se si presume una dimensione di dati di 25 GB per corsa di sequenziamento, il server è in grado di archiviare fino a 300 corse. Quando non è disponibile la capacità di

¹Bianchi D, Platt L, Goldberg J et al. Genome-Wide Fetal Aneuploidy Detection by Maternal Plasma DNA Sequencing. *Obstet Gynecol.* 2012;119(5):890–901. doi:10.1097/aog.0b013e31824fb482.

archiviazione minima, viene inviata una notifica automatica. Il server viene installato sulla rete locale.

Disco locale

Assay Software rende disponibili determinate cartelle su Onsite Server per l'utente. Queste cartelle possono essere mappate mediante il protocollo di condivisione Samba su qualsiasi workstation o computer portatile sulla rete locale.

Nome cartella	Descrizione	Accesso
Input	Contiene i dati di sequenziamento generati dal sistema di sequenziamento di nuova generazione mappato al server.	Lettura e scrittura.
Output	Contiene tutti i report generati dal software.	Solo lettura.
Backup	Contiene tutti i backup del database.	Solo lettura.



NOTA

La mappatura del disco locale si basa sul protocollo Server Message Block (SMB). Il software al momento supporta le versioni SMB2 e versioni successive. Il server richiede la firma SMB. Abilitare queste versioni sulle apparecchiature (portatile/workstation) utilizzate per la mappatura.

Database locale

Assay Software gestisce un database locale in cui le informazioni sulla libreria, le informazioni sulla corsa di sequenziamento e i risultati dell'analisi vengono salvati in modo permanente. Il database è una parte integrante di Assay Software e non è accessibile all'utente. Il sistema gestisce un meccanismo automatico per il backup del database su Onsite Server. Oltre alle seguenti procedure relative al database, gli utenti sono invitati ad eseguire il backup del database regolarmente in un percorso esterno.

- ▶ **Database backup** (Backup del database): un'istantanea del database viene automaticamente salvata su base oraria, giornaliera, settimanale o mensile. I backup orari vengono rimossi dopo la creazione di un backup giornaliero. Nello stesso modo, i backup giornalieri vengono rimossi quando è pronto un backup settimanale. I backup settimanali vengono rimossi dopo la creazione di un backup mensile e viene archiviato 1 solo backup mensile. La pratica raccomandata è creare uno script automatico che possa rendere persistente la cartella di backup su un sistema NAS locale. I backup non includono le cartelle di input e output.



NOTA

VeriSeq NIPT Assay Software v2 fornisce un'opzione di codifica per il backup del database.

Per maggiori informazioni, fare riferimento a *Configurazione di Backup Encryption (Codifica backup)* a pagina 30.

- ▶ **Database restore** (Ripristino del database): il database può essere ripristinato da una qualsiasi istantanea di backup salvata. I ripristini vengono eseguiti esclusivamente dal personale dell'Assistenza Illumina. La password di codifica deve essere fornita per ripristinare un backup codificato. Questa password deve corrispondere alla password in uso al momento del backup.
- ▶ **Data backup** (Backup dei dati): sebbene Onsite Server possa essere utilizzato come punto di archiviazione principale per le corse di sequenziamento, può archiviare soltanto circa 300 corse. Illumina raccomanda l'impostazione di un backup automatico dei dati che venga eseguito su base continua su un altro dispositivo di archiviazione a lungo termine o su un sistema NAS.
- ▶ **Maintenance** (Manutenzione): gli aggiornamenti per Assay Software o Onsite Server stesso sono forniti dall'Assistenza Tecnica Illumina.

Archiviazione dei dati

Consultare i criteri di archiviazione della sede IT di zona per informazioni su come archiviare le directory di input e output. Assay Software monitora lo spazio su disco rimanente nella directory di input e invia un'e-mail di notifica agli utenti quando la capacità di archiviazione rimanente scende al di sotto di 1 TB.

Non utilizzare Onsite Server per archiviare i dati. Trasferire i dati a Onsite Server e archivarli regolarmente.

Una tipica corsa di sequenziamento compatibile con il flusso di lavoro di analisi di cfDNA richiede 25-30 GB per le corse sul sequenziatore di nuova generazione. La dimensione effettiva della cartella della corsa dipende dalla densità dei cluster finale.

Archiviare i dati solo quando il sistema è inattivo e quando non viene eseguita alcuna analisi o corsa di sequenziamento.

Mappatura delle unità del server

Onsite Server dispone di 3 cartelle che possono essere mappate singolarmente a qualsiasi computer che esegue Microsoft Windows:

- ▶ **input:** esegue la mappatura alle cartelle dei dati del sequenziamento. Installa sul computer collegato al sistema di sequenziamento. Configura il sistema di sequenziamento per ottimizzare i dati nella cartella di input.
- ▶ **output:** esegue la mappatura al report di Analysis Server e ai report di elaborazione del saggio.
- ▶ **backup:** esegue la mappatura ai file di backup del database.



NOTA

Solo il personale dell'assistenza e gli amministratori attivi dispongono dei permessi per mappare i dischi rigidi dei server.

Per mappare ciascuna cartella:

- 1 Accedere al computer nella sottorete di Onsite Server.
- 2 Fare doppio clic su **Computer** (Computer) e selezionare **Map network drive** (Mappa unità di rete).
- 3 Selezionare una lettera dall'elenco a discesa Drive (Unità).
- 4 Nel campo Folder (Cartella), inserire \\<VeriSeq Onsite Server v2 IP address>\<nome cartella>. Ad esempio: \\10.50.132.92\input.
- 5 Immettere il proprio nome e password (come un amministratore attivo) di VeriSeq NIPT Assay Software v2.

Le cartelle mappate correttamente risultano montate sul computer. Se cambia il ruolo, lo stato attivo o la password dell'amministratore, la connessione attiva al server mappato viene terminata.



NOTA

La mappatura del disco locale si basa sul protocollo Server Message Block (SMB). Il software al momento supporta le versioni SMB2 e versioni successive. Il server richiede la firma SMB. Abilitare queste versioni sulle apparecchiature (portatile/workstation) utilizzate per la mappatura.

Riavvio del server



NOTA

Solo il personale dell'assistenza e gli amministratori dispongono dell'autorizzazione per riavviare il server.

Per riavviare il server:

- 1 Nell'elenco a discesa **Settings** (Impostazioni), selezionare **Reboot Server** (Riavvia il server).
- 2 Selezionare **Reboot** (Riavvia) per riavviare il sistema oppure **Cancel** (Annulla) per uscire senza eseguire il riavvio.
- 3 Inserire un motivo per cui il server verrà spento.
Il motivo viene registrato per la risoluzione dei problemi.



NOTA

Il riavvio del sistema può richiedere alcuni minuti.

Spegnimento del server



NOTA

Solo il personale dell'assistenza e gli amministratori dispongono dell'autorizzazione per spegnere il server.

Per arrestare Onsite Server:

- 1 Nell'elenco a discesa **Settings** (Impostazioni), selezionare **Shut Down Server** (Spegni server).
- 2 Selezionare **Shut Down** (Spegni) per spegnere Onsite Server oppure selezionare **Cancel** (Annulla) per uscire senza spegnere il server.
- 3 Inserire un motivo per cui Onsite Server verrà spento.
Il motivo viene registrato per la risoluzione dei problemi.

Recupero da un arresto imprevisto

Se durante una corsa di analisi si verifica un'interruzione dell'alimentazione o uno spegnimento involontario da parte dell'utente, il sistema:

- ▶ Riavvia automaticamente Assay Software al riavvio del sistema.
- ▶ Riconosce la corsa di analisi come non eseguita e rimette la corsa in coda per l'elaborazione.
- ▶ Genera output quando l'analisi viene completata correttamente.



NOTA

Se l'analisi non riesce, Assay Software permette al sistema di rimettere in coda la corsa di analisi fino a 3 volte.

Vincoli ambientali

Nella tabella seguente sono descritti i vincoli a livello di temperatura ambiente per Onsite Server.

Tabella 1 Temperature ambiente per VeriSeq Onsite Server v2

Altitudine	Temperatura ambiente di funzionamento	Temperatura ambiente non di funzionamento
Livello del mare	Da 10 °C a 40 °C	Da 0 °C a 60 °C
Oltre 3.000 m	Da 0 °C a 30 °C	Da -10 °C a 50 °C

Le informazioni sullo smaltimento delle apparecchiature elettroniche (RAEE, ove applicabile) sono presenti sul sito web di Illumina all'indirizzo <https://support.illumina.com/weee-recycling.html>.

Appendice A Metriche di controllo qualità (QC)

Metriche e limiti del controllo qualità della quantizzazione	38
Metriche e limiti superiore e inferiore del controllo qualità del sequenziamento	39

Metriche e limiti del controllo qualità della quantizzazione

Metrica	Descrizione	Limite inferiore	Limite superiore	Motivo
standard_r_squared (r_standard_al quadrato)	Il valore R al quadrato del modello della curva degli standard.	0,980	N/D	I modelli della curva degli standard che mostrano la linearità nello spazio log-log non predicono le vere concentrazioni dei campioni.
standard_slope (pendenza_standard)	Pendenza del modello della curva degli standard.	0,95	1,15	I modelli della curva degli standard la cui pendenza fuoriesce dalle bande delle prestazioni previste indicano un modello non affidabile.
ccn_library_pg_ul (concentrazione_libreria_pg_ul)	La concentrazione massima consentita del campione.	N/D	1.000 pg/μl	I campioni con concentrazioni calcolate di DNA che superano le specifiche indicano un'eccessiva contaminazione del DNA genomico.
median_ccn_pg_ul (concentrazione_media_pg_ul)	Il valore mediano della concentrazione calcolata per tutti i campioni in un batch.	16 pg/μl	N/D	Un raggruppamento di sequenziamento di volume appropriato non può presentare un numero eccessivo di campioni eccessivamente diluiti. I batch con un elevato numero di campioni diluiti indicano che si è verificato un errore durante la procedura di preparazione dei campioni.

Metriche e limiti superiore e inferiore del controllo qualità del sequenziamento

Metrica	Descrizione	Limite inferiore	Limite superiore	Motivo
cluster_density (densità_cluster)	Densità dei cluster di sequenziamento.	152.000 per mm ²	338.000 per mm ²	La cella a flusso con la densità dei cluster inferiore non genera letture sufficienti. Le celle a flusso con troppi cluster di solito producono dati di sequenziamento di scarsa qualità.
pct_pf (percentuale_ attraversano il filtro)	La percentuale di letture che attraversano il filtro chastity.	≥50%	N/D	Le celle a flusso con %PF estremamente bassa può fornire una rappresentazione delle basi anomala e probabilmente indicano problemi con le letture PF.
prephasing (predeterminazione delle fasi)	Frazione della predeterminazione delle fasi.	N/D	≤0,003	Raccomandazioni empiricamente ottimizzate per VeriSeq NIPT Solution v2.
phasing (determinazione delle fasi)	Frazione della determinazione delle fasi.	N/D	≤0,004	Raccomandazioni empiricamente ottimizzate per VeriSeq NIPT Solution v2.
predicted_aligned_reads (letture_allineate_previste)	Numero medio stimato di frammenti mappati univocamente per campione.	≥4.000.000	N/D	Determinato come siti non esclusi (NES) sulla popolazione normale.

