

Local Run Manager

Módulo de análise do TruSight Oncology Comprehensive (UE)

Manual do fluxo de trabalho

PARA UTILIZAÇÃO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO
APENAS PARA EXPORTAÇÃO

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Descrição geral | 1 |
| Introduzir informações do ensaio | 1 |
| Métodos de análise | 8 |
| Resultados da análise | 18 |
| Ver resultados da análise | 40 |
| Recuperação de relatórios | 43 |
| Resolução de problemas | 45 |
| Anexo A fluxograma de indicadores de CQ | 46 |
| Anexo B indicadores de CQ | 48 |
| Anexo C referência do relatório TruSight Oncology Comprehensive (UE) | 52 |



| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| Anexo D MNV, indels e deleções no EGFR e RET detetáveis por identificador de variantes faseado | 54 |
| Histórico de revisões | 72 |
| Assistência Técnica | 73 |

Este documento e respetivo conteúdo são propriedade da Illumina, Inc. e das suas afiliadas (“Illumina”) e destinam-se unicamente a utilização contratual por parte dos clientes relativamente à utilização dos produto(s) descritos no presente documento e para nenhum outro fim. Este documento e respetivo conteúdo não podem ser utilizados ou distribuídos para qualquer outro fim e/ou de outra forma transmitidos, divulgados ou reproduzidos por qualquer via, seja de que natureza for, sem a autorização prévia por escrito da Illumina. A Illumina não concede qualquer licença ao abrigo da sua patente, marca comercial, direito de autor ou direitos de jurisprudência nem direitos semelhantes de quaisquer terceiros por via deste documento.

As instruções contidas neste documento têm de ser estrita e explicitamente seguidas por pessoal qualificado e com a devida formação para garantir a utilização adequada e segura dos produto(s) aqui descritos. Todo o conteúdo deste documento tem de ser integralmente lido e compreendido antes da utilização dos referidos produto(s).

A NÃO OBSERVÂNCIA DA RECOMENDAÇÃO PARA LEITURA INTEGRAL E SEGUIMENTO EXPLÍCITO DE TODAS AS INSTRUÇÕES AQUI CONTIDAS PODE RESULTAR EM DANOS NO(S) PRODUTO(S), LESÕES EM PESSOAS, INCLUINDO NOS UTILIZADORES OU OUTROS, E EM DANOS MATERIAIS, E IRÁ ANULAR QUALQUER GARANTIA APLICÁVEL AO(S) PRODUTO(S).

A ILLUMINA NÃO ASSUME QUALQUER RESPONSABILIDADE RESULTANTE DA UTILIZAÇÃO INADEQUADA DOS PRODUTO(S) AQUI DESCRITOS (INCLUINDO PARTES DOS MESMOS OU DO SOFTWARE).

© 2022 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados.

Todas as marcas comerciais são propriedade da Illumina, Inc. ou dos respetivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte www.illumina.com/company/legal.html.

Descrição geral

O módulo de análise Local Run Manager TruSight™ Oncology Comprehensive (UE) do Illumina® (Módulo de análise do TSO Comprehensive) analisa leituras de sequenciação de bancos de ADN e ARN preparados utilizando o ensaio TruSight Oncology Comprehensive (TSO Comprehensive). A utilização prevista para o Ensaio TSO Comprehensive pode ser encontrada em *Folheto informativo do TruSight Oncology Comprehensive (UE)* (documento n.º 200007789).

O Módulo de análise do TSO Comprehensive suporta a configuração, sequenciação, análise e relatório de ensaio para os bancos de ADN e ARN preparados. Para amostras de doentes, o Módulo de análise do TSO Comprehensive gera:

- ▶ Um relatório TSO Comprehensive para cada amostra de doente, que inclui diagnóstico complementar, perfil tumoral e resultados de controlo de qualidade (disponíveis nos formatos PDF e JSON).
- ▶ Um relatório de baixa profundidade (*.tsv) para cada amostra de doente, que inclui uma lista de posições genómicas (anotadas com símbolos genéticos), com profundidade de sequenciação insuficiente para excluir a presença de uma pequena variante num banco de ADN.
- ▶ Um ficheiro de indicadores de controlo de qualidade (*.tsv), que inclui o estado da análise e indicadores de controlo de qualidade para todas as amostras de doentes num ensaio de sequenciação.

Para amostras de controlo, o Módulo de análise do TSO Comprehensive gera um relatório de saída de controlo (*.tsv), que inclui resultados de controlo de qualidade para quaisquer amostras de controlo no ensaio de sequenciação.

O conjunto de aplicações de software TSO Comprehensive (UE) é utilizado para instalar o Módulo de análise do TSO Comprehensive e os componentes de software. O Claims Package TSO Comprehensive (UE) está instalado no Módulo de análise do TSO Comprehensive. Para números de peças e números de versão, consulte *Folheto informativo do TruSight Oncology Comprehensive (UE)* (documento n.º 200007789).

Sobre este guia

Este guia fornece instruções para a definição de parâmetros de ensaio para sequenciação e análise de parâmetros para o Módulo de análise do TSO Comprehensive. A utilização do software requer um conhecimento básico do sistema operativo Windows atual e da interface do utilizador baseada em navegador Web. Para obter informações sobre o painel Local Run Manager e as configurações do sistema, consulte *Manual de referência do instrumento NextSeq 550Dx* (documento n.º 1000000009513).

Introduzir informações do ensaio

Instrumento NextSeq 550Dx Local Run Manager é o software utilizado para configurar um ensaio Ensaio TSO Comprehensive. Para obter mais informações, consulte o *Manual de referência do instrumento NextSeq 550Dx* (documento n.º 1000000009513).

Introduza as informações de configuração do ensaio e da amostra diretamente no módulo de análise Módulo de análise do TSO Comprehensive.

Instalar uma base de conhecimentos

O Módulo de análise do TSO Comprehensive requer uma Base de Conhecimentos (KB) instalada, para realizar a análise. Estão disponíveis KB para descarregamento no portal Lighthouse do Illumina. A Illumina disponibiliza periodicamente novas KB. Para atualizar a KB instalada no instrumento, descarregue a respetiva versão mais recente compatível com o seu Módulo de análise do TSO Comprehensive. Ao atualizar uma KB, a instalada anteriormente é removida durante o processo de instalação. Não deve ser instalada uma KB enquanto estiver em curso um ensaio de sequenciação, análise ou outro processo de instalação.



ATENÇÃO

Para evitar a perda de dados, certifique-se de que não existem outros processos em curso, antes de seguir as instruções de instalação.

- 1 Descarregue a KB (formato zip) pretendida para um diretório local no seu instrumento ou num computador em rede. A unidade D é o local preferencial.
- 2 Abra o Local Run Manager no seu instrumento ou no computador em rede (rede local). Consulte *Manual de referência do instrumento NextSeq 550Dx (documento n.º 1000000009513)*, para obter mais informações sobre a gestão de utilizadores do LRM.
- 3 Inicie a sessão como administrador no LRM ou utilizador não administrador com autorização para editar as configurações do módulo.
- 4 Utilize o menu Ferramentas para navegar até ao ecrã Module Settings (Configurações do módulo).
- 5 Selecione **TSO Comp (EU)** (TSO Comp (UE)).
- 6 Selecione **Install New** (Instalar novo) na secção Versão da base de conhecimentos do ecrã.
- 7 Um assistente de instalação pedir-lhe-á que navegue até a localização do ficheiro zip da KB. Certifique-se de que está a instalar a KB descarregada no passo 1. O assistente também apresenta informações sobre a KB, incluindo o nome, a versão, a versão da base de dados RefSeq e a data da publicação.
- 8 No assistente de instalação, selecione **Continue** (Continuar). O instalador verifica se a KB é compatível com o Módulo de análise do TSO Comprehensive e se não está corrompida. Não é possível iniciar uma nova análise TSO Comprehensive, enquanto a KB estiver a ser instalada.



ATENÇÃO

Navegar para longe da página Module Settings (Configurações do módulo) ou fechar o navegador, enquanto a KB está a instalar, cancela o processo de instalação.

- 9 Após a conclusão da instalação, a nova KB é apresentada no ecrã Module Settings (Configurações do módulo). O nome da KB e a versão também são apresentados nos ecrãs Create Run (Criar ensaio), Requeue Analysis (Recolocar a análise em fila de espera) e Edit Run (Editar ensaio).

Informações do módulo de análise TSO Comprehensive

O Módulo de análise do TSO Comprehensive inclui informações sobre o módulo de análise, KB e versão do pacote de pedidos no ecrã Module Settings (Configurações do módulo).

- 1 Abra Local Run Manager no seu instrumento.

- 2 Utilize o menu Ferramentas para navegar até ao ecrã Module Settings (Configurações do módulo).
- 3 Selecione **TSO Comp (EU)** (TSO Comp (UE)).

O ecrã Module Settings (Configurações do módulo) apresenta as seguintes informações de instalação:

- ▶ **Device Identifier** (Identificador do dispositivo) – Um identificador único do dispositivo do Módulo de análise do TSO Comprehensive instalado e do Pacote de Pedidos associado. Este identificador não é afetado pela versão KB instalada.
- ▶ **Product Identifier** (Identificador do produto) – A versão do Módulo de análise do TSO Comprehensive instalado.
- ▶ **Modified On** (Modificado em) – A data e hora em que o próprio Módulo de análise do TSO Comprehensive foi instalado ou atualizado pela última vez.
- ▶ **Sequencing Run Settings** (Definições do ensaio de sequenciação) – Apresenta o tipo de leitura (extremidade emparelhada) e as definições de comprimento de leitura associadas ao Módulo de análise do TSO Comprehensive.
- ▶ **Claims Installed** (Pedidos instalados) – Apresenta a versão do Pacote de Pedidos instalado e os pedidos associados ao Diagnóstico Complementar. O Pacote de Pedidos inclui os pedidos de utilização prevista de diagnóstico complementar, que serão avaliados pelo Módulo de análise do TSO Comprehensive.
- ▶ **Knowledge Base Version** (Versão da base de conhecimentos) – Consulte *Instalar uma base de conhecimentos na página 2*, para obter instruções sobre como instalar ou atualizar o KB. Esta secção inclui informações de instalação da base de conhecimentos para os seguintes campos:

| Campo | Descrição |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Nome | O nome da KB. |
| Versão | A versão da KB. |
| Versão RefSeq | A versão do RefSeq incluída na KB. Quando as informações RefSeq provêm dos ficheiros cache do Preditor de Efeito de Variante (VEP) ¹ do Ensembl, é apresentada a versão do VEP. |
| Publicada | A data em que a KB foi publicada. |
| Instalada | A data em que a KB foi instalada. |
| Estado | O estado da instalação da KB. Será apresentado como Ready (Pronto), quando a instalação estiver concluída. |

¹ McLaren W, Gil L, Hunt SE, et al. The ensembl variant effect predictor. Genoma Biol. 2016 Jun 6;17(1): 122.g

Configurar parâmetros de ensaio

- 1 Inicie a sessão em Local Run Manager no instrumento ou a partir de um computador em rede.
- 2 Selecione **Create Run** (Criar ensaio) e, em seguida, selecione **TSO Comp (EU)** (TSO Comp (UE)).
- 3 Introduza um nome para o ensaio que o identifique a partir da sequenciação, através da análise com os seguintes critérios.
 - ▶ 1-40 caracteres.
 - ▶ Apenas caracteres alfanuméricos, traços inferiores ou travessões quadratim e meio-quadratim.

- ▶ Os traços inferiores e travessões devem ser precedidos e seguidos por um caractere alfanumérico.
 - ▶ Exclusivo em todos os ensaios no instrumento.
- 4 **[Opcional]** Introduza a descrição do ensaio, para ajudar a identificá-lo, com os seguintes critérios.
- ▶ 1-150 caracteres.
 - ▶ Apenas caracteres alfanuméricos ou espaços.
 - ▶ Os espaços devem ser precedidos e seguidos por um caractere alfanumérico.

Especificar amostras para o ensaio

Especifique as amostras para o ensaio utilizando uma das opções que se seguem.

- ▶ **Introduzir amostras manualmente** – Utilize a tabela em branco no ecrã Create Run (Criar ensaio). Consulte a *secção Número de bancos e seleção de índices na Folheto informativo do TruSight Oncology Comprehensive (UE) (documento n.º 200007789)*, para todas as configurações de amostras suportadas.
- ▶ **Importar amostras** – Aceda a um ficheiro externo no formato de valores separados por vírgulas (*.csv). Está disponível um modelo para descarregamento no ecrã Create Run (Criar ensaio).



ATENÇÃO

As divergências entre as amostras e os primers de indexação resultam na comunicação incorreta de resultados, devido à perda da identificação positiva da amostra. Introduza ID de amostras e atribua índices em Local Run Manager, antes de iniciar a preparação do banco. Registe os ID de amostras, índices e orientação do poço da placa, para referência durante a preparação do banco.



ATENÇÃO

Para evitar a perda de dados, certifique-se de que a instalação da KB não está em curso, antes de guardar um ensaio.

Introduzir amostras manualmente

- 1 Introduza um ID único de amostra no campo Sample ID (ID da amostra), com os seguintes critérios. **Todas as amostras de controlo devem ser adicionadas primeiro.** Consulte *Amostras de controlo na página 6*, para obter mais informações.
 - ▶ 1-25 caracteres.
 - ▶ Apenas caracteres alfanuméricos, traços inferiores ou travessões quadratim e meio-quadratim.
 - ▶ Os traços inferiores e travessões devem ser precedidos e seguidos por um caractere alfanumérico.
- 2 **[Opcional]** Introduza a descrição da amostra no campo Sample Description (Descrição da amostra), com os seguintes critérios.
 - ▶ 1-50 caracteres.
 - ▶ Apenas caracteres alfanuméricos, travessões quadratim e meio-quadratim, traços inferiores ou espaços.
 - ▶ Os espaços, traços inferiores e travessões devem ser precedidos e seguidos por um caractere alfanumérico.
- 3 Selecione um índice para o banco de ADN e/ou de ARN preparado a partir da amostra. Certifique-se de que as amostras de ARN e ADN estão em colunas separadas.

O campo DNA i7+i5 Sequence (Sequência i7+i5 de ADN) é automaticamente preenchido após selecionar um ID de Índice de ADN. O campo RNA i7+i5 Sequence (Sequência i7+i5 de ARN) é automaticamente preenchido após selecionar um ID de Índice de ARN.

Além do resumo aqui, consulte a secção Número de bancos e seleção de índices na *Folheto informativo do TruSight Oncology Comprehensive (UE)* (documento n.º 200007789), para a seleção de ID de índice.

- ▶ Para um banco de amostras de ADN, selecione um ID único de índice (índices UPxx ou CPxx) a partir do menu pendente de ID de índice de ADN.
 - ▶ Para um banco de amostras de ARN, selecione um ID único de índice (apenas UPxx) a partir do menu pendente de ID de índice de ARN.
 - ▶ Se existirem três bancos no total no ensaio, siga as diretrizes de seleção de índice e *Folheto informativo do TruSight Oncology Comprehensive (UE)* (documento n.º 200007789).
- 4 Utilize o campo Tumor Type (Tipo de tumor) para atribuir um tipo de tumor a cada amostra, selecionando o tipo de tumor mais específico disponível. Consulte [Selecionar um tipo de tumor na página 6](#).
 - 5 Utilize o campo Tumor Type (Tipo de tumor) para atribuir um dos seguintes tipos de controlo a cada controlo. Consulte [Amostras de controlo na página 6](#).
 - ▶ Controlo externo de ADN
 - ▶ Controlo externo de ARN
 - ▶ Controlo sem modelo de ADN
 - ▶ Controlo sem modelo de ARNSe utilizar o controlo de ADN TruSight Oncology, o tipo de controlo é o Controlo Externo de ADN. Se utilizar o controlo de ARN TruSight Oncology, o tipo de controlo é o Controlo Externo de ARN.
 - 6 Atribuir sexo.
 - 7 **[Opcional]** Selecione **Export to CSV** (Exportar para modelo e para CSV), para exportar as informações relativas a amostras para um ficheiro externo.
 - 8 Reveja as informações no ecrã Create Run (Criar ensaio). Informações incorretas podem afetar os resultados.
 - 9 Selecione **Save Run** (Guardar ensaio).

Importar amostras

- 1 Selecione **Import CSV** (Importar CSV) e navegue até à localização do ficheiro de informações relativas a amostras. Existem dois tipos de ficheiros que pode importar.
 - ▶ Selecione (Descarregar modelo) **Download CSV** (Descarregar CSV) no ecrã Create Run (Criar ensaio) para descarregar um novo de disposição de ficha de amostras. O ficheiro CSV contém os cabeçalhos das colunas necessários e o formato para importação. Introduza informações relativas a amostras em cada coluna do ensaio. Para a coluna Tumor Type (Tipo de tumor), introduza o termo do tipo de tumor ou código associado (consulte [Descarregar tipos de tumor na página 8](#)). O campo Tumor Type (Tipo de tumor) também é utilizado para designar amostras como controlos (consulte [Amostras de controlo na página 6](#)).
 - ▶ Utilize um ficheiro com informações relativas a amostras, que tenha sido exportado do Módulo de análise do TSO Comprehensive através da função Export to CSV (Exportar para modelo e para CSV).
- 2 No ecrã Create Run (Criar ensaio), reveja as informações importadas. Informações incorretas podem afetar os resultados.

- 3 **[Opcional]** Selecione **Export to CSV** (Exportar para modelo e para CSV), para exportar as informações relativas a amostras para um ficheiro externo.
- 4 Selecione **Save Run** (Guardar ensaio).

Amostras de controlo

Ensaio TSO Comprehensive requer a utilização de Controlos do TruSight Oncology. A designação de uma amostra como controlo define automaticamente o Sexo da amostra como Desconhecido. Para designar uma amostra como um controlo, selecione um dos quatro tipos de controlo, a partir do campo Tumor Type (Tipo de tumor): Controlo externo de ADN (controlo positivo de ADN), Controlo sem modelo de ADN, Controlo externo de ARN (controlo positivo de ARN) ou Controlo sem modelo de ARN. Consulte *Selecionar um tipo de tumor na página 6*, para obter mais informações sobre como definir tipos de tumor para todos os tipos de amostras, durante a configuração do ensaio.

Apenas um de cada tipo de controlo pode ser especificado num ensaio. Apenas pode ser especificado um banco de ADN para um controlo externo de ADN ou um controlo sem modelo de ADN. Apenas pode ser especificado um banco de ARN para um controlo externo de ARN ou um controlo sem modelo de ARN. Os bancos designados como controlos sem modelo de ADN ou ARN não são contabilizados, em relação ao número máximo de bancos num ensaio.

Consulte o *Folheto informativo do TruSight Oncology Comprehensive (UE) (documento n.º 200007789)* para obter mais informações sobre a utilização de amostras de controlo.

Selecionar um tipo de tumor

Deve ser especificado um tipo de tumor para cada amostra. Exceto para tipos de controlo, os tipos de tumor disponíveis são derivados da KB instalada e podem mudar com versões atualizadas da KB.

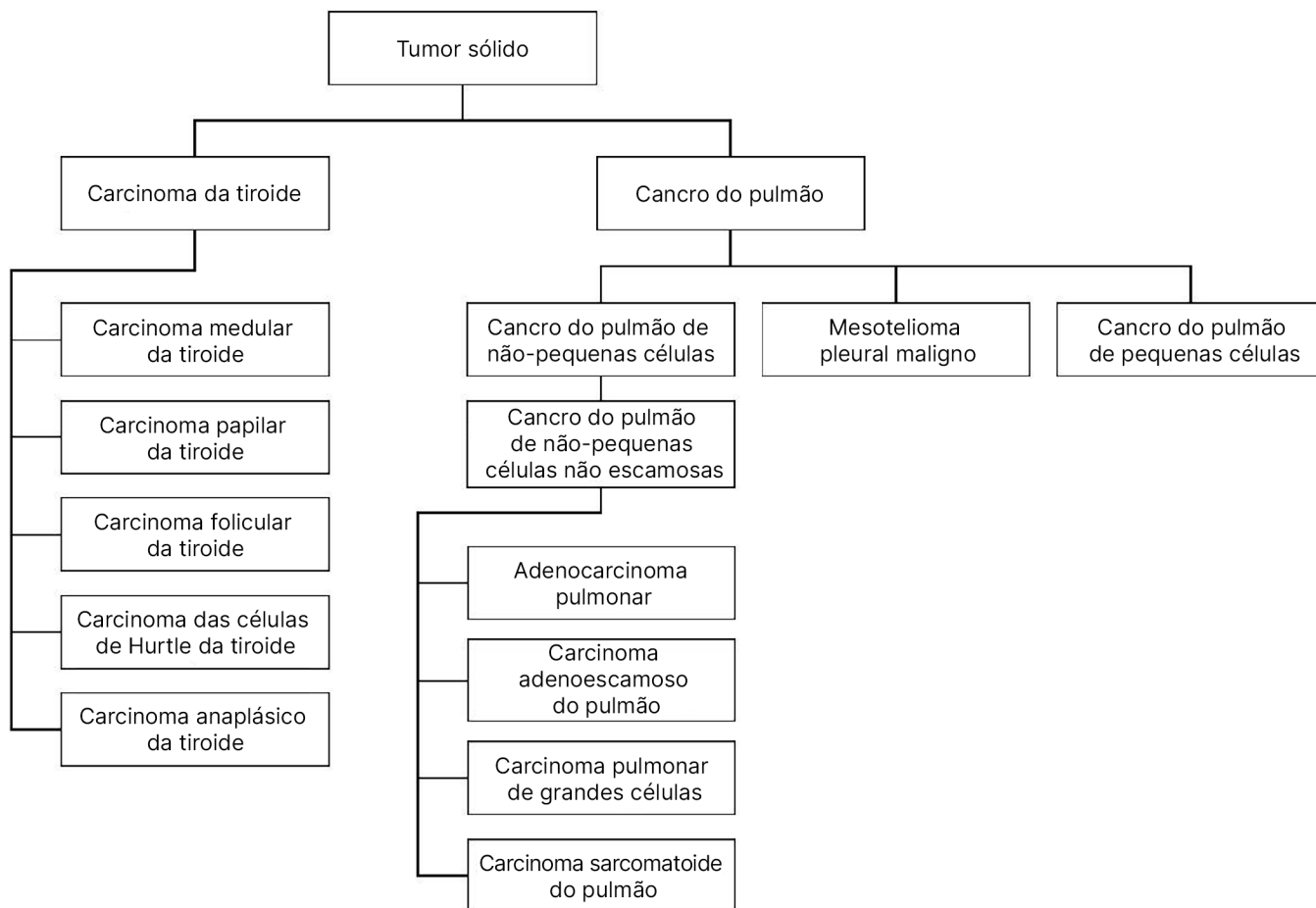


ATENÇÃO

A seleção incorreta do tipo de tumor pode causar resultados incorretos. Resolva quaisquer avisos que apareçam ao especificar tipos de tumor, para evitar a falha da análise.

