



Plasma-SeqSensei™

IVD Software

Instrucciones de uso
Noviembre 2022

Tabla de contenidos

1	Propósito previsto	2
2	Introducción	3
2.1	Concepto del producto	3
2.2	Especificaciones del entorno de ejecución	3
2.3	Marcas comerciales	4
2.4	Licencias	4
2.4.1	Licencia de usuario final	4
2.4.2	Licencia de COSMIC (Qiagen)	4
2.4.3	GNU	4
2.5	Protección de datos personales	5
3	Advertencias y precauciones	6
3.1	Usuarios	6
3.2	Garantía de funcionamiento del Plasma-SeqSensei™ IVD Software	6
3.2.1	Mantenimiento del Plasma-SeqSensei™ IVD Software	7
3.2.2	Sistema operativo de Microsoft	7
3.2.3	Limitaciones del sistema	8
3.2.4	Limitaciones de responsabilidad	8
3.3	Virus informáticos	8
3.4	Entorno operativo	9
4	Especificaciones del dispositivo de secuenciación	10
4.1	Adquisición de datos	10
5	Pasos iniciales y diseño de la ventana del programa	12
5.1	Pasos iniciales	12
5.1.1	Descarga e instalación del software	12
5.1.2	Adquisición de una clave de licencia	12
5.1.3	Inicio del programa	13
5.1.4	Cierre del programa	13
5.2	Resumen de los iconos y las funciones	13
5.3	Visión general de la interfaz de usuario	16
5.3.1	Módulo «Run Planning» (Planificación del análisis)	16
5.3.2	Módulo «Data Analysis» (Análisis de datos)	18
5.3.3	Módulo «Reporting» (Informes)	19
6	Módulos del Plasma-SeqSensei™ IVD Software	21
6.1	Módulo «Run Planning» (Planificación del análisis)	21
6.2	Módulo «Data Analysis» (Análisis de datos)	31
6.3	Módulo «Reporting» (Informes)	35
7	Informes	39
8	Solución de problemas	51
9	Glosario y terminología	55
10	Historial de revisiones	56
11	Apéndice A	57

1 Propósito previsto

El Plasma-SeqSensei™ IVD Software está indicado para analizar los resultados de secuenciación obtenidos con el Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kit de Sysmex Inostics (datos de secuenciación de última generación (Next-Generation Sequencing, NGS)) con el fin de controlar la validez y detectar y notificar mutaciones en las regiones de interés de los ensayos.

El software puede detectar sustituciones en forma de variantes de un solo nucleótido (Single-Nucleotide Variant, SNV), alteraciones de inserción o eliminación y mutaciones de eliminación o inserción (indels), según lo especificado para el ensayo Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD correspondiente.

El software debe utilizarse con un Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kit específico para permitir que el profesional médico pueda determinar el posible beneficio del tratamiento para pacientes con cáncer. La información generada por el software nunca debe ser el único factor determinante para tomar decisiones médicas. Debe complementarse con otros hallazgos clínicos y los antecedentes del paciente.

El software está diseñado para ser usado por personal con la formación adecuada en un entorno profesional de laboratorio.

Importante: *El software únicamente puede utilizarse con un Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kit de Sysmex Inostics conforme a las instrucciones de uso de ese producto; nunca debe utilizarse con otros tipos de productos o ensayos desarrollados en laboratorio.*

2 Introducción

Las presentes instrucciones de uso describen la utilización del Plasma-SeqSensei™ IVD Software para el análisis de Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kits de Sysmex Inostics.

Lea atentamente este manual antes de utilizar el software. Conserve este manual en lugar seguro y accesible para consultas posteriores.

Aunque hemos tomado numerosas precauciones para garantizar la calidad del contenido de este manual, póngase en contacto con el departamento de servicio técnico de su representante local autorizado de Sysmex si encuentra errores u omisiones.

Quedan prohibidas las prácticas de modificación, traducción, ingeniería inversa, descompilación y desensamblaje de este manual y del software. También se prohíbe crear elementos derivados que estén basados en este manual o en el software. Asimismo, está prohibida la copia de este manual o del software para fines distintos de mantener una copia de seguridad conforme al acuerdo de licencia.

Para obtener información adicional, póngase en contacto con el representante local autorizado de Sysmex.

2.1 Concepto del producto

El Plasma-SeqSensei™ IVD Software permite al usuario planificar y analizar carreras de secuenciación del PSS Assay-Specific IVD Kit y generar informes para las muestras analizadas.

2.2 Especificaciones del entorno de ejecución

Sistema operativo:	Windows® 10 (64 bits)
CPU:	CPU reciente (Intel® Core™ i5/7 o AMD Ryzen™)
RAM:	16 GB
Almacenamiento:	10 GB de espacio disponible en disco
Resolución de la pantalla:	1.440 x 810 píxeles

2.3 Marcas comerciales

- Los nombres de empresas y productos que aparecen en estas instrucciones de uso son marcas comerciales o registradas de sus respectivos propietarios.
- El hecho de que una marca comercial no se mencione explícitamente en estas instrucciones de uso no autoriza su utilización.
- Los símbolos ™ y ® no aparecen explícitamente en estas instrucciones de uso.

2.4 Licencias

2.4.1 Licencia de usuario final

El usuario del Plasma-SeqSensei™ IVD Software debe aceptar el acuerdo de licencia de Sysmex Inostics GmbH antes de instalar el software. Para conocer el texto íntegro de los *Términos y condiciones generales de las licencias de software de Sysmex Inostics GmbH*, consulte el ► 11 Apéndice A, página 57/61.

2.4.2 Licencia de COSMIC (Qiagen)

El uso de la herramienta COSMIC Dynamic Software Tool Large Enterprise en el PSS IVD Software está cubierto por un acuerdo de licencia con Qiagen K. K.

2.4.3 GNU

La política de la licencia pública general de GNU (www.gnu.org/licenses) se aplica a algunas partes de este software. Póngase en contacto con la sucursal o delegación comercial más próxima si desea obtener el código fuente o información detallada sobre aquellas partes del software a las que se aplica la política de licencia pública general de GNU. Para aquellas partes del software que no estén afectadas por la licencia pública general de GNU, quedan prohibidos el acceso al código fuente, las prácticas de ingeniería inversa, la compilación inversa y los intentos de desensamblar el software.

2.5 Protección de datos personales

En la medida en que se procesen datos personales, el usuario debe cumplir las disposiciones legales en materia de protección de datos.

3 Advertencias y precauciones

La información generada durante el uso de este producto nunca debe ser el único factor determinante para tomar decisiones médicas. Debe complementarse con otros hallazgos clínicos y los antecedentes del paciente.

Importante: *El software únicamente puede utilizarse con un Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kit de Sysmex Inostics conforme a las instrucciones de uso de ese producto; nunca debe utilizarse con otros tipos de productos o ensayos desarrollados en laboratorio.*

Todo uso distinto del propósito previsto indicado se considerará como un uso para una indicación no autorizada.

Sysmex no asumirá responsabilidad alguna en relación con daños o perjuicios derivados del uso para una indicación no autorizada.

3.1 Usuarios

El Plasma-SeqSensei™ IVD Software únicamente debe utilizarlo personal con la formación adecuada en un entorno profesional de laboratorio.

Si se produce un fallo de funcionamiento, consulte las instrucciones de uso. Para solicitar asistencia adicional, póngase en contacto con el representante local autorizado de Sysmex.

3.2 Garantía de funcionamiento del Plasma-SeqSensei™ IVD Software

Para garantizar un funcionamiento óptimo del Plasma-SeqSensei™ IVD Software, se requiere un mantenimiento frecuente del Plasma-SeqSensei™ IVD Software y el sistema operativo Microsoft Windows®. En los capítulos siguientes se explican las tareas correspondientes.

Nota: *Para el proceso de instalación y actualización del Plasma-SeqSensei™ IVD Software, es necesario disponer de derechos de administrador local en el dispositivo en cuestión.*

3.2.1 Mantenimiento del Plasma-SeqSensei™ IVD Software

El Plasma-SeqSensei™ IVD Software le enviará una notificación cuando haya disponible una nueva versión del Plasma-SeqSensei™ IVD Software para su descarga. Si tiene que instalar una nueva versión del Plasma-SeqSensei™ IVD Software, puede comenzar el proceso tras iniciar el software o bien usar el botón [Update available] (Actualización disponible) en la pantalla de la aplicación cuando prefiera. Para este paso, necesitará tener derechos de administrador.



En el caso de la actualización de ensayos Plasma-SeqSensei™ IVD existentes, solo aparecerá el botón [Update available] (Actualización disponible) en la pantalla de la aplicación para iniciar el proceso de actualización. Si es posible, utilice siempre la última versión disponible del Plasma-SeqSensei™ IVD Software. Después de instalar la versión más reciente del software, no podrá volver a una versión anterior.

Cuando estén disponibles nuevos ensayos Plasma-SeqSensei™ IVD, el software se lo notificará mostrando un botón [New assay available] (Nuevo ensayo disponible) en la pantalla de la aplicación.



Habrá disponible una nota de publicación con detalles sobre la nueva versión del Plasma-SeqSensei™ IVD Software para su descarga en <https://sysmex-inostics.com/products/kit-specs/> o utilizando el botón del manual del usuario situado en la parte inferior de la pantalla de la aplicación.



3.2.2 Sistema operativo de Microsoft

La instalación, la actualización y la seguridad del sistema operativo de Microsoft quedan bajo la responsabilidad del usuario. Se recomienda que el servicio de actualización esté activado y se ejecute con frecuencia. Tenga en cuenta que el reinicio automático del sistema operativo Windows tras las actualizaciones puede interrumpir el análisis de datos que se esté llevando a cabo con el software Plasma-SeqSensei™. Se recomienda desactivar el

3 Advertencias y precauciones

reinicio automático o configurar las horas activas del sistema en el menú de actualizaciones de Windows según proceda.

3.2.3 Limitaciones del sistema

Tipos de archivos de entrada	.fastq.gz
Dispositivos de secuenciación compatibles	Illumina NextSeq500/550
Número mínimo de muestras que deben analizarse por análisis	2
Número máximo de muestras que deben analizarse por análisis	16 (kit estándar) o 32 (con el kit de extensión)
Número máximo de placas que deben analizarse por análisis	1 (kit estándar) o 2 (con el kit de extensión)
Número de controles que deben analizarse por placa y análisis	2 (Positive Control [PC] y No Template Control [NTC])
Número de ensayos que deben agruparse por carrera de secuenciación	Ninguno Nota: <i>Se trata de un ensayo único; no se puede agrupar con otros ensayos a la vez en el dispositivo de secuenciación.</i>

3.2.4 Limitaciones de responsabilidad

Systemex no asume ninguna responsabilidad en relación con los fallos del Plasma-SeqSensei™ IVD Software que se deriven:

- del incumplimiento de los procedimientos de mantenimiento descritos anteriormente;
- del uso del sistema haciendo caso omiso de las limitaciones del sistema.

3.3 Virus informáticos

Se ha verificado que el producto que puede descargar de www.systemex-inoagnostics.com no contiene virus informáticos.

3.4 Entorno operativo

Para conseguir unos resultados óptimos, el Plasma-SeqSensei™ IVD Software debe instalarse en el mismo ordenador en el que se almacenen los datos de secuenciación. Si la conexión se efectúa a través de una red, eso puede incrementar los tiempos de análisis en función de la velocidad de carga/descarga de la conexión.

La administración de la red quedará íntegramente bajo la responsabilidad de la organización del usuario, que debe garantizar de forma efectiva la seguridad de la red para proteger sus recursos. Entre las funciones de seguridad recomendadas se incluyen la autorización del acceso a la red, la limitación del acceso a Internet y la implantación de tecnologías de hardware/software que eviten intrusiones asociadas a virus/malware.

4 Especificaciones del dispositivo de secuenciación

El Plasma-SeqSensei™ Software se ha desarrollado para el análisis de datos brutos de secuenciación (proporcionados como archivos .fastq.gz) obtenidos mediante el uso de diferentes dispositivos de secuenciación Illumina. El Plasma-SeqSensei™ IVD Software solamente es compatible con los dispositivos Illumina NextSeq500 e Illumina NextSeq550.

Durante el desarrollo de los Plasma-SeqSensei™ IVD Kits, se utilizó el software de control indicado a continuación. Si utiliza una versión más reciente del software de control, asegúrese de que funciona correctamente antes de iniciar la carrera de secuenciación. Asimismo, compruebe que la hoja de muestras generada por el Plasma-SeqSensei™ IVD Software sea compatible con esa versión más reciente del software de control de los dispositivos Illumina.

Nombre del software	Fabricante/Proveedor
NextSeq™ Control Software v4.0.1.41	Illumina, Inc.
NextSeq™ Local Run Manager Software v2.4.0	Illumina, Inc.

4.1 Adquisición de datos

En función de la configuración del procesamiento posterior, pueden utilizarse diferentes rutas de adquisición de datos. Todas estas rutas se basan en la configuración de la hoja de muestras realizada durante la etapa de planificación del análisis asociada a la carrera de secuenciación.

El dispositivo de secuenciación NextSeq™ permite utilizar dos rutas distintas.

1. La ruta recomendada es usar el Local Run Manager (LRM) del dispositivo NextSeq™. El LRM permite generar archivos FASTQ directamente con el secuenciador si se selecciona la opción «GenerateFASTQ Module» (Módulo GenerateFASTQ) en los ajustes. En este caso, el software llevará a cabo una demultiplexación y un recorte de adaptadores, aplicando para ello los ajustes seleccionados para la hoja de muestras y los adaptadores. El ordenador en el que se ejecute el Plasma-

SeqSensei™ IVD Software deberá disponer de acceso a los archivos FASTQ obtenidos de la secuenciación (.fastq.gz).

Importante: *Cuando utilice el LRM, habrá que añadir el «Adapter» (Adaptador) y su secuencia (que figurarán en la hoja de muestras) en la sección «Advanced Module Settings» (Ajustes avanzados del módulo) para que el recorte de adaptadores se realice de forma correcta.*

2. Durante la configuración manual, el dispositivo NextSeq™ escribirá la información de secuenciación en una carpeta del análisis en el formato binario de identificación de bases (archivos .bcl) y no realizará ningún tipo de demultiplexación o recorte de adaptadores. La demultiplexación y el recorte de adaptadores se llevan a cabo manualmente tras la secuenciación, usando para ello el software bcl2fastq proporcionado por Illumina y una hoja de muestras compatible con el software bcl2fastq, que puede generarse durante la planificación del análisis. El ordenador en el que se esté ejecutando el Plasma-SeqSensei™ IVD Software deberá disponer de acceso a los archivos FASTQ resultantes (.fastq.gz).

