



# Plasma-SeqSensei™

## IVD Software

Gebrauchsanweisung

April 2024

Dokumentversion: PSSSWIFU.R4  
Software Version: ab 1.3.1

de



# Inhaltsverzeichnis

<b>1</b>	<b>Beabsichtigter Verwendungszweck</b>	<b>2</b>
<b>2</b>	<b>Einführung</b>	<b>3</b>
2.1	Produktkonzept	3
2.2	Spezifizierung der Laufzeitumgebung	3
2.3	Marken	4
2.4	Lizenzen	4
2.4.1	Endnutzerlizenz	4
2.4.2	COSMIC-Lizenz (Qiagen)	4
2.4.3	GNU	4
2.5	Datenschutz	4
<b>3</b>	<b>Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen</b>	<b>5</b>
3.1	Benutzer	5
3.2	Plasma-SeqSensei™ IVD Software Produktsicherung	5
3.2.1	Plasma-SeqSensei™ IVD Software-Wartung	6
3.2.2	Microsoft Betriebssystem	7
3.2.3	Systembeschränkungen	7
3.2.4	Haftungsbeschränkungen	8
3.3	Computerviren	8
3.4	Betriebsumgebung	8
<b>4</b>	<b>Spezifikationen des Sequenzierungsgeräts</b>	<b>9</b>
4.1	Datenerhebung	9
<b>5</b>	<b>Erste Schritte und Aufteilung des Programmfensters</b>	<b>11</b>
5.1	Erste Schritte	11
5.1.1	Download und Installation der Software	11
5.1.2	Erwerb des Lizenzschlüssels	12
5.1.3	Start des Programms	12
5.1.4	Schließen des Programms	12
5.2	Übersicht über Symbole und Funktionen	12
5.3	Übersicht der Benutzeroberfläche	15
5.3.1	Modul „Run Planning“ (Laufplanung)	15
5.3.2	Modul „Data Analysis“ (Datenanalyse)	18
5.3.3	Modul „Reporting“ (Berichterstattung)	19
<b>6</b>	<b>Plasma-SeqSensei™ IVD Software Module</b>	<b>20</b>
6.1	Modul „Run Planning“ (Laufplanung)	20
6.2	Modul „Data Analysis“ (Datenanalyse)	30
6.3	Modul „Reporting“ (Berichterstattung)	34
<b>7</b>	<b>Berichte</b>	<b>38</b>
<b>8</b>	<b>Fehlerbehebung</b>	<b>50</b>
<b>9</b>	<b>Glossar und Begriffe</b>	<b>54</b>
<b>10</b>	<b>Revisionsverlauf</b>	<b>55</b>
<b>11</b>	<b>Anhang A</b>	<b>57</b>

### 1 Beabsichtigter Verwendungszweck

Die Plasma-SeqSensei™ IVD Software dient zur Analyse der Sysmex Inostics Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kits Sequenzierungsergebnisse (Next-Generation-Sequenzierungs(NGS)-Daten) zwecks Validitätskontrolle und zur Detektion und Meldung von Mutationen innerhalb der Assay-Zielregionen.

Die Software kann Substitutionen von Einzelnukleotidvarianten (Single-Nucleotide Variant Substitutions, SNVs), Insertions- und Deletionsalterationen sowie Deletion-Insertion-Mutationen (Delins) gemäß der Spezifizierung des jeweiligen Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Assays erkennen.

Die Software muss mit einem spezifischen Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kit verwendet werden, um den Onkologen bei der Bestimmung eines potenziellen Nutzens einer Therapie für Krebspatienten zu unterstützen. Die von der Software gewonnenen Informationen sollten niemals als alleinige Grundlage für medizinische Entscheidungen dienen. Diese sollten ebenso auf weiteren klinischen Ergebnissen und der Krankengeschichte beruhen.

Die Software muss von geschultem Personal in einer professionellen Laborumgebung eingesetzt werden.

**Wichtig:** *Die Software kann ausschließlich mit und gemäß der Gebrauchsanweisung des Sysmex Inostics Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kits und nicht mit anderen Arten von Produkten oder im Labor entwickelten Tests verwendet werden.*

## 2 Einführung

Diese Gebrauchsanweisung (IFU) beschreibt die Verwendung der Plasma-SeqSensei™ IVD Software zur Analyse von Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kits von Sysmex Inostics.

Bitte lesen Sie dieses Handbuch aufmerksam, bevor Sie die Software verwenden. Bewahren Sie dieses Handbuch an einem sicheren und zugänglichen Ort auf, damit Sie bei Bedarf darin nachschlagen können.

Wir haben zahlreiche Vorkehrungen getroffen, um die Qualität des Inhalts der Handbücher zu gewährleisten; sollten Sie dennoch Fehler oder Auslassungen finden, wenden Sie sich bitte an den Kundendienst der Sysmex-Vertretung in Ihrer Nähe.

Abänderungen, Übersetzungen, Zurückentwicklungen, Dekompilierungen, Disassemblierungen dieses Handbuchs und der Software sind untersagt. Die Erstellung abgeleiteter Arbeiten, die auf diesem Handbuch oder der Software beruhen, ist untersagt. Das Kopieren dieses Handbuchs oder der Software zu anderen Zwecken als der lizenzgemäßen Erstellung von Backups ist untersagt.

Weitere Informationen erhalten Sie von Ihrem autorisierten Sysmex-Vertreter vor Ort.

### 2.1 Produktkonzept

Mit der Plasma-SeqSensei™ IVD Software kann der Benutzer Sequenzierungsläufe mit dem Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kit planen und analysieren und Berichte für die analysierten Proben erstellen.

### 2.2 Spezifizierung der Laufzeitumgebung

Betriebssystem:	Windows® 10 (64 Bit)
Prozessor:	Aktueller Prozessor (Intel® Core™ i5/7 oder AMD Ryzen™)
RAM:	16 GB
Speicher:	10 GB freier Speicherplatz
Bildschirmauflösung:	≥ 1.440 x 810 Pixel

### 2.3 Marken

- In dieser Gebrauchsanweisung angeführte Firmen- und Produktbezeichnungen sind eingetragene Marken oder Marken ihrer jeweiligen Eigentümer.
- Die Tatsache, dass eine Marke in dieser Gebrauchsanweisung nicht ausdrücklich angegeben wird, bedeutet nicht, dass ihre Nutzung autorisiert ist.
- <sup>TM</sup> und <sup>®</sup> werden in dieser Gebrauchsanweisung nicht ausdrücklich angegeben.

### 2.4 Lizenzen

#### 2.4.1 Endnutzerlizenz

Der Benutzer der Plasma-SeqSensei™ IVD Software muss vor der Installation der Lizenzvereinbarung mit Sysmex Inostics GmbH zustimmen. Für den vollständigem Text der *Allgemeinen Bedingungen für Software-Lizenzen der Sysmex Inostics GmbH* siehe ► 11 Anhang A, Seite 57/61.

#### 2.4.2 COSMIC-Lizenz (Qiagen)

Die Nutzung der COSMIC Dynamic Software Tool Large Enterprise in der Plasma-SeqSensei™ IVD Software wird anhand einer Lizenzvereinbarung mit Qiagen K. K. geregelt.

#### 2.4.3 GNU

Die GNU General Public License ([www.gnu.org/licenses](http://www.gnu.org/licenses)) gilt für einige Teile dieser Software. Bitte wenden Sie sich an die nächstgelegene Niederlassung oder Vertriebsstellen, falls Sie den Quellcode oder detaillierte Informationen zu den Software-Teilen erhalten möchten, für die die GNU General Public License gilt. Es ist unzulässig, bei dem Teil der Software, für den die GNU General Public License nicht gilt, auf den Quellcode zuzugreifen, diesen Teil der Software zurückzuentwickeln, zu dekompileieren oder zu disassemblieren.

### 2.5 Datenschutz

Bei der Verarbeitung personenbezogener Daten hat der Benutzer die datenschutzrechtlichen Bestimmungen zu beachten.

### 3 Warnhinweise und Vorsichtsmaßnahmen

Die bei der Nutzung dieses Produkts gewonnenen Informationen sollten niemals als alleinige Grundlage für medizinische Entscheidungen dienen. Diese sollten ebenso auf weiteren klinischen Ergebnissen und der Krankengeschichte beruhen.

**Wichtig:** *Die Software kann ausschließlich mit und gemäß der Gebrauchsanweisung des Sysmex Inostics Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kits und nicht mit anderen Arten von Produkten oder im Labor entwickelten Tests verwendet werden.*

Jegliche Nutzung, die vom spezifizierten beabsichtigten Verwendungszweck abweicht, wird als unsachgemäße Nutzung, als „Off-Label-Nutzung“, betrachtet.

Sysmex lehnt jegliche Haftung für Schäden oder Verluste ab, die sich aus einer unsachgemäßen Nutzung ergeben.

#### 3.1 Benutzer

Die Plasma-SeqSensei™ IVD Software darf nur von geschultem Personal in einer professionellen Laborumgebung angewendet werden.

Konsultieren Sie im Falle einer Fehlfunktion die Gebrauchsanweisung. Weitere Hilfe erhalten Sie von Ihrem autorisierten Sysmex-Vertreter vor Ort.

#### 3.2 Plasma-SeqSensei™ IVD Software Produktsicherung

Um eine optimale Leistung der Plasma-SeqSensei™ IVD Software sicherzustellen, ist eine regelmäßige Wartung der Plasma-SeqSensei™ IVD Software und der Microsoft Windows® Betriebssystems erforderlich. Die folgenden Kapitel erläutern die erforderlichen Vorgänge.

**Hinweis:** *Für die Installation und Aktualisierung der Plasma-SeqSensei™ IVD Software ist eine lokale Administrator-Berechtigung für das Gerät erforderlich.*

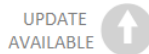
**Wichtig:** *Eine aktive Internet-Verbindung ist zwingend erforderlich, um Aktualisierungsmeldungen innerhalb der Software zu erhalten.*

### 3.2.1 Plasma-SeqSensei™ IVD Software-Wartung

Der Updater-Service der Plasma-SeqSensei™ IVD Software prüft beim Start der Software, ob eine aktive Internetverbindung und eine Verbindung zum Update-Server besteht. Falls keine Verbindung hergestellt werden kann, wird unten rechts auf dem Anwendungsbildschirm eine Schaltfläche mit einem roten Kreuz angezeigt. Bei einem Klick auf die Schaltfläche werden Sie aufgefordert Ihre Internetverbindung und Firewall-Einstellungen zu überprüfen, um sicherzustellen, dass der Update-Service der Software richtig ausgeführt werden kann.



Wenn eine ordnungsgemäße Verbindung zum Updater-Service besteht, wird die Plasma-SeqSensei™ IVD Software Sie informieren, falls ein neues Update für die Plasma-SeqSensei™ IVD Software zum Download bereitsteht. Falls eine neue Version der Plasma-SeqSensei™ IVD Software installiert werden soll, können Sie die Installation entweder beim Start der Software beginnen oder Sie können zu einem beliebigen Zeitpunkt die Schaltfläche [Update available] (Update verfügbar) auf dem Anwendungsbildschirm betätigen. Für diesen Schritt benötigen Sie Administrator-Berechtigungen.



Falls das Update für vorhandene Plasma-SeqSensei™ IVD Assays gilt, wird zum Start des Update-Verfahrens nur die Schaltfläche [Update available] (Update verfügbar) auf dem Anwendungsbildschirm angezeigt. Verwenden Sie stets die aktuellste verfügbare Plasma-SeqSensei™ IVD Software und Assay Version, sofern möglich. Nach der Installation der aktuellsten Software Version wird es nicht möglich sein, eine vorherige Version wiederherzustellen.

Die Software wird Sie benachrichtigen, wenn neue Plasma-SeqSensei™ IVD Assays verfügbar sind, indem auf dem Anwendungsbildschirm die Schaltfläche [New assay available] (Neues Assay verfügbar) angezeigt wird.



Sie können die Versionshinweise mit Informationen zur neuen Version der Plasma-SeqSensei™ IVD Software entweder über <https://sysmex->



<https://www.illumina.com/products/kit-specs/> herunterladen oder über die Schaltfläche für das Benutzerhandbuch im unteren Bereich des Anwendungsbildschirms aufrufen.



### 3.2.2 Microsoft Betriebssystem

Der Benutzer ist für die Installation, Aktualisierung und Sicherheit des Microsoft Betriebssystems verantwortlich. Es wird empfohlen, den Update-Service regelmäßig zu aktivieren. Beachten Sie bitte, dass ein durch Windows® Updates automatisch nach der Installation hervorgerufener Neustart des Betriebssystems eine laufende Plasma-SeqSensei™ Datenanalyse unterbrechen könnte. Es wird empfohlen, automatische Neustarts zu deaktivieren oder die „Uhrzeiten der Systemaktivität“ in den Windows® Update-Einstellungen entsprechend anzugeben.

### 3.2.3 Systembeschränkungen

Arten von Eingabedateien	.fastq.gz
Zu verwendende Sequenzierungsgeräte	Illumina NextSeq500/550
Mindestanzahl der zu testenden Proben pro Durchlauf	2
Höchstzahl der zu testenden Proben pro Durchlauf	16 (Standard-Kit) oder 32 (mit Erweiterungskit)
Höchstzahl der Platten, die pro Durchlauf getestet werden	1 (Standard-Kit) oder 2 (mit Erweiterungskit)
Anzahl der Kontrollen, die pro Platte pro Durchlauf durchgeführt werden	2 (Positive Control [PC] und No Template Control [NTC])
Anzahl der Assays, die pro Sequenzierungslauf gepoolt werden	Keine <b>Hinweis:</b> <i>Es handelt sich um einen Einzeltesttyp; andere Assays können mit dem Sequenzierungsgerät nicht gleichzeitig gepoolt werden.</i>

### 3.2.4 Haftungsbeschränkungen

Systemex haftet nicht für Ausfälle der Plasma-SeqSensei™ IVD Software, die sich daraus ergeben, dass:

- die oben angeführten Wartungsverfahren nicht befolgt werden,
- das System über die Systembeschränkungen hinaus gebraucht wird.

