



# Plasma-SeqSensei™

## Software IVD

Instruções de utilização

Abril de 2024

Versão do Documento: PSSSWIFU.R4  
Versão do Software: 1.3.1 e seguintes

pt



# Índice

<b>1</b>	<b>Utilização prevista</b> .....	<b>2</b>
<b>2</b>	<b>Introdução</b> .....	<b>3</b>
2.1	<b>Conceito do produto</b> .....	3
2.2	<b>Especificações do ambiente de execução</b> .....	3
2.3	<b>Marcas comerciais</b> .....	4
2.4	<b>Licenças</b> .....	4
2.4.1	Licença de utilizador final .....	4
2.4.2	Licença COSMIC (Qiagen).....	4
2.4.3	GNU .....	4
2.5	<b>Proteção de dados pessoais</b> .....	4
<b>3</b>	<b>Avisos e precauções</b> .....	<b>5</b>
3.1	<b>Operadores</b> .....	5
3.2	<b>Garantia de produto do Plasma-SeqSensei™ IVD Software</b> .....	5
3.2.1	Manutenção do Plasma-SeqSensei™ IVD Software .....	6
3.2.2	Sistema operativo Microsoft .....	7
3.2.3	Limitações do sistema.....	7
3.2.4	Limitações de responsabilidade .....	7
3.3	<b>Vírus informáticos</b> .....	8
3.4	<b>Ambiente operacional</b> .....	8
<b>4</b>	<b>Especificações para o dispositivo de sequenciação</b> .....	<b>9</b>
4.1	<b>Aquisição de dados</b> .....	9
<b>5</b>	<b>Passos iniciais e esquema da janela do programa</b> .....	<b>11</b>
5.1	<b>Passos iniciais</b> .....	11
5.1.1	Transferência e instalação do software .....	11
5.1.2	Adquirir uma chave de licença .....	12
5.1.3	Iniciar o programa .....	12
5.1.4	Fechar o programa.....	12
5.2	<b>Vista geral de ícones e funções</b> .....	12
5.3	<b>Vista geral da interface de utilizador</b> .....	15
5.3.1	Módulo Run Planning (Planeamento da série) .....	15
5.3.2	Módulo Data Analysis (Análise de dados) .....	17
5.3.3	Módulo Reporting (Relatórios) .....	18
<b>6</b>	<b>Módulos do Plasma-SeqSensei™ IVD Software</b> .....	<b>20</b>
6.1	<b>Módulo Run Planning (Planeamento da série)</b> .....	20
6.2	<b>Módulo Data Analysis (Análise de dados)</b> .....	29
6.3	<b>Módulo Reporting (Relatórios)</b> .....	33
<b>7</b>	<b>Relatórios</b> .....	<b>37</b>
<b>8</b>	<b>Resolução de problemas</b> .....	<b>48</b>
<b>9</b>	<b>Glossário e terminologia</b> .....	<b>52</b>
<b>10</b>	<b>Histórico de revisões</b> .....	<b>53</b>
<b>11</b>	<b>Anexo A</b> .....	<b>54</b>

### 1 Utilização prevista

O Plasma-SeqSensei™ IVD Software destina-se a analisar os resultados de sequenciação do Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kit da Sysmex Inostics (dados de sequenciação de nova geração (NGS)) para controlo da validade e a detetar e comunicar de mutações nas regiões-alvo dos ensaios.

O software pode detetar substituições de variantes de nucleótido único (SNVs), alterações de inserção e deleção, bem como mutações de inserção-deleção (delins), conforme especificado no respetivo Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD assay.

O software destina-se a ser utilizado com um Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kit específico para apoiar o médico na determinação do potencial benefício da terapêutica em doentes com cancro. As informações geradas pelo software nunca devem ser o único fator determinante para a tomada de decisões médicas. Devem ser complementadas com outros resultados clínicos e com o historial do doente.

O software deve ser utilizado por pessoal qualificado num ambiente de laboratório profissional.

**Importante:** *O software só pode ser utilizado com e de acordo com as IDU do Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kit da Sysmex Inostics e não com outros tipos de produtos ou testes desenvolvidos em laboratório.*

## 2 Introdução

Estas Instruções de utilização (IDU) descrevem a utilização do Plasma-SeqSensei™ IVD Software para a análise dos Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kits da Sysmex Inostics.

Leia atentamente este manual antes de utilizar o software. Guarde este manual num local seguro e acessível para referência futura.

Embora tenhamos tomado várias precauções para garantir a qualidade do conteúdo deste manual, contacte o departamento de assistência técnica do seu representante local autorizado da Sysmex se encontrar erros ou omissões.

É proibida a modificação, tradução, engenharia inversa, descompilação e desmontagem deste manual e do software. É proibida a criação de trabalhos derivados baseados neste manual ou no software. É proibida a cópia deste manual ou do software para outros fins que não uma cópia de segurança baseada no contrato de licença.

Para mais informações, contacte o seu representante local autorizado da Sysmex.

### 2.1 Conceito do produto

O Plasma-SeqSensei™ IVD Software permite ao utilizador planear e analisar séries de sequenciação do Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kit e gerar relatórios para as amostras analisadas.

### 2.2 Especificações do ambiente de execução

Sistemas operativos:	Windows® 10 (64 bits)
CPU:	CPU recente (Intel® Core™ i5/7 ou AMD Ryzen™)
RAM:	16 GB
Armazenamento:	10 GB de espaço livre em disco
Resolução do ecrã:	≥ 1440 x 810 pixéis

### 2.3 Marcas comerciais

- Os nomes das empresas e dos produtos apresentados nestas IDU são marcas comerciais registadas ou marcas comerciais dos respetivos proprietários.
- O facto de uma marca comercial não estar expressamente indicada nas presentes IDU não autoriza a sua utilização.
- ™ e ® não são expressamente indicadas nestas IDU.

### 2.4 Licenças

#### 2.4.1 Licença de utilizador final

O utilizador do Plasma-SeqSensei™ IVD Software tem de aceitar o contrato de licença com a Sysmex Inostics GmbH antes de proceder à respetiva instalação. Para obter o texto completo dos *Termos e Condições Gerais para Licenças de Software da Sysmex Inostics GmbH* consulte o ► 11 Anexo A, página 54/57.

#### 2.4.2 Licença COSMIC (Qiagen)

A utilização do COSMIC Dynamic Software Tool Large Enterprise do Plasma-SeqSensei™ IVD Software está abrangida por um contrato de licença com a Qiagen K. K.

#### 2.4.3 GNU

A política de licença pública geral do GNU ([www.gnu.org/licenses](http://www.gnu.org/licenses)) aplica-se a algumas partes deste software. Contacte a filial ou o escritório de vendas mais próximo se pretender obter o código fonte ou informações detalhadas sobre as partes do software sujeitas à política de licença pública geral GNU. Na parte do software que está fora do âmbito da licença pública geral GNU, não é permitido aceder ao código fonte, efetuar engenharia inversa, compilação inversa ou tentar desmontar o software.

### 2.5 Proteção de dados pessoais

Na medida em que os dados pessoais são tratados, o utilizador deve cumprir as disposições legais relativas à proteção de dados.

## 3 Avisos e precauções

As informações geradas com este produto nunca devem ser o único fator determinante para a tomada de decisões médicas. Devem ser complementadas com outros resultados clínicos e com o historial do doente.

**Importante:** *O software só pode ser utilizado com e de acordo com as IDU do Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kit da Sysmex Inostics e não com outros tipos de produtos ou testes desenvolvidos em laboratório.*

Qualquer utilização fora da utilização prevista especificada é considerada como uma utilização não conforme.

A Sysmex declina qualquer responsabilidade por danos ou perdas que resultem de uma utilização não conforme.

### 3.1 Operadores

O Plasma-SeqSensei™ IVD Software só pode ser utilizado por pessoal qualificado num ambiente de laboratório profissional.

Em caso de avaria, consulte as IDU. Para obter mais assistência, contacte o seu representante local autorizado da Sysmex.

### 3.2 Garantia de produto do Plasma-SeqSensei™ IVD Software

Para assegurar um desempenho ideal do Plasma-SeqSensei™ IVD Software, é necessário efetuar uma manutenção regular do Plasma-SeqSensei™ IVD Software e do sistema operativo Microsoft Windows®. Os capítulos seguintes explicam as tarefas necessárias.

**Nota:** *Para o processo de instalação e atualização do Plasma-SeqSensei™ IVD Software, são necessários direitos de administrador local no dispositivo.*

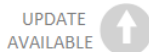
**Importante:** *É obrigatório ter uma ligação ativa à Internet para receber notificações de atualização no software.*

### 3.2.1 Manutenção do Plasma-SeqSensei™ IVD Software

O serviço de atualização do Plasma-SeqSensei™ IVD Software verifica, aquando do início do software, se está disponível uma ligação à Internet ativa e uma ligação ao servidor de atualização. Se não for possível estabelecer esta ligação, será apresentado um botão com uma cruz vermelha no canto inferior direito do ecrã da aplicação. Ao clicar no botão, solicita uma verificação das definições de ligação à Internet e firewall, para garantir a execução correta do serviço de atualização do software.



Quando o serviço de atualização está ligado corretamente, o Plasma-SeqSensei™ IVD Software emite uma notificação se estiver disponível uma nova atualização do Plasma-SeqSensei™ IVD Software para transferência. Se for necessário instalar uma nova versão do Plasma-SeqSensei™ IVD Software, pode iniciar o processo no arranque do software ou utilizar o botão [update available] (atualização disponível) no ecrã da aplicação na altura que preferir. São necessários direitos de administrador para este passo.



No caso de uma atualização de ensaios Plasma-SeqSensei™ IVD existentes, apenas será apresentado o botão [update available] (atualização disponível) no ecrã da aplicação para iniciar o processo de atualização. Utilize sempre a versão mais recente do Plasma-SeqSensei™ IVD Software e do ensaio disponível, se possível. Depois de instalar a versão mais recente do software, não será possível restaurar uma versão anterior.

Quando estiverem disponíveis novos ensaios Plasma-SeqSensei™ IVD, o software avisa apresentando um botão [new assay available] (novo ensaio disponível) no ecrã da aplicação.



Uma nota de lançamento com detalhes sobre a nova versão do Plasma-SeqSensei™ IVD Software estará disponível para transferência em <https://sysmex-inostics.com/products/kit-specs/> ou através do botão para o manual do utilizador que se encontra na parte inferior do ecrã da aplicação.





### 3.2.2 Sistema operativo Microsoft

A instalação, as atualizações e a segurança do sistema operativo Microsoft são da responsabilidade do utilizador. Recomenda-se que o serviço de atualização seja ativado regularmente. Tenha em atenção que as atualizações automáticas por reinício do sistema operativo Windows® após a instalação podem interromper uma análise de dados Plasma-SeqSensei™ em curso. Recomenda-se a desativação dos reinícios automáticos ou a configuração das «horas ativas do sistema» na definição de atualização do Windows® em conformidade.

### 3.2.3 Limitações do sistema

Tipos de ficheiros de entrada	.fastq.gz
Dispositivos de sequenciação a utilizar	Illumina NextSeq500/550
Número mínimo de amostras a testar por série	2
Número máximo de amostras a testar por série	16 (kit padrão) ou 32 (com kit de extensão)
Número máximo de placas a testar por série	1 (kit padrão) ou 2 (com kit de extensão)
Número de controlos a executar por placa e por série	2 (controlo positivo [PC] e No Template Control [NTC])
Número de ensaios a agregar por série de sequenciação	Nenhum  <b>Nota:</b> <i>Trata-se de um tipo de teste único, não sendo possível agregar outros ensaios ao mesmo tempo no dispositivo de sequenciação.</i>

### 3.2.4 Limitações de responsabilidade

A Sysmex não se responsabiliza por quaisquer falhas do Plasma-SeqSensei™ IVD Software resultantes da:

- não observância dos procedimentos de manutenção acima descritos,
- utilização do sistema para além das limitações do sistema.

### 3.3 Vírus informáticos

Verificou-se que o produto disponível para transferência em [www.sysmex-inostics.com](http://www.sysmex-inostics.com) está livre de vírus informáticos.

### 3.4 Ambiente operacional

Para um desempenho ótimo, o Plasma-SeqSensei™ IVD Software deve ser instalado no mesmo computador em que os dados de sequenciação estão armazenados. No caso de uma ligação via rede, os tempos de análise podem aumentar, dependendo da velocidade de carregamento/transferência da ligação de rede, ou a análise pode bloquear completamente.

Espera-se que a rede seja gerida sob a total responsabilidade da organização do operador, proporcionando uma segurança de rede eficaz que garanta a segurança dos seus ativos. As características de segurança recomendadas incluem, entre outras, autorização de acesso à rede, acesso restrito à Internet, implementação de tecnologias de hardware/software que impeçam a entrada de vírus/malware.

## 4 Especificações para o dispositivo de sequenciação

O Plasma-SeqSensei™ Software foi desenvolvido para a análise de dados de sequenciação não processados (fornecidos como ficheiros .fastq.gz) obtidos a partir da utilização de diferentes dispositivos de sequenciação Illumina. Apenas os dispositivos Illumina NextSeq™500 e Illumina NextSeq™550 devem ser utilizados em conjunto com o Plasma-SeqSensei™ IVD Software.

