

Logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons)

Guide de l'utilisateur



Ce 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. Ce document et son contenu ne seront utilisés ou distribués à aucune autre fin et ne seront 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 ce document.

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

Historique des révisions

Document	Date	Description des modifications
Document n° 1000000012693 v05	Avril 2020	Mise à jour de l'adresse du représentant autorisé de l'UE.
Document n° 1000000012693 v04	Juillet 2018	Ajout de la section Limites de la procédure et de l'annexe B Étude de comparaison des méthodes.
Document n° 1000000012693 v03	Janvier 2017	<ul style="list-style-type: none"> • Estimation de la fraction fœtale : ajout de clarifications au sujet de l'estimation de la fraction fœtale. • Tableau 4, Notifications normales de changement d'état et demandes d'action : ajout d'une note au sujet de l'exemple de contenu de la notification par courriel, dans la feuille d'échantillons. • Règles de spécification et de validation des feuilles d'échantillons : remplacement du contenu de la seconde note. • Tableau 8, Règles de validation de la feuille d'échantillons pour l'option SNG n° 1 (section de données) : ajout de la mention « L'identifiant de l'échantillon ne doit pas contenir d'espaces. Évitez d'utiliser plusieurs traits de soulignement et tirets de suite. Depuis la version 1.4, l'identifiant d'échantillon ne peut pas commencer par le chiffre 0. » dans les règles de validation, à la ligne Sample ID (Identifiant de l'échantillon). • Tableau 11, Règles de validation de la feuille d'échantillons pour l'option NGS n° 2 (section de données) : ajout de la mention « L'identifiant de l'échantillon ne doit pas contenir d'espaces. Évitez d'utiliser plusieurs traits de soulignement et tirets de suite. Depuis la version 1.4, l'identifiant d'échantillon ne peut pas commencer par le chiffre 0. » dans les règles de validation, à la ligne Sample ID (Identifiant de l'échantillon).
Document n° 1000000012693 v02	Août 2016	Mise à jour du contenu pour la publication de v1.4.
Document n° 1000000012693 v01	Juin 2016	Mis à jour : <ul style="list-style-type: none"> • Adresse du représentant européen agréé et marquage CE IVD sur la couverture arrière • Présentation du système • Règles de validation de Sample_ID • Section Remise en file d'attente pour analyse, à des fins de clarté et afin de fournir des renseignements de dépannage
Document n° 1000000012693 v00	Avril 2016	Publication originale.

Table des matières

Chapitre 1 Vue d'ensemble	1
Présentation du système	1
Concepts du logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons)	3
Chapitre 2 Fonctionnement du système	5
Connexion	5
Organisation des données	5
Compatibilité des analyses de séquençage	6
Exigences relatives aux délais d'attente du flux de travail et au stockage	7
Flux de données du système	7
Arrêt du système	24
Chapitre 3 Analyse et génération de rapports	25
Règles de spécification et de validation des feuilles d'échantillons	25
Démultiplexage et génération de fichiers FASTQ	36
Remise en file d'attente pour analyse	37
Archivage et sauvegarde des données	39
Caractéristiques des rapports et interprétation des indicateurs	40
Vérification du fonctionnement de l'ATMS	43
Annexe A Indicateurs de CQ	44
Indicateurs de CQ et limites supérieures et inférieures (option SNG n° 1)	45
Indicateurs de CQ et limites supérieures et inférieures (option SNG n° 2)	53
Annexe B Étude de comparaison des méthodes	62
Données sur la comparaison des méthodes	62
Assistance technique	63

Vue d'ensemble

Présentation du système	1
Concepts du logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons)	3

Présentation du système

Le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons) est préinstallé sur le serveur d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons), numéro de référence Illumina RH-400-1001. Le serveur et le logiciel pré-installé offrent :

- ▶ Un serveur analytique avec une capacité suffisante pour l'analyse des données de séquençage que génèrent jusqu'à deux instruments de séquençage nouvelle génération (SNG). Les deux options relatives aux instruments de SNG sont les suivantes :
 - ▶ Un séquenceur double Flow Cell utilisant des Flow Cell à deux lignes (option SNG n° 1).
 - ▶ Un séquenceur à Flow Cell unique utilisant une Flow Cell à quatre lignes (option SNG n° 2).
- ▶ Une suite logicielle capable d'analyser les données de séquençage au format BCL générées par le logiciel de séquençage à partir de bibliothèques préparées conformément aux protocoles de séquençage de l'ADN acellulaire, afin de détecter les aneuploïdies fœtales en fonction de la représentation chromosomique. La suite logicielle contient deux composants :
 - ▶ **Analysis Task Manager Service (ATMS)**, un service en arrière-plan (démon) qui :
 - ▶ contrôle les chemins de sortie pour les nouveaux dossiers d'analyse;
 - ▶ évalue les métadonnées relatives aux analyses afin de comparer la configuration des paramètres d'analyse de séquençage à un ensemble de flux de travail analytiques préconfigurés;
 - ▶ charge les feuilles d'échantillons associées à chaque analyse de séquençage, assurant la correspondance entre les identifiants des échantillons individuels sur une Flow Cell donnée et les index;
 - ▶ prépare les entrées pour le pipeline d'analyse;
 - ▶ exécute le pipeline (processus);
 - ▶ réalise le suivi de toutes les données d'entrée et de sortie dans une base de données;
 - ▶ génère un rapport d'analyse pour chaque échantillon individuel d'une Flow Cell.
 - ▶ **cADAS** : un pipeline d'analyse pour la détection de l'aneuploïdie fœtale à partir des données de séquençage que génère l'ADN acellulaire isolé du plasma maternel.
 - ▶ Il analyse les données de séquençage par un processus qui comprend les étapes de l'alignement, du calcul de la couverture, de la normalisation des données et de la réduction des données par chromosome.
 - ▶ Il génère les indicateurs de CQ et l'état (réussite, échec ou avertissement) pour chaque échantillon.
 - ▶ Il génère un score caractérisant le matériel chromosomique surexprimé ou sous représenté pour chacun des chromosomes cibles.



REMARQUE

Le nombre maximum d'échantillons non conformes autorisé dans un lot unique est 4. Ne procédez pas à l'analyse des lots dont moins de 11 échantillons sont valides.

Utilisation prévue

Le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons) génère des scores quantitatifs visant la détection et la différenciation de l'aneuploidie fœtale pour les chromosomes 21, 18, 13, X et Y en analysant les données de séquençage générées à partir de fragments d'ADN acellulaire (cfDNA) isolés issus d'échantillons de sang total périphérique maternel prélevés chez des femmes enceintes d'au moins 10 semaines.

Les scores quantitatifs sont des scores Z associés à des surreprésentations ou des sous-représentations d'un chromosome cible par rapport à une attente pour un génome diploïde.

Limites de la procédure

- ▶ Le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons) est conçu pour être intégré à un test de dépistage et ses résultats ne devraient pas être pris isolément des autres résultats cliniques ou tests. Les limites définies par l'utilisateur et appliquées aux données de sortie de ce logiciel doivent prendre en considération les avantages relatifs de l'augmentation de la sensibilité par rapport aux coûts de la spécificité, et vice versa. Aucune limite unique ne peut atteindre simultanément une sensibilité et une spécificité de 100 % chacune. Bien que cette situation soit rare, les échantillons ayant une FF relativement faible pour la profondeur de séquençage à laquelle ils ont été traités peuvent obtenir des données de sortie près du seuil et être moins précis.
- ▶ Le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons) produit des données utilisées pour détecter les anomalies suivantes :
 - ▶ la surreprésentation des chromosomes 21, 18 et 13;
 - ▶ les aneuploidies suivantes des chromosomes sexuels : XO, XXX, XXY et XYY.
- ▶ Le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons) n'est pas conçu pour détecter la polyplôidie.
- ▶ Les algorithmes utilisés par le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons) peuvent être biaisés par certains facteurs fœtaux et maternels, notamment les suivants :
 - ▶ une transfusion sanguine récente subie par la mère;
 - ▶ une greffe d'organe subie par la mère;
 - ▶ une chirurgie subie par la mère;
 - ▶ un traitement par cellules souches ou une immunothérapie pour la mère;
 - ▶ une malignité subie par la mère;
 - ▶ un mosaïcisme subi par la mère;
 - ▶ un mosaïcisme placentaire confiné;
 - ▶ une mort fœtale;
 - ▶ un jumeau perdu;
 - ▶ une trisomie partielle ou une monosomie partielle subie par le fœtus;
 - ▶ un mosaïcisme fœtal.

Concepts du logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons)

Les concepts et termes suivants sont courants dans le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons)

Concept	Description
cADAS	Logiciel de pipeline d'analyse. Application côté serveur utilisée pour l'analyse de données de séquençage et la détection de l'aneuploïdie.
cfDNA	ADN acellulaire, d'origine maternelle et fœtale, circulant librement dans le sang maternel. L'analyse du cfDNA est une méthode non invasive de dépistage prénatal.
Dossier d'analyse	Structure de dossier que génère l'instrument de SNG et qui accueille les données d'analyse primaire RTA (Real-Time Analysis).
Feuille d'échantillons	Fichier de valeurs séparées par des virgules (*.csv) qui contient les renseignements requis pour configurer une analyse et effectuer une analyse de séquençage, notamment une liste des échantillons et les séquences d'indexage correspondantes.
Flux de travail	Processus permettant d'analyser les séquençages que réalise le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons). Le flux de travail pour chaque analyse figure sur la feuille d'échantillons.

Présentation de l'analyse du logiciel

Le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons) évalue le nombre de copies des chromosomes du test dans les échantillons expérimentaux. L'analyse repose sur des lectures de 36 bases générées par un instrument de séquençage nouvelle génération. Les lectures sont alignées sur le génome humain entier. Seules les lectures qui s'alignent sur un emplacement ou un site unique du génome sont utilisées pour une analyse plus approfondie. Les doublons de lecture sont retirés de l'analyse. Les lectures sont soumises à une filtration supplémentaire pour exclure les sites associés à une forte variation de couverture entre les échantillons euploïdes. Il est possible d'ajuster la couverture brute en normalisant le taux de GC et d'autres facteurs au niveau des unités sous-chromosomiques, puis en étendant les données à la couverture chromosomique par une moyenne générale sur l'ensemble du chromosome.

Le test porte sur les chromosomes 21, 18, 13, X et Y. La couverture des chromosomes du test est normalisée par rapport à des chromosomes de référence prédéfinis (le dénominateur) pour créer le coefficient chromosomique (R) du test. Les chromosomes prédéfinis qui servent de dénominateur sont optimisés pour réduire au maximum la variance des coefficients chromosomiques pour les échantillons euploïdes. On convertit les coefficients chromosomiques des échantillons de test en valeurs chromosomiques normalisées (NCV) à l'aide d'une correction de la moyenne de coefficient ajustée en fonction de la Flow Cell, puis d'une mise en corrélation avec la variation prévue dans les échantillons euploïdes normaux (estimations reposant sur les données de la formation).

Figure 1 Exemple de coefficient chromosomique (R) de test

$$R = \frac{X^{21}}{X^4 + X^7 + X^{15} \dots}$$

La valeur chromosomique normalisée (NCV) est déterminée selon l'équation de la [Figure 2](#). La valeur NCV équivaut à un score Z. Un score Z indique la différence entre une valeur et la moyenne de la population en ce qui concerne la déviation standard. Le seuil permettant de conclure qu'un échantillon est affecté ou non en fonction de la valeur NCV est déterminé par les clients avant la validation clinique du flux de travail. Il peut être ajusté selon les résultats de l'étude de validation clinique.

Figure 2 Valeur chromosomique normalisée (NCV)

$$NCV_{ik} = \frac{R_{ik} - \overline{R_{Ui}}}{\sigma_{Ui}}$$

i: chromosome

k: échantillon

U: échantillon non affecté

R_{ik} : coefficient de chromosomes *i* dans le k^e échantillon

$\overline{R_{Ui}}$: coefficient chromosomique moyen ajusté en fonction de la Flow Cell

σ_{Ui} : écart-type du coefficient du chromosome *i* dans les échantillons non affectés issus de l'ensemble de données de formation

Estimation de la fraction fœtale

La fraction fœtale correspond au pourcentage d'ADN acellulaire circulant présent dans un échantillon de sang maternel issu du placenta. Le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq calcule l'estimation de la fraction fœtale à partir des différences de couverture génomique entre l'ADN acellulaire maternel et l'ADN acellulaire fœtal¹.

Le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons) emploie des statistiques obtenues pendant le séquençage pour fournir une estimation de la fraction fœtale (EFF) pour chacun des échantillons. L'EFF est une estimation de la composante fœtale d'ADN acellulaire, laquelle est récupérée par le test et déclarée comme un pourcentage arrondi pour chacun des échantillons. L'écart-type moyen de cette estimation pour tous les échantillons est de 2 %. L'EFF ne doit pas être utilisée seule pour exclure des échantillons au moment de déclarer les résultats.

¹Kim, S.K., et al, Determination of fetal DNA fraction from the plasma of pregnant women using sequence read counts, Prenatal Diagnosis Aug 2015; 35(8):810-5. doi: 10.1002/pd.4615

Fonctionnement du système

Connexion	5
Organisation des données	5
Compatibilité des analyses de séquençage	6
Exigences relatives aux délais d'attente du flux de travail et au stockage	7
Flux de données du système	7
Arrêt du système	24

Connexion

Le serveur analytique est configuré comme une machine Linux CentOS 6.6 avec un compte sbsuser.

La connexion au serveur ne fait pas partie du fonctionnement normal. Cela n'est nécessaire que pour le redémarrage ou l'arrêt du système.

