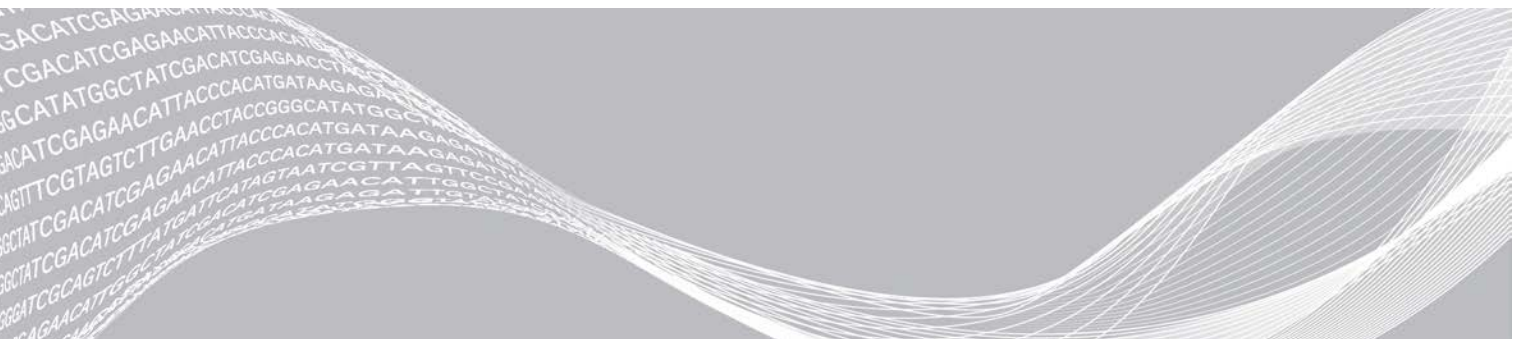


Module d'analyse CF Clinical Seq 2.0 dans Local Run Manager

Guide du flux de travail

DESTINÉ AU DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT

Présentation	3
Saisie des renseignements sur l'analyse	3
Méthodes d'analyse	5
Affichage de l'analyse et des résultats	5
Fichier des données de suivi du lot	6
Rapport sur les résultats	6
Assistance technique	10



Le présent document et son contenu sont exclusifs à Illumina, Inc. et à ses sociétés affiliées (« Illumina »); ils sont exclusivement destinés à l'usage contractuel de son client dans le cadre de l'utilisation du ou des produits décrits dans les présentes et ne peuvent servir à aucune autre fin. Le présent document et son contenu ne seront utilisés ou distribués à aucune autre fin ni communiqués, divulgués ou reproduits d'aucune façon sans le consentement écrit préalable d'Illumina. Illumina ne cède aucune licence en vertu de son brevet, de sa marque de commerce, de ses droits d'auteur ou de ses droits traditionnels ni des droits similaires d'un tiers quelconque par le présent document.

Les instructions contenues dans le présent document doivent être suivies strictement et explicitement par un personnel qualifié et adéquatement formé de façon à assurer l'utilisation correcte et sécuritaire du ou des produits décrits dans les présentes. Le contenu intégral du présent document doit être lu et compris avant l'utilisation de ce ou ces produits.

SI UN UTILISATEUR NE LIT PAS COMPLÈTEMENT ET NE SUIT PAS EXPLICITEMENT TOUTES LES INSTRUCTIONS CONTENUES DANS LES PRÉSENTES, IL RISQUE DE CAUSER DES DOMMAGES AU(X) PRODUIT(S), DES BLESSURES, NOTAMMENT AUX UTILISATEURS ET À D'AUTRES PERSONNES, AINSI QUE D'AUTRES DOMMAGES MATÉRIELS, ANNULANT AUSSI TOUTE GARANTIE S'APPLIQUANT AU(X) PRODUIT(S).

ILLUMINA DÉCLINE TOUTE RESPONSABILITÉ DÉCOULANT DE L'UTILISATION INAPPROPRIÉE DU OU DES PRODUITS DÉCRITS DANS LES PRÉSENTES (Y COMPRIS LEURS COMPOSANTES ET LE LOGICIEL).