5 Pasos iniciales y diseño de la ventana del programa

5.1 Pasos iniciales

- La escala de la pantalla del ordenador debe ajustarse a un valor ≤ 125 %.
- Puede descargar el programa en:
<https://sysmex-inostics.com/products/kit-specs/>.
- Debe adquirir la clave de licencia a Sysmex Inostics GmbH antes de instalar el programa.
- Será necesario disponer de derechos de administrador en el ordenador en cuestión.

5.1.1 Descarga e instalación del software

El Plasma-SeqSensei™ IVD Software se puede descargar de <https://sysmex-inostics.com/products/kit-specs/> como un archivo comprimido (.zip).

Descargue el archivo en la carpeta de descargas de Windows 10, haga clic con el botón secundario del ratón en el archivo y, a continuación, seleccione «Extract All...» (Extraer todo...). En la ventana siguiente, haga clic en «Extract» (Extraer). La carpeta con los archivos extraídos se abrirá automáticamente. Para iniciar el proceso de instalación, haga doble clic en el archivo «Plasma-SeqSensei™ IVD Software»; (no extraiga los archivos comprimidos (.zip) de los ensayos, que también están ubicados en esa carpeta). Siga las instrucciones de instalación que aparecerán en pantalla. Acepte el acuerdo de licencia e introduzca la clave de licencia cuando así se le solicite.

Durante el proceso de instalación, será necesario disponer de derechos de administrador para poder realizar la instalación completa del software.

5.1.2 Adquisición de una clave de licencia



Tras la compra de Plasma-SeqSensei™ IVD Kits, Sysmex Inostics GmbH proporcionará una clave de licencia por cliente.

5.1.3 Inicio del programa







Haga doble clic en el icono Plasma-SeqSensei™ IVD del escritorio:














5.1.4 Cierre del programa

1. Para cerrar el programa, haga clic en la «X» () situada en la esquina superior derecha de la ventana del software o en la «X» en un círculo gris () situada en la esquina inferior izquierda de la ventana del software.
2. Aparecerá una ventana indicándole que confirme si desea cerrar el programa.
3. Haga clic en [Yes] (Sí) para salir o en [No] (No) para continuar con la sesión del Plasma-SeqSensei™ IVD Software.





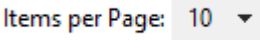




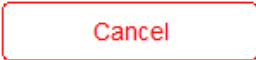

5.2 Resumen de los iconos y las funciones

Icono	Función
	Regresar a la pantalla principal.
	Salir del software.
	Enlace a la información técnica y las instrucciones de uso para el PSS IVD Kit y el PSS IVD Software
	Información del software.
UPDATE AVAILABLE 	Actualización disponible para el PSS IVD Software
NEW ASSAY AVAILABLE 	Nuevo ensayo PSS IVD disponible

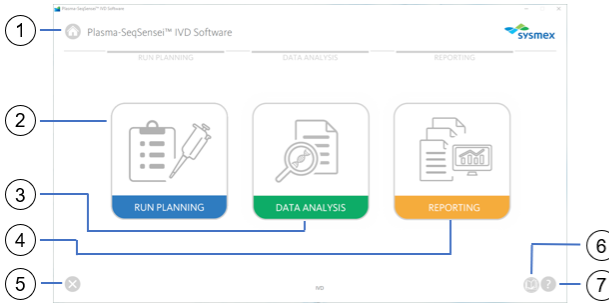
5 Pasos iniciales y diseño de la ventana del programa

Icono	Función
	Las pestañas de selección de módulos siempre estarán visibles para poder cambiar de módulo.
	Módulo «Run Planning» (Planificación del análisis)
	Módulo «Data Analysis» (Análisis de datos)
	Módulo «Reporting» (Informes)
	Elimina toda la información introducida en la página seleccionada del módulo «Run Planning» (Planificación del análisis).
	Ir a la página anterior del módulo «Run Planning» (Planificación del análisis).
	Ir a la página siguiente del módulo «Run Planning» (Planificación del análisis).
	Eliminar la muestra del módulo «Run Planning» (Planificación del análisis).
	Exportar el archivo específico del módulo «Run Planning» (Planificación del análisis).
	Desplazarse para seleccionar los archivos o las carpetas deseados en el módulo «Data Analysis» (Análisis de datos).
	Iniciar el análisis de los datos.

5 Pasos iniciales y diseño de la ventana del programa

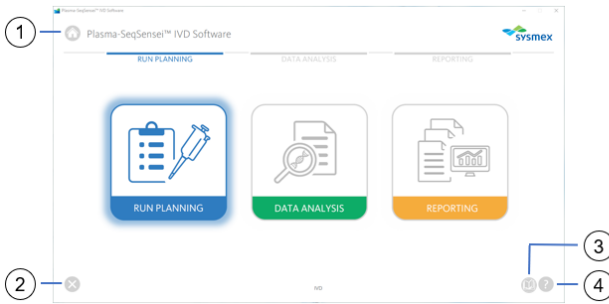
Icono	Función
	Volver a cargar la página para incluir los últimos datos en el módulo «Reporting» (Informes).
	Regresar al resumen del módulo «Reporting» (Informes).
	Buscar resultados de análisis en el módulo «Reporting» (Informes).
	Ir a otras páginas de resultados de análisis en el módulo «Reporting» (Informes).
	Modificar el número de elementos visibles por página (entre 5 y 50) en el módulo «Reporting» (Informes).
	Exportar todos los informes de un determinado análisis en formato .pdf.
	Descargar el archivo de la muestra seleccionada en formato .bam.
	Descargar el archivo de la muestra seleccionada en formato .vcf.
	Descargar el archivo/informe de la muestra seleccionada en formato .pdf.
	Detener y cancelar el proceso de análisis en el módulo «Data Analysis» (Análisis de datos).
	Eliminar datos de un análisis específico en el módulo «Reporting» (Informes).

5.3 Visión general de la interfaz de usuario

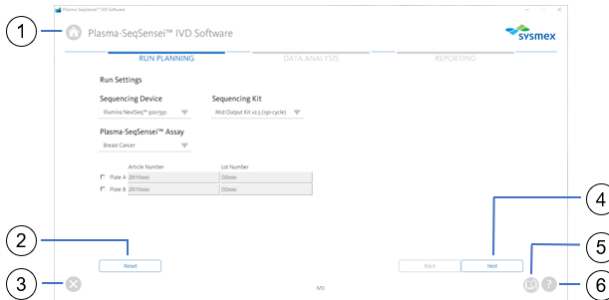


- 1 Regresar a la pantalla principal
- 2 Módulo «Run Planning»
- 3 Módulo «Data Analysis»
- 4 Módulo «Reporting»
- 5 Salir del software
- 6 Manual del usuario
- 7 Información del software

5.3.1 Módulo «Run Planning» (Planificación del análisis)

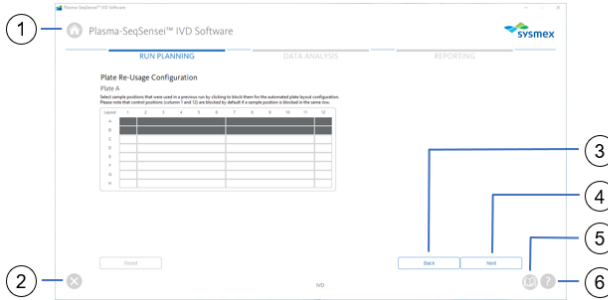


- 1 Regresar a la pantalla principal
- 2 Salir del software
- 3 Manual del usuario
- 4 Información del software

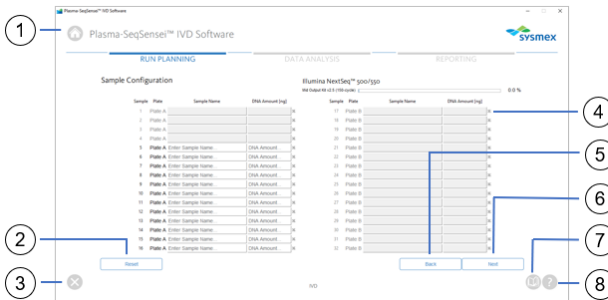


- 1 Regresar a la pantalla principal
- 2 Restablecer la información introducida
- 3 Salir del software
- 4 Página siguiente
- 5 Manual del usuario
- 6 Información del software

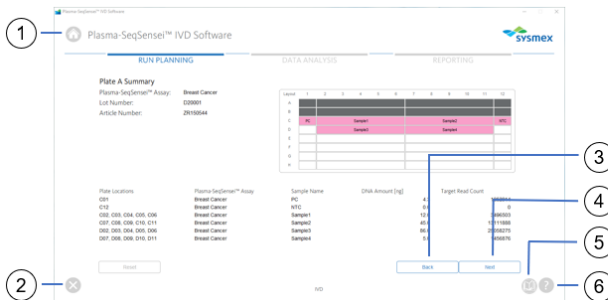
5 Pasos iniciales y diseño de la ventana del programa



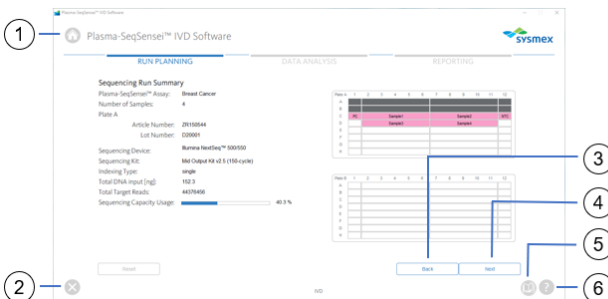
- 1 Regresar a la pantalla principal
- 2 Salir del software
- 3 Página anterior
- 4 Página siguiente
- 5 Manual del usuario
- 6 Información del software



- 1 Regresar a la pantalla principal
- 2 Restablecer la información introducida
- 3 Salir del software
- 4 Eliminar muestra
- 5 Página anterior
- 6 Página siguiente
- 7 Manual del usuario
- 8 Información del software

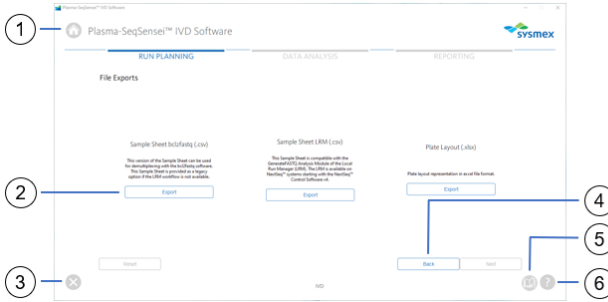


- 1 Regresar a la pantalla principal
- 2 Salir del software
- 3 Página anterior
- 4 Página siguiente
- 5 Manual del usuario
- 6 Información del software



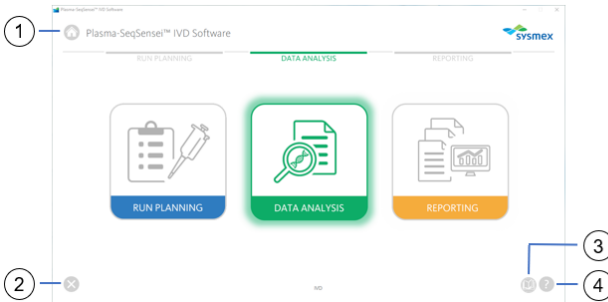
- 1 Regresar a la pantalla principal
- 2 Salir del software
- 3 Página anterior
- 4 Página siguiente
- 5 Manual del usuario
- 6 Información del software

5 Pasos iniciales y diseño de la ventana del programa

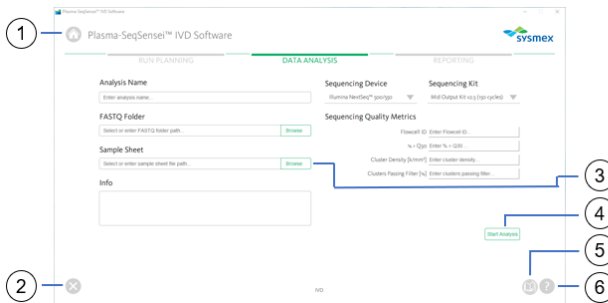


- ① Regresar a la pantalla principal
- ② Exportar archivos
- ③ Salir del software
- ④ Página anterior
- ⑤ Manual del usuario
- ⑥ Información del software

5.3.2 Módulo «Data Analysis» (Análisis de datos)

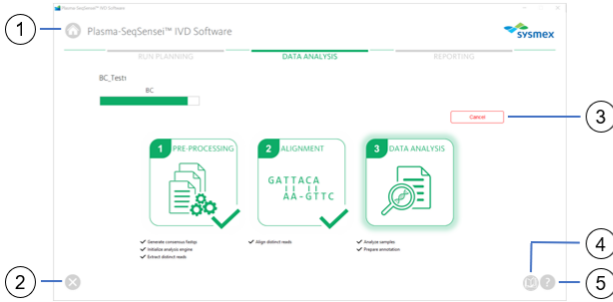


- ① Regresar a la pantalla principal
- ② Salir del software
- ③ Manual del usuario
- ④ Información del software



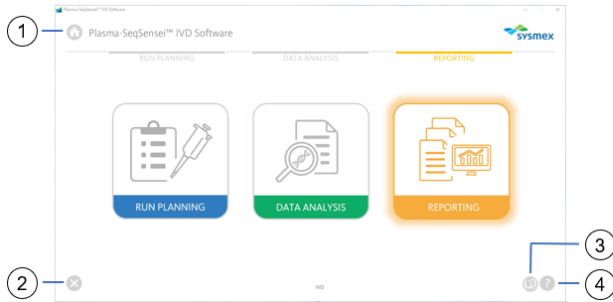
- ① Regresar a la pantalla principal
- ② Salir del software
- ③ Explorar archivos/carpetas
- ④ Iniciar análisis
- ⑤ Manual del usuario
- ⑥ Información del software

5 Pasos iniciales y diseño de la ventana del programa



- ① Regresar a la pantalla principal
- ② Salir del software
- ③ Cancelar el análisis
- ④ Manual del usuario
- ⑤ Información del software

5.3.3 Módulo «Reporting» (Informes)

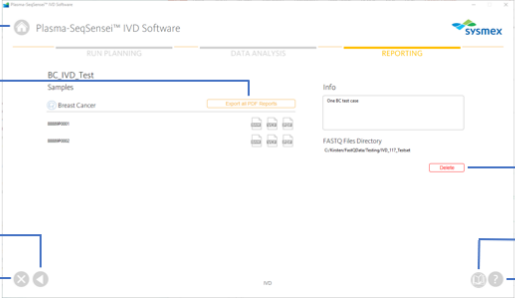


- ① Regresar a la pantalla principal
- ② Salir del software
- ③ Manual del usuario
- ④ Información del software