Appendice B Report di sistema

Introduzione	40
Riepilogo dei report di sistema	41
Eventi di generazione di report	43
Report dei risultati e delle notifiche	45
Report di elaborazione	54

Introduzione

Assay Software genera due categorie di report:

- ▶ Report dei risultati e delle notifiche
- ▶ Report di elaborazione

Esistono altri due tipi di report:

- ▶ **Informational** (Informativo): report relativo alla procedura che fornisce informazioni sullo stato del saggio e può essere utilizzato per confermare il completamento di una determinata fase. Il report fornisce inoltre informazioni come i risultati del controllo qualità e i numeri di ID.
- ▶ **Actionable** (Perseguibile): report asincrono avviato da un evento di sistema o da un'azione dell'utente che richiede l'attenzione dell'utente.

Questa sezione descrive ciascun report e fornisce i dettagli del report per l'integrazione LIMS.

File di output

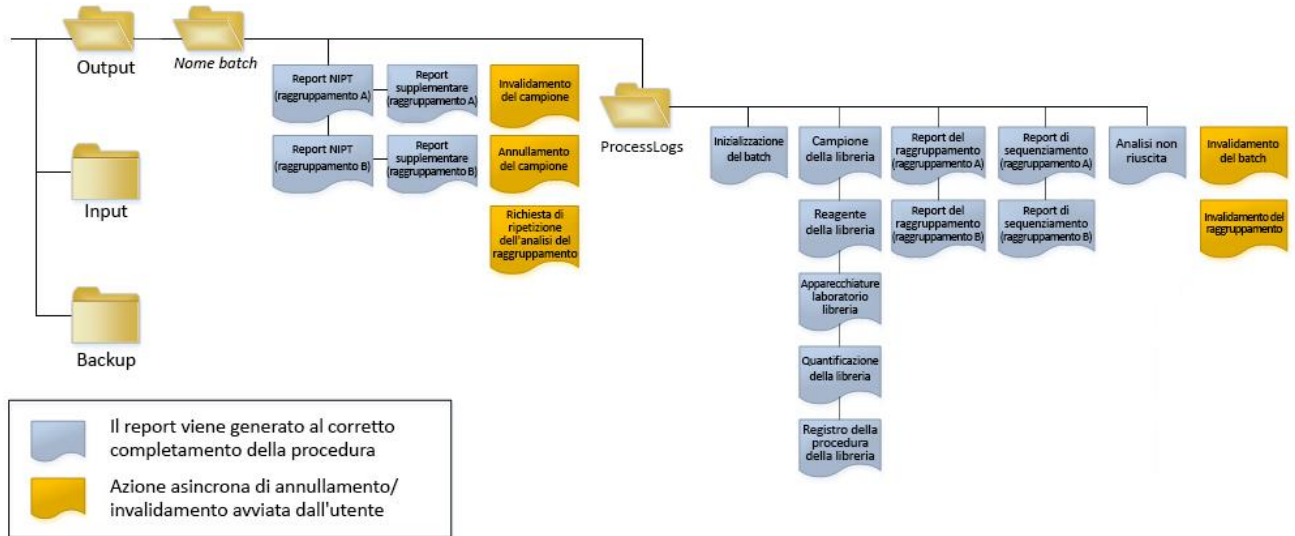
I report di Assay Software vengono generati sul disco rigido di Onsite Server interno mappato al disco dell'utente come una cartella di output di sola lettura. Ciascun report viene generato con un file checksum MD5 corrispondente, che permette di verificare che non siano state apportate modifiche al file.

Tutti i report sono in formato testo formattato delimitato da tabulazioni. I report possono essere aperti con qualsiasi editor di testo o con un programma di dati tabulari, come Microsoft Excel.

Struttura del file dei report

Assay Software salva i report in una determinata struttura nella cartella di output.

Figura 5 Struttura della cartella dei report di Assay Software



Assay Software salva i report nella cartella *Batch Name* (Nome batch) con la seguente organizzazione:

- ▶ **Cartella principale (cartella Batch Name - Nome cartella):** contiene i report che forniscono i risultati o sono associati con le notifiche e-mail generate dal sistema LIMS. Per i dettagli, vedere *Report dei risultati e delle notifiche a pagina 45*.
- ▶ **Cartella ProcessLog (RegistroProcedura):** contiene i report relativi alla procedura. Per i dettagli, vedere *Report di elaborazione a pagina 54*

Un elenco di tutti i report è fornito in *Riepilogo dei report di sistema a pagina 41*.

Riepilogo dei report di sistema

Nome del report	Tipo di report	Entità del report	Formato del nome del file del report
<i>NIPT Report (Report NIPT)</i>	Perseguibile	Raggruppamento/cella a flusso	<nome_batch>_<tipo_pool>_<codice a barre_pool>_<cella a flusso>_report_nipt_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab
<i>Supplementary Report (Report supplementare)</i>	Informativo	Raggruppamento/cella a flusso	<nome_batch>_<tipo_pool>_<codice a barre_pool>_<cella a flusso>_report_supplementare_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab
<i>Sample Invalidation Report (Report di invalidamento del campione)</i>	Perseguibile	Campione	<nome_batch>_<codice a barre_campione>_report_invalidamento_campione_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab
<i>Sample Cancelation Report (Report di annullamento del campione)</i>	Perseguibile	Campione	<nome_batch>_<codice a barre_campione>_report_cancellazione_campione_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab

Nome del report	Tipo di report	Entità del report	Formato del nome del file del report
<i>Pool Retest Request Report (Report richiesta ripetizione test del raggruppamento)</i>	Perseguibile	Pool (Raggruppamento)	<nome_batch>_<tipo_batch>_richiesta_ritest_report_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab
<i>Batch Initiation Report (Report di inizializzazione del batch)</i>	Informativo	Batch	ProcessLogs (Log di elaborazione)/<nome_batch>_report_inizializzazione_batch_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab
<i>Batch Invalidation Report (Report di invalidamento del batch)</i>	Informativo	Batch	ProcessLogs (Log di elaborazione)/<nome_batch>_report_invalidazione_batch_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab
<i>Library Sample Report (Report dei campioni della libreria)</i>	Informativo	Batch	ProcessLogs (Log di elaborazione)/<nome_batch>_report_libreria_campione_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab
<i>Library Reagent Report (Report dei reagenti della libreria)</i>	Informativo	Batch	ProcessLogs (Log di elaborazione)/<nome_batch>_report_libreria_reagente_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab
<i>Library Labware Report (Report sulle apparecchiature di laboratorio della libreria)</i>	Informativo	Batch	ProcessLogs (Log di elaborazione)/<nome_batch>_report_labware_libreria_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab
<i>Library Quant Report (Report di quantificazione della libreria)</i>	Informativo	Batch	ProcessLogs (Log di elaborazione)/<nome_batch>_report_quant_libreria_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab
<i>Library Process Log (Registro elaborazione libreria)</i>	Informativo	Batch	ProcessLogs (Log di elaborazione)/<nome_batch>_registro_processo_libreria.tab
<i>Pool Report (Report sul raggruppamento)</i>	Informativo	Pool (Raggruppamento)	ProcessLogs (Log di elaborazione)/<nome_batch>_<codice a barre_pool>_report_pool_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab
<i>Pool Invalidation Report (Report di invalidamento del raggruppamento)</i>	Informativo	Pool (Raggruppamento)	ProcessLogs (Log di elaborazione)/<nome_batch>_<codice a barre_pool>_report_invalidamento_pool_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab
<i>Sequencing Report (Report di sequenziamento)</i>	Informativo	Raggruppamento/cella a flusso	ProcessLogs (Log di elaborazione)/<nome_batch>_<tipo_pool>_<codice a barre_pool>_<cella a flusso>_report_sequenziamento_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab
<i>Analysis Failure Report (Report di analisi non riuscita)</i>	Informativo	Raggruppamento/cella a flusso	ProcessLogs (Log di elaborazione)/<nome_batch>_<codice a barre_pool>_report_fallimento_analisi_<AAAAMMGG_hhmmss>.tab

Eventi di generazione di report

Report	Descrizione	Evento di generazione
NIPT Report (Report NIPT)	Contiene i risultati finali di una corsa di analisi corretta.	<ul style="list-style-type: none"> L'analisi della corsa di sequenziamento è stata completata.
Supplementary Report (Report supplementare)	Contiene risultati supplementari per una corsa di analisi corretta.	<ul style="list-style-type: none"> Analisi della corsa di sequenziamento e report NIPT entrambi completati.
Sample Invalidation (Invalidamento del campione)	Contiene le informazioni su un campione invalidato.	<ul style="list-style-type: none"> L'utente ha invalidato un campione.
Sample Cancellation (Annullamento del campione)	Contiene le informazioni su un campione annullato.	<ul style="list-style-type: none"> L'utente ha annullato un campione.
Pool Retest Request (Richiesta di ripetizione dell'analisi del raggruppamento)	Indica che può essere generato un secondo raggruppamento da un batch esistente. Contiene informazioni sullo stato del raggruppamento reimpostato. ¹	<ul style="list-style-type: none"> L'utente ha invalidato un raggruppamento.
Batch Initiation (Inizializzazione del batch)	Indica che è stata avviata l'elaborazione di un nuovo batch.	<ul style="list-style-type: none"> L'utente ha avviato un nuovo batch.
Batch Invalidation (Invalidamento del batch)	Contiene informazioni su un batch invalidato dall'utente.	<ul style="list-style-type: none"> Il batch è stato invalidato.
Library Sample (Campione della libreria)	Elenca tutti i campioni nel batch.	<ul style="list-style-type: none"> Il batch è stato invalidato. Il metodo di preparazione delle librerie è stato completato. La quantificazione del batch non è riuscita.
Library Reagent (Reagente della libreria)	Contiene le informazioni sui reagenti per l'elaborazione della libreria.	<ul style="list-style-type: none"> Il batch è stato invalidato. Il metodo di preparazione delle librerie è stato completato. La quantificazione del batch non è riuscita.
Library Labware (Apparecchiature laboratorio libreria)	Contiene le informazioni sulle apparecchiature del laboratorio della libreria.	<ul style="list-style-type: none"> Il batch è stato invalidato. Il metodo di preparazione delle librerie è stato completato. La quantificazione del batch non è riuscita.