O seguinte software de controlo foi utilizado durante o desenvolvimento dos Plasma-SeqSensei™ IVD Kits. Quando utilizar uma versão posterior do software de controlo, verifique a respetiva funcionalidade antes de iniciar a série de sequenciação. Além disso, verifique a funcionalidade da ficha de amostras gerada pelo Plasma-SeqSensei™ IVD Software em combinação com a versão mais recente do software de controlo da Illumina.

Nome do software	Fabricante/fornecedor
NextSeq™ Control Software v4.0.1.41	Illumina, Inc.
NextSeq™ Local Run Manager Software v2.4.0	Illumina, Inc.

### 4.1 Aquisição de dados

Dependendo da configuração do processamento a jusante, podem ser seguidos diferentes caminhos para a aquisição de dados. Todos estes caminhos se baseiam na configuração da ficha de amostras realizada no passo de planeamento da série de sequenciação.

O dispositivo de sequenciação NextSeq™ pode ser executado utilizando dois caminhos diferentes.

1. O Local Run Manager (LRM) do dispositivo NextSeq™ é o caminho recomendado. O LRM pode ser utilizado para gerar ficheiros FASTQ diretamente através do sequenciador, selecionando a opção «GenerateFASTQ Module» nas definições. Aqui, o software efetua a desmultiplexagem e o corte do adaptador utilizando a ficha de amostras fornecida e as definições do adaptador. Os ficheiros FASTQ produzidos (.fastq.gz) têm de ser disponibilizados ao PC que executa o Plasma-SeqSensei™ IVD Software.

**Importante:** Quando utilizar o LRM, o «Adapter» (Adaptador) com a respetiva sequência (que se encontra na ficha de amostras, consulte um exemplo de uma ficha de amostras no ► capítulo 6.1 Módulo Run Planning (Planeamento da série), passo 7.c página 26/57) tem de ser adicionado às «Advanced Module Settings» (Definições avançadas do módulo) para que seja efetuado o corte correto do adaptador.

2. Durante a configuração manual, o dispositivo NextSeq™ grava as informações de sequenciação numa pasta da série no formato de chamada de base binária (ficheiros .bcl) e não realiza a desmultiplexagem ou o corte do adaptador. A desmultiplexagem e o corte do adaptador são realizados manualmente pelo cliente após a sequenciação, utilizando o software bcl2fastq fornecido pela Illumina, juntamente com uma ficha de amostras compatível com bcl2fastq, que pode ser gerada durante o planeamento da série. Os ficheiros FASTQ resultantes (.fastq.gz) têm de ser disponibilizados à máquina de análise em que o Plasma-SeqSensei™ IVD Software está a ser executado.

## 5 Passos iniciais e esquema da janela do programa

### 5.1 Passos iniciais

- A escala do ecrã do computador tem de ser definida para 100 % (se a resolução do ecrã for de 1440 x 810 pixéis). Será apresentada uma mensagem de aviso se a resolução ou a escala do ecrã estiver fora do intervalo admissível. O software encaminha automaticamente para as definições de visualização, se necessário.
- Transfira o programa em: <https://sysmex-inostics.com/products/kit-specs/>.
- Adquira uma chave de licença da Sysmex Inostics GmbH antes de proceder à instalação do programa.
- São necessários direitos de administrador no computador.

#### 5.1.1 Transferência e instalação do software

O Plasma-SeqSensei™ IVD Software pode ser transferido a partir de <https://sysmex-inostics.com/products/kit-specs/> como um ficheiro.zip compactado.

Transfira este ficheiro para a pasta de transferências do Windows® 10, clique com o botão direito do rato no ficheiro e, em seguida, selecione «Extract All...» (Extrair tudo). Na janela seguinte, clique em «Extract» (Extrair). A pasta com os ficheiros extraídos é automaticamente aberta. Para iniciar o processo de instalação, faça duplo clique no ficheiro «Plasma-SeqSensei™ IVD Software» (não extraia os ficheiros zip do ensaio que também se encontram nesta pasta). Siga as instruções de instalação apresentadas no ecrã. Aceite o contrato de licença e introduza a chave de licença quando lhe for solicitada.

Durante o processo de instalação, são necessários direitos de administrador para concluir a instalação do software.

O software tem de ser instalado localmente no disco rígido do dispositivo. Não execute o ficheiro .msi (ficheiro de instalação do Windows®) numa unidade de rede.

### 5.1.2 Adquirir uma chave de licença



Após a compra dos Plasma-SeqSensei™ IVD Kits, a Sysmex Inostics GmbH fornecerá uma chave de licença por cliente.

### 5.1.3 Iniciar o programa





Faça duplo clique no ícone Plasma-SeqSensei™ IVD no ambiente de trabalho:















### 5.1.4 Fechar o programa

1. Para fechar o programa, clique no X (  ) que se encontra no canto superior direito da janela do software ou no X no círculo cinzento (  ) no canto inferior esquerdo da janela do software.
2. Será apresentada uma janela para confirmar se pretende, efetivamente, fechar o programa.
3. Clique em [Yes] (Sim) para sair ou em [No] (Não) para retomar a sessão no Plasma-SeqSensei™ IVD Software.





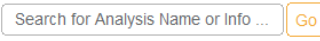

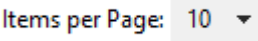




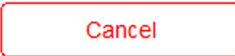

## 5.2 Vista geral de ícones e funções

Ícone	Função
	Voltar ao ecrã inicial
	Sair do software
	Não está disponível uma ligação ativa ao servidor de atualizações
	Ligação para informações técnicas e IDU do Plasma-SeqSensei™ IVD Kit e Software

## 5 Passos iniciais e esquema da janela do programa

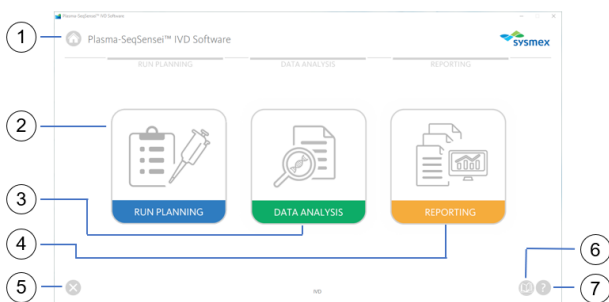
Ícone	Função
	Informações de software/software de código aberto
UPDATE AVAILABLE 	Está disponível uma atualização para o Plasma-SeqSensei™ IVD Software
NEW ASSAY AVAILABLE 	Novo Plasma-SeqSensei™ IVD assay disponível
	Os separadores de seleção de módulos estão sempre visíveis para poder alternar entre módulos.
	Módulo Run Planning (Planeamento da série)
	Módulo Data Analysis (Análise de dados)
	Módulo Reporting (Relatórios)
	Elimina todas as entradas na página atual do módulo Run Planning (Planeamento da série).
	Ir para a página anterior do módulo Run Planning (Planeamento da série).
	Ir para a página seguinte do módulo Run Planning (Planeamento da série).
	Eliminar uma amostra no módulo Run Planning (Planeamento da série).
	Exportar um ficheiro específico no módulo Run Planning (Planeamento da série).

## 5 Passos iniciais e esquema da janela do programa

Ícone	Função
	Navegar para a pasta/os ficheiros pretendidos no módulo Data Analysis (Análise de dados).
	Iniciar uma análise de dados.
	Recarregar a página para incluir os dados mais recentes no módulo Reporting (Relatórios).
	Voltar à vista geral no módulo Reporting (Relatórios).
	Pesquisar resultados de análises no módulo Reporting (Relatórios).
	Avançar para páginas diferentes dos resultados de análises no módulo Reporting (Relatórios).
	Alterar o número de itens visíveis por página (5 a 50) no módulo Reporting (Relatórios).
	Exportar todos os relatórios pdf da série selecionada.
	Transferir o ficheiro bam da amostra selecionada.
	Transferir o ficheiro vcf da amostra selecionada.
	Transferir o ficheiro/relatório pdf da amostra selecionada.
	Parar e cancelar o processo de análise no módulo Data Analysis (Análise de dados).
	Eliminar dados de uma série específica no módulo Reporting (Relatórios).



### 5.3 Vista geral da interface de utilizador

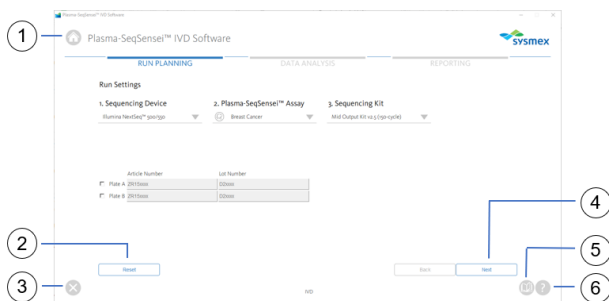


- ① Voltar ao ecrã inicial
- ② Módulo Run Planning (Planeamento da série)
- ③ Módulo Data Analysis (Análise de dados)
- ④ Módulo Reporting (Relatórios)
- ⑤ Sair do software
- ⑥ Manual do utilizador
- ⑦ Informações de software

#### 5.3.1 Módulo Run Planning (Planeamento da série)

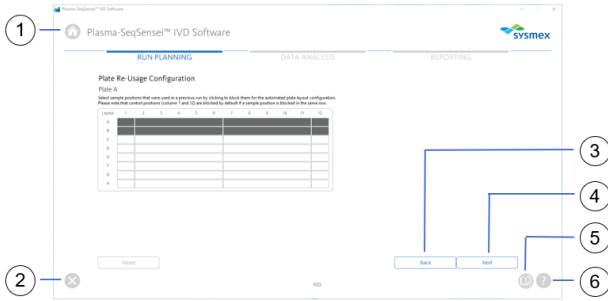


- ① Voltar ao ecrã inicial
- ② Sair do software
- ③ Manual do utilizador
- ④ Informações de software

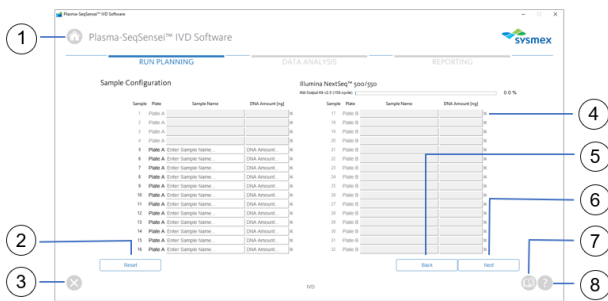


- ① Voltar ao ecrã inicial
- ② Repor entrada
- ③ Sair do software
- ④ Página seguinte
- ⑤ Manual do utilizador
- ⑥ Informações de software

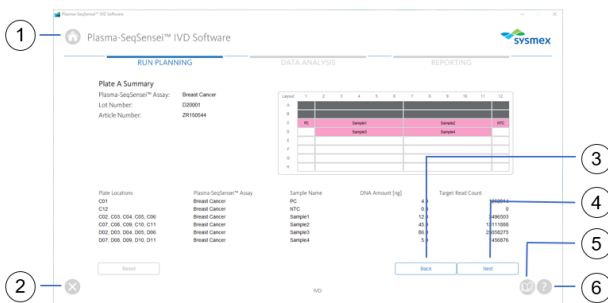
# 5 Passos iniciais e esquema da janela do programa



- ① Voltar ao ecrã inicial
- ② Sair do software
- ③ Página anterior
- ④ Página seguinte
- ⑤ Manual do utilizador
- ⑥ Informações de software

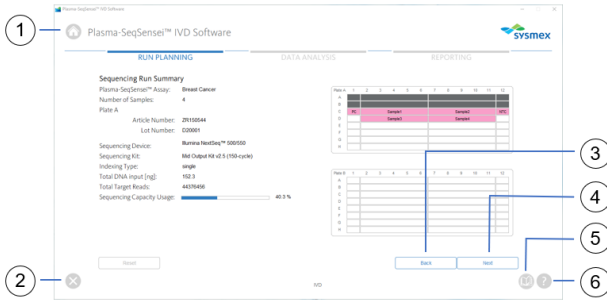


- ① Voltar ao ecrã inicial
- ② Repor entrada
- ③ Sair do software
- ④ Eliminar amostra
- ⑤ Página anterior
- ⑥ Página seguinte
- ⑦ Manual do utilizador
- ⑧ Informações de software

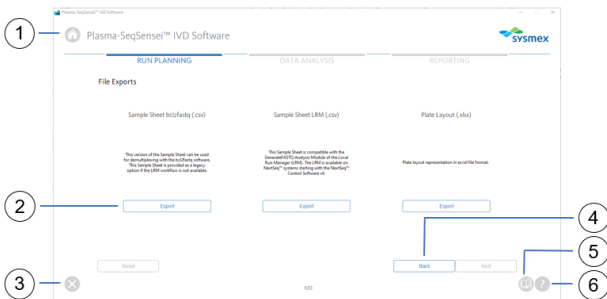


- ① Voltar ao ecrã inicial
- ② Sair do software
- ③ Página anterior
- ④ Página seguinte
- ⑤ Manual do utilizador
- ⑥ Informações de software