- ① Regresar a la pantalla principal
- ② Actualizar la tabla
- ③ Salir del software
- ④ Campo de introducción de información para buscar resultados de análisis
- ⑤ Página anterior/siguiente
- ⑥ Ajustar el número de elementos visibles por página
- ⑦ Manual del usuario
- ⑧ Información del software

5 Pasos iniciales y diseño de la ventana del programa



The screenshot shows the Plasma-SeqSense™ IVD Software interface. The window title is "Plasma-SeqSense™ IVD Software" and the Sysmex logo is in the top right. The interface is divided into three main sections: "RUN PLANNING", "DATA ANALYSIS", and "REPORTING". The "REPORTING" section is currently active, showing a "BC IVD Test" summary with a "Samples" list (including "Breast Cancer") and an "Export all PDF Reports" button. An "Info" panel on the right contains a "Get help now" button and a "FASTQ Files Directory" path. A red "Logout" button is located at the bottom right. Numbered callouts (1-7) point to the following elements:

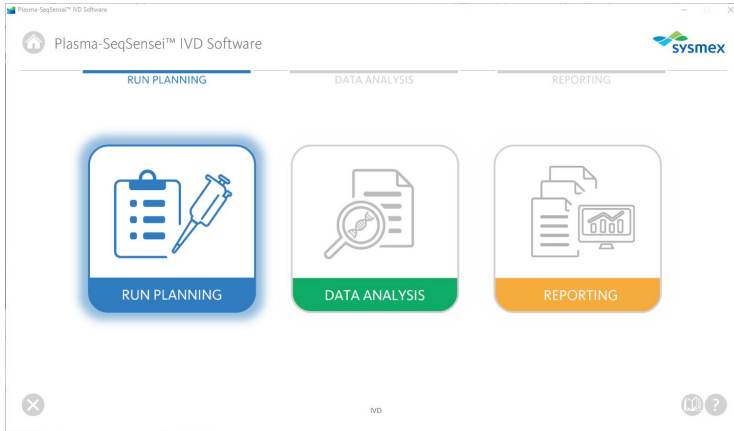
- 1: Window title bar
- 2: "Export all PDF Reports" button
- 3: "Get help now" button
- 4: Window control buttons (minimize, maximize, close)
- 5: "Logout" button
- 6: "Manual del usuario" (User Manual) link
- 7: "Información del software" (Software Information) link

Legend for callouts:

- ① Regresar a la pantalla principal
- ② Exportar todos los informes en formato .pdf
- ③ Regresar al resumen del módulo «Reporting»
- ④ Salir del software
- ⑤ Eliminar resultados
- ⑥ Manual del usuario
- ⑦ Información del software

6 Módulos del Plasma-SeqSensei™ IVD Software

6.1 Módulo «Run Planning» (Planificación del análisis)



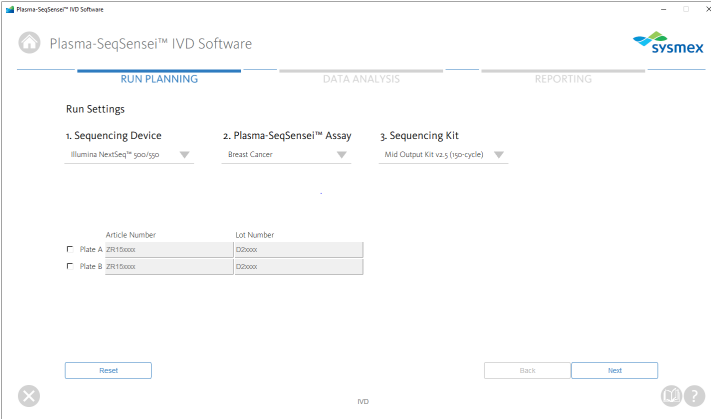
El módulo «Run Planning» (Planificación del análisis), de color azul, se utiliza para planificar la carrera de secuenciación, incluidos los siguientes parámetros:

- Tipo de ensayo
- Dispositivo de secuenciación
- Uso del kit de secuenciación
- Tipo(s) de placa (A y/o B)
- Número de muestra
- Nombre de la muestra
- Concentración de la muestra
- Ubicación de la muestra en la placa
- Generación de la hoja de muestras
- Distribución de la placa

Utilice la hoja de muestras para permitir la posterior demultiplexación y el recorte de adaptadores de los datos en las diferentes configuraciones posibles. La demultiplexación y el recorte de adaptadores no forman parte de este software de análisis (consulte el ► capítulo 4.1 *Adquisición de datos*, página 10/61).

Debe realizar la planificación del análisis después de la cuantificación de muestras de cfDNA mediante Qubit™ y antes de iniciar la PCR UID.

Nota: La medición de las muestras con Qubit permite obtener una primera aproximación del contenido de ADN de partida para determinar la carga de la muestra. La cuantificación final de las muestras, que posiblemente presente diferencias, se realizará durante la secuenciación de la librería mediante el cuantificador interno (Quantispike).



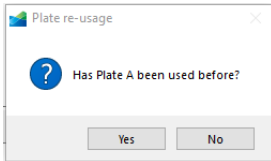
The screenshot shows the 'Plasma-SeqSensei™ IVD Software' interface. At the top, there are three tabs: 'RUN PLANNING' (highlighted in blue), 'DATA ANALYSIS', and 'REPORTING'. The 'RUN PLANNING' tab is active, displaying 'Run Settings' with three sections: '1. Sequencing Device' (Illumina NextSeq™ 500/550), '2. Plasma-SeqSensei™ Assay' (Breast Cancer), and '3. Sequencing Kit' (Mid Output Kit v2.5 (90-cycle)). Below these are two tables for 'Article Number' and 'Lot Number' with checkboxes for 'Plate A' and 'Plate B'. At the bottom, there are 'Reset', 'Back', and 'Next' buttons, along with a 'Close' button and a help icon.

1. Haga clic en el módulo «Run Planning» (Planificación del análisis), de color azul.
2. Seleccione los ajustes del análisis.
 - a. Seleccione un dispositivo de secuenciación.
 - b. Seleccione el Plasma-SeqSensei™ Assay que desee utilizar.
 - c. Seleccione el kit de secuenciación que desee utilizar.
 - d. Seleccione la placa que desee utilizar (A y/o B) e introduzca la referencia del artículo (con el formato ZR15xxxx) y el número de lote (con el formato D2xxxx) del Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific Kit que desee utilizar.

Nota: Si va a procesar más de 16 muestras en un mismo análisis (hasta un máximo de 32 muestras), deberá utilizar dos PSS IVD Kits y el PSS Extension IVD Kit con la placa B.

Importante: No use el mismo tipo de placa dos veces en un mismo análisis.

- e. Si se produce algún error, puede eliminar toda la información introducida haciendo clic en el botón [Reset] (Restablecer) situado en la parte inferior izquierda de la página.
 - f. Aparecerá una ventana indicándole que confirme si desea restablecer la página.
3. Haga clic en [Next] (Siguiendo). Aparecerá una ventana preguntándole si la placa marcada se ha utilizado con anterioridad.



- a. Seleccione [Yes] (Sí) o [No] (No).
- b. Si selecciona [Yes] (Sí), aparecerá una nueva pantalla en la que podrá marcar las posiciones de la placa que correspondan a análisis anteriores, con el fin de evitar el uso repetido de pocillos vacíos de la PSS Index Primer Plate. Esos pocillos no se podrán seleccionar en los pasos posteriores de planificación de este análisis.

Nota: Los pocillos de la columna 1 (Positive Control) y la columna 12 (No Template Control) se seleccionarán automáticamente.

Plate Re-Usage Configuration

Plate A

Select sample positions that were used in a previous run by clicking to block them for the automated plate layout configuration. Please note that control positions (column 1 and 12) are blocked by default if a sample position is blocked in the same row.

Layout	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

- c. Haga clic en [Next] (Siguiente) para pasar a la página siguiente o en [Back] (Atrás) para retroceder una página y modificar la información introducida.
- 4. En la tabla «Sample Configuration» (Configuración de muestras), introduzca el nombre y la concentración de las muestras.

Nota: Los nombres y las concentraciones de las muestras se pueden introducir con facilidad copiándolos de dos columnas de una hoja de Excel y pegándolos.

- a. Escriba nombres únicos para las muestras (como mínimo, 2 muestras) sin usar caracteres especiales; únicamente deben utilizarse caracteres alfanuméricos. El software llevará a cabo una comprobación de conformidad.

Nota: El software ordenará automáticamente las muestras, tomando como referencia la ubicación del pocillo vacío situado en la posición más superior de la placa en cuestión, al pasar a la página siguiente.

- b. Introduzca la concentración de la muestra expresada en ng/116 µl de eluato por muestra (usando un punto como separador decimal; p. ej., 8.5 ng). La información introducida para la muestra debe estar dentro de los rangos de entrada específicos del ensayo. El software llevará a cabo una comprobación de conformidad al avanzar a la página siguiente.

Sample	Plate	Sample Name	DNA Amount [ng]	Sample	Plate	Sample Name	DNA Amount [ng]
1	Plate A			17	Plate B		
2	Plate A			18	Plate B		
3	Plate A			19	Plate B		
4	Plate A			20	Plate B		
5	Plate A	Sample1	44	21	Plate B		
6	Plate A	Sample2	4.3	22	Plate B		
7	Plate A	Sample3	75.9	23	Plate B		
8	Plate A	Sample4	80	24	Plate B		
9	Plate A	Sample5	79.2	25	Plate B		
10	Plate A	Sample6	12	26	Plate B		
11	Plate A	Sample7	40.1	27	Plate B		
12	Plate A	Enter Sample Name	DNA Amount	28	Plate B		
13	Plate A	Enter Sample Name	DNA Amount	29	Plate B		
14	Plate A	Enter Sample Name	DNA Amount	30	Plate B		
15	Plate A	Enter Sample Name	DNA Amount	31	Plate B		
16	Plate A	Enter Sample Name	DNA Amount	32	Plate B		

- c. Puede eliminar los nombres de las muestras, incluidas las concentraciones, haciendo clic en la «X» situada al final de la línea, o bien restablecer toda la información introducida haciendo clic en el botón [Reset] (Restablecer) situado en la esquina inferior izquierda de la ventana.

6 Módulos del Plasma-SeqSensei™ IVD Software

- i. Aparecerá una ventana indicándole que confirme que es necesario eliminar la muestra seleccionada o la página completa.
 - ii. Una vez que haya seleccionado [OK] (Aceptar) o [Yes] (Sí), podrá añadir un nombre y una concentración nuevos para la muestra.
- d. En la esquina superior derecha, se indicará la capacidad de Reads del kit de secuenciación seleccionado (las barras azules y verdes indican valores dentro de los rangos aceptables, mientras que una barra gris indica que existe sobrecarga del kit de secuenciación seleccionado).



- e. Haga clic en [Next] (Siguiente) para pasar a la página siguiente o en [Back] (Atrás) para retroceder una página y modificar la información introducida.

5. Compruebe la información introducida; para ello, revise atentamente el resumen específico de la placa.

Plasma-SeqSensei™ IVD Software

Plasma-SeqSensei™ IVD Software

RUN PLANNING DATA ANALYSIS REPORTING

Plate A Summary
Plasma-SeqSensei™ Assay: Breast Cancer
Lot Number: D2222
Article Number: ZR150644

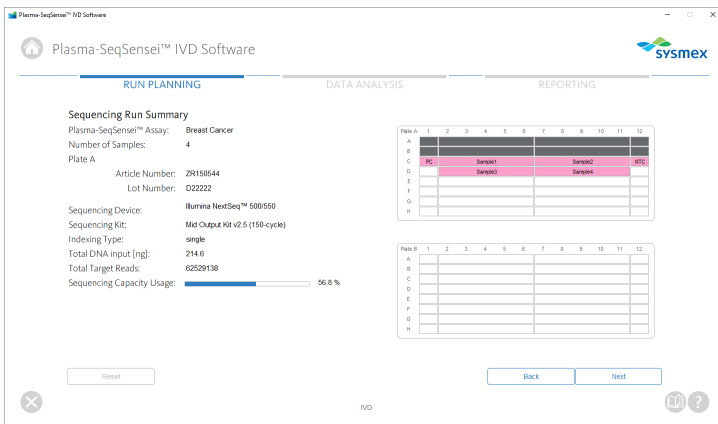
Layer	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C	PC	Sample1					Sample2					NTC
D		Sample3					Sample4					
E												
F												
G												
H												

Plate Locations	Plasma-SeqSensei™ Assay	Sample Name	DNA Amount [ng]	Target Read Count
C01	Breast Cancer	PC	4.3	1252014
C12	Breast Cancer	NTC	0.0	0
D02, C03, C04, C05, C06	Breast Cancer	Sample1	40.0	11655012
C07, C08, C09, C10, C11	Breast Cancer	Sample2	40.3	11742424
D02, D03, D04, D05, D06	Breast Cancer	Sample3	50.0	14568765
D07, D08, D09, D10, D11	Breast Cancer	Sample4	80.0	23310023

Reset Back Next

IVD

- a. Aparecerán el ensayo Plasma-SeqSensei™, así como el número de lote y la referencia.
 - b. Los pocillos que vayan a utilizarse para el análisis aparecerán marcados con los nombres de las muestras; también se marcarán aquellos con Positive Control (PC) y No Template Control (NTC).
 - c. Los pocillos usados con anterioridad aparecerán marcados en gris oscuro.
 - d. La ubicación de la placa, el ensayo Plasma-SeqSensei™, el nombre de la muestra, la concentración de la muestra en ng y los valores objetivo de Reads aparecerán en una lista en la parte inferior de la pantalla.
 - e. Haga clic en [Next] (Siguiente) para pasar a la página siguiente o en [Back] (Atrás) para retroceder una página y modificar la información introducida.
6. Compruebe la información introducida; para ello, revise la sección «Sequencing Run Summary» (Resumen de la carrera de secuenciación), en la que se especifican los siguientes parámetros:



Sequencing Run Summary

Plasma-SeqSensei™ Assay: Breast Cancer
Number of Samples: 4
Plate A

Article Number: ZR150644
Lot Number: D22222

Sequencing Device: Illumina NextSeq™ 500/550
Sequencing Kit: MxL Output Kit v2.5 (150-cycle)
Indexing Type: single
Total DNA Input (ng): 214.6
Total Target Reads: 62528138
Sequencing Capacity Usage: 56.6 %

Plate A

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C	PC	Sample1					Sample2				NTC	
D		Sample1					Sample2					
E												
F												
G												
H												

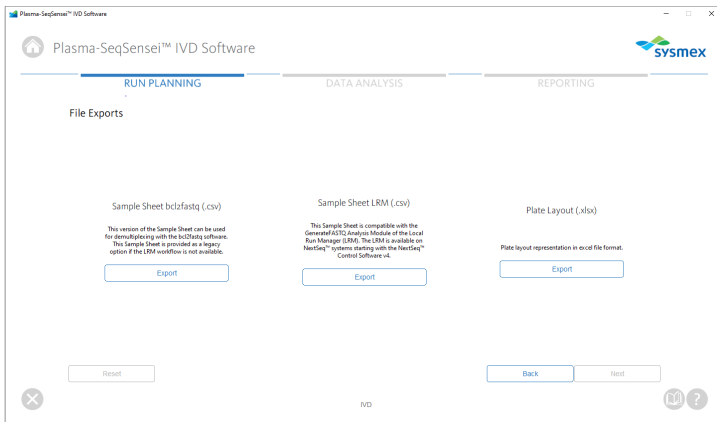
Plate B

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D												
E												
F												
G												
H												

Reset Back Next

- Ensayo Plasma-SeqSensei™
- Número de muestras
- Placa utilizada, con la referencia y el número de lote
- Dispositivo de secuenciación
- Kit de secuenciación

- Tipo de indexación (campo relleno automáticamente)
 - ADN de partida total (en ng)
 - Valor objetivo total de Reads (campo relleno automáticamente)
 - Uso de la capacidad de secuenciación (campo relleno automáticamente)
 - Distribución de las dos posibles placas
- a. Haga clic en [Next] (Siguiente) para pasar a la página siguiente o en [Back] (Atrás) para retroceder una página y modificar la información introducida.
7. Aparecerán tres archivos en la página de exportación de archivos. Pueden exportarse como archivos .csv (hoja de muestras) o .xlsx (distribución de la placa), según sea necesario.