### 3.3 Computerviren

Es wurde verifiziert, dass das Produkt, das Sie unter <https://systemex-iagnostics.com/> herunterladen können, frei von Computerviren ist.

### 3.4 Betriebsumgebung

Für optimale Leistungen sollte die Plasma-SeqSensei™ IVD Software auf demselben Computer installiert werden, auf dem auch die Sequenzierungsdaten gespeichert sind. Falls ein Netzwerkanschluss besteht, kann sich die Analysedauer abhängig von der Upload-/Downloadgeschwindigkeit der Netzwerkverbindung verlängern oder die Analyse stürzt komplett ab.

Es wird erwartet, dass das Unternehmen des Benutzers die volle Verantwortung für das Management des Netzwerks übernimmt und effektive Netzwerksicherheit bereitstellt, die die Sicherheit der Assets gewährleistet. Empfohlene Sicherheitsmerkmale umfassen, sind jedoch nicht beschränkt auf die Autorisierung des Netzwerkzugriffs, einen eingeschränkten Internetzugang, den Einsatz von Hardware-/Software-Technologien, die ein Eindringen von Viren/Malware verhindern.

## 4 Spezifikationen des Sequenzierungsgeräts

Die Plasma-SeqSensei™ Software wurde für die Analyse von Sequenzierungsrohdaten entwickelt (bereitgestellt als .fastq.gz-Dateien), die sich aus der Verwendung verschiedener Illumina Sequenzierungsgeräte ergeben. Zusammen mit der Plasma-SeqSensei™ IVD Software sind nur Illumina NextSeq™500 und Illumina NextSeq™550 Geräte zu verwenden.

Die folgende Steuersoftware wurde bei der Entwicklung der Plasma-SeqSensei™ IVD Kits eingesetzt. Stellen Sie bei der Verwendung einer späteren Version der Steuersoftware deren Funktionalität sicher, bevor Sie den Sequenzierungslauf starten. Prüfen Sie zusätzlich die Funktionalität des Probenblatts, das die Plasma-SeqSensei™ IVD Software in Kombination mit der späteren Version der Illumina Steuersoftware erstellt.

Software-Bezeichnung	Hersteller/Anbieter
NextSeq™ Control Software v4.0.1.41	Illumina, Inc.
NextSeq™ Local Run Manager Software v2.4.0	Illumina, Inc.

### 4.1 Datenerhebung

Je nach der Einrichtung der nachgeschalteten Prozessschritte gibt es mehrere Pfade der Datenerhebung. Diese Pfade beruhen alle auf der Einrichtung des Probenblatts, die im Schritt der Laufplanung für den Sequenzierungslauf durchgeführt wird.

Bei der Verwendung des NextSeq™ Sequenzierungsgeräts können zwei verschiedene Pfade durchlaufen werden.

1. Der Local Run Manager (LRM) des NextSeq™ Geräts ist der empfohlene Pfad. Mit dem LRM lassen sich FASTQ-Dateien direkt mit dem Sequenzierungsgerät generieren, wenn in den Einstellungen „GenerateFASTQ Module“ (GenerateFASTQ-Modul) ausgewählt wird. Hier führt die Software Demultiplexierung und Adaptertrimmung anhand des bereitgestellten Probenblatts und der Adaptereinstellungen durch. Die ausgegebenen FASTQ-Dateien (.fastq.gz) müssen für den Computer verfügbar sein, auf dem die Plasma-SeqSensei™ IVD Software läuft.

**Wichtig:** Bei der Verwendung des LRM muss der „Adapter“ mit seiner Sequenz (dem Probenblatt zu entnehmen, siehe Beispiel-Probenblatt in ► Kapitel 6.1 Modul „Run Planning“ (Laufplanung), Schritt 7.c, Seite 20/61) den „Advanced Module Settings“ (Erweiterte Moduleinstellungen) hinzugefügt werden, damit eine korrekte Adaptertrimmung stattfindet.

2. Während der manuellen Einrichtung schreibt das NextSeq™ Gerät die Sequenzierungsinformationen in einen Durchlaufordner im binären Base-Call-Format (.bcl-Dateien) und führt keine Demultiplexierung oder Adaptertrimmung durch. Die Demultiplexierung und die Adaptertrimmung werden manuell durch den Kunden nach der Sequenzierung mit der bcl2fastq Software durchgeführt, die Illumina zusammen mit einem bcl2fastq-kompatiblen Probenblatt bereitstellt, das sich bei der Laufplanung generieren lässt. Die sich daraus ergebenden FASTQ-Dateien (.fastq.gz) müssen dem Analysegerät verfügbar gemacht werden, auf dem die Plasma-SeqSensei™ IVD Software läuft.

# 5 Erste Schritte und Aufteilung des Programmfensters

## 5.1 Erste Schritte

- Die Skalierung des Computerbildschirms muss auf 100 % eingestellt werden (falls die Bildschirmauflösung 1.440 x 810 Pixel beträgt). Falls Ihre Bildschirmauflösung oder -skalierung nicht dem akzeptierten Bereich entspricht, wird eine Warnmeldung angezeigt. Die Software wird Sie erforderlichenfalls zu den Bildschirmeinstellungen weiterleiten.
- Das Programm können Sie hier herunterladen: <https://sysmex-inoagnostics.com/products/kit-specs/>.
- Erwerben Sie vor der Installation des Programms den Lizenzschlüssel von Sysmex Inostics GmbH.
- Auf dem Computer müssen die Administrator-Berechtigungen verfügbar sein.

### 5.1.1 Download und Installation der Software

Die Plasma-SeqSensei™ IVD Software lassen sich unter <https://sysmex-inoagnostics.com/products/kit-specs/> als eine komprimierte .zip-Datei herunterladen.

Laden Sie diese Datei in den Download-Ordner von Windows® 10, klicken Sie mit rechts auf die Datei und wählen Sie „Extract All...“ (Alles extrahieren ...) aus. Klicken Sie im nächsten Fenster auf „Extract“ (Extrahieren). Der Ordner mit den extrahierten Dateien wird automatisch geöffnet. Doppelklicken Sie auf die Datei „Plasma-SeqSensei™ IVD Software“, um das Installationsverfahren zu starten (extrahieren Sie nicht die Assay-zip-Dateien, die sich ebenfalls in diesem Ordner befinden). Befolgen Sie die Installationsanweisungen auf dem Bildschirm. Nehmen Sie die Lizenzvereinbarung an und geben Sie den Lizenzschlüssel ein, wenn Sie dazu aufgefordert werden.

Für eine vollständige Installation der Software sind während des Installationsverfahrens Administrator-Berechtigungen erforderlich.

## 5 Erste Schritte und Aufteilung des Programmfensters

Die Software muss lokal auf der Festplatte des Geräts installiert werden. Führen Sie die .msi-Datei (Windows® Installationsdatei) nicht auf einem Netzlaufwerk aus.

### 5.1.2 Erwerb des Lizenzschlüssels



Nach dem Kauf der Plasma-SeqSensei™ IVD Kits stellt die Sysmex Inostics GmbH einen Lizenzschlüssel pro Kunde bereit.

### 5.1.3 Start des Programms




Doppelklicken Sie auf das Plasma-SeqSensei™ IVD Symbol auf dem Desktop:














### 5.1.4 Schließen des Programms

1. Schließen Sie das Programm, indem sie entweder auf das „X“ () oben rechts im Software-Fenster oder auf das „X“ im grauen Kreis () links unten im Software-Fenster klicken.
2. Es öffnet sich ein Fenster, in dem nachgefragt wird, ob Sie das Programm schließen möchten.
3. Klicken Sie auf [Yes] (Ja), wenn Sie schließen möchten, oder auf [No] (Nein), wenn Sie die Sitzung mit der Plasma-SeqSensei™ IVD Software fortsetzen möchten.








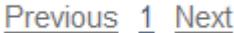
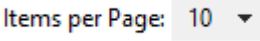




## 5.2 Übersicht über Symbole und Funktionen

Symbol	Funktion
	Zurück zur Startseite
	Software schließen
	Keine aktive Verbindung zum Updater-Server verfügbar



## 5 Erste Schritte und Aufteilung des Programmfensters

Symbol	Funktion
	Link zu den technischen Informationen und der Gebrauchsanweisung für Plasma-SeqSensei™ IVD Kit und Software
	Informationen zur Software/Open-Source-Software
UPDATE AVAILABLE 	Plasma-SeqSensei™ IVD Software Update verfügbar
NEW ASSAY AVAILABLE 	Neuer Plasma-SeqSensei™ IVD Assay verfügbar
	Die Registerkarten zur Modulauswahl sind immer sichtbar, um zwischen den Modulen wechseln zu können.
	Modul „Run Planning“ (Laufplanung)
	Modul „Data Analysis“ (Datenanalyse)
	Modul „Reporting“ (Berichterstattung)
	Löscht alle Eingaben auf der aktuellen Seite des Moduls „Run Planning“ (Laufplanung).
	Zur vorherigen Seite im Modul „Run Planning“ (Laufplanung).
	Zur nächsten Seite im Modul „Run Planning“ (Laufplanung).

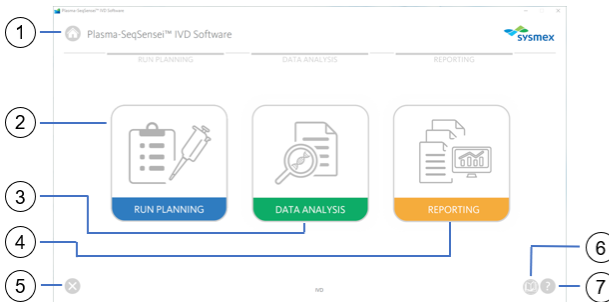
## 5 Erste Schritte und Aufteilung des Programmfensters

Symbol	Funktion
	Probe löschen im Modul „Run Planning“ (Laufplanung).
	Export einer spezifischen Datei im Modul „Run Planning“ (Laufplanung).
	Navigation zur Auswahl der gewünschten Ordner/Dateien im Modul „Data Analysis“ (Datenanalyse).
	Einleitung der Datenanalyse.
	Neuladen der Seite, um die neuesten Daten in das Modul „Reporting“ (Berichterstattung) einzufügen.
	Zurück zur Übersicht im Modul „Reporting“ (Berichterstattung)
	Suche nach Analyseergebnissen im Modul „Reporting“ (Berichterstattung).
	Überspringen zu anderen Seiten für Analyseergebnisse im Modul „Reporting“ (Berichterstattung).
	Anzahl sichtbarer Elemente pro Seite anpassen (5 bis 50) im Modul „Reporting“ (Berichterstattung).
	Alle PDF-Berichte des ausgewählten Laufs exportieren.
	BAM-Datei aus der ausgewählten Probe herunterladen.
	VCF-Datei aus der ausgewählten Probe herunterladen
	PDF-Datei/-Bericht der ausgewählten Probe herunterladen.



Symbol	Funktion
	Stoppen und Abbrechen des Analyseverfahrens im Modul „Data Analysis“ (Datenanalyse).
	Löschen der Daten eines spezifischen Laufs im Modul „Reporting“ (Berichterstattung)

### 5.3 Übersicht der Benutzeroberfläche



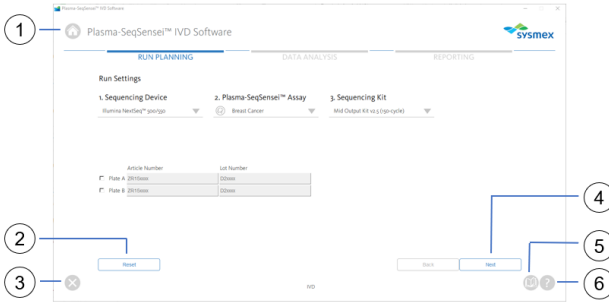
- ① Zurück zur Startseite
- ② Modul „Run Planning“
- ③ Modul „Data Analysis“
- ④ Modul „Reporting“
- ⑤ Software schließen
- ⑥ Benutzerhandbuch
- ⑦ Software-Informationen

#### 5.3.1 Modul „Run Planning“ (Laufplanung)

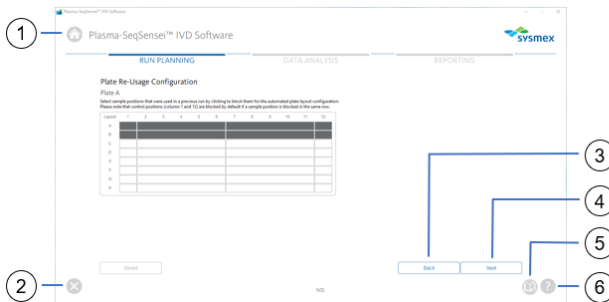


- ① Zurück zur Startseite
- ② Software schließen
- ③ Benutzerhandbuch
- ④ Software-Informationen

