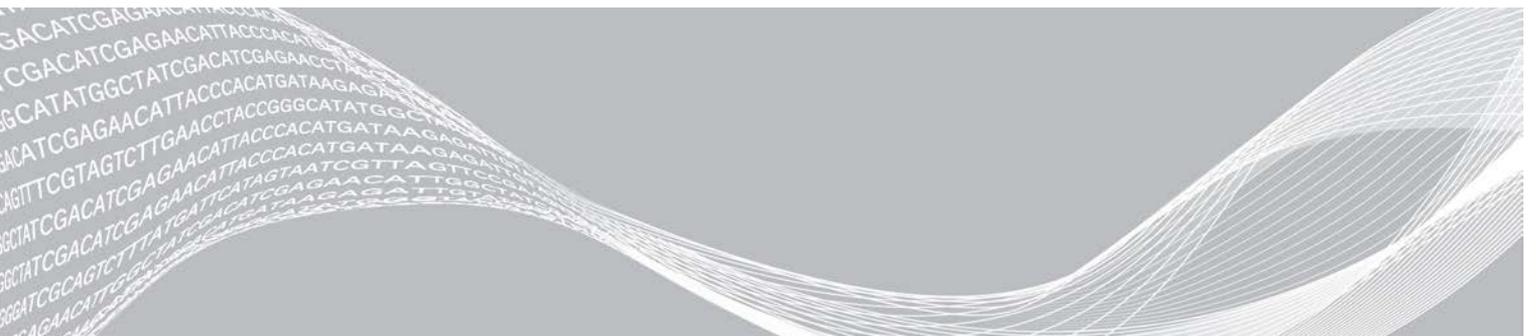


# VeriSeq NIPT Solution

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 alla pagina Web [www.illumina.com/patents](http://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 in alcun modo, 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 formato. 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](http://www.illumina.com/company/legal.html).

## Cronologia revisioni

Documento	Data	Descrizione della modifica
Documento n. 1000000001949 v04	Agosto 2021	Aggiornati gli indirizzi dei rappresentanti autorizzati nell'Unione Europea.
Documento n. 1000000001949 v03	Dicembre 2019	Aggiornata la quarta di copertina con il nuovo numero e gli indirizzi degli enti notificati. Aggiornate le informazioni sul sito non escluso e NCD nelle sezioni dell'analisi di controllo qualità. Corretti gli errori nell'intestazione della sezione e il nome del prodotto VeriSeq Onsite Server e corretto un errore di battitura nella dimensione del server nella sezione Database locale.
Documento n. 1000000001949 v02	Aprile 2018	Aggiornato quanto segue nel capitolo VeriSeq NIPT Workflow Manager: <ul style="list-style-type: none"> <li>• Aggiunta la riga Modifica degli attributi dei campioni alla tabella contenuta nella sezione VeriSeq NIPT Batch Manager.</li> <li>• Aggiunte le informazioni per batch_name (nome_batch) e sample_barcode (codice a barre_campione) nella tabella Input del foglio campioni.</li> <li>• Aggiunta la fase Modifica degli attributi dei campioni.</li> <li>• Riviste le fasi di Invalidamento del campione, Invalidamento del batch e Invalidamento del raggruppamento.</li> <li>• Aggiunta la sezione Caricamento del foglio campioni.</li> <li>• Aggiunte le informazioni per i parametri Default Sex Chromosome Reporting (Report predefinito dei cromosomi sessuali) nella sezione Configurazione del saggio.</li> </ul> <p>Riviste le seguenti sezioni nel capitolo VeriSeq NIPT Assay Software:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Riviste le informazioni sui campioni NTC per la corsa nella sezione Controllo qualità dei campioni NTC.</li> <li>• Aggiunta una nota sul protocollo Server Message Box (SMB) nelle sezioni Disco locale e Mappatura delle unità del server.</li> </ul> <p>Aggiornata la quarta di copertina con le informazioni sull'Australia.</p>
Documento n. 1000000001949 v00	Febbraio 2017	Versione iniziale

# Sommario

Cronologia revisioni .....	iii
<b>Capitolo 1 VeriSeq NIPT Solution .....</b>	<b>1</b>
Introduzione .....	1
Architettura del sistema .....	3
<b>Capitolo 2 VeriSeq NIPT Workflow Manager .....</b>	<b>4</b>
Introduzione .....	4
VeriSeq NIPT Method .....	4
VeriSeq NIPT Batch Manager .....	4
VeriSeq NIPT Services .....	10
<b>Capitolo 3 Sequenziatore di nuova generazione .....</b>	<b>13</b>
Introduzione .....	13
Raggruppamento in pool della sequenza .....	13
Integrazione dell'archiviazione dei dati .....	13
Capacità di processività dell'analisi .....	14
Limitazioni del traffico di rete .....	14
<b>Capitolo 4 VeriSeq NIPT Assay Software .....</b>	<b>15</b>
Introduzione .....	15
Assay Software .....	15
Interfaccia utente Web .....	19
Analisi e creazione di report .....	28
VeriSeq Onsite Server .....	31
<b>Appendice A Metriche di controllo qualità (QC) .....</b>	<b>35</b>
Metriche e limiti del controllo qualità della quantificazione .....	35
Metriche e limiti superiore e inferiore del controllo qualità del sequenziamento .....	36
Metriche e limiti del controllo qualità analitica .....	37
Controllo qualità dei campioni NTC (Controllo non templatato) .....	38
<b>Appendice B Report di sistema .....</b>	<b>39</b>
Introduzione .....	39
Riepilogo dei report di sistema .....	40
Eventi di generazione di report .....	41
Report dei risultati e delle notifiche .....	43
Report di elaborazione .....	49
<b>Appendice C Risoluzione dei problemi .....</b>	<b>58</b>
Introduzione .....	58
Notifiche di Assay Software .....	58

Problemi del sistema .....	67
Test dell'elaborazione dei dati .....	68
<b>Appendice D Risorse aggiuntive .....</b>	<b>70</b>
<b>Appendice E Acronimi .....</b>	<b>71</b>
<b>Assistenza Tecnica .....</b>	<b>72</b>

# VeriSeq NIPT Solution

Introduzione .....	1
Architettura del sistema .....	3

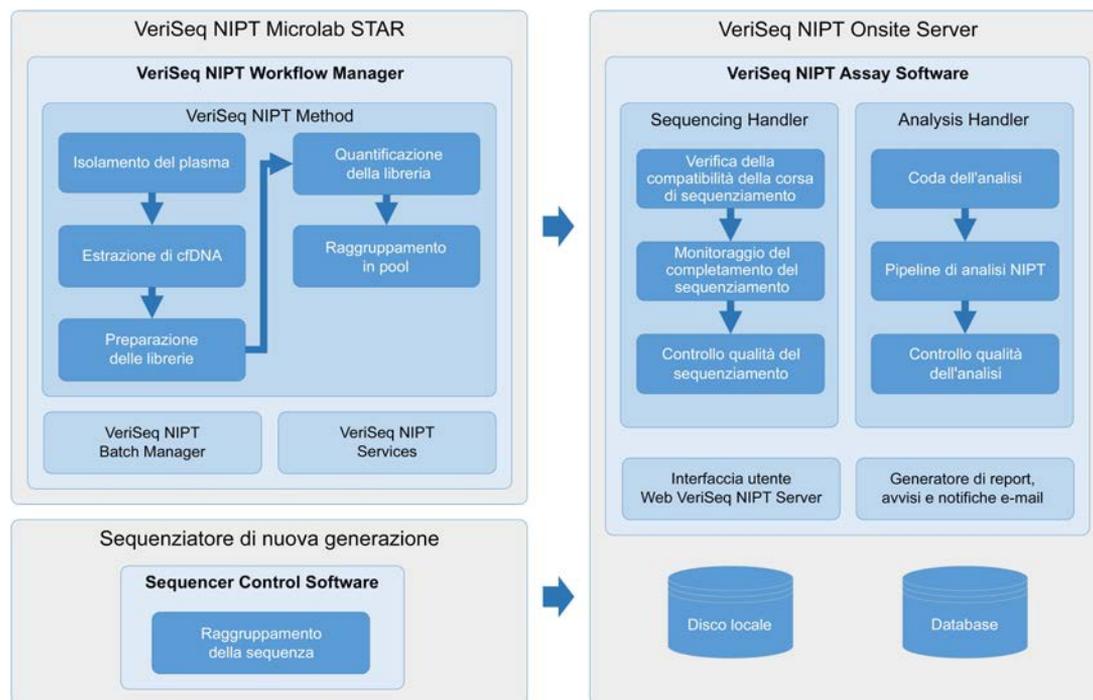
## Introduzione

VeriSeq NIPT Solution è un test diagnostico *in vitro* il cui uso è previsto come test di 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. VeriSeq NIPT fornisce informazioni relative allo stato di aneuploidia per i cromosomi: 21, 18, 13, X e Y. Questo prodotto non deve essere utilizzato come unica base per la diagnosi o altre decisioni nella gestione della gravidanza.

L'architettura del sistema VeriSeq NIPT Solution comprende:

- ▶ **VeriSeq NIPT Microlab STAR (ML STAR):** uno strumento per la manipolazione automatizzata dei liquidi che utilizza VeriSeq NIPT Workflow Manager e VeriSeq NIPT Sample Prep Kit per preparare e monitorare i campioni della libreria. ML STAR prepara i campioni previsti per l'analisi utilizzando VeriSeq NIPT Assay Software in base alle istruzioni per l'uso contenute nell'*Inserto della confezione di VeriSeq NIPT Solution (documento n. 1000000001856)*.
- ▶ **Sequenziatore di nuova generazione (Next-Generation Sequencer, NGS):** uno strumento per il sequenziamento del genoma che fornisce generazione di cluster e sequenziamento integrati sullo strumento. Sequencer Control Software 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. I dati del sequenziamento vengono valutati da Analysis Handler di Assay Software.
- ▶ **VeriSeq Onsite Server:** un server indipendente che utilizza Assay Software per analizzare i dati del sequenziamento paired-end. Assay Software fornisce diverse statistiche, inclusi i rapporti di log-verosimiglianza, che possono essere utilizzati per valutare la sovrarappresentazione o la sottorappresentazione cromosomica in ciascun campione.