- a. Para exportar una hoja de muestras específica o la distribución de la placa, haga clic en el botón [Export] (Exportar), seleccione la ubicación en su ordenador o red y haga clic en [Save] (Guardar).
- b. Puede exportar la distribución de la placa (.xlsx) para fines de documentación.

Plate A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13
14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	25	26
27	28	29	30	31	32	33	34	35	36	37	38	39
40	41	42	43	44	45	46	47	48	49	50	51	52
53	54	55	56	57	58	59	60	61	62	63	64	65
66	67	68	69	70	71	72	73	74	75	76	77	78
79	80	81	82	83	84	85	86	87	88	89	90	91
92	93	94	95	96	97	98	99	100	101	102	103	104
105	106	107	108	109	110	111	112	113	114	115	116	117
118	119	120	121	122	123	124	125	126	127	128	129	130
131	132	133	134	135	136	137	138	139	140	141	142	143
144	145	146	147	148	149	150	151	152	153	154	155	156
157	158	159	160	161	162	163	164	165	166	167	168	169
170	171	172	173	174	175	176	177	178	179	180	181	182
183	184	185	186	187	188	189	190	191	192	193	194	195
196	197	198	199	200	201	202	203	204	205	206	207	208
209	210	211	212	213	214	215	216	217	218	219	220	221
222	223	224	225	226	227	228	229	230	231	232	233	234
235	236	237	238	239	240	241	242	243	244	245	246	247
248	249	250	251	252	253	254	255	256	257	258	259	260
261	262	263	264	265	266	267	268	269	270	271	272	273
274	275	276	277	278	279	280	281	282	283	284	285	286
287	288	289	290	291	292	293	294	295	296	297	298	299
300	301	302	303	304	305	306	307	308	309	310	311	312
313	314	315	316	317	318	319	320	321	322	323	324	325
326	327	328	329	330	331	332	333	334	335	336	337	338
339	340	341	342	343	344	345	346	347	348	349	350	351
352	353	354	355	356	357	358	359	360	361	362	363	364
365	366	367	368	369	370	371	372	373	374	375	376	377
378	379	380	381	382	383	384	385	386	387	388	389	390
391	392	393	394	395	396	397	398	399	400	401	402	403
404	405	406	407	408	409	410	411	412	413	414	415	416
417	418	419	420	421	422	423	424	425	426	427	428	429
430	431	432	433	434	435	436	437	438	439	440	441	442
443	444	445	446	447	448	449	450	451	452	453	454	455
456	457	458	459	460	461	462	463	464	465	466	467	468
469	470	471	472	473	474	475	476	477	478	479	480	481
482	483	484	485	486	487	488	489	490	491	492	493	494
495	496	497	498	499	500	501	502	503	504	505	506	507
508	509	510	511	512	513	514	515	516	517	518	519	520
521	522	523	524	525	526	527	528	529	530	531	532	533
534	535	536	537	538	539	540	541	542	543	544	545	546
547	548	549	550	551	552	553	554	555	556	557	558	559
560	561	562	563	564	565	566	567	568	569	570	571	572
573	574	575	576	577	578	579	580	581	582	583	584	585
586	587	588	589	590	591	592	593	594	595	596	597	598
599	600	601	602	603	604	605	606	607	608	609	610	611
612	613	614	615	616	617	618	619	620	621	622	623	624
625	626	627	628	629	630	631	632	633	634	635	636	637
638	639	640	641	642	643	644	645	646	647	648	649	650
651	652	653	654	655	656	657	658	659	660	661	662	663
664	665	666	667	668	669	670	671	672	673	674	675	676
677	678	679	680	681	682	683	684	685	686	687	688	689
690	691	692	693	694	695	696	697	698	699	700	701	702
703	704	705	706	707	708	709	710	711	712	713	714	715
716	717	718	719	720	721	722	723	724	725	726	727	728
729	730	731	732	733	734	735	736	737	738	739	740	741
742	743	744	745	746	747	748	749	750	751	752	753	754
755	756	757	758	759	760	761	762	763	764	765	766	767
768	769	770	771	772	773	774	775	776	777	778	779	780
781	782	783	784	785	786	787	788	789	790	791	792	793
794	795	796	797	798	799	800	801	802	803	804	805	806
807	808	809	810	811	812	813	814	815	816	817	818	819
820	821	822	823	824	825	826	827	828	829	830	831	832
833	834	835	836	837	838	839	840	841	842	843	844	845
846	847	848	849	850	851	852	853	854	855	856	857	858
859	860	861	862	863	864	865	866	867	868	869	870	871
872	873	874	875	876	877	878	879	880	881	882	883	884
885	886	887	888	889	890	891	892	893	894	895	896	897
898	899	900	901	902	903	904	905	906	907	908	909	910
911	912	913	914	915	916	917	918	919	920	921	922	923
924	925	926	927	928	929	930	931	932	933	934	935	936
937	938	939	940	941	942	943	944	945	946	947	948	949
950	951	952	953	954	955	956	957	958	959	960	961	962
963	964	965	966	967	968	969	970	971	972	973	974	975
976	977	978	979	980	981	982	983	984	985	986	987	988
989	990	991	992	993	994	995	996	997	998	999	1000	1001

- c. El LRM de la hoja de muestras (.csv), situado en el centro de la pantalla, se aplica al iniciar la carrera de secuenciación con el Local Run Manager (LRM) de Illumina, Inc. Al cargar la hoja de muestras del LRM en el software LRM del dispositivo de secuenciación, habrá que seleccionar el módulo «GenerateFastQ».

Importante: En la sección «Advanced Module Settings» (Ajustes avanzados del módulo), habrá que incluir el «Adapter» (Adaptador) y su secuencia (marcados en amarillo en la hoja de muestras de ejemplo incluida a continuación) para que el recorte de adaptadores se realice de forma correcta.

Ejemplo A (LRM y una placa):

#	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	[Header]	,,,,,,								
2	1EMFileVersion	4	,,,,,,							
3	Experiment Name	BCIVDLRM	,,,,,,							
4	Date	2022-05-09 12:08:02.863719	,,,,,,							
5	Workflow	GenerateFASTQ	,,,,,,							
6	Application	FASTQ Only	,,,,,,							
7	Assay	TruSeq LT	,,,,,,							
8	safeseq_sw	1.1.7	,,,,,,							
9	Chemistry	Default	,,,,,,							
10	BC_IVD1	D20000	None	,,,,,,						
11										
12	[Reads]	,,,,,,								
13	14B	,,,,,,								
14										
15	[Settings]	,,,,,,								
16	Adapter	AGATCGGAAGACACACGCTGAACTCCAGTCA	,,,,,,							
17										
18	[Data]	,,,,,,								
19	Sample_ID	Sample_Name	Sample_Plate	Sample_Well	I7_Index_ID	index	Sample_Project	Description		
20	BC_IVD1_NTcplatea_0_C12_a	BC_IVD1_NTcplatea_0_C12_a_a	C12	C12	TCGCTACTAC	BCIVDLRM				
21	BC_IVD1_Pcplatea_43_C01_a	BC_IVD1_Pcplatea_43_C01_a_a	C01	C01	CATGTGATAC	BCIVDLRM				
22	BC_IVD1_Sample1_120_C02_a	BC_IVD1_Sample1_120_C02_a_a	C02	C02	GTAGACTAG	BCIVDLRM				
23	BC_IVD1_Sample1_120_C03_a	BC_IVD1_Sample1_120_C03_a_a	C03	C03	ATAGTGGC	BCIVDLRM				
24	BC_IVD1_Sample1_120_C04_a	BC_IVD1_Sample1_120_C04_a_a	C04	C04	TCGTACACAG	BCIVDLRM				
25	BC_IVD1_Sample1_120_C05_a	BC_IVD1_Sample1_120_C05_a_a	C05	C05	ATCGAGAG	BCIVDLRM				
26	BC_IVD1_Sample1_120_C06_a	BC_IVD1_Sample1_120_C06_a_a	C06	C06	TACTGAGAG	BCIVDLRM				
27	BC_IVD1_Sample2_450_C07_a	BC_IVD1_Sample2_450_C07_a_a	C07	C07	AGTACTCTG	BCIVDLRM				
28	BC_IVD									

Ejemplo B (LRM y dos placas):

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	[Header],,,,,,											
2	IEMFileVersion,4,,,,,											
3	Experiment Name,BCIVDLRM2,,,,,											
4	Date,2022-05-09 12:16:33.88399,,,,,											
5	Workflow,GenerateFASTQ,,,,,											
6	Application,FASTQ Only,,,,,											
7	Assay,TruSeq LT,,,,,											
8	safeseq_sw,1.1.7,,,,,											
9	Chemistry,Default,,,,,											
10	BC_IVD1,D20000,D20000,,,,,											
11												
12	[Reads],,,,,,											
13	148,,,,,											
14												
15	[Settings],,,,,,											
16	Adapter,AGATCGGAAGAGCACACGTCTGAACTCCAGTCA,,,,,											
17												
18	[Data],,,,,,											
19	Sample_ID,Sample_Name,Sample_Plate,Sample_Well,I7_Index_ID,index15_Index_ID,index2,Sample_Project,Description											
20	BC_IVD1_NTcplateplidx0_0_A12_a,BC_IVD1_NTcplateplidx0_0_A12_b,A12,A12,ACTAGATCGT,a,TTGTATCTGG,BCIVDLRM2,											
21	BC_IVD1_NTcplateplidx1_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplateplidx1_0_A12_a,A12,A12,ACTAGATCGT,a,CAACCAAGGA,BCIVDLRM2,											
22	BC_IVD1_NTcplateplidx2_0_A12_a,BC_IVD1_NTcplateplidx2_0_A12_b,A12,A12,ACTAGATCGT,a,GGACCGTGT,BCIVDLRM2,											
23	BC_IVD1_NTcplateplidx3_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplateplidx3_0_A12_a,A12,A12,ACTAGATCGT,a,CCAACGGTA,BCIVDLRM2,											
24	BC_IVD1_NTcplateplidx0_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplateplidx0_0_A12_b,b,A12,A12,ACTAGATCGT,b,CTCCACTGAA,BCIVDLRM2,											
25	BC_IVD1_NTcplateplidx1_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplateplidx1_0_A12_b,b,A12,A12,ACTAGATCGT,b,GTCCGGTACT,BCIVDLRM2,											
26	BC_IVD1_NTcplateplidx2_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplateplidx2_0_A12_b,b,A12,A12,ACTAGATCGT,b,CTACTCTG,BCIVDLRM2,											
27	BC_IVD1_NTcplateplidx3_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplateplidx3_0_A12_b,b,A12,A12,ACTAGATCGT,b,ACTCTGGTA,BCIVDLRM2,											
28	BC_IVD1_Pcplateplidx0_43_A01_a,BC_IVD1_Pcplateplidx0_43_A01_a,A01,A01,CTACAGCAGT,a,CAACCAAGGA,BCIVDLRM2,											
29	BC_IVD1_Pcplateplidx1_43_A01_a,BC_IVD1_Pcplateplidx1_43_A01_a,A01,A01,CTACAGCAGT,a,CAACCAAGGA,BCIVDLRM2,											
30	BC_IVD1_Pcplateplidx2_43_A01_a,BC_IVD1_Pcplateplidx2_43_A01_a,A01,A01,CTACAGCAGT,a,GGACCGTGT,BCIVDLRM2,											
31	BC_IVD1_Pcplateplidx3_43_A01_a,BC_IVD1_Pcplateplidx3_43_A01_a,A01,A01,CTACAGCAGT,a,CAACCGTAA,BCIVDLRM2,											
32	BC_IVD1_Pcplateplidx0_43_A01_b,BC_IVD1_Pcplateplidx0_43_A01_b,A01,A01,CTACAGCAGT,b,CTCCACTGAA,BCIVDLRM2,											
33	BC_IVD1_Pcplateplidx1_43_A01_b,BC_IVD1_Pcplateplidx1_43_A01_b,b,A01,A01,CTACAGCAGT,b,GTCCGGTACT,BCIVDLRM2,											
34	BC_IVD1_Pcplateplidx2_43_A01_b,BC_IVD1_Pcplateplidx2_43_A01_b,b,A01,A01,CTACAGCAGT,b,CTACTCTG,BCIVDLRM2,											
35	BC_IVD1_Pcplateplidx3_43_A01_b,BC_IVD1_Pcplateplidx3_43_A01_b,b,A01,A01,CTACAGCAGT,b,ACTCTGGTA,BCIVDLRM2,											
36	BC_IVD1_Sample1plidx0_120_A02_a,BC_IVD1_Sample1plidx0_120_A02_a,A02,A02,ACACTGATGC,a,TTGTATCTGG,BCIVDLRM2,											

- d. La hoja de muestras bcl2fastq (.csv) del lado izquierdo de la pantalla se utiliza cuando se emplea el software Illumina bcl2fastq para la demultiplexación, el recorte de adaptadores y la generación de archivos FASTQ.

