illumina

Analysemodule CF Clinical Seq 2.0 in Local Run Manager

Workflowhandleiding

BESTEMD VOOR IN-VITRODIAGNOSTIEK

Overzicht	3
Runinformatie invoeren	3
Analysemethoden	5
Run en resultaten weergeven	5
Bestand met partijvolggegevens	6
Resultatenrapport	6
Technische ondersteuning	10



Documentnr. 1000000100946 v01 NLD Augustus 2021 BESTEMD VOOR IN-VITRODIAGNOSTIEK BEDRIJFSEIGENDOM VAN ILLUMINA

Dit document en de inhoud ervan zijn eigendom van Illumina, Inc. en haar dochterondernemingen ('Illumina'), en zijn alleen bedoeld voor contractueel gebruik door haar klanten in verband met het gebruik van de hierin beschreven producten en voor geen enkel ander doel. Dit document en de inhoud ervan mogen niet worden gebruikt of gedistribueerd voor welk ander doel dan ook en/of op een andere manier worden gecommuniceerd, geopenbaard of gereproduceerd zonder de voorafgaande schriftelijke toestemming van Illumina. Illumina geeft door middel van dit document geen licenties onder haar patent, handelsmerk, auteursrecht of gewoonterechten noch soortgelijke rechten van derden door.

De instructies in dit document moeten strikt en uitdrukkelijk worden opgevolgd door gekwalificeerd en voldoende opgeleid personeel om een correct en veilig gebruik van de hierin beschreven producten te waarborgen. Alle inhoud van dit document moet volledig worden gelezen en begrepen voordat dergelijke producten worden gebruikt.

HET NIET VOLLEDIG LEZEN EN UITDRUKKELIJK OPVOLGEN VAN ALLE INSTRUCTIES IN DIT DOCUMENT KAN RESULTEREN IN SCHADE AAN DE PRODUCTEN, LETSEL AAN PERSONEN (INCLUSIEF GEBRUIKERS OF ANDEREN) EN SCHADE AAN ANDERE EIGENDOMMEN. BIJ HET NIET VOLLEDIG LEZEN EN UITDRUKKELIJK OPVOLGEN VAN ALLE INSTRUCTIES IN DIT DOCUMENT VERVALLEN ALLE GARANTIES DIE VAN TOEPASSING ZIJN OP HET PRODUCT.

ILLUMINA IS OP GEEN ENKELE MANIER AANSPRAKELIJK VOOR GEVOLGEN VAN EEN ONJUIST GEBRUIK VAN DE PRODUCTEN DIE HIERIN WORDEN BESCHREVEN (INCLUSIEF DELEN DAARVAN OF SOFTWARE).

© 2021 Illumina, Inc. Alle rechten voorbehouden.

Alle handelsmerken zijn het eigendom van Illumina, Inc. of hun respectievelijke eigenaren. Ga naar www.illumina.com/company/legal.html voor meer informatie over specifieke handelsmerken.

Overzicht

De analysemodule CF Clinical Seq 2.0 in Local Run Manager is bedoeld voor gebruik met de TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing assay. De assay neemt mutaties in de eiwitcoderingsregio's en de intron/exongrenzen van het Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator (*CFTR*)-gen waar, waaronder twee grote deleties en twee diepe intronische mutaties. De analysemodule voert secundaire analyses uit en genereert rapporten van sequencing-runs die TruSight Cystic Fibrosis toepassen. Zie de bijsluiter *TruSight Cystic Fibrosis (documentnr. 100000097720)*.

De analysemodule controleert korte regio's van geamplificeerd DNA, of amplicons, op varianten. Door gerichte sequencing van amplicons is een hoge dekking van bepaalde regio's in een groot aantal monsters mogelijk.

Toelichting op deze handleiding

Deze handleiding biedt instructies voor het instellen van runparameters voor de sequencing en analyse voor de analysemodule CF Clinical Seq 2.0. Voor het gebruik van de software is basiskennis nodig van het Windows-besturingssysteem en van de gebruikersinterface, die werkt in een webbrowser. Raadpleeg voor informatie over het dashboard van Local Run Manager en de systeeminstellingen de *Referentiehandleiding Local Run Manager-software voor MiSeqDx (documentnr. 1000000011880)*.