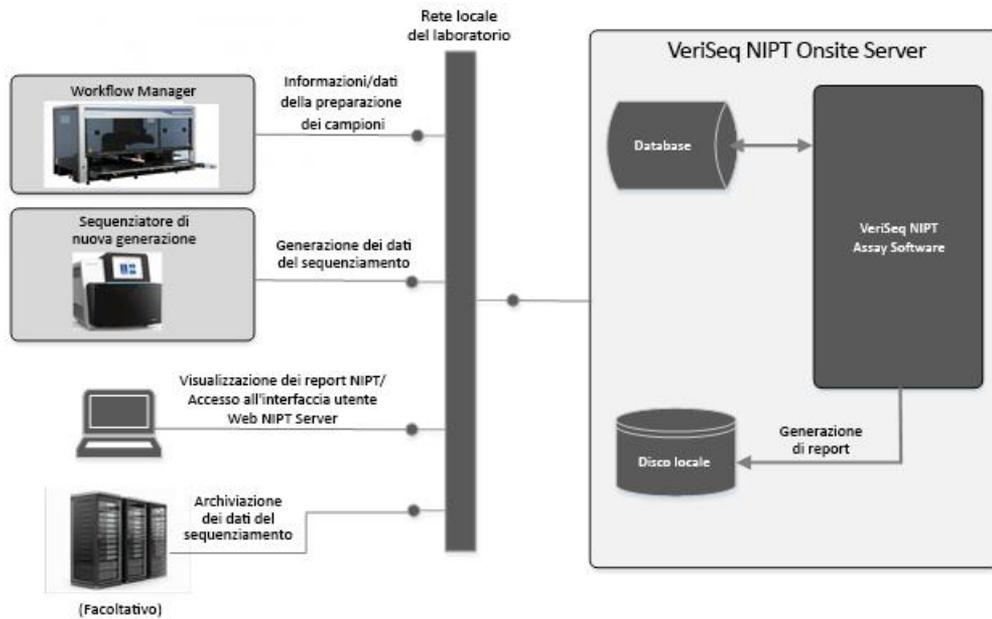
Figura 1 Componenti di VeriSeq NIPT Solution



## Architettura del sistema

VeriSeq NIPT Solution 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



# VeriSeq NIPT Workflow Manager

Introduzione .....	4
VeriSeq NIPT Method .....	4
VeriSeq NIPT Batch Manager .....	4
VeriSeq NIPT Services .....	10

## Introduzione

VeriSeq NIPT Workflow Manager (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. Workflow Manager mantiene una connessione dati a Onsite Server 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 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:

- ▶ **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, posizione del pozzetto e indicazione del sesso.
- ▶ **Estrazione di cfDNA:** purifica 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. Uno script R 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. Un secondo script R 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 (Batch Manager) gestisce lo stato di campioni, batch e raggruppamenti in pool utilizzando la stessa interfaccia utilizzata per eseguire le procedure automatizzate. 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 l'*Inserto della confezione di VeriSeq NIPT Solution (documento n. 1000000001856)*.

I campioni vengono gestiti all'interno del flusso di lavoro mediante gli item seguenti:

Item	Descrizione
Sample (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 48 o 96 campioni elaborata mediante l'estrazione di cfDNA e il processo di preparazione delle librerie.
Pool (Raggruppamento in pool)	Il volume normalizzato e diluito delle librerie a doppio indice e pronte per il sequenziatore. Ciascun raggruppamento in pool contiene fino a 48 campioni.

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

Intervento	Item	Report generato	Descrizione
Invalidamento	Sample (Campione)	Sample Invalidation (Invalidamento del campione)	Il campione indicato dall'utente come non più valido per l'elaborazione. Non viene generato alcun risultato per i campioni invalidati. Esempio: carry-over visibile di cellule del sangue durante l'isolamento del plasma.
	Batch	Batch Invalidation (Invalidamento del batch)	Il batch indicato dall'utente come non più valido per l'elaborazione. Se l'invalidamento del batch si è verificato prima della generazione del raggruppamento in pool, tutti i campioni sono invalidati. Esempio: piastra fatta cadere o altrimenti manipolata in modo errato.
	Pool (Raggruppamento in pool)	Pool Invalidation (Invalidamento del raggruppamento in pool)	Il raggruppamento in pool indicato dall'utente come non più valido per l'elaborazione. Dopo due invalidamenti del raggruppamento in pool, tutti i campioni contenuti nel raggruppamento sono invalidati. Esempio: il volume completo del raggruppamento in pool durante due mancate riuscite del sequenziamento.
Controllo qualità non riuscito	Sample (Campione)	Sample Invalidation (Invalidamento del campione)	VeriSeq NIPT Solution indica automaticamente il campione come invalido 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 indica automaticamente l'intero batch come invalido. Esempio: guasto al sistema durante la manipolazione dei liquidi.
Annullamento	Sample (Campione)	Sample Cancelation (Annullamento del campione)	Il sistema LIMS ha indicato il campione come annullato. Non viene generato alcun risultato.
Modifica degli attributi dei campioni	Sample (Campione)	Sample Sex Reporting (Report sul sesso del campione)	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.

Intervento	Item	Report generato	Descrizione
	Sample (Campione)	Sample Sex Type (Tipo di sesso del campione)	Il tipo di sesso indicato dall'utente come Singleton (Singola), Twin (Gemellare), NTC (Controllo con templatato) e Control (Controllo). La designazione del tipo di sesso del campione incide direttamente sull'analisi del test. Per assicurare risultati accurati del test, il tipo di sesso del campione deve essere corretto.

Dopo l'invalidamento, il controllo qualità non riuscito o l'azione di annullamento, l'item non viene ulteriormente elaborato. I sistemi di gestione delle informazioni del laboratorio (LIS/LIMS) possono utilizzare i 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.

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 dovrebbe 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 templatato).
sex_chromosomes (Cromosomi sessuali)	Stringa	Campo obbligatorio	Indica lo stato dei cromosomi sessuali fetali. I valori permessi sono yes (Sì) e no (No) (non riportati) e sca (aneuploidia del cromosoma sessuale) (riportato sono per le aneuploidie dei cromosomi sessuali).

Il foglio campioni contenente i dati viene caricato durante Plasma Isolation (Isolamento del plasma) o Pooling (Raggruppamento) e possono essere caricati mediante Batch Manager. 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 foglio 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 avvio 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 avvio del batch con le informazioni sul tipo di campione 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 può 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 sotto gruppo 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 che contiene 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 parzialmente dal sistema LIMS e parzialmente 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, un campione non desiderato può comunque essere caricato. Questa strategia, durante il raggruppamento in pool, 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 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 fare clic su **OK**.
- 3 Sul diagramma della piastra per il batch, fare clic sulla posizione del pozzetto associata al campione desiderato.
- 4 Confermare che sia visualizzato il campione corretto, quindi selezionare un attributo per Sample Type (Tipo campione) dall'elenco a discesa Sample Type (Tipo campione).
- 5 Selezionare un attributo per Sex Reporting (Report sesso) dall'elenco a discesa Sex Reporting (Report sesso).
- 6 Fare clic sull'icona **Edit** (Modifica).

## Invalidamento di campione, batch e raggruppamento in pool

In base alla fase nell'elaborazione del campione, l'utente può invalidare un singolo campione, un batch o un raggruppamento in pool dei campioni. Dopo l'invalidamento, il campione, il batch o il raggruppamento in pool 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**.
- 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**.
- 4 Confermare che il sistema invalidi il campione.

### Invalidamento di un campione utilizzando Batch Manager

Utilizzare Batch Manager per invalidare:

- ▶ Un campione

- ▶ Un batch prima del completamento della fase di raggruppamento in pool.
- ▶ Un campione dopo il completamento della fase Pool (Raggruppamento in pool) 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), fare clic su **VeriSeq NIPT Batch Manager**.
  - ▶ Su un computer connesso alla rete, andare a C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT. Aprire il **file del metodo di Batch Manager** (VeriSeqNIPT\_Batch\_Manager.med) con **Hamilton Run Controller**.

### Sample Invalidation (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 fare clic su **OK**.
- 3 Sul diagramma della piastra per il batch, fare clic sulla posizione del pozzetto associata con il 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 fare clic su **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 fare clic su **OK**.
- 3 Sul diagramma della piastra per il batch, fare clic su **Invalidate Batch** (Batch invalidato).
- 4 Inserire il motivo per la mancata riuscita e fare clic su **Invalidate** (Invalida).  
Se sul diagramma della piastra per il batch non sono presenti raggruppamenti in pool validi per il batch, tutti i campioni passano da verde a rosso. I raggruppamenti in pool 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 e fare clic su **Pool Manager** (Gestione raggruppamento).
- 3 Eseguire la scansione del codice a barre del raggruppamento.
- 4 Inserire User Name (Nome utente) o le iniziali dell'operatore e fare clic su **OK**.
- 5 Inserire il motivo per la mancata riuscita e fare clic su **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.

- 1 Accedere a Batch Manager.
- 2 Inserire Batch ID (ID batch) e User Name (Nome utente) o le iniziali dell'operatore e fare clic su **OK**.
- 3 Fare clic su **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**.

## 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 fare clic su **OK**.
- 3 Sul diagramma della piastra per il batch, fare clic sulla posizione del pozzetto associata con il campione cancellato.
- 4 Confermare che sia visualizzato il campione corretto e fare clic su **Cancel Sample** (Annulla il campione).
- 5 Inserire il motivo per la mancata riuscita e fare clic su **Cancel** (Annulla).  
Sul diagramma della piastra per il batch, il campione cancellato passa da verde a rosso.

## VeriSeq NIPT Services

VeriSeq NIPT Services (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 sistemi 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.

Aprire Hamilton Run Controller, quindi aprire il file del metodo:

- ▶ Aprire VeriSeq NIPT Services da Hamilton AppLauncher.  
OPPURE
- ▶ "C:\Program Files (x86)\HAMILTON\Methods\VeriSeqNIPT\VeriSeqNIPT\_Service.med"

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.
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, fare clic su **Abort** (Interrompi) per uscire dal metodo.
- 4 Se viene richiesto di fornire i registri di monitoraggio del sistema generati durante il test, i registri si trovano in:  
C:\Program Files (x86)\HAMILTON\LogFiles  
I registri iniziano con "VeriSeqNIPT\_Services..."

## Service Tools (Strumenti di servizio)

Service Tools (Strumenti di servizio) 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 dal un file le posizioni predefinite del piano.

## Server Configuration (Configurazione del server)

Se viene cambiato l'indirizzo della rete per Onsite Server, 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 Fare clic su **Test Connection** (Testa connessione).  
Se il messaggio non viene ricevuto, contattare l'Assistenza Tecnica Illumina.
- 4 Dalla schermata System Configuration (Configurazione del sistema), fare clic su **OK** e fare clic su **Apply** (Applica) per salvare il nuovo valore.

## Assay Configuration (Configurazione del saggio)

La concentrazione delle librerie per il sequenziatore nei raggruppamenti per il sequenziatore può essere regolata, corsa per corsa, in Workflow Manager durante il processo di raggruppamento [vedere *Insero della confezione di VeriSeq NIPT Solution (documento n. 1000000001856)*]. Lo strumento Assay Configuration (Configurazione del saggio) può inoltre essere utilizzato per modificare il valore predefinito per questa concentrazione.