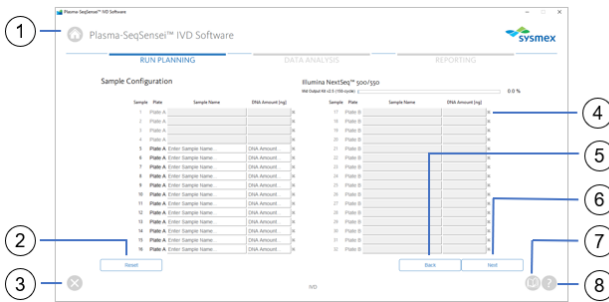
# 5 Erste Schritte und Aufteilung des Programmfensters



- ① Zurück zur Startseite
- ② Eingabe zurücksetzen
- ③ Software schließen
- ④ Nächste Seite
- ⑤ Benutzerhandbuch
- ⑥ Software-Informationen



- ① Zurück zur Startseite
- ② Software schließen
- ③ Vorherige Seite
- ④ Nächste Seite
- ⑤ Benutzerhandbuch
- ⑥ Software-Informationen



- ① Zurück zur Startseite
- ② Eingabe zurücksetzen
- ③ Software schließen
- ④ Probe löschen
- ⑤ Vorherige Seite
- ⑥ Nächste Seite
- ⑦ Benutzerhandbuch
- ⑧ Software-Informationen

## 5 Erste Schritte und Aufteilung des Programmfensters

**Plate A Summary**  
 Plasma-SeqSense™ Assay: Breast Cancer  
 Lot Number: 020001  
 Article Number: ZH10044

Sample Name	DNA Amount [ng]	Target Read Count
HTC	4	40
HTC	8	80
Sample1	10	10000%
Sample2	40	10000%
Sample3	80	10000%
Sample4	5	10000%

- ① Zurück zur Startseite
- ② Software schließen
- ③ Vorherige Seite
- ④ Nächste Seite
- ⑤ Benutzerhandbuch
- ⑥ Software-Informationen

**Sequencing Run Summary**  
 Plasma-SeqSense™ Assay: Breast Cancer  
 Number of Samples: 4  
 Plate A:  
 Article Number: ZH10044  
 Lot Number: 020001

Sequencing Device: **QuantumSeq™ 100000**  
 Sequencing Kit: **Seq-Output Kit 6 (10k-cy5)**  
 Indexing Type: **single**  
 Total DNA Input [ng]: **162.3**  
 Total Target Reads: **403966**  
 Sequencing Capacity Usage: **40.3%**

- ① Zurück zur Startseite
- ② Software schließen
- ③ Vorherige Seite
- ④ Nächste Seite
- ⑤ Benutzerhandbuch
- ⑥ Software-Informationen

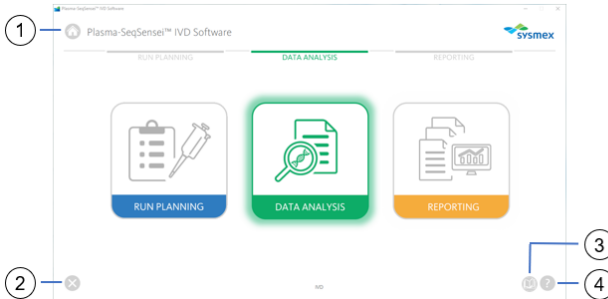
**File Exports**

Sample Sheet (tsv/FASTA) (.csv)      Sample Sheet LRM (.csv)      Plate Layout (.xlsx)

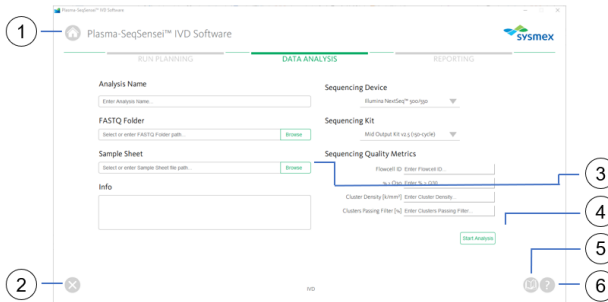
This version of the Sample Sheet can be used for quantification with the iQ5 system. The Sample Sheet can be used to report against the iQ5 for analysis not available.

- ① Zurück zur Startseite
- ② Dateien exportieren
- ③ Software schließen
- ④ Vorherige Seite
- ⑤ Benutzerhandbuch
- ⑥ Software-Informationen

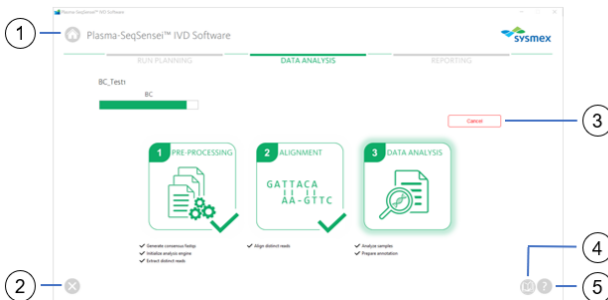
## 5.3.2 Modul „Data Analysis“ (Datenanalyse)



- ① Zurück zur Startseite
- ② Software schließen
- ③ Benutzerhandbuch
- ④ Software-Informationen

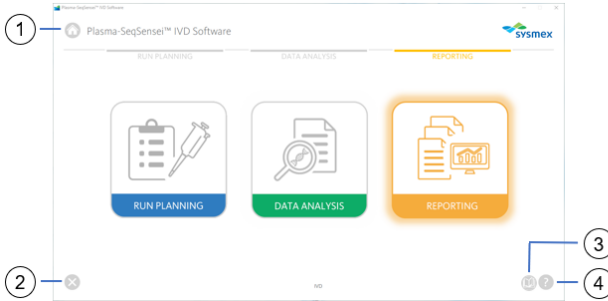


- ① Zurück zur Startseite
- ② Software schließen
- ③ Dateien/Ordner durchsuchen
- ④ Analyse starten
- ⑤ Benutzerhandbuch
- ⑥ Software-Informationen

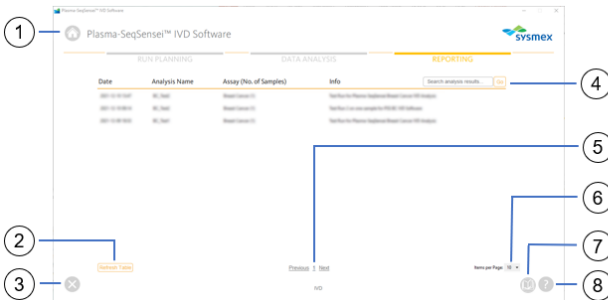


- ① Zurück zur Startseite
- ② Software schließen
- ③ Analyse abbrechen
- ④ Benutzerhandbuch
- ⑤ Software-Informationen

## 5.3.3 Modul „Reporting“ (Berichterstattung)



- ① Zurück zur Startseite
- ② Software schließen
- ③ Benutzerhandbuch
- ④ Software-Informationen



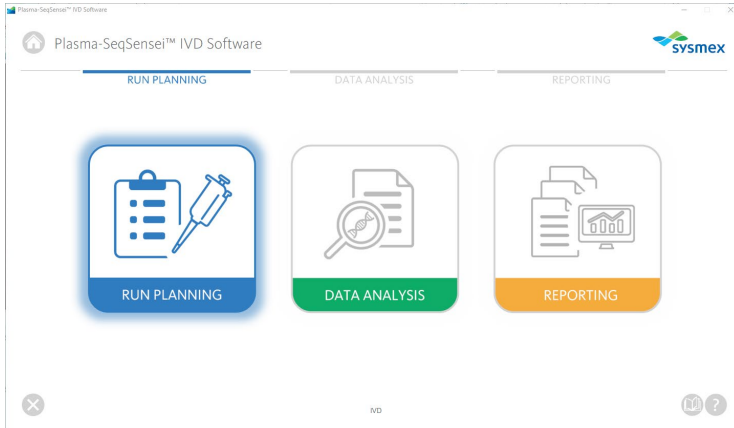
- ① Zurück zur Startseite
- ② Tabelle aktualisieren/neu laden
- ③ Software schließen
- ④ Eingabefeld für Suchanalyseergebnisse
- ⑤ Vorherige/nächste Seite
- ⑥ Anzahl der sichtbaren Elemente pro Seite anpassen
- ⑦ Benutzerhandbuch
- ⑧ Software-Informationen



- ① Zurück zur Startseite
- ② Alle PDF-Berichte exportieren
- ③ Zurück zur Übersicht im Modul „Reporting“
- ④ Software schließen
- ⑤ Ergebnisse löschen
- ⑥ Benutzerhandbuch
- ⑦ Software-Informationen

# 6 Plasma-SeqSensei™ IVD Software Module

## 6.1 Modul „Run Planning“ (Laufplanung)



Das Modul „Run Planning“ (Laufplanung) (blau) dient der Planung des Sequenzierenslaufs, einschließlich:

- Assaytyp
- Sequenzierungsgerät
- Nutzung eines Sequenzierungskits
- Plattentyp (A und/oder B)
- Probennummer
- Probenbezeichnung
- Probenkonzentration
- Probenposition auf der Platte
- Erstellung des Probenblatts
- Plattenlayout

Verwenden Sie das Probenblatt, um eine nachgeordnete Demultiplexierung und Adaptertrimmung der Daten in verschiedenen möglichen Einrichtungen zu ermöglichen. Die Demultiplexierung und Adaptertrimmung selbst sind nicht Bestandteil der hier bereitgestellten Software (siehe ► Kapitel 4.1 *Datenerhebung*, Seite 9/61).

Sie müssen die Laufplanung nach der Qubit™-Quantifizierung der cfDNA-Proben und vor dem Start des UID-PCR durchführen.

**Hinweis:** Die Qubit Messung der Proben ergibt eine grobe Abschätzung des eingegebenen DNA-Gehalts, die zur Bestimmung der Probenladung dient. Die endgültige (und möglicherweise abweichende) Quantifizierung der Proben findet bei der Sequenzierung der Bibliothek mit dem internen Quantifizierer (Quantispike) statt.

The screenshot shows the 'Plasma-SeqSensei™ IVD Software' interface. The 'RUN PLANNING' tab is active, with 'DATA ANALYSIS' and 'REPORTING' tabs also visible. The 'Run Settings' section contains three main configuration areas:

- 1. Sequencing Device:** A dropdown menu showing 'Illumina NextSeq™ 500/550'.
- 2. Plasma-SeqSensei™ Assay:** A dropdown menu showing 'Breast Cancer'.
- 3. Sequencing Kit:** A dropdown menu showing 'Mid Output Kit v2.5 (150-cycle)'.

Below these settings is a table for selecting plates:

Article Number	Lot Number
<input type="checkbox"/> Plate A ZR150xxx	D20xxx
<input type="checkbox"/> Plate B ZR150xxx	D20xxx

At the bottom of the interface, there are 'Reset', 'Back', and 'Next' buttons, along with a close button (X) and a help button (?).

1. Klicken Sie auf das Modul „Run Planning“ (Laufplanung) (blau).
2. Nehmen Sie die Einstellungen für den Durchlauf vor.
  - a. Wählen Sie ein Sequenzierungsgerät aus.
  - b. Wählen Sie aus, welches Plasma-SeqSensei™ Assay zu verwenden ist.
  - c. Wählen Sie aus, welches Sequenzierungskit zu verwenden ist.
  - d. Wählen Sie aus, welche Platte zu verwenden ist (A und/oder B) und geben Sie die Artikelnummer (Format ZR15xxxx) und die Chargenbezeichnung (Format D2xxxx) des Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific Kits ein, das verwendet werden soll.

**Hinweis:** Wenn mehr als 16 Proben in einem Lauf verarbeitet werden sollen (höchstens bis zu 32 Proben), dann sind zwei Plasma-SeqSensei™ IVD Kits und das Plasma-SeqSensei™ Extension IVD Kit mit Platte B erforderlich.

**Wichtig:** Verwenden Sie nicht denselben Plattentyp zweimal für denselben Lauf!

- e. Falls ein Fehler aufgetreten ist, können Sie alle Eingaben löschen, indem Sie auf die Schaltfläche [Reset] (Zurücksetzen) unten links auf der Seite klicken.
  - f. Es öffnet sich ein Fenster, in dem Sie bestätigen sollen, ob Sie die Seite zurücksetzen wollen.
3. Klicken Sie auf [Next] (Weiter). Es öffnet sich ein Fenster, in dem Sie gefragt werden, ob die markierte Platte bereits genutzt wurde.



- a. Wählen Sie [Yes] (Ja) oder [No] (Nein) aus.
- b. Wenn Sie [Yes] (Ja) auswählen, wird ein neuer Bildschirm angezeigt, auf dem Sie Plattenpositionen der vorherigen Läufe markieren können, um die wiederholte Nutzung leerer Wells der Plasma-SeqSensei™ Index Primer Plate zu verhindern. Diese Wells werden in den weiteren Planungsschritten dieses Laufs nicht auswählbar sein.

**Hinweis:** Wells in Spalte 1 (Positive Control) und Spalte 12 (No Template Control) werden automatisch ausgewählt.

#### 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. Klicken Sie auf [Next] (Weiter), um zur nächsten Seite zu gelangen, oder auf [Back] (Zurück), um eine Seite zurückzugehen und die Eingabe zu ändern.



4. Tragen Sie in die Tabelle „Sample Configuration“ (Probenkonfiguration) die Bezeichnung und die Konzentration der Proben ein.

**Hinweis:** Die Probenbezeichnungen und -konzentrationen lassen sich einfach einfügen, indem Sie die Daten aus zwei Spalten einer Excel-Tabelle kopieren und einfügen.

- a. Geben Sie einmalige Probenbezeichnungen ohne Sonderzeichen ein (mindestens 2 Proben); es sind nur Zahlen und Buchstaben erlaubt. Die Software prüft die Einhaltung dieser Vorgaben.