## 5 Passos iniciais e esquema da janela do programa

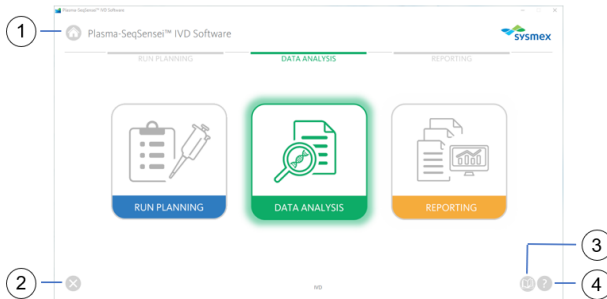


- ① Voltar ao ecrã inicial
- ② Sair do software
- ③ Página anterior
- ④ Página seguinte
- ⑤ Manual do utilizador
- ⑥ Informações de software



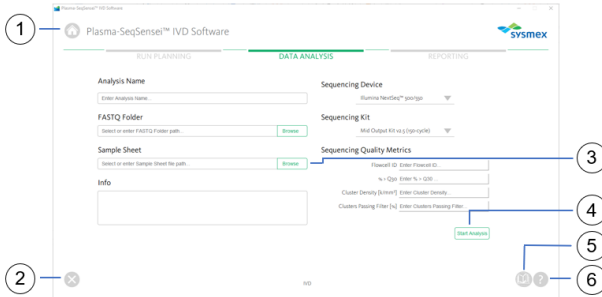
- ① Voltar ao ecrã inicial
- ② Exportar ficheiros
- ③ Sair do software
- ④ Página anterior
- ⑤ Manual do utilizador
- ⑥ Informações de software

### 5.3.2 Módulo Data Analysis (Análise de dados)

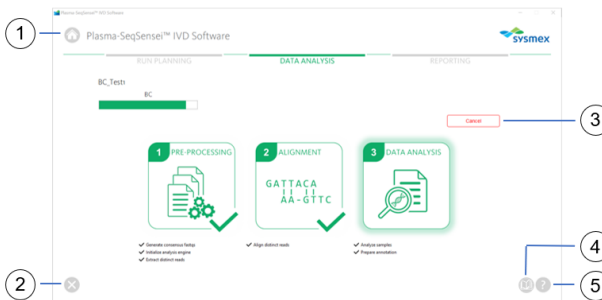


- ① Voltar ao ecrã inicial
- ② Sair do software
- ③ Manual do utilizador
- ④ Informações de software

## 5 Passos iniciais e esquema da janela do programa

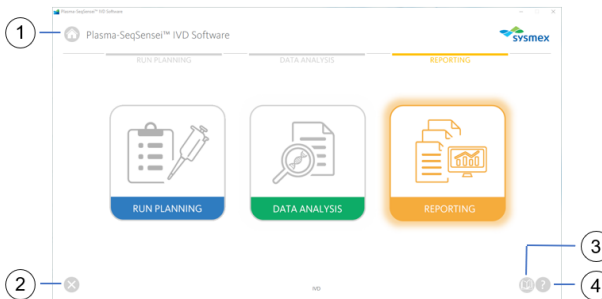


- ① Voltar ao ecrã inicial
- ② Sair do software
- ③ Procurar ficheiros/pastas
- ④ Iniciar análise
- ⑤ Manual do utilizador
- ⑥ Informações de software



- ① Voltar ao ecrã inicial
- ② Sair do software
- ③ Cancelar análise
- ④ Manual do utilizador
- ⑤ Informações de software

### 5.3.3 Módulo Reporting (Relatórios)



- ① Voltar ao ecrã inicial
- ② Sair do software
- ③ Manual do utilizador
- ④ Informações de software

## 5 Passos iniciais e esquema da janela do programa

1 Voltar ao ecrã inicial

2 Atualizar/recarregar tabela

3 Sair do software

4 Campo de entrada para pesquisar resultados de análises

5 Página anterior/seguinte

6 Ajustar número de itens visíveis por página

7 Manual do utilizador

8 Informações de software

1 Voltar ao ecrã inicial

2 Exportar todos os relatórios pdf

3 Voltar à vista geral do módulo Reporting (Relatórios)

4 Sair do software

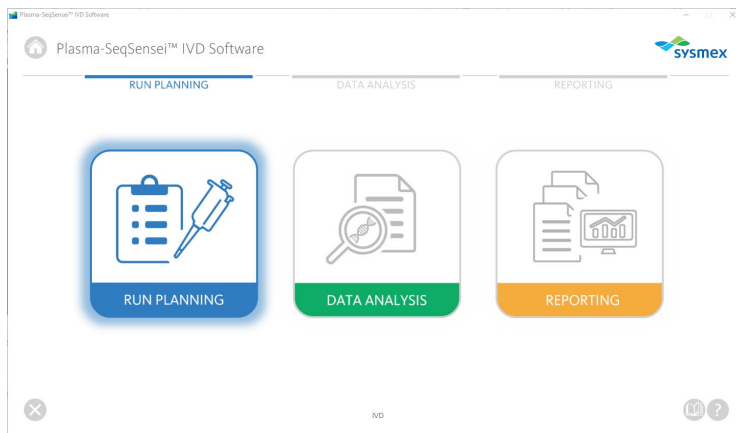
5 Eliminar resultados

6 Manual do utilizador

7 Informações de software

# 6 Módulos do Plasma-SeqSensei™ IVD Software

## 6.1 Módulo Run Planning (Planeamento da série)



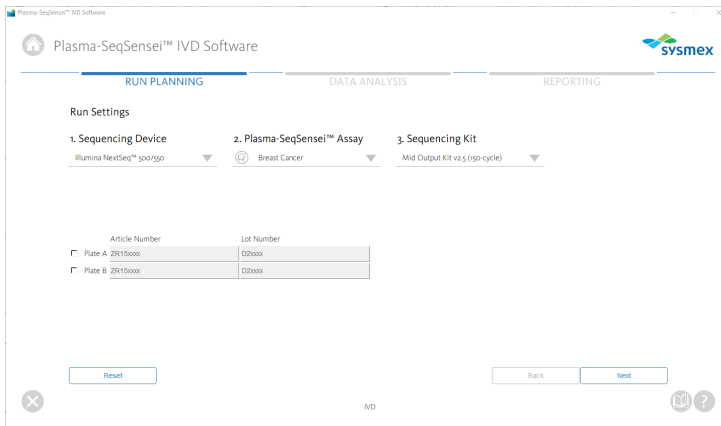
O módulo Run Planning (Planeamento da série) (azul) é utilizado para planear a série de sequenciação e inclui:

- Tipo de ensaio
- Dispositivo de sequenciação
- Utilização do kit de sequenciação
- Tipo de placa (A e/ou B)
- Número de amostras
- Nome das amostras
- Concentração das amostras
- Localização das amostras na placa
- Geração da ficha de amostras
- Esquema da placa

Utilize a ficha de amostras para permitir a desmultiplexagem subsequente e o corte de dados do adaptador nas diferentes configurações possíveis. A desmultiplexagem e o corte do adaptador não fazem parte do software de análise fornecido aqui (consulte o ► capítulo 4.1 *Aquisição de dados*, página 9/57).

É necessário efetuar o planejamento da série após a quantificação Qubit™ das amostras de cfDNA e antes de iniciar a UID PCR.

**Nota:** A medição Qubit de amostras representa uma estimativa aproximada do teor de ADN de entrada para determinar a carga da amostra. A quantificação final (e, possivelmente, diferente) das amostras será efetuada durante a sequenciação da biblioteca com o quantificador interno (Quantispike).



1. Clique no módulo Run Planning (Planeamento da série) (azul).
2. Selecione as definições da série.
  - a. Selecione um dispositivo de sequenciação.
  - b. Selecione o Plasma-SeqSensei™ Assay que pretende utilizar.
  - c. Selecione o kit de sequenciação que pretende utilizar.
  - d. Selecione a placa que pretende utilizar (A e/ou B) e preencha o número de artigo (formato ZR15xxxx) e o número de lote (formato D2xxxx) do Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific Kit que pretende utilizar.

**Nota:** Se forem processadas mais de 16 amostras numa série (máximo de 32 amostras), são necessários dois Plasma-SeqSensei™ IVD Kits e o Plasma-SeqSensei™ Extension IVD Kit com a placa B.

**Importante:** Não utilize o mesmo tipo de placa duas vezes para a mesma série!

- e. Em caso de erro, pode eliminar todas as entradas clicando no botão [Reset] (Repor) na parte inferior esquerda da página.
  - f. Será apresentada uma janela a solicitar a confirmação da reposição da página.
3. Clique em [Next] (Seguinte). Será apresentada uma janela a perguntar se a placa marcada já foi utilizada anteriormente.



- a. Selecione [Yes] (Sim) ou [No] (Não).
- b. Se selecionar [Yes] (Sim), será apresentado um novo ecrã, onde pode marcar as posições da placa de séries anteriores, para evitar a utilização repetida de poços vazios da Plasma-SeqSensei™ Index Primer Plate. Estes poços não estarão disponíveis para seleção noutros passos de planeamento desta série.

**Nota:** Os poços da coluna 1 (controlo positivo) e coluna 12 (no template control) serão selecionados automaticamente.

### 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. Clique em [Next] (Seguinte) para continuar para a página seguinte ou em [Back] (Anterior) para retroceder uma página para alterar a entrada.



4. Na tabela de configuração de amostras, preencha o nome e a concentração das amostras.

**Nota:** Os nomes das amostras e as concentrações podem ser facilmente inseridos utilizando copiar/colar em duas colunas de uma folha de Excel.

- a. Introduza nomes de amostras únicos (mínimo de 2 amostras) sem utilizar caracteres especiais; só são permitidos caracteres alfanuméricos. O software efetua uma verificação de conformidade.

**Nota:** As amostras são automaticamente ordenadas pelo software para a localização do poço vazio mais elevado da placa individual quando se navega para a página seguinte.

- b. Introduza a concentração das amostras em ng/116 µl de eluato por amostra (incluindo «ponto» como separador decimal, p. ex. 8,5 ng). A entrada da amostra deve estar dentro dos intervalos de entrada específicos do ensaio. O software efetua uma verificação de conformidade ao navegar para a página seguinte.

Sample Configuration Illumina NextSeq™ 500/550  
480 Output (2 x 155 cycles) 80.5 %

Sample	Plate	Sample Name	DNX Amount (ng)	Sample	Plate	Sample Name	DNX Amount (ng)
1	Plate A			17	Plate B		
2	Plate A			18	Plate B		
3	Plate A			19	Plate B		
4	Plate A			20	Plate B		
5	Plate A	Sample1	44	21	Plate B		
6	Plate A	Sample2	4.5	22	Plate B		
7	Plate A	Sample3	79.9	23	Plate B		
8	Plate A	Sample4	80	24	Plate B		
9	Plate A	Sample5	79.2	25	Plate B		
10	Plate A	Sample6	12	26	Plate B		
11	Plate A	Sample7	48.3	27	Plate B		
12	Plate A	Enter Sample Name	DNX Amount	28	Plate B		
13	Plate A	Enter Sample Name	DNX Amount	29	Plate B		
14	Plate A	Enter Sample Name	DNX Amount	30	Plate B		
15	Plate A	Enter Sample Name	DNX Amount	31	Plate B		
16	Plate A	Enter Sample Name	DNX Amount	32	Plate B		

- c. Pode eliminar nomes de amostras, incluindo concentrações, clicando no «X» no fim da linha ou repor todas as entradas, clicando no botão [Reset] (Repor) no canto inferior esquerdo da janela.

- i. Será apresentada uma janela a confirmar a necessidade de eliminar a amostra selecionada ou a página inteira.
- ii. Depois de selecionar [OK] ou [Yes] (Sim), pode adicionar um novo nome de amostra e concentração.

- d. No canto superior direito, é indicada a capacidade de leitura do kit de sequenciação selecionado (as barras azuis e verdes estão dentro dos intervalos admissíveis, uma barra cinzenta indica uma sobrecarga do kit de sequenciação selecionado).



- e. Clique em [Next] (Seguinte) para continuar para a página seguinte ou em [Back] (Anterior) para retroceder uma página para alterar a entrada.
5. Reveja a entrada, verificando cuidadosamente o resumo específico da placa.

Plasma-SeqSensei™ IVD Software

Plasma-SeqSensei™ IVD Software

sysmex

RUN PLANNING DATA ANALYSIS REPORTING

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

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

Plate Locations	Plasma-SeqSensei™ Assay	Sample Name	DNA Amount [ng]	Target Read Count
C01	Breast Cancer	PC	4.3	1252914
C12	Breast Cancer	NTC	0.0	0
D02, D03, D04, D05, D06	Breast Cancer	Sample1	40.0	11625012
D07, D08, D09, C10, C11	Breast Cancer	Sample2	40.3	11742424
D02, D03, D04, D05, D06	Breast Cancer	Sample3	50.0	14566765
D07, D08, D09, D10, D11	Breast Cancer	Sample4	80.0	23310023

Reset Back Next

IVD

- a. São apresentados o ensaio Plasma-SeqSensei™, o número de lote e o número de artigo.
- b. Os poços que devem ser utilizados para a execução são realçados com os nomes das amostras e também são incluídos o controlo positivo (PC) e o No Template Control (NTC).