Questo parametro determina l'attributo da assegnare ai campioni quando il pulsante Use Default (Utilizza predefinito) viene selezionato durante la preparazione dei campioni. Lo strumento Assay Configuration (Configurazione del saggio) può essere utilizzato per modificare questo valore.

- 1 Fare clic su **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 Fare clic su **Apply** (Applica).  
Se non si verificano errori, viene reimpostata la concentrazione della libreria target del sistema.

## 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 Fare clic su **Deck Teach Tool** (Strumento per le posizioni preimpostate del piano).
- 2 Fare clic su **Export** (Esporta).
- 3 Selezionare una posizione di output per il file di test contenente le posizioni preimpostate del piano.
- 4 Fare clic su **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).

# Sequenziatore di nuova generazione

Introduzione .....	13
Raggruppamento in pool della sequenza .....	13
Integrazione dell'archiviazione dei dati .....	13
Capacità di processività dell'analisi .....	14
Limitazioni del traffico di rete .....	14

## Introduzione

Un sistema di sequenziamento di nuova generazione genera letture di sequenziamento per tutti i campioni contenuti nel raggruppamento della libreria quantificata con VeriSeq NIPT Solution 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.

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

## Raggruppamento in pool della sequenza

Assay Software richiede un sequenziatore di nuova generazione in grado di generare dati del sequenziamento su un raggruppamento in pool 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 basata su 2 coloranti
- ▶ Creazione automatica di file .BCL

## Integrazione dell'archiviazione dei dati

Una tipica corsa di sequenziamento per VeriSeq NIPT Solution 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 a 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 24.

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

## 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 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 Assay Software

Introduzione .....	15
Assay Software .....	15
Interfaccia utente Web .....	19
Analisi e creazione di report .....	28
VeriSeq Onsite Server .....	31

## Introduzione

Onsite Server è un componente fondamentale di VeriSeq NIPT Solution e funge da punto di connessione tra Workflow Manager, il sequenziatore di nuova generazione e l'utente. Onsite Server funge da host per Assay Software che viene eseguito continuamente come un servizio in secondo piano.

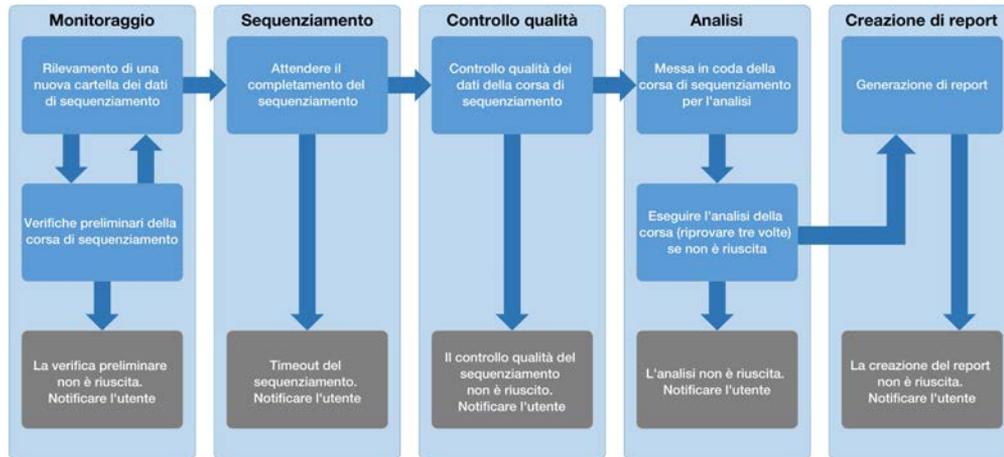
Assay Software genera statistiche per valutare il numero di copie dei cromosomi dei campioni analizzati e fornisce una determinazione di aneuploidia sui cromosomi target 21, 18, 13, X e Y. Uno strumento di sequenziamento di nuova generazione genera input di analisi sotto forma di letture paired-end di 36 basi. 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. Assay Software 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 ottenute dalla 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 per essere arricchite per cfDNA fetale o materno. I dati generati dall'analisi della copertura e della lunghezza del frammento sono utilizzati per stimare la frazione fetale per ciascun campione. Utilizzando queste informazioni, VeriSeq NIPT Assay Software genera statistiche per ciascun cromosoma analizzato in ogni campione e fornisce una determinazione di aneuploidia confrontando:

- ▶ Probabilità di un campione di essere affetto considerati i dati del sequenziamento normalizzati su una regione
- ▶ Frazione fetale stimata sulla probabilità di un campione di non essere affetto considerate le stesse informazioni

## 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 in pool esistente e nota e l'accertamento che i risultati non siano stati riportati precedentemente per gli stessi campioni in quel raggruppamento in pool (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 l'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 ProcessLog (RegistroProcedura) che si trova nella cartella Output (Output). Per maggiori informazioni, vedere *Struttura del file dei report a pagina 39* per una descrizione generale e *Report di elaborazione a pagina 49* 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 campione 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 l'algoritmo informatico integrato. 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 fornita 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 43*.
- ▶ **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 *Struttura del file dei report a pagina 39*.
- ▶ **Generazione dei report:** Assay Software genera i risultati, le notifiche e i report di elaborazione. Per maggiori informazioni, vedere *Eventi di generazione di report a pagina 41*.
- ▶ **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 47*.
  - ▶ **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 in pool)* a pagina 48.

► **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. Risequenziare 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 permette agli utenti di eseguire le attività seguenti:

Utilizzando Workflow Manager:

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

Utilizzando 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 23.

## Sequencing Handler

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 in pool 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 dei software di analisi (vedere *Sistema di gestione dei software di analisi* a pagina 19).

## 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.

Configurare il sequenziamento utilizzando parametri di letture compatibili.

- ▶ Corsa paired-end con letture da 36 x 36 cicli
- ▶ Doppia indicizzazione con 2 letture da 8 cicli di indici

## 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 in pool. Se l'analisi non riesce a elaborare il raggruppamento in pool 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 in pool 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 43.

## Requisiti di timeout e di archiviazione del flusso di lavoro

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

Parametro	Valore predefinito
Maximum Run Parameters Wait Time (Tempo di attesa massimo per i parametri della corsa)	4 ore
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)	2 TB

## Interfaccia utente Web

Assay Software ospita un'interfaccia utente Web che permette di accedere facilmente a Onsite Server da qualsiasi luogo sulla rete. 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 58.
- ▶ **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 58.
- ▶ **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 26.

- ▶ **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 23](#).
- ▶ **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 [Mappatura delle unità del server a pagina 33](#).
- ▶ **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 27](#).
- ▶ **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 33](#).

## Contratto di licenza per l'utente finale

Al primo accesso all'interfaccia utente Web, all'utente viene chiesto di accettare il contratto di licenza dell'utente finale (End User License Agreement, EULA). Facendo clic su **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 23](#).



### 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.
Change Shared Folder Password (Modifica la password delle cartelle condivise)	Modifica la password sbsuser per l'accesso al sistema NAS.
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 v33 o versione successiva
  - ▶ Firefox v27 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 \\<VeriSeq Onsite Server IP address>\login.  
Ad esempio, \\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 fare clic su **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 viene visualizzato dopo l'accesso e rappresenta la finestra di navigazione principale. Per tornare al Dashboard (Pannello strumenti) in qualsiasi momento, fare clic sull'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

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)	La data e l'ora dell'attività
User (Utente)	Se applicabile, identifica l'utente che ha eseguito l'attività
Subsystem (Sottosistema)	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"> <li>• <b>Activity</b> (Attività): indica un'attività nel server come un riavvio del sistema o il login/logout di un utente.</li> <li>• <b>Notice</b> (Avviso): indica una fase non eseguita correttamente. Ad esempio, invalidamento di un campione e controllo qualità non riuscito.</li> <li>• <b>Warning</b> (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.</li> </ul>

## Visualizzazione degli errori recenti

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

Nome	Descrizione
When (Quando)	La data e l'ora dell'attività
User (Utente)	Se applicabile, identifica l'utente che ha eseguito l'attività
Subsystem (Sottosistema)	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"> <li>• <b>Urgent</b> (Urgente): errore hardware importante che compromette il funzionamento del sistema. Contattare l'Assistenza Tecnica Illumina.</li> <li>• <b>Alert</b> (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.</li> <li>• <b>Error</b> (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.</li> </ul>

## Visualizzazione dello stato del sistema e degli avvisi

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

- ▶ **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

## 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 supporto software continuo.
Administrator (Amministratore)	L'amministratore del laboratorio che imposta e gestisce le impostazioni di configurazione, amministra gli utenti, definisce l'elenco di sottoscrittori all'e-mail, modifica la password alle cartelle condivise 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 degli 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 Fare clic due volte su **Save** (Salva) per salvare e confermare le modifiche.  
Il nuovo utente appare ora nella schermata User Management (Gestione degli utenti).

## Modifica di utenti

Per modificare le informazioni relative agli utenti:

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

## Disattivazione di utenti

Per disattivare un utente:

- 1 Dalla schermata User Management (Gestione degli utenti), selezionare il nome utente prescelto.
- 2 Deselezionare la casella di controllo **Activate** (Attiva) e fare clic su **Save** (Salva).
- 3 Sul messaggio di conferma, fare clic su **Save** (Salva).  
Nella schermata User Management (Gestione degli 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 Dal menu Dashboard (Pannello strumenti), selezionare **Folders** (Cartelle).

- 2 Fare clic su **Add folder** (Aggiungi cartella).
- 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 Fare clic su **Save** (Salva).
- 5 Fare clic su **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 Dal menu Dashboard (Pannello strumenti), selezionare **Folders** (Cartelle).
- 2 Modificare il percorso Location (Posizione) e fare clic su **Save** (Salva).
- 3 Fare clic su **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 Dal menu Dashboard (Pannello strumenti), selezionare **Folders** (Cartelle).
- 2 Fare clic sul percorso Location (Posizione) per eseguire la modifica.
- 3 Fare clic su **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.

- 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



### NOTA

Il certificato di identificazione digitale (SHA1) viene visualizzato dopo la generazione o la rigenerazione di un certificato. Per maggiori informazioni, vedere [Rigenerazione di un certificato a pagina 27](#).

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



### NOTA

Il certificato SHA1 assicura che l'utente non riceva avvisi di certificato quando accede a VeriSeq NIPT Assay Software.

## 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.

- 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): l'indirizzo IP o il nome del server DNS per i server di sincronizzazione dell'orario mediante il protocollo di sincronizzazione sulla rete (Network Time Protocol, NTP)
  - ▶ **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 (solo lettura)
  - ▶ **Timezone** (Fuso orario): il fuso orario locale del server

- 2 Confermare che le voci inserite siano corrette e fare clic su **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).
- 4 Aprire il file scaricato e selezionare **Install Certificate** (Installa certificato).
- 5 Attenersi alle istruzioni contenute nell'importazione guidata per installare il certificato.
- 6 Fare clic su **OK** nella finestra di dialogo per chiudere le istruzioni.