Os termos do tipo de tumor fazem parte de uma ontologia da doença hierárquica na KB, que é construída como um conjunto de relações pai-filho. Por exemplo, o termo cancro do pulmão de não-pequenas células é um filho do cancro do pulmão, uma vez que aquele é um tipo deste. *Figura 1* representa um subconjunto de um exemplo de ontologia da doença, mostrando o tumor sólido como o termo raiz e os termos associados ao cancro do pulmão e cancro da tiroide (outros tipos de tumor não são mostrados). Um termo que está ligado, através de relações pai-filho, a termos de nível inferior é chamado de ascendente. Os termos de nível inferior ligados são descendentes do termo ascendente. Por exemplo, o cancro do pulmão é um ascendente do adenocarcinoma pulmonar e do cancro do pulmão de pequenas células, e o carcinoma medular da tiroide é descendente tanto do carcinoma da tiroide como do tumor sólido.

Figura 1 Subconjunto de um exemplo de ontologia da doença



O tipo de tumor selecionado para uma amostra de doente afeta:

- ▶ Que utilização ou utilizações previstas para o diagnóstico complementar são avaliadas para a amostra. Apenas serão avaliadas amostras de doentes com um tipo de tumor, que seja uma correspondência exata ou descendente do tipo de tumor para uma utilização prevista de diagnóstico complementar, para esse pedido.
- ▶ Que variantes de perfil tumoral estão incluídas no relatório Ensaio TSO Comprehensive. Consulte *Perfil tumoral de variantes na página 16*.

As instruções seguintes descrevem o processo de seleção de um tipo de tumor através do ecrã Create Run (Criar ensaio). O tipo de tumor também pode ser definido importando um ficheiro CSV contendo um tipo de tumor (consulte *Importar amostras na página 5*).

- 1 Visualize os tipos de tumor disponíveis clicando duas vezes na célula Tumor Type (Tipo de tumor) na linha para a amostra. Os tipos de tumor disponíveis são apresentados numa lista hierárquica organizada por ordem alfabética.
O campo Tumor Type (Tipo de tumor) também é utilizado para designar um tipo de controlo para amostras de controlo (consulte *Amostras de controlo na página 6*).
- 2 Localize e selecione o tipo de tumor desejado interagindo com a lista ou usando a barra de pesquisa, na parte superior da janela Tumor Type (Tipo de tumor).

Descarregar tipos de tumor

Pode ser descarregada uma lista completa de tipos de tumor disponíveis no formato TSV a partir do ecrã Create Run (Criar ensaio) utilizando o botão **Download Tumor Types TSV** (Descarregar tipos de tumor TSV). A lista contém as seguintes informações:

- ▶ O termo do tipo de tumor visível na interface do utilizador.
- ▶ A via completa do tipo de tumor dentro da hierarquia de tipos de tumor (ontologia da doença).
- ▶ O código utilizado pelo Módulo de análise do TSO Comprehensive para identificar o tipo de tumor.

Editar ensaio e iniciar sequenciação

Para obter instruções sobre como editar as informações do ensaio e iniciar um ensaio de sequenciação, consulte *Manual de referência do instrumento NextSeq 550Dx (documento n.º 1000000009513)*. A análise e o relatório começam assim que um ensaio de sequenciação estiver concluído.

Para efeitos de armazenamento, um ensaio de sequenciação pode produzir 40-100 GB de saída. A análise secundária de um ensaio de sequenciação pode produzir 100-200 GB de saída.

Métodos de análise

Após a recolha dos dados de sequenciação, estes são processados pelo Módulo de análise do TSO Comprehensive para realizar o controlo de qualidade, detetar variantes, determinar o estado de Carga Tumoral Mutacional (TMB) e instabilidade de microssatélites (MSI), determinar os resultados de diagnóstico complementares, avaliar a significância clínica e potencial significância clínica das variantes detetadas e comunicar os resultados. As secções seguintes descrevem os métodos de análise.

Controlo de qualidade de ensaio

Os indicadores de qualidade do ensaio de sequenciação são avaliados para determinar se estão dentro de um intervalo aceitável. A percentagem global de leituras que passam no filtro é comparada com um limiar mínimo. Para a Leitura 1 e Leitura 2, a percentagem média de bases \geq Q30, que fornece uma previsão da probabilidade de uma identificação de base incorreta (pontuação-Q), também são comparadas com um limiar mínimo. Se os valores para cada um destes três indicadores cumprirem as especificações, o CQ do ensaio será comunicado como PASS (PASSOU) e a análise continuará. Se um valor para qualquer um dos indicadores não cumprir a especificação, o CQ do ensaio será comunicado como FAIL (NÃO PASSOU) e a análise não prosseguirá. Para obter mais informações, consulte *Indicadores de controlo de qualidade na página 48*.

Produção de FASTQ

Os dados de sequenciação armazenados no formato BCL são desmultiplexados através de um processo que utiliza as sequências de índice, únicas para cada amostra que foi adicionada durante o passo de preparação do banco, para atribuir clusters ao banco, a partir do qual tiveram origem. Cada cluster contém dois índices (sequências i5 e i7, um em cada extremidade do fragmento do banco) e a combinação dessas sequências de índice é utilizada para desmultiplexar os bancos agrupados.

Após a desmultiplexagem, este processo gera ficheiros FASTQ, que contêm as leituras de sequenciação para cada banco de amostras individual e as pontuações de qualidade associadas a cada identificação de base, excluindo leituras de quaisquer clusters que não passaram no filtro.

Alinhamento do ADN e correção de erros

O alinhamento do ADN e a correção de erros envolvem o alinhamento de leituras de sequenciação, derivadas de bancos de amostras de ADN com um genoma de referência, e a correção de erros nas leituras de sequenciação, antes da identificação de variantes.

O passo de alinhamento utiliza o alinhador Burrows-Wheeler (BWA-MEM) com o utilitário SAMtools, para alinhar sequências de ADN nos ficheiros FASTQ, com o genoma de referência hg19, gerando ficheiros BAM (*.bam) e ficheiros de índice BAM (*.bam.bai).

Os ficheiros BAM iniciais são ainda processados para remover erros (incluindo erros introduzidos durante a amplificação ou sequenciação de PCR), em que as leituras derivadas da mesma molécula de ADN única são recolhidas numa única sequência representativa, alavancando o seu identificador molecular único (UMI) incorporado nos fragmentos do banco, durante a preparação do banco.

É realizada uma segunda ronda de alinhamento utilizando o BWA-MEM e o SAMtools nas leituras com colapso de UMI, resultando num segundo conjunto de ficheiros BAM com ficheiros de índice BAM correspondentes. Estes ficheiros BAM são utilizados como entrada para Identificações de amplificação genética.

Por fim, as inserções e deleções de candidatos são identificadas a partir dos alinhamentos de BAM colapsados e os pares de leitura são realinhados, em relação às inserções e deleções de candidatos para resgatar sinais de inserções e deleções, que possam ter sido perdidos devido a desalinhamento. Simultaneamente, os pares de leitura sobrepostos são unidos (ou seja, combinados bioinformaticamente) numa única leitura de consenso. Todas as leituras são então enviadas como um terceiro conjunto de ficheiros BAM, com ficheiros de índice BAM correspondentes. Estes ficheiros BAM são utilizados como entrada para pequenas identificações de variantes, determinação do estado de instabilidade de microssatélites (MSI) e controlo de qualidade do banco de ADN.

Identificação de variantes pequenas

A identificação de pequenas variantes é realizada para bancos de amostras de ADN (excluindo controlos sem modelo de ADN) para detetar pequenas variantes, incluindo variantes de nucleótido único (SNV), variantes de nucleótidos múltiplos (MNV) até 3 pares de bases (bp) em comprimento e inserções e deleções até 25 bp em comprimento. Determinados MNV, indels (um ou mais nucleótidos substituídos por um ou mais nucleótidos e não é um SNV ou MNV) e deleções podem exigir que seja detetada uma abordagem de faseamento. Um conjunto predefinido de MNV, indels e deleções é detetado para os genes EGFR e RET (ver *Anexo D MNV, indels e deleções no EGFR e RET detetáveis por identificador de variantes faseado na página 54*) utilizando uma abordagem de faseamento. A abordagem de faseamento para a identificação de variantes pequenas está limitada apenas a estas variantes. Os algoritmos de identificação de variantes não diferenciam entre variantes de origem somática ou germinativa.

Deteção de variantes pequenas

Os ficheiros BAM corrigidos de erros (colapsados e inserções e deleções realinhadas) são utilizados como entrada por um algoritmo de identificação inicial de variantes para detetar pequenas variantes. O passo de identificação inicial de variantes resulta em ficheiros de formato de identificação da variante do genoma (gVCF) não filtrado, que contêm referências ou identificações de casos de variantes para cada lócus-alvo do Ensaio TSO Comprehensive.

Filtragem de pequenas variantes

As variantes candidatas são então filtradas para artefactos recorrentes (específicos do ensaio) e artefactos de desaminação fixados em formalina e embebidos em parafina (FFPE) (específicos da amostra). Para lidar com artefactos específicos do ensaio, é calculada uma pontuação de qualidade ajustada comparando a frequência da variante observada com uma distribuição de ruído da linha de base para o mesmo centro. Esta distribuição foi derivada do estabelecimento de perfil de um conjunto de amostras FFPE normais de qualidades variáveis, através do Ensaio TSO Comprehensive. Para abordar artefactos específicos da amostra, as leituras que suportam a identificação de variantes são estratificadas por taxa de erro, com leituras originadas de duplex/combinadas, tendo a taxa de erro mais baixa e leituras originadas de simplex (ou seja, não duplex/sem composição) tendo a taxa de erro mais alta. Estas taxas de erro são estimadas avaliando todos os loci com frequências de alelos de variantes comunicadas abaixo de 5%. As leituras sem referência nestes locais devem-se em grande parte a erro, não tendo os eventos somáticos verdadeiros – devido à sua raridade relativa – impacto significativo nestas estimativas de taxa de erro. Uma vez que estas classes de leitura, duplex/combinadas e simplex, têm taxas de erro diferentes e específicas da amostra, a detecção confiável de uma variante candidata pode exigir mais ou menos leituras, em função dessa taxa de erro. Por exemplo, a uma profundidade de cobertura de 200 leituras, uma variante pode ser identificada com confiança com três leituras de apoio de alta qualidade ou com cinco leituras de apoio de menor qualidade.

As variantes de candidatos que não têm suporte de leitura suficiente com base neste modelo consciente de erro ou que têm pontuações de qualidade ajustadas baixas são marcadas com um sinalizador de filtro LowSupport e são consideradas identificações de referência. No caso de o centro também ter cobertura insuficiente para identificação de variantes (menos de 100x), a variante é marcada com um sinalizador de filtro LowSD e é considerada como não identificada. As variantes com elevada prevalência no COSMIC3 têm limiares mais baixos para cada um destes indicadores de qualidade, em comparação com as variantes não COSMIC. Este passo de filtragem resulta em ficheiros gVCF filtrados.

Faseamento de variante pequena

É utilizada um identificador de variantes faseado para identificar determinados MNV, indels e deleções nos genes EGFR e RET. O algoritmo identifica variantes nos genes EGFR e RET, que são candidatos para faseamento nos ficheiros gVCF filtrados do passo anterior, e organiza as variantes em centros de vizinhança. Em seguida, mina o ficheiro BAM corrigido de erros para encontrar qualquer evidência de que estas pequenas variantes ocorrem nas mesmas subpopulações clonais umas das outras (ou seja, em fase entre si). Isto é feito agrupando leituras sobrepostas na vizinhança, num conjunto mínimo de clusters que contêm as mesmas variantes. As variantes são detetadas examinando as cadeias do Concise Idiosyncratic Gapped Alignment Report (CIGAR) no ficheiro BAM e comparando as sequências de leitura com a sequência do genoma de referência.

Fusão de variantes pequenas

Por fim, os MNV, indels e deleções detetados pelo identificador de variantes faseado são fundidos nos ficheiros gVCF filtrados. Apenas os MNV, indels e deleções de uma lista predefinida de variantes nos genes EGFR e RET são elegíveis para fusão no gVCF (ver *Anexo D MNV, indels e deleções no EGFR e RET detetáveis por identificador de variantes faseado na página 54*). Os MNV, indels e deleções do identificador de variantes faseado têm precedência sobre os que possam já existir no gVCF desde o passo de identificação inicial de variantes. Esta etapa resulta em ficheiros gVCF fundidos.

Anotação de variante pequena

As pequenas variantes detetadas são anotadas utilizando o motor de anotação Nirvana com informações da base de dados RefSeq, bem como várias bases de dados de população (COSMIC, ClinVar, dbSNP, 1000 Genomes e gnomAD). A anotação das variantes pequenas é realizada várias vezes de forma independente, conforme descrito nas secções seguintes.

Bases de dados de anotação estática para cálculo de TMB

O Nirvana é utilizado para anotar pequenas identificações de variantes filtradas com bases de dados de anotação estáticas (não atualizáveis) para utilização no cálculo da TMB a jusante (ver *Carga tumoral mutacional na página 11*). O gVCF do passo de faseamento de variante pequena (consulte *Identificação de variantes pequenas na página 9*) é utilizado como dados de entrada. As variantes detetadas pelo identificador de variantes faseado não são utilizadas para o cálculo da TMB.

Bases de dados de anotações estáticas para identificações de diagnóstico complementar

O Nirvana é utilizado para anotar as identificações de variantes de união exão-intrão de ARN filtradas com bases de dados de anotação estáticas (não atualizáveis) para utilização pelas Identificações de diagnóstico complementar a jusante (consulte *Identificações de diagnósticos complementares na página 15*). O gVCF do passo de faseamento de variante pequena (consulte *Identificação de variantes pequenas na página 9*) é utilizado como dados de entrada.

Base de dados RefSeq atualizável para perfil tumoral

O Nirvana é utilizado para anotar as identificações de variantes pequenas filtradas, com uma base de dados RefSeq atualizável como parte de um processo de perfil tumoral de variantes a jusante (consulte *Perfil tumoral de variantes na página 16*). A base de dados RefSeq atualizável está incluída como parte da KB e pode ser atualizada periodicamente, para ser compatível com outros conteúdos da KB.

Identificação de amplificação genética

A identificação de amplificação genética é realizada para bancos de amostras de ADN (excluindo controlos sem modelo de ADN). É utilizado um algoritmo para identificar genes amplificados e calcular o valor de fold change para os genes de amplificação visados do Ensaio TSO Comprehensive. Um fold change para um determinado gene é derivado da profundidade de leitura normalizada do gene na amostra, em relação à profundidade de leitura normalizada das regiões diploides da mesma amostra. Um fold change que exceda um limiar específico do gene é considerado uma amplificação do gene. Esta etapa de análise resulta num ficheiro VCF, resumindo o estado da amplificação do gene e o fold change calculado para cada gene de amplificação visado.

Carga tumoral mutacional

A TMB é calculada para bancos de amostras de ADN (excluindo controlos sem modelo de ADN). É gerada uma pontuação de TMB a partir do ficheiro gVCF gerado pelo passo Small Variant Filter (Filtro de variantes pequenas) (consulte *Identificação de variantes pequenas na página 9*) e as anotações geradas durante anotações de variantes pequenas. As SNV e as variantes de inserções e deleções são incluídas no cálculo da pontuação de TMB, que é derivada da contagem de variantes somáticas sem condutor por megabase (região avaliável). As mutações do condutor são identificadas e filtradas com base na contagem COSMIC. Embora o Ensaio TSO Comprehensive não diferencie

entre variantes de origem somática ou germinativa, para fins de identificação de pequenas variantes, as variantes são sinalizadas como provavelmente germinativas, para fins de cálculo da pontuação de TMB, aproveitando uma combinação de estratégias de filtragem de bases de dados da população e pós-base de dados. As variantes que são observadas frequentemente na base de dados da população são provavelmente de origem germinativa. Após a filtragem da base de dados, o filtro indicador rotula as variantes como linha germinal, se estiverem rodeadas por variantes rotuladas com linha germinal na base de dados. As variantes identificadas como provavelmente germinativas são excluídas do cálculo da pontuação de TMB. A região avaliável é ajustada dinamicamente por amostra, com base na profundidade de sequenciação. As regiões genómicas com um elevado nível de ruído de fundo são excluídas do cálculo da TMB. A TMB é calculada como o número de variantes somáticas sem “hotspot” com VAF \geq 5% dividido pela dimensão da região avaliável.

Estado de instabilidade de microssatélites

Para determinar o estado de MSI de uma amostra, é avaliado um total de 130 centros MSI predefinidos. Para cada centro, a distribuição da extensão de repetição é comparada com um painel de amostras normais, para ver se a distribuição de repetição é significativamente alterada. A pontuação de MSI final é calculada como o número de centros instáveis dividido pelo número total de centros utilizáveis (ou seja, centros com cobertura suficiente). Uma amostra é considerada de MSI-H se a sua pontuação de MSI for \geq 20,00%.

Controlo de qualidade para bancos de amostras de ADN

Os bancos de amostras de ADN (apenas amostras de doentes) são avaliados quanto à potencial contaminação pelo ADN de outras amostras (ADN dador) utilizando uma combinação de uma pontuação e um valor de p de contaminação. Em amostras contaminadas, existem variantes de linhagem germinativa (polimorfismos de nucleótido único ou SNP) que têm desvios de VAF dos valores esperados de 0%, 50% ou 100%. O algoritmo calcula uma pontuação de logaritmo de verosimilhança em todas as posições comuns de SNP, onde as identificações de SNV são comunicadas. Quanto maior for a pontuação de contaminação, maior é a probabilidade de haver contaminação por ADN dador. O valor de p de rearranjo resume uma pontuação de desequilíbrio cromossómico, que representa a verosimilhança geral das identificações de variantes observadas em cada cromossoma. Uma amostra é considerada contaminada se a pontuação de contaminação e o valor de p de rearranjo estiverem acima dos limiares de qualidade predefinidos. Se for detetada contaminação, o CQ do banco de ADN será comunicado como Fail (Não passou) e não estarão disponíveis resultados para pequenas variantes, amplificações de genes, MSI ou TMB. Além disso, pode não estar disponível um resultado de diagnóstico complementar ou perfil tumoral, se depender da passagem do CQ do banco de ADN.

Os indicadores de CQ são utilizados para avaliar a validade de pequenas identificações de variantes, TMB, MSI e amplificações de genes para bancos de amostras de ADN, que passam no controlo de qualidade da contaminação. Se o banco de amostras falhar um ou mais indicadores de qualidade, o tipo de variante ou biomarcador correspondente não é comunicado e a categoria de CQ associada no cabeçalho do relatório será apresentada como FAIL (NÃO PASSOU). Além disso, pode não estar disponível um resultado de diagnóstico complementar ou perfil tumoral, se depender da passagem do CQ de uma ou mais das categorias de CQ abaixo.

Os resultados de CQ do banco de ADN estão disponíveis no ficheiro MetricsOutput.tsv. Consulte [Saída de indicadores na página 36](#).

Relatórios de baixa profundidade para Bancos de Amostras de ADN

É gerado um relatório de baixa profundidade para cada amostra de doente com um banco de ADN, que inclui uma lista de posições genómicas com uma profundidade de sequenciação total < 100 e para as quais não foi detetada uma pequena variante de passagem. Estas posições têm profundidade de sequenciação insuficiente, para excluir a presença de uma pequena variante. Note que ainda é possível detetar variantes com uma profundidade de sequenciação total < 100, se existir profundidade de sequenciação suficiente do alelo variante.

As posições contíguas de baixa profundidade, sobrepostas aos mesmos genes, são combinadas em intervalos genómicos no relatório de baixa profundidade. Cada intervalo genómico no relatório é anotado com um ou mais símbolos do gene RefSeq. A anotação RefSeq baseia-se na base de dados RefSeq incluída como parte da KB e pode ser alterada com uma atualização da mesma.

Consulte *Relatório de baixa profundidade na página 39*, para obter detalhes sobre o conteúdo.

Alinhamento de ARN

O alinhamento de ARN é realizado para bancos de amostras de ARN e inclui o pré-processamento de leituras de sequenciação não alinhadas, o alinhamento de leituras de sequenciação com um genoma de referência e o pós-processamento de leituras de sequenciação alinhadas.

Primeiro, as sequências de ARN nos ficheiros FASTQ são reduzidas para aproximadamente 30 milhões de leituras por banco de amostras de ARN. Isto é feito selecionando aleatoriamente leituras dos ficheiros FASTQ de entrada, após uma distribuição de probabilidade. Em seguida, as extremidades das sequências de ARN são cortadas para um comprimento máximo de 76 pares de bases.

As leituras pré-processadas são então alinhadas com o genoma de referência hg19 e as zonas de união exão-intrão candidatas são identificadas. Isto gera ficheiros BAM e ficheiros de índice BAM para leituras alinhadas e um ficheiro de texto delimitado por tabulação para zonas de união exão-intrão candidatas.