- c. Os poços utilizados anteriormente estão assinalados a cinzento escuro.
  - d. A localização da placa, o ensaio Plasma-SeqSensei™, o nome da amostra, a concentração da amostra em ng e as contagens de leitura alvo são indicados numa lista na metade inferior do ecrã.
  - e. Clique em [Next] (Seguinte) para continuar para a página seguinte ou em [Back] (Anterior) para retroceder uma página para alterar a entrada.
6. Reveja a entrada, verificando o resumo da série de sequenciação que especifica os seguintes parâmetros:
- Ensaio Plasma-SeqSensei™
  - Número de amostras
  - Placa utilizada, com o número de artigo e lote
  - Dispositivo de sequenciação
  - Kit de sequenciação
  - Tipo de indexação (preenchido automaticamente)
  - Entrada de ADN total (em ng)
  - Total de leituras alvos (preenchido automaticamente)
  - Utilização da capacidade de sequenciação (preenchido automaticamente)
  - Esquema das duas placas possíveis

The screenshot displays the 'Plasma-SeqSensei™ IVD Software' interface. The top navigation bar includes 'RUN PLANNING' (active), 'DATA ANALYSIS', and 'REPORTING'. The 'Sequencing Run Summary' section provides the following details:

- Plasma-SeqSensei™ Assay: Breast Cancer
- Number of Samples: 4
- Plate A: Article Number: ZR160544, Lot Number: D2222
- Sequencing Device: Illumina NextSeq™ 500/550
- Sequencing Kit: Mid Output Kit v2.5 (150-cycle)
- Indexing Type: single
- Total DNA input [ng]: 214.6
- Total Target Reads: 62529138
- Sequencing Capacity Usage: 56.8 %

Two plate layout diagrams are shown:

**Plate A:**

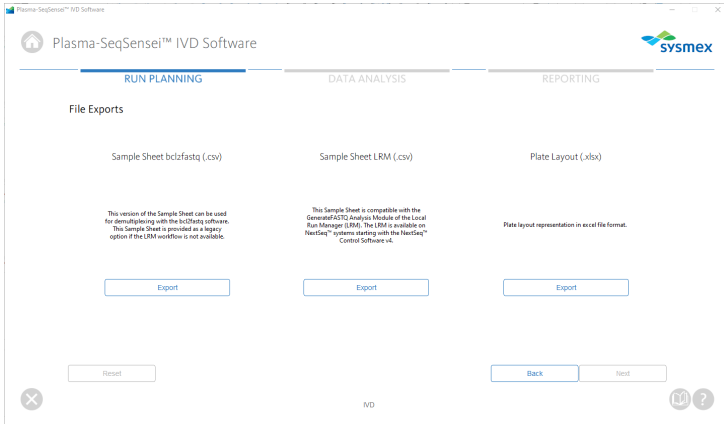
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A												
B												
C												
D	IC	Sample1	Sample2	Sample3	Sample4	IC						
E												
F												
G												
H												

**Plate B:**

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

Buttons for 'Reset', 'Back', and 'Next' are visible at the bottom of the interface.

- a. Clique em [Next] (Seguinte) para continuar para a página seguinte ou em [Back] (Anterior) para retroceder uma página para alterar a entrada.
7. Na página de exportação de ficheiros, são apresentados três ficheiros. Podem ser exportados como ficheiros .csv (ficha de amostras) ou .xls (esquema das placas), conforme necessário.



- a. Para exportar uma ficha de amostras específica ou o esquema das placas, clique no botão [Export] (Exportar), selecione a localização no computador ou na rede e clique em [Save] (Guardar).
- b. Pode exportar o esquema das placas (.xlsx) para fins de documentação.

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

- c. A ficha de amostras LRM (.csv) no meio do ecrã é aplicada quando inicia a série de sequenciação utilizando o Local Run Manager (LRM) da Illumina, Inc. Quando carrega a ficha de amostras LRM no software LRM do dispositivo de sequenciação, é necessário selecionar o módulo GenerateFastQ.

**Importante:** Nas «Advanced Module Settings» (Definições avançadas do módulo), o «Adapter» (Adaptador) com a respetiva sequência (conforme realçado a amarelo no exemplo de ficha de amostras abaixo) deve ser incluído para que seja efetuado o corte correto do adaptador.

**Exemplo A (LRM, uma placa):**

	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	TruSeq LT	.....							
8	safeseq_sw	1.1.7	.....							
9	Chemistry	Default	.....							
10	BC_IVD1_D20000	None	.....							
11										
12	[Reads]	.....								
13	148	.....								
14										
15	[Settings]	.....								
16	Adapter	AGATCGGAAGACACAGCTGA	AGACTCCAGTCA	.....						
17										
18	[Data]	.....								
19	Sample_ID	Sample_Name	Sample_Plate	Sample_Well	I7_Index_ID	index	Sample_Project	Description		
20	BC_IVD1_NTplatea	0_C12_a	BC_IVD1_Pcplatea	0_C12_a_a	C12.C12	TCGTACTAC	BCIVDLRM			
21	BC_IVD1_Pcplatea	43_C01_a	BC_IVD1_Pcplatea	43_C01_a_a	C01.C01	CATGTGACTAC	BCIVDLRM			
22	BC_IVD1_Sample1	120_C02_a	BC_IVD1_Sample1	120_C02_a_a	C02.C02	GTACAGACTAG	BCIVDLRM			
23	BC_IVD1_Sample1	120_C03_a	BC_IVD1_Sample1	120_C03_a_a	C03.C03	ATAGATCGCG	BCIVDLRM			
24	BC_IVD1_Sample1	120_C04_a	BC_IVD1_Sample1	120_C04_a_a	C04.C04	GTGACACAG	BCIVDLRM			
25	BC_IVD1_Sample1	120_C05_a	BC_IVD1_Sample1	120_C05_a_a	C05.C05	ATCGAGACAG	BCIVDLRM			
26	BC_IVD1_Sample1	120_C06_a	BC_IVD1_Sample1	120_C06_a_a	C06.C06	TACTCGACAG	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	TATGACTCG	BCIVDLRM			

**Exemplo B (LRM, duas placas):**

	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	[Header]	.....										
2	!EMFileVersion	4	.....									
3	Experiment Name	BCIVDLRM2	.....									
4	Date	2022-05-09 12:16:33.881896	.....									
5	Workflow	GenerateFASTQ	.....									
6	Application	FASTQ Only	.....									
7	Assay	TruSeq LT	.....									
8	safeseq_sw	1.1.7	.....									
9	Chemistry	Default	.....									
10	BC_IVD1_D20000	D20000	.....									
11												
12	[Reads]	.....										
13	148	.....										
14												
15	[Settings]	.....										
16	Adapter	AGATCGGAAGACACAGCTGA	AGACTCCAGTCA	.....								
17												
18	[Data]	.....										
19	Sample_ID	Sample_Name	Sample_Plate	Sample_Well	I7_Index_ID	index	I5_Index_ID	index	Sample_Project	Description		
20	BC_IVD1_NTplateapld	0_A12_a	BC_IVD1_NTplateapld	0_A12_a_a	A12.A12	ACTAGATGCT	a	TTGTATCTCG	BCIVDLRM2			
21	BC_IVD1_NTplateapld	0_A12_a	BC_IVD1_NTplateapld	0_A12_a_a	A12.A12	ACTAGATGCT	a	CAACCAAGCA	BCIVDLRM2			
22	BC_IVD1_NTplateapld	0_A12_b	BC_IVD1_NTplateapld	0_A12_b_a	A12.A12	ACTAGATGCT	b	GGACGGTGT	BCIVDLRM2			
23	BC_IVD1_NTplateapld	0_A12_b	BC_IVD1_NTplateapld	0_A12_b_a	A12.A12	ACTAGATGCT	a	CCAACGGTAA	BCIVDLRM2			
24	BC_IVD1_NTplateapld	0_A12_b	BC_IVD1_NTplateapld	0_A12_b_b	A12.A12	ACTAGATGCT	b	CTCCACTGAA	BCIVDLRM2			
25	BC_IVD1_NTplateapld	0_A12_b	BC_IVD1_NTplateapld	0_A12_b_b	A12.A12	ACTAGATGCT	b	GTCCGGTACT	BCIVDLRM2			
26	BC_IVD1_NTplateapld	0_A12_b	BC_IVD1_NTplateapld	0_A12_b_b	A12.A12	ACTAGATGCT	b	CTACTACTG	BCIVDLRM2			
27	BC_IVD1_NTplateapld	0_A12_b	BC_IVD1_NTplateapld	0_A12_b_b	A12.A12	ACTAGATGCT	b	ACTTCGGATA	BCIVDLRM2			
28	BC_IVD1_Pcplateapld	43_A01_a	BC_IVD1_Pcplateapld	43_A01_a_a	A01.A01	CTACAGCAGT	a	TTGTATCTCG	BCIVDLRM2			
29	BC_IVD1_Pcplateapld	43_A01_b	BC_IVD1_Pcplateapld	43_A01_b_a	A01.A01	CTACAGCAGT	a	CAACCAAGCA	BCIVDLRM2			
30	BC_IVD1_Pcplateapld	43_A01_b	BC_IVD1_Pcplateapld	43_A01_b_b	A01.A01	CTACAGCAGT	b	GGACGGTGT	BCIVDLRM2			
31	BC_IVD1_Pcplateapld	43_A01_b	BC_IVD1_Pcplateapld	43_A01_b_a	A01.A01	CTACAGCAGT	a	CCAACGGTAA	BCIVDLRM2			
32	BC_IVD1_Pcplateapld	43_A01_b	BC_IVD1_Pcplateapld	43_A01_b_b	A01.A01	CTACAGCAGT	b	CTCCACTGAA	BCIVDLRM2			
33	BC_IVD1_Pcplateapld	43_A01_b	BC_IVD1_Pcplateapld	43_A01_b_b	A01.A01	CTACAGCAGT	b	GTCCGGTACT	BCIVDLRM2			
34	BC_IVD1_Pcplateapld	43_A01_b	BC_IVD1_Pcplateapld	43_A01_b_b	A01.A01	CTACAGCAGT	b	CTACTACTG	BCIVDLRM2			
35	BC_IVD1_Samplepld	0_A02_a	BC_IVD1_Samplepld	0_A02_a_a	A02.A02	ACACTGATG	a	TTGTATCTCG	BCIVDLRM2			
36	BC_IVD1_Samplepld	0_A02_a	BC_IVD1_Samplepld	0_A02_a_a	A02.A02	ACACTGATG	a	TTGTATCTCG	BCIVDLRM2			

- d. A ficha de amostras bcl2fastq (.csv) no lado esquerdo do ecrã é utilizada quando o software Illumina bcl2fastq é

aplicado para desmultiplexagem, corte do adaptador e geração de ficheiros FASTQ.

**Exemplo A (bcl2fastq, uma placa):**

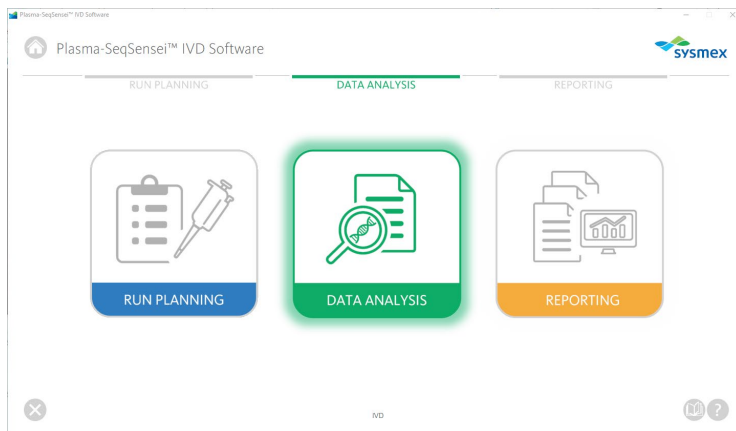
#	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
1	[Header],,,,,,									
2	EMFileVersion,A,,,,,									
3	Experiment Name,BCIVDbcl2fastq,,,,,									
4	Date,2022-05-09 12:07:50.975042,,,,,									
5	Workflow,GenerateFASTQ,,,,,									
6	Application,FASTQ Only,,,,,									
7	Assay,TruSeq LT,,,,,									
8	safeseq_sw,1.1.7,,,,,									
9	Chemistry,Default,,,,,									
10	BC_IVD1,D20000,None,,,,,									
11										
12	[Reads],,,,,,									
13	148,,,,,									
14										
15	[Settings],,,,,,									
16	FilterPCRDuplicates,0,,,,,									
17	ReverseComplement,0,,,,,									
18	VariantFilterQualityCutoff,30,,,,,									
19	outputgenomevcf,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_a,C12,C12,CTCGACTAC,BCIVDbcl2fastq,									
25	BC_IVD1_Pcplatea_43_C01_a,BC_IVD1_Pcplatea_43_C01_a_a,C01,C01,CATGTGATAC,BCIVDbcl2fastq,									
26	BC_IVD1_Sample1_120_C02_a,BC_IVD1_Sample1_120_C02_a_a,C02,C02,GTGACGATAG,BCIVDbcl2fastq,									
27	BC_IVD1_Sample1_120_C03_a,BC_IVD1_Sample1_120_C03_a_a,C03,C03,ATAGCTGCG,BCIVDbcl2fastq,									
28	BC_IVD1_Sample1_120_C04_a,BC_IVD1_Sample1_120_C04_a_a,C04,C04,TCGTACACAG,BCIVDbcl2fastq,									
29	BC_IVD1_Sample1_120_C05_a,BC_IVD1_Sample1_120_C05_a_a,C05,C05,ATCGAGAGAG,BCIVDbcl2fastq,									
30	BC_IVD1_Sample1_120_C06_a,BC_IVD1_Sample1_120_C06_a_a,C06,C06,TACTCGACAG,BCIVDbcl2fastq,									
31	BC_IVD1_Sample2_450_C07_a,BC_IVD1_Sample2_450_C07_a_a,C07,C07,AGTGACTCTG,BCIVDbcl2fastq,									
32	BC_IVD1_Sample2_450_C08_a,BC_IVD1_Sample2_450_C08_a_a,C08,C08,CACAGTCTCA,BCIVDbcl2fastq,									