## 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 Fare clic su **Regenerate Certificate and Reboot** (Rigenera certificato e riavvia) per procedere oppure fare clic su **Cancel** (Annulla) per uscire.

## Configurazione delle notifiche e-mail del sistema

VeriSeq NIPT Assay Software 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 58 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@<domain e-mail del cliente>, dove <domain e-mail del cliente> viene specificato dal team IT locale al momento dell'installazione del server.

## Creazione di un elenco di sottoscrittori all'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), fare clic sull'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 Fare clic su **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 Fare clic su **Save** (Salva).

## 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 inserite nel software durante la procedura di preparazione dei campioni (utilizzando il software API). Un foglio campioni contiene 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.



### NOTA

Si consiglia vivamente di NON modificare o alterare il file del foglio campioni in quanto generato dal sistema. Qualsiasi modifica può incidere negativamente sull'analisi a valle e può causare la mancata riuscita dell'analisi.

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

Nome colonna	Descrizione
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 indice
index2 (indice 2)	Sequenza nucleotidica del secondo adattatore
Sample_Project (Progetto_campione)	Identificazione del progetto per un dato campione; predefinito: vuoto
SexChromosomes (Cromosomi sessuali)	Analisi relativa ai cromosomi sessuali. Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>yes</b> (si): richiesta l'identificazione delle aneuploidie dei cromosomi sessuali e il sesso</li> <li>• <b>no</b> (no): non richiesta né l'identificazione delle aneuploidie dei cromosomi sessuali né il sesso</li> <li>• <b>sca</b> (aneuploidia del cromosoma sessuale): richiesta l'identificazione delle aneuploidie dei cromosomi sessuali, non richiesta l'identificazione del sesso</li> </ul>
SampleType (Tipo campione)	Tipo di campione. Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Singleton</b> (Singola): gravidanza di singolo embrione</li> <li>• <b>Twin</b> (Gemellare): gravidanza di più embrioni</li> <li>• <b>Control</b> (Controllo): campione di controllo di sesso noto e classificazione dell'aneuploidia</li> <li>• <b>NTC</b> (Controllo non templatato): campione di controllo non templatato (non DNA)</li> </ul>

## 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 36.

## Stime della frazione fetale

Con il termine frazione fetale si indica la percentuale di cellule libere, il DNA libero fetale circolante in un campione di sangue materno derivato dalla placenta. Assay Software calcola la frazione fetale stimata mediante una media ponderata predeterminata di due valori, un valore basato sulla distribuzione della dimensione del frammento di cfDNA e un valore basato sulle differenze nella copertura genomica tra cfDNA materno e fetale.<sup>1</sup>

## Statistiche utilizzate nel punteggio finale

I 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 dal confronto tra le regioni di copertura che possono essere influenzate dalla presenza di

<sup>1</sup>Kim, 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

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 di LLR. Assay Software valuta il valore LLR per ciascun cromosoma target e ciascun campione per fornire una determinazione dell'aneuploidia.

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.<sup>1</sup> 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).<sup>\*</sup> I campioni relativi ai feti maschili per i quali NCV\_X rientra nell'intervallo osservato nei campioni femminili euploidi possono essere identificati come [47,XXY]. 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. Le metriche di controllo qualità analitica e cutoff associati o intervalli accettabili sono elencati in *Metriche e limiti del controllo qualità analitica a pagina 37*. La seguente tabella descrive le metriche.

Categoria	Metrica	Descrizione
Conteggio QC	Clusters (Cluster)	Indica la densità cluster bassa (più probabile) o alta (estremamente improbabile).
Conteggio QC	NonExcludedSites (aligned_reads) (SitiNonEsclusi - letture_allineate)	Indica la profondità di sequenziamento minima richiesta per il rilevamento complessivo delle aneuploidie.
Punteggi probabili per i denominatori dei cromosomi	NCD_13 NCD_18 NCD_21 NCD_X NCD_Y	Indica l'uniformità di copertura per il sequenziamento dell'intero genoma, in relazione al comportamento previsto. I campioni che non superano questa metrica di controllo qualità presentano forti anomalie genomiche (al di fuori delle regioni di interesse per il rilevamento di aneuploidie) oppure le librerie per questi campioni non sono distorte.
Distribuzione della dimensione del frammento	FragSizeDist (frag_size_dist) - (DistDimFrag - dist_dim_frag)	Indica la ripartizione della distribuzione della dimensione del frammento di cfDNA, relativa al comportamento previsto. Ad esempio, il DNA genomico frammentato presenta una distribuzione della dimensione del frammento diversa da quella del cfDNA e non supererà questa metrica.

<sup>1</sup>Bianchi 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.

Categoria	Metrica	Descrizione
Copertura relativa alla frazione fetale	NES_FF_QC (Siti non esclusi_frazione fetale_controllo qualità)	Indica la profondità di sequenziamento sufficiente data la frazione fetale stimata per un determinato campione. Il rilevamento di aneuploidie in campioni con frazione fetale elevata a un determinato livello di affidabilità può essere raggiunto a una profondità di sequenziamento inferiore rispetto ai campioni con frazione fetale inferiore.
Copertura relativa alla frazione fetale	iFACT (Test di sicurezza fetale delle aneuploidie individuale)	Indica se è stata osservata una profondità di sequenziamento sufficiente, data la frazione fetale stimata per un determinato campione. Il rilevamento di aneuploidie in campioni con frazione fetale elevata a un determinato livello di affidabilità può essere raggiunto a una profondità di sequenziamento inferiore rispetto ai campioni con frazione fetale inferiore.

## 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 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 due campioni NTC per raggruppamento. Per maggiori informazioni, vedere *Metriche e limiti superiore e inferiore del controllo qualità del sequenziamento* a pagina 36.

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 della 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

VeriSeq Onsite Server viene eseguito su un sistema operativo su base 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 archiviazione minima, viene inviata una notifica automatica. Il server viene installato sulla rete locale.

## Archiviazione dei dati

Illumina raccomanda di archiviare le directory /data01/runs e /data01/analysis\_output in base alle politiche IT locali per l'archiviazione adottate presso la sede. Assay Software monitora lo spazio su disco rimanente nella directory /data01/runs 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 ad Analysis 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. Il server fornisce più di 7,5 TB di spazio di archiviazione, che è sufficiente per circa 300 corse di sequenziamento.

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

## 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 SMB1 e SMB2. Assicurarsi che queste versioni siano abilitate 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 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 sono rimossi dopo la creazione di un backup mensile e viene archiviato solo un backup mensile. La pratica raccomandata è creare uno script automatico che possa essere salvato in modo permanente nella cartella di backup su un sistema NAS locale.
- ▶ **Database restore** (Ripristino del database): il database può essere ripristinato da una determinata istantanea di backup. I ripristini vengono eseguiti solo dal personale dell'Assistenza Illumina.
- ▶ **Data backup** (Backup dei dati): sebbene Onsite Server possa essere utilizzato come punto di archiviazione principale per le corse di sequenziamento, può solo archiviare 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 un sistema NAS.
- ▶ **Maintenance** (Manutenzione): oltre al backup dei dati, Onsite Server non richiede alcuna manutenzione da parte dell'utente. Gli aggiornamenti per Assay Software o Onsite Server stesso sono forniti dall'Assistenza Tecnica Illumina.

## Mappatura delle unità del server

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

- ▶ **input:** esegue la mappatura alle cartelle dei dati del sequenziamento ed è installata 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.

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 IP address>\<nome cartella>. Ad esempio: \\10.50.132.92\input.
- 5 Inserire il nome utente e la password.  
Le cartelle mappate correttamente vengono visualizzate come installate sul computer.



### NOTA

La mappatura del disco locale si basa sul protocollo Server Message Block (SMB). Il software al momento supporta le versioni SMB1 e SMB2. Assicurarsi che queste versioni siano abilitate sulle apparecchiature (portatile/workstation) utilizzate per la mappatura.

## Logout

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

## 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** (Arresta) per arrestare Onsite Server oppure selezionare **Cancel** (Annulla) per uscire senza arrestare il server.
- 3 Inserire un motivo per cui Onsite Server verrà arrestato.  
Il motivo viene registrato per la risoluzione dei problemi.

## Recupero da uno spegnimento inaspettato

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.
- ▶ 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 per l'analisi fino a tre volte.

# Metriche di controllo qualità (QC)

Metriche e limiti del controllo qualità della quantizzazione .....	35
Metriche e limiti superiore e inferiore del controllo qualità del sequenziamento .....	36
Metriche e limiti del controllo qualità analitica .....	37
Controllo qualità dei campioni NTC (Controllo non templatato) .....	38

## Metriche e limiti del controllo qualità della quantizzazione

Metrica	Descrizione	Limite inferiore	Limite superiore	Ragione
standard_r_squared (r_standard_al quadrato)	Il valore r al quadrato del modello della curva degli standard	0,980	N/A	I modelli della curva degli standard che mostrano la linearità nello spazio log-log non predicano 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/A	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_mediana_pg_ul)	Il valore mediano della concentrazione calcolata per tutti i campioni in un batch	16 pg/μl	N/A	Un raggruppamento in pool di sequenziamento di volume appropriato non può presentare un numero eccedente 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	Ragione
cluster_density (densità_cluster)	Densità dei cluster di sequenziamento	152.000 per mm <sup>2</sup>	338.000 per mm <sup>2</sup>	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/A	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/A	≤0,003	Raccomandazioni empiricamente ottimizzate per VeriSeq NIPT Solution.
phasing (determinazione delle fasi)	Frazione di determinazione delle fasi (phasing)	N/A	≤0,004	Raccomandazioni empiricamente ottimizzate per VeriSeq NIPT Solution.
predicted_aligned_reads (letture_ allineate_previste)	Il numero medio stimato di frammenti mappati univocamente per campione	≥4.000.000	N/A	Determinato come siti non esclusi (NES) sulla popolazione normale.

## Metriche e limiti del controllo qualità analitica

Categoria	Metrica	Limite inferiore	Limite superiore	Messaggio di errore	Percentuale di errore prevista	Cause potenziali
Conteggio QC	NonExcludedSites (aligned_reads) (SitiNonEsclusi - letture_allineate)	2.000.000	60.000.000	FAILED iFACT (iFACT non riuscito)	<1%	Libreria scarsa o quantificazione errata della libreria; basso numero di cluster; potenzialmente recuperabile alla nuova elaborazione dal plasma.
Punteggi probabili per i denominatori dei cromosomi	<ul style="list-style-type: none"> <li>• NCD_13</li> <li>• NCD_18</li> <li>• NCD_21</li> <li>• NCD_X</li> <li>• NCD_Y</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>• -17,61</li> <li>• -16,40</li> <li>• -17,20</li> <li>• -14,89</li> <li>• -42,97</li> </ul>	10.000 (per tutti)	DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Dati fuori dall'intervallo previsto)	<0,2%	Rappresentazione cromosomica inaspettata in qualche punto nel genoma; improbabile che venga risolta rielaborando il campione. Possibile motivo: dati al di fuori dell'intervallo previsto.
Distribuzione della dimensione del frammento	FragSizeDist (frag_size_dist) - (DistDimFrag - dist_dim_frag)	0	0,07	FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Distribuzione della dimensione del frammento fuori dall'intervallo previsto)	<1%	Distribuzione inaspettata delle dimensioni dei frammenti. Possibile motivo: procedura di selezione della dimensione non riuscita, bassa copertura, campione compromesso.
Copertura relativa alla frazione fetale	NES_FF_QC (Siti non esclusi_ frazione fetale_ controllo qualità)	0	1,5	FAILED iFACT (iFACT non riuscito)	circa 1,2%	Copertura insufficiente relativa alla frazione fetale.