Finalmente, as leituras duplicadas são marcadas nos ficheiros BAM, de modo a poderem ser excluídas dos passos a jusante. Este passo gera ficheiros BAM e ficheiros de índice BAM, que são utilizados como entrada para a identificação de fusão de ARN e de variantes de união exão-intrão de ARN.

Identificações de fusão de ARN

A identificação de fusões é realizada para bancos de amostras de ARN (excluindo controlos sem modelo de ARN). As fusões candidatas são identificadas a partir de pares de leitura anómalos (ou seja, leituras alinhadas com diferentes cromossomas ou em orientações inesperadas) nos ficheiros BAM (gerados durante o Alinhamento de ARN) para os genes-alvo de fusão do Ensaio TSO Comprehensive. Os fragmentos de apoio às fusões são montados em contigs de fusão candidatos. Os contigs de fusão candidatos são então alinhados de volta no genoma de referência. Estes contigs de fusão candidatos são então avaliados em relação a uma variedade de filtros, antes de serem comunicados como detetados. Estes filtros estão resumidos na tabela seguinte.

| Filtro | Descrição |
|---------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Impreciso | Um candidato de baixa resolução, não uma identificação de fusão montada. |
| RepeatOverlap | A fusão é marcada como sobreposta a uma região de repetição. Utilizado apenas como filtro para o mapeamento não exclusivo de candidatos a fusão. |

| Filtro | Descrição |
|------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| WeakBreakend | A evidência de leitura/alinhamento num lado da fusão é fraca. Normalmente, este filtro indica que os fragmentos apenas se sobrepõem à fusão por alguns pares de bases. Em alternativa, pode indicar demasiada homologia. |
| DuplicateContig | Os dois meios-contigs da fusão são compostos pela mesma sequência. |
| ContigIntragenic | O realinhamento de meios-contigs produz alinhamentos que mapeiam para o mesmo gene em ambos os lados (ou dentro de 1 kb, se não anotado). |
| LowQ | Os fragmentos de apoio às fusões únicos são inferiores a um limiar predefinido (o limiar é de 5 para 9-16 milhões de fragmentos; 6 para 16-26 milhões de fragmentos; 7 para 26-30 milhões de fragmentos). |

Podem ser detetadas fusões adicionais através do processo de identificação de variantes de união exão-intrão de ARN (consulte [Identificação de variantes de união exão-intrão de ARN na página 14](#) e [Incorporação de fusões de ARN na página 14](#)).

Identificação de variantes de união exão-intrão de ARN

A identificação de variantes de união exão-intrão de ARN é realizada para bancos de amostras de ARN (excluindo controlos sem modelo de ARN). As variantes de união exão-intrão candidatas (zonas) do Alinhamento de ARN são comparadas com uma base de dados de transcrições conhecidas e uma linha de base de variante de união exão-intrão de zonas não tumorais geradas a partir de um conjunto de amostras FFPE normais de diferentes tipos de tecido. Quaisquer variantes de união exão-intrão que correspondam à base de dados ou à linha de base são filtradas, a menos que estejam num conjunto de zonas com função oncológica conhecida. Se houver apoio de leitura suficiente, a variante de união exão-intrão candidata é mantida. Este processo também identifica fusões de ARN candidatas (consulte [Incorporação de fusões de ARN na página 14](#)).

Incorporação de fusões de ARN

Fusões identificadas durante a identificação da fusão de ARN são incorporadas a fusões de genes proximais, identificados durante a identificação de variantes de união exão-intrão de ARN. Estes são então anotados com símbolos ou nomes de genes, em relação a uma base de dados estática de transcrições (GENCODE versão 19). O resultado deste processo é um conjunto de identificações de fusão que são elegíveis para comunicação.

Anotação da variante de união exão-intrão de ARN

As variantes de união exão-intrão de ARN detetadas são anotadas utilizando o motor de anotação Nirvana, com informações da base de dados RefSeq. A anotação das variantes de união exão-intrão é realizada várias vezes de forma independente, conforme descrito nas secções seguintes.

Base de dados RefSeq estática para identificações de diagnóstico complementar

O Nirvana é utilizado para anotar as identificações de variantes de união exão-intrão de ARN detetadas com bases de dados RefSeq estáticas (não atualizáveis) para utilização pelas Identificações de diagnóstico complementar a jusante (consulte [Identificações de diagnósticos complementares na página 15](#)). As variantes de união exão-intrão são anotadas com alterações ao nível da transcrição (ou seja, exões afetados na transcrição de um gene), em relação ao RefSeq. Esta base de dados RefSeq é a mesma que a base de dados RefSeq estática utilizada pelo processo de Anotação de Variante Pequena.

Base de dados RefSeq atualizável para perfil tumoral

O Nirvana é utilizado para anotar as identificações de variantes de união exão-intrão de ARN detetadas, com uma base de dados RefSeq atualizável como parte de um processo de perfil tumoral de variantes a jusante (consulte [Perfil tumoral de variantes na página 16](#)). As variantes de união exão-intrão são anotadas com alterações ao nível da transcrição (ou seja, exões afetados na transcrição de um gene), em relação ao RefSeq. A base de dados RefSeq atualizável está incluída como parte da KB e pode ser atualizada periodicamente, para ser compatível com outros conteúdos da KB.

Controlo de qualidade para bancos de amostras de ARN

Os indicadores de CQ são utilizados para avaliar a validade dos bancos de amostras de ARN. Se um indicador de CQ não estiver dentro do intervalo aceitável, o CQ do Banco de ARN será comunicado como FAIL (NÃO PASSOU) e não estarão disponíveis resultados para fusões ou variantes de união exão-intrão. Além disso, pode não estar disponível um resultado de diagnóstico complementar ou perfil tumoral, se depender da passagem do CQ do banco de ARN.

Os resultados de CQ do banco de ARN estão disponíveis no ficheiro MetricsOutput.tsv. Consulte [Saída de indicadores na página 36](#).

Transcrições

Uma transcrição é uma cadeia de ARN que é transcrita do ADN. Esse ARN pode então ser traduzido para criar uma proteína. Um gene pode ter múltiplos transcrições, tais como, se forem utilizados promotores diferentes ou existem diferentes padrões de união exão-intrão de exões. Cada transcrição tem um número único. Na nomenclatura HGVS, uma alteração de nucleótidos, que afeta uma sequência de codificação, pode ser listada com referência a um transcrito, com a primeira letra a indicar o alelo de tipo selvagem e a segunda letra a indicar o alelo variante. Por exemplo, NM_004333.4:c.1799T>A significa que na posição 1799 da transcrição NM_004333.4, o ARN codifica um T no genoma de referência, mas é alterado para um A nesta variante.

Relatórios de controlo

É gerado um relatório de saída de controlo para cada análise e inclui uma avaliação de cada amostra de controlo incluída no ensaio. O Módulo de análise do TSO Comprehensive não invalida automaticamente as amostras de doentes, com base nos resultados da amostra de controlo.

Consulte o *Folheto informativo do TruSight Oncology Comprehensive (UE) (documento n.º 200007789)* para obter orientações sobre a validade do ensaio e a validade das amostras do doente, com base nos resultados das amostras de controlo.

O relatório de saída de controlo está disponível no ficheiro ControlOutput.csv. Consulte [Relatório de saída de controlo na página 34](#).

Identificações de diagnósticos complementares

Para cada utilização prevista de diagnóstico complementar (CDx) instalada, o Módulo de análise do TSO Comprehensive determina a aplicabilidade da utilização prevista de CDx para cada amostra de doente, com base no respetivo tipo de tumor da amostra. Se o tipo de tumor da amostra do doente for uma correspondência exata ou descendente do tipo de tumor para uma utilização prevista de CDx, é considerado aplicável a essa utilização prevista de CDx. Consulte [Selecionar um tipo de tumor na página 6](#), para obter mais informações sobre a ontologia da doença. Se o tipo de tumor do doente não for aplicável a uma utilização prevista de CDx, esta não será avaliada para essa amostra.

Se um banco de sequenciação necessário (ADN ou ARN) para uma utilização prevista de CDx não for sequenciada ou falhar o CQ, a amostra do doente não será avaliada para essa utilização prevista de CDx. Se um tipo de variante (por exemplo, variantes pequenas) ou biomarcador necessário para uma utilização prevista de CDx falhar o CQ, a amostra do doente não será avaliada para essa utilização prevista de CDx.

Assim que for determinado que uma utilização prevista de CDx é aplicável a uma amostra de doente, os bancos necessários são sequenciados e as medidas de CQ necessárias são aprovadas, a utilização prevista de diagnóstico complementar será avaliada para a amostra de doente. As variantes e/ou biomarcadores detetados na amostra do doente são avaliados para determinar o resultado para a utilização prevista de CDx. Isto é feito através de um algoritmo específico para a utilização prevista de CDx, que avalia a presença e/ou ausência de variantes/biomarcadores que correspondam à utilização prevista de CDx.

Resultados de diagnósticos complementares

Os resultados das identificações CDx são disponibilizados no TSO Comprehensive relatório (consulte as [Relatório TruSight Oncology Comprehensive na página 19](#)). As utilizações previstas de CDx positivo são apresentadas na secção Resultados de diagnósticos complementares do TSO Comprehensive relatório.

Perfil tumoral de variantes

Após a determinação dos resultados de diagnósticos complementares, todas as variantes que passaram e que foram detetadas numa amostra de doente são comparadas com a KB instalada, para determinar as conclusões genómicas que têm evidência de significância clínica ou potencial significância clínica. Este processo é chamado de perfil tumoral de variantes. Uma conclusão genómica é uma variante única com evidência de significância clínica ou potencial significância clínica, ou um agrupamento de variantes que, quando detetadas em conjunto, têm evidência de significância clínica ou potencial significância clínica.

Quando múltiplas variantes são listadas em conjunto como uma conclusão genómica, significa que existem evidências de significância clínica ou potencial significância clínica para essas variantes em conjunto, em pelo menos uma das fontes listadas nos detalhes informáticos do relatório. Se existirem várias conclusões genómicas e uma variante estiver incluída em mais do que um destes, essa variante pode ser listada mais do que uma vez num relatório. Uma variante única só será listada ao mais alto nível, quando cumprir os critérios para comunicação. Cada um dos seguintes exemplos de significância clínica envolveu múltiplas variantes:

- ▶ NTRK1 p.(Gly595Arg) está indicada para causar resistência a um ou mais inibidores de TRK, em doentes com uma fusão de TRK elegível (informação de prescrição aprovada pela FDA Larotrectinib 211710s0001b1).
- ▶ Foi observado que um doente no ensaio clínico LIBRETTO-001 tinha RET D898_E901del e RET D903_S904delinsEP. O doente apresentou resposta tumoral ao tratamento com um inibidor RET (PMID 32846061).
- ▶ Uma análise exploratória dos ensaios BOLERO-1 e -3 sugeriu que as doentes, com cancro da mama com amplificação de ERBB2, beneficiaram clinicamente da inibição de mTOR se os tumores apresentassem ativação da via PI3K ou mutações AKT1 E17K (PMID 27091708).
- ▶ Uma mutação BRAF p.(Val600Glu) coocorrendo com a mutação do promotor TERT está associada a um prognóstico desfavorável no carcinoma papilar da tiroide, de acordo com as principais diretrizes dos EUA.

Conclusões genómicas com evidência de significância clínica

As conclusões genómicas com evidência de significância clínica são comunicadas na secção Conclusões genómicas com evidência de significância clínica do relatório TSO Comprehensive (consulte as *Relatório TruSight Oncology Comprehensive na página 19*). As conclusões genómicas são comunicadas nas Conclusões genómicas com evidência de significância clínica, se cumprirem os seguintes critérios:

- ▶ A conclusão genómica está associada a benefício ou falta de benefício de uma terapêutica, conforme evidenciado por um rótulo do medicamento aprovado pela EMA ou rótulo do medicamento aprovado pela FDA. O tipo de tumor da amostra tem de ser igual ou descendente do tipo de tumor da associação na KB na ontologia da doença. Consulte *Selecionar um tipo de tumor na página 6*, para obter mais informações sobre a ontologia da doença.
- ▶ A conclusão genómica está associada ao benefício ou à falta de benefício de uma terapêutica, tem relevância diagnóstica ou tem relevância prognóstica, conforme evidenciado por uma ESMO, ASCO ou outra diretriz publicada de prática clínica importante dos EUA. O tipo de tumor da amostra tem de ser igual ou descendente do tipo de tumor da associação na KB na ontologia da doença. Consulte *Selecionar um tipo de tumor na página 6*, para obter mais informações sobre a ontologia da doença.

Conclusões genómicas com potencial significância clínica

As conclusões genómicas com potencial significância clínica são relatadas na secção Conclusões genómicas com potencial significância clínica do TSO Comprehensive relatório (ver *Relatório TruSight Oncology Comprehensive na página 19*). As conclusões genómicas são comunicadas nas Conclusões genómicas com potencial significância clínica, se cumprirem os seguintes critérios:

- ▶ A conclusão genómica cumpre os critérios das Conclusões genómicas com evidência de significância clínica (ou seja, rótulo do medicamento aprovado pela EMA, rótulo do medicamento aprovado pela FDA, diretriz da ESMO, diretriz da ASCO ou outra diretriz principal dos EUA), mas apenas quando o tipo de tumor da amostra não corresponder ao tipo de tumor na associação à KB. O tipo de tumor da amostra não deve, portanto, ser igual e não ser descendente do tipo de tumor da associação à KB.
- ▶ A variante tem uma associação terapêutica, diagnóstica ou prognóstica, na literatura clínica que descreve um estudo clínico. O tipo de tumor da amostra deve ser igual ou descendente do tipo de tumor da associação à KB.
- ▶ A variante está incluída nos critérios de elegibilidade para um ensaio clínico de inclusão (fase I/II, II, II/III, III ou IV) registado em clinicaltrials.gov ou no registo de ensaios clínicos da UE (EUCTR). O tipo de tumor da amostra deve ser igual ou descendente do tipo de tumor do ensaio clínico.

A TMB e a MSI são sempre comunicadas em de Nível 3 da FDA, independentemente do tipo de tumor da amostra.

Alterações de nivelamento devido a atualizações de KB

À medida que as evidências clínicas se acumulam para variantes na oncologia de precisão, as atualizações de KB são disponibilizadas para refletir as alterações. Variantes que inicialmente não eram comunicáveis, devido à falta de evidências clínicas, podem ser comunicadas posteriormente em Conclusões genómicas com evidência de significância clínica ou Conclusões genómicas com potencial significância clínica, através de uma atualização do conteúdo de KB. Da mesma forma, as variantes podem passar de conclusões genómicas com evidência de significância clínica para conclusões genómicas com potencial significância clínica ou vice-versa. As variantes detetadas que

não cumprem os critérios para qualquer nível não são comunicadas. As associações de suscetibilidade ou risco de cancro são excluídas da KB e não têm impacto no nivelamento. As associações terapêuticas utilizadas para nivelamento estão limitadas a terapêuticas oncológicas e imunoterapias direcionadas (não incluindo imunoterapias baseadas em células).

Resultados positivos de CDx

As variantes de diagnóstico complementar comunicadas nos resultados de diagnóstico complementar são excluídas de serem comunicadas como conclusões genómicas de variante única em Conclusões genómicas com evidência de significância clínica e Conclusões genómicas com potencial significância clínica. No entanto, as conclusões genómicas que envolvem múltiplas variantes podem ainda ser comunicadas em Conclusões genómicas com evidência de significância clínica e Conclusões genómicas com potencial significância clínica mesmo que uma das variantes seja comunicada em resultados de diagnósticos complementares.

Anotações COSMIC

As variantes comunicadas nas Conclusões genómicas com evidência de significância clínica ou Conclusões genómicas com potencial significância clínica são anotadas com um ID COSMIC, conforme aplicável, a partir da base de dados do Catálogo de Mutações Somáticas no Cancro (COSMIC), que é incluída como parte da KB.

Resultados da análise

Quando a análise estiver concluída, o Módulo de análise do Local Run Manager TruSight Oncology Comprehensive gera uma pasta de análise na pasta de saída configurada para o sistema. Consulte o *Manual de referência do instrumento NextSeq 550Dx (documento n.º 1000000009513)* para obter mais informações sobre a configuração da pasta de saída.

Ver resultados da análise:

- 1 Navegue até ao diretório que contém a pasta de análise.
- 2 Abra a pasta de análise para ver os ficheiros de saída.
O nome da pasta de análise será formatado como **Analysis_#** onde # é predefinido para 1 e é aumentado sucessivamente por um para cada recolocação de análise em fila de espera. É criada uma subpasta, **YYYYMMDD_HHMMSS**, dentro da pasta de análise e indica a data e hora da análise (por exemplo, **20210101_145958**).

Ficheiros

Esta secção descreve os ficheiros de saída de resumo, gerados durante a análise.

Relatórios de resultados

Os relatórios do TSO Comprehensive são produzidos em formato PDF e JSON para cada amostra de doente, que concluiu a análise com sucesso. Os resultados são apresentados para pré-visualização no separador Samples and Results (Amostras e resultados) na secção Results Reports (Relatórios de resultados). As amostras que não concluíram a análise com sucesso são listadas com uma mensagem de erro. Selecione **Export Report** (Exportar relatório) para descarregar um TSO Comprehensive relatório em formato PDF. Consulte a pasta de análises resultantes para obter relatórios do TSO Comprehensive para todas as amostras concluídas.

Relatório TruSight Oncology Comprehensive

As tabelas seguintes descrevem as secções que constituem os relatórios do TSO Comprehensive produzidos para cada amostra de doente nos formatos PDF e JSON. O relatório PDF é legível por humanos, enquanto o relatório JSON é construído com estruturas de dados, que se destinam a ser analisadas por máquinas. As informações encontradas apenas no relatório JSON e não refletidas no relatório PDF estão marcadas como ND para este relatório. Variantes, não comunicadas nos resultados de diagnósticos complementares ou que não cumpram os critérios de inclusão nas Conclusões genómicas com evidência de significância clínica ou Conclusões genómicas com potencial significância clínica, não são incluídas nos relatórios.

Consulte *Folheto informativo do TruSight Oncology Comprehensive (UE)* (documento n.º 200007789) para interpretação dos resultados.

Consulte o esquema JSON nas páginas de apoio TSO Comprehensive no site de apoio Illumina, para obter informações adicionais sobre a estrutura, campos e valores possíveis no relatório JSON.

- **Informações sobre a amostra, ensaio e análise** – Contém informações gerais sobre a amostra do doente e o relatório.

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON | Descrição |
|------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Data do relatório | reportDate | Data em que o relatório foi gerado. |
| ND | reportTime | Hora em que o relatório foi gerado. |
| ID da amostra | sampleInformation / sampleId | Identificador de amostra. Os dados demográficos do doente não estão incluídos. |
| Tipo de tumor | sampleInformation / tumorType | Tipo de tumor associado à amostra do doente. |
| ND | sampleInformation / tumorTypeCode | Tipo de código de tumor associado à amostra do doente. |
| ND | sampleInformation / tumorTypePath | Via do tipo de tumor (relativamente à ontologia da doença) associada à amostra do doente. |
| ND | sampleInformation / tumorTypeCodePath | Via do código do tipo de tumor (relativamente à ontologia da doença) associada à amostra do doente. |
| Sexo | sampleInformation / sex | Sexo do doente (masculino, feminino ou desconhecido). |
| Data de análise | sampleInformation / analysisDate | Data em que a análise secundária foi concluída. |
| ND | sampleInformation / analysisTime | Hora em que a análise secundária foi concluída. |
| ID do ensaio | sampleInformation / analysisRunId | ID do ensaio de sequenciação. |
| ND | sampleInformation / analysisRunName | Nome do ensaio de sequenciação. |

- **Controlo de qualidade** – Contém informações sobre o controlo de qualidade. Para obter mais informações sobre como o controlo de qualidade é avaliado, consulte o *Anexo A fluxograma de indicadores de CQ* na página 46.