**Hinweis:** Die Software sortiert die Proben automatisch nach der obersten leeren Wellposition auf der einzelnen Platte, sobald Sie zur nächsten Seite wechseln.

- b. Geben Sie die Probenkonzentration in ng/116 µl Eluat pro Probe ein (mit einem Punkt als Dezimalstelle, z. B. 8.5 ng). Der Probeninput muss sich innerhalb der Assay-spezifischen Inputgrenzwerte befinden. Die Software überprüft die Einhaltung dieser Vorgaben, wenn Sie zur nächsten Seite wechseln.

Sample Configuration

Sample	Plate	Sample Name	DNA Amount [ng]
1	Plate A		
2	Plate A		
3	Plate A		
4	Plate A		
5	Plate A	Sample1	44
6	Plate A	Sample2	4.3
7	Plate A	Sample3	75.9
8	Plate A	Sample4	80
9	Plate A	Sample5	79.2
10	Plate A	Sample6	12
11	Plate A	Sample7	40.1
12	Plate A	Enter Sample name	DNA Amount
13	Plate A	Enter Sample name	DNA Amount
14	Plate A	Enter Sample name	DNA Amount
15	Plate A	Enter Sample name	DNA Amount
16	Plate A	Enter Sample name	DNA Amount

illumina NextSeq™ 500/550  
Max Output: 4.2 (116 µl eluate)

▬ 89.5 %

Sample	Plate	Sample Name	DNA Amount [ng]
17	Plate B		
18	Plate B		
19	Plate B		
20	Plate B		
21	Plate B		
22	Plate B		
23	Plate B		
24	Plate B		
25	Plate B		
26	Plate B		
27	Plate B		
28	Plate B		
29	Plate B		
30	Plate B		
31	Plate B		
32	Plate B		

- c. Sie können Probenbezeichnungen einschließlich der Konzentrationen löschen, indem Sie auf das „X“ am Ende der Zeile klicken, oder Sie setzen alle Eingaben zurück, indem Sie auf die Schaltfläche [Reset] (Zurücksetzen) unten links im Fenster klicken.

## 6 Plasma-SeqSensei™ IVD Software Module

- i. Es öffnet sich ein Fenster, in dem Sie gefragt werden, ob Sie die ausgewählte Probe oder die gesamte Seite löschen wollen.
  - ii. Nachdem Sie [OK] (OK) oder [Yes] (Ja) ausgewählt haben, können Sie eine neue Probenbezeichnung und -konzentration hinzufügen.
- d. In der oberen rechten Ecke wird die Read-Kapazität des ausgewählten Sequenzierungskits dargestellt (blau und grün gefärbte Balken zeigt an, dass sich das Kit innerhalb der akzeptablen Grenzwerte befindet, ein grauer Balken weist auf eine Überladung hin).



- e. Klicken Sie auf [Next] (Weiter), um zur nächsten Seite zu gelangen, oder auf [Back] (Zurück), um eine Seite zurückzugehen und die Eingabe zu ändern.

5. Überarbeiten Sie den Input, indem Sie sorgfältig die plattenspezifische Zusammenfassung überprüfen.

**Plate A Summary**  
 Plasma-SeqSensei™ Assay: Breast Cancer  
 Lot Number: D2222  
 Article Number: ZR150544

Plate Locations	Plasma-SeqSensei™ Assay
C01	Breast Cancer
C12	Breast Cancer
D02, D03, D04, D05, D06	Breast Cancer
D07, D08, D09, C10, C11	Breast Cancer
D02, D03, D04, D05, D06	Breast Cancer
D07, D08, D09, D10, D11	Breast Cancer

Sample Name	DNA Amount [ng]	Target Read Count
PC	4.3	1252914
ITIC	0.0	0
Sample1	40.0	11620972
Sample2	40.3	11742454
Sample3	50.0	14568765
Sample4	80.0	23310023

Buttons: [Reset], [Back], [Next]

- a. Es werden Plasma-SeqSensei™ Assay, Chargenbezeichnung und die Artikelnummer angezeigt.
  - b. Wells, die für den Lauf verwendet werden, sind mit der Probenbezeichnung sowie als Positive Control (PC) und No Template Control (NTC) gekennzeichnet.
  - c. Zuvor verwendete Wells sind dunkelgrau markiert.
  - d. Plattenposition, Plasma-SeqSensei™ Assay, Probenbezeichnung, Probenkonzentration in ng und die Ziel-Read-Zählungen werden in einer Liste auf der unteren Bildschirmhälfte angezeigt.
  - e. Klicken Sie auf [Next] (Weiter), um zur nächsten Seite zu gelangen, oder auf [Back] (Zurück), um eine Seite zurückzugehen und die Eingabe zu ändern.
6. Überarbeiten Sie den Input, indem Sie die „Sequencing Run Summary“ (Zusammenfassung des Sequenzierungslaufs) prüfen, welcher die folgenden Angaben enthält:

**Sequencing Run Summary**

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

Article Number: ZR150544  
 Lot Number: D22222

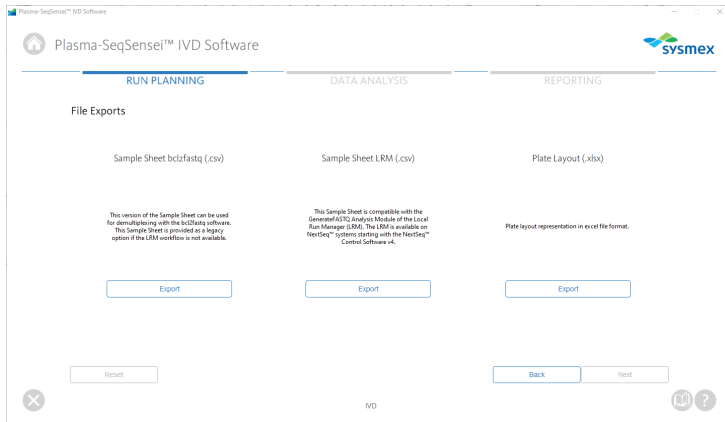
Sequencing Device: Illumina NextSeq™ 500/550  
 Sequencing Kit: Mid Output Kit v2.6 (150-cycle)  
 Indexing Type: single  
 Total DNA input [ng]: 214.6  
 Total Target Reads: 62529138  
 Sequencing Capacity Usage:  56.8%

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												

Buttons: [Reset], [Back], [Next]

- Plasma-SeqSensei™ Assay
- Anzahl Proben
- Verwendete Platte mit Artikelnummer und Chargenbezeichnung
- Sequenzierungsgerät
- Sequenzierungskit
- Indexierungsart (wird automatisch ausgefüllt)

- DNA-Input insgesamt (in ng)
  - Gesamt-Read-Zahlen (wird automatisch ausgefüllt)
  - Nutzung der Sequenzierungskapazität (wird automatisch ausgefüllt)
  - Layout der beiden möglichen Platten
- a. Klicken Sie auf [Next] (Weiter), um zur nächsten Seite zu gelangen, oder auf [Back] (Zurück), um eine Seite zurückzugehen und die Eingabe zu ändern.
7. Auf der Seite für Dateixporte werden drei Dateien angezeigt. Sie lassen sich als .csv-Dateien (Probenblatt) oder, je nach Bedarf, als .xls-Datei (Plattenlayout) exportieren.



- a. Um ein spezifisches Probenblatt oder das Plattenlayout zu exportieren, klicken Sie auf die Schaltfläche [Export] (Exportieren), wählen Sie den Speicherort auf Ihrem Computer oder im Netzwerk aus und klicken Sie auf [Save] (Speichern).
- b. Sie können das Plattenlayout (.xlsx) zu Dokumentationszwecken exportieren.

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M
1	Plate A												
2	A												
3	B	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC
4	C	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC
5	D	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC	Brca1_Cancer_IC
6	E												
7	F												
8	G												
9	H												
10	I												
11	J												
12	Plate B												
13	A												
14	B												
15	C												
16	D												
17	E												
18	F												
19	G												
20	H												
21	I												
22	J												

- c. Der Probenblatt-LRM (.csv) wird in der Mitte des Bildschirms angewendet, wenn der Sequenzierungslauf mit dem Local Run Manager (LRM) von Illumina, Inc. gestartet wird. Beim Hochladen des LRM-Probenblatts in die LRM-Software des Sequenzierungsgeräts muss das GenerateFASTQ-Modul ausgewählt sein.

**Wichtig:** In den „Advanced Module Settings“ (Erweiterte Moduleinstellungen) muss der „Adapter“ mit seiner Sequenz (in den folgenden Beispiel-Probenblättern gelb markiert) enthalten sein, damit die Adaptertrimmung korrekt abläuft.

### Beispiel A (LRM, eine Platte):

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	[Header],,,,,,									
2	!EMFileVersion,4,,,,,									
3	Experiment Name,BCIVDLRM,,,,,									
4	Date,2022-05-09 12:08:02.863719,,,,,									
5	Workflow,GenerateFASTQ,,,,,									
6	Application,FASTQ.Only,,,,,									
7	Assay,TruSeqLT,,,,,									
8	safeseq_sw,1.1.7,,,,,									
9	Chemistry,Default,,,,,									
10	BC_IVD1,D20000,None,,,,,									
11										
12	[Reads],,,,,,									
13	148,,,,,									
14										
15	[Settings],,,,,,									
16	Adapter,AGATCGGAAGGACACAGTCTGAACTCCAGTCA,,,,,									
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,C01,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,GTCAGACTAG,BCIVDLRM,									
23	BC_IVD1_Sample1_120_C03_a,BC_IVD1_Sample1_120_C03_a,a,C03,C03,ATAGACTGCG,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,ATCGAGAGAG,BCIVDLRM,									
26	BC_IVD1_Sample1_120_C06_a,BC_IVD1_Sample1_120_C06_a,a,C06,C06,TACTGACAGAG,BCIVDLRM,									
27	BC_IVD1_Sample2_450_C07_a,BC_IVD1_Sample2_450_C07_a,a,C07,C07,AGTGACTCTG,BCIVDLRM,									
28	BC_IVD1_Sample2_450_C08_a,BC_IVD1_Sample2_450_C08_a,a,C08,C08,CACAGTCTCA,BCIVDLRM,									
29	BC_IVD1_Sample2_450_C09_a,BC_IVD1_Sample2_450_C09_a,a,C09,C09,TATGACTCGC,BCIVDLRM,									

**Beispiel B (LRM, zwei Platten):**

```

1 | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J | K | L
2 | [Header],,,,,,
3 | IEMFileVersion,4,,,,,
4 | Experiment Name,BCIVDLRM2,,,,,
5 | Date,2022-05-09 12:16:33.88399,,,,,
6 | Workflow,GenerateFASTQ,,,,,
7 | Application,FASTQ Only,,,,,
8 | Assay,TruSeq LT,,,,,
9 | safeseq_sw,1.1.7,,,,,
10 | Chemistry,Default,,,,,
11 | BC_IVD1,D20000,D20000,,,,,
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_a,A12,A12,ACTAGATCGT,a,TTGTATCTGG,BCIVDLRM2,
21 | BC_IVD1_NTcplateplidx1_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplateplidx1_0_A12_b,A12,A12,ACTAGATCGT,a,CAACCAAGGA,BCIVDLRM2,
22 | BC_IVD1_NTcplateplidx2_0_A12_a,BC_IVD1_NTcplateplidx2_0_A12_a,A12,A12,ACTAGATCGT,a,GGACGGTGT,BCIVDLRM2,
23 | BC_IVD1_NTcplateplidx3_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplateplidx3_0_A12_b,A12,A12,ACTAGATCGT,b,CTCACCTGAA,BCIVDLRM2,
24 | BC_IVD1_NTcplateplidx0_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplateplidx0_0_A12_b,A12,A12,ACTAGATCGT,b,CTCACCTGAA,BCIVDLRM2,
25 | BC_IVD1_NTcplateplidx1_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplateplidx1_0_A12_b,A12,A12,ACTAGATCGT,b,GTCCGGTACT,BCIVDLRM2,
26 | BC_IVD1_NTcplateplidx2_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplateplidx2_0_A12_b,A12,A12,ACTAGATCGT,b,CTACTCTTG,BCIVDLRM2,
27 | BC_IVD1_NTcplateplidx3_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplateplidx3_0_A12_b,A12,A12,ACTAGATCGT,b,ACTCTGGATA,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_b,BC_IVD1_Pcplateplidx1_43_A01_b,A01,A01,CTACAGCAGT,a,GGACGGTGT,BCIVDLRM2,
30 | BC_IVD1_Pcplateplidx2_43_A01_a,BC_IVD1_Pcplateplidx2_43_A01_a,A01,A01,CTACAGCAGT,a,GGACGGTGT,BCIVDLRM2,
31 | BC_IVD1_Pcplateplidx3_43_A01_b,BC_IVD1_Pcplateplidx3_43_A01_b,A01,A01,CTACAGCAGT,a,CAACCGTAA,BCIVDLRM2,
32 | BC_IVD1_Pcplateplidx0_43_A01_b,BC_IVD1_Pcplateplidx0_43_A01_b,A01,A01,CTACAGCAGT,b,CTCACCTGAA,BCIVDLRM2,
33 | BC_IVD1_Pcplateplidx1_43_A01_a,BC_IVD1_Pcplateplidx1_43_A01_a,A01,A01,CTACAGCAGT,b,GTCCGGTACT,BCIVDLRM2,
34 | BC_IVD1_Pcplateplidx2_43_A01_b,BC_IVD1_Pcplateplidx2_43_A01_b,A01,A01,CTACAGCAGT,b,CTACTCTTG,BCIVDLRM2,
35 | BC_IVD1_Pcplateplidx3_43_A01_a,BC_IVD1_Pcplateplidx3_43_A01_a,A01,A01,CTACAGCAGT,b,ACTCTGGATA,BCIVDLRM2,
36 | BC_IVD1_Sample1plidx0_120_A02_a,BC_IVD1_Sample1plidx0_120_A02_a,A02,A02,ACACTGATGC,a,TTGTATCTGG,BCIVDLRM2,

```

- d. Probenblatt bcl2fastq (.csv), auf der linken Seite des Bildschirms, wird verwendet, wenn die Illumina bcl2fastq Software zur Demultiplexierung, Adaptertrimmung und Generierung der FASTQ-Datei eingesetzt wird.