Report	Descrizione	Evento di generazione
Library Quant (Quantificazione della libreria)	Contiene i risultati del test della quantificazione della libreria.	<ul style="list-style-type: none"> • Il batch è stato invalidato. • Il metodo di preparazione delle librerie è stato completato. • La quantificazione del batch non è riuscita.
Library Process Log (Registro elaborazione libreria)	Contiene le fasi eseguite durante l'elaborazione della libreria.	<ul style="list-style-type: none"> • Il batch è stato invalidato. • Il metodo di preparazione delle librerie è stato completato. • La quantificazione del batch non è riuscita. • L'elaborazione del batch è stata completata
Pool (Raggruppamento)	Contiene i volumi del raggruppamento dei campioni.	<ul style="list-style-type: none"> • Il metodo di raggruppamento è stato completato.
Pool Invalidation (Invalidamento del raggruppamento)	Contiene le informazioni su un raggruppamento avviato dall'utente e invalidato.	<ul style="list-style-type: none"> • L'utente ha invalidato un raggruppamento.
Sequencing (Sequenziamento)	Contiene i risultati del controllo qualità del sequenziamento.	<ul style="list-style-type: none"> • Il controllo qualità del sequenziamento è stato superato. • Sequenziamento non riuscito. • Timeout del sequenziamento.
Analysis Failure (Analisi non riuscita)	Contiene le informazioni sull'analisi per un raggruppamento non riuscito.	<ul style="list-style-type: none"> • L'analisi della corsa di sequenziamento non è riuscita.

¹ L'utente invalida un raggruppamento da un batch valido che non ha superato il numero massimo di raggruppamenti.

Report dei risultati e delle notifiche

NIPT Report (Report NIPT)

NIPT Report (Report NIPT) per VeriSeq NIPT Assay Software v2 contiene i risultati della classificazione cromosomica formattati come un campione per riga per ciascun campione nel raggruppamento.

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
batch_name (nome_batch)	Nome del batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
sample_barcode (codice a barre_campione)	Il codice a barre univoco del campione.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
sample_type (tipo_campione)	Le informazioni relative al tipo di campione fornito dal punto di raccolta o dall'utente del laboratorio. Determina la presentazione della classificazione delle aneuploidie.	Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> • Singleton (Singola): gravidanza di singolo embrione. • Twin (Gemellare): gravidanza di più embrioni. • Control (Controllo): campione di controllo di sesso noto e classificazione dell'aneuploidia. • NTC (Controllo non templatato): campione di controllo non templatato (non DNA). • Not specified (Non specificato): non è stato fornito l'attributo del tipo di campione per il campione specificato.
sex_chrom (cromosoma_sessuale)	È richiesta l'analisi dei cromosomi sessuali. Determina la presentazione della classificazione delle aneuploidie e delle informazioni sui cromosomi sessuali.	Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> • Yes (Sì): richiesta l'identificazione delle aneuploidie dei cromosomi sessuali e del sesso. • No (No): non richiesta l'identificazione né delle aneuploidie dei cromosomi sessuali né del sesso. • SCA (Aneuploidia del cromosoma sessuale): richiesta l'identificazione delle aneuploidie dei cromosomi sessuali, non richiesta l'identificazione del sesso. • Not specified (Non specificato): non è stata fornita un'opzione di segnalazione dei cromosomi sessuali per questo campione. NIPT Report (Report NIPT) visualizza i valori yes (sì), no (no) e sca (aneuploidia del cromosoma sessuale) tutti con caratteri minuscoli.
screen_type (tipo di screening)	Tipo di screening.	Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> • Basic (Di base): screening dei cromosomi 13, 18 o 21. • Genomewide (Intero genoma): screening dell'intero genoma. • Not specified (Non specificato): non è stato fornito l'attributo per il tipo di screening per il campione specificato. NIPT Report (Report NIPT) visualizza i valori basic (di base) e genomewide (intero genoma) tutti con caratteri minuscoli.
flowcell (cella a flusso)	Il codice a barre della cella a flusso di sequenziamento	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
class_sx (classe_ sessuale)	Classificazione del cromosoma sessuale per l'aneuploidia.	<p>Uno dei seguenti valori in base al tipo di campione e alle opzioni di segnalazione dei cromosomi sessuali selezionate:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ANOMALY DETECTED (Rilevata anomalia): è stata rilevata un'anomalia nei cromosomi sessuali. • NO ANOMALY DETECTED (Nessuna anomalia rilevata): non sono stati riportati campioni negativi e sessuali. • NO ANOMALY DETECTED – XX (Nessuna anomalia rilevata - XX): campione negativo con un feto femmina. • NO ANOMALY DETECTED – XY (Nessuna anomalia rilevata - XY): campione negativo con un feto maschio. • NOT REPORTABLE (Non riportabili): il software non è stato in grado di riportare cromosomi sessuali. • NO CHR Y PRESENT (Non è presente un cromosoma Y): nella gravidanza gemellare non è stato rilevato alcun cromosoma Y. • NO CHR X PRESENT (Non è presente un cromosoma X): nella gravidanza gemellare non è stato rilevato alcun cromosoma X. • CANCELLED (Annullato): il campione è stato annullato dall'utente. • INVALIDATED (Invalidato): il campione non ha superato il controllo qualità o è stato invalidato dall'utente. • NOT TESTED (Non testato): il cromosoma sessuale non è stato testato. • NA (NA): la categoria non è applicabile al campione.
class_auto	Classificazione delle aneuploidie negli autosomi. Segnalato come ANOMALY DETECTED (Anomalia rilevata) se è stata rilevata un'anomalia all'interno del tipo di screening selezionato per il campione.	<p>Uno dei seguenti:</p> <ul style="list-style-type: none"> • ANOMALY DETECTED (Rilevata anomalia): è stata rilevata un'anomalia nei cromosomi autosomici. • NO ANOMALY DETECTED (Nessuna anomalia rilevata): non è stata rilevata alcuna anomalia nei cromosomi autosomici. • CANCELLED (Annullato): il campione è stato annullato dall'utente. • INVALIDATED (Invalidato): il campione non ha superato il controllo qualità o è stato invalidato dall'utente. • NA (NA): la categoria non è applicabile al campione.
anomaly_ description (descrizione_ anomalia)	Stringa in stile ISCN che descrive tutte le anomalie refertabili. Anomalie multiple sono separate da punto e virgola.	<p>DETECTED (Rilevato): seguito da stringhe separate da punto e virgola (fare riferimento a <i>Regole descrittive dell'anomalia a pagina 48</i>).</p> <p>o NO ANOMALY DETECTED NA INVALIDATED CANCELLED (NESSUNA ANOMALIA RILEVATA NA INVALIDATA ANNULLATA).</p>
qc_flag (indicatore_ controllo qualità)	I risultati dell'analisi di controllo qualità. Solo i valori qc_flag dei risultati dei report WARNING (Avvertenza) e PASS (Superato). Non tutti gli altri valori.	<p>Uno dei seguenti:</p> <ul style="list-style-type: none"> • PASS (Superato) • WARNING (Avvertenza) • FAIL (Non superato) • CANCELLED (Annullato) • INVALIDATED (Invalidato) • NTC_PASS (NTC non superato)

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
qc_reason (motivo_qc)	Informazioni sulla mancata riuscita del controllo qualità o di avvertenza.	<p>Uno dei seguenti:</p> <ul style="list-style-type: none"> • NONE (Nessuno) (stato controllo qualità = superato) • MULTIPLE ANOMALIES DETECTED (Rilevate più anomalie) (stato controllo qualità = avvertenza) • FAILED iFACT (iFACT non riuscito) • DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Dati fuori dall'intervallo previsto) • FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Distribuzione della dimensione del frammento fuori dall'intervallo previsto) • FLOWCELL DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Dati della cella a flusso fuori dall'intervallo previsto) • FAILED TO ESTIMATE FETAL FRACTION (Stima della frazione fetale non riuscita) • SEQUENCING DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Dati di sequenziamento fuori dall'intervallo previsto) • UNEXPECTED DATA (Dati non previsti) • NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (Campione di controllo non templato con elevata copertura) • CANCELLED (Annullato) • INVALIDATED (Invalidato)
ff (frazione fetale)	La frazione fetale stimata.	Percentuale di cfDNA del campione dal feto arrotondato al numero intero più vicino. Risultati inferiori all'1% sono presentati come < 1%.

Regole descrittive dell'anomalia

Se l'analisi di VeriSeq NIPT Assay Software v2 identifica un'anomalia, il campo anomaly_description nel Report NIPT visualizza il valore DETECTED seguito da una stringa di testo. Questo testo descrive tutte le anomalie refertabili in base allo stile International Standing Committee on Cytogenetic Nomenclature (ISCN). La stringa contiene più elementi separati da un punto e virgola. Ciascun elemento rappresenta una trisomia o monosomia in un autosoma, un'aneuploidia cromosomica sessuale o un'eliminazione o duplicazione parziale. Gli elementi trisomici e monosomici vengono annotati rispettivamente con +<chr> e -<chr>, dove <chr> rappresenta il numero del cromosoma.

Ad esempio, un campione con una trisomia sul cromosoma 5 viene visualizzato come segue:

+5

Un campione con una monosomia sul cromosoma 6 viene visualizzato come segue:

-6

Le aneuploidie cromosomiche sessuali adottano l'annotazione standard, con quattro valori possibili:

- ▶ XO - per la monosomia sul cromosoma X.
- ▶ XXX - per la trisomia sul cromosoma X.
- ▶ XXY - per 2 cromosomi X nei maschi.
- ▶ XYY - per 2 cromosomi Y nei maschi.

Le eliminazioni o duplicazioni parziali vengono segnalate soltanto per gli autosomi e vengono visualizzate soltanto negli screening dell'intero genoma. La sintassi di un'eliminazione o duplicazione parziale è <tipo>(<crom>)(<banda inizio><banda fine>), dove:

- ▶ <tipo> è il tipo di evento, del per l'eliminazione o dup per la duplicazione.
- ▶ <crom> è il numero del cromosoma.
- ▶ <banda inizio> è la citobanda che contiene l'inizio dell'evento.
- ▶ <banda fine> è la citobanda che contiene la fine dell'evento.

Ad esempio, un'eliminazione o duplicazione parziale in cui la citobanda tra p14 e q15 sul cromosoma 22 ha una duplicazione viene visualizzata come segue:

dup (22) (p14q15)

Il campo anomaly_description (anomalia_descrizione) segue tre regole di ordinamento:

- 1 Gli elementi sono ordinati per numero di cromosoma, a prescindere dal fatto che si tratti di un cromosoma intero o da un'eliminazione o duplicazione parziale. Un'aneuploidia cromosomica sessuale, se presente, appare per ultima.
- 2 Per le eliminazioni e duplicazioni parziali all'interno dello stesso cromosoma, le eliminazioni vengono prima delle duplicazioni.
- 3 Le eliminazioni e duplicazioni parziali dello stesso tipo all'interno dello stesso cromosoma vengono ordinate in base alla base di partenza, che viene visualizzata nel Report supplementare.