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON | Descrição |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CQ do ensaio | qualityControl / estado / (item de matriz com etiqueta = "Run QC" (CQ do ensaio)) | <p>O CQ do ensaio (PASS (PASSOU), FAIL (NÃO PASSOU) ou N/A (ND)) aplica-se a todas as amostras contidas num único ensaio de sequenciação.</p> <p>PASS (PASSOU) – O ensaio é válido.</p> <p>FAIL or N/A (NÃO PASSOU ou ND) – O ensaio é inválido. Todos os estados de CQ específicos de amostras de ARN e ADN são N/A (ND) (CQ do banco de ADN, CQ de MSI de ADN, CQ de variantes pequenas de ADN e de TMB, CQ da variante do número de cópia de ADN, CQ do banco de ARN) e não existem variantes ou biomarcadores listados no relatório.</p> <p>Consulte o <i>Folheto informativo do TruSight Oncology Comprehensive (UE) (documento n.º 200007789)</i> para obter orientações sobre a validade do ensaio e a validade das amostras do doente, com base nos resultados das amostras de controlo.</p> |
| CQ do banco de ARN | qualityControl / estado / (item de matriz com rótulo = "RNA Library QC" (CQ do banco de ARN)) | <p>O CQ do banco de ARN (PASS (PASSOU), FAIL (NÃO PASSOU) ou N/A (ND)) aplica-se ao banco de ARN que foi sequenciado.</p> <p>PASS (PASSOU) – o banco de RNA passou em todos os indicadores de CQ específicos de ARN.</p> <p>FAIL (NÃO PASSOU) – o banco de ARN falhou um ou mais indicadores de CQ específicos de ARN.</p> <p>N/A (ND) – o banco de ARN para a amostra não foi sequenciado ou o CQ do ensaio teve um valor de FAIL (NÃO PASSOU).</p> <p>Se o valor for FAIL (NÃO PASSOU) ou N/A (ND), não existem tipos de variantes de ARN (variantes de união exão-intrão ou de fusão) no relatório.</p> |
| CQ do banco de ADN | qualityControl / estado / (item de matriz com rótulo = "DNA Library QC" (CQ do banco de ADN)) | <p>O CQ do banco de ADN (PASS (PASSOU), FAIL (NÃO PASSOU) ou N/A (ND)) aplica-se ao banco de ADN que foi sequenciado.</p> <p>PASS (PASSOU) – o banco de ADN passou no indicador de CQ da contaminação.</p> <p>FAIL (NÃO PASSOU) – o banco de ADN falhou o indicador de CQ da contaminação.</p> <p>N/A (ND) – o banco de ADN para a amostra não foi sequenciado ou o CQ do ensaio tinha um valor de FAIL (NÃO PASSOU).</p> <p>Se o valor for FAIL (NÃO PASSOU) ou N/A (ND), não são comunicados quaisquer tipos de variantes de ADN (variantes pequenas, variantes de números de cópias) ou biomarcadores de ADN (TMB, MSI).</p> |
| CQ de MSI de ADN | qualityControl / estado / (item de matriz com rótulo = "DNA MSI QC" (CQ de MSI de ADN)) | <p>O CQ de MSI de ADN (PASS (PASSOU), FAIL (NÃO PASSOU) ou N/A (ND)) aplica-se ao banco de ADN que foi sequenciado.</p> <p>PASS (PASSOU) – o banco de ADN passou no indicador de CQ específico de MSI e CQ do banco de ADN a montante.</p> <p>FAIL (NÃO PASSOU) – o banco de ADN falhou o indicador de CQ específico de MSI.</p> <p>N/A (ND) – o banco de ADN para a amostra não foi sequenciado, o CQ do banco de ADN para a amostra foi FAIL (NÃO PASSOU) ou o CQ do ensaio teve um valor de FAIL (NÃO PASSOU).</p> <p>Se o valor for FAIL (NÃO PASSOU) ou N/A (ND), o biomarcador de MSI não é relatado e listado como Not evaluable (Não avaliável).</p> |

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON | Descrição |
|-------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CQ de pequena variante de ADN e de TMB | Controlo de qualidade / estado / (item de matriz com rótulo = "DNA Small Variant & TMB QC" (CQ de pequenas variantes de ADN e de TMB)) | O CQ de pequena variante de ADN e de TMB (PASS (PASSOU), FAIL (NÃO PASSOU) ou N/A (ND)) aplicam-se ao banco de ADN que foi sequenciado. PASS (PASSOU) – o banco de ADN passou nos indicadores de CQ específicos de pequena variante e TMB e nos indicadores de CQ do banco de ADN a montante. FAIL (NÃO PASSOU) – o banco de ADN falhou um ou mais dos indicadores de CQ específicos da variante pequena e da TMB. N/A (ND) – o banco de ADN para a amostra não foi sequenciado, o CQ do banco de ADN para a amostra foi FAIL (NÃO PASSOU) ou o CQ do ensaio teve um valor de FAIL (NÃO PASSOU). Se o valor for FAIL (NÃO PASSOU) ou N/A (ND), não existem pequenas variantes no relatório e o biomarcador TMB está listado como Not evaluable (Não avaliável). |
| CQ da variante do número de cópias de ADN | qualityControl / estado / (item de matriz com rótulo = "DNA Copy Number Variant QC" (CQ da variante do número de cópias de ADN)) | O CQ (PASS (PASSOU), FAIL (NÃO PASSOU) ou N/A (ND)) da variante do número de cópias de ADN (CNV) aplica-se ao banco de ADN que foi sequenciado. PASS (PASSOU) – o banco de ADN passou todos os indicadores de CQ específicos de variante do número de cópias e nos indicadores de CQ do banco de ADN a montante. FAIL (NÃO PASSOU) – o banco de ADN falhou um ou mais dos indicadores de CQ específicos da variante do número de cópias. N/A (ND) – o banco de ADN para a amostra não foi sequenciado, o CQ do banco de ADN para a amostra foi FAIL (NÃO PASSOU) ou o CQ do ensaio teve um valor de FAIL (NÃO PASSOU). Se o valor for FAIL (NÃO PASSOU) ou N/A (ND), não existem ampliações de genes no relatório. |

- **Configuração do módulo de análise e da base de conhecimentos do TruSight Oncology Comprehensive** – Contém informações sobre o software e versões da KB utilizadas, quando o relatório foi gerado.

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON | Descrição |
|---------------------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Versão da base de conhecimentos | softwareConfiguration / knowledgeBaseVersion | Versão da base de conhecimentos instalada no Módulo de análise do TSO Comprehensive. |
| Data da publicação da base de conhecimentos | softwareConfiguration / knowledgeBasePublishedDate | Data associada à base de conhecimentos que foi utilizada para gerar o relatório. |
| Versão do módulo | softwareConfiguration / moduleSoftwareVersion | Versão do Módulo de análise do TSO Comprehensive utilizado para gerar o relatório. |
| Versão do Claims Package | softwareConfiguration / claimsPackageVersion | Versão do Claims Package instalado com o Módulo de análise do TSO Comprehensive. |

- **Resultados de diagnósticos complementares** – Os resultados para utilizações previstas de diagnósticos complementares (CDx), em que foi detetada uma variante ou biomarcador associado, são listados nos relatórios PDF e JSON. Utilizações previstas adicionais de diagnóstico complementar em que uma variante ou biomarcador associado não foi detetado, ou que não foram avaliados, estão listadas apenas no relatório JSON. Consulte *Utilizações previstas avaliadas do diagnóstico complementar* na página 26.

| Campo no relatório PDF | Campo(s) no relatório JSON | Descrição |
|-----------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| [Caixa de mensagem] | reportFindings / companionDiagnosticResults / resultados / noEntryText | É opcionalmente apresentada uma mensagem nesta secção. É possível a seguinte mensagem: No Companion Diagnostic biomarkers for the stated sample tumor type were detected (Não foram detetados biomarcadores de diagnóstico associados para o tipo de tumor da amostra indicado) – Esta mensagem é incluída quando qualquer uma das seguintes situações for verdadeira, para todas as utilizações previstas de CDx: <ul style="list-style-type: none"> • A amostra passa no CQ, mas não foi detetada qualquer variante ou biomarcador associado ou o seu tipo de tumor não é aplicável. • A amostra falha nos indicadores de CQ necessários e o seu tipo de tumor não é aplicável. |
| [Caixa de mensagem] | reportFindings / companionDiagnosticResults / resultados / mensagem | É opcionalmente apresentada uma mensagem nesta secção. É possível a seguinte mensagem: One or more biomarkers or variant types failed CQ, or the appropriate nucleic acid was not run (Um ou mais biomarcadores ou tipos de variantes falharam o CQ ou o ácido nucleico apropriado não foi executado) – Esta mensagem é incluída quando pelo menos uma utilização prevista de CDx, aplicável ao tipo de tumor da amostra não pôde ser avaliada devido a uma falha do CQ ou devido a não ter um banco de ADN ou ARN sequenciado. Quaisquer biomarcadores de CDx detetados aparecem numa tabela por baixo desta mensagem. Consulte <i>Utilizações previstas avaliadas do diagnóstico complementar na página 26</i> , para obter os motivos pelos quais uma utilização prevista de CDx não foi avaliada. |
| ND | reportFindings / companionDiagnosticResults / resultados / genomicFindings / (item de matriz para utilização prevista de CDx) / companionDiagnosticName | Nome da utilização prevista do diagnóstico complementar. Inclui descrição de biomarcadores, terapêutica e tipo de tumor. |
| Variantes/Biomarcadores detetados | reportFindings / companionDiagnosticResults / resultados / genomicFindings / (item de matriz para utilização prevista de CDx) / variantes | Uma lista de variantes ou biomarcadores detetados associados a uma utilização prevista de CDx detetada para a amostra. No relatório JSON, este campo está vazio para utilizações previstas de CDx, se o resultado não for igual ao detetado. |
| Terapêutica | reportFindings / companionDiagnosticResults / resultados / genomicFindings / (item de matriz para utilização prevista de CDx) / terapêutica | A terapêutica associada à utilização prevista de CDx. |

| Campo no relatório PDF | Campo(s) no relatório JSON | Descrição |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Utilização | reportFindings / companionDiagnosticResults / resultados / genomicFindings / (item de matriz para utilização prevista de CDx) / utilização | Utilização da terapêutica de CDx (Indicated (Indicada) ou See note (Ver nota)). No relatório JSON, este campo existe para utilizações previstas de CDx, se o resultado não for igual ao detetado. Indicated (Indicado) – a terapêutica associada é indicada para utilização. See Note (Ver nota) – uma nota descreve a utilização da terapêutica. |
| Detalhes | reportFindings / companionDiagnosticResults / resultados / genomicFindings / (item de matriz para utilização prevista de CDx) / nota reportFindings / companionDiagnosticResults / resultados / genomicFindings / (item de matriz para utilização prevista de CDx) / variantes / (item de matriz para variantes em conclusões genómicas) | Contém uma nota opcional e uma lista de detalhes de variantes. No relatório PDF, a ordem dos detalhes de variantes corresponde à ordem das variantes listadas para o campo Detected Variants/Biomarkers (Variantes/Biomarcadores Detetados). Consulte a Tabela 1 , Tabela 2 , Tabela 3 e Tabela 4 , para obter uma lista de campos de detalhes de variantes. No relatório JSON, estes campos estão vazios para utilizações previstas de CDx, se o resultado não for igual ao detetado. |
| ND | reportFindings / companionDiagnosticResults / resultados / genomicFindings / (item de matriz para utilização prevista de CDx) / detailedResult / resultado | Um valor codificado para o resultado da utilização prevista do CDx. Os valores possíveis incluem o seguinte: detected (detetado) – A utilização prevista de CDx é aplicável ao tipo de tumor da amostra e uma ou mais variantes ou biomarcadores associados à utilização prevista de CDx foram detetados na amostra. notDetected – A utilização prevista de CDx é aplicável ao tipo de tumor da amostra, mas não foram detetadas variantes ou biomarcadores associados à utilização prevista de CDx na amostra. tumorTypeNonMatch – A utilização prevista de CDx não é aplicável ao tipo de tumor da amostra. nucleicAcidNA – A amostra não tinha um banco de ADN ou ARN sequenciado, que é necessário para a utilização prevista de CDx. qcFail – A utilização prevista de CDx não foi avaliada devido a uma falha do CQ. didNotCompleteAnalysis – A análise não foi concluída com êxito para a amostra. negative (negativo) – Valor do marcador de posição para utilização futura. |

- ▶ **Outras alterações e biomarcadores identificados** – Esta secção contém informações de perfil tumoral para a amostra, com variantes detetadas, TMB e MSI classificadas em conclusões genómicas com evidência de significância clínica ou conclusões genómicas com potencial significância clínica. Consulte [Perfil tumoral de variantes na página 16](#), para obter detalhes sobre como é determinado um nível para variantes detetadas.
- ▶ **Conclusões genómicas com evidência de significância clínica** – Cada entrada nesta secção é uma conclusão genómica, que é uma variante única com evidência de significância clínica ou um agrupamento de variantes que, quando detetadas em conjunto, têm evidência de significância clínica. Se não forem detetadas variantes, o relatório apresenta uma mensagem No Detected Variants (Sem variantes detetadas).

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON | Descrição |
|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Variantes detetadas | reportFindings / otherFindings / genomicFindingsWithEvidenceOfClinicalSignificance / resultados / genomicFindings / (item de matriz para conclusões genómicas) / variantes | <p>Uma lista de variantes detetadas que fazem parte da conclusão genómica.</p> <p>Para pequenas variantes, inclui o símbolo do gene e a alteração da proteína, alteração da transcrição ou alteração genómica no formato da Human Genome Variation Society (HGVS), por exemplo, NRAS p.(Gln61Arg).</p> <p>Para amplificações de genes, inclui o símbolo do gene seguido de Gain (Ganho), por exemplo, ERBB2 Gain.</p> <p>Para fusões, inclui os símbolos ou nomes de ambos os genes parceiros (da versão 19 da GENCODE), separados por um - ou /. Quando separada por um -, a ordem genética comunicada corresponde à orientação transcrita (5' a 3'). Quando separada por um /, não foi possível determinar a orientação. Se vários genes estiverem sobrepostos a um ponto de corte, todos são listados e delimitados por ponto e vírgula.</p> <p>Para variantes de união exão-intrão, inclui o símbolo do gene e exão ou exões afetados (consoante o caso), por exemplo, MET Exon 14 skipped (exão 14 do MET ignorado).</p> |
| Detalhes | reportFindings / otherFindings / genomicFindingsWithEvidenceOfClinicalSignificance / resultados / genomicFindings / (item de matriz para conclusões genómicas) / variantes / (item de matriz para variantes em conclusões genómicas) | <p>Contém uma lista de detalhes de variantes. No relatório PDF, a ordem dos detalhes de variantes corresponde à ordem das variantes listadas para o campo Detected Variants/Biomarkers (Variantes/Biomarcadores Detetados). Consulte a Tabela 1, Tabela 2, Tabela 3 e Tabela 4, para obter uma lista de campos de detalhes de variantes.</p> |

- **Conclusões genómicas com potencial significância clínica** – A TMB e a MSI são ambas relatadas nesta secção, quando existe um banco de ADN sequenciado para a amostra. Uma entrada nesta secção é uma conclusão genómica, que é uma variante única com potencial significância clínica ou um agrupamento de variantes que, quando detetadas em conjunto, têm potencial significância clínica. Se não forem detetadas variantes, o relatório apresenta uma mensagem No Detected Variants (Sem variantes detetadas).

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON | Descrição |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| TMB | reportFindings / otherFindings / biomarcadores / tumorMutationalBurden | <p>A TMB é uma medição do número estimado de mutações somáticas transportadas por células tumorais por megabase, na região de codificação. A TMB é comunicada como Not evaluable (Não avaliável) se não puder ser avaliada devido a uma falha de CQ ou se não tiver sido sequenciado um banco de ADN para a amostra.</p> <p>A TMB está sempre incluída nos resultados genômicos com potencial significância clínica.</p> |
| MSI | reportFindings / otherFindings / biomarcadores / microsatelliteInstability | <p>Estado de MSI. Os valores possíveis incluem o seguinte:</p> <p>MSI-Stable (MSI-estável) – Microssatélite estável.</p> <p>MSI-High (MSI-Elevada) – Instabilidade de microssatélites elevada.</p> <p>Not evaluable (Não avaliável) – O estado de MSI não pôde ser avaliado devido a uma falha de CQ ou à não sequenciação de um banco de ADN para a amostra.</p> <p>A MSI está sempre incluída nos resultados genômicos de com potencial significância clínica.</p> |
| Variantes detetadas | reportFindings / otherFindings / genomicFindingsWithPotentialClinicalSignificance / resultados / genomicFindings / (item de matriz para conclusões genômicas) / variantes / (todos os itens de matriz) / detectedVariantLabel | <p>Uma lista de variantes detetadas que fazem parte da conclusão genômica.</p> <p>Para pequenas variantes, inclui o símbolo do gene e a alteração da proteína, alteração da transcrição ou alteração genômica no formato da Human Genome Variation Society (HGVS), por exemplo, NRAS p.(Gln61Arg).</p> <p>Para amplificações de genes, inclui o símbolo do gene seguido de Gain (Ganho), por exemplo, ERBB2 Gain.</p> <p>Para fusões, inclui os símbolos ou nomes de ambos os genes parceiros (da versão 19 da GENCODE), separados por um - ou /. Quando separada por um -, a ordem genética comunicada corresponde à orientação transcrita (5' a 3'). Quando separada por um /, não foi possível determinar a orientação. Se vários genes estiverem sobrepostos a um ponto de corte, todos são listados e delimitados por ponto e vírgula.</p> <p>Para variantes de união exão-intrão, inclui o símbolo do gene e exão ou exões afetados (consoante o caso), por exemplo, MET Exon 14 skipped (exão 14 do MET ignorado).</p> |
| Detalhes | reportFindings / otherFindings / genomicFindingsWithEvidenceOfClinicalSignificance / resultados / genomicFindings / (item de matriz para conclusões genômicas) / variantes | <p>Contém uma lista de detalhes de variantes. No relatório PDF, a ordem dos detalhes de variantes corresponde à ordem das variantes listadas para o campo Detected Variants/Biomarkers (Variantes/biomarcadores detetados). Consulte a Tabela 1, Tabela 2, Tabela 3 e Tabela 4, para obter uma lista de campos de detalhes de variantes.</p> |

- ▶ **CQ de diagnósticos complementares** – Esta secção lista as posições genómicas associadas a uma utilização prevista de CDx que não tinha profundidade suficiente para fazer uma identificação de referência confiante. Apenas são listadas as utilizações previstas de CDx, que envolvem pequenas variantes e que foram avaliadas para uma amostra.

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON | Descrição |
|------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| [Lista de posições] | reportFindings / companionDiagnosticResults / qualityControl / insufficientQuality / informações introduzidas / (item de matriz para utilização prevista de CDx) / posições | Uma lista de posições genómicas para a utilização prevista associada de CDx, com cobertura insuficiente. |

- ▶ **Utilizações previstas avaliadas do diagnóstico complementar** – Esta secção lista todas as utilizações previstas instaladas de CDx, com um campo que indica se a utilização prevista de CDx foi avaliada para a amostra. Se uma utilização prevista de CDx não tiver sido avaliada, é apresentado um motivo.

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON | Descrição |
|------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------------------------------------------------|
| Tipo de tumor | reportFindings / companionDiagnosticResults / qualityControl / intendedUsesEvaluated / companionDiagnosticTable / informações introduzidas / (item de matriz para utilização prevista de CDx) / tumorType | De acordo com a declaração de Utilização Prevista. |
| Biomarcadores | reportFindings / companionDiagnosticResults / qualityControl / intendedUsesEvaluated / companionDiagnosticTable / informações introduzidas / (item de matriz para utilização prevista de CDx) / biomarcadores | De acordo com a declaração de Utilização Prevista. |
| Terapêutica | reportFindings / companionDiagnosticResults / qualityControl / intendedUsesEvaluated / companionDiagnosticTable / informações introduzidas / (item de matriz para utilização prevista de CDx) / terapêutica | De acordo com a declaração de Utilização Prevista. |

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON | Descrição |
|-------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Utilização prevista de CDx avaliada | reportFindings / companionDiagnosticResults / qualityControl / intendedUsesEvaluated / companionDiagnosticTable / informações introduzidas / (item de matriz para utilização prevista de CDx) / intendedUseEvaluated | <p>Indica se a utilização prevista de CDx foi avaliada para a amostra (Sim/Não).</p> <p>A avaliação da utilização prevista de CDx requer a aprovação das categorias específicas de CQ do ácido nucleico ou variante/tipo de biomarcador associado à utilização prevista de CDx.</p> <p>As utilizações previstas de CDx associadas à deteção de pequenas variantes (SNV, MNV, Indel) requerem que o ADN seja sequenciado e que as seguintes categorias de CQ passem:</p> <ul style="list-style-type: none"> • CQ do ensaio • CQ do banco de ADN • CQ de pequena variante de ADN e de TMB <p>As utilizações previstas de CDx associadas à deteção de fusões requerem que o ARN seja sequenciado e que as seguintes categorias de CQ passem:</p> <ul style="list-style-type: none"> • CQ do ensaio • CQ do banco de ARN <p>Para ser avaliado, o tipo de tumor da amostra tem de ser igual ou um subtipo do tipo de tumor listado na tabela Utilizações previstas avaliadas do diagnóstico complementar. Consulte Selecionar um tipo de tumor na página 6.</p> |
| Comentário | reportFindings / companionDiagnosticResults / qualityControl / intendedUsesEvaluated / companionDiagnosticTable / informações introduzidas / (item de matriz para utilização prevista de CDx) / comentário | <p>Se o campo CDx Intended Use Evaluated (Utilização prevista de CDx avaliada) for Sim e não forem necessários comentários adicionais, este campo apresenta um travessão.</p> <p>Se o campo CDx Intended Use Evaluated (Utilização prevista de CDx avaliada) for Sim e existirem comentários adicionais para listar, pode ser apresentado um comentário como o seguinte. Exemplo:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Algumas posições genómicas associadas ao pedido de CDx tinham cobertura insuficiente. Consulte a secção Posições genómicas de diagnósticos complementares com Cobertura Insuficiente para Deteção de Variantes Pequenas para obter detalhes. <p>Se o campo CDx Intended Use Evaluated (Utilização prevista de CDx avaliada) for Não, é apresentado um comentário como o seguinte. Exemplos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • O tipo de tumor da amostra não corresponde ao tipo de tumor correspondente à utilização prevista de CDx. • Dados de ADN ou ARN associados a um biomarcador de CDx não disponível • A categoria de CQ necessária não foi aprovada. |

- **Sobre o teste, detalhes informativos, limitações** – Contém informações gerais sobre o teste, bem como uma lista de limitações.