**Exemplo B (bcl2fastq, duas placas):**

#	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L
1	[Header],,,,,,											
2	EMFileVersion,A,,,,,											
3	Experiment Name,BCIVDbcl2fastq2,,,,,											
4	Date,2022-05-09 12:16:25.131648,,,,,											
5	Workflow,GenerateFASTQ,,,,,											
6	Application,FASTQ Only,,,,,											
7	Assay,TruSeq LT,,,,,											
8	safeseq_sw,1.1.7,,,,,											
9	Chemistry,Default,,,,,											
10	BC_IVD1,D20000,D20000,,,,,											
11												
12	[Reads],,,,,,											
13	148,,,,,											
14												
15	[Settings],,,,,,											
16	FilterPCRDuplicates,0,,,,,											
17	ReverseComplement,0,,,,,											
18	VariantFilterQualityCutoff,30,,,,,											
19	outputgenomevcf,FALSE,,,,,											
20	Adapter,AGATCGGAAGAGCACACGTCTGAACTCCAGTCA,,,,,											
21												
22	[Data],,,,,,											
23	Sample_ID,Sample_Name,Sample_Plate,Sample_Well,I7_Index_ID,index_5,index_4,Sample_Project,Description											
24	BC_IVD1_NTcplatea_0_A12_a,BC_IVD1_NTcplatea_0_A12_a_a,A12,A12,ACTAGATCGT,a,CCAGATACAA,BCIVDbcl2fastq2,											
25	BC_IVD1_NTcplatea_0_A12_b,BC_IVD1_NTcplatea_0_A12_b_a,A12,A12,ACTAGATCGT,a,TGCTTGGTTG,BCIVDbcl2fastq2,											
26	BC_IVD1_NTcplatea_0_A12_c,BC_IVD1_NTcplatea_0_A12_c_a,A12,A12,ACTAGATCGT,a,AACACCGTCC,BCIVDbcl2fastq2,											
27	BC_IVD1_NTcplatea_0_A12_d,BC_IVD1_NTcplatea_0_A12_d_a,A12,A12,ACTAGATCGT,a,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_c,BC_IVD1_NTcplateb_0_A12_c_a,A12,A12,ACTAGATCGT,b,ATTCCGGAAT,BCIVDbcl2fastq2,											
30	BC_IVD1_NTcplateb_0_A12_d,BC_IVD1_NTcplateb_0_A12_d_b,A12,A12,ACTAGATCGT,b,CAAGTAGTAG,BCIVDbcl2fastq2,											
31	BC_IVD1_NTcplateb_0_A12_e,BC_IVD1_NTcplateb_0_A12_e_a,A12,A12,ACTAGATCGT,b,TATCCGGAAT,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_b,BC_IVD1_Pcplatea_43_A01_b_a,A01,A01,CTACAGCAGT,a,TGCTTGGTTG,BCIVDbcl2fastq2,											
34	BC_IVD1_Pcplatea_43_A01_c,BC_IVD1_Pcplatea_43_A01_c_a,A01,A01,CTACAGCAGT,a,AACACCGTCC,BCIVDbcl2fastq2,											
35	BC_IVD1_Pcplatea_43_A01_d,BC_IVD1_Pcplatea_43_A01_d_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. Se for necessário efetuar alterações à entrada, retroceda várias páginas, clicando em [Back] (Anterior) no canto inferior direito da janela.

### 6.2 Módulo Data Analysis (Análise de dados)



O módulo Data Analysis (Análise de dados) (verde) é utilizado para iniciar a análise de sequenciação, com recurso a:

- Ficheiros FASTQ compactados (.fastq.gz)
- Ficha de amostras da série preparada no módulo Run Planning (Planeamento da série).

Os ficheiros FASTQ devem ser guardados localmente na mesma unidade do Plasma-SeqSensei™ IVD Software, numa pasta única por série de sequenciação. Não são permitidas subpastas. Se transferir dados do BaseSpace™ da Illumina, todos os ficheiros .fastq.gz têm de ser copiados para uma localização de pasta única.

**Nota:** Não devem existir ficheiros .fastq.gz com o nome «Undetermined» (Indeterminado) na pasta a ser analisada pelo software.

A análise será efetuada após a execução da série de sequenciação e subsequente desmultiplexagem, corte do adaptador e geração do ficheiro FASTQ. A desmultiplexagem e o corte do adaptador não fazem parte do software de análise fornecido aqui e devem ser realizados antes da análise de dados (consulte o ► capítulo 4.1 *Aquisição de dados*, página 9/57).

Antes de iniciar análise de dados com o Plasma-SeqSensei™ IVD Software, verifique os parâmetros de validade da série no software do instrumento da Illumina:

- Densidade de clusters:  
NextSeq™: Média de 0 a 220 K/mm<sup>2</sup>
- Pontuação Q30: ≥ 80 %
- Filtro de passagem de clusters (PF): ≥ 80 %

Se os parâmetros de validade da série não forem cumpridos, a série não é válida.

The screenshot shows the 'DATA ANALYSIS' tab in the Plasma-SeqSensei™ IVD Software. The interface is divided into three main sections: RUN PLANNING, DATA ANALYSIS (highlighted in green), and REPORTING. Under DATA ANALYSIS, there are four main input areas: 'Analysis Name' with a text field; 'FASTQ Folder' with a text field and a 'Browse' button; 'Sample Sheet' with a text field and a 'Browse' button; and 'Info' with a larger text area. To the right, there are two dropdown menus: 'Sequencing Device' (set to 'Illumina NextSeq™ 500/550') and 'Sequencing Kit' (set to 'Mid Output Kit v2.5 (50-cy04)'). Below these are four input fields for 'Sequencing Quality Metrics': 'Flowcell ID', '% > Q30', 'Cluster Density [k/mm²]', and 'Clusters Passing Filter [%]'. A 'Start Analysis' button is positioned at the bottom right of the form.

1. Clique no módulo Data Analysis (Análise de dados) (verde).
2. Introduza um nome para a análise.
3. Selecione o dispositivo de sequenciação utilizado.
4. Selecione o kit de sequenciação.
5. Preencha as métricas de qualidade da sequenciação/critérios de validade da série conforme indicado no dispositivo de sequenciação:
  - a. ID da flowcell
  - b. % > Q30
  - c. Densidade de clusters [k/mm<sup>2</sup>]
  - d. Filtro de passagem de clusters [%]



Ao iniciar a análise, aparece uma mensagem de erro se o ID da flowcell não estiver completo ou não corresponder ao ID incluído nos ficheiros a analisar, ou se os critérios de validade da série estiverem fora dos intervalos admissíveis.

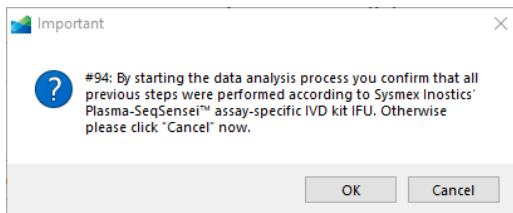
6. Selecione a pasta que contém os ficheiros FASTQ da série de sequenciação a analisar (.fastq.gz), clicando no botão [Browse] (Procurar) e navegando para a pasta pretendida.

**Nota:** Os ficheiros .fastq.gz não serão visíveis quando selecionar a pasta.

7. Selecione a ficha de amostras que foi criada no módulo Run Planning (Planeamento da série) (.csv) para esta série de sequenciação, clicando no botão [Browse] (Procurar) e navegando até ao ficheiro pretendido.
8. Preencha as informações relativas à experiência, série de sequenciação ou análise (opcional).
9. Clique em [Start Analysis] (Iniciar análise).

Se faltarem ficheiros, se os nomes das fichas de amostras e dos ficheiros não corresponderem ou se tiver sido selecionada uma ficha de amostras incorreta, o software apresenta uma mensagem de erro.

10. Será apresentada uma janela a pedir a confirmação da conformidade do fluxo de trabalho IVD de acordo com as Instruções de utilização do Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kit.



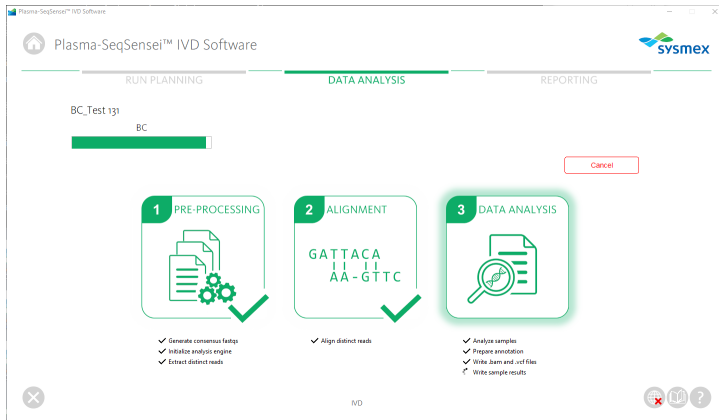
- a. Selecione [Ok] se seguiu as Instruções de utilização para iniciar a análise com certificação IVD dos resultados de sequenciação.
- b. Selecione [Cancel] (Cancelar) se não observou as Instruções de utilização do Plasma-SeqSensei™ Assay-

*Specific IVD Kit*, uma vez que estes resultados de sequenciação não serão elegíveis para análise com certificação IVD.

**Nota:** *Recomenda-se que todas as outras aplicações sejam fechadas durante a análise e que o modo de espera do computador Windows® seja desativado.*

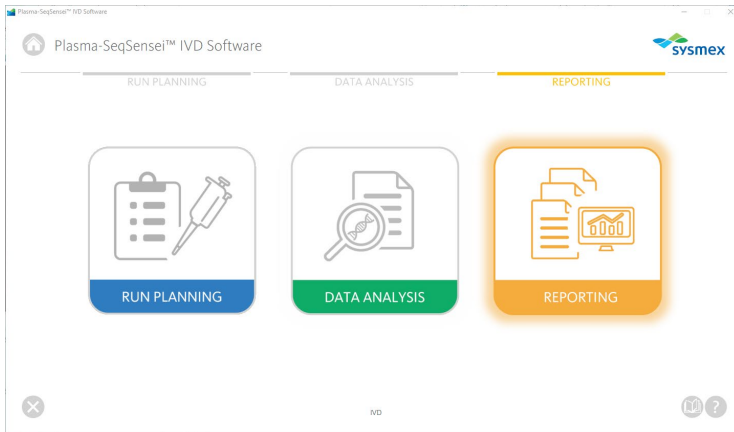
Dependendo da memória disponível, a análise pode demorar até 6 horas. Se a análise demorar mais tempo, consulte o ► capítulo 8 *Resolução de problemas*, página 48/57.

11. É apresentada uma nova janela que mostra o processo e o progresso da análise de dados.



- a. Pode parar a análise clicando no botão vermelho [Cancel] (Cancelar) do lado direito da janela. A análise terá de ser iniciada de novo após o cancelamento; não pode ser colocada em pausa.
12. Uma vez concluída da análise dos dados, o software muda automaticamente para o módulo Reporting (Relatórios) e abre a página com os resultados da análise da série de sequenciação.

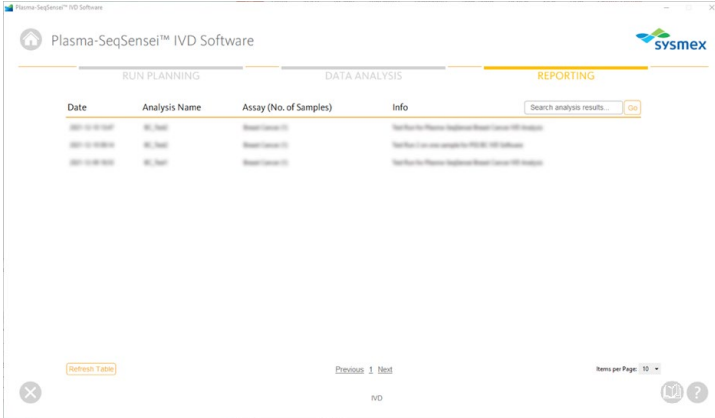
### 6.3 Módulo Reporting (Relatórios)



O módulo Reporting (Relatórios) (cor de laranja) é utilizado para guardar e gerir todos os resultados de análises efetuadas com o Plasma-SeqSensei™ IVD Software. Permite ao utilizador:

- ver todas as séries analisadas no dispositivo
- ver o diretório de ficheiros FASTQ de cada série
- transferir relatórios (.pdf), ficheiros .vcf e .bam de cada série
- eliminar séries/dados

O módulo de relatórios é iniciado automaticamente após a conclusão de uma análise. É possível aceder a todas as análises anteriores no dispositivo a qualquer momento para transferir ou eliminar dados. Os dados podem ser transferidos em formato .pdf (relatórios), .vcf ou .bam.