Messaggi sul motivo del controllo di qualità

La colonna qc_reason nel Report NIPT visualizza un controllo di qualità non riuscito o un avviso di controllo di qualità quando i risultati dell'analisi non rientrano nell'intervallo previsto per la metrica di un controllo di qualità analitico. Il mancato superamento del controllo qualità provoca la soppressione completa dei risultati per aneuploidia cromosomica, classificazione sessuale, risultati supplementari del report e frazione fetale stimata, che corrispondono ai seguenti campi in NIPT Report (Report NIPT): class_auto (classe_automatico), class_sx (classe_sessuale), anomaly_description (descrizione_anomalia) e ff (frazione fetale).

Messaggio sul motivo del controllo di qualità	Descrizione	Intervento raccomandato
FAILED iFACT (iFACT non riuscito)	individual Fetal Aneuploidy Confidence Test (iFACT) (test di sicurezza fetale delle aneuploidie individuale - iFACT): le metriche di controllo qualità che combinano la stima della frazione fetale con le metriche della corsa associate con la copertura per determinare se il sistema garantisce l'attendibilità statistica per eseguire un'identificazione su un dato campione.	Rielaborare il campione
DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Dati fuori dall'intervallo previsto)	La deviazione media dalla copertura euploide non è coerente con la distribuzione prevista dei dati. Probabilmente causata dalla contaminazione o dall'elaborazione non corretta del campione.	Rielaborare il campione
FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Distribuzione della dimensione del frammento fuori dall'intervallo previsto)	La distribuzione delle dimensioni del frammento non è coerente con la distribuzione prevista dei dati. Probabilmente causata dalla contaminazione o dall'elaborazione non corretta del campione.	Rielaborare il campione
FLOWCELL DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Dati della cella a flusso fuori dall'intervallo previsto)	I dati della cella a flusso non sono coerenti con la distribuzione prevista dei dati. Probabilmente causato da un errore nella configurazione della cella a flusso.	Rielaborare il campione
FAILED TO ESTIMATE FETAL FRACTION (Stima della frazione fetale non riuscita)	Impossibile produrre una stima valida della frazione fetale.	Rielaborare il campione
SEQUENCING DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Dati di sequenziamento fuori dall'intervallo previsto)	I dati di sequenziamento di ingresso non sono coerenti con la distribuzione prevista dei dati. Probabilmente causata dalla contaminazione o dall'elaborazione non corretta del campione.	Risequenziare la cella a flusso.
UNEXPECTED DATA (Dati non previsti)	Il report genera un problema di controllo di qualità che non corrisponde a nessun altro dei motivi di controllo di qualità elencati in questa tabella.	Contattare l'Assistenza Tecnica Illumina.

Messaggio sul motivo del controllo di qualità	Descrizione	Intervento raccomandato
MULTIPLE ANOMALIES DETECTED (Rilevate anomalie)	Almeno due anomalie segnalabili (incluse aneuploidie di cromosomi interi ed eliminazioni o duplicazioni parziali) vengono rilevate nel campione. Il rilevamento di più anomalie può indicare una cattiva gestione del campione o un evento più raro, come una malignità materna. Questo messaggio è un'avvertenza. Non indica un controllo di qualità non riuscito. I risultati vengono segnalati affinché sia possibile vedere le anomalie rilevate. È tuttavia possibile che occorra rielaborare il campione.	Rielaborare il campione
NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (Campione di controllo non templato con elevata copertura)	Rilevata elevata copertura di un campione NTC (non è previsto materiale di DNA). Probabilmente causata dalla contaminazione o dall'elaborazione non corretta del campione.	Rielaborare il campione
CANCELLED (Annullato)	Il campione è stato annullato dall'utente.	Non applicabile.
INVALIDATED (Invalidato)	Il campione è stato invalidato da un utente.	Non applicabile.

Supplementary Report (Report supplementare)

Supplementary Report (Report supplementare) contiene dati relativi a metriche aggiuntive basate su batch, campione o regione. In questo report, ad ogni riga corrisponde una metrica. Allo stesso batch, campione o regione è possibile applicare più metriche.

Il file separato da tab contiene sei colonne, come descritto nella tabella di seguito.

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
flowcell (cella a flusso)	Codice a barre della cella a flusso.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
batch_name (nome_batch)	Nome del batch in questione.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
sample_barcode (codice a barre campione)	Codice a barre del campione.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino. NA (non applicabile) alla metrica per batch.
region (regione)	L'intero cromosoma o una descrizione della regione interessata dalla parziale delezione o duplicazione.	Per le metriche delle regioni del cromosoma, chr (crom.) e il numero del cromosoma (ad esempio, chr21). Le metriche per le regioni delle delezioni o duplicazioni parziali sono mostrata come indicato in <i>Regole descrittive dell'anomalia a pagina 48</i> NA (non applicabile) alla metrica per batch o per campione.
metric_name (nome_metrica)	Nome della metrica descritta.	<i>Consultare Metrica del Supplementary Report (Report supplementare).</i>

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
metric_value (valore_mertica)	Valore della metrica.	Consultare <i>Metrica del Supplementary Report (Report supplementare)</i> .

Metrica del Supplementary Report (Report supplementare)

Il Supplementary Report (Report supplementare) contiene dati per le seguenti metriche. Ciascuna metrica viene visualizzata su base di singolo batch, singolo campione o singola regione.

Le metriche per il cromosoma X vengono visualizzate solo se si selezionano le opzioni Yes (Sì) o SCA (Aneuploidia del cromosoma sessuale) del cromosoma sessuale.

Gli intervalli di valori vengono visualizzati come Valore minimo, Valore massimo, tra parentesi quadre o tonde. Le parentesi tonde indicano che Inf è l'abbreviazione utilizzata per l'infinito.

Nome metrico	Frequenza	Descrizione
genome_ assembly (assemblaggio_ genoma)	Per batch	Il sistema di coordinate per l'allineamento dei dati di sequenziamento e delle coordinate della regione del report. Sempre GRCh37 per VeriSeq NIPT Solution v2.
frag_size_dist (distribuzione_ dimensione_ frammento)	Per campione	Deviazione standard delle differenze tra le distribuzioni della dimensione del frammento cumulativo effettive e previste.
fetal_fraction (frazione_fetale)	Per campione	Frazione fetale segnalata.
NCV_X	Per campione	Il valore cromosomico normalizzato per il cromosoma X. Viene visualizzato solo se l'opzione di segnalazione del cromosoma sessuale lo consente. Altrimenti, questa metrica risulta NOT TESTED (NON TESTATA).
NCV_Y	Per campione	Il valore cromosomico normalizzato per il cromosoma Y. Viene visualizzato solo se l'opzione di segnalazione del cromosoma sessuale lo consente. Altrimenti, questa metrica risulta NOT TESTED (NON TESTATA).
number_of_cnv_ events (numero_di_ eventi_cnv)	Per campione	Il numero delle regioni con delezione o duplicazione parziale rilevate in un campione.
non_excluded_ sites (siti_non_ esclusi)	Per campione	Il numero di letture restanti dopo aver filtrato quelle conteggiate per l'analisi.
region_ classification (classificazione_ regioni)	Per regione	Classificazione della regione da parte del sistema nello stesso formato del campo anomaly_description (descrizione_anomalia) nel report NIPT. Per il cromosoma X, se non è stata rilevata alcuna anomalia nei cromosomi sessuali, la classificazione della regione corrisponde al valore di class_sx nel NIPT Report. Opzioni valore: <ul style="list-style-type: none"> • DETECTED (Rilevato): seguito da stringhe separate da punto e virgola (fare riferimento a <i>Regole descrittive dell'anomalia a pagina 48</i>). • NO ANOMALY DETECTED (NESSUNA ANOMALIA RILEVATA) • NO ANOMALY DETECTED - XX (NESSUNA ANOMALIA RILEVATA - XX) • NO ANOMALY DETECTED - XY (NESSUNA ANOMALIA RILEVATA - XY) • NOT REPORTABLE (NON RIPORTABILE) • CHR Y PRESENT (CROM. Y PRESENTE) • CHR Y PRESENT (CROM. Y NON PRESENTE)

Nome metrico	Frequenza	Descrizione
chromosome (cromosoma)	Per regione	Il simbolo del cromosoma.
start_base (base_inizio)	Per regione	Prima base inclusa nella regione.
end_base (base_fine)	Per regione	Ultima base inclusa nella regione.
start_cytoband (inizio_citobanda)	Per regione	La banda citogenetica della prima base inclusa nella regione.
end_cytoband (fine_citobanda)	Per regione	La banda citogenetica dell'ultima base inclusa nella regione.
region_size_mb (regione_dimensioni_mb)	Per regione	Le dimensioni della regione in megabase.
region_llr_trisomy (regione_llr_trisomia)	Per regione	Il punteggio LLR (rapporto di log-verosimiglianza) per la trisomia per la regione. Indica l'evidenza di trisomia rispetto all'evidenza di nessun cambiamento (disomia). Viene indicata una trisomia se questo punteggio LLR supera una soglia prestabilita. Per eliminazioni e duplicazioni parziali, questa metrica viene visualizzata soltanto se il tipo è un guadagno (dup). Altrimenti, questa metrica viene visualizzata come NA (non applicabile).
region_llr_monosomy (regione_llr_monosomia)	Per regione	Il punteggio LLR per la monosomia per la regione. Indica l'evidenza di monosomia rispetto all'evidenza di nessun cambiamento (disomia). Viene indicata una monosomia se questo punteggio LLR supera una soglia prestabilita. Per eliminazioni e duplicazioni parziali, questa metrica viene visualizzata soltanto se il tipo è una perdita (del). Altrimenti, questa metrica viene visualizzata come NA (non applicabile). Questa metrica viene visualizzata come NOT TESTED (NON TESTATA) se si sceglie di eseguire il tipo di screening di base.
region_t_stat_long_reads (letture_lunghe_statistiche_t_regione)	Per regione	La statistica t per la regione. La statistica t è la differenza nella copertura tra la regione e il resto del genoma, rispetto alla variazione presente nel campione. Si tratta di una metrica segnale-rumore che acquisisce la rilevabilità di eventuali scostamenti della copertura nella regione. "long_reads" indica che la copertura utilizzata per questa statistica t include l'intervallo completo di dimensioni di frammenti utilizzati nell'analisi. La statistica t è unita alla frazione fetale stimata per il campione per generare i punteggi LLR.
region_mosaic_ratio (rapporto_mosaicismo_regione)	Per regione	La proporzione di materiale fetale che è aneuploide. Questa metrica si basa sul rapporto tra la frazione fetale desunta dalla copertura della regione e la frazione fetale per il campione. Nei campioni con frazioni fetali vicine allo zero, i rapporti di mosaicismo possono adottare valori negativi a causa della variabilità nella stima della frazione fetale del campione utilizzato nel loro calcolo.
region_mosaic_llr_trisomy (trisomia_llr_mosaicismo_regione)	Per regione	Il rapporto LLR per la trisomia calcolato utilizzando la frazione fetale desunta dalla copertura nella regione anziché la frazione fetale per il campione. Per eliminazioni e duplicazioni parziali, questa metrica viene visualizzata soltanto se il tipo è un guadagno (dup). Altrimenti, questa metrica viene visualizzata come NA (non applicabile).
region_mosaic_llr_monosomy (monosomia_llr_mosaicismo_regione)	Per regione	Il rapporto LLR per la monosomia calcolato utilizzando la frazione fetale desunta dalla copertura nella regione anziché la frazione fetale per il campione. Per eliminazioni e duplicazioni parziali, questa metrica viene visualizzata soltanto se il tipo è una perdita (del). Altrimenti, questa metrica viene visualizzata come NA (non applicabile). Questa metrica viene visualizzata come NOT TESTED (NON TESTATA) se si sceglie di eseguire il tipo di screening di base.