## 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 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 due campioni NTC per raggruppamento. Per maggiori informazioni, vedere *Metriche e limiti superiore e inferiore del controllo qualità del sequenziamento a pagina 36*.

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 della 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).

# Report di sistema

Introduzione .....	39
Riepilogo dei report di sistema .....	40
Eventi di generazione di report .....	41
Report dei risultati e delle notifiche .....	43
Report di elaborazione .....	49

## 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

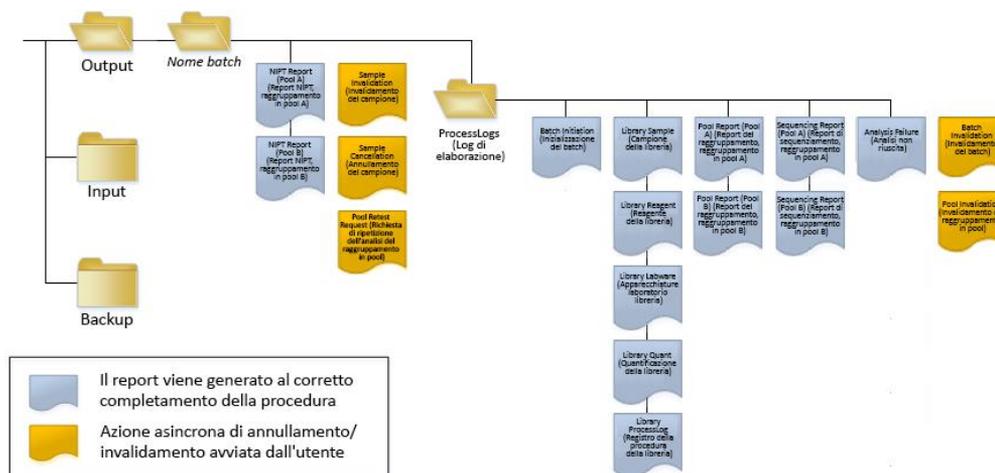
I report di Assay Software vengono generati sul disco rigido di Onsite Server interno mappato al disco dell'utente come una cartella di output di solo lettura. Ciascun report viene generato con un file checksum MD5 corrispondente, che permette di verificare che non siano state apportate modifiche al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

Tutti i report sono in formato testo formattato come 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 43.
- ▶ **Cartella ProcessLog** (RegistroProcedura): contiene i report relativi alla procedura. Per i dettagli, vedere *Report di elaborazione* a pagina 49

Un elenco di tutti i report sono forniti in *Riepilogo dei report di sistema* a pagina 40.

## 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 in pool/cella a flusso	<nome_batch>_A_<codiceabbarre_report>_<cellaaflusso>_nipt_report_20150528_163503.tab
<i>Sample Invalidation Report (Report di invalidamento del campione)</i>	Perseguibile	Campione	<nome_batch>_<codiceabbarre_campione>_sample_invalidation_report_20150528_163503.tab
<i>Sample Cancellation Report (Report di annullamento del campione)</i>	Perseguibile	Campione	<nome_batch>_<codiceabbarre_campione>_sample_cancellation_report_20150528_163503.tab
<i>Pool Retest Request Report (Report richiesta ripetizione test del raggruppamento in pool)</i>	Perseguibile	Raggruppamento in pool	<nome_batch>_<tipo_raggruppamento>_pool_retest_request_20150528_163503.tab
<i>Batch Initiation Report (Report di inizializzazione del batch)</i>	Informativo	Batch	ProcessLogs/<nome_batch>_batch_initiation_report_20150528_163503.tab
<i>Batch Invalidation Report (Report di invalidamento del batch)</i>	Informativo	Batch	ProcessLogs/<nome_batch>_batch_invalidation_report_20150528_163503.tab
<i>Library Sample Report (Report dei campioni della libreria)</i>	Informativo	Batch	ProcessLogs/<nome_batch>_library_sample_report_20150529_083503.tab
<i>Library Reagent Report (Report dei reagenti della libreria)</i>	Informativo	Batch	ProcessLogs/<nome_batch>_library_reagent_report_20150529_163503.tab
<i>Library Labware Report (Report sulle apparecchiature di laboratorio della libreria)</i>	Informativo	Batch	ProcessLogs/<nome_batch>_library_labware_report_20150518_163503.tab

Nome del report	Tipo di report	Entità del report	Formato del nome del file del report
<i>Library Quant Report (Report di quantificazione della libreria)</i>	Informativo	Batch	ProcessLogs/<nome_batch>_library_quant_report_20150518_163503.tab
<i>Library Process Log (Registro elaborazione libreria)</i>	Informativo	Batch	ProcessLogs/<nome_batch>_library_process_log.tab
<i>Pool Report (Report sul raggruppamento in pool)</i>	Informativo	Raggruppamento in pool	ProcessLogs/<nome_batch>_<codiceabarre_raggruppamento>_pool_report_20150528_163503.tab
<i>Pool Invalidation Report (Report di invalidamento del raggruppamento in pool)</i>	Informativo	Raggruppamento in pool	ProcessLogs/<nome_batch>_<codiceabarre_raggruppamento>_pool_invalidation_report_20150528_163503.tab
<i>Sequencing Report (Report di sequenziamento)</i>	Informativo	Raggruppamento in pool/cella a flusso	ProcessLogs/<nome_batch>_A_<codiceabarre_raggruppamento>_<cellaaflusso>_sequencing_report_20150528_163503.tab ProcessLogs/<nome_batch>_B_<codiceabarre_raggruppamento>_<cellaaflusso>_sequencing_report_20150528_163503.tab
<i>Analysis Failure Report (Report di analisi non riuscita)</i>	Informativo	Raggruppamento in pool/cella a flusso	ProcessLogs/<nome_batch>_<codiceabarre_raggruppamento>_analysis_failure_report_20150528_163503.tab

## Eventi di generazione di report

Report	Descrizione	Evento di generazione
NIPT	Contiene i risultati finali di una corsa di analisi corretta	<ul style="list-style-type: none"> <li>L'analisi della corsa di sequenziamento è stata completata</li> </ul>
Sample Invalidation (Invalidamento del campione)	Contiene le informazioni su un campione invalidato	<ul style="list-style-type: none"> <li>L'utente ha invalidato un campione</li> </ul>
Sample Cancelation (Annullamento del campione)	Contiene le informazioni su un campione annullato	<ul style="list-style-type: none"> <li>L'utente ha annullato un campione</li> </ul>
Pool Retest Request (Richiesta di ripetizione dell'analisi del raggruppamento in pool)	Indica che può essere generato un secondo raggruppamento in pool da un batch esistente. Contiene informazioni sullo stato del raggruppamento in pool reimpostato. <sup>1</sup>	<ul style="list-style-type: none"> <li>L'utente ha invalidato un raggruppamento in pool</li> </ul>
Batch Initiation (Inizializzazione del batch)	Indica che è stata avviata l'elaborazione di un nuovo batch	<ul style="list-style-type: none"> <li>L'utente ha avviato un nuovo batch</li> </ul>
Batch Invalidation (Invalidamento del batch)	Contiene informazioni su un batch invalidato dall'utente	<ul style="list-style-type: none"> <li>Il batch è stato invalidato</li> </ul>

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

<sup>1</sup> L'utente invalida un raggruppamento in pool da un batch valido che non ha superato il numero massimo di raggruppamenti in pool.

## Report dei risultati e delle notifiche

### NIPT Report (Report NIPT)

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

Colonna	Descrizione	Opzioni di valore preimpostato	Tipo	Espressione regolare (regex)
batch_name (nome_batch)	Il nome del batch.	N/A	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode (codice a barre_campione)	Il codice a barre univoco del campione.	N/A	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_type (tipo_campione)	Le informazioni relative al tipo di campione fornito dal punto di raccolta. Determina la presentazione della classificazione delle aneuploidie.	Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>Singleton</b> (Singola): gravidanza di singolo embrione</li> <li>• <b>Twin</b> (Gemellare): gravidanza di più embrioni</li> <li>• <b>Control</b> (Controllo): campione di controllo di sesso noto e classificazione dell'aneuploidia</li> <li>• <b>NTC</b> (Controllo non templatato): campione di controllo non templatato (non DNA)</li> </ul>	enum	I valori specificati nelle opzioni dei valori preimpostati
sex_chrom (cromosoma_sessuale)	È richiesta l'analisi dei cromosomi sessuali. Determina la presentazione della classificazione delle aneuploidie.	Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>yes</b> (si): richiesta l'identificazione delle aneuploidie dei cromosomi sessuali e il sesso</li> <li>• <b>no</b> (no): non richiesta né l'identificazione delle aneuploidie dei cromosomi sessuali né il sesso</li> <li>• <b>sca</b> (aneuploidia del cromosoma sessuale): richiesta l'identificazione delle aneuploidie dei cromosomi sessuali, non richiesta l'identificazione del sesso</li> </ul>	enum	I valori specificati nelle opzioni dei valori preimpostati
flowcell (cella a flusso)	Il codice a barre della cella a flusso di sequenziamento.	N/A	testo	NA

Colonna	Descrizione	Opzioni di valore preimpostato	Tipo	Espressione regolare (regex)
class_13 (classe_13)	I risultati della classificazione dell'aneuploidia per il cromosoma 13.	Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ANEUPLOIDY DETECTED</b> (Aneuploidia rilevata)</li> <li>• <b>NO ANEUPLOIDY DETECTED</b> (Nessuna aneuploidia rilevata)</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (Annullato)</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Invalidato)</li> <li>• <b>NA</b></li> </ul>	class_13 (classe_13)	I risultati della classificazione dell'aneuploidia per il cromosoma 13
class_18 (classe_18)	I risultati della classificazione dell'aneuploidia per il cromosoma 18.	Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ANEUPLOIDY DETECTED</b> (Aneuploidia rilevata)</li> <li>• <b>NO ANEUPLOIDY DETECTED</b> (Nessuna aneuploidia rilevata)</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (Annullato)</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Invalidato)</li> <li>• <b>NA</b></li> </ul>	class_18 (classe_18)	I risultati della classificazione dell'aneuploidia per il cromosoma 18
class_21 (classe_21)	I risultati della classificazione dell'aneuploidia per il cromosoma 21.	Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ANEUPLOIDY DETECTED</b> (Aneuploidia rilevata)</li> <li>• <b>NO ANEUPLOIDY DETECTED</b> (Nessuna aneuploidia rilevata)</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (Annullato)</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Invalidato)</li> <li>• <b>NA</b></li> </ul>	class_21 (classe_21)	I risultati della classificazione dell'aneuploidia per il cromosoma 21