1. Clique no módulo Reporting (Relatórios) (cor de laranja).
2. Aqui, é apresentada uma vista geral de todas as análises efetuadas com o Plasma-SeqSensei™ IVD Software no dispositivo.
  - a. Para avançar para uma página específica nesta vista geral, clique no número da página na parte inferior do ecrã ou em [Previous] (Anterior)/[Next] (Seguinte).

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

- b. O número de itens por página pode ser alterado no canto inferior direito da página.

Items per Page: 10 ▼

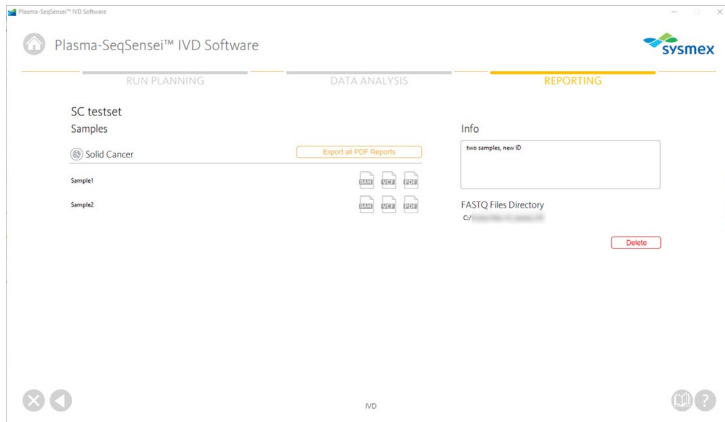
- c. Para pesquisar resultados de análises específicas, introduza o nome da série no campo de pesquisa no canto superior direito da janela e clique no botão [Go] (Ir).

Search for Analysis Name or Info ... [Go](#)

- d. Se estiver à espera de novos dados, clique no botão [Refresh Table] (Atualizar tabela) no canto inferior esquerdo da janela para recarregar a tabela de resultados e ver os novos resultados da análise.

[Refresh Table](#)

3. Selecione o resultado de uma análise pretendido clicando na análise.
4. Os resultados da análise são apresentados numa nova janela, que inclui:



- a. Nome da série
- b. Ensaio utilizado na série
- c. Nome de todas as amostras dessa série
- d. Informações da série (se incluídas no módulo Data Analysis (Análise de dados))
- e. Localização do diretório de ficheiros FASTQ utilizado para a análise de dados
- f. Ícones para exportar relatórios .pdf, ficheiros .vcf e .bam individualmente por amostra



- g. Botão para exportar todos os relatórios .pdf da série selecionada como um ficheiro .zip



5. Ao exportar ficheiros, clique no ícone ou no botão e selecione o nome e a localização no dispositivo/servidor para exportação.
6. Para eliminar todos os resultados de análise desta série específica, clique no botão vermelho [Delete] (Eliminar) no canto inferior direito do ecrã.

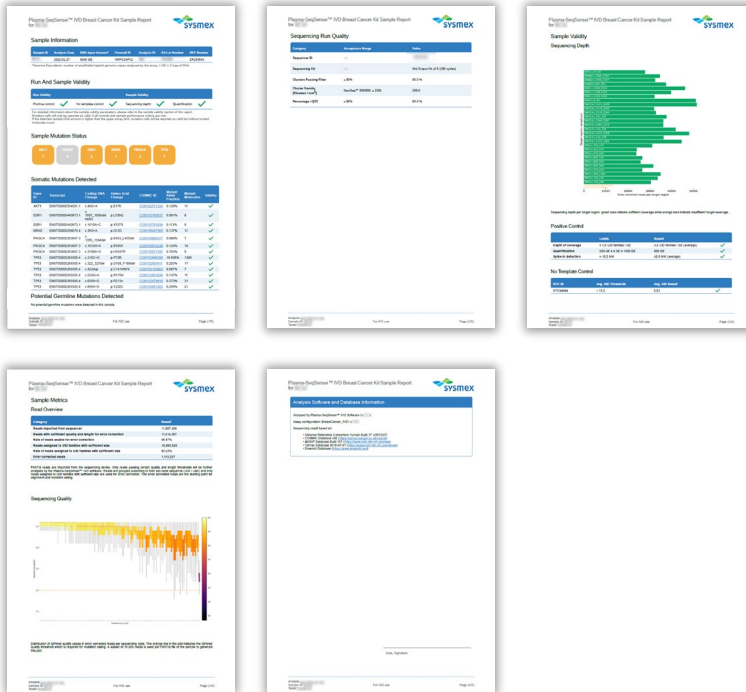


Uma janela verifica se pretende a eliminação final de todos os dados.

7. Para regressar à vista geral do módulo Reporting (Relatórios), clique no triângulo branco no círculo ◀ cinzento no canto inferior esquerdo da janela do software.

## 7 Relatórios

Os relatórios estão disponíveis em formato .pdf.



Para além disso, é possível transferir ficheiros .vcf (formato de chamada de variantes) e .bam (mapa de alinhamento binário). Os ficheiros .vcf podem conter, entre outras informações, todas as mutações em fração de alelos mutantes (MAF) e moléculas mutantes (MM), conforme indicado no relatório num formato padronizado. Os ficheiros .bam contêm informações de alinhamento das leituras de consenso UID geradas em relação aos amplicões do ensaio. Ambos os ficheiros podem ser utilizados para uma inspeção detalhada dos resultados de análise com software de terceiros (p. ex. o Integrative Genomics Viewer (IGV, <https://software.broadinstitute.org/software/igv/>)). Se utilizar IGV, selecione «Human hg19» como genoma de referência.

## 7 Relatórios

Os relatórios gerados pelo Plasma-SeqSensei™ IVD Software contêm várias secções:

- Informações da amostra
- Validade da série e da amostra
  - Profundidade da sequenciação
  - Controlo positivo
  - No template control
- Estado de mutação da amostra
  - Amplicões inválidos
- Mutações detetadas
  - Mutações somáticas
  - Potenciais mutações da linha germinal
- Qualidade da série de sequenciação
- Métricas da amostra
  - Vista geral das leituras
  - Qualidade da sequenciação
- Informações do software de análise e da base de dados

### Exemplo 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.

### Exemplo 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.

As **Informações da amostra** incluem um resumo da análise da amostra específica, que inclui:

- ID da amostra
- Data da análise
- Quantidade da entrada de ADN em genomas equivalentes (GE), calculada com o quantificador interno (Quantispike); se a



quantidade da entrada de ADN estiver fora dos intervalos de entrada válidos ou a quantificação do controlo positivo falhar, será marcada como «Not quantifiable» (Não quantificável).

- ID da flowcell
- ID da análise atribuído pelo utilizador para a análise deste conjunto de amostras.
- Número de lote do Plasma-SeqSensei™ IVD Kit utilizado
- O número REF especifica o número de artigo do kit Plasma-SeqSensei™ utilizado.

### Exemplo 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.

### Exemplo 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.

A tabela **Validade da série e da amostra** na primeira página do relatório indica se a amostra analisada cumpre os critérios de validade. As marcas de verificação verdes (✓) indicam resultados válidos, as cruzes vermelhas (✗) indicam resultados inválidos e uma marca de verificação cor de laranja (✓) para a profundidade da sequenciação informa o utilizador da existência de, pelo menos, um amplicão inválido devido a uma baixa cobertura de sequenciação. Para obter mais informações sobre este amplicão inválido, consulte a secção Estado de mutação da amostra e a secção Profundidade da sequenciação do relatório.

A quantificação das amostras é inicialmente efetuada utilizando a medição Qubit, que representa uma estimativa aproximada do teor de ADN de entrada para uma carga de amostra correta. A quantificação no relatório refere-se ao teor de ADN da amostra, conforme determinado pelo quantificador interno (Quantispike).

## 7 Relatórios

---

Se o valor de quantificação estiver fora do intervalo de entrada permitido (visível nas Informações da amostra/Quantidade da entrada de ADN), a amostra será inválida e não serão apresentados quaisquer resultados no relatório.

A análise da amostra também é inválida se o controlo positivo, o No Template Control ou as métricas de sequenciação estiverem fora dos critérios permitidos.

### Exemplo:

#### Sample Mutation Status



O **Estado de mutação da amostra** apresenta uma vista geral do número de mutações detetadas por gene analisado pelo Plasma-SeqSensei™ IVD Kit. Se for detetada uma mutação, a caixa com o nome do gene é apresentada a cor de laranja, com o número de mutações detetadas no gene por baixo do nome do gene. Se não forem detetadas mutações num gene, a caixa com o nome do gene é apresentada a cinzento, com um zero por baixo do nome do gene.

### Exemplo:

#### 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

Será incluída uma nota (Importante) se um ou mais amplicões não tiverem atingido uma profundidade da sequenciação suficiente e forem excluídos do relatório (consulte as secções Validade da série e da amostra e Profundidade da sequenciação deste relatório). As posições de codificação afetadas no gene especificado são apresentadas numa tabela. As possíveis mutações localizadas nestas regiões não são apresentadas e o estado de mutação destas posições do gene não pode ser avaliado.

**Exemplo 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.

**Exemplo B:**

## Somatic Mutations Detected

No valid somatic mutations were detected in this sample.

Na secção **Mutações somáticas detetadas** do relatório, são apresentadas todas as mutações detetadas pelo Plasma-SeqSensei™ IVD Software nas regiões genéticas abrangidas do Plasma-SeqSensei™ IVD Kit utilizado, quando os critérios de validade da série e da amostra foram cumpridos e a profundidade da sequenciação foi atingida para o amplicão.

São apresentadas as seguintes informações na tabela:

- ID do gene
- Número de transcrição do gene utilizado durante a análise
- Alteração do ADN codificador detetada
- Alteração de aminoácidos resultante da alteração do ADN codificador
  - se for detetada uma mutação na região intrónica do gene, a alteração do aminoácido será apresentada como «p.?»
  - se a alteração do par de bases for detetada num triplete de nucleótidos que codifica um aminoácido, que está apenas parcialmente coberto pelo ensaio, a alteração do aminoácido é marcada com um <sup>1)</sup>. Neste caso, a anotação de aminoácidos é efetuada com base no pressuposto de que as bases, que não são abrangidas pelo ensaio, correspondem à sequência de referência.
- ID COSMIC, se disponível (número COSV) na versão da base de dados utilizada (consulte a última página do relatório)
- ID ClinVar, se disponível na versão da base de dados utilizada (consulte a última página do relatório)

- Fração de alelos mutantes
- Moléculas mutantes (MM) por mutação detetadas na amostra, utilizando o teor de ADN calculado com o quantificador interno (Quantispike).

### Exemplo 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	rs1042522	12351	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.

### Exemplo B:

#### Potential Germline Mutations Detected

No potential germline mutations were detected in this sample.

Se forem detetadas **Potenciais mutações da linha germinal** (SNPs), estas serão indicadas numa tabela adicional. As mutações são listadas como potenciais mutações da linha germinal quando estão presentes num MAF > 40 % a ≤ 60 % (heterozigótico) ou ≥ 90 % (homozigótico). O registo na base de dados dbSNP é opcional. Para validar a mutação descrita como uma verdadeira mutação da linha germinal, seria necessário realizar testes adicionais de ADN genómico.

São apresentadas as seguintes informações na tabela:

- ID do gene
- Número de transcrição do gene utilizado durante a análise
- Alteração do ADN codificador detetada
- Alteração de aminoácidos resultante da alteração do ADN codificador
  - se a alteração do par de bases for detetada num triplete de nucleótidos que codifica um aminoácido, que está apenas parcialmente coberto pelo ensaio, a alteração do aminoácido é marcada com um <sup>1)</sup>. Neste caso, a anotação de aminoácidos é efetuada com base no pressuposto de que as bases, que não são abrangidas pelo ensaio, correspondem à sequência de referência.

- ID dbSNP, se disponível na versão da base de dados utilizada (consulte a última página do relatório)
- ID ClinVar, se disponível na versão da base de dados utilizada (consulte a última página do relatório)
- Fração de alelos mutantes
- Moléculas mutantes (MM) por mutação detetadas na amostra, utilizando o teor de ADN calculado com o quantificador interno (Quantispike).

### Exemplo:

#### 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 %

A tabela **Qualidade da corrida de sequenciamento** inclui as métricas de qualidade do sequenciamento/critérios de validade do sequenciamento introduzidos pelo utilizador no módulo de análise do Plasma-SeqSensei™ IVD Software. Os intervalos de aceitação (se aplicáveis) destes critérios são apresentados na tabela.