© 2020 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

Toutes les marques de commerce sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs détenteurs respectifs. Pour obtenir des renseignements sur les marques de commerce, consultez la page www.illumina.com/company/legal.html.

Présentation

Le module d'analyse CF Clinical Seq 2.0 dans Local Run Manager est destiné à être utilisé avec le test TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay. Le test détecte des mutations dans les régions de codage de protéine et les limites intron/exon du gène régulateur de perméabilité transmembranaire de la fibrose kystique (*CFTR*), y compris deux grandes délétions et deux mutations introniques profondes. Le module d'analyse effectue l'analyse secondaire et génère les rapports à la suite des analyses de séquençage faites au moyen du TruSight Cystic Fibrosis. Consultez la notice d'accompagnement du *TruSight Cystic Fibrosis* (document n° 1000000097720).

Le module d'analyse évalue de courtes régions d'ADN amplifié, ou amplicons, à la recherche de variants. Un séquençage ciblé des amplicons permet une couverture élevée de régions particulières dans un grand nombre d'échantillons.

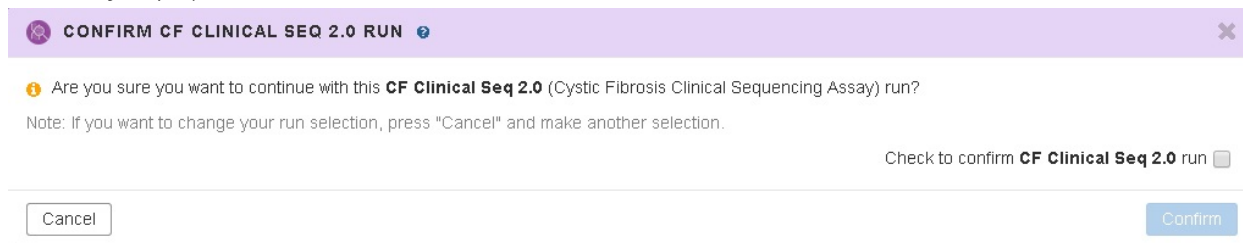
À propos de ce guide

Le présent guide fournit des instructions sur la configuration des paramètres pour le séquençage et l'analyse au moyen du module d'analyse CF Clinical Seq 2.0. L'utilisation du logiciel nécessite des connaissances de base du système d'exploitation Windows actuel et d'interface utilisateur sur navigateur Web. Pour obtenir des renseignements à propos du tableau de bord de Local Run Manager et les paramètres du système, consultez le *Guide de référence du logiciel Local Run Manager pour MiSeqDx* (document n° 1000000011880).

Saisie des renseignements sur l'analyse

Configuration des paramètres

- 1 Connectez-vous à Local Run Manager.
- 2 Cliquez sur **Create Run** (Créer l'analyse) et sélectionnez **CF Clinical Seq 2.0** (séquençage clinique de la fibrose kystique 2.0).
Une fenêtre contextuelle s'affichera pour confirmer que CF Clinical Seq 2.0 (séquençage clinique de la fibrose kystique) est la sélection désirée.



- 3 Cochez la case, puis cliquez sur **Confirm** (Confirmer) pour continuer (ou cliquez sur **Cancel** [Annuler] pour revenir à l'écran principal).
- 4 Entrez un nom qui désignera l'analyse, du séquençage jusqu'à la fin du processus.
Utilisez des caractères alphanumériques, des espaces, des traits de soulignement ou des tirets (40 caractères ou moins).
- 5 **[Facultatif]** Saisissez une description d'analyse.
Utilisez des caractères alphanumériques, des espaces, des traits de soulignement ou des tirets (150 caractères ou moins).
- 6 Saisissez le numéro de lot et la date de péremption de la trousse de préparation de bibliothèques.