Runinformatie invoeren

Parameters instellen

- 1 Log in bij Local Run Manager.
- Selecteer Create Run (Run aanmaken) en selecteer daarna CF Clinical Seq 2.0.
 Er wordt een pop-upvenster weergegeven waarin u wordt gevraagd te bevestigen dat CF Clinical Seq 2.0 de beoogde selectie is.

CONFIRM CF CLINICAL SEQ 2.0 RUN
 Are you sure you want to continue with this CF Clinical Seq 2.0 (Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay) run?
 Note: If you want to change your run selection, press "Cancel" and make another selection.

Check to confirm CF Clinical Seq 2.0 run 📃



- 3 Vink het selectievakje aan en selecteer **Confirm** (Bevestigen) om door te gaan (of selecteer **Cancel** (Annuleren) om terug te keren naar het hoofdscherm).
- 4 Voer een runnaam in die de run van de sequencing tot en met de analyse identificeert. Gebruik alfanumerieke tekens, spaties, onderstrepingstekens of streepjes (40 tekens of minder).
- 5 **[Optioneel]** Voer een runbeschrijving in. Gebruik alfanumerieke tekens, spaties, onderstrepingstekens of streepjes (150 tekens of minder).
- 6 Voer het partijnummer en de vervaldatum van de bibliotheekvoorbereidingskit in.

×

Monsters voor de run specificeren

Specifeer monsters voor de run op een van de volgende manieren.

- Enter samples manually (Monsters handmatig invoeren): gebruik de lege tabel in het scherm Create Run (Run aanmaken).
- Import samples (Monsters importeren): navigeer naar een extern bestand met een kommagescheiden (*.csv) indeling. In het scherm 'Create Run' (Run aanmaken) kan een sjabloon worden gedownload.

Monsters handmatig invoeren

- 1 Voer in het veld Sample Name (Monsternaam) een unieke naam voor het monster in. Gebruik alfanumerieke tekens, streepjes of onderstrepingstekens (40 tekens of minder).
- 2 Klik met de rechtermuisknop en selecteer positieve- en negatievecontrolemonsters. Een run moet ten minste één positieve en één negatieve controle bevatten om opgeslagen te kunnen worden.
- [Optioneel] Voer in het tabblad Sample Description (Beschrijving van monster) een monsterbeschrijving in. 3 Gebruik alfanumerieke tekens, streepjes of onderstrepingstekens (50 tekens of minder).
- [Optioneel] Selecteer een Index 1-adapter in de Index 1 (i7)-vervolgkeuzelijst. 4 Deze stap is optioneel omdat de i7- en i5-indexcombinaties automatisch worden ingevuld met een standaardindeling.
- 5 [Optioneel] Selecteer een Index 2-adapter in de Index 2 (i5)-vervolgkeuzelijst. Deze stap is optioneel omdat de i7- en i5-indexcombinaties automatisch worden ingevuld met een standaardindeling.
- 6 Selecteer het pictogram Print (Afdrukken) om de indeling van de plaat weer te geven.
- Selecteer Print (Afdrukken) om de indeling van de plaat af te drukken als referentie voor het voorbereiden 7 van bibliotheken.
- [Optioneel] Selecteer Export (Exporteren) om een monsterinformatiebestand te exporteren. 8
- Selecteer Save Run (Run opslaan). 9

Als er minder dan 24 monsters zijn ingevoerd, verschijnt het venster Insufficient Samples (Onvoldoende monsters). Selecteer Proceed (Verdergaan) om verder te gaan of selecteer Cancel (Annuleren) om de monsters te bewerken.



LET OP

Het gebruik van minder dan 24 monsters wordt door Illumina niet gevalideerd. Raadpleeg voor meer informatie de bijsluiter TruSight Cystic Fibrosis (Documentnr. 1000000097720).