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON | Descrição |
|------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------|
| Sobre o teste | sobre / descrição | Descrição do teste. |
| Detalhes informáticos | detalhes / (uma propriedade JSON por subsecção) | Uma breve descrição das secções do relatório e outros detalhes informativos. |
| Limitações | limitações / descrição | Lista de limitações do ensaio e do relatório. |

► **Painel de genes do TruSight Oncology Comprehensive** – Contém informações sobre o painel de genes.

| Campo no relatório PDF | Campo(s) no relatório JSON | Descrição |
|------------------------|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Painel de genes | genePanel / geneList / genes / genePanel / geneList / genes / variantes | A lista de genes que fazem parte do painel, incluindo uma nota de rodapé indicando que tipos de variantes são avaliados para que genes. Pequenas variantes são identificadas em todos os genes. |

Tabela 1 Detalhes de variantes pequenas no relatório

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON (caminho relativo na variante objeto JSON) | Descrição |
|--------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tipo | tipo / valor | O tipo detalhado de variante. Os valores possíveis para variantes pequenas incluem: SNV – variante de nucleótido único. Insertion (Inserção) – Adição de nucleótidos até 25 bp. Deletion (Deleção) – Remoção de nucleótidos até 25 bp. MNV – Variante de nucleótidos múltiplos, sendo uma substituição de dois ou três nucleótidos pelo mesmo número de nucleótidos. Indel – Um ou mais nucleótidos substituídos por um ou mais nucleótidos e não é uma SNV ou MNV. Isto é normalmente referido como “delins” (deleções + inserções). |
| VAF | adicionalInfo / (item de matriz com propriedade de etiqueta = “VAF”) / valor | Frequência de alelos de variantes (como percentagem). |
| Consequência | adicionalInfo / (item de matriz com propriedade de etiqueta = “Consequence” [Consequência]) / valor | Variante de consequência da ontologia da sequência. |
| Alteração de nucleótidos | adicionalInfo / (item de matriz com propriedade de etiqueta = “Nucleotide Change” [Alteração de nucleótidos]) / valor | Alteração da sequência de referência do ADN de codificação (ou seja, transcrição RefSeq) na nomenclatura HGVS. Se a variante não tiver impacto numa transcrição, é incluída a alteração à sequência de referência genómica na nomenclatura HGVS. |
| Posição Genómica | adicionalInfo / (item de matriz com propriedade de etiqueta = “Genomic Position” [Posição genómica]) / valor | Posição genómica (hg19) no cromossoma:formato posição. Refere-se à posição da primeira base no alelo de referência. |
| Alelo de referência | adicionalInfo / (item de matriz com propriedade de etiqueta = “Reference Allele” [Alelo de referência]) / valor | Alelo de referência. |

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON (caminho relativo na variante objeto JSON) | Descrição |
|-------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Alelo alternativo | adicionallInfo / (item de matriz com propriedade de etiqueta = "Alternate Allele" [Alelo alternativo]) / valor | Alelo alternativo. |
| ND | cosmicids | Lista de ID de mutação genómica associados à variante da base de dados Catalogue of Somatic Mutations In Cancer (COSMIC) (Catálogo de mutações somáticas no cancro), conforme aplicável. |
| ND | detailedSmallVariantData / vcfChromosome | Cromossoma. |
| ND | detailedSmallVariantData / vcfPosition | Posição genómica (hg19). Refere-se à posição da primeira base no alelo de referência (detailedSmallVariantData / campo referenceAllele). |
| ND | detailedSmallVariantData / vcfRefAllele | O alelo de referência. |
| ND | detailedSmallVariantData / vcfVariantFrequency | Frequência de alelos de variantes. |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições | Anotações detalhadas ao nível da transcrição para uma transcrição (conforme aplicável). Apenas está incluída uma única transcrição preferencial. |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / transcrição | ID da transcrição. |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / fonte | Fonte da transcrição (por exemplo, RefSeq). |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / bioType | Uma classificação de biotipo Ensembl para a transcrição. |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / aminoAcids | A alteração nos aminoácidos, conforme aplicável (por exemplo, G/D). |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / cdnaPos | Posição de ADNc. |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / codões | Alteração da sequência do codão (por exemplo, gGt/gAt), conforme aplicável. |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / cdsPos | Posição da sequência de codificação, conforme aplicável. |

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON (caminho relativo na variante objeto JSON) | Descrição |
|-------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / exões | O exão ou exões afetados pela variante e a contagem total de exões, conforme aplicável. Por exemplo, 4-6/7 indicaria que os exões 4, 5 e 6 foram afetados e que esta transcrição contém 7 exões no total. |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / intrões | Os intrões afetados pela variante, conforme aplicável. |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / geneld | ID do gene do National Center for Biotechnology Information (NCBI) (Centro Nacional de Informações sobre Biotecnologia). |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / hgnc | Símbolo do gene do HUGO Gene Nomenclature Committee (HGNC) (Comité de Nomenclatura de Genes HUGO). |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / consequência | Matriz de consequências de variantes da Ontologia da Sequência. |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / hgpsc | Alteração da sequência de referência do ADN de codificação (ou seja, transcrição RefSeq) na nomenclatura HGVS, conforme aplicável. |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / hgvsp | Alteração na sequência de proteínas na nomenclatura HGVS, conforme aplicável. |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / isCanonical | Exibe verdadeiro, se esta transcrição for considerada a transcrição canônica do gene, caso contrário exibe falso. Uma transcrição canônica para um gene é determinada da seguinte forma: Apenas transcrições NM e NR estão incluídas. As transcrições para um gene são ordenadas pela seguinte ordem: <ul style="list-style-type: none"> • As informações introduzidas de genoma de referência de locus (LRG) são anteriores às informações introduzidas não LRG. • Comprimento descendente do CDS. • Comprimento descendente da transcrição. • Número de registo. Com esta classificação, a primeira transcrição é considerada canônica. |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / proteinId | ID da proteína. |
| ND | detailedSmallVariantData / anotação / transcrições / (primeiro item de matriz) / proteinPos | Posição da proteína. |

Tabela 2 Detalhes da amplificação do gene no relatório

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON (caminho relativo na variante objeto JSON) | Descrição |
|------------------------|--------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tipo | tipo / valor | O tipo detalhado de variante. Os valores possíveis para amplificações de genes incluem: CNV – Variante do número de cópias (as amplificações de genes são as únicas variantes do número de cópias listadas no relatório). |
| Fold Change | detailedCopyNumberVariantData / foldChange | A fold change da profundidade de leitura normalizada na amostra, em relação à profundidade de leitura normalizada nos genomas diplóides. |
| ND | detailedCopyNumberVariantData / copyNumberType | O valor é <DUP> para todas as amplificações de genes. |
| ND | detailedCopyNumberVariantData / gene | Símbolo do gene. |
| ND | detailedCopyNumberVariantData / chromosome | Cromossoma do gene. |
| ND | detailedCopyNumberVariantData / startPosition | Posição inicial (hg19) do gene. |
| ND | detailedCopyNumberVariantData / endPosition | Posição final (hg19) do gene. |

Tabela 3 Detalhes de fusão no relatório

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON (caminho relativo na variante objeto JSON) | Descrição |
|-------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tipo | tipo / valor | O tipo detalhado de variante. Os valores possíveis para fusões incluem: Fusão |
| Ponto de corte 1 | additionalInfo / (item de matriz com propriedade de etiqueta = "Breakpoint 1" [Ponto de corte 1]) | Fusão observada no ponto de corte 1 em ARN. Cromossoma:formato de posição (hg19). |
| Ponto de corte 2 | additionalInfo / (item de matriz com propriedade de etiqueta = "Breakpoint 2" [Ponto de corte 2]) | Fusão observada no ponto de corte 2 em ARN. Cromossoma:formato de posição (hg19). |
| Fragmentos de apoio às fusões | additionalInfo / (item de matriz com propriedade de etiqueta = "Fusion Supporting Reads" [Fragmentos de apoio às fusões]) | Contagem de fragmentos de apoio às fusões. |
| ND | detailedGeneFusionData / fusionDirectionalityKnownAndIndicatedByGeneOrder | Exibe verdadeiro quando a ordem do gene/ponto de corte corresponde à orientação transcrita (5' a 3'). Exibe falso quando não foi possível determinar a orientação. |
| ND | detailedGeneFusionData / fusionSupportingReads | Contagem de fragmentos de apoio às fusões. |
| ND | detailedGeneFusionData / partner1 / gene | Símbolos ou nome (da versão 19 do GENCODE) de gene(s) sobreposto(s) no ponto de corte 1. Vários genes sobrepostos no mesmo ponto de corte são delimitados por ponto e vírgula. |

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON (caminho relativo na variante objeto JSON) | Descrição |
|------------------------|--------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ND | detailedGeneFusionData / partner1 / cromossoma | Cromossoma do ponto de corte 1. |
| ND | detailedGeneFusionData / partner1 / posição | Posição (hg19) do ponto de corte 1. |
| ND | detailedGeneFusionData / partner2 / gene | Símbolos ou nome (da versão 19 do GENCODE) de gene(s) sobreposto(s) no ponto de corte 2. Vários genes sobrepostos no mesmo ponto de corte são delimitados por ponto e vírgula. |
| ND | detailedGeneFusionData / partner1 / cromossoma | Cromossoma do ponto de corte 1. |
| ND | detailedGeneFusionData / partner1 / posição | Posição (hg19) do ponto de corte 1. |

Tabela 4 Detalhes de variantes de união exão-intrão no relatório

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON (caminho relativo na variante objeto JSON) | Descrição |
|-----------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tipo | tipo / valor | O tipo detalhado de variante. Os valores possíveis para fusões incluem: Variante de união exão-intrão |
| Exão ou exões afetados | additionalInfo / (item de matriz com propriedade de etiqueta = "Affected Exon(s)" [Exão ou exões afetados]) | O ou os exões afetados pela variante de união exão-intrão, conforme aplicável. Por exemplo, 4-6 indicaria que os exões 4, 5 e 6 foram afetados. |
| Transcrição | additionalInfo / (item de matriz com propriedade de etiqueta = "Transcript" [Transcrição]) | ID da transcrição (RefSeq). |
| Início do ponto de corte | additionalInfo / (item de matriz com propriedade de etiqueta = "Breakpoint Start" [Início do ponto de corte]) | Início do ponto de corte observado de variante de união exão-intrão em ARN. Cromossoma:formato de posição (hg19). |
| Final do ponto de corte | additionalInfo / (item de matriz com propriedade de etiqueta = "Breakpoint End" [Final do ponto de corte]) | Final do ponto de corte observado de variante de união exão-intrão em ARN. Cromossoma:formato de posição (hg19). |
| Leituras de apoio de uniões exão-intrão | additionalInfo / (item de matriz com propriedade de etiqueta = "Splice Supporting Reads" [Leituras de apoio de uniões exão-intrão]) | Contagem de leituras de apoio de uniões exão-intrão. |
| ND | detailedSpliceVariantData / breakpointStartChromosome | Cromossoma do início do ponto de corte. |
| ND | detailedSpliceVariantData / breakpointStartPosition | Posição (hg19) do início do ponto de corte. |
| ND | detailedSpliceVariantData / breakpointEndChromosome | Cromossoma do final do ponto de corte. |
| ND | detailedSpliceVariantData / breakpointEndPosition | Posição (hg19) do final do ponto de corte. |
| ND | detailedSpliceVariantData / spliceSupportingReads | Contagem de leituras de apoio de uniões exão-intrão. |
| ND | detailedSpliceVariantData / anotação / fonte | Fonte da transcrição (por exemplo, RefSeq). |

| Campo no relatório PDF | Campo no relatório JSON (caminho relativo na variante objeto JSON) | Descrição |
|------------------------|--------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| ND | detailedSpliceVariantData / anotação / gene | Símbolo do gene. |
| ND | detailedSpliceVariantData / anotação / affectedExons | O ou os exões afetados pela variante de união exão-intrão e a contagem total de exões, conforme aplicável. Por exemplo, 4-6/7 indicaria que os exões 4, 5 e 6 foram afetados e que esta transcrição contém 7 exões no total. |
| ND | detailedSpliceVariantData / anotação / transcrição | ID da transcrição. |

Fichas de amostras

Nome do ficheiro: SampleSheet.csv

Para cada análise, o Módulo de análise do TSO Comprehensive cria uma ficha de amostras delimitada por vírgulas (SampleSheet.csv). Este ficheiro contém informações relativas a amostras fornecidas ao software, durante a configuração do ensaio. Estas fichas de amostras incluem um cabeçalho com informações relativas ao ensaio e descritores para as amostras de bancos processadas numa determinada célula de fluxo (uma linha de dados por banco de amostras).



ATENÇÃO

Modificar o ficheiro da ficha de amostras irá provocar efeitos adversos a jusante, incluindo resultados incorretos ou falha na análise.

A tabela seguinte disponibiliza os detalhes dos dados das fichas de amostras:

| Nome da coluna | Descrição |
|--------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sample_ID | ID da amostra com "ADN" adicionado para bancos de ADN ou "ARN" adicionado para bancos de ARN. |
| I7_Index_ID | Nome de índice i7. Consulte as <i>Sequências do adaptador Illumina (documento n.º 1000000002694)</i> para obter detalhes sobre como o ID do índice da ficha de amostras é mapeado para o ID do índice introduzida durante a configuração do ensaio. |
| índice | Sequência de índice i7. |
| I5_Index_ID | Nome de índice i5. Consulte as <i>Sequências do adaptador Illumina (documento n.º 1000000002694)</i> para obter detalhes sobre como o ID do índice da ficha de amostras é mapeado para o ID do índice introduzida durante a configuração do ensaio. |
| index2 | Sequência de índice i5. |
| Sample_Type | ADN ou ARN. |
| Pair_ID | ID da amostra (o mesmo ID é utilizado para um banco de ADN e de ARN da mesma amostra). |
| Sample_Description | Descrição da amostra. |
| Tumor_Type | Tipo de tumor para amostras de doentes. Tipo de controlo para amostras de controlo. |
| Sexo | Sexo (masculino, feminino ou desconhecido). |

Relatório de saída de controlo

Nome do ficheiro: ControlOutput.csv

O relatório de saída de controlo é um ficheiro delimitado por tabulações, que fornece informações de controlo de qualidade para quaisquer amostras de controlo, que foram incluídas no ensaio. O Módulo de análise do TSO Comprehensive não invalida automaticamente as amostras de doentes, com base nos resultados da amostra de controlo. Consulte o *Folheto informativo do TruSight Oncology Comprehensive (UE) (documento n.º 200007789)* para obter orientações sobre a validade do ensaio e a validade das amostras do doente, com base nos resultados das amostras de controlo.

O relatório de saída de controlo contém as seguintes secções e os seus campos associados (o ID do ensaio é incluído, antes da primeira secção):

► **Tipos de controlo** – Contém informações sobre cada amostra de controlo incluída no ensaio.

| Campo | Descrição |
|-------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Tipo de controlo | O tipo de controlo da amostra de controlo. Os valores possíveis incluem controlo externo de ADN, controlo sem modelo de ADN, controlo externo de ARN ou controlo sem modelo de ARN. |
| Sample_ID | ID da amostra de controlo. O valor é (Not Run) (Não ensaio) se este tipo de controlo não tiver sido incluído no ensaio. |
| AnalysisComplete | Indicação se a análise foi concluída para esta amostra de controlo. Os valores possíveis incluem TRUE (VERDADEIRO), FALSE (FALSO), NA (ND). |
| Resultado geral | O resultado de CQ para a amostra de controlo. Os valores possíveis incluem PASS (PASSOU), FAIL (NÃO PASSOU), NA (ND). |
| Valor de sensibilidade | O valor de sensibilidade calculado para a amostra de controlo. Representa a proporção de variantes de controlo detetadas para o número total de variantes de controlo esperadas na amostra de controlo. Aplicável apenas para os seguintes tipos de controlo: Controlo externo de ADN e controlo externo de ARN. |
| Limiar de sensibilidade | O valor mínimo de sensibilidade necessário para que a amostra de controlo tenha um resultado de CQ de PASS (PASSOU). Aplicável apenas para os seguintes tipos de controlo: Controlo externo de ADN e controlo externo de ARN. |

► **Detalhes da análise** – Contém informações sobre a análise.

| Campo | Descrição |
|-------------------|------------------------------------------------------|
| Data do relatório | A data em que o relatório de controlo foi gerado. |
| Hora do relatório | A hora em que o relatório de controlo foi gerado. |
| Versão do módulo | A versão do Módulo de análise do TSO Comprehensive. |
| Versão Pipeline | A versão do pipeline/fluxo de trabalho das análises. |

► **Detalhes do ensaio de sequenciação** – Contém informações sobre o ensaio de sequenciação.

| Campo | Descrição |
|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------|
| Nome do ensaio | O nome do ensaio de sequenciação. |
| Data do ensaio | A data do ensaio de sequenciação. |
| ID do instrumento | O ID único associado ao instrumento de sequenciação. |
| Versão do software de controlo do instrumento | Versão do software de controlo da NextSeq (NCS) em utilização no ensaio. |
| Tipo de instrumento | O tipo de instrumento de sequenciação. |
| Versão RTA | Versão do software Real-Time Analysis (RTA) em utilização no ensaio de sequenciação. |
| Número de lote do cartucho de reagente | O número de lote do cartucho de reagente utilizado para o ensaio. |

- **Estado da análise** – Contém informações sobre se a análise foi concluída para cada amostra de controlo e se algumas amostras falharam devido a um erro de software.

| Campo | Descrição |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sample_ID | ID da amostra de controlo. O valor é (Not Run) (Não Ensaio) para tipo(s) de controlo não incluído (s) no ensaio. |
| COMPLETED_ALL_STEPS | Indica se a amostra de controlo concluiu todos os passos da análise. Os valores possíveis incluem TRUE (VERDADEIRO), FALSE (FALSO), NA (ND). Se o valor for FALSE (FALSO), contacte a assistência técnica da Illumina, para obter mais informações. |
| FAILED_STEPS | Uma lista de quaisquer passos de análise falhados, devido a um erro de software. Contacte a assistência técnica da Illumina, para obter mais informações, se estiver listado aqui qualquer passo. |
| STEPS_NOT_EXECUTED | Uma lista de quaisquer passos de análise não executados, devido a um erro de software. Contacte a assistência técnica da Illumina, para obter mais informações, se estiver listado aqui qualquer passo. |

- **Resultados da tabela de verdade de pequenas variantes** – Contém informações sobre quais as variantes pequenas de ADN de controlo, no controlo externo de ADN (controlo de ADN positivo), que foram ou não detetadas (uma linha por variante de controlo). Os valores NA (ND) serão listados se o controlo externo do ADN não tiver sido incluído no ensaio de sequenciação.

| Campo | Descrição |
|---------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Detetado | Indica se a variante pequena do ADN de controlo foi detetada na amostra de controlo. Os valores possíveis incluem TRUE (VERDADEIRO), FALSE (FALSO), NA (ND). |
| Nome do gene HGNC | Símbolo do gene do Comité de Nomenclatura de Genes HUGO (HGNC) associado à variante pequena do ADN de controlo. |
| Cromossoma | Cromossoma da variante pequena do ADN de controlo. |
| Posição | Posição (hg19) da variante pequena do ADN de controlo. |
| Alelo de referência | Alelo de referência da variante pequena do ADN de controlo. |
| Alelo alternativo | Alelo alternativo/alternativa da variante pequena do ADN de controlo. |

- **Resultados da tabela de verdade de variantes de união exão-intrão** – Contém informações sobre quais as variantes de união exão-intrão de ARN, no controlo externo de ARN (controlo positivo de ARN), que foram ou não detetadas (uma linha por variante de controlo). Os valores NA (ND) serão listados se o controlo externo do ARN não tiver sido incluído no ensaio de sequenciação.

| Campo | Descrição |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Detetado | Indica se a pequena variante de união exão-intrão de ARN de controlo foi detetada na amostra de controlo. Os valores possíveis incluem TRUE (VERDADEIRO), FALSE (FALSO), NA (ND). |
| Nome do gene HGNC | Símbolo do gene HGNC associado à variante de união exão-intrão de ARN de controlo. |
| Ponto de corte 1 | Cromossoma e posição (hg19) do primeiro ponto de corte da variante de união exão-intrão de ARN de controlo. |
| Ponto de corte 2 | Cromossoma e posição (hg19) do segundo ponto de corte da variante de união exão-intrão de ARN de controlo. |

- ▶ **Resultados da tabela de verdade de fusões** – Contém informações sobre quais as variantes de fusão de ARN, no controlo externo de ARN (controlo positivo de ARN), que foram ou não detetadas (uma linha por variante de controlo). Os valores NA (ND) serão listados se o controlo externo do ARN não tiver sido incluído no ensaio de sequenciação.

| Campo | Descrição |
|---------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Detetado | Indica se a pequena variante de fusão de ARN de controlo foi detetada na amostra de controlo. Os valores possíveis incluem TRUE (VERDADEIRO), FALSE (FALSO), NA (ND). |
| Nome do gene HGNC 1 | Símbolo do gene HGNC associado ao primeiro ponto de corte da variante de fusão de ARN de controlo. |
| Nome do gene HGNC 2 | Símbolo do gene HGNC associado ao segundo ponto de corte da variante de fusão de ARN de controlo. |

- ▶ **Indicadores de CQ do Banco de NTC de ADN** – Contém informações sobre a métrica de controlo de qualidade que foi avaliada para o Controlo Sem Modelo de ADN. O estado PASS (PASSOU) indica que o valor para o indicador está dentro dos intervalos do limite inferior de especificação (LSL) e do limite superior de especificação (USL). O estado de FAIL (NÃO PASSOU) indica que o valor para o indicador está fora do intervalo LSL ou USL. Os valores NA (ND) serão listados se o controlo sem modelo do ADN não tiver sido incluído no ensaio de sequenciação.

| Indicador | Descrição | Unidades | Limiar de qualidade |
|----------------------|-----------------------------------------------------------------------|----------|---------------------|
| MEDIAN_EXON_COVERAGE | Média da cobertura de fragmentos de exões em todas as bases de exões. | Contagem | ≤ 8 |

- ▶ **Indicadores de CQ do Banco de NTC de ARN** – Contém informações sobre a métrica de controlo de qualidade que foi avaliada para o controlo sem modelo de ARN. O estado PASS (PASSOU) indica que o valor para o indicador está dentro dos intervalos do limite inferior de especificação (LSL) e do limite superior de especificação (USL). O estado de FAIL (NÃO PASSOU) indica que o valor para o indicador está fora do intervalo LSL ou USL. Os valores NA (ND) serão listados se o controlo sem modelo do ARN não tiver sido incluído no ensaio de sequenciação.

| Indicador | Descrição | Unidades | Limiar de qualidade |
|--------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|---------------------|
| GENE_ABOVE_MEDIAN_CUTOFF | O número de genes, para os quais a média deduplicou a profundidade de leitura em todos os loci abrangidos por cada gene, é > 20. | Contagem | ≤ 1 |

Saída de indicadores

Nome do ficheiro: MetricsOutput.tsv

A saída de indicadores é um ficheiro delimitado por tabulações que fornece informações de controlo de qualidade, para amostras de doentes que foram incluídas no ensaio.