Colonna	Descrizione	Opzioni di valore preimpostato	Tipo	Espressione regolare (regex)
class_sx (classe_ sessuale)	Classificazione del cromosoma sessuale per l'aneuploidia.	<p>Uno dei seguenti:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ANEUPLOIDY DETECTED – XO</b> (Aneuploidia rilevata, XO): monosomia X</li> <li>• <b>ANEUPLOIDY DETECTED – XXX</b> (Aneuploidia rilevata, XXX): trisomia X</li> <li>• <b>ANEUPLOIDY DETECTED – XXY</b> (Aneuploidia rilevata, XXY): due cromosomi X nei maschi</li> <li>• <b>ANEUPLOIDY DETECTED – XYY</b> (Aneuploidia rilevata, XYY): due cromosomi Y</li> <li>• <b>NO ANEUPLOIDY DETECTED</b> (Nessuna aneuploidia rilevata): non sono stati riportati campioni negativi o sessuali</li> <li>• <b>NO ANEUPLOIDY DETECTED – XX</b> (Nessuna aneuploidia rilevata - XX): campione negativo con un feto femmina</li> <li>• <b>NO ANEUPLOIDY DETECTED – XY</b> (Nessuna aneuploidia rilevata - XY): campione negativo con un feto maschio</li> <li>• <b>SEX CHROMOSOMES NOT REPORTABLE</b> (Cromosomi sessuali non riportabili): il software non è stato in grado di riportare cromosomi sessuali</li> <li>• <b>NO CHR Y PRESENT</b> (Non è presente un cromosoma Y): nella gravidanza gemellare non è stato rilevato alcun cromosoma Y</li> <li>• <b>NO CHR X PRESENT</b> (Non è presente un cromosoma X): nella gravidanza gemellare non è stato rilevato alcun cromosoma X</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (Annullato): il campione è stato annullato dall'utente</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Invalidato): il campione non ha superato il controllo qualità o è stato invalidato dall'utente</li> <li>• <b>NOT TESTED</b> (Non testato): il cromosoma sessuale non è stato testato</li> </ul>	class_sx (classe_ sessuale)	Classificazione del cromosoma sessuale per l'aneuploidia

Colonna	Descrizione	Opzioni di valore preimpostato	Tipo	Espressione regolare (regex)
qc_flag (indicatore_ controllo qualità)	I risultati dell'analisi di controllo qualità.	Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>CANCELLED</b> (Annullato)</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Invalidato)</li> <li>• <b>PASS</b> (Superato)</li> <li>• <b>NTC_PASS</b> (NTC non superato)</li> <li>• <b>FAIL</b> (Non superato)</li> </ul>	enum	I valori specificati nelle opzioni dei valori preimpostati
qc_failure (mancata riuscita_ controllo qualità)	Informazioni sulla mancata riuscita del controllo qualità.	Uno dei seguenti: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>FAILED iFACT</b> (iFACT non riuscito)</li> <li>• <b>DATA OUTSIDE OF EXPECTED RANGE</b> (Dati fuori dall'intervallo previsto)</li> <li>• <b>FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE</b> (Distribuzione della dimensione del frammento fuori dall'intervallo previsto)</li> <li>• <b>NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE</b> (Campione di controllo non templato con elevata copertura)</li> <li>• <b>CANCELLED</b> (Annullato)</li> <li>• <b>INVALIDATED</b> (Invalidato)</li> <li>• <b>NONE</b> (Nessuno) (stato controllo qualità = superato)</li> </ul>	testo	I valori specificati nelle opzioni dei valori preimpostati
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%.	testo	NA

## Messaggi di mancato superamento del controllo qualità

Il mancato superamento del controllo qualità dell'analisi provoca la totale eliminazione dei risultati per aneuploidia cromosomica, classificazione sessuale e stima della frazione fetale stimata, che corrispondono ai seguenti campi in NIPT Report (Report NIPT): class\_13 (classe\_13), class\_18 (classe\_18), class\_21 (classe\_21), class\_sx (classe\_sessuale) e ff (frazione fetale).

Messaggio di mancato superamento del controllo 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 dalla copertura delle aneuploidie su cromosomi non target Probabilmente associato a trisomia o monosomia di qualsiasi cromosoma target o varianti non specifiche di un ampio numero di copie sui cromosomi.	Rielaborare il campione
FRAGMENT SIZE DISTRIBUTION OUTSIDE OF EXPECTED RANGE (Distribuzione della dimensione del frammento fuori dall'intervallo previsto)	La distribuzione dei dati non è coerente con la distribuzione prevista dei dati. Probabilmente causata dalla contaminazione o dall'elaborazione non corretta del campione.	Rielaborare il campione
NTC SAMPLE WITH HIGH COVERAGE (Campione di controllo non templatato 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 dagli utenti.	NA
INVALIDATED (Invalidato)	Il campione è stato invalidato dagli utenti.	

## Sample Invalidation Report (Report di invalidamento del campione)

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

Colonna	Descrizione	Tipo	Espressione regolare (regex)
batch_name (nome_batch)	Il nome del batch	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode (codice a barre_campione)	Il codice a barre univoco del campione invalidato	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reason (motivo)	Il motivo fornito dall'utente per l'invalidamento del campione	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$

Colonna	Descrizione	Tipo	Espressione regolare (regex)
operator (operatore)	Il nome utente dell'operatore che ha invalidato il campione o che non ha portato a termine l'analisi del campione	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Data e ora dell'invalidamento del campione	timestamp ISO 8601	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	Tipo	Espressione regolare (regex)
batch_name (nome_batch)	Il nome del batch	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode (codice a barre_campione)	Il codice a barre univoco del campione annullato	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reason (motivo)	Il motivo fornito dall'utente per l'annullamento del campione	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
operator (operatore)	Il nome utente dell'operatore che ha annullato il campione	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Data e ora dell'annullamento del campione	timestamp ISO 8601	timestamp ISO 8601

## Pool Retest Request Report (Report richiesta ripetizione test del raggruppamento in pool)

Il Pool Retest Request Report (Report richiesta ripetizione test del raggruppamento in pool) indica che possono essere nuovamente raggruppati Pool A (Raggruppamento in pool A) o Pool B (Raggruppamento in pool B). Il sistema genera un report Pool Retest Request (Richiesta ripetizione test del raggruppamento in pool) quando le prime due possibili corse di sequenziamento (raggruppamenti in pool) per Pool A (Raggruppamento in pool A) o Pool B (Raggruppamento in pool B) sono invalidate.

Colonna	Descrizione	Tipo	Espressione regolare (regex)
batch_name (nome_batch)	Il nome del batch	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_type (tipo_raggruppamento in pool)	Il tipo del raggruppamento in pool Opzioni: A, B, C	enum	Valori specificati in Description (Descrizione)
reason (motivo)	Motivo fornito dall'utente per l'invalidamento del primo raggruppamento in pool	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	La data e l'ora della richiesta	timestamp ISO 8601	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	Tipo	Espressione regolare (regex)
batch_name (nome_batch)	Il nome del batch	testo	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
sample_barcode (codice a barre_campione)	Il codice a barre univoco del campione	testo	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
sample_type (tipo_campione)	Il tipo di campione del codice a barre del campione Opzioni: Singleton (Feto singolo), Control (Controllo), Twin (Gemellare), Control (Controllo), NTC (Controllo non templato)	enum	Valore specificato in Description (Descrizione)
well (pozzetto)	Il pozzetto associato a un campione	testo	^[a-zA-Z]{1,1}[0-9]{1,2}\$
assay (saggio)	Il nome del saggio	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$
method_version (versione_metodo)	La versione del metodo di automazione del saggio	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,100}\$

### 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	Tipo	Espressione regolare (regex)
batch_name (nome_batch)	Il nome del batch	testo	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
reason (motivo)	Il motivo fornito dall'utente per l'invalidamento del batch	testo	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
operator (operatore)	Le iniziali dell'operatore che ha invalidato il batch	testo	^[a-zA-Z0-9_]{1,36}\$
timestamp	La data e ora dell'invalidamento del batch	timestamp ISO 8601	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 invalidato, al completamento corretto della libreria e al completamento corretto della quantificazione.

Colonna	Descrizione	Tipo	Espressione regolare (regex)
batch_name (nome_batch)	Il nome del batch	testo	^[a-zA-Z0-9-]{1,36}\$
sample_barcode (codice a barre_campione)	Il codice a barre univoco del campione	testo	^[a-zA-Z0-9-]{1,36}\$
qc_status (stato_qc)	Lo stato del campione dopo il completamento delle fasi del saggio	enum	Superato/non superato
qc_reason (motivo_qc)	Il motivo per lo stato del controllo qualità Opzioni valori: pass (superato), fail (non superato)	testo	^[a-zA-Z0-9-]{1,36}\$
starting_volume (volume_iniziale)	Il volume iniziale della provetta di raccolta del sangue al momento dell'isolamento del plasma	mobile	
index (indice)	L'indice associato a un campione	testo	^[a-zA-Z0-9-]{1,36}\$
ccn_library_pg_µl (concentrazione_libreria_pg_µl)	La concentrazione della libreria in pg/µl	mobile	
plasma_isolation_comments (commenti_isolamento_plasma)	I commenti dell'utente quando si esegue l'isolamento del plasma (testo libero)	testo	^[a-zA-Z0-9-]{1,36}\$
cfdna_extraction_comments (commenti_estrazione_cfDNA)	I commenti dell'utente quando si esegue l'estrazione del cfDNA (testo libero)	testo	^[a-zA-Z0-9-]{1,36}\$
library_prep_comments (commenti_preparazione_librerie)	I commenti dell'utente quando si esegue la preparazione delle librerie (testo libero)	testo	^[a-zA-Z0-9-]{1,36}\$
quantitation_comments (commenti_quantitazione)	I commenti dell'utente quando si esegue la quantificazione (testo libero)	testo	^[a-zA-Z0-9-]{1,36}\$