Sélection des échantillons à analyser

Précisez les échantillons à analyser en utilisant l'une des options suivantes :

- ▶ **Saisie manuelle des échantillons** – Utilisez le tableau vide à l'écran Create Run (Créer l'analyse).
- ▶ **Importer des échantillons** – Naviguez vers un fichier de valeurs séparées par des virgules (*.csv) externe. Un modèle peut être téléchargé à l'écran Create Run (Créer l'analyse).

Saisie manuelle des échantillons

- 1 Saisissez un nom d'échantillon unique dans le champ Sample Name (Nom de l'échantillon). Utilisez des caractères alphanumériques, des tirets ou des traits de soulignement (40 caractères ou moins).
- 2 Faites un clic droit et sélectionnez les échantillons de contrôle positifs et négatifs. Pour pouvoir enregistrer une analyse, elle doit avoir au moins un contrôle positif et un contrôle négatif.
- 3 **[Facultatif]** Saisissez la description de l'échantillon à l'onglet Description de l'échantillon. Utilisez des caractères alphanumériques, des tirets ou des traits de soulignement (50 caractères ou moins).
- 4 **[Facultatif]** Sélectionnez un adaptateur d'index 1 dans la liste déroulante Index 1 (i7). Cette étape est facultative, car les combinaisons d'index i7 et i5 sont automatiquement remplies quand un schéma par défaut est utilisé.
- 5 **[Facultatif]** Sélectionnez un adaptateur d'index 2 dans la liste déroulante Index 2 (i5). Cette étape est facultative, car les combinaisons d'index i7 et i5 sont automatiquement remplies quand un schéma par défaut est utilisé.
- 6 Cliquez sur l'icône **Print** (Imprimer) pour afficher le schéma de la plaque.
- 7 Cliquez sur **Print** (Imprimer) pour imprimer le schéma de la plaque comme référence pour la préparation des librairies.
- 8 **[Facultatif]** Cliquez sur **Export** (Exporter) pour exporter le fichier contenant les renseignements sur les échantillons.
- 9 Cliquez sur **Save Run** (Enregistrer l'analyse). Si moins de 24 échantillons ont été saisis, la fenêtre Insufficient Sample (Nombre d'échantillons insuffisant) s'affichera. Cliquez sur **Proceed** (Continuer) pour continuer, ou cliquez sur **Cancel** (Annuler) pour modifier les échantillons.



ATTENTION

Continuer avec moins de 24 échantillons n'est pas validé par Illumina. Consultez la notice d'accompagnement de TruSight Cystic Fibrosis (document n° 1000000097720) pour obtenir plus de renseignements.

Importation des échantillons

Les renseignements sur les échantillons peuvent être importés à partir de deux types de fichiers :

- ▶ Un fichier contenant les renseignements sur les échantillons qui a été précédemment exporté du module d'analyse CF Clinical Seq 2.0 en utilisant la fonction Export (Exporter).

- ▶ Un fichier modèle, qui peut être généré en sélectionnant **Template** (Modèle) sur l'écran Create Run (Créer l'analyse). Le fichier de modèle contient les titres de colonnes corrects pour l'importation et des renseignements fictifs dans chaque colonne. Servez-vous d'un éditeur externe pour personnaliser le fichier modèle :
 - 1 Ajoutez les renseignements sur tous les échantillons de l'analyse.
 - 2 Une fois que tous les renseignements sur les échantillons ont été ajoutés, supprimez tous les renseignements fictifs des cellules inutilisées.
 - 3 Enregistrez le fichier modèle.

Pour importer les renseignements sur les échantillons :

- 1 Cliquez sur **Import Samples** (Importer les échantillons), puis naviguez jusqu'au fichier et sélectionnez-le.
- 2 Cliquez sur l'icône **Print** (Imprimer) pour afficher le schéma de la plaque.
- 3 Cliquez sur **Print** (Imprimer) pour imprimer le schéma de la plaque comme référence pour la préparation des bibliothèques.
- 4 **[Facultatif]** Cliquez sur **Export** (Exporter) pour exporter les renseignements sur les échantillons vers un fichier externe.
- 5 Cliquez sur **Save Run** (Enregistrer l'analyse).
Si moins de 24 échantillons ont été saisis, la fenêtre Insufficient Sample (Nombre d'échantillons insuffisant) s'affichera. Cliquez sur **Proceed** (Continuer) pour continuer, ou cliquez sur **Cancel** (Annuler) pour modifier les échantillons.