O ficheiro de saída de indicadores contém as seguintes secções e os campos associados:

- ▶ **Cabeçalho** – Contém informações gerais sobre o ficheiro e o ensaio.

| Campo | Descrição |
|-----------------------------|------------------------------------------------------|
| Data de saída | Data em que este ficheiro foi criado. |
| Hora de saída | Hora em que este ficheiro foi criado. |
| Versão do fluxo de trabalho | A versão do pipeline/fluxo de trabalho das análises. |
| Versão do módulo | A versão do Módulo de análise do TSO Comprehensive. |
| ID do ensaio | O ID do ensaio de sequenciação. |
| Nome do ensaio | O nome do ensaio de sequenciação. |

- ▶ **Indicadores de CQ de ensaio** – Contém informações de controlo de qualidade para o ensaio de sequenciação. Esta secção corresponde ao estado de CQ do ensaio no relatório TSO Comprehensive e contém uma linha por indicador de CQ que contribui para o estado de CQ do ensaio. Todos os indicadores de CQ nesta secção têm de passar para que o CQ do ensaio passe igualmente. Consulte *Controlo de qualidade de ensaio na página 8*, para obter detalhes da análise. Consulte *Indicadores de controlo de qualidade na página 48* para descrições e limiares de indicadores.

| Coluna | Descrição |
|-------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Indicador (UOM) | Nome do indicador de CQ e unidade de medida. |
| LSL | Limite inferior de especificação (inclusive). |
| USL | Limite superior de especificação (inclusive). |
| Valor | Valor do indicador de CQ. |
| PASSOU/NÃO PASSOU | Indica se a amostra passou ou não no indicador de controlo de qualidade. Os valores possíveis incluem PASS (PASSOU), FAIL (NÃO PASSOU) ou NA (ND). |

- ▶ **Estado da análise** – Contém informações sobre se a análise foi concluída para cada amostra de doente e se algumas amostras falharam devido a um erro de software. Cada coluna nesta secção corresponde a uma amostra de doente (o ID da amostra é utilizado para o nome da coluna).

| Campo | Descrição |
|---------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| COMPLETED_ALL_STEPS | Indica se a amostra concluiu todos os passos da análise. Os valores possíveis incluem TRUE (VERDADEIRO) e FALSE (FALSO). Se o valor for FALSE (FALSO), contacte a assistência técnica da Illumina, para obter mais informações. |
| FAILED_STEPS | Uma lista de quaisquer passos de análise falhados, devido a um erro de software. Contacte a assistência técnica da Illumina, para obter mais informações, se estiver listado aqui qualquer passo. |
| STEPS_NOT_EXECUTED | Uma lista de quaisquer passos de análise não executados, devido a um erro de software. Contacte a assistência técnica da Illumina, para obter mais informações, se estiver listado aqui qualquer passo. |

- ▶ **Secções de indicadores de CQ para amostras de doentes** – É incluída uma secção para cada tipo de controlo de qualidade utilizado para amostras de doentes. A tabela seguinte indica onde um estado de controlo de qualidade no relatório TSO Comprehensive corresponde a uma secção.

| Secção | Descrição | Categoria de CQ correspondente no relatório TSO Comprehensive |
|-------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| Indicadores de CQ do banco de ADN | Indicadores de CQ utilizados como critérios de validade para bancos de amostras de ADN. Consulte <i>Controlo de qualidade para bancos de amostras de ADN na página 12</i> , para obter detalhes da análise. Consulte <i>Indicadores de controlo de qualidade na página 48</i> para descrições e limiares de indicadores. | CQ do banco de ADN |
| Indicadores de CQ do banco de ADN para identificação de pequenas variantes e de TMB | Indicadores de CQ utilizados como critérios de validade para pequenas variantes e TMB num banco de amostras de ADN. Consulte <i>Controlo de qualidade para bancos de amostras de ADN na página 12</i> , para obter detalhes da análise. Consulte <i>Indicadores de controlo de qualidade na página 48</i> para descrições e limiares de indicadores. | CQ de pequenas variantes de ADN e de TMB |
| Indicadores de CQ do banco de ADN para MSI | Indicadores de CQ utilizados como critérios de validade para MSI num banco de amostras de ADN. Consulte <i>Controlo de qualidade para bancos de amostras de ADN na página 12</i> , para obter detalhes da análise. Consulte <i>Indicadores de controlo de qualidade na página 48</i> para descrições e limiares de indicadores. | CQ de MSI de ADN |
| CQ do banco de ADN para indicadores de CNV | Indicadores de CQ utilizados como critérios de validade para amplificações de genes num banco de amostras de ADN. Consulte <i>Controlo de qualidade para bancos de amostras de ADN na página 12</i> , para obter detalhes da análise. Consulte <i>Indicadores de controlo de qualidade na página 48</i> para descrições e limiares de indicadores. | CQ da variante do número de cópias de ADN |
| Indicadores ampliados de ADN | Os indicadores ampliados de ADN destinam-se apenas a fins informativos e não indicam diretamente a qualidade dos bancos de ADN. Consulte <i>Controlo de qualidade para bancos de amostras de ADN na página 12</i> , para obter detalhes da análise. Consulte <i>Indicadores ampliados de ADN na página 50</i> , para descrições dos indicadores. | ND |
| Indicadores de CQ do banco de ARN | Indicadores de CQ utilizados como critérios de validade para bancos de amostras de ARN. Consulte <i>Controlo de qualidade para bancos de amostras de ARN na página 15</i> , para obter detalhes da análise. Consulte <i>Indicadores de controlo de qualidade na página 48</i> para descrições e limiares de indicadores. | CQ do banco de ARN |
| Indicadores ampliados de ARN | Os indicadores ampliados de ARN destinam-se apenas a fins informativos e não indicam diretamente a qualidade dos bancos de ADN. Consulte <i>Controlo de qualidade para bancos de amostras de ARN na página 15</i> , para obter detalhes da análise. Consulte <i>Indicadores ampliados de ARN na página 51</i> para descrições e limiares de indicadores. | ND |

Cada secção contém as seguintes colunas:

- ▶ Metric (Indicador) (UOM) – O nome do indicador de CQ e a unidade de medida.
- ▶ LSL – Limite inferior de especificação (inclusive).
- ▶ USL – Limite superior de especificação (inclusive).
- ▶ Uma coluna por amostra (designada com ID da amostra).

Cada secção contém as seguintes linhas:

- ▶ Uma linha por indicador de CQ.

- ▶ **PASS/FAIL (PASSOU/NÃO PASSOU)** – Indica se a amostra passou ou não para o tipo de controlo de qualidade. Um estado de PASS (PASSOU) indica que os valores da amostra para os indicadores estão dentro do intervalo LSL e USL. Um estado de FAIL (NÃO PASSOU) indica que os valores da amostra para um ou mais indicadores estão fora do intervalo LSL ou USL. Esta linha não está incluída para indicadores ampliados de ADN ou de ARN.
- ▶ **Notes (Notas)** – Contém uma lista de notas que descrevem o conteúdo do ficheiro.

Relatório de baixa profundidade

Nome do ficheiro: {SAMPLE_ID}_LowDepthReport.tsv

O relatório de baixa profundidade é um ficheiro delimitado por tabulações criado para cada amostra de doente, que inclui uma lista de intervalos de posição genómica com uma profundidade de sequenciação total < 100 e para a qual não foi detetada uma variante de passagem. Estas posições têm profundidade de sequenciação insuficiente, para excluir a presença de uma pequena variante. As posições na lista de bloqueio são excluídas do relatório.

O relatório de baixa profundidade não é recuperado durante a recuperação de relatórios.

O relatório de baixa profundidade contém as seguintes secções e respetivos campos associados:

- ▶ **Cabeçalho** – Contém informações gerais sobre o ficheiro e o ensaio.

| Campo | Descrição |
|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|
| ID da amostra | ID da amostra do doente. |
| Tipo de tumor | Tipo de tumor da amostra do doente. |
| Data do relatório | A data em que o relatório de baixa profundidade foi gerado. |
| ID do ensaio | O ID do ensaio de sequenciação. |
| Data do ensaio | A data do ensaio de sequenciação. |
| Versão da base de conhecimentos | A versão da KB que foi instalada, quando o relatório de baixa profundidade foi gerado. |
| Data da publicação da base de conhecimentos | A data associada à KB que foi instalada, quando o relatório de baixa profundidade foi gerado. |
| Versão do módulo LRM | A versão do Módulo de análise do TSO Comprehensive. |

- ▶ **Lista de intervalos genómicos** – Contém uma lista de intervalos de posição genómica com baixa profundidade. As posições genómicas contíguas, com baixa profundidade, sobrepostas ao(s) mesmo(s) gene(s) são combinadas numa única linha.

| Coluna | Descrição |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Chrom | Cromossoma. |
| Iniciar | Posição inicial (hg19). |
| Fim | Posição final (hg19). |
| Gene | Símbolo(s) genético(s) sobreposto(s) ao intervalo genómico, com base na base de dados RefSeq incluída na KB. |

Estrutura da pasta de saída

Esta secção descreve o conteúdo de cada pasta de saída, gerada durante a análise.

- ▶ IVD
 - ▶ IVD_Reports
 - ▶ {SampleID}_TSOCompEUModule_KB{version}_Report.pdf – Relatório do TSO Comprehensive (formato PDF) por amostra de doente

- ▶ {SampleID}_TSOCompEUModule_KB{version}_Report.json – Relatório do TSO Comprehensive (formato JSON) por amostra de doente
 - ▶ {SampleID}_LowDepthReport.tsv – Relatório de baixa profundidade por amostra de doente
 - ▶ MetricsOutput.tsv – Saída de indicadores
 - ▶ ControlOutput.tsv – Relatório de saída de controlo
- ▶ **Logs_Intermediates** – Registos e ficheiros intermédios gerados, durante o fluxo de trabalho/pipeline de análise. Os ficheiros intermédios destinam-se apenas a ajudar na resolução de problemas. As informações contidas nos ficheiros intermédios não se destinam a ser utilizadas para relatórios clínicos ou gestão de doentes. O desempenho de quaisquer variantes identificadas nestes ficheiros, para além das variantes validadas, não foi demonstrado. As variantes validadas são variantes com características de desempenho demonstradas. Cada pasta representa um passo do fluxo de trabalho/pipeline de análise. O Módulo de análise do TSO Comprehensive anexa ARN ou ADN aos nomes das pastas de ID da amostra, durante o processamento.

Ver resultados da análise

- 1 No painel do Local Run Manager, selecione o nome do ensaio.
- 2 No separador Run Overview (Descrição geral do ensaio), reveja os indicadores do ensaio de sequenciação.
- 3 Para alterar a localização do ficheiro de dados de análise, para futuras recolocações em fila de espera do ensaio selecionado, selecione **Edit** (Editar) e, depois, edite o caminho do ficheiro da pasta de saída do ensaio.
O nome da pasta de saída do ensaio não pode ser alterado.
- 4 **[Opcional]** Selecione **Copy to Clipboard** (Copiar para a área de transferência) para acesso rápido à pasta de saída do ensaio.
- 5 Selecione o separador Sequencing Information (Informações de sequenciação) para rever os parâmetros do ensaio e as informações sobre os consumíveis.
- 6 Selecione o separador Samples & Results (Amostras e resultados) para visualizar relatórios e informações de controlo de qualidade.
 - ▶ Se a análise tiver sido repetida, expanda o menu pendente Select Analysis (Selecionar análise) e selecione a análise apropriada.
- 7 **[Opcional]** Selecione **Copy to Clipboard** (Copiar para a área de transferência) para copiar o caminho do ficheiro da pasta de Análise.

Para obter mais informações sobre a tabulação Run Overview (Descrição geral do ensaio) e Sequencing Information (Informações de sequenciação) e sobre como recolocar análises em fila de espera, consulte *Manual de referência do instrumento NextSeq 550Dx (documento n.º 1000000009513)*.

Amostras e resultados

O ecrã Samples & Results (Amostras e resultados) apresenta os resultados da análise associados ao ensaio selecionado e fornece a opção de reanalisar o ensaio com parâmetros diferentes. Uma tabela na parte superior do ecrã fornece a data de início do ensaio de análise atualmente selecionado e o tipo de ensaio (análise inicial, recolocação de análise em fila de espera ou recuperação de relatórios).

Indicadores de nível de ensaio

A secção *Run Level Metrics* (Indicadores de nível de ensaio) do ecrã Samples & Results (Amostras e resultados) apresenta um estado do indicador de CQ do ensaio PASS (PASSOU) ou FAIL (NÃO PASSOU), para cada indicador de CQ do ensaio. Os estados dos indicadores de CQ do ensaio são obtidos a partir do ficheiro MetricsReport.tsv (consulte [Saída de indicadores na página 36](#)). Consulte [Indicadores de controlo de qualidade na página 48](#) para descrições e limiares de indicadores.

Amostras de controlo

As amostras de controlo são designadas no ecrã Run Setup (Configuração do ensaio) do Local Run Manager. Os resultados para amostras designadas como controlos são apresentados na secção *Controls* (Controlos) do ecrã Samples & Results (Amostras e resultados). A secção Controls (Controlos) apresenta as seguintes colunas para cada amostra designada como controlo:

- ▶ **Sample ID (ID da amostra)**
- ▶ **Type (Tipo)** – Tipo de amostra de controlo. Os valores possíveis são controlo externo de ADN, controlo sem modelo de ADN, controlo externo de ARN e controlo sem modelo de ARN. Os tipos de amostra de controlo disponíveis permanecem os mesmos e não são afetados pela base de conhecimento instalada.
- ▶ **Analysis Complete? (Análise concluída?)** – Os valores possíveis são TRUE (VERDADEIRO) e FALSE (FALSO). As amostras de controlo marcadas como TRUE (VERDADEIRAS) na coluna Analysis Complete? (Análise concluída?) concluíram a análise da amostra de controlo. Se uma amostra de controlo estiver marcada como FALSE (FALSO), ocorreu um erro de software. Para obter mais informações, contacte a Assistência Técnica da Illumina.
- ▶ **Outcome (Resultado)** – Os valores possíveis são PASS (PASSOU) e FAIL (NÃO PASSOU). Consulte a tabela seguinte para a interpretação dos valores dos resultados:

| Tipo de amostra de controlo | Resultado | Interpretação |
|-----------------------------|-------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Sem-modelo de ADN | PASS (PASSOU) | A contaminação cruzada entre bancos não é indicada. |
| | FAIL (NÃO PASSOU) | A contaminação cruzada entre bancos é indicada. As amostras de ADN no evento de preparação do banco e todos os ensaios de sequenciação associados são inválidos. |
| Sem-modelo de ARN | PASS (PASSOU) | A contaminação cruzada entre bancos não é indicada. |
| | FAIL (NÃO PASSOU) | A contaminação cruzada entre bancos é indicada. As amostras de ARN no evento de preparação do banco e todos os ensaios de sequenciação associados são inválidos. |
| ADN externo | PASS (PASSOU) | Foram detetadas variantes esperadas. |
| | FAIL (NÃO PASSOU) | As especificações de identificação de variantes não foram cumpridas e as amostras de ADN no ensaio de sequenciação são inválidas. |
| ARN externo | PASS (PASSOU) | Foram detetadas variantes esperadas. |
| | FAIL (NÃO PASSOU) | As especificações de identificação de variantes não foram cumpridas e as amostras de ARN no ensaio de sequenciação são inválidas. |

Indicadores de nível de amostras

A secção Sample Level Metrics (Indicadores de nível de amostras) do ecrã Samples & Results (Amostras e resultados) apresenta informações de controlo de qualidade para amostras de doentes que foram incluídas no ensaio. Os resultados do controlo de qualidade de amostras do doente são obtidos a partir do ficheiro **MetricsReport.tsv** (consulte *Saída de indicadores na página 36*). A secção Sample Level Metrics (Indicadores de nível de amostras) apresenta as seguintes colunas para cada amostra de doente:

- ▶ **Sample (Amostra)** – O ID da amostra.
- ▶ **Analysis Complete? (Análise concluída?)** – Os valores possíveis são TRUE (VERDADEIRO) e FALSE (FALSO). As amostras marcadas como TRUE (VERDADEIRAS) na coluna Analysis Complete? (Análise concluída?) concluíram a análise com sucesso. Se uma amostra estiver marcada como FALSE (FALSO) nesta coluna, ocorreu um erro de software. Para obter mais informações, contacte a Assistência Técnica da Illumina.

- ▶ **DNA Library QC** (CQ do banco de ADN) – Os valores possíveis são PASS (PASSOU) e FAIL (NÃO PASSOU). Indica se a amostra passou ou não passou o CQ do banco de ADN, o que se aplica ao banco de ADN que foi sequenciado. Corresponde ao CQ do banco de ADN no relatório TSO Comprehensive. É apresentado um travessão (-), se um banco de ADN não tiver sido sequenciado ou se a opção CQ do ensaio tiver um valor de FAIL (NÃO PASSOU).
- ▶ **Variantes e biomarcadores de ADN**
 - ▶ **Small Variants and TMB** (Pequenas variantes e TMB) – Os valores possíveis são PASS (PASSOU) e FAIL (NÃO PASSOU). Indica se a amostra passou ou não passou o CQ para pequenas variantes e TMB no banco de ADN. Corresponde ao CQ de pequena variante de ADN e de TMB no relatório TSO Comprehensive. É apresentado um travessão (-) se um banco de ADN não tiver sido sequenciado, se o CQ do ensaio tiver um valor de FAIL (NÃO PASSOU) ou se o CQ do banco de ADN tiver um valor de FAIL (NÃO PASSOU).
 - ▶ **MSI** – O valor possível é PASS (PASSOU) e FAIL (NÃO PASSOU). Indica se a amostra passou ou não passou o CQ para MSI no banco de ADN. Corresponde ao CQ de MSI de ADN no relatório TSO Comprehensive. É apresentado um travessão (-) se um banco de ADN não tiver sido sequenciado, se o CQ do ensaio tiver um valor de FAIL (NÃO PASSOU) ou se o CQ do banco de ADN tiver um valor de FAIL (NÃO PASSOU).
 - ▶ **CNV** – O valor possível é PASS (PASSOU) e FAIL (NÃO PASSOU). Indica se a amostra passou ou não passou o CQ para ampliações de genes no banco de ADN. Corresponde ao CQ da variante do número de cópias de ADN no relatório TSO Comprehensive. É apresentado um travessão (-) se um banco de ADN não tiver sido sequenciado, se o CQ do ensaio tiver um valor de FAIL (NÃO PASSOU) ou se o CQ do banco de ADN tiver um valor de FAIL (NÃO PASSOU).
- ▶ **RNA Library QC** (CQ do banco de ARN) – Os valores possíveis são PASS (PASSOU) e FAIL (NÃO PASSOU). Indica se a amostra passou ou não passou o CQ do banco de ARN, o que se aplica ao banco de ARN que foi sequenciado. Corresponde ao CQ do banco de ARN no relatório TSO Comprehensive. É apresentado um travessão (-), se um banco de ARN não tiver sido sequenciado ou se a opção CQ do ensaio tiver um valor de FAIL (NÃO PASSOU).

As amostras individuais podem não passar, mesmo quando os indicadores do ensaio passaram.

Recuperação de relatórios

A recuperação de relatórios permite que um ou mais relatórios sejam recuperados sem repetir todos os passos da análise secundária. A recuperação de relatórios é muito mais rápida do que uma recolocação de análise em fila de espera completa, mas tem características diferentes:

- ▶ **Âmbito** – A recuperação de relatórios reconstrói o relatório TSO Comprehensive, mas ignora alguns passos de análise. Pode alterar o sexo ou tipo de tumor para uma ou mais amostras ou instalar uma nova KB, para produzir um novo relatório que reflita estas alterações. Cada amostra tem de ser selecionada manualmente para recuperação de relatórios, enquanto uma recolocação de análise em fila de espera seleciona automaticamente todas as amostras por predefinição. As amostras individuais podem ser removidas da recolocação de análise em fila de espera.
- ▶ **Falha na análise do ensaio** – A recuperação de relatórios requer uma análise de ensaio bem-sucedida como entrada, enquanto a recolocação de análise em fila de espera pode ser utilizada em cenários em que a análise falhou.
- ▶ **Campos editáveis** – A recuperação de relatórios permite alterar os campos Sex (Sexo) e Tumor Type (Tipo de tumor), enquanto a recolocação de análise em fila de espera permite alterar qualquer um dos campos selecionados durante a configuração do ensaio.

- ▶ **Versão do Módulo de análise do TSO Comprehensive** – A recuperação de relatórios requer uma análise bem-sucedida a partir do Módulo de análise do Local Run Manager TruSight Oncology Comprehensive v2.3 ou posterior. Pode ser iniciada uma recolocação de análise em fila de espera utilizando a análise de qualquer versão anterior do Módulo de análise do TSO Comprehensive.
- ▶ **Definições de entrada de ensaios** – As entradas de recuperação de relatórios do ensaio são automaticamente definidas para os valores de análise secundária bem-sucedida mais recente do ensaio. Os dados de entrada do ensaio para uma recolocação de análise em fila de espera são automaticamente definidos para os valores da tentativa de análise mais recente (incluindo análise de ensaios falhadas).

Esta funcionalidade só está acessível a utilizadores administradores do LRM ou a utilizadores não administradores com autorização atribuída para recolocar a análise em fila de espera. Consulte *Manual de referência do instrumento NextSeq 550Dx (documento n.º 1000000009513)*, para obter mais informações sobre a gestão de utilizadores do LRM.