## 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	Tipo	Espressione regolare (regex)
batch_name (nome_batch)	Il nome del batch	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
process (procedura)	Il nome della procedura. Opzioni: <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>ISOLATION</b> (Isolamento): batch_validation (convalida_batch), prespin (pre-centrifuga), postspin (post-centrifuga), data_transact (transazione_dati)</li> <li>• <b>EXTRACTION</b> (Estrazione): setup (impostazione), chemistry (chimica), data_transact (transazione_dati)</li> <li>• <b>LIBRARY</b> (Librerie): setup (impostazione), chemistry (chimica), data_transact (transazione_dati), complete (completo)</li> <li>• <b>QUANT</b> (Quantificazione): setup (impostazione), build_standards (build_standard), build_384 (build_384), analysis (analisi), data_transact (transazione_dati)</li> <li>• <b>POOLING</b> (Raggruppamento in pool): analysis (analisi), setup (impostazione), pooling (raggruppamento in pool), data_transact data_transact (transazione_dati), complete (completo)</li> </ul>	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reagent_name (nome_reagente)	Il nome del reagente	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
lot (lotto)	Il codice a barre del reagente	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
expiration_date (data_scadenza)	La data di scadenza nel formato del produttore	testo	^[a-zA-Z0-9:/_-]{1,100}\$
operator (operatore)	Il nome utente dell'operatore	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
initiated (avviato)	Il timestamp di avvio associato con il reagente	timestamp ISO 8601	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	Tipo	Espressione regolare (regex)
batch_name (nome_batch)	Il nome del batch	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
labware_name (nome_apparecchiatura_laboratorio)	Il nome dell'apparecchiatura di laboratorio	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
labware_barcode (codice_a_barre_apparecchiatura_laboratorio)	Il codice a barre dell'apparecchiatura di laboratorio	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
initiated (avviato)	Il timestamp di avvio associato con l'apparecchiatura di laboratorio	timestamp ISO 8601	timestamp ISO 8601

## Library Quant Report (Report di quantificazione della libreria)

Il sistema genera un Library Quant Report (Report di quantificazione della libreria) al completamento corretto della quantificazione.

Colonna	Descrizione	Tipo	Espressione regolare (regex)
batch_name (nome_batch)	Il nome del batch	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
quant_id (id_quantificazione)	Identificazione numerica	lungo	
instrument (strumento)	Il nome dello strumento di quantificazione (testo libero)	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
standard_r_squared (r_standard_al quadrato)	R al quadrato	mobile	
standard_intercept (intercetta_standard)	Intercetta	mobile	
standard_slope (pendenza_standard)	Pendenza	mobile	

Colonna	Descrizione	Tipo	Espressione regolare (regex)
median_ccn_pg_ul (concentrazione_mediana_pg_ul)	Concentrazione media del campione	mobile	
qc_status (stato_qc)	Stato del controllo qualità relativo alla quantificazione	enum	Superato/non superato
qc_reason (motivo_qc)	Descrizione del motivo della mancata riuscita, se presente	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
initiated (avviato)	Timestamp di avvio associato alla quantificazione	timestamp ISO 8601	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 in pool).

Colonna	Descrizione	Tipo	Espressione regolare (regex)
batch_name (nome_batch)	Il nome del batch	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
process (procedura)	Il nome dell'elaborazione del batch. Opzioni: <b>ISOLATION</b> (Isolamento): batch_validation (convalida_batch), prespin (pre-centrifuga), postspin (post-centrifuga), data_transact (transazione_dati) <b>EXTRACTION</b> (Estrazione): setup (impostazione), chemistry (chimica), data_transact (transazione_dati) <b>LIBRARY</b> (Librerie): setup (impostazione), chemistry (chimica), data_transact (transazione_dati), complete (completo) <b>QUANT</b> (Quantificazione): setup (impostazione), build_standards (build_standard), build_384 (build_384), analysis (analisi), data_transact (transazione_dati) <b>POOLING</b> (Raggruppamento in pool): analysis (analisi), setup (impostazione), pooling (raggruppamento in pool), data_transact data_transact (transazione_dati), complete (completo)	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
operator (operatore)	Le iniziali dell'operatore	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
instrument (strumento)	Nome dello strumento	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
started (avviato)	La data e l'ora dell'avvio dell'elaborazione del batch	timestamp ISO 8601	timestamp ISO 8601
finished (terminato)	La data e l'ora del completamento o della mancata riuscita dell'elaborazione del batch	timestamp ISO 8601	timestamp ISO 8601

Colonna	Descrizione	Tipo	Espressione regolare (regex)
status (stato)	Il batch attuale Opzioni: completed (completato), failed (non riuscito), started (avviato), aborted (interrotto)	enum	Valori specificati in Description (Descrizione)

## Pool Report (Report sul raggruppamento in pool)

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

Colonna	Descrizione	Tipo	Espressione regolare (regex)
batch_name (nome_batch)	Il nome del batch	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
sample_barcode (codice a barre_campione)	Il codice a barre univoco del campione	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode (codice a barre_raggruppamento in pool)	Il codice a barre del raggruppamento in pool associato con un campione	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_type (tipo_raggruppamento in pool)	Il tipo di raggruppamento in pool associato a un campione Opzioni: A, B, C	enum	Valori specificati in Description (Descrizione)
pooling_volume_μl (volume_μl_raggruppamento in pool)	Il volume in μl del raggruppamento in pool	mobile	
pooling_comments (commenti_raggruppamento in pool)	I commenti dell'utente quando si esegue il raggruppamento in pool (testo libero)	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$

## Pool Invalidation Report (Report di invalidamento del raggruppamento in pool)

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

Colonna	Descrizione	Tipo	Espressione regolare (regex)
batch_name (nome_batch)	Il nome del batch	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode (codice a barre_raggruppamento in pool)	Il codice a barre del raggruppamento in pool per il raggruppamento invalidato	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
reason (motivo)	Il motivo fornito dall'utente per l'invalidamento del raggruppamento in pool	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
operator (operatore)	Le iniziali dell'operatore che ha invalidato il raggruppamento in pool	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
timestamp	Data e ora dell'invalidamento del raggruppamento in pool	timestamp ISO 8601	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	Tipo	Espressione regolare (regex)
batch_name (nome_batch)	Il nome del batch	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode (codice a barre_raggruppamento in pool)	Il codice a barre del raggruppamento in pool associato con la corsa di sequenziamento	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
instrument (strumento)	Il numero di serie del sequenziatore	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
flowcell (cella a flusso)	La cella a flusso associata con la corsa di sequenziamento	testo	NA
software_version (versione_software)	L'insieme di applicazione/versione del software utilizzato per analizzare i dati sullo strumento	testo	
run_folder (cartella_corsa)	Il nome della cartella della corsa di sequenziamento	testo	
sequencing_status (stato_sequenziamento)	Lo stato della corsa di sequenziamento Opzioni valori: completed (completato), timeout (timed out)	enum	Valori specificati in Description (Descrizione)

Colonna	Descrizione	Tipo	Espressione regolare (regex)
qc_status (stato_qc)	Lo stato del controllo qualità della corsa di sequenziamento Opzioni valori: pass (superato), fail (non superato)	enum	Valori specificati in Description (Descrizione)
qc_reason (motivo_qc)	I motivi della mancata riuscita del controllo qualità, valori separati dal punto e virgola	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
cluster_density (densità_cluster)	La densità dei cluster (mediana per la cella a flusso sulle tile)	mobile	
pct_q30 (percentuale_q30)	La percentuale di basi che superano il punteggio qualitativo di Q30	mobile	
pct_pf (percentuale_attraversano il filtro)	La percentuale di letture che attraversano il filtro	mobile	
phasing (determinazione delle fasi)	Determinazione delle fasi (phasing)	mobile	
prephasing (predeterminazione delle fasi)	Predeterminazione delle fasi (prephasing)	mobile	
predicted_aligned_reads (letture_allineate_previste)	Letture allineate previste	mobile	
started (avviato)	Il timestamp associato con l'avvio del sequenziamento	timestamp ISO 8601	timestamp ISO 8601
completed (completato)	Il timestamp associato con il completamento del sequenziamento	timestamp ISO 8601	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	Tipo	Espressione regolare (regex)
batch_name (nome_batch)	Il nome del batch	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
pool_barcode (codice a barre_raggruppamento in pool)	Il codice a barre del raggruppamento in pool con l'analisi non riuscita	testo	^[a-zA-Z0-9_-]{1,36}\$
flowcell (cella a flusso)	Il codice a barre della cella a flusso associato con l'analisi non riuscita	testo	NA
sequencing_run_folder (cartella_corsa_sequenziamento)	Lo stato della corsa di sequenziamento associato con l'analisi non riuscita	testo	

Colonna	Descrizione	Tipo	Espressione regolare (regex)
analysis_run_status (stato_analisi_corsa)	Lo stato della corsa di sequenziamento associato con l'analisi non riuscita Opzioni valore: failed_max_analysis_attempts (numero massimo_tentativi_analisi_non riuscita)	testo	Valori specificati in Description (Descrizione)
timestarted (momento dell'avvio)	Il timestamp associato con l'avvio dell'analisi	timestamp ISO 8601	timestamp ISO 8601
timefinished (momento dell'arresto)	Il timestamp associato con l'arresto dell'analisi	timestamp ISO 8601	timestamp ISO 8601

# Risoluzione dei problemi

Introduzione .....	58
Notifiche di Assay Software .....	58
Problemi del sistema .....	67
Test dell'elaborazione dei dati .....	68

## Introduzione

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

- ▶ Le notifiche di sistema e di Assay Software
- ▶ Le azioni raccomandate 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	NA
Batch Library Complete (Libreria completata per il batch)	Preparazione delle librerie	È stata completata la libreria per il batch attuale	Attività	No	NA
Pool Complete (Raggruppamento in pool completato)	Preparazione delle librerie	È stato generato il raggruppamento in pool da un batch	Attività	No	NA
Sequencing Started (Sequenziamento avviato)	Sequenziamento	Il sistema ha rilevato una nuova cartella dei dati del sequenziamento	Attività	No	NA
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	NA
Analysis Started (Analisi avviata)	Analisi	L'analisi è stata avviata per la corsa di sequenziamento selezionata	Attività	Sì	NA
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	NA

## 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	NA
Pool Invalidation – Repool (Invalidamento del raggruppamento n pool - raggruppare di nuovo)	Preparazione delle librerie	L'utente ha invalidato il primo raggruppamento in pool possibile (di un certo tipo) per il batch	Avviso	Sì	NA
Pool Invalidation – Use second aliquot (Invalidamento del raggruppamento in pool - usare seconda aliquota)	Preparazione delle librerie	L'utente ha invalidato il primo raggruppamento in pool possibile (di un certo tipo) per il batch	Avviso	Sì	NA
Sequencing Completed Pool Invalidated (Sequenziamento completato e raggruppamento in pool invalidato)	Sequenziamento	La corsa di sequenziamento è stata completata mentre l'utente ha invalidato il raggruppamento in pool	Avviso	Sì	NA
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	NA
Analysis Completed Pool Invalidated (Analisi completata e raggruppamento in pool invalidato)	Post-analisi	L'analisi è stata completata mentre l'utente ha invalidato il raggruppamento in pool	Avviso	Sì	NA

## 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"> <li>Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i>, ID azione 1 a pagina 66.</li> <li>Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.</li> </ul>
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"> <li>Verificare lo spazio su disco disponibile. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i>, ID azione 2 a pagina 66.</li> <li>Liberare lo spazio su disco o eseguire il backup dei dati. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i>, ID azione 3 a pagina 66.</li> </ol>
Sequencing Run Invalid Folder (Cartella della corsa di sequenziamento non valida)	Sequenziamento	Sono presenti caratteri non validi nella cartella Sequencing Run (Corsa di sequenziamento)	Avviso	Sì	La cartella della corsa di sequenziamento è stata rinominata in modo errato. Rinominare la corsa con un nome valido.
RTA Complete is not accessible (Impossibile accedere al file RTAComplete)	Sequenziamento	Il software non è stato in grado di leggere il file RTAComplete 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 Type (Tipo campione mancante)	Pre-analisi	Il software non è stato in grado di individuare la definizione del tipo di campione per alcuni campioni	Avviso	Sì	Non è stato fornito l'attributo per il tipo di campione per il campione specificato. Invalidare il campione per permettere al software di procedere.
Missing Sex Chromosome (Cromosomi sessuali mancanti)	Pre-analisi	Il software non è stato in grado di individuare i cromosomi sessuali per alcuni campioni	Avviso	Sì	Non è stato fornito l'attributo per cromosoma sessuale per il campione specificato. Invalidare il campione per permettere al software di procedere.