Connectez-vous au serveur à l'aide d'un terminal ou d'une connexion ssh avec les renseignements d'identification prédéfinis :

- ▶ **Nom d'utilisateur :** sbsuser
- ▶ **Mot de passe :** envoyez un courriel à l'assistance technique d'Illumina pour obtenir un mot de passe.
- ▶ **Groupe :** sbsuser

Organisation des données

La configuration du service de partage réseau du serveur analytique permet d'accéder au disque dur à partir de systèmes Windows, par l'intermédiaire d'un protocole de partage Samba. Pour les partages Samba, le nom d'utilisateur préconfiguré est « sbuser » et le premier mot de passe « sbs123 ». Le partage de disque pour ce compte utilisateur par le protocole Samba permet d'accéder aux partages suivants :

Emplacement sur le serveur Linux	Nom de partage	Nom d'utilisateur	Mot de passe initial	Droits d'accès
/data01/runs	runs	sbsuser	Envoyez un courriel à l'assistance technique d'Illumina pour obtenir un mot de passe.	Lecture/Écriture
/data01/analysis_output	analysis_output	sbsuser	Envoyez un courriel à l'assistance technique d'Illumina pour obtenir un mot de passe.	Lecture

Au cours de la configuration de l'analyse de séquençage, réglez la sortie sur le répertoire runs. Rendez-vous à \\<SERVER.IP.ADDRESS>\runs par le biais des écrans de configuration que propose le logiciel de commande de l'instrument de séquençage. (<SERVER.IP.ADDRESS> désigne l'adresse IP du serveur Onsite.)

Le répertoire analysis_output contient des rapports sur toutes les Flow Cell que traite le flux de travail analytique cfDNA. Le système classe les rapports suivant le nom du dossier d'analyse d'origine que génère le logiciel de séquençage, puis y ajoute la date et l'heure d'analyse.

Par exemple, l'analyse du séquençage 140806_SN7001227_0199_AHABHTADXX génère un dossier de sortie dont le nom est 140806_SN7001227_0199_AHABHTADXX_140806_230337.

Utilisez le format de nom de dossier de séquençage par défaut que vous fournit votre système de séquençage. Le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq exige que le nom de dossier de séquençage ne contienne que les caractères alphanumériques suivants : les lettres de a à z et A à Z, les chiffres de 0 à 9 ainsi que le caractère de soulignement (« _ »). Les espaces et les autres caractères sont interdits.

Compatibilité des analyses de séquençage

Le serveur n'analyse que les séquençages compatibles avec le flux de travail analytique cfDNA. Configurez le séquençage en définissant des paramètres de lecture compatibles.

Option SNG n° 1 :

- ▶ **Lecture 1** : 36 bases
- ▶ **Index 1 (i7)** : 7 bases

Option SNG n° 2 :

- ▶ **Lecture 1** : 36 bases
- ▶ **Index 1 (i7)** : 6 bases

N'employez que des méthodes de séquençage et des versions logicielles compatibles pour générer les appels de bases.



REMARQUE

Examinez régulièrement les indicateurs de performance des données de séquençage afin de vous assurer que la qualité de celles-ci est conforme aux spécifications.

Tableau 1 Méthodes de séquençage et versions logicielles compatibles avec l'option SNG n° 1

Paramètre	Valeur compatible
SBS	Trousse SBS TruSeq Rapid Trousse SBS TruSeq Rapid v1 ou trousse SBS HiSeq Rapid v2
Index	Trousse d'amplifiats à lecture unique TruSeq Rapid Trousse d'amplifiats à lecture unique TruSeq Rapid v1 ou trousse d'amplifiats à lecture unique HiSeq Rapid v2
Clustering Choice (Choix pour la génération d'amplifiats)	OnBoardClustering
Application Name (Nom de l'application)	Logiciel de commande HiSeq
Application Version (Version de l'application)	2.0.12 ou 2.2.38 ou 2.2.58
FPGA Version (Version de FPGA)	3.10.3 ou 7.7.2.5 ou 7.9.7
RTA Version (Version de RTA)	1.17.21 ou 1.18.61 ou 1.18.64

Tableau 2 Méthodes de séquençage et versions logicielles compatibles avec l'option SNG n° 2

Paramètre	Valeur compatible
Application Name (Nom de l'application)	Logiciel de commande NextSeq
Application Version (Version de l'application)	1.3.0 ou 2.0.0 ou 2.1.0
RTA Version (Version de RTA)	2.1.3 ou 2.4.6 ou 2.4.11

Exigences relatives aux délais d'attente du flux de travail et au stockage

Le flux de travail analytique cfDNA est soumis aux limites de délai d'attente du flux de travail et de stockage suivantes :

Tableau 3 Exigences relatives aux délais d'attente du flux de travail et au stockage

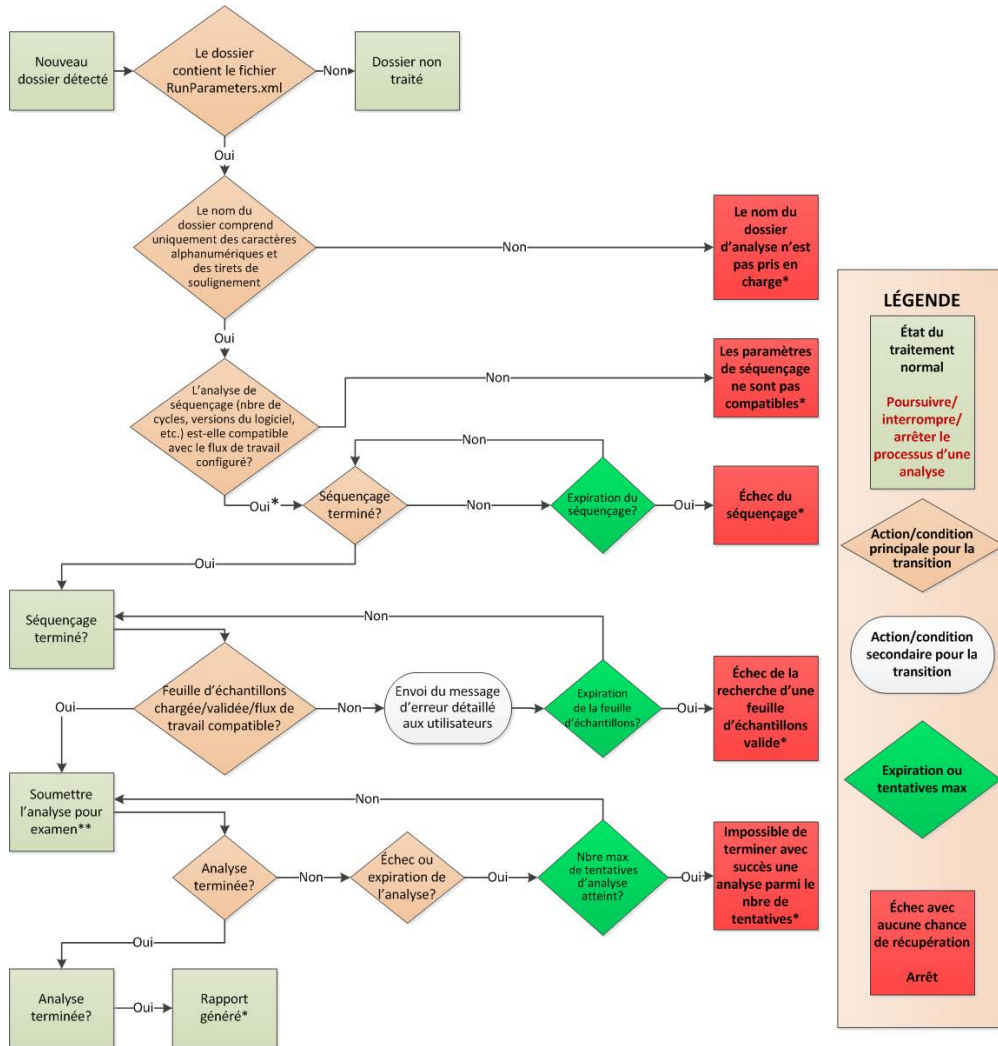
Paramètre	Valeur par défaut
Délai d'attente maximum des paramètres de l'analyse	4 heures
Durée maximum du séquençage	20 heures
Temps d'attente maximum des feuilles d'échantillons	96 heures
Délai maximum de l'analyse	3,5 heures
Stockage de zone de travail minimum	200 Go

Flux de données du système

Dans des conditions normales, l'ATMS envoie les notifications concernant l'état du séquençage et de l'analyse aux utilisateurs par un système de courriel. La [Figure 3](#) illustre la circulation des données à travers le système, les divers états des données, ainsi que les notifications connexes envoyées par courriel.

- ▶ **Rectangles gris** : état de traitement normal
- ▶ **Losanges** : conditions principales de transition vers l'état suivant
- ▶ **Ovale** : condition secondaire de transition vers l'état suivant
- ▶ **Rectangles rouges** : états d'erreur

Figure 3 Diagramme de circulation des données



* Le système génère une notification envoyée par courriel.

** Si l'espace de stockage disponible sur le serveur est insuffisant, le système génère une notification envoyée par courriel.

Dans des conditions normales de traitement, l'ATMS :

- ▶ Surveille les nouveaux séquençages dans son répertoire par défaut (/data01/runs). Sont considérés comme des nouveaux séquençages les dossiers contenant un fichier runParameters.xml [Option SNG n°1] ou un fichier RunParameters.xml [Option SNG n°2].
- ▶ Vérifie la compatibilité des paramètres de l'analyse de séquençage avec les flux de travail d'analyse prédéfinis.
- ▶ Charge la feuille d'échantillons.
- ▶ Planifie et exécute le traitement analytique pour générer des rapports finaux.

L'analyse s'effectue sur une Flow Cell à la fois. Les autres Flow Cell en attente d'analyse sont mises en file d'attente sur le serveur et sont analysées dans l'ordre de chargement.

Notifications du système

Le système envoie des notifications par courriel à des individus ou des groupes de distribution de courriel configurés au cours du processus d'installation du serveur. Illumina recommande d'utiliser des groupes de distribution de courriel, que l'administrateur de courriel peut modifier. Si le serveur de courriel de l'analyse est configuré avec des adresses individuelles, il nécessitera une modification en cas de changement d'utilisateur. Les notifications envoyées par courriel indiquent l'état pendant le fonctionnement normal et alertent l'utilisateur de toutes les erreurs générées lors de l'analyse.

Le [Tableau 4](#) décrit les diverses notifications que le système envoie par courriel. Le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq exige le respect des conventions de nommage qui figurent dans le tableau pour importer les fichiers de sortie SNG.



REMARQUE

Veillez à ce que les paramètres relatifs aux courriels permettent de recevoir des notifications par courriel de la part du serveur. Les notifications par courriel sont envoyées depuis un compte nommé `atms@<domaine de courriel du client>`, où le `<domaine de courriel du client>` est spécifié par votre équipe informatique locale lors de l'installation du serveur.

Tableau 4 Notifications normales de changement d'état et demandes d'action

Condition	Fonctionnement normal/Avertissement/Erreur	Exemple de contenu de la notification par courriel
<p>Le séquençage a débuté. La notification est envoyée lorsque le serveur détecte la présence d'un nouveau dossier d'analyse. Ce dossier contient le fichier des paramètres d'analyse, qui indique que le séquençage a débuté selon des paramètres adéquats. Nom du fichier des paramètres d'analyse : [Option SNG n° 1] runParameters.xml [Option SNG n° 2] RunParameters.xml</p>	Fonctionnement normal	<p>Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (Nom du dossier de séquençage : 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX) Sequencing Run Status: Sequencing started (État du séquençage : séquençage commencé) Sequencing Start Time: 2014-05-12 08:15 PDT (Début du séquençage : 12-05-2014 8 h 15 heure du Pacifique) Sequencing Complete Time: NA (Heure de fin du séquençage : S. O.) Workflow Name: NA (Nom du flux de travail : S. O.) Analysis Scheduled Time: NA (Heure prévue de l'analyse : S. O.) Analysis Start Time: NA (Heure de début de l'analyse : S. O.) Analysis Finish Time: NA (Heure de fin de l'analyse : S. O.) Analysis Output Directory: NA (Répertoire de sortie de l'analyse : S. O.)</p>
<p>Le séquençage est terminé.</p>	Fonctionnement normal	<p>Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (Nom du dossier de séquençage : 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX) Sequencing Run Status: Sequencing completed (État du séquençage : séquençage terminé) Sequencing Start Time: 2014-05-12 08:15 PDT (Début du séquençage : 12-05-2014 8 h 15 heure du Pacifique) Sequencing Complete Time: 2014-05-12 08:16 PDT (Fin du séquençage : 12-05-2014 8 h 16 heure du Pacifique) Workflow Name: NA (Nom du flux de travail : S. O.) Analysis Scheduled Time: NA (Heure prévue de l'analyse : S. O.) Analysis Start Time: NA (Heure de début de l'analyse : S. O.) Analysis Finish Time: NA (Heure de fin de l'analyse : S. O.) Analysis Output Directory: NA (Répertoire de sortie de l'analyse : S. O.)</p>

Condition	Fonctionnement normal/Avertissement/Erreur	Exemple de contenu de la notification par courriel
Les paramètres de l'analyse de séquençage ne sont pas compatibles.	Erreur (récupération impossible)	<p>Sequencing run parameters for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' are not supported by any of the configured workflows. (Les paramètres de l'analyse de séquençage « 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX » ne sont compatibles avec aucun des flux de travail configurés.)</p> <p>This sequencing run folder will not be processed further. (Le traitement de ce dossier d'analyse de séquençage ne pourra pas se poursuivre.) See the following errors: (Examinez les erreurs suivantes:)</p> <p>Workflow Name: (Nom du flux de travail :)</p> <p>[NGS Option 1] cfDNAHiSeqv1.0 ([Option SNG n° 1] cfDNAHiSeqv1.0)</p> <p>[NGS Option 2] cfDNANextSeqv1.0 ([Option SNG n° 2] cfDNANextSeqv1.0)</p> <p>Mismatching Sequence Run Parameters found: NumCycles2, NumIndexed2 (Paramètres de séquençage incompatibles détectés : NumCycles2, NumIndexed2)</p> <p>Found NumCycles2 value: 10, expected value: 7 (Valeur NumCycles2 trouvée : 10; valeur attendue : 7)</p> <p>Found NumIndexed2 value: 10, expected value: 7 (Valeur NumIndexed2 trouvée : 10; valeur attendue : 7)</p>