Recuperar um relatório ou recolocar a análise em fila de espera

- 1 No painel de ensaios, localize um ensaio com um estado de Analysis Completed (Análise concluída). Selecione o ícone de elipses verticais e selecione **Requeue** (Recolocar em fila de espera).
É necessário voltar a ligar ensaios, que tenham sido eliminados da pasta local de temporários, para voltar a recolocar a análise em fila de espera. Consulte *Manual de referência do instrumento NextSeq 550Dx (documento n.º 1000000009513)*, para obter mais informações sobre a gestão de utilizadores do LRM.
- 2 Selecione **Edit Setup** (Editar configuração) na janela pop-up Requeue Analysis (Recolocar a análise em fila de espera).
- 3 Utilize o menu pendente na parte superior do ecrã Requeue Analysis (Recolocar a análise em fila de espera) para selecionar report generation (recuperação de relatório) ou full analysis requeue (recolocação de análise em fila de espera completa).

NOTA Reveja sempre as entradas do ensaio para cada amostra, antes de guardar um ensaio. As entradas de recuperação de relatórios do ensaio são automaticamente definidas para os valores de análise secundária bem-sucedida mais recente do ensaio.

- 4 As amostras do ensaio concluído anteriormente serão apresentadas numa tabela. Utilize os botões + à direita da tabela, para marcar as amostras pretendidas para recuperação de relatórios. Todas as amostras num ensaio são excluídas da recuperação de relatórios por predefinição e têm de ser adicionadas individualmente. A recuperação de relatórios não está disponível para amostras originalmente analisadas como amostras de controlo, que requerem uma recolocação de análise em fila de espera completa.
- 5 Quando todas as amostras pretendidas tiverem sido marcadas para recuperação de relatórios, selecione **Requeue Analysis** (Recolocar a análise em fila de espera).

Ver resultados da recuperação de relatórios

Os relatórios recuperados para amostras marcadas para recuperação de relatórios podem ser visualizados, juntamente com outras análises concluídas no ecrã Samples and Runs (Amostras e Ensaios) no Local Run Manager. Os relatórios produzidos, utilizando a recuperação de relatórios, são marcados como Report Regeneration (Recuperação de Relatórios) no campo Analysis Type (Tipo de análise), na parte superior do ecrã Samples and Runs (Amostras e ensaios).

Resolução de problemas

Quando o relatório da amostra indica que a análise da amostra falhou devido a um erro do software, resolva o problema com base no passo específico falhado. Na pasta IVD_Reports , a **MetricsOutput.tsv** indica o passo de análise específico que não foi concluído em FAILED_STEPS.

Use a seguinte tabela para resolver problemas no fluxo de trabalho.

| Passo falhado | Ação recomendada |
|-----------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| FastqValidation | Se o erro do software se dever ao passo FastqValidation, uma causa possível é um índice incorreto ou inexistente, resultando na ausência de leituras para a amostra. Se suspeitar de um índice incorreto, a análise deve ser repetida com o identificador de índice correto selecionado. Caso contrário, a amostra deve ser repetida através do fluxo de trabalho TSO Comprehensive, com uma nova extração de ácido nucleico de acordo com o Folheto informativo do TruSight Oncology Comprehensive (UE) (documento n.º 200007789). |
| FusionCalling | Se o erro do software se dever ao passo FusionCalling, as causas possíveis são uma amostra de fraca qualidade (ARN intacto insuficiente), entrada insuficiente de ARN, um erro de utilização durante o fluxo de trabalho TSO Comprehensive ou um índice incorreto atribuído à amostra. A amostra deve ser repetida através do fluxo de trabalho TSO Comprehensive, com uma nova extração de ácido nucleico de acordo com o Folheto informativo do TruSight Oncology Comprehensive (UE) (documento n.º 200007789). |

Para quaisquer outros passos que sejam indicados como falhados, contacte a Assistência Técnica da Illumina.

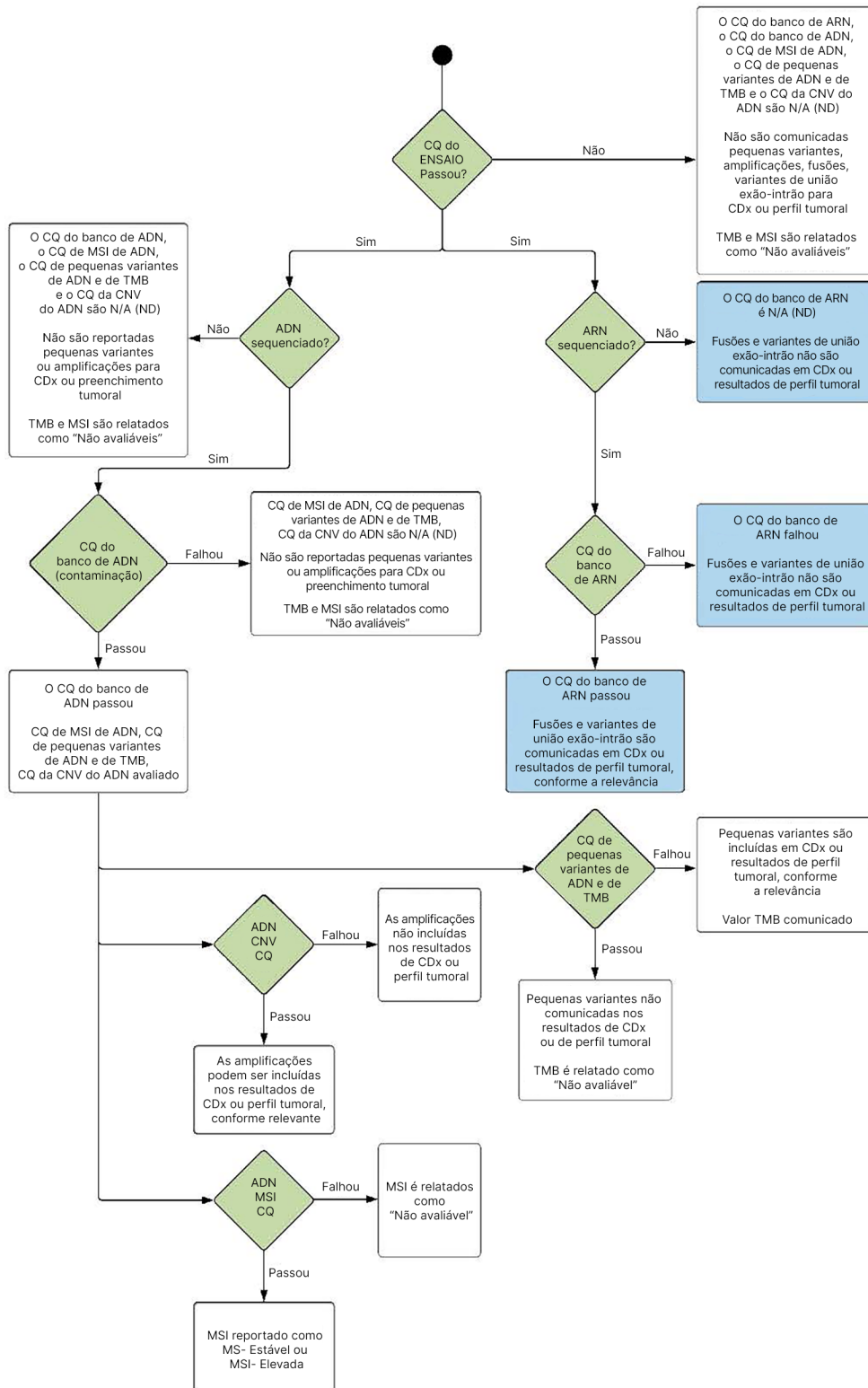
Anexo A fluxograma de indicadores de CQ

O fluxograma seguinte descreve os indicadores de CQ, que estão listados no relatório TSO Comprehensive. Se o CQ do ensaio falhar, não são avaliados outros passos de CQ e todos são marcados como N/A (ND). Se o ADN ou ARN não forem sequenciados ou falharem o CQ do banco, quaisquer tipos de variante correspondentes não são incluídos nos resultados de Diagnóstico Complementar ou Perfil Tumoral. O CQ do banco de ADN é uma medida de contaminação. Se não passar, então os indicadores de CQ de ADN a jusante (CQ de MSI de ADN, CQ de pequenas variantes de ADN e de TMB e CQ da CNV do ADN) são marcados como N/A (ND). Para mais informações, consulte as seguintes secções e tabelas:

- ▶ *Métodos de análise na página 8*
- ▶ Tabela Controlo de qualidade *na página 19*
- ▶ Tabela Indicadores de CQ de ensaio *na página 36*
- ▶ *Controlo de qualidade para bancos de amostras de ADN na página 12*
- ▶ *Indicadores de nível de amostras na página 42*
- ▶ *Anexo B indicadores de CQ na página 48*

O fluxograma não mapeia as amostras de controlo. Os resultados das amostras de controlo não têm impacto nos indicadores de CQ, no relatório PDF ou JSON TSO Comprehensive. A utilização de amostras de controlo é descrita em *Amostras de controlo na página 6*. Para obter informações adicionais sobre as amostras de controlo, consulte Folheto informativo do TruSight Oncology Comprehensive (UE) (documento n.º 200007789).

O fluxograma não mapeia os resultados de CQ ao nível da posição. Estes resultados fazem parte dos resultados de CQ de diagnóstico complementar, que são descritos na tabela CQ de diagnósticos complementares *na página 26*. Os resultados de CQ ao nível da posição para a secção Perfil Tumoral são fornecidos no Relatório de baixa profundidade, que é descrito em *Relatórios de baixa profundidade para Bancos de Amostras de ADN na página 13*.



Anexo B indicadores de CQ

Indicadores de controlo de qualidade

Tabela 5 Indicadores de CQ de resultados do relatório do TSO Comprehensive

| Tipo de saída | Indicador | Especificação | Descrição | Impacto da falha de especificação* |
|------------------------|------------------|----------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Ensaio de sequenciação | PCT_PF_READS (%) | ≥ 80,0 | Percentagem de leituras que passam no filtro (PF). | Ensaio de sequenciação invalidado, não foram apresentados resultados para qualquer amostra no ensaio. |
| | PCT_Q30_R1 (%) | ≥ 80,0 | Percentagem média de identificações de bases com pontuação de qualidade de Q30 ou superior para a Leitura 1. | |
| | PCT_Q30_R2 (%) | ≥ 80,0 | Percentagem média de identificações de bases com pontuação de qualidade de Q30 ou superior para a Leitura 2. | |

| Tipo de saída | Indicador | Especificação | Descrição | Impacto da falha de especificação* |
|---------------|----------------------------------------|-------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------|
| Bancos de ADN | CONTAMINATION_SCORE | ≤ 3106 OU > 3106 e $P_VALUE \leq 0,049$ | Um indicador que avalia a probabilidade de contaminação utilizando o VAF de variantes comuns. A pontuação de contaminação baseia-se na distribuição de VAF de SNP. O valor de P de contaminação utilizado para avaliar genomas altamente reorganizados, apenas aplicável quando a pontuação de contaminação está acima do Limite Superior de Especificações. | Não foram comunicados resultados de ADN. |
| | MEDIAN_INSERT_SIZE (bp) | ≥ 70 | O comprimento médio do fragmento na amostra. | Não foram comunicados resultados de TMB ou variantes pequenas de ADN. |
| | MEDIAN_EXON_COVERAGE (contagem) | ≥ 150 | Média da cobertura de fragmentos de exões em todas as bases de exões. | |
| | PCT_EXON_50X (%) | $\geq 90,0$ | Percentagem de bases de exões com cobertura de fragmentos de 50X. | |
| | USABLE_MSI_SITES (contagem) | ≥ 40 | O número de centros MSI utilizáveis para identificações MSI (número de centros microssatélites com leituras de amplitude suficientes para identificar instabilidade de microssatélites). | Não foram comunicados resultados de MSI. |
| | COVERAGE_MAD (contagem) | $\leq 0,210$ | A média de desvios absolutos da média da contagem normalizada de cada região-alvo de CNV. | Não foram comunicados resultados de amplificação genética. |
| | MEDIAN_BIN_COUNT_CNV_TARGET (contagem) | $\geq 1,0$ | A contagem média de recipientes em bruto por CNV-alvo. | |

| Tipo de saída | Indicador | Especificação | Descrição | Impacto da falha de especificação* |
|---------------|-----------------------------------|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------|
| Bancos de ARN | MEDIAN_INSERT_SIZE (bp) | ≥ 80 | O comprimento médio do fragmento na amostra. | Não foram comunicados resultados de fusões ou variantes de união exão-intrão. |
| | MEDIAN_CV_GENE_500X (coeficiente) | ≤ 0,93 | MEDIAN_CV_GENE_500X é um indicador de uniformidade de cobertura. Para cada gene com cobertura de pelo menos 500x, é calculado o coeficiente de variação na cobertura em todo o corpo do gene. Este indicador é a média destes valores. Um valor alto indica um nível alto de variação e indica um problema na preparação do banco, como problemas de entrada de amostra baixa e/ou de pulldown da sonda. Este indicador é calculado utilizando todas as leituras (incluindo leituras marcadas como duplicadas). | |
| | TOTAL_ON_TARGET_READS (contagem) | ≥ 9.000.000 | O número total de leituras que mapeiam para as regiões-alvo. Este indicador é calculado utilizando todas as leituras (incluindo leituras marcadas como duplicadas). | |

*Os resultados bem-sucedidos mostram PASS (Passou).

Indicadores ampliados de ADN

Os indicadores ampliados de ADN são fornecidos apenas para fins informativos. Podem ser informativos para a resolução de problemas, mas são fornecidos sem limites de especificação explícitos e não são utilizados diretamente para o controlo da qualidade da amostra. Para obter orientações adicionais, contacte a Assistência Técnica da Illumina.

| Indicador | Descrição | Unidades |
|------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| TOTAL_PF_READS | Total de leituras a passar no filtro | Contagem |
| MEAN_FAMILY_SIZE | A soma das leituras em cada família, dividida pelo número de famílias após correção, colapso e filtragem das leituras de apoio | Contagem |
| MEDIAN_TARGET_COVERAGE | A cobertura média das bases | Contagem |
| PCT_CHIMERIC_READS | Percentagem de leituras quiméricas | % |
| PCT_EXON_100X | Percentagem de bases de exões com cobertura superior a 100X | % |
| PCT_READ_ENRICHMENT | Percentagem de leituras que cruzam qualquer parte da região-alvo vs. leituras totais | % |
| PCT_USABLE_UMI_READS | A percentagem de leituras com UMI utilizáveis. | % |

| Indicador | Descrição | Unidades |
|-----------------------|---------------------------------------------------------------------------|----------|
| MEAN_TARGET_COVERAGE | A cobertura média das bases | Contagem |
| PCT_ALIGNED_READS | Percentagem de leituras que se alinham com o genoma de referência. | % |
| PCT_CONTAMINATION_EST | Percentagem de contaminação da amostra | % |
| PCT_PF_UQ_READS | Percentagem de leituras exclusivas, que passam no filtro | % |
| PCT_TARGET_0.4X_MEAN | Percentagem de bases-alvo com cobertura-alvo superior a 0,4 vezes a média | % |
| PCT_TARGET_100X | Percentagem de bases-alvo com cobertura superior a 100X | % |
| PCT_TARGET_250X | Percentagem de bases-alvo com cobertura superior a 250X | % |

Indicadores ampliados de ARN

Os indicadores ampliados de ARN são fornecidos apenas para informação. Podem ser informativos para a resolução de problemas, mas são fornecidos sem limites de especificação explícitos e não são utilizados diretamente para o controlo da qualidade da amostra. Para obter orientações adicionais, contacte a Assistência Técnica da Illumina.

| Indicador | Descrição | Unidades |
|-----------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----------|
| PCT_CHIMERIC_READS | Percentagem de leituras que estão alinhadas como dois segmentos que mapeiam regiões não consecutivas no genoma | % |
| PCT_ON_TARGET_READS | Percentagem de leituras que cruzam qualquer parte da região-alvo vs. leituras totais. Uma leitura que mapeia parcialmente para uma região-alvo é contada como no alvo. | % |
| SCALED_MEDIAN_GENE_COVERAGE | Média da cobertura base média dos genes dimensionada por comprimento. Uma indicação da profundidade de cobertura média dos genes no painel. | Contagem |
| TOTAL_PF_READS | O número total de leituras que passam no filtro | Contagem |

Anexo C referência do relatório TruSight Oncology Comprehensive (UE)

illumina | TruSight™ Oncology Comprehensive (EU) FOR IN VITRO DIAGNOSTIC USE Report Date 2022-04-06

| | | | |
|--------------------------------------------------|------------------------------|--------|----------------------------------------------------|
| Sample ID Sample A | Run QC RNA Library QC | ✓ PASS | Run ID 190426_NDX550142_0014_AH3VGWBDXX |
| Tumor Type Medullary thyroid carcinoma | DNA Library QC | ✓ PASS | Analysis Date 2022-04-06 |
| Sex Female | L DNA MSI QC | ✓ PASS | Knowledge Base Version 6.8.0.0 |
| | L DNA Small Variant & TMB QC | ✓ PASS | Knowledge Base Published Date 2021-12-23 |
| | L DNA Copy Number Variant QC | ✓ PASS | Module Version 2.3.6.113 |
| | | | Claims Package Version 2.1.0.2 |

Companion Diagnostic Results *

| Detected Variants/Biomarkers | Therapy | Usage | Details |
|------------------------------|------------------------------|-----------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| LMNA-NTRK1 Fusion | VITRAKVI® (larotrectinib) | Indicated | Type: Fusion Breakpoint 1: chr1:156100562 Breakpoint 2: chr1:156844696 Fusion Supporting Reads: 64 |

For details about the Companion Diagnostics claims that were evaluated for this sample, see the Companion Diagnostics Intended Uses Evaluated table.

Other Alterations and Biomarkers Identified

The genomic findings reported below, for variants or biomarkers identified in this sample, are intended to provide tumor profiling information in accordance with professional guidelines.

Genomic Findings with Evidence of Clinical Significance *

No Detected Variants

Genomic Findings with Potential Clinical Significance *


TMB: 3.1 Mut/Mb MSI: MS-Stable

| Detected Variants | Details |
|---------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| APC p.(Arg1450Ter) | Type: SNV VAF: 11.39% Consequence: Stop Gained Nucleotide Change: NM_000038.5:c.4348C>T Genomic Position: chr5:112175639 Reference Allele: C Alternate Allele: T |
| BRAF p.(Val600Glu) | Type: SNV VAF: 5.17% Consequence: Missense Variant Nucleotide Change: NM_004333.4:c.1799T>A Genomic Position: chr7:146453136 Reference Allele: A Alternate Allele: T |

*Additional information in Informatics Details section

1 of 6

- A** Consulte *Anexo A fluxograma de indicadores de CQ* na página 46 para obter detalhes.
- B** Um resultado de CDx indica que a amostra do doente tem um tipo de tumor e biomarcador que é alvo da terapêutica indicada. Para obter detalhes, consulte *Identificações de diagnósticos complementares* na página 15. Se não existirem resultados de CDx, o relatório indica que não foram detetados biomarcadores de diagnóstico associados para o tipo de tumor da amostra indicado.
- C** O biomarcador de CDx observado na amostra do doente. A utilização pode ser indicada ou ver nota. Se aplicável, uma nota na coluna Details (Detalhes) fornece informações adicionais sobre a variante, como, por exemplo, informações sobre possível resistência a fármacos.
- D** A secção Outras alterações e biomarcadores identificados contém informações sobre o perfil tumoral. As associações podem dever-se a evidências terapêuticas, diagnósticas ou prognósticas. Se aplicável, esta secção também lista mutações de resistência com uma nota correspondente.
- E** De acordo com a KB, há evidência de significância clínica para este biomarcador neste tipo de tumor, com base em informações de terapêutica, diretrizes clínicas ou ambas. Para mais informações, consulte o *Conclusões genómicas com evidência de significância clínica* na página 17 e a tabela Conclusões genómicas com evidência de significância clínica na página 23.
- F** De acordo com a KB, existe evidência clínica limitada ou inexistente para uma conclusão genómica, dentro do tipo de tumor. Poderão existir dados pré-clínicos ou dados noutros tipos de tumor em que o biomarcador é preditivo da resposta a uma terapêutica aprovada pela ou experimental. Para mais informações, consulte o *Conclusões genómicas com potencial significância clínica* na página 17 e a tabela Conclusões genómicas com evidência de significância clínica na página 24.
- G** A TMB e a MSI estão listadas nas Conclusões Genómicas com Potencial Significância Clínica. Consulte *Carga tumoral mutacional* na página 11 e *Estado de instabilidade de microssatélites* na página 12.
- H** Se existirem duas variantes listadas numa única linha (não ilustradas), existe significância clínica para estas variantes, quando são detetadas em conjunto. Mutações de resistência ou outras fontes podem ser a causa. Ver exemplos em *Perfil tumoral de variantes* na página 16.

 TruSight[™] Oncology Comprehensive (EU)
 Sample ID: Sample A
Tumor Type: Metastatic thyroid carcinoma
Media version: 2.3.4.113
Knowledge Base version: 6.5.0.0
Report Date: 2022-04-06

Companion Diagnostics QC **A**

Companion Diagnostics Genomic Positions with Insufficient Coverage for Small Variant Detection

The positions listed below did not have sufficient coverage for detecting small variants for the listed Companion Diagnostic intended uses. Only Companion Diagnostic intended uses that were evaluated will be listed.