**Beispiel A (bcl2fastq, eine Platte):**

```

1 | A | B | C | D | E | F | G | H | I | J
2 | [Header],,,,,,
3 | IEMFileVersion,4,,,,,
4 | Experiment Name,BCIVDbcl2fastq,,,,,
5 | Date,2022-05-09 12:07:50.975042,,,,,
6 | Workflow,GenerateFASTQ,,,,,
7 | Application,FASTQ Only,,,,,
8 | Assay,TruSeq LT,,,,,
9 | safeseq_sw,1.1.7,,,,,
10 | Chemistry,Default,,,,,
11 | BC_IVD1,D20000,None,,,,,
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,AGTGTACTGT,BCIVDbcl2fastq,
32 | BC_IVD1_Sample2_450_C08_a,BC_IVD1_Sample2_450_C08_a,C08,C08,CACAGCTCTCA,BCIVDbcl2fastq,

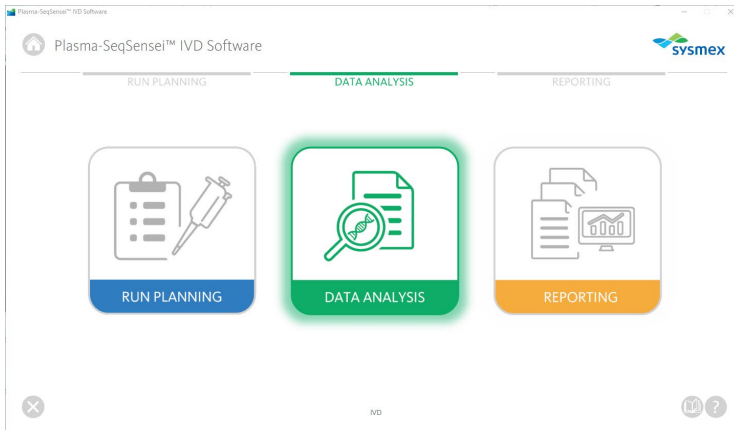
```

**Beispiel B (bcl2fastq, zwei Platten):**

#	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	[Header],,,,,,											
2	1EMFileVersion,4,,,,,											
3	ExperimentName,BCIVDbcl2fastq,,,,,											
4	Date,2022-05-09 12:16:25.131648,,,,,											
5	Workflow,GenereateFASTQ,,,,,											
6	Application,FASTQOnly,,,,,											
7	Assay,TruSeqLT,,,,,											
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,I_Index_ID,index_S_Index_ID,index2,Sample_Project,Description											
24	BC_IVD1_NTCplatea_0_A12_a,BC_IVD1_NTCplatea_0_A12_b,a,A12,A12,ACTAGATCGT,b,CCAGATACAA,BCIVDbcl2fastq2,											
25	BC_IVD1_NTCplatea_0_A12_a,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_b,a,A12,A12,ACTAGATCGT,a,AAACCCGTCC,BCIVDbcl2fastq2,											
27	BC_IVD1_NTCplatea_0_A12_a,BC_IVD1_NTCplatea_0_A12_b,a,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,AGTACCGGAC,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,AAACCCGTCC,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. Falls Änderungen am Input erforderlich sind, gehen Sie mehrere Seiten zurück, indem Sie in der unteren rechten Ecke des Fensters auf [Back] (Zurück) klicken.

### 6.2 Modul „Data Analysis“ (Datenanalyse)



Das Modul „Data Analysis“ (Datenanalyse) (grün) wird unter Einsatz folgender Elemente zum Start der Sequenzierungsanalyse verwendet:

- Komprimierte FASTQ-Dateien (.fastq.gz)
- Probenblatt des Laufs, das im Modul „Run Planning“ (Laufplanung) vorbereitet wurde

Die FASTQ-Dateien sollten lokal in einem Ordner pro Sequenzierungslauf auf derselben Festplatte wie die Plasma-SeqSensei™ IVD Software gespeichert werden. Unterordner sind nicht zulässig. Bei der Übertragung von Daten von Illuminas BaseSpace™ müssen alle .fastq.gz-Dateien in einem einzigen Ordner gespeichert werden.

**Hinweis:** *.fastq.gz* Dateien, welche die Benennung ‚Undetermined‘ besitzen, dürfen nicht in dem von der Software zu analysierenden Ordner vorliegen.

Die Analyse wird im Anschluss an den Sequenzierungslauf, die Demultiplexierung, die Adaptertrimmung und die Erstellung der FASTQ-Datei durchgeführt. Die Demultiplexierung und Adaptertrimmung selbst sind nicht Bestandteil der hier bereitgestellten Analysesoftware und müssen vor der Datenanalyse durchgeführt werden (siehe ► Kapitel 4.1 *Datenerhebung*, Seite 9/61).



Prüfen Sie vor dem Start der Datenanalyse mit der Plasma-SeqSensei™ IVD Software die Validitätsparameter des Laufs der Illumina Instrumentensoftware:

- Clusterdichte:  
NextSeq™: Durchschnitt 0 bis 220 K/mm<sup>2</sup>
- Q30-Ergebnis: ≥ 80 %
- Den Filter passierende Cluster (Passing Filter, PF): ≥ 80 %

Falls die Validitätsparameter des Laufs nicht erreicht werden, ist der Lauf ungültig.

The screenshot shows the 'Plasma-SeqSensei™ IVD Software' interface with the 'DATA ANALYSIS' tab selected. The interface is divided into three sections: 'RUN PLANNING', 'DATA ANALYSIS', and 'REPORTING'. Under 'DATA ANALYSIS', there are several input fields and dropdown menus:

- Analysis Name:** Enter Analysis Name.
- FASTQ Folder:** Select or enter FASTQ Folder path. (Browse button)
- Sample Sheet:** Select or enter Sample Sheet file path. (Browse button)
- Info:** A large empty text area.
- Sequencing Device:** Illumina NextSeq™ 500/550 (dropdown)
- Sequencing Kit:** Mid Output Kit v2.5 (50-cy1k) (dropdown)
- Sequencing Quality Metrics:**
  - Flowcell ID: Enter Flowcell ID.
  - % > Q30: Enter % > Q30.
  - Cluster Density [k/mm<sup>2</sup>]: Enter Cluster Density.
  - Clusters Passing Filter [%]: Enter Clusters Passing Filter.

A 'Start Analysis' button is located at the bottom right of the 'Sequencing Quality Metrics' section.

1. Klicken Sie auf das Modul „Data Analysis“ (Datenanalyse) (grün).
2. Geben Sie eine Bezeichnung für die Analyse ein.
3. Wählen Sie das verwendete Sequenzierungsgerät aus.
4. Wählen Sie das Sequenzierungskit aus.
5. Geben Sie die Qualitätsmetriken der Sequenzierung/Validitätskriterien des Laufs ein wie auf dem Sequenzierungsgerät dargestellt:
  - a. Flowcell-ID
  - b. % > Q30
  - c. Clusterdichte [k/mm<sup>2</sup>]
  - d. Den Filter passierende Cluster [%]

Wenn Sie die Analyse starten, öffnet sich eine Fehlermeldung, falls die Flowcell-ID unvollständig ist oder nicht mit der ID in den zu analysierenden Dateien übereinstimmt oder falls die Validitätskriterien des Laufs nicht den akzeptablen Grenzwerten entsprechen.

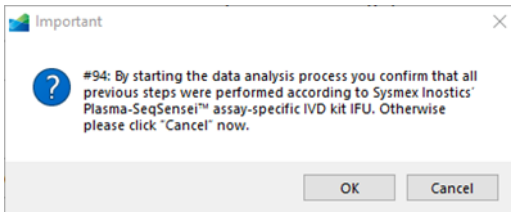
6. Wählen Sie den Ordner aus, der die FASTQ-Dateien aus dem zu analysierenden Sequenzierlauf (.fastq.gz) enthält, indem Sie auf die Schaltfläche [Browse] (Durchsuchen) klicken und zu dem entsprechenden Ordner navigieren.

**Hinweis:** Die .fastq.gz-Dateien sind bei der Auswahl des Ordners nicht sichtbar.

7. Wählen Sie das Probenblatt aus, das im Modul „Run Planning“ (Laufplanung) für diesen Sequenzierlauf erstellt wurde (.csv), indem Sie auf die Schaltfläche [Browse] (Durchsuchen) klicken und zur entsprechenden Datei navigieren.
8. Tragen Sie Informationen zum Experiment, zum Sequenzierlauf oder zur Analyse ein (optional).
9. Klicken Sie auf [Start Analysis] (Analyse starten).

Falls Dateien fehlen, Probenblatt und Dateibezeichnungen nicht übereinstimmen oder ein falsches Probenblatt ausgewählt wurde, zeigt die Software eine Fehlermeldung an.

10. Es öffnet sich ein Fenster, in dem Sie bestätigen sollen, dass Sie den IVD-Workflow gemäß der Gebrauchsanweisung des Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kits eingehalten haben.



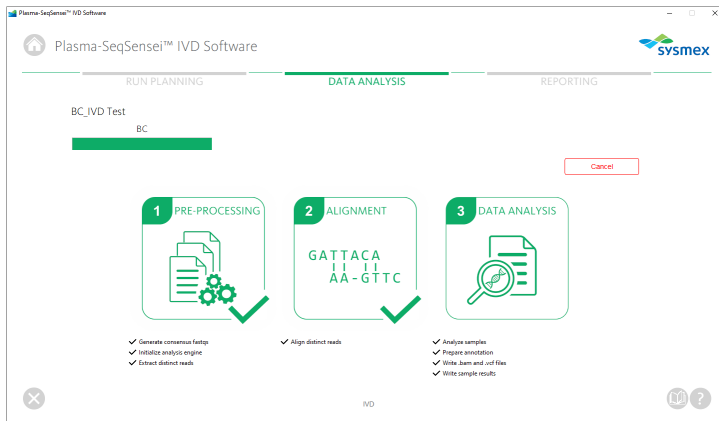
- a. Wählen Sie [Ok] (Ok) aus, wenn Sie die Gebrauchsanweisung befolgt haben, um die IVD-zertifizierte Analyse Ihrer Sequenzierungsergebnisse zu starten.

- a. Wählen Sie [Cancel] (Abbrechen) aus, wenn Sie sich nicht an die Gebrauchsanweisung für das Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kit gehalten haben, da diese Sequenzierungsergebnisse nicht für eine IVD-zertifizierte Analyse zulässig sind.

**Hinweis:** Es wird empfohlen, alle anderen Anwendungen während der Analyse zu schließen und die Standby-Funktion Ihres Windows®-Computers auszuschalten.

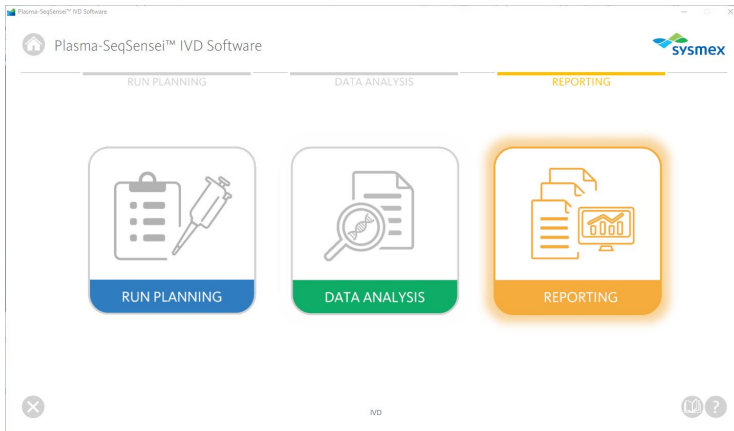
Je nach Größe des verfügbaren Speichers kann die Analyse bis zu 6 Stunden dauern. Falls die Analyse länger dauert, siehe ► Kapitel 8 Fehlerbehebung, Seite 50/61.

11. Ein neues Fenster öffnet sich, das den Verlauf und den Fortschritt der Datenanalyse anzeigt.
  - a. Sie können die Analyse stoppen, indem Sie rechts im Fenster auf die rote Schaltfläche [Cancel] (Abbrechen) klicken. Nach dem Abbruch muss die Analyse neu gestartet werden; sie lässt sich nicht pausieren.



12. Nachdem die Datenanalyse beendet ist, schaltet die Software automatisch zum Modul „Reporting“ (Berichterstattung) und öffnet die Seite mit den Ergebnissen der Sequenzierungslauf-Analyse.