Condition	Fonctionnement normal/Avertissement/Erreur	Exemple de contenu de la notification par courriel
Il existe un code à barres de Flow Cell incorrect dans la feuille d'échantillons.	Avertissement (récupération possible dans les 96 heures)	<p>The sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' found in the sequencing run folder generated the following error: (La feuille d'échantillons correspondant à l'analyse de séquençage « 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX » du dossier d'analyse de séquençage a généré l'erreur suivante :)</p> <p>The flow cell ID (barcode) recorded in the sample sheet ('Experiment Name' slot) is ''. (L'identifiant de Flow Cell (le code à barres) figurant dans la feuille d'échantillons [champ « Nom de l'expérience »] est ''.)</p> <p>This barcode is required to be identical to the barcode associated with the run folder 'H8HT6ADXX'. (Ce code à barres doit être identique au code à barres associé au dossier d'analyse « H8HT6ADXX ».)</p> <p>Please correct the error in order to proceed with analysis. (Veuillez corriger l'erreur pour poursuivre l'analyse.)</p> <p>The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute. (La feuille d'échantillons sera téléchargée à nouveau dans une minute environ.)</p> <p>The sample sheet is located in the run folder '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX'. (La feuille d'échantillons se trouve dans le dossier d'analyse « /data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX ».)</p>

Condition	Fonctionnement normal/Avertissement/Erreur	Exemple de contenu de la notification par courriel
Un flux de travail non compatible figure dans la ligne d'en-tête « Description » de la feuille d'échantillons.	Avertissement (récupération possible dans les 96 heures)	<p>The sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' found in the sequencing run folder generated the following error: (La feuille d'échantillons correspondant à l'analyse de séquençage « 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX » du dossier d'analyse de séquençage a généré l'erreur suivante :)</p> <p>The workflow indicated in the sample sheet 'NIPT template1' is not supported by any of the configured workflows. (Le flux de travail figurant dans la feuille d'échantillons « NIPT template1 » n'est compatible avec aucun des flux de travail configurés.)</p> <p>The supported workflow names are: (Les noms des flux de travail compatibles sont :)</p> <p>[NGS Option 1] cfDNAHiSeqv1.0 ([Option SNG n° 1] cfDNAHiSeqv1.0)</p> <p>[NGS Option 2] cfDNANextSeqv1.0 ([Option SNG n° 2] cfDNANextSeqv1.0)</p> <p>Please correct the error in order to proceed with analysis. (Veuillez corriger l'erreur pour poursuivre l'analyse.)</p> <p>The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute. (La feuille d'échantillons sera téléchargée à nouveau dans une minute environ.)</p> <p>The sample sheet is located in the run folder '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX'. (La feuille d'échantillons se trouve dans le dossier d'analyse « /data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX ».)</p>

Condition	Fonctionnement normal/Avertissement/Erreur	Exemple de contenu de la notification par courriel
Le fichier SampleSheet.csv file est manquant dans le dossier d'analyse de séquençage.	Avertissement (récupération possible dans les 96 heures)	<p>The sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' in the sequencing run folder generated the following error: (La feuille d'échantillons correspondant à l'analyse de séquençage « 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX » du dossier d'analyse de séquençage a généré l'erreur suivante :)</p> <p>'/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX/SampleSheet.csv (No such file or directory)'. (« /data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX/SampleSheet.csv (Ce fichier ou ce répertoire n'existe pas) ».)</p> <p>Please correct the error in order to proceed with analysis. (Veuillez corriger l'erreur pour poursuivre l'analyse.)</p> <p>The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute. (La feuille d'échantillons sera téléchargée à nouveau dans une minute environ.)</p> <p>The sample sheet is located in the run folder '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX'. (La feuille d'échantillons se trouve dans le dossier d'analyse « /data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX ».)</p>

Condition	Fonctionnement normal/Avertissement/Erreur	Exemple de contenu de la notification par courriel
Identifiants d'échantillon non valides présents dans la feuille d'échantillons.	Erreur (récupération par correction des identifiants d'échantillon)	<p>Parsing the sample sheet for sequencing run '160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX' in the sequencing run folder generated the following error(s): (L'analyse syntaxique de la feuille d'échantillons pour l'analyse de séquençage « 160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX » dans le dossier d'analyse de séquençage a généré la ou les erreurs suivantes :) Error: Invalid Sample IDs found (contain characters other than alpha-numeric / dashes / underscores). (Erreur : présence d'identifiants d'échantillon non valides (contiennent des caractères qui ne sont pas alphanumériques/des tirets/des traits de soulignement).) Invalid Sample ID values are: Plasma Control. (Les valeurs non valides des identifiants d'échantillon sont : Plasma Control (Contrôle du plasma).) Correct the error to proceed with analysis. (Corrigez l'erreur pour poursuivre l'analyse.) The sample sheet will be uploaded again in approximately 1.0 minutes. (La feuille d'échantillons sera téléchargée à nouveau dans une minute environ.)</p> <p>Sample sheet should be located in the run folder '/data01/runs/160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX'. (La feuille d'échantillons doit se trouver dans le dossier d'analyse « /data01/runs/160217_NS500208_0021_AHK5NKBGXX ».)</p> <p>Note: This error is generated if any invalid characters, including spaces, are included in the sample sheet. (Remarque : Cette erreur est générée lorsque la feuille d'échantillons comprend des caractères non valides, y compris des espaces.)</p>

Condition	Fonctionnement normal/Avertissement/Erreur	Exemple de contenu de la notification par courriel
Une ligne d'en-tête est manquante dans la feuille d'échantillons.	Avertissement (récupération possible dans les 96 heures)	<p>Attempt to load sample sheet for sequencing run '140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX' generated the following error: (La tentative de chargement de la feuille d'échantillons pour l'analyse de séquençage « 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX » a généré l'erreur suivante :)</p> <p>Error: Invalid Sample Sheet Header. (Erreur : en-tête de feuille d'échantillons non valide.) Missing required fields: Description (Champ obligatoire manquant : Description) Please correct the error in order to proceed with analysis. (Veuillez corriger l'erreur pour poursuivre l'analyse.) The sample sheet will be uploaded again in approximately 1 minute. (La feuille d'échantillons sera téléchargée à nouveau dans une minute environ.) The sample sheet is located in the run folder '/data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX'. (La feuille d'échantillons se trouve dans le dossier d'analyse « /data01/runs/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX ».)</p>

Condition	Fonctionnement normal/Avertissement/Erreur	Exemple de contenu de la notification par courriel
Valeurs d'index dupliquées répertoriées dans la feuille d'échantillons.	Erreur (récupération par correction de la feuille d'échantillons)	<p>Parsing the sample sheet for sequencing run '140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2' in the sequencing run folder generated the following error(s): (L'analyse syntaxique de la feuille d'échantillons correspondant à l'analyse de séquençage « 140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2 » du dossier d'analyse de séquençage a généré la ou les erreurs suivantes :)</p> <p>Error: Duplicate Index value found: ACTGAT (A025) for Lane: 1 (Erreur : présence de valeur d'Index dupliquée : ACTGAT (A025) pour la ligne : 1)</p> <p>Invalid sample record found: S109_S109_A7_A025_ACTGAT__Test_62 for Index: ACTGAT (Présence de journal d'échantillons non valide : S109_S109_A7_A025_ACTGAT__Test_62 pour l'Index : ACTGAT)</p> <p>Duplicate Index value found: ATTCCT (A027) for Lane: 1 (Présence de valeur d'Index dupliquée : ATTCCT (A027) pour la ligne : 1)</p> <p>Invalid sample record found: S113_S113_B7_A027_ATTCCT__Test_62 for Index: ATTCCT (Présence de journal d'échantillons non valide : S113_S113_B7_A027_ATTCCT__Test_62 pour l'Index : ATTCCT)</p> <p>Duplicate Index value found: ACTGAT (A025) for Lane: 2 (Présence de valeur d'Index dupliquée : ACTGAT (A025) pour la ligne : 2)</p> <p>Invalid sample record found: S109_S109_A7_A025_ACTGAT__Test_62 for Index: ACTGAT (Présence de journal d'échantillons non valide : S109_S109_A7_A025_ACTGAT__Test_62 pour l'Index : ACTGAT)</p> <p>Duplicate Index value found: ATTCCT (A027) for Lane: 2 (Présence de valeur d'Index dupliquée : ATTCCT (A027) pour la ligne : 2)</p> <p>Invalid sample record found: S113_S113_B7_A027_ATTCCT__Test_62 for Index: ATTCCT (Présence de journal d'échantillons non valide : S113_S113_B7_A027_ATTCCT__Test_62 pour l'Index : ATTCCT)</p> <p>Correct the error to proceed with analysis. (Corrigez l'erreur pour poursuivre l'analyse.) The sample sheet will be uploaded again in approximately 1.0 minutes. (La feuille d'échantillons sera téléchargée à nouveau dans une minute environ.)</p> <p>Sample sheet should be located in the run folder '/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2'. (La feuille d'échantillons doit se trouver dans le dossier d'analyse « /data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY2 ».)</p>

Condition	Fonctionnement normal/Avertissement/Erreur	Exemple de contenu de la notification par courriel
Valeur Lane (Ligne) non valide ou manquante (option SNG n° 1 uniquement).	Erreur (récupération par correction des identifiants d'échantillon)	<p>Parsing the sample sheet for sequencing run '140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY' in the sequencing run folder generated the following error(s): (L'analyse syntaxique de la feuille d'échantillons correspondant à l'analyse de séquençage « 140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY » du dossier d'analyse de séquençage a généré la ou les erreurs suivantes :)</p> <p>Error: Invalid Lane value found at row: 47. (Erreur : présence de valeur Lane (Ligne) non valide à la rangée : 47.) Invalid value: Invalid Lane value found at row: 47. (Valeur non valide : présence de valeur Lane (Ligne) non valide à la rangée : 47.)</p> <p>Invalid value: Invalid Sample IDs found (contain characters other than alpha-numeric / dashes / underscores). (Valeur non valide : présence d'identifiants d'échantillons non valides (contiennent des caractères qui ne sont pas alphanumériques/des tirets/des traits de soulignement).) Invalid Sample ID values are: <blank> (Les valeurs non valides des identifiants d'échantillon sont : <vide>)</p> <p>Correct the error to proceed with analysis. (Corrigez l'erreur pour poursuivre l'analyse.) The sample sheet will be uploaded again in approximately 1.0 minutes. (La feuille d'échantillons sera téléchargée à nouveau dans une minute environ.)</p> <p>Sample sheet should be located in the run folder '/data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY'. (La feuille d'échantillons doit se trouver dans le dossier d'analyse « /data01/runs/140220_D00409_0041_AH8P5EADXX_COPY ».)</p>

Condition	Fonctionnement normal/Avertissement/Erreur	Exemple de contenu de la notification par courriel
<p>L'analyse de séquençage a échoué. Le fichier RTA Complete est absent. Cette notification est envoyée lorsque le fichier RTA Complete est toujours absent au bout de 20 heures.</p>	<p>Erreur (récupération impossible : fichier RTAComplete.txt après écoulement du temps d'attente maximal de 20 heures)</p>	<p>Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_D12_NO_RTAComplete_TC_SC_3 (Nom du dossier de séquençage : 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_D12_NO_RTAComplete_TC_SC_3) Sequencing Run Status: Failed sequencing (État du séquençage : échec du séquençage) Sequencing Start Time: 2014-05-12 19:45 PDT (Début du séquençage : 12-05-2014 8 h 15 heure du Pacifique) Sequencing Complete Time: NA (Heure de fin du séquençage : S. O.) Workflow Name: NA (Nom du flux de travail : S. O.) Analysis Scheduled Time: NA (Heure prévue de l'analyse : S. O.) Analysis Start Time: NA (Heure de début de l'analyse : S. O.) Analysis Finish Time: NA (Heure de fin de l'analyse : S. O.) Analysis Output Directory: NA (Répertoire de sortie de l'analyse : S. O.)</p>

Condition	Fonctionnement normal/Avertissement/Erreur	Exemple de contenu de la notification par courriel
<p>L'analyse a débuté. Cette notification est envoyée lorsque l'analyse commence. La notification est générée lorsque le fichier RTA Complete apparaît, ce qui déclenche l'analyse. L'analyse dure entre une et deux heures.</p>	<p>Fonctionnement normal</p>	<p>Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (Nom du dossier de séquençage : 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX) Sequencing Run Status: Analysis started (État du séquençage : analyse commencée) Sequencing Start Time: 2014-05-12 19:45 PDT (Début du séquençage : 12-05-2014 8 h 15 heure du Pacifique) Sequencing Complete Time: 2014-05-12 19:55 PDT (Fin du séquençage : 12-05-2014 8 h 16 heure du Pacifique) Workflow Name: (Nom du flux de travail :) [NGS Option 1] cfDNAHiSeqv1.0 ([Option SNG n° 1] cfDNAHiSeqv1.0) [NGS Option 2] cfDNANextSeqv1.0 ([Option SNG n° 2] cfDNANextSeqv1.0) Analysis Scheduled Time: 2014-05-12 20:05 PDT (Moment programmé de l'analyse : 12-05-2014 20 h 05 heure du Pacifique) Analysis Start Time: 2014-05-12 20:06 PDT (Début de l'analyse : 12-05-2014 20 h 06 heure du Pacifique) Analysis Finish Time: NA (Heure de fin de l'analyse : S. O.) Analysis Output Directory: NA (Répertoire de sortie de l'analyse : S. O.)</p>