Ejemplo A (bcl2fastq y una placa):

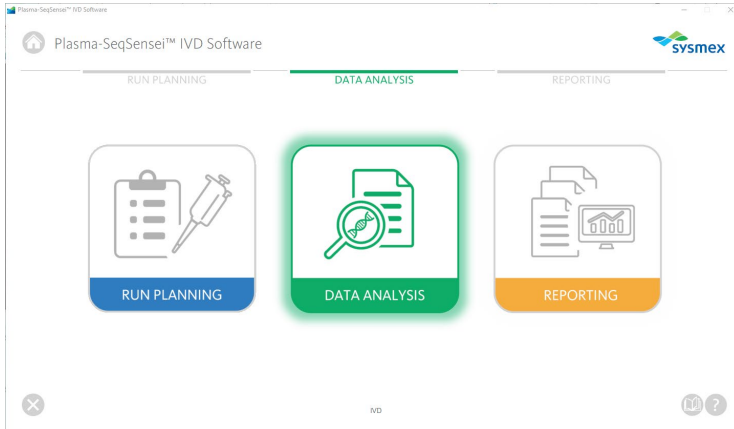
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	[Header],,,,,,									
2	IEMFileVersion,4,,,,,									
3	Experiment Name,BCIVDbcl2fastq,,,,,									
4	Date,2022-05-09 12:07:50.975042,,,,,									
5	Workflow,GenerateFASTQ,,,,,									
6	Application,FASTQ Only,,,,,									
7	Assay,TruSeq LT,,,,,									
8	safeseq_sw,1.1.7,,,,,									
9	Chemistry,Default,,,,,									
10	BC_IVD1,D20000,None,,,,,									
11										
12	[Reads],,,,,,									
13	148,,,,,									
14										
15	[Settings],,,,,,									
16	FilterPCRDuplicates,0,,,,,									
17	ReverseComplement,0,,,,,									
18	VariantFilterQualityCutoff,30,,,,,									
19	outputgenomev,FALSE,,,,,									
20	Adapter,AGATCGGAAGAGCACACGTCTGAACTCCAGTCA,,,,,									
21										
22	[Data],,,,,,									
23	Sample_ID,Sample_Name,Sample_Plate,Sample_Well,I7_Index_ID,index,Sample_Project,Description									
24	BC_IVD1_NTcplatea_0_C12_a,BC_IVD1_NTcplatea_0_C12_a,C12,C12,TCGCTACTAC,BCIVDbcl2fastq,									
25	BC_IVD1_Pcplatea_43_C01_a,BC_IVD1_Pcplatea_43_C01_a,C01,C01,CATGTGATAC,BCIVDbcl2fastq,									
26	BC_IVD1_Sample1_120_C02_a,BC_IVD1_Sample1_120_C02_a,C02,C02,GTACAGACTAG,BCIVDbcl2fastq,									
27	BC_IVD1_Sample1_120_C03_a,BC_IVD1_Sample1_120_C03_a,C03,C03,ATAGATCGCG,BCIVDbcl2fastq,									
28	BC_IVD1_Sample1_120_C04_a,BC_IVD1_Sample1_120_C04_a,C04,C04,TCGTACACAG,BCIVDbcl2fastq,									
29	BC_IVD1_Sample1_120_C05_a,BC_IVD1_Sample1_120_C05_a,C05,C05,ACTGAGAGAG,BCIVDbcl2fastq,									
30	BC_IVD1_Sample1_120_C06_a,BC_IVD1_Sample1_120_C06_a,C06,C06,TACTGCGAGAG,BCIVDbcl2fastq,									
31	BC_IVD1_Sample2_450_C07_a,BC_IVD1_Sample2_450_C07_a,C07,C07,AGTGACTCTG,BCIVDbcl2fastq,									
32	BC_IVD1_Sample2_450_C08_a,BC_IVD1_Sample2_450_C08_a,C08,C08,CACAGCTCTCA,BCIVDbcl2fastq,									

Ejemplo B (bcl2fastq y dos placas):

#	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	[Header],,,,,,											
2	EMFileVersion,4,,,,,											
3	Experiment Name,BCIVDbcl2fastq,,,,,											
4	Date,2022-05-09 12:16:25.131648,,,,,											
5	Workflow,GenereateFASTQ,,,,,											
6	Application,FASTQ Only,,,,,											
7	Assay,TruSeq LT,,,,,											
8	safeseq_sw,1.1.7,,,,,											
9	Chemistry,Default,,,,,											
10	BC_IVD1.D20000.D20000,,,,,											
11												
12	[Reads],,,,,,											
13	148,,,,,											
14												
15	[Settings],,,,,,											
16	FilterPCRDuplicates,0,,,,,											
17	ReverseComplement,0,,,,,											
18	VariantFilterQualityCutoff,30,,,,,											
19	outputgenomexv,FALSE,,,,,											
20	Adapter,AGATCGGAAGAGCACACGTCTGAACTCCAGTCA,,,,,											
21												
22	[Data],,,,,,											
23	Sample_ID,Sample_Name,Sample_Plate,Sample_Well,I7_Index_ID,index_S_Index_ID,index2,Sample_Project,Description											
24	BC_IVD1_NTcplatea_0_A12_a,BC_IVD1_NTcplatea_0_A12_a,a,A12,A12,ACTAGATCGT,b,CCAGATACAA,BCIVDbcl2fastq2,											
25	BC_IVD1_NTcplatea_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplatea_0_A12_b,a,A12,A12,ACTAGATCGT,a,TCCTGGTTG,BCIVDbcl2fastq2,											
26	BC_IVD1_NTcplatea_0_A12_a,BC_IVD1_NTcplatea_0_A12_a,a,A12,A12,ACTAGATCGT,a,AAACCGTCC,BCIVDbcl2fastq2,											
27	BC_IVD1_NTcplatea_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplatea_0_A12_b,b,A12,A12,ACTAGATCGT,b,TTACCGTTGG,BCIVDbcl2fastq2,											
28	BC_IVD1_NTcplateb_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplateb_0_A12_b,b,A12,A12,ACTAGATCGT,b,TTACCGTTGG,BCIVDbcl2fastq2,											
29	BC_IVD1_NTcplateb_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplateb_0_A12_b,b,A12,A12,ACTAGATCGT,b,AGTACCGAC,BCIVDbcl2fastq2,											
30	BC_IVD1_NTcplateb_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplateb_0_A12_b,b,A12,A12,ACTAGATCGT,b,CAAGTAGTAG,BCIVDbcl2fastq2,											
31	BC_IVD1_NTcplateb_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplateb_0_A12_b,b,A12,A12,ACTAGATCGT,b,TATCGCAAGT,BCIVDbcl2fastq2,											
32	BC_IVD1_Pcplatea_43_A01_a,BC_IVD1_Pcplatea_43_A01_a,a,A01,A01,CTACAGCAGT,a,CCAGATACAA,BCIVDbcl2fastq2,											
33	BC_IVD1_Pcplatea_43_A01_a,BC_IVD1_Pcplatea_43_A01_a,a,A01,A01,CTACAGCAGT,a,TCCTGGTTG,BCIVDbcl2fastq2,											
34	BC_IVD1_Pcplatea_43_A01_a,BC_IVD1_Pcplatea_43_A01_a,a,A01,A01,CTACAGCAGT,a,AAACCGTCC,BCIVDbcl2fastq2,											
35	BC_IVD1_Pcplatea_43_A01_a,BC_IVD1_Pcplatea_43_A01_a,a,A01,A01,CTACAGCAGT,a,TTACCGTTGG,BCIVDbcl2fastq2,											
36	BC_IVD1_Pcplateb_43_A01_b,BC_IVD1_Pcplateb_43_A01_b,b,A01,A01,CTACAGCAGT,b,TTACCGTTGG,BCIVDbcl2fastq2,											

- e. Si necesita modificar la información introducida, puede retroceder por las páginas haciendo clic en el botón [Back] (Atrás) situado en la esquina inferior derecha de la ventana.

6.2 Módulo «Data Analysis» (Análisis de datos)



El módulo «Data Analysis» (Análisis de datos), de color verde, se utiliza para iniciar la carrera de secuenciación; para ello, se emplean:

- Archivos FASTQ comprimidos (.fastq.gz);
- Hoja de muestras del análisis, elaborada en el módulo «Run Planning» (Planificación del análisis).

Los archivos FASTQ se deben guardar de forma local en la misma unidad que el Plasma-SeqSensei™ IVD Software, en una única carpeta por carrera de secuenciación. No se pueden utilizar subcarpetas. Para transferir datos desde BaseSpace™, debe copiar todos los archivos .fastq.gz en una única ubicación de carpeta.

El análisis se llevará a cabo después de que se hayan realizado la carrera de secuenciación y la demultiplexación, el recorte de adaptadores y la generación de archivos FASTQ posteriores. La demultiplexación y el recorte de adaptadores, como tales, no forman parte de este software de análisis y deben realizarse antes del análisis de los datos (consulte el ► capítulo 4.1 *Adquisición de datos*, página 10/61).

6 Módulos del Plasma-SeqSensei™ IVD Software

Antes de iniciar el análisis de los datos con el Plasma-SeqSensei™ IVD Software, compruebe los parámetros de validez del análisis en el software del instrumento Illumina:

- Densidad de grupos:
NextSeq™: Valor medio entre 0 y 220 k/mm²
- Puntuación Q30: ≥ 80 %
- Grupos que superan el filtro (PF): ≥ 80 %

Si no se cumplen los parámetros de validez del análisis, esta no será válida.

The screenshot shows the 'Plasma-SeqSensei™ IVD Software' interface with the 'DATA ANALYSIS' tab selected. The interface is divided into three main sections: 'RUN PLANNING', 'DATA ANALYSIS', and 'REPORTING'. The 'DATA ANALYSIS' section contains the following fields and controls:

- Analysis Name:** A text input field with a 'Browse' button.
- FASTQ Folder:** A text input field with a 'Browse' button.
- Sample Sheet:** A text input field with a 'Browse' button.
- Info:** A large empty text area.
- Sequencing Device:** A dropdown menu showing 'Illumina NextSeq™ 500/550'.
- Sequencing Kit:** A dropdown menu showing 'Mid Output Kit v2.5 (150 cycles)'.
- Sequencing Quality Metrics:** A section with four input fields:
 - Flowcell ID: Enter Flowcell ID.
 - % > Q30: Enter % > Q30.
 - Cluster Density [k/mm²]: Enter Cluster Density.
 - Clusters Passing Filter [%]: Enter Clusters Passing Filter.
- Start Analysis:** A green button.

1. Haga clic en el módulo «Data Analysis» (Análisis de datos), de color verde.
2. Escriba un nombre para el análisis.
3. Seleccione el dispositivo de secuenciación utilizado.
4. Seleccione el kit de secuenciación.
5. Rellene los parámetros de calidad de la secuenciación/validez del análisis que aparezcan en el dispositivo de secuenciación:
 - a. ID Flowcell
 - b. % > Q30
 - c. Densidad de grupos [k/mm²]
 - d. Grupos que superan el filtro [%]

Al avanzar a la página siguiente, aparecerá un mensaje de error si el identificador de Flowcell está incompleto o no coincide con el identificador incluido en los archivos que haya que analizar, o bien si los parámetros de validez del análisis están fuera de los rangos aceptables.

6. Seleccione la carpeta que contenga los archivos FASTQ de la carrera de secuenciación que haya que analizar (.fastq.gz); para ello, haga clic en el botón [Browse] (Examinar) y vaya a la carpeta que haya que seleccionar.

Nota: *Los archivos .fastq.gz no estarán visibles al seleccionar la carpeta.*

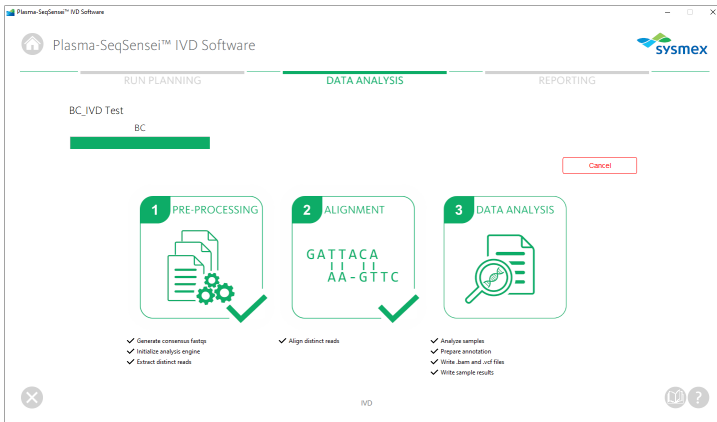
7. Seleccione la hoja de muestras creada en el módulo «Run Planning» (Planificación del análisis) (.csv); para ello, haga clic en el botón [Browse] (Examinar) y vaya al archivo que haya que seleccionar.
8. Rellene la información del experimento, la carrera de secuenciación o el análisis (opcional).
9. Haga clic en [Start Analysis] (Iniciar análisis).

Si faltan archivos, los nombres de la hoja de muestras y los archivos no coinciden o selecciona una hoja de muestras incorrecta, el software mostrará un mensaje de error.

Nota: *Se recomienda cerrar el resto de las aplicaciones durante el análisis y desactivar las funciones del ordenador con sistema operativo Windows que se estén ejecutando en segundo plano.*

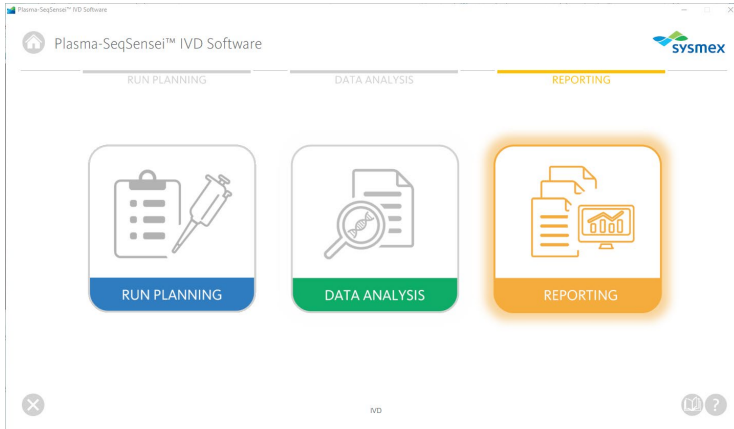
En función de la memoria disponible, el análisis puede tardar hasta 6 horas. Si el análisis dura más, consulte el ► capítulo 8 *Solución de problemas*, página 51/61.