Sample Invalidation Report (Report di invalidamento del campione)

Il sistema genera un Sample Invalidation Report (Report di invalidamento del campione)

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
batch_name (nome_batch)	Nome del batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
sample_barcode (codice a barre_campione)	Il codice a barre univoco del campione invalidato.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
reason (motivo)	Il motivo fornito dall'utente per l'invalidamento del campione.	Fino a 512 caratteri.
operator (operatore)	Il nome utente dell'operatore che ha invalidato il campione o che non ha portato a termine l'analisi del campione.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
timestamp	Data e ora dell'invalidamento del campione	timestamp ISO 8601

Sample Cancelation Report (Report di annullamento del campione)

Il sistema genera un Sample Cancelation Report (Report di annullamento del campione) per ciascun campione annullato.

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
batch_name (nome_batch)	Nome del batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
sample_barcode (codice a barre_campione)	Il codice a barre univoco del campione annullato.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
reason (motivo)	Il motivo fornito dall'utente per l'annullamento del campione.	Fino a 512 caratteri.
operator (operatore)	Il nome utente dell'operatore che ha annullato il campione.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
timestamp	Data e ora dell'annullamento del campione.	timestamp ISO 8601

Pool Retest Request Report (Report richiesta ripetizione test del raggruppamento)

Il Pool Retest Request Report (Report richiesta ripetizione test del raggruppamento) indica che è possibile nuovamente raggruppare un raggruppamento invalidato. Il sistema genera un report Pool Retest Request (Richiesta ripetizione test del raggruppamento) quando le prime due possibili corse di sequenziamento (raggruppamenti) per quel tipo di raggruppamento sono invalidate.

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
batch_name (nome_batch)	Nome del batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
pool_type (tipo_raggruppamento)	Il tipo del raggruppamento.	Uno di A, B, C o E.

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
reason (motivo)	Motivo fornito dall'utente per l'invalidamento del raggruppamento precedente.	Fino a 512 caratteri.
timestamp	La data e l'ora della richiesta.	timestamp ISO 8601

Report di elaborazione

Batch Initiation Report (Report di inizializzazione del batch)

Il sistema genera un Batch Initiation Report (Report di inizializzazione del batch) quando viene avviato e convalidato un batch prima dell'isolamento del plasma.

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
batch_name (nome_batch)	Nome del batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
sample_barcode (codice a barre_campione)	Il codice a barre univoco del campione.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
sample_type (tipo_campione)	Il tipo di campione del codice a barre del campione.	<ul style="list-style-type: none"> • singleton (singola) • control (controllo) • twin (gemellare) • ntc (controllo non templatato)
well (pozzetto)	Il pozzetto associato a un campione.	A-H seguito da un numero 1-12.
assay (saggio)	Il nome del saggio.	Fino a 100 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
method_version (versione_metodo)	La versione del metodo di automazione del saggio.	Fino a 100 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio, punto o trattino.
workflow_manager_version (versione_workflow_manager)	La versione di Workflow Manager associata al batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio, punto o trattino.

Batch Invalidation Report (Report di invalidamento del batch)

Il sistema genera un Batch Invalidation Report (Report di invalidamento del batch) quando il batch viene invalidato o non riesce.

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
batch_name (nome_batch)	Nome del batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
reason (motivo)	Il motivo fornito dall'utente per l'invalidamento del batch.	Fino a 512 caratteri.
operator (operatore)	Le iniziali dell'operatore che ha invalidato il batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
timestamp	La data e ora dell'invalidamento del batch.	timestamp ISO 8601

Library Sample Report (Report dei campioni della libreria)

Il sistema genera un Library Sample Report (Report dei campioni della libreria) quando il batch non viene portato a termine correttamente o viene invalidato, al completamento corretto della libreria e al completamento corretto della quantificazione.

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
batch_name (nome_batch)	Nome del batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
sample_barcode (codice a barre_campione)	Il codice a barre univoco del campione.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
qc_status (stato_qc)	Stato del campione dopo il completamento delle fasi del saggio.	<ul style="list-style-type: none"> pass (superato) fail (non superato)
qc_reason (motivo_qc)	Motivo per lo stato del controllo qualità.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
starting_volume (volume_iniziale)	Volume iniziale della provetta di raccolta del sangue in ml al momento dell'isolamento del plasma.	Qualsiasi numero positivo.
index (indice)	Indice associato a un campione.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
ccn_library_pg_μl (concentrazione_libreria_pg_μl)	Concentrazione della libreria in pg/μl.	Qualsiasi numero positivo.
plasma_isolation_comments (commenti_isolamento_plasma)	Commenti dell'utente quando si esegue l'isolamento del plasma (testo libero).	Fino a 512 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattini bassi, spazi o trattini.
cfdna_extraction_comments (commenti_estrazione_cfdna)	Commenti dell'utente quando si esegue l'estrazione del cfDNA (testo libero).	Fino a 512 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattini bassi, spazi o trattini.
library_prep_comments (commenti_preparazione_librerie)	Commenti dell'utente quando si esegue la preparazione delle librerie (testo libero).	Fino a 512 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattini bassi, spazi o trattini.
quantitation_comments (commenti_quantificazione)	Commenti dell'utente quando si esegue la quantificazione (testo libero).	Fino a 512 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattini bassi, spazi o trattini.

Library Reagent Report (Report dei reagenti della libreria)

Il sistema genera un Library Sample Report (Report dei campioni della libreria) quando il batch non viene portato a termine correttamente o invalidato, al completamento corretto della libreria e al completamento corretto della quantificazione.

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
batch_name (nome_batch)	Nome del batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
process (procedura)	Nome della procedura del batch, nel formato PROCESSO:sotto-processo.	<ul style="list-style-type: none"> • ISOLATION (Isolamento): batch_validation (convalida_batch), prespin (pre-centrifuga), postspin (post-centrifuga), data_transact (transazione_dati) • EXTRACTION (Estrazione): setup (impostazione), chemistry (chimica), data_transact (transazione_dati) • LIBRARY (Librerie): setup (impostazione), chemistry (chimica), data_transact (transazione_dati), complete (completo) • QUANT (Quantificazione): setup (impostazione), build_standards (build_standard), build_384 (build_384), analysis (analisi), data_transact (transazione_dati) • POOLING (Raggruppamento): analysis (analisi), setup (impostazione), pooling (raggruppamento), data_transact (transazione_dati), complete (completo)
reagent_name (nome_reagente)	Nome reagente.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
lot (lotto)	Codice a barre del reagente.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
expiration_date (data_scadenza)	Data di scadenza nel formato del produttore.	Fino a 100 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio, due punti, barra inclinata o trattino.
operator (operatore)	Nome utente dell'operatore.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
initiated (avviato)	Timestamp di avvio associato al reagente.	timestamp ISO 8601

Library Labware Report (Report sulle apparecchiature di laboratorio della libreria)

Il sistema genera un Library Labware Report (Report sulle apparecchiature di laboratorio della libreria) alla mancata riuscita o convalida del batch, al completamento corretto della libreria e al completamento corretto della quantificazione.

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
batch_name (nome_batch)	Nome del batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
labware_name (nome_apparecchiatura_laboratorio)	Il nome dell'apparecchiatura di laboratorio.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
labware_barcode (codice a barre_apparecchiatura laboratorio)	Il codice a barre dell'apparecchiatura di laboratorio.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
initiated (avviato)	Il timestamp di avvio associato all'apparecchiatura di laboratorio.	timestamp ISO 8601

Library Quant Report (Report di quantificazione della libreria)

Al completamento corretto della quantificazione, il sistema genera un Library Quant Report (Report di quantificazione della libreria).

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
batch_name (nome_batch)	Nome del batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
quant_id (id_quantificazione)	Identificazione numerica.	Numeri positivi.
instrument (strumento)	Nome dello strumento di quantificazione (testo libero).	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
standard_r_squared (r_standard_al quadrato)	R al quadrato.	Qualsiasi numero positivo.
standard_intercept (intercetta_standard)	Intercetta.	Qualsiasi numero.
standard_slope (pendenza_standard)	Pendenza.	Qualsiasi numero.
median_ccn_pg_ul (concentrazione_media_pg_ul)	Concentrazione media del campione.	Qualsiasi numero positivo.
qc_status (stato_qc)	Stato del controllo qualità relativo alla quantificazione.	<ul style="list-style-type: none"> • pass (superato) • fail (non superato)
qc_reason (motivo_qc)	Descrizione del motivo della mancata riuscita, se presente.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
initiated (avviato)	Timestamp di avvio associato alla quantificazione.	timestamp ISO 8601

Library Process Log (Registro elaborazione libreria)

Il sistema genera un Library Process Log (Registro elaborazione libreria) all'avvio e al completamento o al mancato superamento di ciascuna elaborazione del batch; al mancato superamento o convalida del batch; al completamento dell'analisi (generato per raggruppamento).

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
batch_ name (nome_ batch)	Nome del batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
process (procedura)	Nome della procedura, nel formato PROCESSO:sotto-processo.	ISOLATION (Isolamento): batch_validation (convalida_batch), prespin (pre-centrifuga), postspin (post-centrifuga), data_transact (transazione_dati) EXTRACTION (Estrazione): setup (impostazione), chemistry (chimica), data_transact (transazione_dati) LIBRARY (Librerie): setup (impostazione), chemistry (chimica), data_transact (transazione_dati), complete (completo) QUANT (Quantificazione): setup (impostazione), build_standards (build_standard), build_384 (build_384), analysis (analisi), data_transact (transazione_dati) POOLING (Raggruppamento): analysis (analisi), setup (impostazione), pooling (raggruppamento), data_transact (transazione_dati), complete (completo)
operator (operatore)	Iniziali dell'operatore.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
instrument (strumento)	Nome dello strumento.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
started (avviato)	Data e ora dell'avvio dell'elaborazione del batch.	timestamp ISO 8601
finished (terminato)	Data e ora del completamento o della mancata riuscita dell'elaborazione del batch.	timestamp ISO 8601
status (stato)	Batch attuale.	<ul style="list-style-type: none"> • completed (completato) • failed (fallito) • started (avviato) • aborted (interrotto)

Pool Report (Report sul raggruppamento)

Il sistema genera un Pool Report (Report sul raggruppamento) in caso di completamento corretto della libreria, batch non riuscito e batch invalidato se l'evento si verifica dopo l'avvio del raggruppamento.