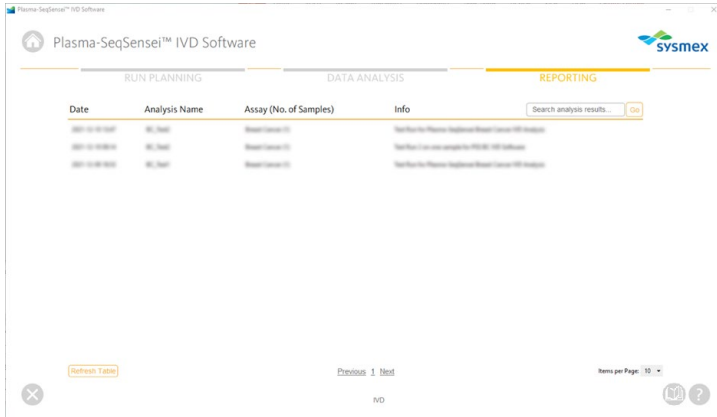
### 6.3 Modul „Reporting“ (Berichterstattung)



Das Modul „Reporting“ (Berichterstattung) (orange) wird verwendet, um alle Analyseergebnisse der Plasma-SeqSensei™ IVD Software zu speichern und zu verwalten. Sie ermöglicht dem Benutzer Folgendes:

- Anzeige aller mit dem Gerät analysierten Läufe
- Anzeige des Dateiverzeichnisses der FASTQ-Dateien für jeden Lauf
- Download von Berichten (.pdf), .vcf- und .bam-Dateien von jedem Lauf
- Löschung von Läufen/Daten

Das Modul „Reporting“ (Berichterstattung) startet automatisch, wenn eine Analyse abgeschlossen ist. Man kann jederzeit auf alle vorherigen Analysen auf dem Gerät zugreifen, um Daten herunterzuladen oder zu löschen. Sie können Daten im .pdf-Format (Berichte), im .vcf-Format oder .bam-Format herunterladen.



1. Klicken Sie auf das Modul „Reporting“ (Berichterstattung) (orange).
2. Hier sehen Sie eine Übersicht aller Analysen, die mit der Plasma-SeqSensei™ IVD Software auf dem Gerät durchgeführt wurden.
  - a. Um zu einer bestimmten Seite in dieser Übersicht zu wechseln, klicken Sie auf die Seitenzahl unten auf dem Bildschirm oder auf [Previous] (Zurück)/[Next] (Weiter).

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

- b. Die Anzahl der Elemente auf jeder Seite lässt sich unten rechts auf der Seite ändern.

Items per Page: **10** ▼

- c. Wenn Sie nach bestimmten Analyseergebnissen suchen, geben Sie die Bezeichnung des Laufs in das Suchfeld oben rechts im Fenster ein und klicken Sie auf die Schaltfläche [Go] (Los).

Search for Analysis Name or Info ...

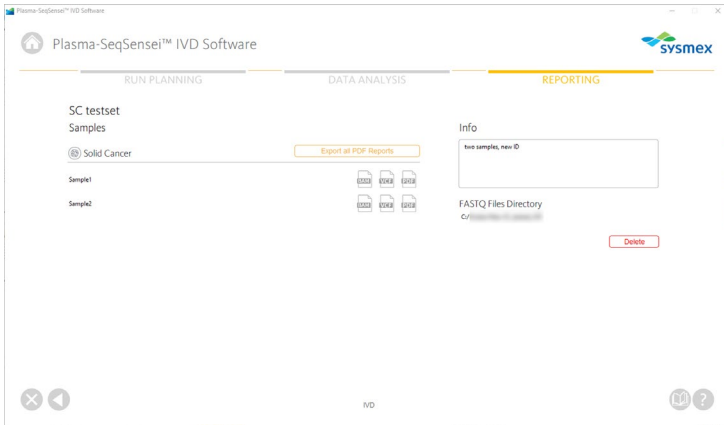
Go

- d. Falls Sie auf neue Daten warten, klicken Sie links unten im Fenster auf die Schaltfläche [Refresh Table] (Tabelle)

aktualisieren), um die Ergebnistabelle neu zu laden und neue Analyseergebnisse sichtbar zu machen.

**Refresh Table**

3. Wählen Sie ein Analyseergebnis von Interesse aus, indem Sie draufklicken.
4. Das neue Fenster zeigt die Analyseergebnisse an, einschließlich:



- a. Bezeichnung des Laufs
- b. Der für den Lauf verwendete Assay
- c. Bezeichnungen aller Proben in diesem Lauf
- d. Informationen zu dem Lauf (sofern im Modul „Data Analysis“ (Datenanalyse) inbegriffen)
- e. Speicherort des FASTQ-Datenverzeichnisses, das zur Datenanalyse genutzt wird
- f. Symbole jeweils für das Exportieren von .pdf-Berichten, .vcf-Dateien und .bam-Dateien für Proben




- g. Schaltfläche zum Exportieren aller .pdf-Berichte eines ausgewählten Laufs als .zip-Datei

**Export all PDF Reports**

5. Klicken Sie zum Exportieren von Dateien auf das Symbol oder die Schaltfläche und wählen Sie die Bezeichnung und den Speicherort auf Ihrem Gerät/Server aus.
6. Klicken Sie unten rechts auf dem Bildschirm auf die rote Schaltfläche [Delete] (Löschen), um alle Analyseergebnisse dieses spezifischen Laufs zu löschen.

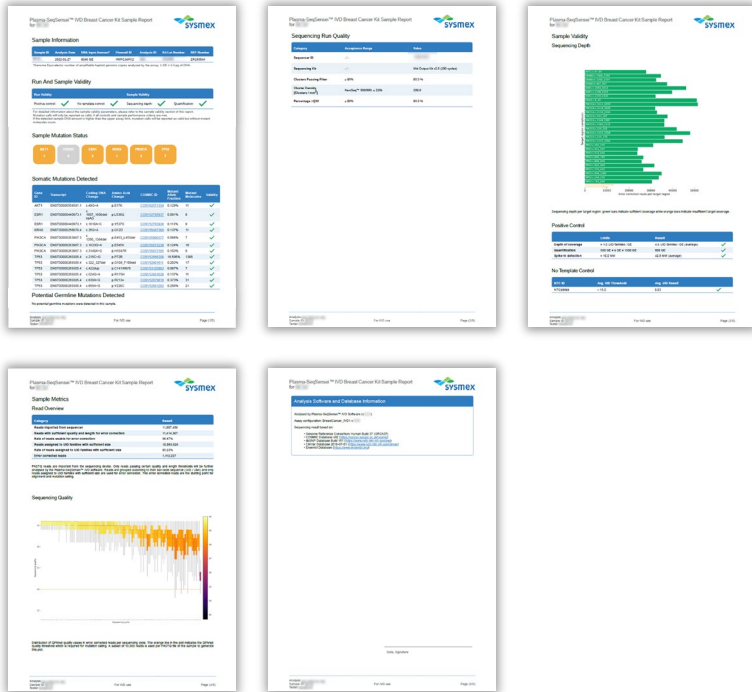


Es öffnet sich ein Fenster, in dem nachgefragt wird, ob Sie alle Daten endgültig löschen wollen.

7. Klicken Sie unten links im Software-Fenster auf das weiße Dreieck im grauen Kreis , um zur Übersicht vom Modul „Reporting“ (Berichterstattung) zurückzukehren.

# 7 Berichte

Berichte werden im .pdf-Format gespeichert.



Außerdem lassen sich .vcf- (Variant Call Format) und .bam-Dateien (Binary Alignment Map) herunterladen. .vcf-Dateien beinhalten unter anderem alle Mutationen in Form von mutierten Allelfraktionen (MAF) und mutierten Molekülen (MM), wie sie im Bericht in einer standardisierten Form aufgeführt werden. .bam-Dateien enthalten die Alignment-Informationen der generierten UID-Konsens-Reads im Vergleich zu den Assay-Amplikons. Beide Dateien können für eine detaillierte Inspektion der Analyseergebnisse mit Fremdsoftware (z. B. Integrative Genomics Viewer (IGV, <https://software.broadinstitute.org/software/igv/>)) herangezogen werden. Falls Sie IGV verwenden, wählen Sie bitte „Human hg19“ als Referenzgenom aus.



Die von der Plasma-SeqSensei™ IVD Software erstellten Berichte enthalten mehrere Abschnitte:

- Probeninformationen
- Validität des Laufs und der Probe
  - Sequenzierungstiefe
  - Positive Control
  - No Template Control
- Status der Probenmutation
  - Ungültige Amplikone
- Detektierte Mutationen
  - Somatische Mutationen
  - Mögliche Keimbahnmutationen
- Qualität des Sequenzierungslaufs
- Probenmesswerte
  - Read-Übersicht
  - Sequenzierungsqualität
- Informationen zur Analysesoftware und -datenbank

## BEISPIEL A:

### Sample Information

Sample ID	Analysis Date	DNA Input Amount*	Flowcell ID	Analysis ID	Kit Lot Number	REF Number
SampleB	2024-03-15	5290 GE	HHSIG0FX2	BC_Test 131	D20001	ZR150544

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

## BEISPIEL B:

### Sample Information

Sample ID	Analysis Date	DNA Input Amount*	Flowcell ID	Analysis ID	Kit Lot Number	REF Number
SampleA	2024-03-15	Not quantifiable	HHSIG0FX2	BC_Test 131	D20001	ZR150544

\*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 or if the coverage of the sequences used for quantification is insufficient.

Der Abschnitt **Sample Information** (Probeninformationen) enthält eine Zusammenfassung der spezifischen Probenanalyse, einschließlich:

- Proben-ID
- Analysedatum

- Menge des DNA-Inputs in Genomäquivalenten (Genome Equivalents, GE), die mit dem internen Quantifizierer (Quantispike) berechnet wurden; sofern die DNA-Inputmenge sich außerhalb der validen Inputgrenzwerte befindet oder falls die Quantifizierung der Positive Control fehlschlägt, wird dies als „Not quantifiable“ (nicht quantifizierbar) gekennzeichnet.
- Flowcell-ID
- Analyse-ID, die der Benutzer für die Analyse dieses Probensatzes vergeben hat.
- Chargenbezeichnung des verwendeten Plasma-SeqSensei™ IVD Kits
- Die REF-Nummer gibt die Artikelnummer des verwendeten Plasma-SeqSensei™ Kits an.

### BEISPIEL A:

#### 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.

### BEISPIEL B:

#### 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.

Die Tabelle **Run and Sample Validity** (Validität des Laufs und der Probe) auf der ersten Berichtseite zeigt, ob die analysierte Probe die Validitätskriterien erfüllt. Grüne Häkchen (✓) weisen auf valide Ergebnisse hin, rote Kreuze auf (✗) ungültige Ergebnisse und ein orangefarbenes Häkchen bei der Sequenzierungstiefe weist den Benutzer auf mindestens ein ungültiges Amplikon aufgrund geringer Sequenzierungsabdeckung hin. Weitere Informationen zu dem ungültigen Amplikon findet man in den Abschnitten „Status der Probenmutation“ und „Sequenzierungstiefe“ des Berichts.

Die Quantifizierung der Proben erfolgt zunächst anhand einer Qubit-Messung, welche eine grobe Schätzung des DNA-Inputgehalts für eine korrekte Probenladung darstellt. Quantifizierung bezieht sich in dem Bericht auf den DNA-Gehalt der Probe, der mittels des internen Quantifizierers (Quantispike) festgelegt wurde.

Falls der Quantifizierungswert außerhalb des zulässigen Inputgrenzwertes liegt (sichtbar in „Sample Information“ (Probeninformationen)/„DNA Input Amount“ (DNA-Inputmenge)), so ist die Probe ungültig und es werden keine Ergebnisse im Bericht angezeigt.

Die Analyse der Probe ist ebenfalls ungültig, wenn Positive Control, No Template Control oder die Sequenzierungsmesswerte sich außerhalb der zulässigen Kriterien befinden.

## BEISPIEL:

### Sample Mutation Status



Im Abschnitt **Sample Mutation Status** (Status der Probenmutation) finden Sie eine Übersicht darüber, wie viele Mutationen pro vom Plasma-SeqSensei™ IVD Kit analysiertem Gen erkannt wurden. Falls eine Mutation gefunden wird, wird die Anzahl der gefundenen Genmutationen unter der Genbezeichnung in einem orangefarbenen Kasten angezeigt. Falls bei einem Gen keine Mutation gefunden wird, ist der Kasten unter der Genbezeichnung grau und darin steht eine Null.

## BEISPIEL:

### Important:

Please note that not all amplicons achieved the required minimum coverage. The following genes and coding positions are excluded from this test result and no judgment regarding wildtype or mutation status can be made for these positions:

Gene ID	Coding Sequence
TP53	c.574_659

Es wird ein Hinweis („Wichtig“) eingefügt, falls ein oder mehr Amplikons keine ausreichende Sequenzierungstiefe erreicht haben und vom Bericht ausgeschlossen werden (siehe die Abschnitte „Validität des Laufs und der Probe“ und „Sequenzierungstiefe“ dieses Berichts). Die kodierenden Positionen, die in dem spezifizierten Gen betroffen sind, werden in einer Tabelle dargestellt. Mögliche Mutationen, die sich in diesen Regionen befinden, werden nicht gezeigt, und der Mutationsstatus dieser Genpositionen kann nicht beurteilt werden

### BEISPIEL A:

#### Somatic Mutations Detected

Gene ID	Transcript	Coding DNA Change	Amino Acid Change	COSMIC ID	ClinVar ID	Mutant Allele Fraction	Mutant Molecules
AKT1	ENST00000554581.1	c.49G>A	p.E17K	<a href="#">COSV62571334</a>	<a href="#">13983</a>	0.129%	11
TP53	ENST00000269305.4	c.422dup	p.C141Wfs*8	<a href="#">COSV53125883</a>	<a href="#">844977</a>	0.087%	7
TP53	ENST00000269305.4	c.524G>A	p.R175H	<a href="#">COSV52661038</a>	<a href="#">12374</a>	0.137%	11
TP53	ENST00000269305.4	c.639A>G	p.R213=	<a href="#">COSV52679610</a>	<a href="#">43591</a>	0.373%	31
TP53	ENST00000269305.4	c.659A>G	<sup>1</sup> p. Y220C	<a href="#">COSV52661282</a>	<a href="#">127819</a>	0.256%	21

<sup>1</sup>) Partially covered amino acid triplet detected. The amino acid annotation in this report is made based on the assumption that the bases, which are not covered by this assay correspond to the reference sequence.