10. Aparecerá una nueva ventana en la que se mostrarán el proceso y el progreso del análisis de los datos.



- a. Puede detener el análisis haciendo clic en el botón [Cancel] (Cancelar) rojo situado en la parte derecha de la ventana. Después de cancelar el análisis, habrá que reiniciarlo; no se puede pausar.
11. Una vez finalizado el análisis de los datos, el software seleccionará automáticamente el módulo «Reporting» (Informes) y abrirá la página con los resultados de la carrera de secuenciación.

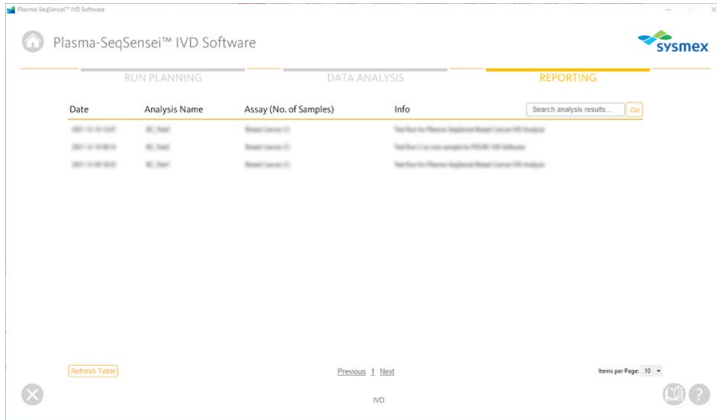
6.3 Módulo «Reporting» (Informes)



El módulo «Reporting» (Informes), de color naranja, se utiliza para guardar y administrar todos los resultados de los análisis realizados con el Plasma-SeqSensei™ IVD Software. Permite al usuario:

- ver todos los análisis analizados en el dispositivo;
- ver el directorio de archivos FASTQ de cada análisis;
- descargar informes (.pdf) y archivos .vcf y .bam de cada análisis;
- eliminar análisis/datos.

El módulo «Reporting» (Informes) se abrirá automáticamente tras finalizar un análisis. Se podrá acceder en cualquier momento a todos los análisis anteriores realizados en el dispositivo para descargar o eliminar datos. Los datos pueden descargarse en los formatos .pdf (informes), .vcf y .bam.



1. Haga clic en el módulo «Reporting» (Informes), de color naranja.
2. En él podrá ver un resumen de todos los análisis realizados con el Plasma-SeqSensei™ IVD Software en el dispositivo.
 - a. Para ir a una determinada página de este resumen, haga clic en el número de página en la parte inferior de la pantalla, o bien en [Previous] (Anterior) o [Next] (Siguiente).

[Previous](#) **1** [Next](#)

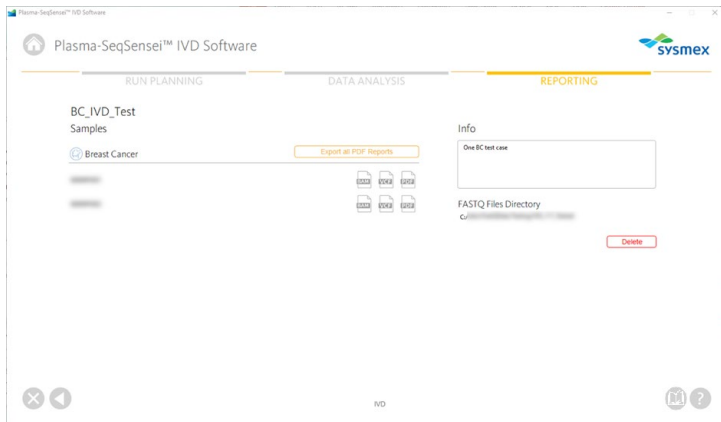
- b. El número de elementos por página se puede modificar en la esquina inferior derecha de la página.
- Items per Page: 10** ▼
- c. Para buscar resultados de análisis específicos, escriba el nombre del análisis en el campo de búsqueda situado en la esquina superior derecha de la ventana y haga clic en el botón [Go] (Ir).

- d. Si está a la espera de recibir nuevos datos, vuelva a cargar la tabla de resultados para que aparezcan los nuevos resultados de análisis. Haga clic en el botón [Refresh Table]

(Actualizar tabla) situado en la esquina inferior izquierda de la ventana.

Refresh Table

3. Para seleccionar el resultado del análisis que le interese, haga clic en él.
4. En la nueva ventana aparecerán los resultados de análisis, incluidos los siguientes datos:



- a. Nombre del análisis
- b. Ensayo utilizado para el análisis
- c. Nombres de todas las muestras de ese análisis
- d. Información sobre el análisis, si se incluyó en el módulo «Data Analysis» (Análisis de datos)
- e. Ubicación del directorio de archivos FASTQ utilizado para el análisis de los datos
- f. Iconos para exportar informes (.pdf) y archivos (.vcf y .bam) para una muestra individual




- g. Botón para exportar todos los informes (.pdf) de un determinado análisis como un archivo .zip

Export all PDF Reports

5. Para exportar archivos, haga clic en el icono o botón correspondiente y seleccione el nombre y la ubicación de su dispositivo/servidor para la exportación.
6. Para eliminar todos los resultados de análisis de un análisis concreto, haga clic en el botón [Delete] (Eliminar) de color rojo situado en la esquina inferior derecha de la pantalla.

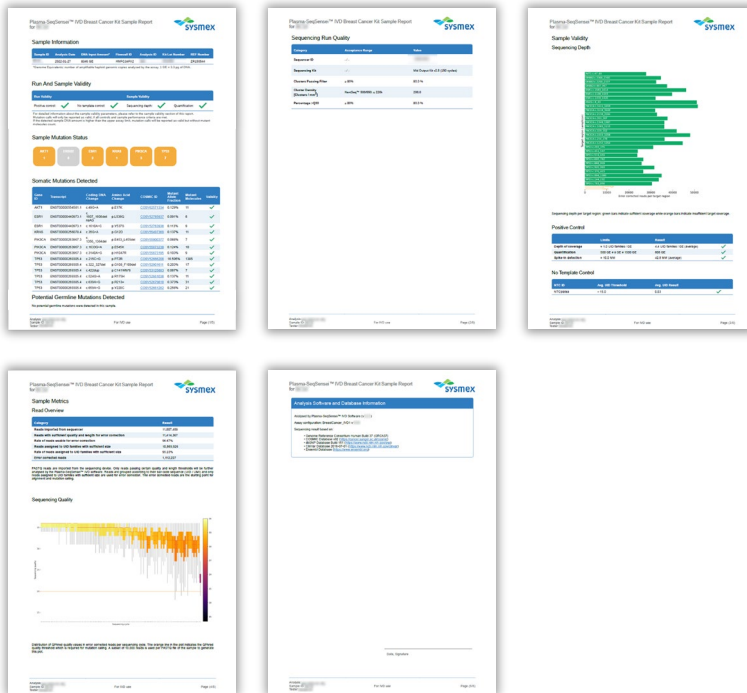


Aparecerá una ventana indicándole que confirme que desea eliminar todos los datos.

7. Para regresar al resumen del módulo «Reporting» (Informes), haga clic en el triángulo blanco en un círculo gris  situado en la esquina inferior izquierda de la ventana del software.

7 Informes

Los informes están disponibles en formato .pdf.



Además, se pueden descargar archivos .vcf (formato de variantes identificadas) y .bam (mapa de alineación binaria). Los archivos .vcf contienen, entre otros datos, todas las mutaciones de la fracción alélica mutada (MAF) y las moléculas mutantes (MM; únicamente para las muestras válidas), que se muestran en el informe en un formato estandarizado. Los archivos .bam contienen datos de alineación de las Reads de consenso de UID generadas frente a los amplicones del ensayo. Ambos tipos de archivos pueden utilizarse para examinar en detalle los resultados de los análisis mediante software de terceros; p. ej., el software Integrative Genomics Viewer (IGV, <https://software.broadinstitute.org/software/igv/>). Si utiliza IGV, seleccione la opción «Human hg19» (hg19 humano) como genoma de referencia.

Los informes generados por el PSS IVD Software incluyen varias secciones:

- Información de la muestra
- Validez del análisis y la muestra
 - Profundidad de secuenciación
 - Positive Control
 - No Template Control
- Estado de mutación de la muestra
- Mutaciones detectadas
 - Mutaciones somáticas
 - Mutaciones inválidas
 - Posibles mutaciones de la línea germinal
- Calidad de la carrera de secuenciación
- Parámetros de la muestra
 - Resumen de Reads
 - Calidad de la secuenciación
- Información del software y la base de datos de análisis

Ejemplo A:

Sample Information

Sample ID	Analysis Date	DNA Input Amount*	Flowcell ID	Analysis ID	Kit Lot Number	REF Number
	2022-01-20	8346 GE	HMFCJAFX2			

*Genome Equivalents: number of amplifiable haploid genomic copies analysed by the assay. 1 GE = 3.3 pg of DNA.

Ejemplo B:

Sample Information

Sample ID	Analysis Date	DNA Input Amount*	Flowcell ID	Analysis ID	Kit Lot Number	REF Number
	2022-02-03	Not quantifiable	HNLGFAFX2			

*Genome Equivalents: number of amplifiable haploid genomic copies analysed by the assay. 1 GE = 3.3 pg of DNA.

The DNA input is listed as not quantifiable if the detected DNA amount for this sample is outside the valid input range. Alternatively, this error message is also displayed if the quantification of the positive control fails regardless of the sample DNA input.

La sección **Sample Information** (Información de la muestra) contiene un resumen del análisis de la muestra en cuestión, incluida la siguiente información:

- Identificador de la muestra.
- Fecha de análisis.

- Cantidad de ADN de partida en equivalentes genómicos (Genome Equivalents, GE), calculada mediante el cuantificador interno (Quantispike); si la cantidad de ADN de partida está fuera de los rangos válidos o la cuantificación del Positive Control presenta errores, se marcará como «Not quantifiable» (No cuantificable).
- ID Flowcell
- Identificador del análisis especificado por el usuario para el análisis de este conjunto de muestras.
- Número de lote del PSS IVD Kit utilizado.
- Número REF, que indica la referencia del kit PSS utilizado.

Run And Sample Validity

Run Validity		Sample Validity	
Positive control:	✓	No template control:	✓
		Sequencing depth:	✓
		Quantification:	✗

For detailed information about the sample validity parameters, please refer to the sample validity section of this report. Mutation calls will only be reported as valid, if all controls and sample performance criteria are met. If the detected sample DNA amount is higher than the upper assay limit, mutation calls will be reported as valid but without mutant molecules count.

La tabla **Run and Sample Validity** (Validez del análisis y la muestra) de la primera página del informe indica si la muestra analizada cumple los criterios de validez. Las marcas de verificación verdes (✓) señalan que los resultados son válidos, mientras que las aspas rojas (✗) señalan que los resultados son inválidos.

La cuantificación de las muestras se lleva a cabo inicialmente mediante la medición con Qubit, que permite obtener una primera aproximación del contenido de ADN de partida para determinar la carga correcta de la muestra. La cuantificación que figura en el informe hace referencia al contenido de ADN de la muestra determinado por el cuantificador interno (Quantispike).

Si el valor de cuantificación es inferior al rango aceptable de partida, visible en «Sample Information» (Información de la muestra)/«DNA Input Amount» (Cantidad de ADN de partida), la muestra se considerará inválida y no aparecerán resultados en el informe.

Si la cantidad de ADN de partida es superior al rango aceptable de partida, la cuantificación de la muestra se clasificará como inválida (✗) y únicamente se notificarán los valores de MAF, sin los valores correspondientes de moléculas mutantes (MM).

7 Informes

El análisis de la muestra también será inválido si el Positive Control, el No Template Control o los parámetros de secuenciación no cumplen los criterios especificados.

Sample Mutation Status



La sección **Sample Mutation Status** (Estado de mutación de la muestra) ofrece un resumen del número de mutaciones detectadas por gen mediante el análisis con el PSS IVD Kit. Si se detecta una mutación, el cuadro tendrá color naranja y el número de mutaciones detectadas en el gen aparecerá bajo el nombre del gen. Si no se detectan mutaciones en un gen, el cuadro con el nombre del gen tendrá color gris y habrá un cero debajo del nombre.

Ejemplo A:

Somatic Mutations Detected

Gene ID	Transcript	Coding DNA Change	Amino Acid Change	COSMIC ID	Mutant Allele Fraction	Mutant Molecules	Validity
AKT1	ENST00000554581.1	c.49G>A	p.E17K	COSV62571334	0.129%	11	✓
ESR1	ENST00000440973.1	c.1607_1608delinsAG	p.L536Q	COSV52785937	0.091%	8	✓
ESR1	ENST00000440973.1	c.1610A>C	p.Y537S	COSV52783938	0.113%	9	✓
KRAS	ENST00000256078.4	c.35G>A	p.G12D	COSV55497369	0.137%	11	✓
PIK3CA	ENST00000263967.3	c.1356_1364del	p.E453_L455del	COSV55900377	0.088%	7	✓
PIK3CA	ENST00000263967.3	c.1633G>A	p.E545K	COSV55873239	0.124%	10	✓
PIK3CA	ENST00000263967.3	c.3140A>G	p.H1047R	COSV55873195	0.103%	9	✓
TP53	ENST00000269305.4	c.215C>G	p.P72R	COSV52666208	16.595%	1385	✓
TP53	ENST00000269305.4	c.322_327del	p.G108_F109del	COSV52901611	0.203%	17	✓
TP53	ENST00000269305.4	c.422dup	p.C141Wfs*8	COSV53125883	0.087%	7	✓
TP53	ENST00000269305.4	c.524G>A	p.R175H	COSV52661038	0.137%	11	✓
TP53	ENST00000269305.4	c.639A>G	p.R213=	COSV52679610	0.373%	31	✓
TP53	ENST00000269305.4	c.659A>G	p.Y220C	COSV52661282	0.256%	21	✓
TP53	ENST00000269305.4	c.731_736delinsCCGCC	p.G244Afs*3	COSV53345811	0.327%	27	✓
TP53	ENST00000269305.4	c.983dup	p.T329Hfs*8	COSV53056388	0.164%	14	✓

Ejemplo B:

Somatic Mutations Detected

No valid somatic mutations were detected in this sample.