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
batch_name (nome_batch)	Nome del batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
sample_barcode (codice a barre_campione)	Il codice a barre univoco del campione.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
pool_barcode (codice a barre_raggruppamento)	Il codice a barre del raggruppamento associato a un campione	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
pool_type (tipo_raggruppamento)	Il tipo di raggruppamento associato a un campione.	Uno di A, B, C o E.
pooling_volume_μl (volume_μl_raggruppamento)	Il volume in μl del raggruppamento.	Qualsiasi numero positivo.
pooling_comments (commenti_raggruppamento)	I commenti dell'utente quando si esegue il raggruppamento (testo libero).	Fino a 512 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.

Pool Invalidation Report (Report di invalidamento del raggruppamento)

Il sistema genera un Pool Invalidation Report (Report di invalidamento del raggruppamento) quando il raggruppamento viene invalidato.

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
batch_name (nome_batch)	Nome del batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
pool_barcode (codice a barre_raggruppamento)	Il codice a barre del raggruppamento invalidato.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
reason (motivo)	Il motivo fornito dall'utente per l'invalidamento del raggruppamento.	Fino a 512 caratteri.
operator (operatore)	Le iniziali dell'operatore che ha invalidato il raggruppamento.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
timestamp	Data e ora dell'invalidamento del raggruppamento.	timestamp ISO 8601

Sequencing Report (Report di sequenziamento)

Il sistema genera un Sequencing Report (Report di sequenziamento) per la corsa di sequenziamento al termine del sequenziamento o al timeout del sequenziamento.

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
batch_name (nome_batch)	Nome del batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
pool_barcode (codice a barre_raggruppamento)	Il codice a barre del raggruppamento associato con la corsa di sequenziamento	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
instrument (strumento)	Il numero di serie del sequenziatore.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
flowcell (cella a flusso)	La cella a flusso associata alla corsa di sequenziamento.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
software_version (versione_software)	L'insieme di applicazione/versione del software utilizzato per generare i dati sul sequenziatore.	Fino a 100 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio, due punti, barra inclinata o trattino.
run_folder (cartella_corsa)	Il nome della cartella della corsa di sequenziamento.	Caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
sequencing_status (stato_sequenziamento)	Lo stato della corsa di sequenziamento.	<ul style="list-style-type: none"> • completed (completato) • timed out (scaduto) • failed (fallito)
qc_status (stato_qc)	Lo stato del controllo qualità della corsa di sequenziamento.	<ul style="list-style-type: none"> • pass (superato) • fail (non superato) • error (errore)
qc_reason (motivo_qc)	I motivi della mancata riuscita del controllo qualità, valori separati dal punto e virgola.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso, spazio o trattino.
cluster_density (densità_cluster)	La densità dei cluster (mediana per la cella a flusso sulle tile).	Qualsiasi numero positivo.
pct_q30 (percentuale_q30)	La percentuale di basi che superano il punteggio qualitativo di Q30.	Qualsiasi numero positivo.
pct_pf (percentuale_attraversano il filtro)	La percentuale di letture che attraversano il filtro.	Qualsiasi numero positivo.
phasing (determinazione delle fasi)	La determinazione delle fasi.	Qualsiasi numero positivo.
prephasing (predeterminazione delle fasi)	La predeterminazione delle fasi.	Qualsiasi numero positivo.
predicted_aligned_reads (letture_allineate_previste)	Letture allineate previste.	Qualsiasi numero positivo.
started (avviato)	Il timestamp associato all'avvio del sequenziamento.	timestamp ISO 8601
completed (completato)	Il timestamp associato al completamento del sequenziamento.	timestamp ISO 8601

Analysis Failure Report (Report di analisi non riuscita)

Il sistema genera un Analysis Failure Report (Report di analisi non riuscita) quando l'analisi per la corsa di sequenziamento non viene completata entro il numero massimo di tentativi consentito.

Colonna	Descrizione	Opzioni valore
batch_name (nome_batch)	Nome del batch.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
pool_barcode (codice a barre_raggruppamento)	Il codice a barre del raggruppamento con l'analisi non riuscita.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
flowcell (cella a flusso)	Il codice a barre della cella a flusso associato con l'analisi non riuscita.	Fino a 36 caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli, trattino basso o trattino.
sequencing_run_folder (cartella_corsa_sequenziamento)	La cartella della corsa di sequenziamento associata all'analisi non riuscita.	Caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli o trattino basso.
analysis_run_status (stato_analisi_corsa)	Lo stato della corsa di sequenziamento associato all'analisi non riuscita.	Caratteri alfanumerici maiuscoli e minuscoli o trattino basso.
timestarted (momento dell'avvio)	Il timestamp associato all'avvio dell'analisi.	timestamp ISO 8601
timefinished (momento dell'arresto)	Il timestamp associato all'arresto dell'analisi.	timestamp ISO 8601

Appendice C Risoluzione dei problemi

Introduzione	62
Notifiche di Assay Software	63
Problemi del sistema	72
Test dell'elaborazione dei dati	72

Introduzione

L'assistenza alla risoluzione dei problemi per VeriSeq NIPT Solution v2 comprende:

- ▶ Le notifiche di sistema e di Assay Software
- ▶ Gli interventi raccomandati per eventuali problemi del sistema
- ▶ Le istruzioni su come eseguire analisi preventive e di mancata riuscita utilizzando i dati dei test preinstallati

Notifiche di Assay Software

Questa sezione descrive le notifiche di Assay Software:

Notifiche di stato

Le notifiche di stato indicano il normale stato di esecuzione del saggio. Queste notifiche sono registrate come "Activities" (Attività) e non richiedono alcuna azione da parte dell'utente.

Notifica	Fase	Quando	Livello avviso	E-mail	Intervento raccomandato
Batch Initiation (Inizializzazione del batch)	Preparazione delle librerie	L'utente ha creato un nuovo batch.	Attività	Sì	Non applicabile.
Batch Library Complete (Libreria completata per il batch)	Preparazione delle librerie	È stata completata la libreria per il batch attuale.	Attività	No	Non applicabile.
Pool Complete (Raggruppamento completato)	Preparazione delle librerie	È stato generato il raggruppamento da un batch.	Attività	No	Non applicabile.
Sequencing Started (Sequenziamento avviato)	Sequenziamento	Il sistema ha rilevato una nuova cartella dei dati del sequenziamento.	Attività	No	Non applicabile.
Sequencing QC passed (Controllo qualità del sequenziamento superato)	Sequenziamento	La corsa di sequenziamento è stata completata e la verifica del controllo qualità del sequenziamento è stata superata.	Attività	No	Non applicabile.
Sequencing Run Associated With Pool (Corsa di sequenziamento associata al raggruppamento)	Sequenziamento	La corsa di sequenziamento è stata associata correttamente a un raggruppamento noto.	Attività	No	Non applicabile.
Analysis Started (Analisi avviata)	Analisi	L'analisi è stata avviata per la corsa di sequenziamento selezionata.	Attività	Sì	Non applicabile.
Analysis Completed NIPT Report Generated (Analisi completata e report NIPT generato)	Post-analisi	L'analisi è stata completata e il report è stato generato.	Attività	Sì	Non applicabile.

Notifiche di invalidamento

Le notifiche di invalidamento indicano eventi che si verificano nel sistema nel momento in cui un utente invalida un batch o un raggruppamento mediante Workflow Manager. Queste notifiche sono registrate come "Notices" (Avvisi) e non richiedono alcuna azione da parte dell'utente.

Notifica	Fase	Quando	Livello avviso	E-mail	Intervento raccomandato
Batch Invalidation (Invalidamento del batch)	Preparazione delle librerie	L'utente ha invalidato un batch.	Avviso	Sì	Non applicabile.
Pool Invalidation – Repool (Invalidamento del raggruppamento - raggruppare di nuovo)	Preparazione delle librerie	L'utente ha invalidato il primo raggruppamento possibile (di un certo tipo) per il batch.	Avviso	Sì	Non applicabile.
Pool Invalidation – Use second aliquot (Invalidamento del raggruppamento - usare seconda aliquota)	Preparazione delle librerie	L'utente ha invalidato il primo raggruppamento possibile (di un certo tipo) per il batch.	Avviso	Sì	Non applicabile.
Sequencing Completed Pool Invalidated (Sequenziamento completato e raggruppamento invalidato)	Sequenziamento	La corsa di sequenziamento è stata completata ma l'utente ha invalidato il raggruppamento.	Avviso	Sì	Non applicabile.
Sequencing QC passed – All samples are invalid (Superato il controllo qualità del sequenziamento - Tutti i campioni non sono validi)	Controllo qualità del sequenziamento	La verifica del controllo qualità per la corsa di sequenziamento è stata completata, ma tutti i campioni non sono validi.	Avviso	Sì	Non applicabile.
Analysis Completed Pool Invalidated (Analisi completata e raggruppamento invalidato)	Post-analisi	L'analisi è stata completata ma l'utente ha invalidato il raggruppamento	Avviso	Sì	Non applicabile.

Notifiche di errore reversibile

Gli errori reversibili sono condizioni dalle quali VeriSeq NIPT Assay Software può recuperare quando l'utente si attiene all'azione raccomandata. Se l'errore persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.

Notifica	Fase	Quando	Livello avviso	E-mail	Intervento raccomandato
Missing Instrument Path (Percorso strumento mancante)	Sequenziamento	Il sistema non è in grado di individuare/collegarsi a una cartella di sequenziamento esterna.	Avviso	Sì	<ul style="list-style-type: none"> Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per gli interventi raccomandati</i> a pagina 71 Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.
Insufficient Disk Space for Sequencing (Spazio su disco insufficiente per il sequenziamento)	Sequenziamento	Il sistema ha rilevato una nuova cartella dei dati del sequenziamento, ma stima che non vi sia spazio su disco sufficiente per i dati.	Avviso	Sì	<ol style="list-style-type: none"> Verificare lo spazio su disco disponibile. Vedere <i>Procedure per gli interventi raccomandati</i> a pagina 71 Liberare lo spazio su disco o eseguire il backup dei dati. Vedere <i>Procedure per gli interventi raccomandati</i> a pagina 71
Sequencing Run Invalid Folder (Cartella della corsa di sequenziamento non valida)	Sequenziamento	Sono presenti caratteri non validi nella cartella Sequencing Run (Corsa di sequenziamento)	Avvertenza	Sì	La cartella della corsa di sequenziamento è stata rinominata in modo errato. Rinominare la corsa con un nome valido.
Sequencing Started but Pool Barcode File Missing (Sequenziamento avviato ma file codice a barre del raggruppamento mancante)	Sequenziamento	Il software non ha trovato il file che contiene il codice a barre del raggruppamento per 30 minuti dopo l'avvio del sequenziamento.	Avvertenza	Sì	Possibile errore sequenziatore o NAS. Verificare la configurazione del sequenziatore e la connessione di rete. Il sistema continua a cercare il file codice a barre del raggruppamento fino al termine del sequenziamento.
Cannot Verify Sequencing Run Completion (Impossibile verificare il completamento della corsa di sequenziamento)	Sequenziamento	Il software non è stato in grado di leggere il file di stato del completamento della corsa nella cartella del sequenziamento.	Avvertenza	Sì	Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.
Missing Sample Attributes (Attributi campione mancanti)	Pre-analisi	Il software non è stato in grado di trovare una definizione per il tipo di campione, l'opzione del cromosoma sessuale o il tipo di screening per alcuni campioni.	Avviso	Sì	Non sono stati forniti uno o più attributi per il campione specificato. Immettere gli attributi campione mancanti in Workflow Manager o invalidare il campione per consentire al software di procedere.