São apresentadas as seguintes categorias:

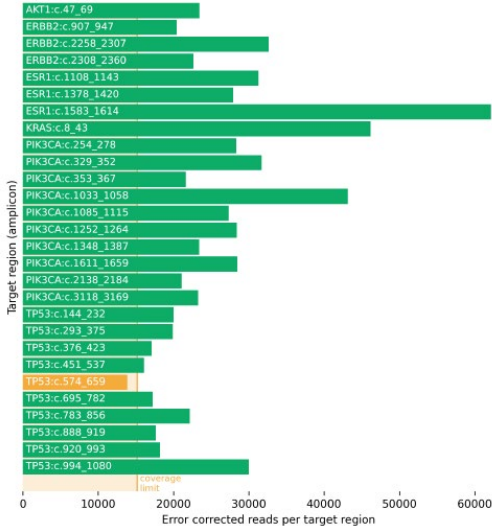
- ID do sequenciador
- Kit de sequenciação utilizado
- Filtro de passagem de clusters
- Densidade de clusters em clusters/mm<sup>2</sup>
- Percentagem > Q30

Se algum parâmetro estiver fora do intervalo, a série de sequenciação é inválida e tem de ser repetida.

### Exemplo:

#### Sample Validity

#### Sequencing Depth



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

A segunda parte da secção **Validade da amostra** inclui mais detalhes para determinar o motivo de uma possível falha na análise da amostra.

Na secção **Profundidade da sequenciação**, é apresentada a cobertura de sequenciação de todas as regiões alvo/amplicões analisados no Plasma-SeqSensei™ IVD Kit. As barras verdes representam os amplicões com cobertura alvo suficiente, as barras cor de laranja mostram os amplicões que têm uma cobertura alvo insuficiente. Os amplicões marcados a cor de laranja são inválidos e não é possível fazer qualquer avaliação relativamente ao estado mutacional desta região alvo. O limite de cobertura é visualizado na parte inferior do gráfico a cor de laranja claro. A unidade utilizada para o cálculo da cobertura é em «leituras com correção de erros por região alvo».

**Exemplo:**

## Positive Control

	Limites	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)	✔

A tabela de **Controlo positivo** indica os limites a atingir pelo controlo positivo do ensaio para séries Plasma-SeqSensei™ válidas. As marcas de verificação verdes (✔) indicam resultados válidos, as cruces vermelhas (✘) indicam resultados inválidos. Aqui, os seguintes valores para o controlo e a amostra têm de estar dentro de intervalos válidos:

- A profundidade de cobertura da sequenciação deve ser de, pelo menos, 1 família UID por GE para o controlo positivo para todos os aplicões incluídos.
- A quantificação (em GE) do controlo positivo tem de estar dentro dos intervalos de aceitação apresentados.
- Deve ser atingido um limite de deteção de, pelo menos, 10 MM por mutação incluída no controlo positivo.

**Exemplo A:**

## No Template Control

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

**Exemplo B:**

## No Template Control

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

A secção **No Template Control** indica se ocorreu uma possível contaminação do No Template Control. As marcas de verificação verdes (✔) indicam resultados válidos, as cruces vermelhas (✘) indicam resultados inválidos. Se o resultado médio do UID for superior a 15, as amostras podem estar contaminadas e, por conseguinte, a série é inválida.

### Exemplo:

#### 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

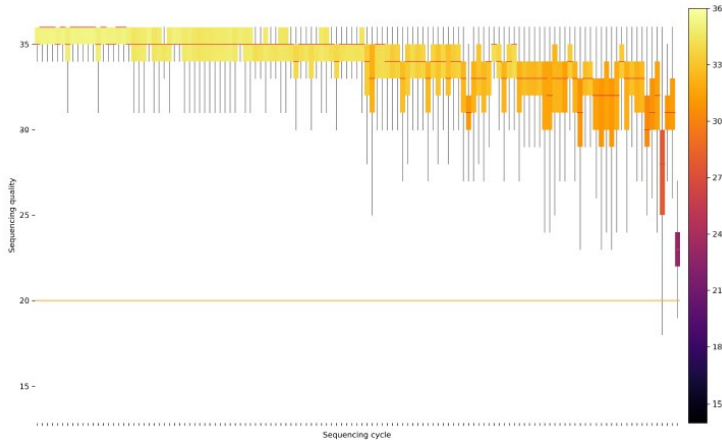
FASTQ reads are imported from the sequencing device. Only reads passing certain quality and length thresholds will be further analysed by the Plasma-SeqSensei™ IVD software. Reads are grouped according to their bar-code sequence (UID / UMI) and only reads assigned to UID families with sufficient size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

Pode encontrar mais informações sobre a série de sequenciação e a análise na secção **Métricas da amostra**.

A **Vista geral das leituras** fornece informações sobre os números e as percentagens de diferentes tipos de leituras durante a análise dos dados.

### Exemplo:

#### 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.

A secção **Qualidade da sequenciação** apresenta um gráfico com uma média de todos os valores de qualidade QPhred de um subconjunto de leituras da amostra específica, de acordo com o número de ciclos de



sequenciação. Pontuações QPhred superiores a 20 (linha cor de laranja) são aceitáveis.

### Exemplo:

**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>)

A última secção do relatório apresenta as **Informações do software de análise e da base de dados** utilizados na análise desta amostra.

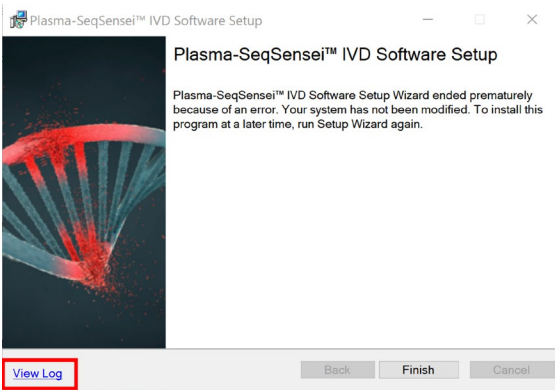
---

Date, Signature

É incluído um **campo de assinatura** no fim do relatório.

## 8 Resolução de problemas

Consulte a tabela seguinte se ocorrerem problemas durante a utilização do software Plasma-SeqSensei™ ou contacte o seu representante local autorizado da Sysmex para obter mais informações.

Problema	Solução
A instalação do software não é corretamente concluída.	<p>Certifique-se de que seguiu exatamente as instruções apresentadas na secção 5.1.1 deste manual para a instalação do software. Isto inclui, especialmente, a localização da pasta transferida (localmente) e a descompactação do ficheiro .zip antes da instalação. Descompacte apenas a primeira pasta, <u>não</u> descompacte as subpastas.</p> <p>Se efetuar a instalação uma segunda vez, certifique-se de que elimina a pasta C:\Users\Public\Sysmex\Inostics\Ivd, caso já exista. Se, mesmo assim, não conseguir instalar corretamente o software, contacte o Apoio ao cliente da Sysmex e forneça uma cópia do ficheiro de registo da instalação, que pode ser acedido aqui (caixa vermelha):</p> 
Não consigo ver toda a janela do software e não a consigo fechar.	As definições do ecrã do computador têm de ser definidas para 125 % ou menos para que a janela do software seja completamente apresentada.
Falta o botão «start analysis» (iniciar análise).	Defina a escala do ecrã para 125 % ou menos e reinicie o software Plasma-SeqSensei™.
A chave de licença não é aceite durante a instalação do software.	Verifique se não existem espaços adicionais na chave de licença ou no nome do cliente e verifique se transferiu o software correto (RUO ou IVD) ou contacte o Apoio ao cliente da Sysmex.

<b>Módulo Run Planning (Planeamento da série)</b>	
O número de artigo ou o número de lote não é aceite.	Certifique-se de que utiliza o número completo, incluindo as letras maiúsculas ZR + seis números para o número de artigo ou D + cinco números para o número de lote.  Apenas deve ser preenchido o número de artigo do Plasma-SeqSensei™ Assay-Specific IVD Kit. <u>Não</u> inclua o número de artigo do Extension IVD Kit.
Não existem ensaios seleccionáveis.	Execute uma segunda instalação depois de eliminar a pasta: C:\Users\Public\Systemx\ivd. Certifique-se de que apenas descompactou a pasta transferida, localizada na pasta de transferência, e que todas as outras subpastas ainda estão compactadas. Não descompacte nenhuma subpasta.
Fala uma amostra na página de resumo da placa.	Certifique-se de que introduziu o número correto de amostras com os nomes das amostras e a concentração de ADN no módulo Run Planning (Planeamento da série).
O nome da amostra não é aceite.	O nome da amostra deve: <ol style="list-style-type: none"> <li>1. ser único</li> <li>2. não ter mais de 16 caracteres</li> <li>3. conter apenas caracteres alfanuméricos.</li> </ol>
A quantidade de ADN não é aceite.	A quantidade de ADN deve situar-se no intervalo de introdução específico do kit IVD e deve ser utilizado um ponto (.) como separador decimal.
A ficha de amostras não é aceite pelo dispositivo de sequenciação NextSeq™	Se estiver a ser utilizada uma versão mais antiga (< v2.4.0) do Local Run Manager no dispositivo de sequenciação, a ficha de amostras atual pode não ser compatível. Tente utilizar a segunda versão da ficha de amostras disponível na página File Export (Exportação de ficheiros) do módulo Run Planning (Planeamento da série) ou contacte o Apoio ao cliente da Sysmex.
<b>Módulo Data Analysis (Análise de dados)</b>	
Onde posso encontrar as métricas de qualidade da sequenciação?	As métricas serão apresentadas no final de cada série no dispositivo de sequenciação. Também estão disponíveis ao carregar a série de sequenciação para o software Illumina Sequencing Analysis Viewer (SAV).
Porque é que existem 4 ficheiros .fastq.gz por poço visíveis quando utilizo o LRM no NextSeq™?	Quando utiliza o Local Run Manager (LRM) durante o passo de sequenciação no dispositivo NextSeq™, é criado um ficheiro por faixa de cada poço, o que resulta num total de 4 ficheiros. O Plasma-SeqSensei™ IVD Software vai concatenar esses ficheiros automaticamente para posterior análise.  Quando utiliza o Plasma-SeqSensei™ Extension IVD Kit e estão a ser sequenciadas duas placas na mesma série de sequenciação, cada poço vai gerar 16 ficheiros.

## 8 Resolução de problemas

<p>Não consigo iniciar a análise porque faltam ficheiros.</p>	<p>Verifique se tem o número correto de ficheiros FASTQ disponíveis na sua pasta de análise.</p> <p>Durante a desmultiplexagem, são gerados ficheiros FASTQ. Dependendo da tubulação de desmultiplexagem, o número de ficheiros FASTQ por amostra pode variar. Se utilizar o bcl2fastq para a desmultiplexagem, normalmente, terá 5 ficheiros FASTQ por amostra (um ficheiro por poço). Em alternativa, são gerados 20 ficheiros FASTQ por amostra (5 poços por amostra, 4 faixas por poço). É este o caso se utilizar o módulo «GenerateFASTQ» do Local Run Manager no seu dispositivo NextSeq™.</p> <p>Quando duas placas Plasma-SeqSensei™ são executadas ao mesmo tempo aplicando o LRM, são gerados 80 ficheiros FASTQ por amostra (5 poços por amostra, 4 faixas por poço, 4 índices de placa).</p> <p>Em suma, deverão existir 5, 20 ou 80 ficheiros FASTQ para uma única amostra na pasta de entrada FASTQ. Além disso, os controlos positivo (PC) e No Template (NTC) recebem 1, 4 ou 16 ficheiros FASTQ, que também se encontram na pasta de análise.</p>
<p>Não consigo iniciar a análise porque foram encontrados ficheiros adicionais.</p>	<p>Certifique-se de que o ficheiro FASTQ denominado «Undetermined.fastq.gz» não está incluído na pasta de análise.</p>
<p>A minha análise demora imenso tempo.</p>	<p>Normalmente, a análise demora menos de 6 horas. Se forem registados tempos de análise mais longos, podem ter ocorrido vários problemas:</p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Não existe memória suficiente disponível no dispositivo.</li><li>• Ficheiros FASTQ muito grandes devido à utilização de um kit de sequenciação inadequado, por exemplo, um número reduzido de amostras/entrada de ADN num High Output Kit.</li><li>• O Plasma-SeqSensei™ IVD Software não está localizado no mesmo dispositivo que os dados. Quando os ficheiros estão localizados numa unidade de rede, o acesso pode ser limitado/lento, se a unidade de rede estiver muito ocupada com outros processos.</li><li>• Leituras de baixa qualidade</li></ul> <p>Se isto acontecer, pare a série, resolva o problema (p. ex. localização do software) e recomece ou aguarde que a análise termine. Se, mesmo assim, a análise não terminar, contacte o apoio técnico.</p>

Não consigo encontrar a ficha de amostras da minha série.	Experimente utilizar a opção Search (Pesquisa) do computador ou prepare uma nova ficha de amostras utilizando novamente o módulo Run Planning (Planeamento da série). Certifique-se de que introduz exatamente os mesmos nomes, concentrações e esquema da placa.
Não consigo selecionar ficheiros FASTQ ao navegar no software IVD.	Os ficheiros FASTQ não são apresentados na janela de seleção. É a pasta que contém estes ficheiros que deve ser selecionada.
O ID da flowcell não é aceite.	Utilize o ID completo da flowcell, conforme indicado na flowcell, no dispositivo de sequenciação ou no visualizador de análises de sequenciação.
<b>Módulo Reporting (Relatórios)</b>	
Não consigo exportar os meus relatórios clicando nos ícones ou no botão.	Isso indica um problema com a análise, que, possivelmente, terminou prematuramente. A análise terá de ser repetida. Certifique-se de que o seu ambiente de execução cumpre todos os requisitos indicados no ► capítulo 2.2 <i>Especificações do ambiente de execução</i> , página 3/57.
Alguns amplicões são inválidos, o que é que isso significa para o meu relatório?	Se mais de 10 % de todas as regiões alvo não atingirem a profundidade da sequenciação alvo, toda a análise da amostra é inválida. Se menos de 10 % de todas as regiões alvo não atingirem a profundidade da sequenciação alvo, apenas esses amplicões são inválidos e as restantes regiões são válidas.