En la sección **Somatic Mutations Detected** (Mutaciones somáticas detectadas) del informe se presentan todas las mutaciones detectadas por el PSS IVD Software en las regiones de genes cubiertas por el PSS IVD Kit utilizado, siempre que se cumplan los criterios de «Run and Sample Validity» (Validez del análisis y la muestra), con la posible excepción de los criterios de cuantificación.

En la tabla aparecerá la siguiente información:

- Identificador del gen.
- Número de transcrito del gen utilizado durante el análisis.
- Cambio detectado en el ADN codificante
- Cambio aminoacídico derivado de un cambio en el ADN codificante
- Identificador de COSMIC, si está disponible (número COSV) en la versión utilizada de la base de datos (consulte la última página del informe).
- Fracción alélica mutada.
- Moléculas mutantes (MM) por mutación detectada en la muestra, utilizando el contenido de ADN calculado mediante el cuantificador interno (Quantispike). El valor de MM no aparecerá si la cantidad de ADN de partida es superior al rango de partida del ensayo.
- Validez de la mutación.

Ejemplo A:

Potential Germline Mutations Detected

Gene ID	Transcript	Coding DNA Change	Amino Acid Change	dbSNP ID	Mutant Allele Fraction	Mutant Molecules	Validity
PIK3CA	ENST00000263967.3	c.363C>T	p.I121=	rs115746478	99.0%	4950	✓
TP53	ENST00000269305.4	c.329G>T	p.R110L	rs11540654	51.0%	2550	✓

Potential germline mutations were detected in this sample.
This classification is based on a mutant allele fraction above 40% and below or equal 60% (heterozygous) or above 90% (homozygous) for the listed mutations.

Ejemplo B:

Potential Germline Mutations Detected

No potential germline mutations were detected in this sample.

En la sección **Potential germline mutations** (Posibles mutaciones de la línea germinal) (SNP) se presentarán en una tabla adicional esas mutaciones, siempre que existan. Las mutaciones se considerarán posibles

mutaciones de la línea germinal cuando presenten un valor de MAF entre el 40 % y el 60 % (heterocigóticas) o ≥ 90 % (homocigóticas). La introducción en la base de datos dbSNP es opcional. Para validar una mutación descrita como mutación real de la línea germinal, habrá que realizar pruebas adicionales con ADN genómico.

En la tabla aparecerá la siguiente información:

- Identificador del gen.
- Número de transcrito del gen utilizado durante el análisis.
- Cambio detectado en el ADN codificante
- Cambio aminoacídico derivado de un cambio en el ADN codificante
- Identificador de la base de datos dbSNP, si está disponible en la versión utilizada de la base de datos (consulte la última página del informe).
- Fracción alélica mutada.
- Moléculas mutantes (MM) por mutación detectada en la muestra, utilizando el contenido de ADN calculado mediante el cuantificador interno (Quantispike). El valor de MM no aparecerá si la cantidad de ADN de partida es superior al rango de partida del ensayo.
- Validez de la posible mutación de la línea germinal.

Ejemplo A:

Invalid Mutations Detected

Reason	Number of Invalid Mutations
Failure of Positive Control (PC)	14

Presence of invalid mutation calls detected, please refer to the VCF output for additional information and consider re-running the sample.

Ejemplo B:

Invalid Mutations Detected

Reason	Number of Invalid Mutations
Failure of No Template Control (NTC)	14

Presence of invalid mutation calls detected, please refer to the VCF output for additional information and consider re-running the sample.

Ejemplo C:

Invalid Mutations Detected

Reason	Number of Invalid Mutations
Sequencing depth of amplicon below threshold	20

Presence of invalid mutation calls, please refer to the VCF output for additional information and consider re-running the sample.

Ejemplo D:

Invalid Mutations Detected

Reason	Number of Invalid Mutations
Lower limit for DNA input not reached	17

Presence of invalid mutation calls detected, please refer to the VCF output for additional information and consider re-running the sample.

En la sección **Invalid Mutations Detected** (Mutaciones inválidas detectadas) del informe se muestra el número de mutaciones somáticas y de la línea germinal inválidas detectadas por el PSS IVD Software en las regiones de genes cubiertas por el PSS IVD Kit utilizado. También se indicará la razón por la que no son válidas.

Las mutaciones inválidas pueden consultarse en el archivo .vcf de la muestra correspondiente.

Sequencing Run Quality

Category	Acceptance Range	Value
Sequencer ID	- / -	
Sequencing Kit	- / -	Mid Output Kit v2.5 (150 cycles)
Clusters Passing Filter	≥ 80%	80.0 %
Cluster Density [Clusters / mm ²]	NextSeq™ 500/550: ≤ 220k	200.0
Percentage >Q30	≥ 80%	80.0 %

La tabla **Sequencing Run Quality** (Calidad de la carrera de secuenciación) incluye los parámetros de calidad de la secuenciación/validez del análisis introducidos por el usuario en el módulo Analysis (Análisis) del PSS IVD Software. Los rangos de aceptación de estos parámetros, si procede, figurarán en la tabla.

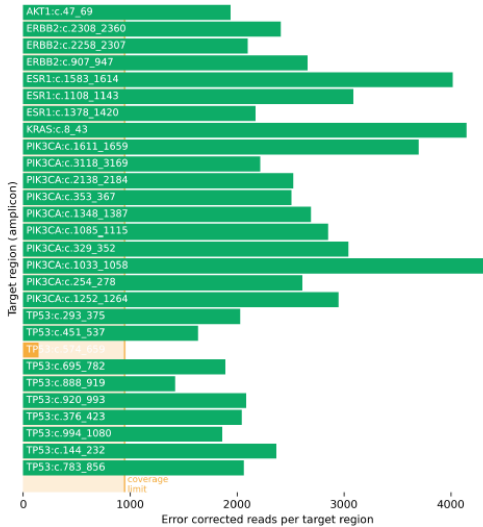
En la tabla aparecerán las siguientes categorías:

- Identificador del secuenciador
- Kit de secuenciación utilizado
- Grupos que superan el filtro
- Densidad de grupos en grupos/mm²
- Porcentaje >Q30

Si algún parámetro está fuera de rango, la carrera de secuenciación será inválida y habrá que repetirla.

Sample Validity

Sequencing Depth



Sequencing depth per target region: green bars indicate sufficient coverage while orange bars indicate insufficient target coverage.

La segunda parte de la sección **Sample Validity** (Validez de la muestra) incluye información adicional para determinar la causa de un posible error del análisis de la muestra.

En la sección **Sequencing Depth** (Profundidad de secuenciación) aparece la cobertura de secuenciación de todas las regiones y amplicones de interés que se hayan analizado con el PSS IVD Kit. Las barras verdes indican que los amplicones de interés disponen de suficiente cobertura, mientras que las barras naranjas indican que la cobertura es insuficiente. El límite de cobertura se muestra en la parte inferior del gráfico en color naranja claro. La unidad utilizada para el cálculo de la cobertura son las Reads corregidas según el error por región de interés.

Positive Control

	Limits	Result	
Depth of coverage	≥ 1.0 UID families / GE	0.8 UID families / GE (average)	✗
Quantification	$500 \text{ GE} \leq x \text{ GE} \leq 1500 \text{ GE}$	808 GE	✓
Spike-In detection	≥ 10.0 MM	42.8 MM (average)	✓

If depth of coverage failed, not all amplicons were detected above or equal to the lower coverage limit. For simplicity, only the avg. detection result of all amplicons is shown in this report.

La tabla **Positive Control** (Control positivo) muestra los límites que debe cumplir el control positivo del ensayo para que un análisis realizado con PSS sea válido. Las marcas de verificación verdes (✓) señalan que los resultados son válidos, mientras que las aspas rojas (✗) señalan que los resultados son inválidos. En esta sección, los siguientes valores del control y la muestra deben estar dentro de los rangos válidos:

- La profundidad de la cobertura de secuenciación debe ser, como mínimo, de 1 familia de UID por GE para el control positivo para todas las amplicones incluidas.
- La cuantificación (expresada en GE) del control positivo debe estar dentro de los rangos aceptables indicados.
- Debe alcanzarse un límite de detección de, como mínimo, 10 MM por mutación incluida en el control positivo.

Ejemplo A:

No Template Control

NTC ID	Avg. UID Threshold	Avg. UID Result	
NTCplatea	< 15.0	0.03	✓

Ejemplo B:

No Template Control

NTC ID	Avg. UID Threshold	Avg. UID Result	
NTCplatea	< 15.0	3577.34	✗

La sección **No Template Control** (Control negativo) muestra si puede existir contaminación del No Template Control. Las marcas de verificación verdes (✓) señalan que los resultados son válidos, mientras que las aspas rojas (✗) señalan que los resultados son inválidos. Si el valor promedio de UID es superior a 15, las muestras podrían estar contaminadas y el análisis, por consiguiente, sería inválido.

Sample Metrics

Read Overview

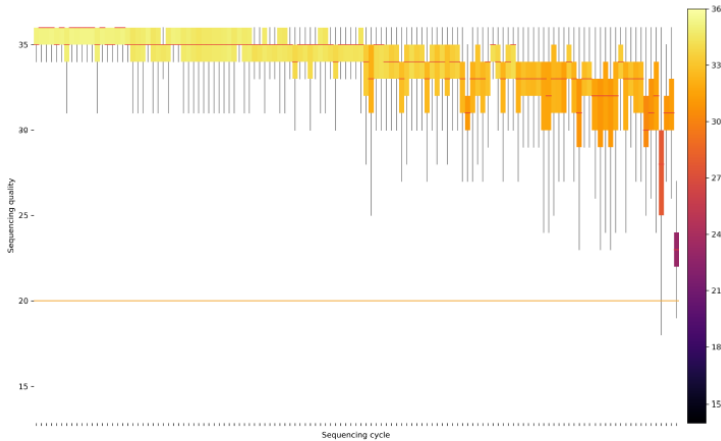
Category	Result
Reads imported from sequencer	2,759,170
Reads with sufficient quality and length for error correction	1,831,255
Rate of reads usable for error correction	66.37%
Reads assigned to UID families with sufficient size	1,779,693
Rate of reads assigned to UID families with sufficient size	97.18%
Error corrected reads	101,635

FASTQ reads are imported from the sequencing device. Only reads passing certain quality and length thresholds will be further analysed by the Plasma-SeqSense™ IVD software. Reads are grouped according to their bar-code sequence (UID / UMI) and only reads assigned to UID families with sufficient size are used for error correction. The error corrected reads are the starting point for alignment and mutation calling.

Puede encontrar más información sobre la carrera de secuenciación y el análisis en la sección **Sample Metrics** (Parámetros de la muestra).

La sección **Read Overview** (Resumen de Reads) proporciona información sobre los valores y los porcentajes de los diferentes tipos de Reads durante el análisis de los datos.

Sequencing Quality



Distribution of QPhred quality values in error corrected reads per sequencing cycle. The orange line in the plot indicates the QPhred quality threshold which is required for mutation calling. A subset of 10,000 reads is used per FASTQ file of the sample to generate this plot.

La sección **Sequencing Quality** (Calidad de la secuenciación) incluye un gráfico con un promedio de todos los valores de calidad de QPhred de un subconjunto de Reads de la muestra específica conforme al número de ciclos de secuenciación. Los valores de QPhred por encima de 20 (línea naranja) son aceptables.

Analysis Software and Database Information

Analysed by Plasma-SeqSense™ IVD Software (v1.2.0)

Assay configuration: BreastCancer_IVD1 v1.0.0

Sequencing result based on:

- Genome Reference Consortium Human Build 37 (GRCh37)
- COSMIC Database v92 (<https://cancer.sanger.ac.uk/cosmic>)
- dbSNP Database Build 151 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>)
- ClinVar Database 2018-07-01 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>)
- Ensembl Database (<https://www.ensembl.org>)

La última sección del informe, denominada **Analysis Software and Database Information** (Información del software y la base de datos de análisis), presenta la información de ese tipo utilizada para el análisis de la muestra en cuestión.

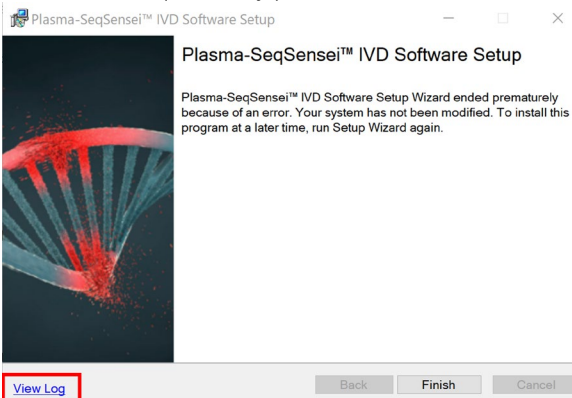
7 Informes

Date, Signature

Al final del informe se incluye un **campo de firma**.

8 Solución de problemas

Consulte la tabla siguiente si se producen problemas durante el uso del Plasma-SeqSensei™ PSS Software, o bien póngase en contacto con el representante local autorizado de Sysmex para solicitar más información.