Notifica	Fase	Quando	Livello avviso	E-mail	Intervento raccomandato
Sample Sheet Generation failed (Generazione del foglio campioni non riuscita)	Pre-analisi	Il software non è stato in grado di generare il foglio campioni.	Avviso	Sì	<ul style="list-style-type: none"> Verificare lo spazio su disco disponibile. Vedere <i>Procedure per gli interventi raccomandati a pagina 71</i> Se lo spazio è limitato, liberare lo spazio su disco o eseguire il backup dei dati. Vedere <i>Procedure per gli interventi raccomandati a pagina 71</i> Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per gli interventi raccomandati a pagina 71</i> Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.
Unable to check disk space (Impossibile verificare lo spazio su disco)	Pre-analisi	Il software non è stato in grado di verificare lo spazio su disco.	Avviso	Sì	<ul style="list-style-type: none"> Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per gli interventi raccomandati</i>, ID azione 2 2 a pagina 71. Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.
Insufficient Disk Space for Analysis (Spazio su disco insufficiente per l'analisi)	Pre-analisi	Il software ha rilevato che non vi è spazio su disco sufficiente per avviare una nuova corsa di analisi.	Avviso	Sì	Liberare lo spazio su disco o eseguire il backup dei dati. Vedere <i>Procedure per gli interventi raccomandati</i> , ID azione 3 a pagina 71.
Unable to launch analysis pipeline (Impossibile avviare il software di analisi)	Pre-analisi	Il software non è stato in grado di avviare una corsa di analisi per la cartella di sequenziamento specificata.	Avviso	Sì	Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.
Sequencing folder Read/Write permission failed (Autorizzazione di lettura/scrittura nella cartella di sequenziamento non riuscita)	Pre-analisi	Il test del software che verifica l'autorizzazione di lettura/scrittura nella cartella della corsa di sequenziamento non è riuscito.	Avvertenza	Sì	<ul style="list-style-type: none"> Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per gli interventi raccomandati a pagina 71</i> Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.
Analysis Failed - Retry (Analisi non riuscita - Riprova)	Analisi	L'analisi non è riuscita. Riprovare.	Avviso	Sì	Nessuno

Notifica	Fase	Quando	Livello avviso	E-mail	Intervento raccomandato
Results Already Reported (Risultati già riportati)	System (Sistema)	Il software ha determinato che un report NIPT è stato già generato per l'attuale tipo di raggruppamento.	Attività	Sì	Nessuno
Unable to deliver email notifications (Impossibile inviare le notifiche e-mail)	System (Sistema)	Il sistema non è in grado di inviare le notifiche e-mail.	Avvertenza	NA	<ol style="list-style-type: none"> 1. Verificare la validità della configurazione delle e-mail definita sul sistema. Attenersi alle istruzioni indicate in <i>Configurazione delle notifiche e-mail del sistema a pagina 29</i>. 2. Inviare un'e-mail di prova. Attenersi alle istruzioni indicate in <i>Configurazione delle notifiche e-mail del sistema a pagina 29</i>. 3. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.
Time Skew Detected (Rilevata differenza di orario)	Preparazione delle librerie	Il software ha rilevato una differenza di orario di più di un minuto tra il timestamp fornito da Workflow Manager e l'ora locale del server.	Avvertenza	No	<ol style="list-style-type: none"> 1. Verificare l'ora locale sul computer di Workflow Manager. 2. Verificare l'ora locale di Onsite Server riportata sull'interfaccia utente del Web (scheda Server Status - Stato server).

Notifiche di errore irreversibile

Gli errori irreversibili sono condizioni che raggiungono uno stato terminale e per le quali non è possibile eseguire alcuna azione per riprendere l'esecuzione del saggio.

Notifica	Fase	Quando	Livello avviso	E-mail	Intervento raccomandato
Batch Failure (Mancata riuscita del batch)	Preparazione delle librerie	Il controllo qualità del batch non è stato superato.	Avviso	Sì	Riavviare la creazione della piastra della libreria.
Report Generating Failure (Generazione del report non riuscita)	Creazione di report	Il sistema non è stato in grado di generare un report.	Avviso	Sì	<ul style="list-style-type: none"> • Verificare lo spazio su disco disponibile. Vedere <i>Procedure per gli interventi raccomandati a pagina 71</i> Se lo spazio è limitato, liberare lo spazio su disco o eseguire il backup dei dati. Vedere <i>Procedure per gli interventi raccomandati a pagina 71</i> • Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.
Failed to Parse Run Parameters file (Analisi del file dei parametri non riuscita)	Sequenziamento	Il sistema non è stato in grado di aprire/analizzare il file RunParameters.xml	Avvertenza	Sì	Il file RunParameters.xml è danneggiato. Verificare la configurazione del sequenziatore e risequenziare il raggruppamento.
Unrecognized Run Parameters (Parametri della corsa non riconosciuti)	Sequenziamento	Il software ha letto parametri della corsa che non sono compatibili.	Avvertenza	Sì	Il software non è stato in grado di creare i parametri della corsa di sequenziamento dal file di configurazione del sequenziatore. Verificare la configurazione del sequenziatore e risequenziare il raggruppamento.
Invalid Run Parameters (Parametri della corsa non validi)	Sequenziamento	Il software ha letto parametri della corsa richiesti che non sono compatibili con il saggio.	Avvertenza	Sì	La verifica della compatibilità del software non è riuscita. Verificare la configurazione del sequenziatore e risequenziare il raggruppamento.
No Pool Barcode found (Non è stato trovato alcun codice a barre per il raggruppamento)	Sequenziamento	Il software non è stato in grado di associare la cella a flusso per la corsa di sequenziamento con un codice a barre noto.	Avvertenza	Sì	La voce del codice a barre del raggruppamento potrebbe essere errata. Risequenziare il raggruppamento.

Notifica	Fase	Quando	Livello avviso	E-mail	Intervento raccomandato
Sequencing Completed but Pool Barcode File Missing (Sequenziamento avviato ma file codice a barre del raggruppamento mancante)	Sequenziamento	La corsa di sequenziamento è stata completata, ma il file contenente il codice a barre del raggruppamento non è stato rilevato.	Avviso	Sì	Possibile errore sequenziatore. Contattare l'Assistenza Tecnica Illumina per assistenza.
Unable to read Pool Barcode File (Impossibile leggere il file del codice a barre del raggruppamento)	Sequenziamento	Il file contenente il codice a barre del raggruppamento è danneggiato.	Avviso	Sì	Possibile errore sequenziatore o rete. Contattare l'Assistenza Tecnica Illumina per assistenza.
Pool Barcode File Mismatch (Mancata corrispondenza del codice a barre del raggruppamento)	Sequenziamento	Il file del codice a barre del raggruppamento rilevato fa riferimento a un ID della cella a flusso diverso da quello associato alla corsa di sequenziamento.	Avviso	Sì	Possibile errore sequenziatore. Contattare l'Assistenza Tecnica Illumina per assistenza.
Sequencing Timed Out (Timeout del sequenziamento)	Sequenziamento	La corsa di sequenziamento non è stata completata nell'intervallo di tempo specificato.	Avvertenza	Sì	Verificare il sequenziatore e la connessione di rete. Risequenziare il raggruppamento.
Sequencing QC files generation failed (La generazione dei file di controllo qualità per il sequenziamento non è riuscita)	Controllo qualità del sequenziamento	La corsa di sequenziamento è stata completata, ma i file di controllo qualità InterOp sono danneggiati.	Avviso	Sì	Verificare il sequenziatore e la connessione di rete. Risequenziare il raggruppamento.
Sequencing QC failed (Il controllo qualità del sequenziamento non è riuscito)	Controllo qualità del sequenziamento	La corsa di sequenziamento è stata completata e la verifica del controllo qualità del sequenziamento non è riuscita.	Avviso	Sì	Risequenziare il raggruppamento.
Analysis Failed for Maximum number of attempts (L'analisi non è riuscita entro il numero massimo di tentativi)	Analisi	Tutti i tentativi di analisi non sono riusciti. Non è possibile riprovare.	Avvertenza	Sì	Risequenziare il secondo raggruppamento.

Notifica	Fase	Quando	Livello avviso	E-mail	Intervento raccomandato
Analysis Post-Processing Failed (L'analisi post-elaborazione non è riuscita)	Post-analisi	Il software non è stato in grado di analizzare i risultati dopo l'elaborazione.	Avviso	Sì	<ul style="list-style-type: none"> • Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per gli interventi raccomandati a pagina 71</i> • Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.
Analysis Upload Failed (Caricamento analisi non riuscito)	Post-analisi	Il software non è stato in grado di caricare i risultati dell'analisi nel database.	Avviso	Sì	<ul style="list-style-type: none"> • Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per gli interventi raccomandati a pagina 71</i> • Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.

Procedure per gli interventi raccomandati

ID intervento	Intervento raccomandato	Fasi
1	Verificare la connessione di rete	<p>Assicurarsi che il sistema NAS di archiviazione remoto e la macchina locale siano sulla stessa rete.</p> <ol style="list-style-type: none"> Da una linea di comando (cmd) Windows, digitare il comando seguente: ping <IP Server> Se si utilizza un sistema NAS, verificare anche la connessione con il sistema NAS. Assicurarsi che non vi siano pacchetti persi. Se vi sono pacchetti persi, contattare l'amministratore IT. Testare la connessione: <ol style="list-style-type: none"> Accedere all'interfaccia utente Web di Onsite Server. Da Dashboard (Pannello strumenti), selezionare Folder (Cartella). Selezionare Test (Test) e determinare se il test è stato superato. Se il test non viene superato, vedere <i>Modifica di un'unità di rete condivisa a pagina 27</i> e assicurarsi che tutte le impostazioni siano configurate correttamente.
2	Verificare lo spazio su disco disponibile	<p>Assicurarsi che la macchina Windows sia mappata alla cartella degli input di Onsite Server. Per maggiori informazioni, vedere <i>Mappatura delle unità del server a pagina 36</i>.</p> <p>Fare clic con il pulsante destro del mouse sull'unità che è mappata alla cartella degli input. Selezionare Properties (Proprietà) e visualizzare le informazioni relative allo spazio libero.</p>
3	Liberare spazio su disco/eseguire il backup dei dati	<p>Il sistema raccomanda un backup dei dati periodico e/o l'archiviazione dei dati del sequenziamento sul server. Per maggiori informazioni, vedere <i>Gestione di un'unità di rete condivisa a pagina 26</i>.</p> <ol style="list-style-type: none"> Per i dati archiviati localmente su Onsite Server: <p>Assicurarsi che la macchina Windows sia mappata alla cartella degli input di Onsite Server. Per maggiori informazioni, vedere <i>Mappatura delle unità del server a pagina 36</i>.</p> <ol style="list-style-type: none"> Fare doppio clic con il pulsante destro del mouse sulla cartella Input (input) e inserire le credenziali per l'accesso. I dati della corsa di sequenziamento sono elencati con i nomi delle cartelle che corrispondono ai nomi delle corse di sequenziamento. Eliminare o eseguire il backup delle cartelle del sequenziamento elaborate. Per i dati archiviati su un sistema NAS remoto: <p>Assicurarsi che il sistema NAS di archiviazione remoto e la macchina locale siano sulla stessa rete. Ottenere l'accesso alla cartella sull'unità remota. Sono richieste le credenziali di accesso che si possono ottenere dall'amministratore IT.</p> <ol style="list-style-type: none"> I dati della corsa di sequenziamento sono elencati con i nomi delle cartelle che corrispondono ai nomi delle corse di sequenziamento. Eliminare o eseguire il backup delle cartelle del sequenziamento elaborate.