## 9 Glossário e terminologia

Termo	Definição
ADN	Ácido desoxirribonucleico
cfDNA	ADN sem células
ClinVar	Varição clínica
COSMIC	Catálogo de mutações somáticas no cancro
CPU	Unidade de processamento central
ctDNA	ADN tumoral circulante
GB	Gigabyte
GE	Genoma equivalente
ID	Identificador
IDU	Instruções de utilização
IVD	Diagnóstico in vitro
LRM	Local run manager
MAF	Fração de alelos mutantes
MM	Moléculas mutantes
NGS	Sequenciação de nova geração
NTC	No template control
PC	Controlo positivo
PCR	Reação em cadeia da polimerase
PF	Filtro de passagem
RUO	Utilização apenas para efeitos de investigação
SNP	Polimorfismo de nucleótido único
SNV	Substituição de variante de nucleótido único
UID	Identificador único

## 10 Histórico de revisões

Versão do documento	Data	Descrição da alteração	Secção
R4	Abril de 2024	<p>Adição e informações sobre o serviço de atualização e novo botão na janela do software</p> <p>Informações sobre o novo passo no módulo de análise</p> <p>Informações adicionais no relatório para as secções</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>Validade da série e da amostra</li> <li>Estado de mutação da amostra</li> <li>Mutações somáticas detetadas</li> <li>Potenciais mutações da linha germinal</li> </ul> <p>Eliminação da secção Mutações inválidas detetadas no relatório</p> <p>Eliminação das informações de mutação para amostras com entrada de ADN acima dos intervalos permitidos</p> <p>Atualização da tabela de resolução de problemas</p>	<p>3.2.1 5.2</p> <p>6.2 passo 10</p> <p>7</p> <p>7</p> <p>7</p> <p>8</p>
R3	Dezembro de 2023	<p>Adição de uma nota sobre a necessidade de uma ligação ativa à Internet para a atualização automática das informações e do processo</p> <p>Atualização da tabela de resolução de problemas</p>	<p>3.2</p> <p>8</p>
		<p>Atualização da tabela de resolução de problemas</p> <p>Atualização do endereço do Website para transferência</p> <p>Adição de ícones</p> <p>Atualização da interface de utilizador</p> <p>Alteração da ordem dos primeiros passos do Run Planning (Planeamento da série).</p> <p>Atualização de capturas de ecrã e da ordem de apresentação para Mutações somáticas válidas, Potenciais mutações da linha germinal e Mutações inválidas no relatório</p> <p>Atualização da tabela de resolução de problemas</p> <p>Adição da tabela de glossário e terminologia</p> <p>Adição da tabela de histórico de revisões</p>	<p>8</p> <p>5.1</p> <p>5.2</p> <p>5.3</p> <p>6.1 passo 2</p> <p>7</p> <p>8</p> <p>9</p> <p>10</p>
R1	Julho de 2022	Versão inicial	N/A

# 11 Anexo A

### Termos e condições gerais

#### para licenças de software da Sysmex Inostics GmbH

#### 1. Objeto

A Sysmex Inostics GmbH, Falkenried 88, 20251 Hamburg, Alemanha (doravante denominada «SIG») concede ao cliente uma licença temporária, não exclusiva e intransmissível, para utilizar o seguinte software:

- Plasma-SeqSensei™ IVD Software para análise de dados NGS («Software SIG»)

A titularidade, os direitos de propriedade e os direitos de propriedade intelectual do Software SIG não serão transferidos para o cliente. A licença é concedida no âmbito da compra de Plasma-SeqSensei™ IVD Kits durante o período de utilização dos Plasma-SeqSensei™ IVD Kits.

#### 2. Entrega

O Software SIG será entregue como parte da entrega dos Plasma-SeqSensei™ IVD Kits. O Software SIG será fornecido na versão atual.

#### 3. Produtos licenciados de fornecedores terceiros

Se forem também fornecidos produtos de software de terceiros com o Software SIG que não sejam software de código aberto, estes apenas podem ser utilizados em conjunto com o Software SIG. A SIG comunicará ao cliente quaisquer condições especiais de licenciamento de forma adequada.

#### 4. Proibição de cópia

O software da SIG, bem como a documentação, não podem ser copiados pelo cliente, total ou parcialmente, à exceção da criação de uma cópia legível por máquina do software da SIG para efeitos de cópia de segurança ou arquivo. Qualquer cópia efetuada pelo cliente para estes fins deve incluir, de forma clara e legível, uma referência completa à confidencialidade, titularidade, direitos de propriedade e direitos de propriedade intelectual da SIG.

#### 5. Proibição de modificação

O cliente não está autorizado a efetuar ele próprio quaisquer alterações ao software SIG, nem a permitir que terceiros as efetuem.

#### 6. Proibição de transferência



Não é permitida a transferência de direitos e obrigações decorrentes do contrato de licença para terceiros, mesmo após a rescisão do contrato. Não é permitida a transmissão da chave de licença.

## 7. Utilização não autorizada

O cliente compromete-se a garantir que os seus funcionários ou outras pessoas que atuem sob as suas instruções e que tenham acesso ao Software SIG cumprem todos os deveres de proteção e cuidado decorrentes do presente contrato. Além disso, o cliente compromete-se a garantir que ninguém tem acesso ao Software SIG com o objetivo de obter os códigos fonte. Se o cliente tiver conhecimento de que o Software SIG está a ser utilizado por uma das pessoas acima mencionadas em violação das atuais obrigações de proteção e cuidado, fará imediatamente tudo o que estiver ao seu alcance para impedir essa utilização em violação do contrato e notificará a SIG por escrito da utilização em violação do contrato.

## 8. Pedido de indenização

A SIG detém os direitos de propriedade industrial e os direitos de autor do Software SIG. O cliente pode ser responsabilizado pela SIG por qualquer infração a esses direitos de propriedade pela qual seja responsável.

## 9. Garantia

9.1 No que diz respeito à qualidade do Software SIG, apenas a descrição do Software SIG fornecida pelo licenciante antes da celebração do contrato ou acordada num documento separado (por exemplo, na documentação) será vinculativa. No âmbito da obrigação de manutenção, o licenciante não é obrigado a adaptar o software a novas condições de utilização e desenvolvimentos técnicos e funcionais, tais como alterações no ambiente de TI.

9.2 O licenciante não concede qualquer garantia por erros no software,

- que tenham sido causados por erros de aplicação por parte do cliente e que poderiam ter sido evitados se a documentação tivesse sido consultada cuidadosamente; isto aplica-se igualmente no caso de medidas de cópia de segurança inexistentes ou insuficientes que teriam evitado a perda de dados;
- devido a ataques de vírus ou outras influências externas pelas quais o licenciante não é responsável, tais como incêndios, acidentes, falhas de energia, etc.;
- que se baseiem no facto de o Software SIG ter sido utilizado num ambiente operativo diferente do aprovado pelo licenciante, ou que se devam a falhas no hardware, no sistema operativo ou no software de outros fabricantes;
- que se baseiem no facto de o software ter sido modificado pelo cliente ou por terceiros sem autorização.

9.3 O cliente obriga-se a notificar o licenciante de defeitos no Software SIG imediatamente após serem detetados. No caso de defeitos materiais, a notificação deve incluir a descrição do momento em que os defeitos ocorreram, bem como das circunstâncias mais detalhadas. Se o licenciante realizar uma análise de falhas a pedido do cliente e verificar que não existe qualquer defeito que o licenciante seja obrigado a corrigir, o licenciante pode faturar ao cliente as despesas incorridas com base no preço por hora do licenciante em vigor à data.

Os defeitos no software devem ser corrigidos pelo licenciante num prazo razoável (desempenho subsequente). Tal será feito, a critério do licenciante, eliminando o defeito através de uma atualização/patch/bugfix/melhoria, entregando software sem defeitos ou apresentando uma solução alternativa, esta última na medida em que tal seja razoável para o cliente, tendo em conta os efeitos do defeito e as circunstâncias da solução alternativa apresentada.

### **10. Responsabilidade**

10.1 O licenciante é responsável, de acordo com as disposições legais, por danos, lesões e ferimentos pessoais, danos previstos na Lei de Responsabilidade por Produtos, danos causados por conduta ou intenção fraudulenta por parte do licenciante e danos causados por negligência grave por parte dos representantes legais ou funcionários executivos do licenciante.

10.2 Não obstante qualquer responsabilidade por danos de acordo com a secção 10.1, o licenciante é responsável por danos limitados ao montante dos danos previsíveis típicos do contrato no momento da celebração do contrato, danos resultantes de uma violação por negligência simples de obrigações contratuais essenciais, bem como danos causados por agentes indiretos do licenciante. As obrigações materiais são obrigações cujo cumprimento é essencial para a boa execução do contrato e em cujo cumprimento o licenciado pode confiar regularmente. Os danos contratuais típicos e previsíveis resultantes do incumprimento de obrigações por parte do licenciante correspondem ao montante da remuneração paga pelo cliente no ano contratual em que ocorreu o facto danoso, até um máximo de 50 000 euros. Se o montante máximo de responsabilidade não for atingido num ano contratual, o montante máximo de responsabilidade para o ano contratual seguinte não será aumentado.

10.3 Exclui-se qualquer outra responsabilidade por parte do licenciante, sob reserva de quaisquer disposições expressamente divergentes nos Termos e condições gerais. Nomeadamente, o licenciante não é responsável por defeitos iniciais, exceto se se verificarem as condições previstas nas cláusulas 10.1 ou 10.2. O licenciante não é responsável por danos incorridos pelo licenciado devido à falta de cópia de segurança dos dados.

10.4 A negligência contributiva por parte do cliente será tida em conta.

10.5 As limitações de responsabilidade acima referidas aplicam-se também à responsabilidade pessoal dos funcionários, representantes e/ou órgãos do licenciante. Aplicam-se igualmente à responsabilidade do licenciante no que diz respeito ao reembolso de gastos inúteis ou obrigações de indemnização.

### **11. Direitos de terceiros**

Se forem apresentadas queixas contra o cliente por terceiros devido a alegada infração de uma patente, direito de autor ou outro direito de propriedade industrial a que o terceiro tenha direito relativamente ao Software SIG, a SIG indemnizará o cliente contra queixas de terceiros, desde que o cliente informe imediatamente a SIG, por escrito, da alegada infração dos direitos de propriedade industrial e apoie a SIG na condução de qualquer ação judicial.

Na eventualidade de tal reclamação contra o cliente por parte de um terceiro, a SIG tem o direito, a seu critério, de providenciar para o cliente uma licença correspondente do terceiro, modificar o software SIG ou fornecer ao cliente outro software equivalente.

A SIG não será responsável por infrações aos direitos de propriedade resultantes do facto de o cliente modificar o software licenciado ou de o modificar de acordo com os seus próprios requisitos, ou de o Software SIG ser utilizado ou vendido em conjunto com outro software, hardware ou consumíveis não fornecidos pela SIG. Em matéria de responsabilidade, esta é a única responsabilidade da SIG pela violação de qualquer patente, marca registada, direito de autor ou outro direito de propriedade intangível.

## **12. Atualizações de software**

As atualizações do Software SIG serão fornecidas ao cliente sem quaisquer custos.

## **13. Pagamento**

A taxa de licença é paga no âmbito da compra dos Plasma-SeqSensei™ IVD Kits. Não será cobrada qualquer taxa adicional.

## **14. Vigência do contrato**

A autorização de utilização do Software SIG é válida para o período de vigência do contrato acordado (ver cláusula 1).

O contrato pode ser rescindido por escrito por qualquer uma das partes sem aviso prévio por justa causa. Existe justa causa, nomeadamente, se o cliente infringir os direitos de utilização do licenciante ao utilizar o software para além do permitido ao abrigo dos presentes Termos e condições gerais e não sanar a infração num prazo razoável após notificação do licenciante. O licenciante reserva-se o direito de reivindicar outros pedidos de indemnização.

## **15. Proteção de dados**

Na medida em que os dados pessoais são tratados, o licenciante deve cumprir as disposições legais relativas à proteção de dados. Os pormenores serão definidos num acordo de tratamento de dados a celebrar separadamente.

## **16. Disposições gerais**

Os presentes Termos e condições gerais regem-se pelo direito alemão. O foro exclusivo para todos os litígios decorrentes do presente contrato é o de Hamburgo.

Se uma ou mais disposições do presente contrato forem ou se tornarem inválidas, tal não afetará a validade do resto do contrato.

Não foi celebrado qualquer acordo verbal. Quaisquer alterações e aditamentos ao presente contrato deverão ser feitos por escrito.



Abril de 2024  
PSSWIFU.R4

Sysmex Inostics GmbH  
Falkenried 88  
20251 Hamburgo, Alemanha  
[www.sysmex-inostics.com](http://www.sysmex-inostics.com)

© 2024 Sysmex Inostics  
Todos os direitos reservados.