### BEISPIEL B:

#### Somatic Mutations Detected

No valid somatic mutations were detected in this sample.

Im Berichtsabschnitt **Somatic Mutations Detected** (Detektierte somatische Mutationen) werden alle Mutationen aufgeführt, die in den vom eingesetzten Plasma-SeqSensei™ IVD Kit abgedeckten Genregionen von der Plasma-SeqSensei™ IVD Software erkannt werden, wenn die Kriterien für die Validität des Laufs und der Probe erfüllt werden (eine mögliche Ausnahme ist die Quantifizierung) und die Sequenzierertiefe für das Amplikon erreicht wurde

Die Tabelle enthält folgende Informationen:

- Gen-ID
- Transkriptnummer des bei der Analyse eingesetzten Gens
- Änderung der kodierenden DNA erkannt
- Änderung der Aminosäure aufgrund der Änderung der kodierenden DNA

- Falls die Mutation sich in der Intronregion des Gens befindet, wird die Aminosäure-Änderung als „p.“ angezeigt.
- Falls die Basenpaar-Änderung in einem aminosäureverschlüsselnden Nukleotid-Triplett auftritt, das nur zum Teil vom Assay abgedeckt ist, wird die Aminosäure-Änderung mit „<sup>1</sup>“ markiert. Die Aminosäure-Anmerkung basiert hier auf der Annahme, dass die vom Assay nicht abgedeckten Basen der Referenzsequenz entsprechen. COSMIC-ID, sofern diese (COSV-Nummer) in der verwendeten Datenbankversion verfügbar ist (siehe letzte Seite des Berichts)
- ClinVar-ID, sofern diese in der verwendeten Datenbankversion verfügbar ist (siehe letzte Seite des Berichts)
- Mutierte Allelfraction
- Mutierte Moleküle (MM) pro Mutation, die anhand des berechneten DNA-Gehalts mit dem internen Quantifizierer (Quantispike) in der Probe erkannt werden.

## BEISPIEL A:

### Potential Germline Mutations Detected

Gene ID	Transcript	Coding DNA Change	Amino Acid Change	dbSNP ID	ClinVar ID	Mutant Allele Fraction	Mutant Molecules
TP53	ENST00000269305.4	c.215C>G	p.P72R	<a href="#">rs1042522</a>	<a href="#">12351</a>	44.211%	2339

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.

## BEISPIEL B:

### Potential Germline Mutations Detected

No potential germline mutations were detected in this sample.

**Potential germline mutations** (Mögliche Keimbahnmutationen) (SNPs) werden in einer weiteren Tabelle aufgeführt, sofern diese gefunden werden. Mutationen werden als mögliche Keimbahnmutationen aufgelistet, wenn sie mit einer MAF > 40 % bis ≤ 60 % (heterozygot) oder ≥ 90 % (homozygot) auftreten. Ein Eintrag in die dbSNP-Datenbank ist optional. Um die abgebildete Mutation als eine echte Keimbahnmutation zu kennzeichnen, müsste ein zusätzlicher Test der genomischen DNA durchgeführt werden.

Die Tabelle enthält folgende Informationen:

- Gen-ID
- Transkriptnummer des bei der Analyse eingesetzten Gens
- Änderung der kodierenden DNA erkannt
- Änderung der Aminosäure aufgrund der Änderung der kodierenden DNA
  - Falls die Basenpaar-Änderung in einem aminosäure-verschlüsselnden Nukleotid-Triplett auftritt, das nur zum Teil vom Assay abgedeckt ist, wird die Aminosäure-Änderung mit „<sup>1)</sup>“ markiert. Die Aminosäure-Anmerkung basiert hier auf der Annahme, dass die vom Assay nicht abgedeckten Basen der Referenzsequenz entsprechen.dbSNP-ID, sofern diese in der verwendeten Datenbankversion verfügbar ist (siehe letzte Seite des Berichts)
- ClinVar-ID, sofern diese in der verwendeten Datenbankversion verfügbar ist (siehe letzte Seite des Berichts)
- Mutierte Allelfraktion
- Mutierte Moleküle (MM) pro Mutation, die anhand des berechneten DNA-Gehalts mit dem internen Quantifizierer (Quantispike) in der Probe erkannt werden.

### BEISPIEL:

#### Sequencing Run Quality

Category	Acceptance Range	Value
Sequencer ID	- / -	
Sequencing Kit	- / -	Mid Output Kit v2.5 (150-cycle)
Clusters Passing Filter	≥ 80%	91.8 %
Cluster Density [Clusters / mm <sup>2</sup> ]	NextSeq™ 500/550: ≤ 220k	207.0
Percentage >Q30	≥ 80%	92.3 %

Die Tabelle **Sequencing Run Quality** (Qualität des Sequenzierungslaufs) beinhaltet die Messwerte zur Sequenzierungsqualität/Kriterien zur Laufvalidität, welche der Nutzer im Modul Analysis (Analyse) in die Plasma-SeqSensei™ IVD Software eingetragen hat. Die Akzeptanzgrenzwerte (sofern zutreffend) dieser Kriterien stehen in der Tabelle.

Darin befinden sich folgende Kategorien:

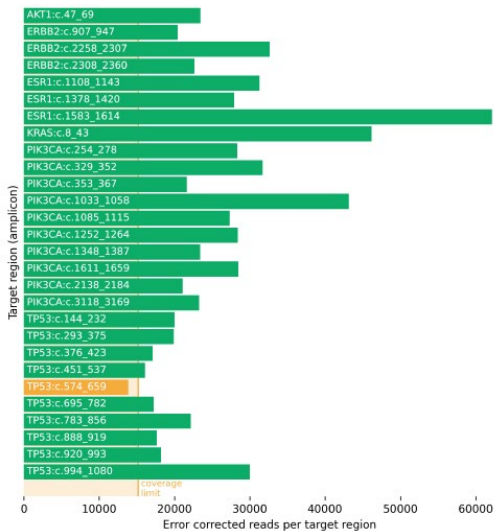
- ID des Sequenzierungsgeräts
- Eingesetztes Sequenzierungskit
- Den Filter passierende Cluster
- Clusterdichte in Cluster/mm<sup>2</sup>
- Prozentanteil > Q30

Falls ein Parameter nicht den Grenzwerten entspricht, so ist der Sequenzierungslauf ungültig und muss wiederholt werden.

## BEISPIEL:

### Sample Validity

#### Sequencing Depth



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

Der zweite Teil des Abschnitts **Sample Validity** (Probenvalidität) umfasst weitere Einzelheiten zur Begründung eines möglichen Scheiterns der Probenanalyse.

Im Abschnitt **Sequencing Depth** (Sequenzierungstiefe) wird die Sequenzierungsabdeckung aller Zielregionen/Amplikone dargestellt, die in dem Plasma-SeqSensei™ IVD Kit analysiert wurden. Grüne Balken stehen für Amplikone mit ausreichender Zielabdeckung und orangefarbene Balken für Amplikone mit einer unzureichenden Zielabdeckung. Die orange markierten Amplikons sind ungültig und der Mutationsstatus dieser Zielregion kann nicht beurteilt werden. Die Abdeckungsgrenze wird im unteren Bereich des Diagramms in Hellorange dargestellt. Zur Berechnung der Abdeckung wird die Einheit „fehlerkorrigierte Reads pro Zielregion“ genutzt.

### BEISPIEL:

Positive Control

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

Die Tabelle **Positive Control** zeigt an, welche Grenzwerte die Positive Control des Assay für gültige Plasma-SeqSensei™ -Läufe erreichen muss. Grüne Häkchen (✓) weisen auf valide Ergebnisse hin und rote Kreuze (✗) auf ungültige Ergebnisse. Hier müssen sich die Werte der Kontrolle und der Probe innerhalb gültiger Bereiche befinden:

- Die Tiefe der Sequenzierungsabdeckung muss bei der Positive Control aller enthaltenen Amplikone mindestens 1 UID-Familie pro GE betragen.
- Die Quantifizierung (in GE) der Positive Control muss sich innerhalb der gezeigten akzeptablen Grenzwerte befinden.
- Pro Mutation, die in die Positive Control eingebunden ist, muss ein Erfassungsgrenzwert von mindestens 10 MM erreicht werden.



**BEISPIEL A:**

No Template Control

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

**BEISPIEL B:**

No Template Control

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

Im Abschnitt **No Template Control** ist zu sehen, ob bei der No Template Control eine mögliche Kontaminierung aufgetreten ist. Grüne Häkchen (✓) weisen auf valide Ergebnisse hin und rote Kreuze (✗) auf ungültige Ergebnisse. Falls das durchschnittliche UID-Ergebnis über 15 liegt, könnten die Proben kontaminiert sein, wodurch der Lauf ungültig wird.

**BEISPIEL:**

Read Overview

Category	Result
Reads imported from sequencer	18,611,038
Reads with sufficient quality and length for error correction	17,612,879
Rate of reads usable for error correction	94.64%
Reads assigned to UID families with sufficient size	17,136,078
Rate of reads assigned to UID families with sufficient size	97.29%
Error corrected reads	812,656

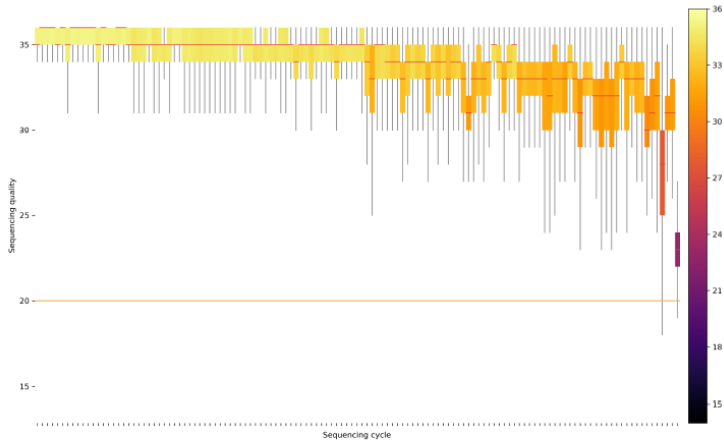
FASTQ reads are imported from the sequencing device. Only reads passing certain quality and length thresholds will be further analysed by the Plasma-SeqSense™ IVD software. Reads are grouped according to their bar-code sequence (UID / UM) and only reads assigned to UID families with sufficient size are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

Weitere Informationen zum Sequenzierungslauf und der Analyse finden Sie im Abschnitt **Sample Metrics** (Probenmesswerte).

Im Abschnitt **Read Overview** (Übersicht des Lesevorgangs) erhalten Sie Informationen zu den verschiedenen Zahlen- und Prozentwerten, die sich aus verschiedenen Reads bei der Datenanalyse ergeben.

### BEISPIEL:

#### 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.

Der Abschnitt **Sequencing Quality** (Sequenzierungsqualität) zeigt ein Plot mit einem Durchschnitt aller QPhred-Qualitätswerte von einer Untergruppe von Reads der spezifischen Probe, entsprechend der Nummer des Sequenzierungszyklus. QPhred-Ergebnisse von über 20 (orangefarbene Linie) sind akzeptabel.

**BEISPIEL:****Analysis Software and Database Information**

Analysed by Plasma-SeqSense™ IVD Software (v1.3.1)

Assay configuration: BreastCancer\_IVD1 v1.0.1

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 2020-12-08 (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/clinvar>)
- Ensembl Database (<https://www.ensembl.org>)

Der letzte Berichtsabschnitt **Analysis Software and Database Information** (Informationen zur Analysesoftware und -datenbank) informiert über die für die Analyse dieser Probe verwendete Software und Datenbank.

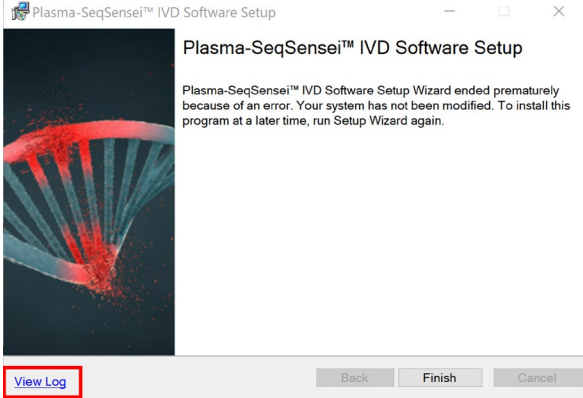
---

Date, Signature

Am Ende des Berichts findet sich ein **Signaturfeld**.

## 8 Fehlerbehebung

Falls bei der Nutzung der Plasma-SeqSensei™ Software Probleme auftreten, konsultieren Sie für weitere Informationen bitte die folgende Tabelle oder wenden Sie sich an Ihren autorisierten Sysmex-Vertreter vor Ort.