Condition	Fonctionnement normal/Avertissement/Erreur	Exemple de contenu de la notification par courriel
<p>L'analyse a échoué. Le système renouvelle automatiquement l'analyse trois fois.</p>	<p>Avertissement (récupération possible par renouvellement de l'analyse; ATMS replace l'analyse en file d'attente en vue de son traitement jusqu'à trois fois)</p>	<p>Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (Nom du dossier de séquençage : 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX) Sequencing Run Status: Analysis failed. (État du séquençage : échec de l'analyse.) It will automatically be restarted to reprocess the run. (L'analyse sera automatiquement redémarrée pour un nouveau traitement.) Sequencing Start Time: 2014-05-11 08:26 PDT (Début du séquençage : 12-05-2014 8 h 15 heure du Pacifique) Sequencing Complete Time: 2014-05-11 08:27 PDT (Fin du séquençage : 12-05-2014 8 h 16 heure du Pacifique) Workflow Name: (Nom du flux de travail :) [NGS Option 1] cfDNAHiSeqv1.0 ([Option SNG n° 1] cfDNAHiSeqv1.0) [NGS Option 2] cfDNANextSeqv1.0 ([Option SNG n° 2] cfDNANextSeqv1.0) Analysis Scheduled Time: 2014-05-11 08:47 PDT (Moment programmé de l'analyse : 12-05-2014 20 h 05 heure du Pacifique) Analysis Start Time: 2014-05-11 08:57 PDT (Début de l'analyse : 12-05-2014 20 h 06 heure du Pacifique) Analysis Finish Time: 2014-05-11 08:59 PDT (Fin de l'analyse : 11-05-2014 8 h 59 heure du Pacifique) Analysis Output Directory: NA (Répertoire de sortie de l'analyse : S. O.)</p>

Condition	Fonctionnement normal/Avertissement/Erreur	Exemple de contenu de la notification par courriel
<p>Le nombre maximum de tentatives d'analyse a été atteint. Cette notification est envoyée si la troisième tentative d'analyse se révèle infructueuse.</p>	<p>Erreur (récupération impossible)</p>	<p>Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_TC_A_3 (Nom du dossier de séquençage : 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_TC_A_3) Sequencing Run Status: Maximum number of analysis attempts were exhausted. (État du séquençage : le nombre maximal de tentatives d'analyses a été épuisé.) Please contact Illumina Technical Support. (Veuillez communiquer avec l'assistance technique d'Illumina.) Sequencing Start Time: 2014-05-13 07:00 PDT (Début du séquençage : 12-05-2014 8 h 15 heure du Pacifique) Sequencing Complete Time: 2014-05-13 07:01 PDT (Fin du séquençage : 12-05-2014 8 h 16 heure du Pacifique) Workflow Name: (Nom du flux de travail :) [NGS Option 1] cfDNAHiSeqv1.0 ([Option SNG n° 1] cfDNAHiSeqv1.0) [NGS Option 2] cfDNANextSeqv1.0 ([Option SNG n° 2] cfDNANextSeqv1.0) Analysis Scheduled Time: 2014-05-13 07:09 PDT (Moment programmé de l'analyse : 12-05-2014 20 h 05 heure du Pacifique) Analysis Start Time: 2014-05-13 07:11 PDT (Début de l'analyse : 12-05-2014 20 h 06 heure du Pacifique) Analysis Finish Time: 2014-05-13 07:12 PDT (Fin de l'analyse : 11-05-2014 8 h 59 heure du Pacifique) Analysis Output Directory: NA (Répertoire de sortie de l'analyse : S. O.)</p>

Condition	Fonctionnement normal/Avertissement/Erreur	Exemple de contenu de la notification par courriel
Le nom du dossier d'analyse contient des caractères non autorisés.	Erreur (récupération possible en supprimant les caractères non autorisés)	D00409 0027 AH8HT6ADXX' (Nom de dossier de séquençage non valide détecté : « 140207 D00409 0027 AH8HT6ADXX ».) The Sequencing Run Folder name can only contain the following alphanumeric characters: a-z, A-Z, 0-9, and underscores ("_"). (Le dossier de séquençage ne peut être composé que de caractères de soulignement (« _ ») et des caractères alphanumériques suivants : lettres de a à z ou de A à Z, et chiffres de 0 à 9.) No spaces or other characters are allowed. (Les espaces et les autres caractères sont interdits.) This sequencing run folder will not be processed further. (Le traitement de ce dossier d'analyse de séquençage ne pourra pas se poursuivre.) Correct the run folder name to requeue for analysis. (Corrigez le nom du dossier de séquençage afin de le remettre en file d'attente pour l'analyse.)
Le rapport de séquençage cfDNA a été généré.	Fonctionnement normal	Sequencing Run Folder Name: 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX (Nom du dossier de séquençage : 140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX) Sequencing Run Status: Reports generated (État du séquençage : rapports générés) Sequencing Start Time: 2014-05-12 19:45 PDT (Début du séquençage : 12-05-2014 8 h 15 heure du Pacifique) Sequencing Complete Time: 2014-05-12 19:55 PDT (Fin du séquençage : 12-05-2014 8 h 16 heure du Pacifique) Workflow Name: (Nom du flux de travail :) [NGS Option 1] cfDNAHiSeqv1.0 ([Option SNG n° 1] cfDNAHiSeqv1.0) [NGS Option 2] cfDNANextSeqv1.0 ([Option SNG n° 2] cfDNANextSeqv1.0) Analysis Scheduled Time: 2014-05-12 20:05 PDT (Moment programmé de l'analyse : 12-05-2014 20 h 05 heure du Pacifique) Analysis Start Time: 2014-05-12 20:06 PDT (Début de l'analyse : 12-05-2014 20 h 06 heure du Pacifique) Analysis Finish Time: 2014-05-12 21:24 PDT (Fin de l'analyse : 11-05-2014 8 h 59 heure du Pacifique) Analysis Output Directory: /data01/analysis_output/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_140512_200514 (Répertoire de sortie d'analyse : /data01/analysis_output/140207_D00409_0027_AH8HT6ADXX_140512_200514)

Arrêt du système

Récupération après un arrêt inattendu

En cas de panne d'électricité ou d'un arrêt accidentel par l'utilisateur en cours d'analyse, le système :

- ▶ relance automatiquement le logiciel au redémarrage;
- ▶ reconnaît la dernière analyse en cours au moment de l'arrêt comme ayant échoué et la renvoie dans la file d'attente pour être traitée;
- ▶ génère les données de sortie une fois l'analyse correctement achevée.



REMARQUE

Si l'analyse échoue, le logiciel permet au système de la renouveler jusqu'à trois fois.

Analyse et génération de rapports

Règles de spécification et de validation des feuilles d'échantillons	25
Démultiplexage et génération de fichiers FASTQ	36
Remise en file d'attente pour analyse	37
Archivage et sauvegarde des données	39
Caractéristiques des rapports et interprétation des indicateurs	40
Vérification du fonctionnement de l'ATMS	43

Règles de spécification et de validation des feuilles d'échantillons

Cette section fournit des instructions destinées à la création de la feuille d'échantillons nécessaire pour que le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq puisse analyser un dossier de séquençage. Suivez les instructions correspondant à l'option SNG que vous utilisez.



REMARQUE

Vérifiez que les identifiants d'échantillon ont été mis en correspondance avec les bons index. L'exactitude de la correspondance est nécessaire pour maintenir l'intégrité des échantillons. Demandez à une deuxième personne (différente de celle qui l'a créée) de vérifier la feuille d'échantillons avant de commencer l'analyse de séquençage. Toute erreur de correspondance entre les échantillons et les index peut provoquer une confusion entre des résultats potentiellement erronés et des échantillons mal identifiés.



REMARQUE

Incluez toujours un contrôle du processus et un contrôle négatif dans le lot d'échantillons. Le contrôle du processus (mais pas le contrôle négatif) doit être ajouté au groupement de bibliothèques et défini comme un échantillon de type « Contrôle » dans la feuille d'échantillons. N'ajoutez le contrôle négatif ni dans le lot d'échantillons ni dans la feuille d'échantillons.

Option SNG n° 1

Le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons) nécessite une feuille d'échantillons pour chaque Flow Cell. Pour le flux de travail avec l'option NGS n° 1, les feuilles d'échantillons sont téléchargées lors de la configuration du séquençage. Elles sont ensuite placées dans le dossier de sortie sous le nom « SampleSheet.csv ». La feuille d'échantillons est un fichier CSV contenant deux sections : un en-tête qui recueille les renseignements au niveau de l'analyse et une section de données qui capture les attributs propres à l'échantillon. L'option SNG n° 1 utilise une Flow Cell à deux lignes. Le même pool d'échantillons est analysé dans les deux lignes (1 et 2). Lors de la saisie des renseignements de l'échantillon dans la feuille d'échantillons, chaque combinaison Sample_ID, puits et index doit être répertoriée à la fois dans la ligne 1 et la ligne 2. La combinaison Sample_ID, puits et index doit être unique au sein d'une ligne.

Vérifiez que les identifiants d'échantillon ont été mis en correspondance avec les bons index. L'exactitude de la correspondance est nécessaire pour maintenir l'intégrité des échantillons.

Consultez le [Tableau 5](#) et le [Tableau 6](#) pour obtenir des exemples d'en-têtes et de données de feuille d'échantillons.



REMARQUE

Le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq exige le respect des conventions de nommage qui figurent dans le tableau suivant pour importer les fichiers de sortie SNG.

Tableau 5 Exemple de feuille d'échantillons avec l'option SNG n° 1 (section d'en-tête)

[En-tête]	
IEMFileVersion	4
Investigator Name (Nom de l'investigateur)	
Experiment Name (Nom de l'expérience)	H9KY7ADXX
Date	
Workflow (Flux de travail)	GenerateFASTQ
Application	HiSeq FASTQ Only
Assay (Test)	TruSeq LT
Description	cfDNAHiSeqv1.0
Chemistry (Chimie)	Default
[Lectures]	
	36
[Réglages]	



REMARQUE

La section d'en-tête de la feuille d'échantillons doit comporter l'identifiant exact de la Flow Cell (toutes les lettres en majuscules) dans le champ Experiment Name (Nom de l'expérience), et le champ Description doit contenir la mention « cfDNAHiSeqv1.0 ».

Tableau 6 Exemple de feuille d'échantillons avec l'option SNG n° 1 (section de données)

[Données]										
Ligne	Sample_ID	Sample_Name	Sample_Plate	Sample_Well	I7_Index_ID	Index	Sample_Project	Description	SampleType	Library_nM
1	Échantillon1	Échantillon1		A1	A002	CGATGT			Test	80,87774
1	Échantillon2	Échantillon2		B1	A005	ACAGTG			Test	75,3396
1	Échantillon3	Échantillon3		C1	A007	CAGATC			Test	87,35632
1	Échantillon4	Échantillon4		D1	A012	CTTGTA			Test	68,02508
1	Échantillon5	Échantillon5		E1	A013	AGTCAA			Test	97,49216
1	Échantillon6	Échantillon6		F1	A014	AGTTCC			Test	93,20794
1	Échantillon7	Échantillon7		G1	A018	GTCCGC			Test	63,63636
1	Échantillon8	Échantillon8		H1	A019	GTGAAA		Failed Library (Échec de la librairie)	Test	5,2
1	Échantillon9	Échantillon9		A2	A001	ATCACG			Test	84,6395
1	Échantillon10	Échantillon10		B2	A003	TTAGGC			Test	81,5047
1	Échantillon11	Échantillon11		C2	A008	ACTTGA			Test	78,78788
1	Échantillon12	Échantillon12		D2	A010	TAGCTT			Test	83,17659
1	Échantillon13	Échantillon13		E2	A020	GTGGCC			Test	79,62382
1	Échantillon14	Échantillon14		F2	A022	CGTACG			Test	62,59143
1	Identifiant du contrôle	Identifiant du contrôle		G2	A025	ACTGAT			Control (Contrôle)	65,20376
2	Échantillon1	Échantillon1		A1	A002	CGATGT			Test	80,87774
2	Échantillon2	Échantillon2		B1	A005	ACAGTG			Test	75,3396
2	Échantillon3	Échantillon3		C1	A007	CAGATC			Test	87,35632
2	Échantillon4	Échantillon4		D1	A012	CTTGTA			Test	68,02508
2	Échantillon5	Échantillon5		E1	A013	AGTCAA			Test	97,49216
2	Échantillon6	Échantillon6		F1	A014	AGTTCC			Test	93,20794
2	Échantillon7	Échantillon7		G1	A018	GTCCGC			Test	63,63636
2	Échantillon8	Échantillon8		H1	A019	GTGAAA		Failed Library (Échec de la librairie)	Test	5,2
2	Échantillon9	Échantillon9		A2	A001	ATCACG			Test	84,6395

2	Échantillon10	Échantillon10	B2	A003	TTAGGC	Test	81,5047
2	Échantillon11	Échantillon11	C2	A008	ACTTGA	Test	78,78788
2	Échantillon12	Échantillon12	D2	A010	TAGCTT	Test	83,17659
2	Échantillon13	Échantillon13	E2	A020	GTGGCC	Test	79,62382
2	Échantillon14	Échantillon14	F2	A022	CGTACG	Test	62,59143
2	Identifiant du contrôle	Identifiant du contrôle	G2	A025	ACTGAT	Control (Contrôle)	65,20376

Les règles de validation des feuilles d'échantillons en ce qui concerne les sections d'en-tête et de données sont présentées dans le [Tableau 7](#) et le [Tableau 8](#). Les données présentes dans chaque cellule de la feuille d'échantillons ne doivent pas dépasser 100 caractères.