ATTENTION

Continuer avec moins de 24 échantillons n'est pas validé par Illumina. Consultez la notice d'accompagnement de TruSight Cystic Fibrosis (document n° 1000000097720) pour obtenir plus de renseignements.

Modification d'une analyse

Pour obtenir des instructions sur la modification des renseignements dans votre analyse avant le séquençage, consultez le *Guide de référence du logiciel Local Run Manager pour MiSeqDx (document n° 1000000011880)*.

Méthodes d'analyse

Pour obtenir une description des méthodes d'analyse de TruSight Cystic Fibrosis, consultez la notice d'accompagnement *TruSight Cystic Fibrosis (document n° 1000000097720)*.

Affichage de l'analyse et des résultats

- 1 Dans l'écran principal de Local Run Manager, cliquez sur le nom de l'analyse.
- 2 À l'onglet Run Overview (Aperçu de l'analyse), vérifiez les indicateurs de l'analyse de séquençage.
- 3 **[Facultatif]** Cliquez sur l'icône **Copy to Clipboard** (Copier dans le bloc-notes) pour copier le chemin de sortie du dossier de l'analyse.
- 4 Cliquez sur l'onglet Sequencing Information (Renseignements sur le séquençage) pour vérifier les paramètres de l'analyse et les renseignements sur les consommables.

- 5 Cliquez sur l'onglet Samples and Results (Échantillons et résultats) pour voir les résultats de l'analyse. L'onglet contient une liste d'échantillons qui résume le taux d'appel, la performance, les coordonnées non appelées et les renseignements sur les contrôles.
 - ▶ Si l'analyse est répétée, développez le menu déroulant Select Analysis (Sélectionner l'analyse) et sélectionnez l'analyse appropriée.
- 6 **[Facultatif]** Double-cliquez sur le champ Comment (Commentaire) pour saisir un commentaire à propos d'un échantillon de la liste. Cliquez sur **Save Changes** (Enregistrer les modifications).
- 7 Sélectionnez les échantillons dans la liste pour afficher les renseignements détaillés sur les variants. Les renseignements détaillés sur les variants des échantillons se trouvent sous la liste des échantillons.
- 8 **[Facultatif]** Double-cliquez sur le champ de la colonne Interpretation (Interprétation) pour sélectionner une des options suivantes :
 - ▶ CF – provoquant la fibrose kystique
 - ▶ MVCC – mutation aux conséquences cliniques variables
 - ▶ MOUS – mutation d'une importance inconnue
 - ▶ NCFCM – mutation ne provoquant pas la fibrose kystique
 - ▶ Unknown (Inconnue)Cliquez sur **Save Changes** (Enregistrer les modifications).



REMARQUE

Chaque fois que des modifications sont enregistrées, un fichier des résultats de l'analyse sera généré dans le dossier **Alignment** (Alignement). Un horodatage est ajouté au nom du fichier dans le format **AAMMJJ_HHMMSS**.

Pour plus de renseignements sur les onglets Run Overview (Aperçu de l'analyse) et Sequencing Information (Renseignements sur le séquençage), ainsi que sur la façon de remettre une analyse en file d'attente, consultez le *Guide de référence du logiciel Local Run Manager pour MiSeqDx (document n° 100000011880)*.