Monsters importeren

Monsterinformatie kan uit twee typen bestanden worden geïmporteerd:

- Een bestand met monsterinformatie dat eerder met behulp van de functie Export (Exporteren) uit de module CF Clinical Seg 2.0 is geëxporteerd.
- Een sjabloonbestand, dat kan worden gegenereerd door **Template** (Sjabloon) te selecteren in het scherm Create Run (Run aanmaken). Het sjabloonbestand bevat de juiste kolomkoppen voor importeren, met in elke kolom placeholder-informatie. Gebruik een externe editor om het sjabloonbestand aan te passen:

- 1 Geef voor elk monster in de run monsterinformatie op.
- 2 Verwijder alle resterende placeholder-informatie in ongebruikte cellen nadat alle monsterinformatie is opgegeven.
- 3 Sla het sjabloonbestand op.

Het importeren van monsterinformatie gaat als volgt:

- 1 Selecteer Import Samples (Monsters importeren) en blader dan naar het bestand en selecteer dit.
- 2 Selecteer het pictogram **Print** (Afdrukken) om de indeling van de plaat weer te geven.
- 3 Selecteer **Print** (Afdrukken) om de indeling van de plaat af te drukken als referentie voor het voorbereiden van bibliotheken.
- 4 [Optioneel] Selecteer Export (Exporteren) om monsterinformatie naar een extern bestand te exporteren.
- 5 Selecteer Save Run (Run opslaan).

Als er minder dan 24 monsters zijn ingevoerd, verschijnt het venster Insufficient Samples (Onvoldoende monsters). Selecteer **Proceed** (Verdergaan) om verder te gaan of selecteer **Cancel** (Annuleren) om de monsters te bewerken.



LET OP

Het gebruik van minder dan 24 monsters wordt door Illumina niet gevalideerd. Raadpleeg voor meer informatie de bijsluiter TruSight Cystic Fibrosis (Documentnr. 100000097720).

Een run bewerken

Raadpleeg voor instructies voor het bewerken van de informatie in uw run voordat u een sequencing start de *Referentiehandleiding Local Run Manager-software voor MiSeqDx (documentnr. 1000000011880).*

Analysemethoden

Raadpleeg voor een beschrijving van de analysemethoden voor TruSight Cystic Fibrosis de bijsluiter *TruSight Cystic Fibrosis (documentnr. 100000097720).*

Run en resultaten weergeven

- 1 Klik op het hoofdscherm van Local Run Manager op de runnaam.
- 2 Bekijk op het tabblad Run Overview (Runoverzicht) de meetgegevens van de sequencing-run.
- 3 [Optioneel] Selecteer het pictogram Copy to Clipboard (Naar klembord kopiëren) om het pad naar de outputrunmap te kopiëren.
- 4 Selecteer het tabblad Sequencing Information (Sequencing-informatie) om de runparameters en de informatie over de verbruiksartikelen te bekijken.
- 5 Selecteer het tabblad Samples and Results (Monsters en resultaten) om de analyseresultaten weer te geven.

Het tabblad bevat een monsterlijst met een overzicht van het bepalingspercentage, de prestatie, nietbepaalde coördinaten en informatie over controles.

Als de analyse is herhaald, opent u het vervolgkeuzemenu Select Analysis (Analyse selecteren) en selecteert u de juiste analyse.

- 6 **[Optioneel]** Dubbelklik op het veld Comment (Opmerking) om een opmerking over een monster in de lijst in te voeren. Klik op **Save Changes** (Wijzigingen opslaan).
- 7 Selecteer monsters in de lijst om gedetailleerde variantinformatie weer te geven. Monstervarianteninformatie wordt onder de monsterlijst weergegeven.
- 8 **[Optioneel]** Dubbelklik op het betreffende veld in de kolom Interpretation (Interpretatie) om een van de volgende opties te kiezen:
 - ▶ CF Veroorzaakt CF
 - MVCC (Mutation of Varying Clinical Consequence) Mutatie met variërend klinisch gevolg
 - MOUS (Mutation of Unknow Significance) Mutatie net onbekende significantie
 - ▶ NCFCM (Non CF Causing Mutation) Mutatie die geen CF veroorzaakt
 - Unknown (Onbekend)

Klik op Save Changes (Wijzigingen opslaan).