REMARQUE

Le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq exige le respect des conventions de nommage qui figurent dans le tableau suivant pour importer les fichiers de sortie SNG.

Tableau 7 Règles de validation de la feuille d'échantillons (section d'en-tête)

Champ	Obligatoire	Règles de validation
IEMFileVersion	Oui	Doit être 4.
Investigator Name (Nom de l'investigateur)	Oui	Pas de règle de validation.
Experiment Name (Nom de l'expérience)	Oui	Doit être l'identifiant de la Flow Cell (tout en majuscule). L'identifiant est validé par comparaison avec le code à barres de runParameters.xml.
Date	Oui	Pas de règle de validation.
Workflow (Flux de travail)	Oui	Pas de règle de validation.
Application	Oui	Pas de règle de validation.
Assay (Test)	Oui	Pas de règle de validation.
Description	Oui	Doit être cfDNAHiSeqv1.0.
Chemistry (Chimie)	Oui	Pas de règle de validation.

Tableau 8 Règles de validation de la feuille d'échantillons pour l'option SNG n° 1 (section de données)

Nom de la colonne	Interprétation	Classe	Entrées valides	Obligatoire	Règles de validation
Lane	Ligne sur laquelle se trouve l'échantillon	Nombre entier	1, 2	Oui	Doit être 1 ou 2.
Sample_ID	Identifiant de l'échantillon (sert à établir des rapports de sortie cADAS)	Chaîne de caractères	Propre à chaque index au sein de la Flow Cell	Oui	Pour un identifiant d'échantillon donné, toutes les valeurs des données de la feuille d'échantillons doivent être identiques, à l'exception de la valeur Lane (Ligne). L'identifiant d'échantillon ne peut être composé que de caractères alphanumériques, notamment de lettres de a à z ou de A à Z, de chiffres de 0 à 9, de caractères de soulignement et de tirets (« - »). L'identifiant d'échantillon ne doit pas contenir d'espaces. Évitez d'utiliser plusieurs traits de soulignement et tirets de suite. Depuis la version 1.4, l'identifiant d'échantillon ne peut pas commencer par le chiffre 0.

Nom de la colonne	Interprétation	Classe	Entrées valides	Obligatoire	Règles de validation
Sample_Name	Nom de l'échantillon	Chaîne de caractères	Sans objet	Non	Ce champ peut être vide. Pas de règle de validation. Le nom de l'échantillon est tronqué s'il dépasse 100 caractères.
Sample_Plate	Identifiant de la plaque d'échantillon	Chaîne de caractères	PXXXX, où « XXXX » se compose de chiffres	Non	Ce champ peut être vide. Pas de règle de validation. L'identifiant de la plaque d'échantillon est tronqué s'il dépasse 100 caractères.
Sample_Well	Identifiant du puits de l'échantillon	Chaîne de caractères	A01 à A08 B01 à B08	Oui	Les deux formats, A1 et A01, sont acceptés. Les valeurs sont validées par comparaison avec une expression régulière. Le premier caractère est une lettre de A à H, les deux suivants un nombre de 1 à 12 ou de 01 à 12.
I7_Index_ID	Identifiant de l'index	Chaîne de caractères	A001 à A024	Oui	Le premier caractère est toujours la lettre A et est suivi de trois chiffres; consultez le Tableau 12 .
Index	Composition de l'index	Chaîne de caractères		Oui	Toutes les séquences d'index qui figurent dans le Tableau 12 sont autorisées. Le nombre total des valeurs Index dans une ligne de Flow Cell donnée doit être au moins égal à huit. Dans le cas contraire, une erreur survient. Une étape de validation supplémentaire a lieu afin de former des paires de valeurs I7_Index_ID et Index. Pour une valeur Lane (Ligne) donnée, chacune des valeurs Index doit être unique.
Sample_Project	Nom du projet	Chaîne de caractères	Sans objet	Non	Ce champ peut être vide.
Description	Description de l'échantillon	Chaîne de caractères	Sans objet	Non	Ce champ peut être vide. Si le mot « failed » (échec) est compris dans ce champ, l'échantillon est indiqué comme ayant échoué et aucun résultat le concernant n'est rapporté.
SampleType	Type d'échantillon	Chaîne de caractères	« Patient », « Test » ou « Control » (Contrôle)	Oui	Doit être « Patient », « Test » ou « Control » (Contrôle). (Ce critère de validation est sensible à la casse.)
Library_nM	Concentration de la librairie	Valeurs réelles	Valeurs numériques	Oui	Doit être numérique.

L'utilisateur peut exclure un échantillon de l'analyse en indiquant « failed » (échec) (non sensible à la casse) dans le champ de description de l'échantillon sur la feuille d'échantillons. Cela permet le suivi, tout au long du flux de travail, des échantillons qui n'atteignent pas l'étape du séquençage proprement dite en raison d'un échec au CQ préséquençage. La valeur du champ de description de l'échantillon est incluse dans le fichier de sortie, et les champs relatifs aux données sont laissés vides.

Option SNG n° 2

Le flux de travail de configuration de l'analyse utilisant l'option SNG n°2 ne comporte aucune option permettant de charger manuellement une feuille d'échantillons lors de la configuration de l'analyse. À la place, après la détection d'un nouveau séquençage, l'utilisateur doit placer la feuille d'échantillons intitulée `samplesheet.csv` dans le dossier de séquençage de sortie se situant dans le dossier des séquençages sur le serveur d'analyse. ATMS envoie un courriel à l'utilisateur indiquant qu'un nouveau séquençage a été détecté une fois que le fichier `RunParameters.xml` est écrit dans le dossier de séquençage se trouvant dans le répertoire `/data01/runs` du serveur d'analyse et après le début du séquençage. La feuille d'échantillons doit être placée dans le dossier de séquençage avant la fin de l'analyse de séquençage (avant l'écriture du fichier `RTAComplete.txt` dans le dossier de séquençage).



REMARQUE

Si le fichier `samplesheet.csv` est absent du dossier de sortie de séquençage au moment de l'écriture du fichier `RTAcomplete.txt`, le logiciel d'analyse enverra une notification. Consultez le [Chapitre 2 Fonctionnement du système, Notifications du système, Tableau 4 page 10](#).

Lorsque vous utilisez l'option SNG n°2, le même pool d'échantillons est analysé sur la totalité de la Flow Cell. Les numéros de ligne ne sont pas indiqués dans la feuille d'échantillons. Lors de la saisie des renseignements de l'échantillon dans la feuille d'échantillons, chaque combinaison `Sample_ID`, puits et index sera répertoriée une seule fois dans la section de données de la feuille d'échantillons. Chaque combinaison `Sample_ID`, puits et index doit être unique.

Vérifiez que les identifiants d'échantillon ont été mis en correspondance avec les bons index. L'exactitude de la correspondance est nécessaire pour maintenir l'intégrité des échantillons.

Consultez le [Tableau 9](#) et le [Tableau 10](#) pour obtenir des exemples d'en-têtes et de données de feuille d'échantillons.



REMARQUE

Le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq exige le respect des conventions de nommage qui figurent dans le tableau suivant pour importer les fichiers de sortie SNG.

Tableau 9 Exemple de feuille d'échantillons avec l'option SNG n° 2 (section d'en-tête)

[En-tête]	
IEMFileVersion	4
Investigator Name (Nom de l'investigateur)	Nom
Experiment Name (Nom de l'expérience)	FlowCellID
Date	2/4/2014
Workflow (Flux de travail)	GenerateFASTQ
Application	FASTQ Only
Assay (Test)	TruSeq LT
Description	cfDNANextSeqv1.0
Chemistry (Chimie)	Default
[Lectures]	
	36
[Réglages]	
ReverseComplement	0



REMARQUE

La section d'en-tête de la feuille d'échantillons doit comporter l'identifiant exact de la Flow Cell (toutes les lettres en majuscules) dans le champ Experiment Name (Nom de l'expérience), et le champ Description doit contenir la mention « cfDNANextSeqv1.0 ».

Tableau 10 Exemple de feuille d'échantillons avec l'option SNG n° 2 (section de données)

[Données]									
Sample_ID	Sample_Name	Sample_Plate	Sample_Well	I7_Index_ID	Index	Sample_Project	Description	SampleType	Library_nM
Échantillon1	Échantillon1		A2	A002	CGATGT			Test	53,2
Échantillon2	Échantillon2		B2	A005	ACAGTG			Test	51
Échantillon3	Échantillon3		C2	A007	CAGATC			Test	83,3
Échantillon4	Échantillon4		D2	A012	CTTGTA			Test	79
Échantillon5	Échantillon5		E2	A013	AGTCAA			Test	67
Échantillon6	Échantillon6		F2	A014	AGTTCC			Test	44,3
Échantillon7	Échantillon7		G2	A018	GTCCGC			Test	61,9
Échantillon8	Échantillon8		H2	A019	GTGAAA			Test	62,9
Échantillon9	Échantillon9		A4	A001	ATCACG			Test	76,8
Échantillon10	Échantillon10		B4	A003	TTAGGC			Test	71,1
Échantillon11	Échantillon11		C4	A008	ACTTGA		Failed_QC (Échec_CQ)	Test	5
Échantillon12	Échantillon12		D4	A010	TAGCTT			Test	71,1
Échantillon13	Échantillon13		E4	A020	GTGGCC			Test	55
Échantillon14	Échantillon14		F4	A022	CGTACG			Test	88,6
Identifiant du contrôle	Identifiant du contrôle		G4	A025	ACTGAT			Control (Contrôle)	64,7

Les règles de validation de la feuille d'échantillons pour les sections de données sont présentées au [Tableau 11](#). Les données présentes dans chaque cellule de la feuille d'échantillons ne doivent pas dépasser 100 caractères.

Tableau 11 Règles de validation de la feuille d'échantillons pour l'option SNG n° 2 (section de données)

Nom de la colonne	Interprétation	Classe	Entrées valides	Obligatoire	Règles de validation
Sample_ID	Identifiant de l'échantillon (sert à établir des rapports de sortie cADAS)	Chaîne de caractères	Propre à chaque index au sein de la Flow Cell	Oui	L'identifiant d'échantillon ne peut être composé que de caractères alphanumériques, notamment de lettres de a à z ou de A à Z, de chiffres de 0 à 9, de caractères de soulignement et de tirets (« - »). L'identifiant d'échantillon ne doit pas contenir d'espaces. Évitez d'utiliser plusieurs traits de soulignement et tirets de suite. Depuis la version 1.4, l'identifiant d'échantillon ne peut pas commencer par le chiffre 0.
Sample_Name	Nom de l'échantillon	Chaîne de caractères	Texte libre	Non	Ce champ peut être vide. Pas de règle de validation. Le nom est tronqué s'il dépasse 100 caractères.
Sample_Plate	Identifiant de la plaque d'échantillon	Chaîne de caractères	PXXXX, où « XXXX » se compose de chiffres	Non	Ce champ peut être vide. Pas de règle de validation. L'identifiant de la plaque d'échantillon est tronqué s'il dépasse 100 caractères.
Sample_Well	Identifiant du puits de l'échantillon	Chaîne de caractères	A01 à A08 B01 à B08	Oui	Les deux formats, A1 et A01, sont acceptés. Les valeurs sont validées par comparaison avec une expression régulière. Le premier caractère est une lettre de A à H, les deux suivants un nombre de 1 à 12 ou de 01 à 12.
I7_Index_ID	Identifiant de l'index	Chaîne de caractères	A001 à A024	Oui	Le premier caractère est toujours la lettre A et est suivi de trois chiffres.
Index	Composition de l'index	Chaîne de caractères		Oui	Toutes les séquences d'index qui figurent dans le Tableau 12 sont autorisées. Le nombre total des valeurs Index dans une ligne de Flow Cell donnée doit être au moins égal à huit. Dans le cas contraire, une erreur survient. Une étape de validation supplémentaire a lieu afin de former des paires de valeurs I7_Index_ID et Index. Pour chaque feuille d'échantillons, les valeurs Index doivent être uniques. Une valeur Index ne peut exister en double.
Sample_Project	Nom du projet	Chaîne de caractères	Sans objet	Non	Ce champ peut être vide.

Nom de la colonne	Interprétation	Classe	Entrées valides	Obligatoire	Règles de validation
Description	Description de l'échantillon	Chaîne de caractères	Sans objet	Non	Ce champ peut être vide. Si le mot « failed » (échec) est compris dans ce champ, l'échantillon est indiqué comme ayant échoué et aucun résultat le concernant n'est rapporté.
SampleType	Type d'échantillon	Chaîne de caractères	« Patient », « Test » ou « Control » (Contrôle)	Oui	Doit être « Patient », « Test » ou « Control » (Contrôle). (Ce critère de validation est sensible à la casse.)
Library_nM	Concentration de la librairie	Valeurs réelles	Valeurs numériques	Oui	Doit être numérique.

L'utilisateur peut exclure un échantillon de l'analyse en indiquant « failed » (échec) (non sensible à la casse) dans le champ de description de l'échantillon sur la feuille d'échantillons. Cela permet le suivi, tout au long du flux de travail, des échantillons qui n'atteignent pas l'étape du séquençage proprement dite en raison d'un échec au CQ préséquençage. La valeur du champ de description de l'échantillon est incluse dans le fichier de sortie, et les champs relatifs aux données sont laissés vides. Consultez le [Tableau 12](#) pour connaître les valeurs d'index valides.