Notifica	Fase	Quando	Livello avviso	E-mail	Intervento raccomandato
Missing Sample Type and Sex Chromosome (Tipo di campione e cromosoma sessuale mancanti)	Pre-analisi	Il software non è stato in grado di individuare le definizioni per il tipo di campione e il cromosoma sessuale per alcuni campioni	Avviso	Sì	Non è stato fornito l'attributo per il tipo di campione e il cromosoma sessuale per il campione specificato. Invalidare il campione per permettere al software di procedere.
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"> <li>• Verificare lo spazio su disco disponibile. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i>, ID azione 2 a pagina 66. Se lo spazio è limitato, liberare lo spazio su disco o eseguire il backup dei dati. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i>, ID azione 3 a pagina 66.</li> <li>• Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i>, ID azione 1 a pagina 66.</li> <li>• Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.</li> </ul>
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"> <li>• Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i>, ID azione 2 a pagina 66.</li> <li>• Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.</li> </ul>
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 le azioni raccomandate</i> , ID azione 3 a pagina 66.
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"> <li>• Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i>, ID azione 1 a pagina 66.</li> <li>• Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.</li> </ul>

Notifica	Fase	Quando	Livello avviso	E-mail	Intervento raccomandato
Analysis Failed - Retry (Analisi non riuscita - Riprova)	Analisi	L'analisi non è riuscita. Riprova.	Avviso	Sì	Nessuno
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 in pool	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"> <li>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 27</i>.</li> <li>2. Inviare un'e-mail di prova. Attenersi alle istruzioni indicate in <i>Configurazione delle notifiche e-mail del sistema a pagina 27</i>.</li> <li>3. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.</li> </ol>
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"> <li>1. Verificare l'ora locale sul computer di Workflow Manager.</li> <li>2. Verificare l'ora locale di Onsite Server riportata sull'interfaccia utente del Web (scheda Server Status - Stato server).</li> </ol>

## 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"> <li>• Verificare lo spazio su disco disponibile. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i>, ID azione 2 a pagina 66. Se lo spazio è limitato, liberare lo spazio su disco o eseguire il backup dei dati. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i>, ID azione 3 a pagina 66.</li> <li>• Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.</li> </ul>
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 in pool)	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 in pool potrebbe essere errata. Risequenziare il raggruppamento in pool.
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 in pool.

Notifica	Fase	Quando	Livello avviso	E-mail	Intervento raccomandato
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 in pool.
Sequencing QC files corrupted (I file di controllo qualità del sequenziamento sono danneggiati)	Controllo qualità del sequenziamento	La corsa di sequenziamento è stata completata e i file delle verifiche di controllo qualità sono danneggiati	Avvertenza	Sì	Verificare il sequenziatore e la connessione di rete. Risequenziare il raggruppamento in pool.
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 riuscito	Avviso	Sì	Risequenziare il raggruppamento in pool.
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 in pool.
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"> <li>• Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i>, ID azione 1 a pagina 66.</li> <li>• Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.</li> </ul>
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"> <li>• Se si utilizza un sistema NAS, verificare la connessione di rete. Vedere <i>Procedure per le azioni raccomandate</i>, ID azione 1 a pagina 66.</li> <li>• Possibile errore hardware. Riavviare il server. Se il problema persiste, inviare un'e-mail all'Assistenza Tecnica Illumina.</li> </ul>

## Procedure per le azioni raccomandate

ID azione	Intervento raccomandato	Fasi
1	Verificare la connessione di rete	<p>NOTA: assicurarsi che il sistema NAS di archiviazione remoto e la macchina locale siano sulla stessa rete.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Da una linea di comando (cmd) Windows, digitare il comando seguente: <b>ping &lt;IP Server&gt;</b>            NOTA: se si utilizza un sistema NAS, verificare anche la connessione con il sistema NAS.</li> <li>Assicurarsi che non vi siano pacchetti persi.            NOTA: se vi sono pacchetti persi, contattare l'amministratore IT.</li> <li>Testare la connessione:               <ol style="list-style-type: none"> <li>Accedere all'interfaccia utente Web di Onsite Server.</li> <li>Dal menu Dashboard (Pannello strumenti), selezionare <b>Folder</b> (Cartella).</li> <li>Fare clic su <b>Test</b> (Testa) e determinare se il test è stato superato. Se il test non viene superato, vedere <a href="#">Modifica di un'unità di rete condivisa a pagina 25</a> e assicurarsi che tutte le impostazioni siano configurate correttamente.</li> </ol> </li> </ol>
2	Verificare lo spazio su disco disponibile	<p>NOTA: assicurarsi che la cartella degli input di Onsite Server sia mappata alla macchina Windows. Per maggiori informazioni, vedere <a href="#">Mappatura delle unità del server a pagina 33</a>.</p> <p>Fare clic con il pulsante destro del mouse sull'unità che è mappata alla cartella degli input. Selezionare <b>Properties</b> (Proprietà) e visualizzare le informazioni relative allo spazio libero.</p>
3	Liberare spazio su disco/eseguire il backup dei dati	<p>NOTA: Illumina raccomanda un backup dei dati periodico e/o l'archiviazione dei dati del sequenziamento sul server. Per maggiori informazioni, vedere <a href="#">Gestione di un'unità di rete condivisa a pagina 24</a>.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Per i dati archiviati localmente su Onsite Server:           <p>NOTA: assicurarsi che la cartella degli input di Onsite Server sia mappata alla macchina Windows. Per maggiori informazioni, vedere <a href="#">Mappatura delle unità del server a pagina 33</a>.</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Fare doppio clic con il pulsante destro del mouse sulla cartella Input (input) e inserire le credenziali per l'accesso.</li> <li>I dati della corsa di sequenziamento sono elencati con i nomi delle cartelle che corrispondono ai nomi delle corse di sequenziamento.</li> <li>Eliminare o eseguire il backup delle cartelle del sequenziamento elaborate.</li> </ol> </li> <li>Per i dati archiviati su un sistema NAS remoto:           <p>NOTA: assicurarsi che il sistema NAS di archiviazione remoto e la macchina locale siano sulla stessa rete.</p> <p>NOTA: 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"> <li>I dati della corsa di sequenziamento sono elencati con i nomi delle cartelle che corrispondono ai nomi delle corse di sequenziamento.</li> <li>Eliminare o eseguire il backup delle cartelle del sequenziamento elaborate.</li> </ol> </li> </ol>

## 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.

## 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 lanciare la pipeline 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 Eseguire una copia della cartella seguente, che si trova nella cartella TestingData (Dati del test):  
150824\_NS500404\_0121\_AHGKH5BGXX\_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 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 Aneuploidy Detection Report generated for Sequencing Run (Generato report di rilevamento delle aneuploidie per la corsa di sequenziamento)



#### NOTA

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

- 5 Nella cartella di output, aprire la cartella SampleTestRun (Corsa di prova del campione) e verificare che sia presente il report seguente: SampleTestRun\_C\_SampleTestRun\_PoolA\_HGKH5BGXX\_nipt\_report\_YYYYMMDD\_HHMMSS.tab.  
La dimensione del file prevista è di circa 5,9 Kb.
- 6 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.

## 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 cartella seguente aggiungendo il suffisso \_000:  
150528\_NB500886\_0002\_AH7MHHBGXX\_FullTRun.  
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 uno.
- 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 Aneuploidy Detection Report generated for Sequencing Run (Generato report di rilevamento delle aneuploidie per la corsa di sequenziamento)
- 5 Nella cartella di output, aprire la cartella SampleTestRun (Corsa di prova del campione) e verificare che sia presente il report seguente: SampleTestRun2\_C\_SampleTestRun2\_PoolA\_H7MHHBGXX\_nipt\_report\_20151105\_162434.tab.  
La dimensione del file prevista è di circa 7,1 Kb.
- 6 Riportare la corsa di sequenziamento di prova nella cartella TestingData (Dati del test).



**NOTA**

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

## Risorse aggiuntive

È possibile scaricare la documentazione seguente dal sito Web Illumina.

Risorsa	Descrizione
<i>Insero della confezione di VeriSeq NIPT Solution</i> (documento n. 1000000001856)	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</i> , ID documento Hamilton 624668 (Manuale per l'operatore di Microlab® STAR Line)	Fornisce informazioni sul funzionamento e sulla manutenzione nonché specifiche tecniche per lo strumento di gestione automatizzata dei liquidi Hamilton Microlab STAR.

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

# Acronimi

Acronimo	Definizione
BCL	File di identificazione delle basi
CE-IVD	Marchio di conformità europeo per prodotti diagnostici <i>in vitro</i>
cfDNA	DNA fetale libero
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
RTA	Real-Time Analysis
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 l'assistenza tecnica, contattare l'Assistenza Tecnica Illumina.

Sito Web: [www.illumina.com](http://www.illumina.com)  
E-mail: [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

## Numeri di telefono dell'Assistenza clienti Illumina

Area geografica	Gratuito	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	
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	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	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](http://support.illumina.com/sds.html).

**Documentazione dei prodotti:** la documentazione dei prodotti in formato PDF può essere scaricata dal sito Web Illumina. Andare alla pagina [support.illumina.com](http://support.illumina.com), selezionare un prodotto, quindi fare clic su **Documentation & Literature** (Documentazione e letteratura).



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**<sup>®</sup>