OPMERKING

Telkens wanneer wijzigingen worden opgeslagen, wordt een analyseresultatenbestand gegenereerd in de map Alignment (Uitlijning). Dit bestand heeft in de bestandsnaam een tijdstempel, met het notatie JJMMDD_UUMMSS.

Raadpleeg voor meer informatie over de tabbladen Run Overview (Runoverzicht) en Sequencing Information (Sequencing-informatie), en hoe u een analyse opnieuw kunt uitvoeren, de *Referentiehandleiding Local Run Manager-software voor MiSeqDx (documentnr. 100000011880)*.

Bestand met partijvolggegevens

Als de analyse is voltooid, kunt u op een van de volgende manieren het bestand LotTracking.txt weergeven.

- Klik in het tabblad Samples and Results (Monsters en resultaten) op Export Lot Tracking Data (Partijvolggegevens exporteren).
- Open het bestand in de map Alignment (Uitlijning).
 Het pad naar de map Alignment (Uitlijning) wordt in het tabblad Samples and Results (Monsters en resultaten) weergegeven in het veld Analysis Folder (Analysemap).
 - [Optioneel] Selecteer het pictogram Copy to Clipboard (Naar klembord kopiëren) om het pad naar de analysemap te kopiëren.

Als de analyse voltooid is, wordt het bestand met partijvolggegevens weggeschreven naar de map Alignment (Uitlijning) voor de run. Bijvoorbeeld: MiSeqAnalysis\<Run Folder Name>\Alignment_N\JJMMDD_UUMMSS. N is een volgnummer dat hoger wordt na het opnieuw uitvoeren van de analyse. JJMMDD_UUMMSS is de tijdstempel van de run.

Resultatenrapport

Nadat de secundaire analyse is voltooid, worden de analyseresultaten samengevat op het tabblad Samples and Results (Monsters en resultaten). Een (output)bestand met analyseresultaten voor de assay vat de resultaten ook samen in een door tabs gescheiden tekstbestand met de naam TruSightCFClinicalSequencingAssay.txt.

De resultaten in het bestand met analyseresultaten omvatten de informatie die te vinden is op het tabblad Sampls and Results (Monster en resultaten). Kies een van de volgende opties om het bestand met analyseresultaten, TruSightCFClinicalSequencingAssay.txt, te bekijken:

Klik in het tabblad Sample and Results (Monster en resultaten) op **Export Data** (Gegevens exporteren).

Open het bestand in de map Alignment (Uitlijning).

Het pad naar de map Alignment (Uitlijning) wordt weergegeven in het veld Analysis Folder (Analysemap) van het tabblad Samples and Results (Monsters en resultaten).



OPMERKING

Selecteer het pictogram **Copy to Clipboard** (Naar klembord kopiëren) om het pad naar de analysemap te kopiëren.

De analysebestanden voor elke sequencing-run worden op het instrument opgeslagen, via de bestandspaden MiSeqAnalysis\<Run Folder Name>\Data\Intensities\BaseCalls en MiSeqAnalysis\<Run Folder Name>\Alignment_N\JJMMDD_UUMMSS. N is een volgnummer dat hoger wordt na het opnieuw uitvoeren van de analyse. JJMMDD_UUMMSS is de tijdstempel van de run.

Bestand met analyseresultaten

Het bestand met analyseresultaten, TruSightClinicalSequencingAssay.txt, bevat drie gedeelten: de koptekst van het bestand, monsterinformatie en informatie over varianten in het monster. De kopregel van het bestand wordt als eerste genoemd en bevat algemene informatie over de run. Er is altijd maar één kopregel per run. Daarentegen zijn er voor elk monster dat wordt geanalyseerd monsterinformatie en informatie over varianten in het monster opgenomen. Deze gedeelten worden voor elk monster samen gepresenteerd.

De volgende tabel geeft een beschrijving van elke rij in de kopregel van het bestand, met informatie over de run:

Rijkop	Beschrijving
Test	Beschrijft de uitgevoerde test.
Run ID	Run-ID die door de MiSeq Operating Software (MOS) aan het begin van de sequencing-run is gegenereerd.
Run Date	Rundatum - Datum (JJMMDD) waarop de sequencing-run in MOS is gestart.
Analysis Version	Analyseversie - Softwareversie die voor de analyse is gebruikt.