Valeurs d'index valides

Tableau 12 Valeurs d'index valides

i7_Index_ID	Index
A001	ATCACG
A002	CGATGT
A003	TTAGGC
A004	TGACCA
A005	ACAGTG
A006	GCCAAT
A007	CAGATC
A008	ACTTGA
A009	GATCAG
A010	TAGCTT
A011	GGCTAC
A012	CTTGTA
A013	AGTCAA
A014	AGTTCC
A015	ATGTCA
A016	CCGTCC
A018	GTCCGC
A019	GTGAAA
A020	GTGGCC
A021	GTTTCG
A022	CGTACG
A023	GAGTGG
A025	ACTGAT
A027	ATTCCT

Démultiplexage et génération de fichiers FASTQ

L'option SNG n° 1 utilise un démultiplexeur personnalisé. L'option SNG n° 2 utilise le convertisseur bcl2fastq v2 pour le démultiplexage et la génération de fichiers FASTQ. Les deux options d'analyse produisent un fichier lié à une feuille d'échantillons supplémentaire dans le dossier d'analyse, en plus du fichier SampleSheet.csv d'origine.

- ▶ **SampleSheet.csv** : l'échantillon d'origine fourni par l'utilisateur.
- ▶ **sample_sheet_processed_AAAA_MM_JJ_hh-mm-ss.txt** : un fichier généré par ATMS après la lecture de la feuille d'échantillons fournie par l'utilisateur. Ce fichier contient les renseignements envoyés aux étapes d'analyse des données subséquentes.



REMARQUE

Évitez de consulter la feuille d'échantillons pendant l'analyse, à moins que le système vous demande de le faire à l'étape de la validation.

Remise en file d'attente pour analyse



REMARQUE

Essayez une remise en file d'attente UNIQUEMENT après avoir reçu une notification par courriel du serveur concernant une erreur de feuille d'échantillons.

Vous pouvez remettre votre séquençage en file d'attente pour analyse si votre feuille d'échantillons contient des erreurs qui n'affectent ni la validation ni l'analyse. Le processus de modification de la feuille d'échantillons qui figure plus bas ne doit être effectué qu'en cas de réception d'un courriel du serveur indiquant une erreur dans la feuille d'échantillons. Par exemple :

- ▶ lignes ou colonnes vides;
- ▶ ligne d'en-tête manquante;
- ▶ flux de travail non pris en charge dans la ligne d'en-tête Description;
- ▶ code à barres de la Flow Cell incorrect.

Dossier de séquençage sur le serveur

Cette procédure décrit comment remettre un séquençage en file d'attente pour analyse lorsque votre dossier de séquençage se trouve sur le serveur.

- 1 Sur un ordinateur du même réseau que celui du serveur d'analyse, ouvrez Windows Explorer et rendez-vous au répertoire /runs.
- 2 Trouvez le dossier de séquençage que vous souhaitez remettre en file d'attente pour analyse.
- 3 Faites un clic droit sur le dossier de séquençage, puis cliquez sur **Copy** (Copier).
- 4 Faites un clic droit n'importe où dans le répertoire /runs, puis cliquez sur **Paste** (Coller). Une copie du dossier de séquençage est créée. Le suffixe « - Copy » est ajouté au nom du dossier. Par exemple, Nom_Dossier_Séquençage - Copy. Le système envoie une notification par courriel concernant les caractères non autorisés contenus dans le nom du dossier, que vous pouvez ignorer.



REMARQUE

Ne passez pas à l'étape suivante avant la fin de la copie du dossier de séquençage, ce qui prend environ 30 minutes.

- 5 Ouvrez le dossier de séquençage copié et supprimez le fichier suivant :
sample_sheet_processed_AAAA_MM_JJ_hh-mm-ss.txt
- 6 Dans le dossier de séquençage copié, modifiez le fichier SampleSheet.csv afin de corriger les erreurs. Supprimez toutes les rangées ou colonnes vides.
- 7 Enregistrez la feuille d'échantillons dans le dossier de séquençage copié sous SampleSheet.csv pour écraser le fichier existant. Assurez-vous que le fichier reste au format CSV (comma separated value). Certains progiciels de feuille de calcul peuvent modifier le format de fichier sans avertissements et écraser les virgules avec d'autres symboles. Ne modifiez pas la feuille d'échantillons une fois que vous l'avez enregistrée dans le dossier de séquençage copié.
- 8 Pour commencer l'analyse, renommez le dossier de séquençage copié de la façon suivante :
 - a Faites un clic droit sur le dossier de séquençage, puis cliquez sur **Rename** (Renommer).

- b Remplacez les espaces et le tiret par un caractère de soulignement (_). Par exemple, Nom_Dossier_Séquençage_Copy.



REMARQUE

N'ajoutez aucun caractère en préfixe du nom de dossier. Par exemple, Copie_Nom_Dossier_Séquençage. Ajoutez des caractères uniquement en suffixe du nom de dossier de séquençage, en utilisant uniquement les caractères alphanumériques suivants : les lettres de a à z et A à Z, les chiffres de 0 à 9 ainsi que le caractère de soulignement (« _ »). Les espaces, les tirets et les autres caractères ne sont pas autorisés.

Le système analyse automatiquement Nom_Dossier_Séquençage_Copy.

- 9 Si le fichier sample_sheet_processed_AAAA_MM_JJ_hh-mm-ss.txt n'est pas créé dans les 30 minutes, consultez la section *Dépannage de la remise en file d'attente pour analyse*, page 39.

Copier un séquençage terminé sur le serveur et le mettre en file d'attente pour analyse

Cette procédure décrit comment copier manuellement un dossier de séquençage sur le serveur et le mettre en file d'attente pour analyse.



REMARQUE

Suivez la procédure dans l'ordre exact donné ci-dessous.

Les étapes 1 à 5 doivent être effectuées avant la copie du dossier de séquençage sur le serveur d'analyse.

- 1 Ouvrez le dossier de séquençage et déplacez le fichier **RTAcomplete.txt** dans un emplacement en dehors du dossier de séquençage.
- 2 Supprimez le fichier suivant du dossier de séquençage :
sample_sheet_processed_AAAA_MM_JJ_hh-mm-ss.txt
- 3 Au besoin, modifiez votre feuille d'échantillons d'origine afin de corriger les erreurs ou d'effectuer d'autres changements. Supprimez toutes les rangées ou colonnes vides.
- 4 Enregistrez la feuille d'échantillons dans le dossier de séquençage sous SampleSheet.csv pour écraser le fichier existant.
Ne modifiez pas la feuille d'échantillons une fois que vous l'avez enregistrée dans le dossier de séquençage.
- 5 Assurez-vous que le dossier de séquençage ne contient toujours pas le fichier RTAComplete.txt.
- 6 Faites un clic droit sur le dossier de séquençage, puis cliquez sur **Copy** (Copier).
- 7 Sur un ordinateur du même réseau que celui du serveur d'analyse, ouvrez Windows Explorer et rendez-vous au répertoire /runs.
- 8 Faites un clic droit n'importe où dans le répertoire /runs, puis cliquez sur **Paste** (Coller).



REMARQUE

Ne passez pas à l'étape suivante avant la fin de la copie du dossier de séquençage, qui prend environ 30 minutes ou plus suivant la vitesse du réseau.



N'ajoutez aucun caractère en préfixe du nom de dossier. Par exemple, Copie_Nom_Dossier_Séquençage. Ajoutez des caractères uniquement en suffixe du nom de dossier de séquençage, en utilisant uniquement les caractères alphanumériques suivants : les lettres de a à z et A à Z, les chiffres de 0 à 9 ainsi que le caractère de soulignement (« _ »). Les espaces, les tirets et les autres caractères ne sont pas autorisés.

- 9 Pour commencer l'analyse, copiez le fichier **RTAComplete.txt** de l'emplacement vers lequel vous l'avez déplacé et collez-le dans le dossier de séquençage.
Le système analyse automatiquement à nouveau le dossier de séquençage.
- 10 Si le fichier `sample_sheet_processed_AAAA_MM_JJ_hh-mm-ss.txt` n'est pas créé dans les 30 minutes, consultez la section *Dépannage de la remise en file d'attente pour analyse*, page 39.

Dépannage de la remise en file d'attente pour analyse

- 1 Vérifiez si vous avez reçu un courriel de notification d'erreur.
- 2 Examinez le courriel pour obtenir des renseignements sur les erreurs présentes dans la feuille d'échantillons.
Examinez le message électronique en entier, car l'erreur correspondant au problème peut être répertoriée à la toute fin du message.
- 3 Si vous pouvez corriger les erreurs, recommencez la procédure de remise en file d'attente pour analyse qui s'applique à votre dossier de séquençage.
- 4 Communiquez avec l'assistance technique d'Illumina dans les cas suivants :
 - ▶ vous ne recevez pas de courriel de notification d'erreur;
 - ▶ l'analyse ne s'effectue pas;
 - ▶ la feuille d'échantillons ne contient pas d'erreurs.Lors de l'appel ou dans la ligne objet du courriel, indiquez « NIPT16 ».

Archivage et sauvegarde des données

Illumina recommande d'archiver les répertoires `/data01/runs` et `/data01/analysis_output` conformément à la politique d'archivage du site du service informatique local. Le logiciel surveille l'espace disque restant dans le répertoire `/data01/runs` et avise les utilisateurs par courriel lorsque la capacité de stockage restante passe au-dessous de 200 Go.

Le serveur d'analyse DPNI VeriSeq ne doit pas être utilisé pour le stockage de données. Les données doivent être transférées hors du serveur d'analyse et archivées régulièrement.

Une analyse de séquençage type compatible avec le flux de travail d'analyse cfDNA nécessite environ 11 à 13 Go pour l'option SNG n° 1 et environ 11 à 16 Go pour l'option SNG n° 2. La taille réelle du dossier d'analyse dépend de la densité finale des amplifiats. Le serveur fournit plus de 4 To d'espace de stockage, ce qui est suffisant pour plus de 200 analyses de séquençage.

Procédez uniquement à l'archivage des données lorsque le système est inactif et qu'aucune analyse ou analyse de séquençage n'est en cours.

Caractéristiques des rapports et interprétation des indicateurs

Le dossier de sortie d'analyse de séquençage cfDNA contient deux fichiers texte au format CSV. Le premier fichier, <Nom_dossier_analyse>_NIPT_Results.csv, regroupe l'ensemble des données sur la Flow Cell et les échantillons ainsi que les indicateurs de CQ. Ce fichier indique également la version du logiciel utilisé pour générer les résultats. Le second fichier, <Nom_dossier_analyse>_Misindexed_Results.csv, répertorie dans un tableau le nombre de lectures obtenues sur la Flow Cell pour les index reconnus au démultiplexage, mais ne figurant pas dans la feuille d'échantillons. Le dossier de sortie des résultats contient un troisième fichier texte, REPORT.Complete.txt. Il indique l'information de configuration de l'analyse, le moment de l'analyse, l'emplacement des fichiers de sortie et les valeurs de total de contrôle MD5 des fichiers NIPT_Results.csv et MISINDEXED_Results.csv. Pour connaître la liste complète des indicateurs de CQ et autres valeurs, consultez la section *Indicateurs de CQ et limites supérieures et inférieures (option SNG n° 1)*, page 45 et *Indicateurs de CQ et limites supérieures et inférieures (option SNG n° 2)*, page 53.



ATTENTION

Pour éviter toute modification accidentelle des données de sortie d'analyse d'origine, copiez les fichiers <Nom_dossier_analyse>_NIPT_Results.csv et <Nom_dossier_analyse>_Misindexed_Results.csv sur un autre ordinateur avant de les ouvrir et d'y apporter des changements.



REMARQUE

Illumina vous conseille d'intégrer les fichiers de sortie issus des analyses cfDNA/du logiciel d'analyse DPNI VeriSeq à un système de gestion de l'information de laboratoire, dans lequel vous pourrez générer des rapports sur les patients à partir des données fournies. Le personnel du laboratoire clinique pourra ensuite examiner les rapports.

Tableau 13 Valeurs rapportées des annotations de la feuille d'échantillons (<Nom_dossier_analyse>_NIPT_Results.csv)

Nom de la colonne	Champ d'origine dans la feuille d'échantillons
SampleID	Sample_ID
SampleType	SampleType
Flowcell ID	Experiment Name
IndexID	I7_Index_ID
Well	Sample_Well
Library_nM	Library_nM

Tableau 14 Indicateurs de notation rapportés par échantillon (<Nom_dossier_analyse>_NIPT_Results.csv)

Nom de la colonne	Interprétation
Ratio_13	Coefficient du chromosome 13
Ratio_18	Coefficient du chromosome 18
Ratio_21	Coefficient du chromosome 21
Ratio_X	Coefficient du chromosome X
Ratio_Y	Coefficient du chromosome Y
NCV_13	NCV (score Z) du chromosome 13
NCV_18	NCV (score Z) du chromosome 18
NCV_21	NCV (score Z) du chromosome 21

Nom de la colonne	Interprétation
NCV_X	NCV (score Z) du chromosome X
NCV_Y	NCV (score Z) du chromosome Y
FF_Formatted	Composant fœtal estimé de cfDNA récupéré par le test. Présenté comme un pourcentage arrondi et discret, qui fournit des renseignements supplémentaires pour chaque échantillon.