Fichier des données de suivi du lot

Une fois l'analyse terminée, choisissez une des options d'affichage du fichier **LotTracking.txt** suivantes :

- ▶ À l'onglet Sample and Results (Échantillons et résultats), cliquez sur **Export Lot Tracking Data** (Exporter les données de suivi du lot).
- ▶ Ouvrez le fichier dans le dossier **Alignment** (Alignement).
Le chemin menant au dossier **Alignment** (Alignement) est affiché à l'onglet **Samples and Results** (Échantillons et résultats), dans le champ **Analysis Folder** (Dossier d'analyse).
 - ▶ **[Facultatif]** Cliquez sur l'icône **Copy to Clipboard** (Copier dans le bloc-notes) pour copier le chemin du dossier d'analyse.

Une fois l'analyse terminée, le fichier des données de suivi du lot est enregistré dans le dossier **Alignment** (Alignement) de l'analyse. Par exemple : **MiSeqAnalysis\<Nom du dossier d'analyse>\Alignment_N\AAMMJJ_HHMMSS**. **N** est le numéro séquentiel qui augmente si l'analyse a été remise en file d'attente. **AAMMJJ_HHMMSS** est l'horodatage de l'analyse.

Rapport sur les résultats

Après l'analyse secondaire, les résultats de l'analyse sont résumés à l'onglet **Samples and Results** (Échantillons et résultats). Un fichier (de sortie) des résultats de l'analyse pour le test résume également les résultats dans un fichier de texte séparé par des tabulations nommé **TruSightCFClinicalSequencingAssay.txt**.

Les résultats figurant dans le fichier des résultats d'analyse contiennent les renseignements qui se trouvent à l'onglet Sample and Results (Échantillons et résultats). Choisissez l'une des options suivantes pour voir le fichier des résultats d'analyse `TruSightCFClinicalSequencingAssay.txt` :

- ▶ À l'onglet Sample and Results (Échantillons et résultats), cliquez sur **Export Data** (Exporter les données).
- ▶ Ouvrez le fichier dans le dossier **Alignment** (Alignement).
Le chemin menant au dossier **Alignment** (Alignement) est affiché à l'onglet Samples and Results (Échantillons et résultats), dans le champ Analysis Folder (Dossier d'analyse).



REMARQUE

Cliquez sur l'icône **Copy to Clipboard** (Copier dans le bloc-notes) pour copier le chemin du dossier d'analyse.

Les fichiers d'analyse de chaque analyse de séquençage sont stockés sur l'instrument et sont enregistrés dans les dossiers `MiSeqAnalysis\<Nom du dossier de l'analyse>\Data\Intensities\BaseCalls` et `MiSeqAnalysis\<Nom du dossier de l'analyse>\Alignment_N\AAMMJJ_HHMMSS`. N est le numéro séquentiel qui augmente si l'analyse a été remise en file d'attente. AAMMJJ_HHMMSS est l'horodatage de l'analyse.

Renseignements sur le fichier des résultats d'analyse

Le fichier des résultats d'analyse `TruSightClinicalSequencingAssay.txt` est composé de trois sections : l'en-tête du fichier, les renseignements sur les échantillons et les renseignements sur les variants des échantillons. L'en-tête de fichier se trouve au début et contient les renseignements généraux sur l'analyse. Veuillez noter qu'il n'y a qu'un en-tête de fichier par analyse. En revanche, le fichier contient les renseignements sur les échantillons et sur les variants pour tous les échantillons utilisés lors de l'analyse. Ces sections sont regroupées par échantillon.

Le tableau qui suit fournit une description de chaque ligne de l'en-tête de fichier, qui contient les renseignements sur l'analyse :

Tableau 1 En-tête de fichier (renseignements sur l'analyse)

Titre de la ligne	Description
Test	La description du test qui a été effectué.
Run ID (Identifiant de l'analyse)	L'identifiant de l'analyse généré par le logiciel MiSeq Operating Software (MOS) au début de l'analyse de séquençage.
Run Date (Date de l'analyse)	La date (AAMMJJ) à laquelle l'analyse de séquençage a été lancée dans MOS.
Analysis Version (Version de l'analyse)	La version du logiciel utilisée pour l'analyse.