Tabel 1 Kopregel van het bestand (Runinformatie)

De volgende tabel geeft een beschrijving van elke rij in de monsterinformatiegedeelten:

Tabel 2 Monsterinformatie

Rijkop	Beschrijving
Sample ID	Monster-ID - De naam van het monster die is opgegeven bij het aanmaken van de run, gecombineerd met de analyse-ID die is toegewezen door de Local Run Manager-software. Als u een run opnieuw uitvoert, blijft de monsternaam in de monster-ID hetzelfde, maar verandert de analyse-ID wel. Alleen het *.txt-bestand heeft dit veld.
Sample Name (Monsternaam)	De monsternaam die bij het aanmaken van de run is opgegeven.
Control	Controle - Het controletype zoals opgegeven bij het aanmaken van de run De waarden zijn positief of negatief. Een leeg veld betekent alleen monster.
Comment	Opmerking - Een optioneel tekstveld voor opmerkingen. Opmerkingen van een vorige analyserun worden niet meegenomen naar de volgende analyserun.

Rijkop	Beschrijving
Performance	 Prestatie - Pass (Geslaagd) of Fail (mislukt) op basis van het bepalingspercentage. Voor een positievecontrolemonster: PASS - geslaagd, met een bepalingspercentage ≥ 99% FAIL - mislukt, met een bepalingspercentage < 99% Voor een negatievecontrolemonster: PASS - geslaagd, met een bepalingspercentage ≤ 10% FAIL - mislukt, met een bepalingspercentage > 10% Voor een monster dat niet als positieve of negatieve controle is aangeduid: PASS - geslaagd, met een bepalingspercentage ≥ 99% FAIL - mislukt, met een bepalingspercentage > 99% Voor een monster dat niet als positieve of negatieve controle is aangeduid: PASS - geslaagd, met een bepalingspercentage ≥ 99% FAIL - mislukt, met een bepalingspercentage ≥ 99%
Sample Call Rate	Monsterbepalingspercentage - Het aantal variantposities dat voldoet aan een vooraf gedefinieerde betrouwbaarheidsdrempel, gedeeld door het totale aantal onderzochte variantposities. Het bepalingspercentage wordt per monster beschreven en gerapporteerd als een percentage dat wordt berekend als 1 min [aantal variantposities met niet voltooide bepalingen gedeeld door het totale aantal gesequencete variantposities].

De volgende tabel geeft een beschrijving van elke kolom in de monstervariantengedeelten:

Kolomkop	Beschrijving
Variant Type	Mutatietype - Het type variant. • SNV — enkelvoudige nucleotide-variant • DIV — deletie-insertie-variant • DEL — grote deletie • PolyTGPolyT — PolyTG/PolyT-genotype in CF-gen
Coordinate	Coördinaat - De genomische positie waarop de variant gevonden werd. De naam van het veld is "Coordinate" in het *.txt-bestand.
Chromosome	Chromosoom - De referentiechromosoom-ID. De naam van het veld is "Chromosome" in het *.txt-bestand.
Frequency	Frequentie - De fractie van aflezingen voor het monster met die variant. Bijvoorbeeld, als de referentiebase op een bepaalde positie A is en monster 1 60 A- aflezingen en 40 T-aflezingen heeft, dan heeft de SNV een variantfrequentie van 0.4.
Depth	Diepte - Het aantal aflezingen voor een monster dat een bepaalde positie beslaat.
cDNA Name (HGVS)	cDNA-naam (HGVS) - Beschrijving van een variant op DNA-niveau aan de hand van de nomenclatuur voor coderende DNA (cDNA)-sequenties, zoals aanbevolen door de Human Genome Variation Society (HGVS).
Protein Name (HGVS)	Eiwitnaam (HGVS) - Beschrijving van een variant op eiwitniveau aan de hand van de nomenclatuur voor eiwitsequenties, zoals aanbevolen door de Human Genome Variation Society (HGVS).
dbSNP ID	De dbSNP-ID van de variant. De naam van het veld is "dbSNP ID" in het *.txt-bestand.
Reference	Referentie - De referentiebase bij het genomische coördinaat waar de variant verschijnt. "Reference" in het *.txt-bestand.