Tableau 15 Indicateurs de CQ rapportés par échantillon (<Nom_dossier_analyse>_NIPT_Results.csv)

Nom de la colonne	Interprétation	Raisons de l'échec
QCFlag	Indicateur global de l'état du CQ : réussite (0), avertissement (1), échec (2)	Consulter le Tableau 20
QCWarning	Concaténation de tous les motifs d'avertissement relatifs à l'échantillon (séparés par point-virgule)	Consulter le Tableau 20
QCFailure	Concaténation de tous les motifs d'échec relatifs à l'échantillon (séparés par point-virgule)	Consulter le Tableau 20
Clusters	Nombre total d'amplifiats dans l'ensemble des lignes (par Flow Cell)	Densité des amplifiats faible/élevée
TotalReads2Clusters	Nombre de lectures récupérées rapporté au nombre d'amplifiats dans l'ensemble des lignes (par Flow Cell)	Fichiers BCL endommagés
MaxMisindexedReads2Clusters	Lectures mal indexées dans l'ensemble des lignes rapportées aux amplifiats d'une ligne virtuelle (par Flow Cell)	Lectures associées à des index non attendus dans l'ensemble des lignes
IndexedReads	Nombre total de lectures indexées par échantillon dans l'ensemble des lignes	Incident technique lié à la lecture d'index; mauvais échantillons dans les lignes de séquençage
TotalIndexedReads2Clusters	Lectures indexées rapportées aux amplifiats (par Flow Cell)	Incident technique lié à la lecture d'index
Tags	Nombre de lectures mises en correspondance avec un endroit unique du génome	Taux d'erreur élevé lors du séquençage ou de la PCR; biais introduit au cours de l'élaboration de la librairie
NonExcludedSites	Nombre d'étiquettes, sans tenir compte des régions génomiques filtrées et des lectures en double dont la mise en correspondance pointe vers le même endroit	Faible nombre d'amplifiats, erreurs de séquençage, faible complexité des librairies, récupération généralement possible par reséquençage
NonExcludedSites2Tags	Valeur NonExcludedSites rapportée aux étiquettes	Complexité de la librairie
Tags2IndexedReads	Étiquettes rapportées aux lectures indexées	Nombre de lectures non alignées sur le génome plus élevé que prévu
PerfectMatchTags2Tags	Étiquettes parfaitement mises en correspondance rapportées à l'ensemble des étiquettes	Taux d'erreur élevé lors du séquençage ou de la PCR
GCBias	Biais GC résiduel dans la distribution des lectures après correction	Échec préanalytique lors du prélèvement/de la manipulation de l'échantillon, artéfacts de séquençage

Nom de la colonne	Interprétation	Raisons de l'échec
GCR2	R2 de la correction GC (variance en pourcentage qu'explique la correction GC)	
NCD_13	Score de probabilité des dénominateurs du chromosome 13	Profil inattendu des dénominateurs du chromosome 13
NCD_18	Score de probabilité des dénominateurs du chromosome 18	Profil inattendu des dénominateurs du chromosome 18
NCD_21	Score de probabilité des dénominateurs du chromosome 21	Profil inattendu des dénominateurs du chromosome 21
NCD_X	Score de probabilité des dénominateurs du chromosome X	Profil inattendu des dénominateurs du chromosome X
NCD_Y	Score de probabilité du profil chromosomique complet	Profil inattendu de tous les chromosomes

Tableau 16 Indicateurs de notation rapportés par échantillon (<Nom_dossier_analyse>_NIPT_Results.csv)

Nom de la colonne	Interprétation
Chr1, ..., Chr22, ChrX, ChrY	Nombre total des valeurs NonExcludedSites utilisées pour l'analyse d'un chromosome correspondant (nombre entier)
Chr1_Coverage, ..., Chr22_Coverage, ChrX_Coverage, ChrY_Coverage	Couverture normalisée de chaque chromosome utilisé lors de l'évaluation des coefficients chromosomiques

Tableau 17 Indicateurs de notation rapportés par lot (<Nom_dossier_analyse>_NIPT_Results.csv)

Nom de la colonne	Interprétation
Median_13, Median_18, Median_21, Median_X, Median_Y	Médiane de lots des coefficients chromosomiques pour les échantillons diploïdes putatifs Remarque : chrX et chrY sont basés uniquement sur des échantillons putatifs prélevés sur des femmes
Stdev_13, Stdev_18, Stdev_21, Stdev_X, Stdev_Y	Écart-type de lots des coefficients chromosomiques pour les échantillons diploïdes putatifs Remarque : chrX et chrY sont basés uniquement sur des échantillons putatifs prélevés sur des femmes

Tableau 18 Champs supplémentaires rapportés par échantillon à partir de la feuille d'échantillons (<Nom_dossier_analyse>_NIPT_Results.csv)

Nom de la colonne	Champ d'origine dans la feuille d'échantillons
SampleProject	Sample_Project
Description	Description
Index	index

Tableau 19 Lectures mal indexées rapportées par Flow Cell (<Nom_dossier_analyse>_Misindexed_Results.csv)

Nom de la colonne	Interprétation
Flow Cell	Identifiant de la Flow Cell
Lane	Identifiant de la ligne
IndexID	Identifiant de l'index. Remarque : l'identifiant d'index A000 représente n'importe quelle séquence, à l'exception de celles des 24 index figurant dans le Tableau 12
IndexedReads	Nombre de lectures indexées dans la Flow Cell/la ligne/l'index

Vérification du fonctionnement de l'ATMS

Le démarrage du système lance automatiquement le processus de l'ATMS en arrière-plan pour le suivi des séquençages et des analyses.

Afin de vous assurer que l'ATMS est en cours de fonctionnement :

- 1 Exécutez la commande pour vous connecter au serveur analytique en tant que sbsuser (en supposant que \$HOSTNAME est le nom du serveur configuré lors du processus d'installation initial) :
`ssh -l sbsuser $HOSTNAME`
- 2 Exécutez la commande pour vérifier le processus ATMS :
`ps aux | grep jsvc`

Si la sortie contient un fichier jsvc.exec, le processus ATMS fonctionne en arrière-plan. Il existe trois lignes de sortie : 1) une indique l'instance exécutée par l'utilisateur racine, 2) une autre indique l'instance exécutée par l'utilisateur ATMS et 3) une dernière indique l'instance exécutée par l'utilisateur ayant lancé la commande.

Si le processus ATMS ne fonctionne pas, l'ATMS ne surveille et ne traite pas les nouveaux séquençages tant que le système n'est pas redémarré. Un arrêt ou une réinitialisation de la machine lance un redémarrage automatique du service. Un ingénieur d'entretien Illumina peut redémarrer le service à l'aide des privilèges racines présents sur la machine.



REMARQUE

En cas de coupure inattendue, le système tente de redémarrer l'ATMS de façon autonome.

Indicateurs de CQ

Indicateurs de CQ et limites supérieures et inférieures (option SNG n° 1)	45
Indicateurs de CQ et limites supérieures et inférieures (option SNG n° 2)	53

Indicateurs de CQ et limites supérieures et inférieures (option SNG n° 1)

Tableau 20 Option d'instrument SNG n° 1 : emplacement pour deux Flow Cell à deux lignes. Le tableau répertorie les indicateurs de CQ, les limites supérieures et inférieures, la nature de l'alerte (échec ou avertissement), le pourcentage attendu d'alertes et les causes possibles.

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
CQ – comptage	Clusters	250 000 000	450 000 000	Avertissement		< 5 % des Flow Cell	Densité des amplifiats faible (le plus probable) ou élevée (très improbable).
CQ – comptage	Reads2Clusters	0,95	1	Avertissement		< 1% des Flow Cell	Le logiciel n'a pas pu récupérer plus de 5 % des lectures qu'a enregistrées l'instrument.
CQ – comptage	MaxMisindexedReads2Clusters	0	0,0002	Avertissement		< 0,1 %	
CQ – comptage	TotalIndexedReads2Clusters	0,7	1	Avertissement		< 0,1 %	Échec de la séquence d'indexage.
CQ – comptage	NonExcludedSites	8 000 000	100 000 000	Échec		<=2 %	Mauvaise quantification ou quantification erronée des librairies; faible nombre d'amplifiats; récupération éventuelle par séquençage du plasma.
CQ – comptage	NonExcludedSites2Tags	0,8	1	Avertissement		< 0,1 %	Faible diversité des librairies; récupération éventuelle par séquençage du plasma.
CQ – comptage	Tags2Reads	0,75	0,9	Avertissement		< 0,1 %	Taux d'erreur élevé lors du séquençage ou de la PCR; récupération éventuelle par reséquençage de la même librairie.
CQ – comptage	PerfectMatchTags2Tags	0,7	1	Avertissement		1 %	Taux d'erreur élevé lors du séquençage ou de la PCR; récupération éventuelle par reséquençage de la même librairie.

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
Médiane des coefficients chromosomiques	Median_13	0,1986891	0,2012977	Avertissement		< 0,1 %	Coefficient chromosomique médian trop élevé ou trop faible par rapport à la valeur attendue sur l'ensemble de la Flow Cell; fort effet de lot non supprimé associé à un lot d'extraction ou de librairies. Tenter un nouveau traitement des échantillons à partir du plasma pour résoudre le problème.
Médiane des coefficients chromosomiques	Median_18	0,2483363	0,2517526	Avertissement		< 0,1 %	Coefficient chromosomique médian trop élevé ou trop faible par rapport à la valeur attendue sur l'ensemble de la Flow Cell; fort effet de lot non supprimé associé à un lot d'extraction ou de librairies. Tenter un nouveau traitement des échantillons à partir du plasma pour résoudre le problème.
Médiane des coefficients chromosomiques	Median_21	0,2476093	0,2524342	Avertissement		< 0,1 %	Coefficient chromosomique médian trop élevé ou trop faible par rapport à la valeur attendue sur l'ensemble de la Flow Cell; fort effet de lot non supprimé associé à un lot d'extraction ou de librairies. Tenter un nouveau traitement des échantillons à partir du plasma pour résoudre le problème.

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
Médiane des coefficients chromosomiques	Median_X	0,3260502	0,3396256	Avertissement		< 0,1 %	Coefficient chromosomique médian trop élevé ou trop faible par rapport à la valeur attendue sur l'ensemble de la Flow Cell; fort effet de lot non supprimé associé à un lot d'extraction ou de librairies. Tenter un nouveau traitement des échantillons à partir du plasma pour résoudre le problème.
Médiane des coefficients chromosomiques	Median_Y	0	1,47E-08	Avertissement		< 0,1 %	Coefficient chromosomique médian trop élevé ou trop faible par rapport à la valeur attendue sur l'ensemble de la Flow Cell; fort effet de lot non supprimé associé à un lot d'extraction ou de librairies. Tenter un nouveau traitement des échantillons à partir du plasma pour résoudre le problème.
Écart-type des coefficients chromosomiques	Stdev_13	0	6,73E-04	Avertissement		< 0,1 %	Écart-type des coefficients chromosomiques trop élevé par rapport à la valeur attendue, ce qui indique des sources supplémentaires de variance non observée jusqu'alors; surveiller les tendances dans le temps.

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
Écart-type des coefficients chromosomiques	Stdev_18	0	1,37E-03	Avertissement		< 0,1 %	Écart-type des coefficients chromosomiques trop élevé par rapport à la valeur attendue, ce qui indique des sources supplémentaires de variance non observée jusqu'alors; surveiller les tendances dans le temps.
Écart-type des coefficients chromosomiques	Stdev_21	0	1,33E-03	Avertissement		< 0,1 %	Écart-type des coefficients chromosomiques trop élevé par rapport à la valeur attendue, ce qui indique des sources supplémentaires de variance non observée jusqu'alors; surveiller les tendances dans le temps.
Écart-type des coefficients chromosomiques	Stdev_X	0	3,27E-03	Avertissement		< 0,1 %	Écart-type des coefficients chromosomiques trop élevé par rapport à la valeur attendue, ce qui indique des sources supplémentaires de variance non observée jusqu'alors; surveiller les tendances dans le temps.
Écart-type des coefficients chromosomiques	Stdev_Y	0	4,94E-09	Avertissement		< 0,1 %	Écart-type des coefficients chromosomiques trop élevé par rapport à la valeur attendue, ce qui indique des sources supplémentaires de variance non observée jusqu'alors; surveiller les tendances dans le temps.

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
Score de probabilité des dénominateurs chromosomiques	NCD_13	-50	1 000	Échec		< 0,1 %	Représentation chromosomique inattendue de dénominateurs chromosomiques (chromosomes de référence); résolution peu probable par nouveau séquençage de l'échantillon; indiquer que les données se situent hors de la plage attendue.
Score de probabilité des dénominateurs chromosomiques	NCD_18	-50	1 000	Échec		< 0,1 %	Représentation chromosomique inattendue de dénominateurs chromosomiques (chromosomes de référence); résolution peu probable par nouveau séquençage de l'échantillon; indiquer que les données se situent hors de la plage attendue.
Score de probabilité des dénominateurs chromosomiques	NCD_21	-50	1 000	Échec		< 0,1 %	Représentation chromosomique inattendue de dénominateurs chromosomiques (chromosomes de référence); résolution peu probable par nouveau séquençage de l'échantillon; indiquer que les données se situent hors de la plage attendue.

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
Score de probabilité des dénominateurs chromosomiques	NCD_X	-50	1 000	Échec		< 0,1 %	Représentation chromosomique inattendue de dénominateurs chromosomiques (chromosomes de référence); résolution peu probable par nouveau séquençage de l'échantillon; indiquer que les données se situent hors de la plage attendue.
Score de probabilité des dénominateurs chromosomiques	NCD_Y	-100	1 000	Échec		< 0,5%	Représentation chromosomique inattendue à un endroit ou un autre du génome; résolution peu probable par nouveau séquençage de l'échantillon; indiquer que les données se situent hors de la plage attendue.
NCV des échantillons de contrôle	NCV_13	-5	4	Avertissement	Control (Contrôle)		Limites NCV pour les contrôles (ni monosomie, ni trisomie).
NCV des échantillons de contrôle	NCV_18	-5	4	Avertissement	Control (Contrôle)		Limites NCV pour les contrôles (ni monosomie, ni trisomie).
NCV des échantillons de contrôle	NCV_21	-5	4	Avertissement	Control (Contrôle)		Limites NCV pour les contrôles (ni monosomie, ni trisomie).
NCV des échantillons de test	NCV_13	-5	200	Avertissement	Test		Limites NCV des échantillons de test (pas de monosomie, fraction fœtale dans la plage attendue, qui prévoit une marge).