None

Companion Diagnostics Intended Uses Evaluated **B**

The table below includes a column that indicates whether that Companion Diagnostic Intended use was evaluated for this sample. If an intended use was not evaluated, a reason is listed. The columns shaded in gray below indicate the information that is sample-specific.

| Tumor Type | Biomarkers | Therapy | CDx Intended Use Evaluated | Comment |
|-------------|-----------------------------------|---------------------------|----------------------------|---------|
| Solid Tumor | NTRK1, NTRK2 & NTRK3 Gene Fusions | VITRAKVI® (larotrectinib) | Yes C | – |

2 of 6

- A** A secção CQ de diagnósticos complementares fornece informações de CQ, ao nível da posição sobre biomarcadores de CDx. Se não estiverem listadas posições, significa que houve cobertura suficiente ao longo das variantes e região-alvo. Para obter mais informações, consulte a tabela CQ de diagnósticos complementares [na página 26](#).
- B** A secção Utilizações previstas avaliadas do diagnóstico complementar lista todas as utilizações previstas de CDx e indica se foram avaliadas nesta amostra. Consulte Folheto informativo do TruSight Oncology Comprehensive (UE) (documento n.º 200007789) para obter mais informações sobre a utilização prevista de Ensaio TSO Comprehensive. O tipo de tumor, biomarcadores e terapêutica são da declaração de utilização prevista.
- C** A avaliação ocorre se o tipo de tumor for apropriado para um CDx e a amostra tiver passado nas categorias de CQ necessárias. Para obter mais informações sobre os critérios necessários para que as amostras sejam avaliadas para um CDx, consulte a tabela Utilizações previstas avaliadas do diagnóstico complementar [na página 26](#).
- ▶ **Yes (Sim)** – A amostra foi avaliada para esta utilização prevista. Os resultados específicos seriam identificados na secção Resultados de diagnósticos complementares do relatório.
 - ▶ **No (Não)** – A amostra não foi avaliada para esta utilização prevista e um comentário explica o motivo.

Anexo D MNV, indels e deleções no EGFR e RET detetáveis por identificador de variantes faseado

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|-----------------------|-------------------|------|-------------------------------------------|
| chr7 | 55242462 | CAAGGAATTAAGAGAA | C | EGFR | NP_005219.2:p.(Lys745_Glu749del) |
| chr7 | 55242463 | AAGGAATTAAGAGAAG | A | EGFR | NP_005219.2:p.(Lys745_Ala750delinsThr) |
| chr7 | 55242464 | AGGAATTAAGAGA | A | EGFR | NP_005219.2:p.(Glu746_Glu749del) |
| chr7 | 55242464 | AGGAATTAAGAGAAGC | A | EGFR | NP_005219.2:p.(Glu746_Ala750del) |
| chr7 | 55242465 | GGAATTAAGA | G | EGFR | NP_005219.2:p.(Leu747_Glu749del) |
| chr7 | 55242465 | GGAATTAAGAGAAG | AATTC | EGFR | NP_005219.2:p.(Glu746_Ala750delinsIlePro) |
| chr7 | 55242465 | GGAATTAAGAGAAGCAA | AATTC | EGFR | NP_005219.2:p.(Glu746_Thr751delinsIlePro) |
| chr7 | 55242465 | GGAATTAAGAGAAGCAAC | AAT | EGFR | NP_005219.2:p.(Glu746_Thr751delinsIle) |
| chr7 | 55242465 | GGAATTAAGAGAAGCAACA | G | EGFR | NP_005219.2:p.(Glu746_Thr751del) |
| chr7 | 55242465 | GGAATTAAGAGAAGCAACATC | AAT | EGFR | NP_005219.2:p.(Glu746_Ser752delinsIle) |
| chr7 | 55242465 | GGAATTAAGAGAAGCA | G | EGFR | NP_005219.2:p.(Glu746_Ala750del) |
| chr7 | 55242466 | GAATTAAGAGAAGCAACAT | G | EGFR | NP_005219.2:p.(Glu746_Ser752delinsAla) |
| chr7 | 55242466 | GAATTAAGAGAAGCAA | G | EGFR | NP_005219.2:p.(Glu746_Thr751delinsAla) |
| chr7 | 55242467 | AATTAAGAGAAGCAAC | A | EGFR | NP_005219.2:p.(Leu747_Thr751del) |
| chr7 | 55242467 | AATTAAGAGAAGCAACATC | A | EGFR | NP_005219.2:p.(Glu746_Ser752delinsAsp) |
| chr7 | 55242467 | AATTAAGAGAAGCAACATC | T | EGFR | NP_005219.2:p.(Glu746_Ser752delinsVal) |
| chr7 | 55242467 | AATTAAGAGAAGCAACATCTC | TCT | EGFR | NP_005219.2:p.(Glu746_Pro753delinsValSer) |
| chr7 | 55242467 | AATTAAGAGAAGCAACA | TTGCT | EGFR | NP_005219.2:p.(Glu746_Thr751delinsValAla) |
| chr7 | 55242467 | AATTAAGAGAAGCAAC | T | EGFR | NP_005219.2:p.(Glu746_Thr751delinsVal) |
| chr7 | 55242468 | ATTAAGAGAAGCAACATCT | A | EGFR | NP_005219.2:p.(Leu747_Ser752del) |
| chr7 | 55242468 | ATTAAGAGAAGCAAC | GCA | EGFR | NP_005219.2:p.(Leu747_Thr751delinsGln) |
| chr7 | 55242468 | ATTAAGAGAAG | GC | EGFR | NP_005219.2:p.(Leu747_Ala750delinsPro) |
| chr7 | 55242469 | TTAAGAGAAG | C | EGFR | NP_005219.2:p.(Leu747_Ala750delinsPro) |
| chr7 | 55242469 | TTAAGAGAAGCAA | C | EGFR | NP_005219.2:p.(Leu747_Thr751delinsPro) |
| chr7 | 55242469 | TTAAGAGAAGCAACATCT | CAA | EGFR | NP_005219.2:p.(Leu747_Ser752delinsGln) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|--------------------------------|-------------------|------|-------------------------------------------|
| chr7 | 55242469 | TTAAGAGAAGCAACATCTCC | CA | EGFR | NP_005219.2:p.(Leu747_Pro753delinsGln) |
| chr7 | 55242469 | TTAAGAGAAGCAACATCTC | T | EGFR | NP_005219.2:p.(Leu747_Pro753delinsSer) |
| chr7 | 55242469 | TTAAGAGAAGCAA | T | EGFR | NP_005219.2:p.(Leu747_Thr751delinsSer) |
| chr7 | 55242482 | CATCTCCGAAAGCCAACAAGGAAAT | C | EGFR | NP_005219.2:p.(Ser752_Ile759del) |
| chr7 | 55249011 | AC | CCAGCGTGGAT | EGFR | NP_005219.2:p.(Ala767_Val769dup) |
| chr10 | 43604549 | CTCAGACTTCCAGGGCCCAGGA | G | RET | NP_066124.1:p.(Asp378_Gly385delinsGlu) |
| chr10 | 43609928 | ATCCACTGTGCGACGAGCTG | CACAC | RET | NP_066124.1:p.(Asp627_Leu633delinsAlaHis) |
| chr10 | 43609928 | ATCCACTGTGCGACGAGCTG | CACAT | RET | NP_066124.1:p.(Asp627_Leu633delinsAlaHis) |
| chr10 | 43609928 | ATCCACTGTGCGACGAGCTG | CCCAC | RET | NP_066124.1:p.(Asp627_Leu633delinsAlaHis) |
| chr10 | 43609928 | ATCCACTGTGCGACGAGCTG | CCCAT | RET | NP_066124.1:p.(Asp627_Leu633delinsAlaHis) |
| chr10 | 43609928 | ATCCACTGTGCGACGAGCTG | CGCAC | RET | NP_066124.1:p.(Asp627_Leu633delinsAlaHis) |
| chr10 | 43609928 | ATCCACTGTGCGACGAGCTG | CGCAT | RET | NP_066124.1:p.(Asp627_Leu633delinsAlaHis) |
| chr10 | 43609928 | ATCCACTGTGCGACGAGCTG | CTCAC | RET | NP_066124.1:p.(Asp627_Leu633delinsAlaHis) |
| chr10 | 43609928 | ATCCACTGTGCGACGAGCTG | CTCAT | RET | NP_066124.1:p.(Asp627_Leu633delinsAlaHis) |
| chr10 | 43609933 | CTGTGCGACGAGCTGTGCCGCACGGTGATC | TGCGAT | RET | NP_066124.1:p.(Leu629_Ile638delinsCysAsp) |
| chr10 | 43609933 | CTGTGCGACGAGCTGTGCCGCACGGTGATC | TGTGAT | RET | NP_066124.1:p.(Leu629_Ile638delinsCysAsp) |
| chr10 | 43609933 | CTGTGCGACGAGCTGTGCCGCACGGTGAT | TGCGA | RET | NP_066124.1:p.(Leu629_Ile638delinsCysAsp) |
| chr10 | 43609933 | CTGTGCGACGAGCTGTGCCGCACGGTGAT | TGTGA | RET | NP_066124.1:p.(Leu629_Ile638delinsCysAsp) |
| chr10 | 43609936 | TGC | GCT | RET | NP_066124.1:p.(Cys630Ala) |
| chr10 | 43609940 | ACGAGCTG | TA | RET | NP_066124.1:p.(Asp631_Leu633delinsVal) |
| chr10 | 43609940 | ACGAGCTG | TC | RET | NP_066124.1:p.(Asp631_Leu633delinsVal) |
| chr10 | 43609940 | ACGAGCTGTGCCGCACGGTGAT | C | RET | NP_066124.1:p.(Asp631_Ile638delinsAla) |
| chr10 | 43609940 | ACGAGCTGTGCCGCACGGTGATC | CA | RET | NP_066124.1:p.(Asp631_Ile638delinsAla) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|--------------------------|-------------------|------|-------------------------------------------|
| chr10 | 43609940 | ACGAGCTGTGCCGCACGGTGATC | CG | RET | NP_066124.1:p.(Asp631_Ile638delinsAla) |
| chr10 | 43609940 | ACGAGCTGTGCCGCACGGTGATC | CT | RET | NP_066124.1:p.(Asp631_Ile638delinsAla) |
| chr10 | 43609940 | ACGAGCTG | TT | RET | NP_066124.1:p.(Asp631_Leu633delinsVal) |
| chr10 | 43609941 | CGAGCTG | A | RET | NP_066124.1:p.(Asp631_Leu633delinsGlu) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCA | AGCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCA | AGTT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | AGCAGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | AGCAGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | AGCTCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | AGCTCC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | AGCTCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | AGTAGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | AGTAGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | AGTTCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | AGTTCC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | AGTTCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACGGTGATCGCA | CACAGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala639delinsHisArg) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACGGTGATCGCA | CACCGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala639delinsHisArg) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACGGTGATCGCA | CACCGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala639delinsHisArg) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACGGTGATCGCA | CACCGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala639delinsHisArg) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACGGTGATCGCA | CATAGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala639delinsHisArg) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACGGTGATCGCA | CATCGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala639delinsHisArg) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACGGTGATCGCA | CATCGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala639delinsHisArg) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACGGTGATCGCA | CATCGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala639delinsHisArg) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACGGTGATCGC | CACAG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala639delinsHisArg) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACGGTGATCGC | CACCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala639delinsHisArg) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACGGTGATCGC | CATAG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala639delinsHisArg) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACGGTGATCGC | CATCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala639delinsHisArg) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|---------------------|-------------------|------|-------------------------------------------|
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCAAGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCAAGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCATCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCATCC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCATCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCCAGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCCAGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCCTCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCCTCC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCCTCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCGAGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCGAGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCGTCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCGTCC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCGTCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCTAGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCTAGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCTTCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCTTCC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCACG | TCTTCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCA | TCAT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCA | TCCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCA | TCGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609942 | GAGCTGTGCCGCA | TCTT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Thr636delinsSerSer) |
| chr10 | 43609943 | AGCTG | TA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Leu633delinsVal) |
| chr10 | 43609943 | AGCTG | TC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Leu633delinsVal) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGT | CAGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Val637delinsAlaAla) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGT | CCGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Val637delinsAlaAla) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|----------------------------|-------------------|------|----------------------------------------------|
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGT | CGGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Val637delinsAlaAla) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGT | CTGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Val637delinsAlaAla) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TAAGACCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TAAGACCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TAAGACCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TAAGGCCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TAAGGCCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TACGACCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TACGACCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TACGACCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TACGCCCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TACGCCCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TACGCCCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TACGGCCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TACGGCCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TACGGCCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TACGTCCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|----------------------------|-------------------|------|----------------------------------------------|
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TACGTCCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TACGTCTT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCAGACCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCAGACCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCAGACCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCAGGCCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCAGGCCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCAGGCCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCCGACCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCCGACCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCCGACCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCCGCCCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCCGCCCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCCGCCCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCCGGCCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCCGGCCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|----------------------------|-------------------|------|----------------------------------------------|
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCCGGCCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCCGTCCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCCGTCCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TCCGTCCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGAGACCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGAGACCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGAGACCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGAGGCCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGAGGCCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGAGGCCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGCGACCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGCGACCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGCGACCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGCGCCCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGCGCCCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGCGCCCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|----------------------------|-------------------|------|----------------------------------------------|
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGCGGCCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGCGGCCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGCGTCCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGCGTCCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TGCGTCCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTAGACCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTAGACCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTAGACCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTAGGCCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTAGGCCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTAGGCCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTCGACCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTCGACCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTCGACCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTCGCCCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTCGCCCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|----------------------------|-------------------|------|----------------------------------------------|
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTCGCCCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTCGGCCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTCGGCCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTCGGCCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTCGTCCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTCGTCCG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAGCC | TTCGTCTT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TAAGAC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TAAGGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TACGAC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TACGCC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TACGGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TACGTC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TCAGAC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TCAGGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TCCGAC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|--------------------------|-------------------|------|----------------------------------------------|
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TCCGCC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TCCGGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TCCGTC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TGAGAC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TGAGGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TGCGAC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TGCGCC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TGCGGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TGCGTC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TTAGAC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TTAGGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TTCGAC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TTCGCC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TTCGGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTGATCGCAG | TTCGTC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Ala640delinsValArgPro) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTG | CAGCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Val637delinsAlaAla) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTG | CAGCC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Val637delinsAlaAla) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTG | CAGCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Val637delinsAlaAla) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|---------------------|-------------------|------|----------------------------------------------|
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTG | CCGCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Val637delinsAlaAla) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTG | CCGCC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Val637delinsAlaAla) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTG | CCGCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Val637delinsAlaAla) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTG | CGGCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Val637delinsAlaAla) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTG | CGGCC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Val637delinsAlaAla) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTG | CGGCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Val637delinsAlaAla) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTG | CTGCA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Val637delinsAlaAla) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTG | CTGCC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Val637delinsAlaAla) |
| chr10 | 43609943 | AGCTGTGCCGCACGGTG | CTGCT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Val637delinsAlaAla) |
| chr10 | 43609943 | AGCTG | TT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Leu633delinsVal) |
| chr10 | 43609944 | GCTGT | CGTAC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGT | CGTCC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGT | CGTGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGT | CGTTC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTAAGA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTAAGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTACGA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTACGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTACGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTCAGA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTCAGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|---------------------|-------------------|------|----------------------------------------------|
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTCCGA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTCCGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTCCGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTGAGA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTGAGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTGCGA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTGCGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTGCGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTTAGA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTTAGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTTCGA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTTCGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | CGTTCGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTAAGA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTAAGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTACGA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|---------------------|-------------------|------|----------------------------------------------|
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTACGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTACGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTCAGA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTCCGA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTCCGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTCCGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTGAGA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTGAGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTGCGA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTGCGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTGCGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTTAGA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTTAGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTTCGA | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTTCGG | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGTGC | TGTTCGT | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|---------------------|-------------------|------|----------------------------------------------|
| chr10 | 43609944 | GCTGT | TGTAC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGT | TGTCC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGT | TGTGC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609944 | GCTGT | TGTTC | RET | NP_066124.1:p.(Glu632_Cys634delinsAspValArg) |
| chr10 | 43609945 | CTGTGC | GTATGG | RET | NP_066124.1:p.(Leu633_Cys634delinsValTrp) |
| chr10 | 43609945 | CTGTGC | GTCTGG | RET | NP_066124.1:p.(Leu633_Cys634delinsValTrp) |
| chr10 | 43609945 | CTGTGC | GTGTGG | RET | NP_066124.1:p.(Leu633_Cys634delinsValTrp) |
| chr10 | 43609945 | CTGTGC | GTTTGG | RET | NP_066124.1:p.(Leu633_Cys634delinsValTrp) |
| chr10 | 43609948 | TGC | CCA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634Pro) |
| chr10 | 43609948 | TGC | CCG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634Pro) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | GGGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635delinsTrpGly) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | GGGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635delinsTrpGly) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | GGGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635delinsTrpGly) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCAAAAGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCAAAAGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCAAAACGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCAAAACGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCAAAACGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCAAAGAGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCAAAGAGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCAAAGCGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|---------------------|-------------------|------|----------------------------------------|
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCAAAGCGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCAAAGCGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCCAAAGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCCAAAGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCCAAACGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCCAAACGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCCAAACGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCCAAGAGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCCAAGAGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCCAAGCGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCCAAGCGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCCAAGCGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCGAAAAGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCGAAAAGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCGAAACGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCGAAACGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCGAAACGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCGAAGAGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCGAAGAGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCGAAGCGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCGAAGCGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCGAAGCGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCTAAAAGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCTAAAAGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCTAAACGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCTAAACGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCTAAACGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCTAAGAGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|---------------------|-------------------|------|----------------------------------------|
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCTAAGAGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCTAAGCGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCTAAGCGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | CCGC | TCCTAAGCGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | C | TCCAAAA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | C | TCCAAAG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | C | TCCCAAA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | C | TCCCAAG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | C | TCCGAAA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | C | TCCGAAG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | C | TCCTAAA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609950 | C | TCCTAAG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CAAAAAGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CAAAACGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CAAAACGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CAAAACGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CAAAGAGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CAAAGCGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CAAAGCGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CAAAGCGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CCAAAAGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CCAAACGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CCAAACGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CCAAACGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CCAAGAGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CCAAGAGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CCAAGCGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CCAAGCGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|---------------------|-------------------|------|-------------------------------------------|
| chr10 | 43609952 | GC | CCAAGCGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CGAAAAGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CGAAAAGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CGAAACGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CGAAACGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CGAAACGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CGAAGAGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CGAAGAGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CGAAGCGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CGAAGCGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CGAAGCGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CTAAAAGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CTAAACGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CTAAACGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CTAAACGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CTAAGAGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CTAAGCGA | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CTAAGCGG | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43609952 | GC | CTAAGCGT | RET | NP_066124.1:p.(Cys634_Arg635insProLys) |
| chr10 | 43613904 | TTG | ACT | RET | NP_066124.1:p.(Leu790Thr) |
| chr10 | 43615630 | TTCC | ACCA | RET | NP_066124.1:p.(Asp903_Ser904delinsGluPro) |
| chr10 | 43615630 | TTCC | ACCG | RET | NP_066124.1:p.(Asp903_Ser904delinsGluPro) |
| chr10 | 43615630 | TTCC | ACCT | RET | NP_066124.1:p.(Asp903_Ser904delinsGluPro) |
| chr10 | 43615630 | TTCC | GCCA | RET | NP_066124.1:p.(Asp903_Ser904delinsGluPro) |
| chr10 | 43615630 | TTCC | GCCG | RET | NP_066124.1:p.(Asp903_Ser904delinsGluPro) |

| Cromossoma | Posição (hg19) | Alelo de referência | Alelo alternativo | Gene | Alteração de aminoácidos |
|------------|----------------|---------------------|-------------------|------|-------------------------------------------|
| chr10 | 43615630 | TTCC | GCCT | RET | NP_066124.1:p.(Asp903_Ser904delinsGluPro) |

Histórico de revisões

| Documento | Data | Descrição da alteração |
|--------------------------------|----------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Documento n.º 200008661 v02 | Abril de 2022 | Adicionado conteúdo de diagnóstico complementar. Adicionado conteúdo de estudo clínico NTRK. |
| Documento n.º 200008661 v01 | Fevereiro de 2022 | Foram adicionadas secções Indicadores ampliados de ADN e ARN. |
| Documento n.º 200008661 v00 | Novembro de 2021 | Edição inicial. |

Assistência Técnica

Para obter assistência técnica, contacte o Suporte Técnico da Illumina.

Website: www.illumina.com
E-mail: techsupport@illumina.com

Illumina Números de telefone do Apoio ao Cliente

| Região | Número gratuito | Regional |
|-------------------------|-----------------|----------------|
| América do Norte | +1 800 809 4566 | |
| Austrália | +1 800 775 688 | |
| Áustria | +43 800006249 | +43 19286540 |
| Bélgica | +32 80077160 | +32 34002973 |
| China | 400 066 5835 | |
| Dinamarca | +45 80820183 | +45 89871156 |
| Finlândia | +358 800918363 | +358 974790110 |
| França | +33 805102193 | +33 170770446 |
| Alemanha | +49 8001014940 | +49 8938035677 |
| Hong Kong, China | 800960230 | |
| Irlanda | +353 1800936608 | +353 016950506 |
| Itália | +39 800985513 | +39 236003759 |
| Japão | 0800 111 5011 | |
| Países Baixos | +31 8000222493 | +31 207132960 |
| Nova Zelândia | 0800 451 650 | |
| Noruega | +47 800 16836 | +47 21939693 |
| Singapura | +1 800 579 2745 | |
| Coreia do Sul | +82 80 234 5300 | |
| Espanha | +34 911899417 | +34 800300143 |
| Suécia | +46 850619671 | +46 200883979 |
| Suíça | +41 565800000 | +41 800200442 |
| Taiwan, China | 00806651752 | |
| Reino Unido | +44 8000126019 | +44 2073057197 |
| Outros países | +44 1799 534000 | |

Fichas de dados de segurança (SDS) - Disponíveis no website da Illumina em support.illumina.com/sds.html.

Documentação do produto - Disponível para descarregamento em support.illumina.com.



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, Califórnia 92122 EUA
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (fora da América do Norte)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
Países Baixos

PARA UTILIZAÇÃO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO
APENAS PARA EXPORTAÇÃO

© 2022 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados.

illumina[®]