Tabel 3	Informatie	over	monster	varianten
---------	------------	------	---------	-----------

Kolomkop	Beschrijving
Result	 Resultaat - Genotype variant. SNV of DIV – De twee waargenomen allelen worden beschreven. Bijvoorbeeld, A/T beschrijft een SNV waarbij de A- en T-allelen beide worden waargenomen en die heterozygoot is. Het wild-type allel wordt eerst genoemd, gevolgd door het variantallel. Small Deletions – (Kleine deleties) Het variantallel beschrijft het allel met deletie. ATCT/A, bijvoorbeeld. Insertions – (Inserties) Het variantallel beschrijft het allel met insertie. C/CT, bijvoorbeeld. DEL – Resultaat wordt gerapporteerd als Het-deletie of Hom-deletie. PolyTGPolyT – Het werkelijke genotype wordt gerapporteerd. De naam van het veld is "Result" in het *.txt-bestand.
Interpretation	 Interpretatie - Dit veld zorgt ervoor dat medische genetici de mutatie van elk monster klinische kunnen interpreteren. CF – Veroorzaakt CF MVCC – (Mutation of Varying Clinical Consequence) Mutatie met variërend klinisch gevolg MOUS – (Mutation of Unknow Significance) Mutatie net onbekende significantie NCFCM – (Non CF Causing Mutation) Mutatie die geen CF veroorzaakt Unknown (Onbekend)

Het gedeelte Sample Variants Information (Informatie monstervarianten) omvat ook een onderdeel Coordinates Not Called (Coördinaten niet bepaald), waar genomische coördinaten in de doelregio worden opgesomd waarbij geen bepaling is gerapporteerd als gevolg van lage betrouwbaarheidswaarden.

Technische ondersteuning

Voor technische ondersteuning neemt u contact op met de afdeling technische ondersteuning van Illumina.

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

Telefoonnummers van klantenondersteuning van Illumina

Regio	Gratis telefoonnummer	Regionaal telefoonnummer
Noord-Amerika	+1 800 809 4566	
Australië	+1.800.775.688	
België	+32 80077160	+32 34002973
China	400.066.5835	
Denemarken	+45 80820183	+45 89871156
Duitsland	+49 8001014940	+49 8938035677
Finland	+358 800918363	+358 974790110
Frankrijk	+33 805102193	+33 170770446
Hongkong, China	800960230	
lerland	+353 1800936608	+353 016950506
Italië	+39 800985513	+39 236003759
Japan	0800 111 5011	
Nederland	+31 8000222493	+31 207132960
Nieuw-Zeeland	0800 451 650	
Noorwegen	+47 800 16836	+47 21939693
Oostenrijk	+43 800006249	+43 19286540
Singapore	+1.800.579.2745	
Spanje	+34 911899417	+34 800300143
Taiwan, China	00806651752	
Verenigd Koninkrijk	+44 8000126019	+44 2073057197
Zuid-Korea	+82 80 234 5300	
Zweden	+46 850619671	+46 200883979
Zwitserland	+41 565800000	+41 800200442
Overige landen	+44 1799 534 000	

Veiligheidsinformatiebladen (SDS, safety data sheets) — zijn verkrijgbaar op de website van Illumina via support.illumina.com/sds.html.

Productdocumentatie - beschikbaar voor downloaden in pdf-formaat via support.illumina.com.



Illumina 5200 Illumina Way San Diego, Californië 92122 VS +1 800 809 ILMN (4566) +1 858 202 4566 (buiten Noord-Amerika) techsupport@illumina.com www.illumina.com

BESTEMD VOOR IN-VITRODIAGNOSTIEK

© 2021 Illumina, Inc. Alle rechten voorbehouden.



Illumina Netherlands B.V. Steenoven 19 5626 DK Eindhoven Nederland

Australische sponsor

Illumina Australia Pty Ltd Nursing Association Building Level 3, 535 Elizabeth Street Melbourne, VIC 3000 Australië