Le tableau qui suit fournit une description de chaque ligne des sections de renseignements sur les échantillons :

Tableau 2 Renseignements sur les échantillons

Titre de la ligne	Description
Sample ID (Identifiant de l'échantillon)	Le nom de l'échantillon indiqué lors de la création de l'analyse, combiné à l'identifiant de l'analyse attribué par le logiciel Local Run Manager. Si vous remettez une analyse en file d'attente, la partie de l'identifiant de l'échantillon qui correspond au nom de l'échantillon demeure la même, tandis que l'identifiant de l'analyse change. Ce champ se trouve dans le fichier *.txt seulement.
Sample Name (Nom de l'échantillon)	Le nom de l'échantillon indiqué lors de la création de l'analyse.

Titre de la ligne	Description
Control (Contrôle)	Le type de contrôle indiqué lors de la création de l'analyse. Les valeurs peuvent être positives ou négatives. Un champ vide indique qu'il n'y a pas de contrôle.
Comment (Commentaire)	Champ de texte facultatif pour les commentaires. Les commentaires d'une analyse précédente ne sont pas conservés dans l'analyse suivante.
Performance	Classement Pass (Réussite) ou Fail (Échec) en fonction du taux d'appel. Pour un échantillon de contrôle positif : <ul style="list-style-type: none"> • PASS (Réussite) – taux d'appel ≥ 99 % • FAIL (Échec) – taux d'appel < 99 % Pour un échantillon de contrôle négatif : <ul style="list-style-type: none"> • PASS (Réussite) – taux d'appel ≤ 10 % • FAIL (Échec) – taux d'appel > 10 % Pour un échantillon non étiqueté en tant que contrôle positif ou négatif : <ul style="list-style-type: none"> • PASS (Réussite) – taux d'appel ≥ 99 % • FAIL (Échec) – taux d'appel < 99 %
Sample Call Rate (Taux d'appel de l'échantillon)	Nombre de positions de variants atteignant un seuil de valeur de confiance prédéfini divisé par le nombre total de positions de variants interrogées. Le taux d'appel est décrit pour chaque échantillon et indiqué par un pourcentage qui est calculé comme suit : 1 moins [nombre de positions de variants avec appels incomplets divisé par le nombre total de positions de variants séquencées].

Le tableau qui suit contient une description de chaque colonne des sections de renseignements sur les variants des échantillons :

Tableau 3 Renseignements sur les variants des échantillons

Titre de la colonne	Description
Variant Type (Type de variant)	Le type de variant. <ul style="list-style-type: none"> • SNV (Single Nucleotide Variant) : variant mononucléotide • DIV (Deletion Insertion Variant) : variant de délétion/insertion • DEL (Large deletion) : grande délétion • PolyTGPolyT : génotype PolyTG/PolyT dans le gène de la fibrose kystique
Coordinate (Coordonnées)	La position génomique à laquelle le variant a été trouvé. Le nom du champ est Coordinate dans le fichier *.txt.
Chromosome	L'identifiant du chromosome de référence. Le nom du champ est Chromosome dans le fichier *.txt.
Frequency (Fréquence)	La proportion de lectures de l'échantillon qui comprend le variant. Par exemple, si la base de référence à une position particulière est A et que l'échantillon 1 présente 60 lectures A et 40 lectures T, alors le SNV présente une fréquence de variant de 0,4.
Depth (Profondeur)	Le nombre de lectures pour un échantillon couvrant une position particulière.
cDNA Name (HGVS) (Nom de l'ADNc [HGVS])	La description d'un variant au niveau de l'ADN en utilisant la nomenclature de séquence d'ADN codant (ADNc), comme recommandé par la Human Genome Variation Society (HGVS).
Protein Name (HGVS) (Nom de la protéine [HGVS])	La description d'un variant au niveau de la protéine en utilisant la nomenclature de séquence protéique, comme recommandé par la Human Genome Variation Society (HGVS).
dbSNP ID (Identifiant dbSNP)	L'identifiant dbSNP du variant. Le nom du champ est dbSNP ID dans le fichier *.txt.
Reference (Référence)	La base de référence aux coordonnées génomiques où le variant se trouve. Le nom du champ est Reference dans le fichier *.txt.