Problem	Lösung
<p>Die Software-Installation wird nicht erfolgreich abgeschlossen.</p>	<p>Stellen Sie sicher, dass Sie die Anweisungen zur Installation der Software in Abschnitt 5.1.1 dieses Handbuchs genau befolgt haben. Dies beinhaltet insbesondere den Ort des heruntergeladenen Ordners (lokal) und das Entpacken der .zip-Datei vor der Installation. Nur der oberste Ordner darf entpackt werden, alle Unterordner müssen verpackt bleiben.</p> <p>Falls eine Installation zum zweiten Mal durchgeführt wird, stellen Sie bitte sicher, dass der Ordner C:\Users\Public\Systemx\Inostics\ivd gelöscht wird, falls er bereits vorhanden ist. Falls Sie die Software immer noch nicht erfolgreich installieren können, wenden Sie sich bitte an den Sysmex-Kundendienst und stellen Sie diesem eine Kopie der Installations-Logdatei bereit, auf die Sie hier zugreifen können (roter Kasten):</p> 
<p>Ich kann nicht das gesamte Software-Fenster sehen und kann es nicht schließen.</p>	<p>Sie müssen den Computerbildschirm auf einen Wert von 125 % oder weniger einstellen, um das gesamte Software-Fenster anzuzeigen.</p>
<p>Die ‚Start Analysis‘ Schaltfläche ist nicht vorhanden.</p>	<p>Ändern Sie bitte die Skalierung des Bildschirms auf 125% oder weniger und starten Sie die Plasma-SeqSensei™ Software erneut.</p>

Der Lizenzschlüssel wird bei der Installation der Software nicht angenommen.	Vergewissern Sie sich, dass keine zusätzlichen Leerzeichen zum Lizenzschlüssel oder dem Kundennamen hinzugefügt wurden und prüfen Sie, ob Sie die korrekte Software (RUO oder IVD) heruntergeladen haben oder kontaktieren Sie den Kundendienst von Sysmex.
------------------------------------------------------------------------------	-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Modul „Run Planning“ (Laufplanung)	
Die Artikelnummer oder die Chargenbezeichnung wird nicht angenommen.	Achten Sie darauf, die gesamte Nummer einzugeben: die Großbuchstaben ZR + sechs Ziffern für die Artikelnummer und D + fünf Ziffern für die Chargenbezeichnung.  Es soll nur die Artikelnummer des Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kits eingegeben werden. Die Artikelnummer des Extension IVD Kits soll hier <u>nicht</u> angegeben werden.
Es können keine Assays ausgewählt werden.	Bitte führen Sie eine zweite Installation durch, nachdem Sie den folgenden Ordner gelöscht haben: C:\Users\Public\Systemx\Inostics\ivd. Achten Sie darauf, dass nur der heruntergeladene Ordner entpackt ist, sich im Ordner „Downloads“ befindet und dass alle anderen Unterordner noch gezippt sind. Entpacken Sie keine Unterordner.
Auf der Seite „Plate Summary“ (Plattenzusammenfassung) fehlt eine Probe.	Stellen Sie sicher, dass Sie die korrekte Anzahl an Proben mit Probenbezeichnungen und DNA-Konzentration im Modul „Run Planning“ (Laufplanung) eingegeben haben.
Die Probenbezeichnung wird nicht angenommen.	Die Probenbezeichnung soll folgende Merkmale aufweisen: <ol style="list-style-type: none"> <li>1. einmalig</li> <li>2. nicht länger als 16 Zeichen</li> <li>3. besteht nur aus Ziffern und Buchstaben.</li> </ol>
Die DNA-Menge wird nicht angenommen.	Die DNA-Menge muss innerhalb der für das IVD Kit spezifischen Inputgrenzwerte liegen und als dezimale Trennstelle dient ein Punkt (.).
Das NextSeq™ Sequenzierungsgerät nimmt das Probenblatt nicht an.	Falls eine ältere Version (unter v2.4.0) des Local Run Manager auf dem Sequenzierungsgerät verwendet wird, ist das aktuelle Probenblatt gegebenenfalls nicht kompatibel. Versuchen Sie, die zweite Version des Probenblatts zu verwenden, die Sie auf der Seite „File Export“ (Dateiexport) des Moduls „Run Planning“ (Laufplanung) finden, oder wenden Sie sich an den Kundendienst von Sysmex.

Modul „Data Analysis“ (Datenanalyse)	
Wo kann ich die Qualitätswerte der Sequenzierung finden?	Die Messwerte werden am Ende jedes Laufs auf dem Sequenzierungsgerät angezeigt. Man kann sie auch finden, wenn man den Sequenzierungslauf in die Illumina Sequencing Analysis Viewer (SAV) Software lädt.
Ich kann die FASTQ-Dateien nicht auswählen, wenn ich sie in der Plasma-SeqSensei™ IVD Software betrachte.	Die FASTQ-Dateien werden im Auswahlfenster nicht angezeigt. Sie müssen den Ordner auswählen, in dem sich diese Dateien befinden.
Weshalb werden 4 .fastq.gz-Dateien pro Well angezeigt, wenn ich den LRM auf dem NextSeq™ Gerät verwende?	<p>Wenn Sie während der Sequenzierung auf Ihrem NextSeq™ Gerät den Local Run Manager (LRM) verwenden, dann wird pro Bahn jedes Wells eine Datei erzeugt, was insgesamt 4 Dateien ergibt. Die Plasma-SeqSensei™ IVD Software wird die Dateien zur weiteren Analyse automatisch verknüpfen.</p> <p>Wenn das Plasma-SeqSensei™ Extension IVD Kit verwendet und zwei Platten im selben Sequenzierungslauf sequenziert werden, dann ergeben sich für jedes Well 16 Dateien.</p>
Ich kann das Probenblatt für meinen Lauf nicht finden.	Versuchen Sie, die Suchoption Ihres Computers zu verwenden oder bereiten Sie ein neues Probenblatt mit dem Modul „Run Planning“ (Laufplanung) vor. Achten Sie darauf, dass Sie genau dieselben Bezeichnungen, Konzentrationen und Layouts der Platte eintragen.
Die Flowcell-ID wird nicht angenommen.	Geben Sie die gesamte Flowcell-ID ein, so wie Sie auf der Durchflusszelle, dem Sequenzierungsgerät oder in der Ansicht der Sequenzierungsanalyse angezeigt wird.
Ich kann die Analyse nicht starten, weil Dateien fehlen.	<p>Prüfen Sie, ob sich in Ihrem Analyseordner die richtige Anzahl an FASTQ-Dateien befindet.</p> <p>Während der Demultiplexierung werden FASTQ-Dateien generiert. Die Anzahl der FASTQ-Dateien kann je nach Demultiplexierungs-Pipeline variieren. Falls Sie zur Demultiplexierung bcl2fastq verwenden, gibt es pro Probe normalerweise 5 FASTQ-Dateien (eine Datei pro Well). Alternativ werden 20 FASTQ-Dateien pro Probe generiert (5 Wells pro Probe, 4 Bahnen pro Well). Dies ist der Fall, wenn Sie das Modul „GenerateFASTQ“ des Local Run Managers auf dem NextSeq™ Gerät verwenden.</p> <p>Wenn es sich um einen Lauf mit zwei Plasma-SeqSensei™ Platten gleichzeitig unter Anwendung von LRM handelt, dann werden 80 FASTQ-Dateien pro Probe generiert (5 Wells pro Probe, 4 Bahnen pro Well, 4 Plattenindizes).</p> <p>Das heißt zusammengefasst, dass sich im FASTQ-Inputordner 5, 20 oder 80 FASTQ-Dateien für eine einzige Probe befinden sollten. Überdies erhalten Positive Controls (PC) und No Template Controls (NTC) 1, 4 oder 16 FASTQ-Dateien, welche sich ebenfalls im Analyseordner befinden.</p>

<p>Ich kann die Analyse nicht starten, da zusätzliche Dateien gefunden wurden.</p>	<p>Achten Sie darauf, dass sich die FASTQ-Datei mit dem Namen „Undetermined.fastq.gz“ nicht im Analyseordner befindet.</p>
<p>Meine Analyse dauert ewig.</p>	<p>Die Analyse dauert üblicherweise weniger als 6 Stunden. Falls es zu längeren Analysezeiten kommt, können verschiedene Probleme aufgetreten sein:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Auf dem Gerät ist nicht genug Speicherplatz verfügbar.</li> <li>• Sehr große FASTQ-Dateien aufgrund des Einsatzes eines ungeeigneten Sequenzierungskits, z. B. geringe Anzahl an Proben/DNA-Input bei einem High Output Kit.</li> <li>• Die Plasma-SeqSensei™ IVD Software befindet sich nicht auf demselben Gerät wie die Dateien. Wenn sich die Dateien auf einem Netzlaufwerk befinden, kann der Zugriff darauf begrenzt bzw. langsam sein, falls das Netzlaufwerk auch mit anderen Prozessen beschäftigt ist.</li> <li>• Geringe Qualität der Reads</li> </ul> <p>In diesem Fall sollten Sie entweder den Lauf anhalten, das Problem lösen (z. B. Speicherort der Software) und von vorn anfangen oder Sie sollten das Ende der Analyse abwarten. Falls die Analyse immer noch nicht endet, kontaktieren Sie bitte den technischen Support.</p>

### Modul „Reporting“ (Berichterstattung)

<p>Ich kann meine Berichte nicht exportieren, wenn auf die Symbole oder die Schaltfläche klicke.</p>	<p>Dies deutet auf ein Problem mit der Analyse hin. Möglicherweise wurde sie zu früh abgebrochen. Die Analyse muss wiederholt werden. Stellen Sie sicher, dass Ihre Laufzeitumgebung alle Anforderungen erfüllt, wie sie in ► Kapitel 2.2 <i>Spezifizierung der Laufzeitumgebung</i>, Seite 3/61 angegeben sind.</p>
<p>Einige Amplikons sind ungültig. Was heißt das für meinen Bericht?</p>	<p>Falls über 10 % der Zielregionen nicht die angezielte Sequenziertiefe erreichen, so ist die ganze Probenanalyse ungültig. Falls weniger als 10 % der Zielregionen nicht die angezielte Sequenziertiefe erreichen, sind nur diese Amplikone ungültig und die restlichen Regionen sind gültig.</p>

## 9 Glossar und Begriffe

Begriff	Definition
cfDNA	Zellfreie DNA
ClinVar	Klinische Varianten
COSMIC	Katalog somatischer Mutationen bei Krebs
Prozessor	Zentrale Verarbeitungseinheit
ctDNA	Zirkulierende Tumor-DNA
DNA	Desoxyribonukleinsäure
GB	Gigabyte
GE	Genomäquivalent
ID	Kennung
IFU	Gebrauchsanweisung
IVD	In-vitro-Diagnostik
LRM	Local Run Manager
MAF	Mutierte Allelfraction
MM	Mutierte Moleküle
NGS	Next-Generation-Sequenzierung
NTC	No Template Control
PC	Positive Control
PCR	Polymerase-Kettenreaktion
PF	Passierender Filter
RUO	Nur zu Forschungszwecken
SNP	Einzelnukleotid-Polymorphismus
SNV	Substitutionen von Einzelnukleotidvarianten
UID	Eindeutige Kennung



## 10 Revisionsverlauf

Dokument Version	Datum	Änderungsbeschreibung	Abschnitt
R4	April 2024	<p>Zusatz und Informationen über Updater-Service und neue Schaltfläche im Software-Fenster</p> <p>Informationen über neuen Schritt im Analysemodul</p> <p>Zusätzliche Informationen im Bericht für die Abschnitte</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Validität des Laufs und der Probe</li> <li>• Status der Probenmutation</li> <li>• Detektierte somatische Mutationen</li> <li>• Mögliche Keimbahnmutationen</li> </ul> <p>Löschung des Abschnitts „Ungültige detektierte Mutationen“ aus dem Bericht</p> <p>Löschung von Mutationsinformationen für Proben mit DNA-Input, der über dem zulässigen Bereich liegt</p> <p>Update der Tabelle zur Fehlerbehebung</p>	<p>3.2.1 5.2</p> <p>6.2, Schritt 10</p> <p>7</p> <p>7</p> <p>7</p> <p>8</p>
R3	Dezember 2023	<p>Ergänzung eines Hinweises über die Notwendigkeit einer aktiven Internetverbindung für den Automatischen Update Prozess</p> <p>Update der Fehlerbehebungstabelle</p>	<p>3.2</p> <p>8</p>
R2	November 2022	<p>Informationen zu automatischen Updates</p> <p>Update der Website-Adresse für den Download</p> <p>Ergänzung von Symbolen</p> <p>Update der Benutzeroberfläche</p> <p>Reihenfolge der ersten Schritte der „Run Planning“ (Laufplanung) geändert</p> <p>Update der Screenshots und der Anzeigereihenfolge für gültige somatische Mutationen, mögliche Keimbahnmutationen und ungültige Mutationen im Bericht</p> <p>Update der Tabelle zur Fehlerbehebung</p> <p>Erweiterung von Glossar und Begriffstabelle</p>	<p>3.2.1</p> <p>5.1</p> <p>5.2</p> <p>5.3</p> <p>6.1, Schritt 2</p> <p>7</p> <p>8</p> <p>9</p>

## 10 Revisionsverlauf

---

Dokument Version	Datum	Änderungsbeschreibung	Abschnitt
		Erweiterung der Tabelle des Revisionsverlaufs	10
R1	Juli 2022	Erste Version	n. z.

# 11 Anhang 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.





April 2024  
PSSSWIFU.R4

Systemx Inostics GmbH  
Falkenried 88  
20251 Hamburg, Deutschland  
[www.systemx-inostics.com](http://www.systemx-inostics.com)

© 2024 Systemx Inostics  
Alle Rechte vorbehalten.