Problemi del sistema

Problema	Intervento raccomandato
Il software non si avvia	Se vengono rilevati errori all'avvio di Assay Software, viene visualizzato un riepilogo di tutti gli errori invece della schermata Log In (Accesso). Rivolgersi all'Assistenza Tecnica Illumina per comunicare gli errori elencati.
È richiesto il ripristino del database	Se è richiesto un ripristino del backup di un database, rivolgersi a un tecnico dell'assistenza Illumina.
Rilevato errore di sistema	Quando viene rilevato un errore di sistema, Assay Software non elabora più la comunicazione proveniente da altri componenti del sistema. Un amministratore può ripristinare il normale funzionamento del sistema dopo aver inserito lo stato di rilevamento dell'errore.
L'allarme del controller RAID si attiva.	Un amministratore può selezionare il pulsante Server alarm (Allarme server) nella scheda Server Status (Stato del server) del pannello strumenti di Assay Software per disattivare l'allarme del controller RAID. Se si preme questo pulsante, contattare l'Assistenza Tecnica Illumina per richiedere ulteriore supporto.

Test dell'elaborazione dei dati

I set di dati preinstallati su Onsite Server permettono di eseguire il test funzionale del server e del motore di analisi.

Test del server

Questo test simula una corsa di sequenziamento simulando al contempo una generazione dei risultati dell'analisi, senza dover avviare il gruppo di software di analisi. Eseguire questo test per assicurarsi che Onsite Server funzioni correttamente e che siano generati i report e le notifiche e-mail. Durata: circa 3-4 minuti.

Procedura

- 1 Aprire la directory di input installata, quindi aprire la cartella TestingData (Dati del test).
- 2 Effettuare una copia di una delle seguenti cartelle presenti nella cartella TestingData (Dati del test):
 - ▶ Per i dati NextSeq: 170725_NS500110_0382_AHT3MYBGX2_Copy_Analysis_Workflow.
 - ▶ Per i dati NextSeqDx: 180911_NDX550152_0014_AXXXXXDX_Copy_Analysis_Workflow.
- 3 Rinominare la copia in una cartella con un suffisso _XXX. Il suffisso _XXX rappresenta un conteggio sequenziale della corsa di prova. Ad esempio, se _002 è presente nella cartella, rinominare la nuova copia con _003.
- 4 Spostare la cartella rinominata nella cartella di input.
- 5 Attendere 3-5 minuti per il completamento della corsa. Assicurarsi che siano state ricevute le notifiche e-mail seguenti:
 - a Sequencing Run Analysis Started (Analisi della corsa di sequenziamento avviata)
 - b NIPT Report generated for Sequencing Run (Generato report NIPT per la corsa di sequenziamento)

Associare entrambi i report con il nome del sequenziamento assegnato alla cartella.

- 6 Nella cartella di output, aprire la cartella TestData_NS_CopyWorkflow or TestData_NDx_CopyWorkflow e verificare se è presente uno di questi report:
 - ▶ Per NextSeq: TestData_NS_CopyWorkflow_C_TestData_NS_CopyWorkflow_PoolC_HT3MYBGX2_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab.
 - ▶ Per NextSeqDx: TestData_NDx_CopyWorkflow_C_TestData_NDx_CopyWorkflow_PoolC_XXXXXXXXDX_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab.La dimensione del file prevista è di circa 7 Kb.
- 7 Riportare la corsa di sequenziamento di prova nella cartella TestingData (Dati del test). Questa procedura permette di gestire il numero di volte che viene eseguita la prova di sequenziamento.



NOTA

Per motivi di spazio, è possibile eliminare le vecchie copie dei file dei test.

Esecuzione di un test di analisi completo sui dati

Questo test esegue una corsa di analisi completa. Eseguire questo test se il server non elabora/analizza i dati o si verifica un timeout. Durata: circa 4-5 ore.

Procedura

- 1 Aprire la directory di input installata e aprire la cartella TestingData (Dati del test).
- 2 Rinominare la seguente cartella aggiungendo il suffisso _000: 180911_NDX550152_0014_XXXXXXXXDX_FullRun.
Il suffisso crea un nome univoco per ciascuna corsa di sequenziamento. Se la corsa presenta già un suffisso, rinominare la cartella aumentando il valore numerico del suffisso di 1.
- 3 Spostare la cartella rinominata nella cartella di input.
- 4 Attendere circa 4-5 ore per il completamento dell'analisi. Assicurarsi che siano state ricevute le notifiche e-mail seguenti:
 - a Sequencing Run Analysis Started (Analisi della corsa di sequenziamento avviata)
 - b NIPT Report generated for Sequencing Run (Generato report NIPT per la corsa di sequenziamento)Associare entrambi i report con il nome del sequenziamento assegnato alla cartella.
- 5 Nella cartella di output, aprire la cartella TestData_NDx_FullRun e controllare il seguente report: TestData_NDx_FullRun_C_TestData_NDx_FullRun_PoolC_XXXXXXXXDX_nipt_report_YYYYMMDD_HHMMSS.tab.
La dimensione del file prevista è di circa 7 Kb.
- 6 Riportare la corsa di sequenziamento di prova nella cartella TestingData (Dati del test).

Appendice D Risorse aggiuntive

Dal sito Web di Illumina è possibile scaricare la seguente documentazione.

Risorsa	Descrizione
<i>Insero della confezione di VeriSeq NIPT Solution v2 (documento n. 1000000078751)</i>	Definisce il prodotto e l'uso previsto e fornisce le istruzioni per l'uso e le procedure per la risoluzione dei problemi.
<i>Microlab® STAR Line Operator's Manual, ID documento Hamilton 624668 (Manuale per l'operatore di Microlab® STAR Line)</i>	Fornisce informazioni sul funzionamento e sulla manutenzione nonché specifiche tecniche per lo strumento di gestione automatizzata dei liquidi Hamilton Mircolab STAR.

Visitare le [pagine di supporto](#) di VeriSeq NIPT Solution v2 sul sito Web Illumina per accedere alla documentazione, ai download del software, alla formazione online e alle domande frequenti.

Appendice E Acronimi

Acronimo	Definizione
BCL	File di identificazione delle basi
CE-IVD	Marchio di conformità europeo per prodotti diagnostici <i>in vitro</i>
cfDNA	DNA libero circolante
DNA	Acido desossiribonucleico
DNS	Sistema di nome di dominio
FASTQ	Formato file di testo per archiviare gli output ottenuti dagli strumenti di sequenziamento
FF	Frazione fetale
FIFO	Primo entrato, primo uscito
iFACT	Test di sicurezza fetale delle aneuploidie individuale
IP	Protocollo Internet
LIMS	Sistema di gestione delle informazioni del laboratorio
LIS	Sistema delle informazioni del laboratorio
LLR	Distribuzioni dei rapporti di log-verosimiglianza
MAC	Controllo accesso media
NAS	Archiviazione collegata alla rete
NES	Siti non esclusi
NGS	Sequenziamento di nuova generazione
NIPT	Test prenatale non invasivo
NTC	Controllo non templatato
NTP	Protocollo sincronizzazione rete
PF	Che attraversano il filtro
PQ	Qualificazione del processo
QC	Controllo qualità
Regex	Espressione regolare: una sequenza di caratteri che può essere utilizzata dagli algoritmi di corrispondenza delle stringhe per la convalida dei dati.
RTA	Analisi in tempo reale
RUO	Solo a uso di ricerca
SCA	Aneuploidia del cromosoma sessuale
SDS	Schede dei dati di sicurezza
SHA1	Algoritmo di hash sicuro 1
SSL	Connessione protetta

Assistenza Tecnica

Per ricevere assistenza tecnica, contattare l'Assistenza Tecnica Illumina.

Sito web: www.illumina.com
E-mail: techsupport@illumina.com

Numeri di telefono dell'Assistenza Clienti Illumina

Area geografica	Numero verde	Locale
Nord America	+1.800.809.4566	
Australia	+1.800.775.688	
Austria	+43 800006249	+43 19286540
Belgio	+32 80077160	+32 34002973
Cina	400-066-5835	
Corea del Sud	+82 80 234 5300	
Danimarca	+45 80820183	+45 89871156
Finlandia	+358 800918363	+358 974790110
Francia	+33 805102193	+33 170770446
Germania	+49 8001014940	+49 8938035677
Giappone	0800.111.5011	
Hong Kong, Cina	800960230	
Irlanda	+353 1800936608	+353 016950506
Italia	+39 800985513	+39 236003759
Norvegia	+47 800 16836	+47 21939693
Nuova Zelanda	0800.451.650	
Paesi Bassi	+31 8000222493	+31 207132960
Regno Unito	+44 8000126019	+44 2073057197
Singapore	1.800.579.2745	
Spagna	+34 911899417	+34 800300143
Svezia	+46 850619671	+46 200883979
Svizzera	+41 565800000	+41 800200442
Taiwan, Cina	00806651752	
Altri paesi	+44.1799.534000	

Schede dei dati di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS): sono disponibili sul sito Web Illumina all'indirizzo support.illumina.com/sds.html.

Documentazione sul prodotto: disponibile per il download all'indirizzo support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

San Diego, California 92122 U.S.A.

+1.800.809.ILMN (4566)

+1.858.202.4566 (fuori dal Nord America)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com

CE
2797



Illumina Netherlands B.V.

Steenoven 19

5626 DK Eindhoven

The Netherlands

Sponsor Australiano

Illumina Australia Pty Ltd

Nursing Association Building

Level 3, 535 Elizabeth Street

Melbourne, VIC 3000

Australia

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

© 2021 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati.

illumina[®]