Problema	Solución
La instalación del software no finaliza correctamente.	<p>Asegúrese de seguir exactamente las instrucciones de la sección 5.1.1 del presente manual para instalar el software. Si aun siguiéndolas no puede instalar correctamente el software, póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de Sysmex y proporcione una copia del archivo de registro de instalación, al que puede acceder mediante el vínculo indicado (cuadro rojo):</p> 
No puedo ver la ventana completa del software ni cerrarla.	El ajuste de escala de la pantalla del ordenador debe ser del 125 % o inferior para poder ver la ventana completa del software.
No se acepta la clave de licencia durante la instalación del software.	Compruebe si ha descargado el software correcto (RUO o IVD) o póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de Sysmex.
Módulo «Run Planning» (Planificación del análisis)	
No se acepta la referencia o el número de lote.	<p>Asegúrese de introducir el número completo, incluidas las letras mayúsculas (ZR y seis números en el caso de la referencia o D y cinco números en el caso del número de lote).</p> <p>Únicamente debe rellenarse la referencia del Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific Kit. No incluya la referencia del Extension IVD Kit.</p>

8 Solución de problemas

Falta una muestra en la página «Plate Summary» (Resumen de la placa).	Compruebe que ha introducido el número correcto de muestras con los nombres de muestra y las concentraciones de ADN correspondientes en el módulo «Run Planning» (Planificación del análisis).
No se acepta el nombre de la muestra.	El nombre de la muestra debe: <ol style="list-style-type: none"> 1. ser único; 2. tener una longitud máxima de 16 caracteres; 3. incluir únicamente caracteres alfanuméricos.
No se acepta la cantidad de ADN.	La cantidad de ADN debe estar dentro del rango específico de partida del IVD Kit; asimismo, debe utilizarse un punto (.) como separador decimal.
El dispositivo de secuenciación NextSeq™ no acepta la hoja de muestras.	Si está utilizando una versión antigua (v. 2.4.0 o anterior) del Local Run Manager en el dispositivo de secuenciación, es posible que la hoja de muestras utilizada no sea compatible. Pruebe a usar la segunda versión de la hoja de muestras, disponible en la página «File Export» (Exportación de archivos) del módulo «Run Planning» (Planificación del análisis), o póngase en contacto con el servicio de atención al cliente de Sysmex.
Módulo «Data Analysis» (Análisis de datos)	
¿Dónde puedo encontrar los parámetros de calidad de la secuenciación?	Los parámetros aparecerán al final de cada carrera en el dispositivo de secuenciación. También puede consultarlos al cargar la carrera de secuenciación en el software Illumina Sequencing Analysis Viewer (SAV).
No puedo seleccionar los archivos FASTQ durante la exploración desde el Plasma-SeqSensei™ IVD Software.	Los archivos FASTQ no aparecerán en la ventana de selección. Debe seleccionar la carpeta en la que estén ubicados esos archivos.
¿Por qué aparecen 4 archivos .fastq.gz por pocillo cuando uso el LRM en el dispositivo NextSeq™?	Al utilizar el Local Run Manager (LRM) durante la etapa de secuenciación en el dispositivo NextSeq™, se creará un archivo por cada carril del pocillo; es decir, habrá 4 archivos en total. El PSS IVD Software concatenará automáticamente esos archivos para su posterior análisis. Si utiliza el PSS Extension IVD Kit y secuencia dos placas en una misma carrera de secuenciación, habrá 16 archivos asociados a cada pocillo.
No puedo encontrar la hoja de muestras de mi análisis.	Intente usar la opción «Search» (Buscar) de su ordenador o prepare una nueva hoja de muestras con el módulo «Run Planning» (Planificación del análisis). Asegúrese de introducir exactamente los mismos nombres, concentraciones y distribuciones de las placas.

<p>No puedo iniciar el análisis porque no se acepta el identificador de Flowcell.</p>	<p>Utilice el identificador completo de Flowcell, tal como aparece en Flowcell, el dispositivo de secuenciación y el software Sequencing Analysis Viewer.</p>
<p>No puedo iniciar el análisis porque faltan archivos.</p>	<p>Durante la demultiplexación, se generarán archivos FASTQ. En función del procedimiento de demultiplexación, habrá 5 archivos FASTQ por muestra, 5 pocillos por muestra o un archivo por pocillo. Este suele ser el resultado si utiliza el software bcl2fastq para la demultiplexación. También pueden generarse 20 archivos FASTQ por muestra (5 pocillos por muestra, 4 archivos por carril y 1 archivo por carril). Esto sucederá cuando utilice el módulo «GenerateFASTQ» del Local Run Manager en su dispositivo NextSeq™.</p> <p>Cuando se analicen dos placas PSS a la vez, se generarán 80 archivos FASTQ por muestra (5 pocillos por muestra, 4 archivos por carril y 4 archivos por índice de placa).</p> <p>En resumen, debería haber 5, 20 u 80 archivos FASTQ por muestra en la carpeta de entrada de archivos FASTQ. En cambio, para el Positive Control y el No Template Control únicamente habrá 1, 4 o 16 archivos FASTQ.</p>
<p>El tiempo de análisis es excesivamente largo.</p>	<p>Por lo general, el análisis requerirá menos de 6 horas. Si observa que el tiempo de análisis es superior a ese, podrían haberse producido distintos problemas:</p> <ul style="list-style-type: none"> • La memoria disponible en el dispositivo es insuficiente. • Los archivos FASTQ son excesivamente grandes debido al uso de un kit de secuenciación inadecuado (p. ej., bajo número de muestras/baja cantidad de ADN de partida en un High Output Kit). • El Plasma-SeqSense™ IVD Software no está ubicado en el mismo dispositivo que los datos. Cuando los archivos están ubicados en una unidad de red, el acceso puede resultar lento o presentar limitaciones si la unidad de red está ocupada con otros procesos. • Mala calidad de las Reads. <p>Si esto sucede, detenga el análisis, solucione el problema (p. ej., modifique la ubicación del software) y reinicie el proceso o espere a que finalice el análisis. Si el análisis no finaliza, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica.</p>

Módulo «Reporting» (Informes).	
No puedo exportar mis informes al hacer clic en los iconos o el botón.	Es un síntoma de que existe algún problema asociado al análisis; posiblemente, finalizó de forma prematura. Habrá que repetir el análisis. Asegúrese de que el entorno de tiempo de ejecución satisface todos los requisitos indicados en el ► capítulo 2.2 <i>Especificaciones del entorno de ejecución</i> , página 3/61.
Algunos amplicones no son válidos. ¿Qué consecuencias tendrá eso en mi informe?	Si en más del 10 % de todas las regiones de interés no se alcanza la cobertura esperada de la muestra, el análisis completo de la muestra será inválido. Si en menos del 10 % de todas las regiones de interés no se alcanza la cobertura esperada de la muestra, únicamente esos amplicones serán inválidos, mientras que el resto de las regiones serán válidas. Todas las mutaciones detectadas (tanto las válidas como las inválidas) pueden consultarse en los archivos .vcf.

9 Glosario y terminología

Término	Definición
cfDNA	ADN libre circulante
COSMIC	Catálogo de Mutaciones Somáticas en el Cáncer
CPU	Unidad central de procesamiento
ctDNA	ADN tumoral circulante
ADN	Ácido desoxirribonucleico
GB	Gigabyte
GE	Equivalente genómico
ID	Identificador
IFU	Instrucciones de uso
IVD	Diagnóstico <i>in vitro</i>
LRM	Local Run Manager
MAF	Fracción alélica mutada
MM	Moléculas mutantes
NGS	Secuenciación de última generación
NTC	No Template Control
PC	Positive Control
PCR	Reacción en cadena de la polimerasa
PF	Superan el filtro
PSS	Plasma-SeqSensei
RUO	Solo para uso en investigación
SNP	Polimorfismo de nucleótido único
SNV	Sustitución en forma de variante de nucleótido único
UID	Identificador único

10 Historial de revisiones

Versión de documento	Fecha	Descripción del cambio	Sección
R2	Noviembre de 2022	Información sobre actualizaciones automáticas de PSS	3.2.1
		Actualización de la dirección del sitio web para descargas	5.1
		Adición de iconos	5.2
		Actualización de la interfaz de usuario	5.3
		Cambio del orden durante los primeros pasos de la «Run Planning» (Planificación del análisis)	6.1, paso 2
		Actualización de las capturas de pantalla y el orden de aparición de los campos mutaciones somáticas válidas, posibles mutaciones de la línea germinal y mutaciones inválidas en el informe	7
		Actualización de la tabla «Solución de problemas»	8
		Adición de la tabla «Glosario y terminología»	9
		Adición de la tabla «Historial de revisiones»	10
R1	Julio de 2022	Versión inicial	N/A

11 Apéndice A

General Terms and Conditions

for Software Licenses of Sysmex Inostics GmbH

1. Subject matter

Sysmex Inostics GmbH, Falkenried 88, 20251 Hamburg, Germany (hereinafter referred to as "SIG") grants the customer a non-exclusive, non-transferable, temporary license to use the following software:

- Plasma-SeqSensei™ IVD Software for analysis of NGS data ("SIG Software")

Title, ownership rights and intellectual property rights in the SIG Software shall not pass to the customer. The license is granted in connection with the purchase of Plasma-SeqSensei™ IVD Kits for the duration of the use of the Plasma-SeqSensei™ IVD Kits.

2. Delivery

The SIG Software will be delivered as part of the delivery of the Plasma-SeqSensei™ IVD Kits. The SIG Software will be provided in its current version.

3. Licensed products from third party suppliers

If third party software products are also provided with the SIG Software that are not open-source software, these may only be used in conjunction with the SIG Software. SIG will draw the customer's attention to any special licensing conditions in an appropriate manner.

4. Prohibition of copying

The SIG software as well as the documentation must not be copied by the customer in whole or in part, with the exception of the production of a machine-readable copy of the SIG software for backup or archiving purposes. Any copy made by the customer for these purposes must be clearly and legibly marked with a complete reference to confidentiality, title, ownership rights and the intellectual property rights of SIG.

5. Prohibition of modification

The customer is neither allowed to make any changes to the SIG software himself nor to allow any third party to make any changes.

6. Prohibition of transfer

The transfer of rights and obligations arising from the license agreement to third parties, even after termination of the agreement, is not permitted. It is not permitted to pass on the license key.

7. Unauthorized use

The customer undertakes to ensure that his employees or other persons subject to his instructions who have access to the SIG software comply with all duties of protection and care arising from this agreement. Furthermore, the customer undertakes to ensure that no one gains access to the SIG Software for the purpose of deriving the source codes. If the customer becomes aware that the SIG Software is being used by one of the aforementioned persons in contravention of the existing obligations to protect and exercise due care, he will immediately do everything in his power to prevent such use in contravention of the contract and notify SIG in writing of the use in contravention of the contract.

8. Claim for damages

SIG is entitled to the industrial property rights and copyrights to the SIG Software. The customer can be held liable by SIG for any infringement of such property rights for which he is responsible.

9. Warranty

9.1 For the quality of the SIG Software, only the description of the SIG Software provided by the licensor prior to the conclusion of the contract or agreed in a separate document (e.g. in the documentation) shall be binding. Within the scope of the maintenance obligation, the licensor is not obliged to adapt the software to changed conditions of use and technical and functional developments, such as changes in the IT environment.

9.2 The licensor does not provide any warranty for errors in the software,

- which have been caused by application errors on the part of the customer and which could have been avoided if the documentation had been consulted carefully; this shall also apply in the event of non-existent or insufficient backup measures which would have prevented data loss;
- due to virus attack or other external influences for which the licensor is not responsible, such as fire, accidents, power failure, etc.;
- which are based on the fact that the SIG Software was used in an operating environment other than that approved by the licensor, or which are due to faults in the hardware, the operating system or the software of other manufacturers;
- which are based on the fact that the software has been modified by the customer or third parties without authorisation.

9.3 The customer is obliged to notify the licensor of defects in the SIG Software immediately after their discovery. In the case of material defects, this shall be done by describing the time of occurrence of the defects and the more detailed circumstances. If the licensor carries out a fault analysis at the customer's request and it turns out that there is no defect which the licensor is obliged to rectify, the licensor may invoice the customer for the expenditure incurred on the basis of the licensor's hourly rates valid at the time.

Defects in the software shall be remedied by the licensor within a reasonable period of time (subsequent performance). This shall be done, at the licensor's discretion, by eliminating the defect by means of an update/patch/bugfix/upgrade or by delivering defect-free software or by demonstrating a workaround, the latter to the extent that this is reasonable for the customer, taking into account the effects of the defect and the circumstances of the demonstrated workaround.

10. Liability

10.1 The licensor shall be liable in accordance with the statutory provisions for damages for bodily injury and personal injury, for damages based on the Product Liability Act, for damages caused by fraudulent conduct or intent on the part of the licensor, and for damages caused by gross negligence on the part of the legal representatives or executive employees of the licensor.

10.2 Notwithstanding any liability for damages according to section 10.1, the licensor shall be liable for damages limited to the amount of the foreseeable damage typical for the contract at the time of the conclusion of the contract for damages resulting from a simple negligent breach of essential contractual obligations as well as for damages caused by vicarious agents of the licensor. Material obligations are obligations the fulfilment of which is essential for the proper performance of the contract and compliance with which the licensee may regularly rely on. The contract-typical, foreseeable damage arising from breaches of duty by the licensor shall correspond to the amount of the remuneration paid by the customer in the contract year of the damaging event, up to a maximum of EUR 50,000. If the maximum liability amount is not reached in one contract year, the maximum liability amount for the next contract year shall not be increased.

10.3 Any further liability on the part of the licensor is excluded, subject to any expressly deviating provisions in these General Terms and Conditions. In particular, the licensor shall not be liable for initial defects unless the conditions of Clauses 10.1 or 10.2 are met. The licensor shall not be liable for damages incurred by the Licensee due to failure to back up data.

10.4 Contributory negligence on the part of the customer shall be taken into account.

10.5 The above limitations of liability shall also apply to the personal liability of the licensor's employees, representatives and/or bodies. They also apply to the liability of the licensor with regard to the reimbursement of futile expenses or indemnification obligations.

11. Rights of third parties

If claims are asserted against the customer by third parties due to alleged infringement of a patent, copyright, or other industrial property right to which the third party is entitled in respect of the SIG Software, SIG will indemnify the customer against claims by third parties, provided that the customer informs SIG immediately in writing of the alleged infringement of industrial property rights and supports SIG in the conduct of any legal action.

In the event of such a claim against the customer by a third party, SIG is entitled, at its discretion, either to procure for the customer a corresponding license from the third party, to modify the SIG software or to supply the customer with equivalent other software.

SIG shall not be liable for infringements of property rights resulting from the customer modifying the licensed software or modifying it according to his own requirements, or from the SIG Software being used or sold in conjunction with other software, hardware or consumables not supplied by SIG. This subject matter liability is the entire liability of SIG for infringement of any patent, trademark, copyright, or other intangible property right.

12. Software updates

Updates to the SIG Software will be provided to the customer free of charge.

13. Payment

The license fee is discharged with the purchase of the Plasma-SeqSensei™ IVD Kits. No additional fee will be charged.

14. Contract period

The granted use of the SIG Software shall be valid for the agreed contract period (see clause 1).

The contract may be terminated in writing by either party without notice for good cause. Good cause exists, in particular, if the customer infringes the licensor's rights of use by using the software beyond what is permitted under these General Terms and Conditions and does not remedy the infringement within a reasonable period of time following a warning by the licensor. The licensor reserves the right to assert further claims for damages.

15. Data protection

Insofar as personal data is processed, the licensor shall comply with the statutory provisions on data protection. Details shall be set forth in a Data Processing Agreement to be concluded separately.

16. General provisions

These General Terms and Conditions shall be governed by the laws of Germany. Exclusive place of jurisdiction for all disputes arising from this contract shall be Hamburg.

Should one or more of the provisions of this contract be or become invalid, this shall not affect the validity of the rest of the contract.

No verbal agreements have been made. Amendments and supplements to this contract must be made in writing.



Noviembre 2022

PSSSWIFU.R2

Sysmex Inostics GmbH
Falkenried 88
20251 Hamburg, Alemania
www.sysmex-inostics.com

© 2022 Sysmex Inostics

Todos los derechos
reservados.