Titre de la colonne	Description
Result (Résultat)	<p>Génotype de variant.</p> <ul style="list-style-type: none"> • SNV ou DIV : les deux allèles observés sont décrits. Par exemple, A/T décrit un SNV hétérozygote où les deux allèles A et T sont observés. L'allèle de type sauvage est indiqué en premier, suivi de l'allèle du variant. • Petites délétions : l'allèle du variant décrit l'allèle comprenant la délétion. ATCT/A, par exemple. • Insertions : l'allèle du variant décrit l'allèle comprenant l'insertion. C/CT, par exemple. • DEL : le résultat est désigné comme Het Deletion (Délétion hétérozygote) ou Hom Deletion (Délétion homozygote). • PolyTGPolyT : le génotype réel est signalé. <p>Le nom du champ est Result dans le fichier *.txt.</p>
Interpretation (Interprétation)	<p>Ce champ permet au généticien médical de fournir une interprétation clinique de la mutation pour chaque échantillon.</p> <ul style="list-style-type: none"> • CF – provoquant la fibrose kystique • MVCC – mutation aux conséquences cliniques variables • MOUS – mutation d'une importance inconnue • NCFCM – mutation ne provoquant pas la fibrose kystique • Unknown (Inconnue)

La section sur les renseignements des variants des échantillons comprend également une entrée `Coordinates Not Called` (Coordonnées non appelées) qui contient une liste des coordonnées génomiques au sein de la région ciblée où un appel n'a pas été signalé parce que les valeurs de confiance étaient basses.

Assistance technique

Pour obtenir de l'assistance technique, communiquez avec l'assistance technique d'Illumina.

Site Web : www.illumina.com
 Courriel : techsupport@illumina.com

Numéros de téléphone de l'assistance clientèle d'Illumina

Région	Numéro sans frais	Numéro régional
Amérique du Nord	+1 800 809 4566	
Allemagne	+49 8001014940	+49 8938035677
Australie	+1 800 775 688	
Autriche	+43 800006249	+43 19286540
Belgique	+32 80077160	+32 34002973
Chine	400 066 5835	
Corée du Sud	+82 80 234 5300	
Danemark	+45 80820183	+45 89871156
Espagne	+34 911899417	+34 800300143
Finlande	+358 800918363	+358 974790110
France	+33 805102193	+33 170770446
Hong Kong, Chine	800960230	
Irlande	+353 1800936608	+353 016950506
Italie	+39 800985513	+39 236003759
Japon	0800 111 5011	
Norvège	+47 800 16836	+47 21939693
Nouvelle-Zélande	0800 451 650	
Pays-Bas	+31 8000222493	+31 207132960
Royaume-Uni	+44 8000126019	+44 2073057197
Singapour	+1 800 579 2745	
Suède	+46 850619671	+46 200883979
Suisse	+41 565800000	+41 800200442
Taiwan, Chine	00806651752	
Autres pays	+44 1799534000	

Fiches signalétiques (SDS) : disponibles sur le site Web d'Illumina à l'adresse support.illumina.com/sds.html.

Documentation sur les produits : disponible en téléchargement sur le site support.illumina.com.



Illumina

5200 Illumina Way

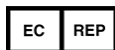
San Diego, Californie 92122 États-Unis

+(1) 800 809-ILMN (4566)

+(1) 858 202 4566 (en dehors de l'Amérique du Nord)

techsupport@illumina.com

www.illumina.com



Illumina Netherlands B. V.

Freddy van Riemsdijkweg 15

5657 EE Eindhoven

Pays-Bas

Commanditaire australien

Illumina Australia Pty Ltd

Nursing Association Building

Level 3, 535 Elizabeth Street

Melbourne, VIC 3000

Australie

DESTINÉ AU DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT

© 2020 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

illumina®