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
NCV des échantillons de test	NCV_18	-5	200	Avertissement	Test		Limites NCV des échantillons de test (pas de monosomie, fraction fœtale dans la plage attendue, qui prévoit une marge).
NCV des échantillons de test	NCV_21	-5	200	Avertissement	Test		Limites NCV des échantillons de test (pas de monosomie, fraction fœtale dans la plage attendue, qui prévoit une marge).
NCV des échantillons de test	NCV_X	-100	200	Avertissement	Test		Limites NCV des échantillons de test (pas de monosomie, fraction fœtale dans la plage attendue, qui prévoit une marge).
NCV des échantillons de test	NCV_Y	-6	2 000	Avertissement	Test		Limites NCV des échantillons de test (pas de monosomie, fraction fœtale dans la plage attendue, qui prévoit une marge).
Biais GC des échantillons de contrôle	GCBias	-0,5	0,5	Avertissement	Control (Contrôle)		Biais GC résiduel après correction GC (devrait se stabiliser autour de 0, donnée indicative uniquement).
Biais GC des échantillons de test	GCBias	-0,5	0,5	Avertissement	Test		Biais GC résiduel après correction GC (devrait se stabiliser autour de 0, donnée indicative uniquement).
R2 GC des échantillons de contrôle	GC R2	0	0,9999	Avertissement	Control (Contrôle)		R2 associé à la correction GC (donnée indicative uniquement).

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
R2 GC des échantillons de test	GC R2	0	0,9999	Avertissement	Test		R2 associé à la correction GC (donnée indicative uniquement).

Indicateurs de CQ et limites supérieures et inférieures (option SNG n° 2)

Tableau 21 Option d'instrument de SNG n° 2 : emplacement pour une Flow Cell à quatre lignes. Le tableau répertorie les indicateurs de CQ, les limites supérieures et inférieures, la nature de l'alerte (échec ou avertissement), le pourcentage attendu d'alertes et les causes possibles.

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
CQ – comptage	Clusters	300 000 000	800 000 000	Avertissement		< 5 % des Flow Cell	Densité des amplifiats faible (le plus probable) ou élevée (très improbable).
CQ – comptage	MaxMisindexedReads2Clusters	0	0,0002	Avertissement		< 0,1 %	
CQ – comptage	TotalIndexedReads2Clusters	0,7	1	Avertissement		< 0,1 %	Échec de la séquence d'indexage.
CQ – comptage	NonExcludedSites	8 000 000	100 000 000	Échec		<=2 %	Mauvaise quantification ou quantification erronée des librairies; faible nombre d'amplifiats; récupération éventuelle par séquençage du plasma.
CQ – comptage	NonExcludedSites2Tags	0,8	1	Avertissement		< 0,1 %	Faible diversité des librairies; récupération éventuelle par séquençage du plasma.
CQ – comptage	Tags2Reads	0,75	0,9	Avertissement		< 0,1 %	Taux d'erreur élevé lors du séquençage ou de la PCR; récupération éventuelle par reséquençage de la même librairie.
CQ – comptage	PerfectMatchTags2Tags	0,7	1	Avertissement		1 %	Taux d'erreur élevé lors du séquençage ou de la PCR; récupération éventuelle par reséquençage de la même librairie.

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
Médiane des coefficients chromosomiques	Median_13	0,1991238	0,2008629	Avertissement		<0,1 %	Coefficient chromosomique médian trop élevé ou trop faible par rapport à la valeur attendue sur l'ensemble de la Flow Cell; fort effet de lot non supprimé associé à un lot d'extraction ou de librairies. Tenter un nouveau traitement des échantillons à partir du plasma pour résoudre le problème.
Médiane des coefficients chromosomiques	Median_18	0,2489057	0,2511832	Avertissement		<0,1 %	Coefficient chromosomique médian trop élevé ou trop faible par rapport à la valeur attendue sur l'ensemble de la Flow Cell; fort effet de lot non supprimé associé à un lot d'extraction ou de librairies. Tenter un nouveau traitement des échantillons à partir du plasma pour résoudre le problème.

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
Médiane des coefficients chromosomiques	Median_21	0,2484135	0,25163	Avertissement		<0,1 %	Coefficient chromosomique médian trop élevé ou trop faible par rapport à la valeur attendue sur l'ensemble de la Flow Cell; fort effet de lot non supprimé associé à un lot d'extraction ou de librairies. Tenter un nouveau traitement des échantillons à partir du plasma pour résoudre le problème.
Médiane des coefficients chromosomiques	Median_X	0,329444	0,3362317	Avertissement		<0,1 %	Coefficient chromosomique médian trop élevé ou trop faible par rapport à la valeur attendue sur l'ensemble de la Flow Cell; fort effet de lot non supprimé associé à un lot d'extraction ou de librairies. Tenter un nouveau traitement des échantillons à partir du plasma pour résoudre le problème.

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
Médiane des coefficients chromosomiques	Median_Y	0	1,236665E-08	Avertissement		<0,1 %	Coefficient chromosomique médian trop élevé ou trop faible par rapport à la valeur attendue sur l'ensemble de la Flow Cell; fort effet de lot non supprimé associé à un lot d'extraction ou de librairies. Tenter un nouveau traitement des échantillons à partir du plasma pour résoudre le problème.
Écart-type des coefficients chromosomiques	Stdev_13	0	0,0008695377	Avertissement		<0,1 %	Écart-type des coefficients chromosomiques trop élevé par rapport à la valeur attendue, ce qui indique des sources supplémentaires de variance non observée jusqu'alors; surveiller les tendances dans le temps.
Écart-type des coefficients chromosomiques	Stdev_18	0	0,00113876	Avertissement		<0,1 %	Écart-type des coefficients chromosomiques trop élevé par rapport à la valeur attendue, ce qui indique des sources supplémentaires de variance non observée jusqu'alors; surveiller les tendances dans le temps.

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
Écart-type des coefficients chromosomiques	Stdev_21	0	0,001608292	Avertissement		<0,1 %	Écart-type des coefficients chromosomiques trop élevé par rapport à la valeur attendue, ce qui indique des sources supplémentaires de variance non observée jusqu'alors; surveiller les tendances dans le temps.
Écart-type des coefficients chromosomiques	Stdev_X	0	0,005090769	Avertissement		<0,1 %	Écart-type des coefficients chromosomiques trop élevé par rapport à la valeur attendue, ce qui indique des sources supplémentaires de variance non observée jusqu'alors; surveiller les tendances dans le temps.
Écart-type des coefficients chromosomiques	Stdev_Y	0	3,454837E-09	Avertissement		<0,1 %	Écart-type des coefficients chromosomiques trop élevé par rapport à la valeur attendue, ce qui indique des sources supplémentaires de variance non observée jusqu'alors; surveiller les tendances dans le temps.

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
Score de probabilité des dénominateurs chromosomiques	NCD_13	-50	1 000	Échec		< 0,1 %	Représentation chromosomique inattendue de dénominateurs chromosomiques (chromosomes de référence); résolution peu probable par nouveau séquençage de l'échantillon; indiquer que les données se situent hors de la plage attendue.
Score de probabilité des dénominateurs chromosomiques	NCD_18	-50	1 000	Échec		< 0,1 %	Représentation chromosomique inattendue de dénominateurs chromosomiques (chromosomes de référence); résolution peu probable par nouveau séquençage de l'échantillon; indiquer que les données se situent hors de la plage attendue.
Score de probabilité des dénominateurs chromosomiques	NCD_21	-50	1 000	Échec		< 0,1 %	Représentation chromosomique inattendue de dénominateurs chromosomiques (chromosomes de référence); résolution peu probable par nouveau séquençage de l'échantillon; indiquer que les données se situent hors de la plage attendue.

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
Score de probabilité des dénominateurs chromosomiques	NCD_X	-50	1 000	Échec		< 0,1 %	Représentation chromosomique inattendue de dénominateurs chromosomiques (chromosomes de référence); résolution peu probable par nouveau séquençage de l'échantillon; indiquer que les données se situent hors de la plage attendue.
Score de probabilité des dénominateurs chromosomiques	NCD_Y	-100	1 000	Échec		< 0,5%	Représentation chromosomique inattendue à un endroit ou un autre du génome; résolution peu probable par nouveau séquençage de l'échantillon; indiquer que les données se situent hors de la plage attendue.
NCV des échantillons de contrôle	NCV_13	-5	4	Avertissement	Control (Contrôle)		Limites NCV pour les contrôles (ni monosomie, ni trisomie).
NCV des échantillons de contrôle	NCV_18	-5	4	Avertissement	Control (Contrôle)		Limites NCV pour les contrôles (ni monosomie, ni trisomie).
NCV des échantillons de contrôle	NCV_21	-5	4	Avertissement	Control (Contrôle)		Limites NCV pour les contrôles (ni monosomie, ni trisomie).

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
NCV des échantillons de test	NCV_13	-5	200	Avertissement	Test		Limites NCV des échantillons de test (pas de monosomie, fraction fœtale dans la plage attendue, qui prévoit une marge).
NCV des échantillons de test	NCV_18	-5	200	Avertissement	Test		Limites NCV des échantillons de test (pas de monosomie, fraction fœtale dans la plage attendue, qui prévoit une marge).
NCV des échantillons de test	NCV_21	-5	200	Avertissement	Test		Limites NCV des échantillons de test (pas de monosomie, fraction fœtale dans la plage attendue, qui prévoit une marge).
NCV des échantillons de test	NCV_X	-100	200	Avertissement	Test		Limites NCV des échantillons de test (pas de monosomie, fraction fœtale dans la plage attendue, qui prévoit une marge).
NCV des échantillons de test	NCV_Y	-6	2 000	Avertissement	Test		Limites NCV des échantillons de test (pas de monosomie, fraction fœtale dans la plage attendue, qui prévoit une marge).
Biais GC des échantillons de contrôle	GCBias	-0,5	0,5	Avertissement	Control (Contrôle)		Biais GC résiduel après correction GC (devrait se stabiliser autour de 0, donnée indicative uniquement).

Catégorie	Indicateurs	Limite inférieure	Limite supérieure	Échec/ Avertissement	Échantillon Type	% attendu d'échecs/ avertissements	Causes possibles
Biais GC des échantillons de test	GCBias	-0,5	0,5	Avertissement	Test		Biais GC résiduel après correction GC (devrait se stabiliser autour de 0, donnée indicative uniquement).
R2 GC des échantillons de contrôle	GC R2	0	0,9999	Avertissement	Control (Contrôle)		R2 associé à la correction GC (donnée indicative uniquement).
R2 GC des échantillons de test	GC R2	0	0,9999	Avertissement	Test		R2 associé à la correction GC (donnée indicative uniquement).

Étude de comparaison des méthodes

Données sur la comparaison des méthodes 62

Données sur la comparaison des méthodes

Pour cette étude, des bibliothèques préalablement préparées de 105 échantillons de plasma ont été reséquencées et traitées avec le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons). Ces échantillons ont été préalablement analysés avec Verifi^{MD} et multiplexés en sept bibliothèques, chacune comportant 14 échantillons de plasma maternel, un échantillon maternel de contrôle positif regroupé et un échantillon de contrôle sans modèle (NTC). Le [Tableau 22](#) montre la composition des échantillons de chaque bibliothèque.

Les 98 échantillons individuels non contrôlés ont réussi le contrôle de qualité (CQ) et ont été analysés pour vérifier leur correspondance avec les résultats du test Verifi. Chaque échantillon a été classé selon les valeurs chromosomiques normalisées (NCV) pour la trisomie 13/18/21 (avec un seuil de NCV égal à 4), pour la présence du chromosome Y (avec un seuil de NCV égal à 10) et pour la monosomie X (avec un seuil de NCV_X égal à -4 et l'absence du chromosome Y). Le pourcentage global de concordance entre les résultats du logiciel DPNI VeriSeq et du test Verifi est présenté dans le [Tableau 23](#).

Deux écarts ont été observés. Le premier écart concerne le chromosome 13 qui a été classé comme une trisomie 13 par le test Verifi et classé comme étant négatif par le logiciel d'analyse DPNI VeriSeq (16 échantillons). Des résultats cliniques concernant cet échantillon se sont par la suite avérés négatifs pour la trisomie 13. Le deuxième écart observé concerne la trisomie 18. Aucun résultat clinique n'était disponible pour cet échantillon.

Tableau 22 Distribution des échantillons dans les bibliothèques

Librairie	Contrôle	MX	T13	T18	T21	Non atteint
01	1				2	12
02	1			1	1	12
03	1	1			1	12
04	1		1	1	1	11
05	1	1			1	12
06	1		1		1	12
07	1				1	13
Total	7	2	2	2	8	84

Tableau 23 Pourcentage global de concordance entre le logiciel DPNI VeriSeq et le test Verifi

	Concordance globale
Classe 13	98,98 %
Classe 18	98,98 %
Classe 21	100 %
Présence/absence du chromosome Y	100 %
Classe monosomie X	100 %

Assistance technique

Pour obtenir une 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	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	
Danemark	+45 80820183	+45 89871156
Espagne	+34 911899417	+34 800300143
Finlande	+358 800918363	+358 974790110
France	+33 805102193	+33 170770446
Hong Kong	800960230	
Irlande	+353 1800936608	+353 016950506
Italie	+39 800985513	+39 236003759
Japon	0800 111 5011	
Norvège	+47 800 16836	+47 21939693
Nouvelle-Zélande	0 800 451 650	
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
Taïwan	00806651752	
Autres pays	+44 1799 534000	

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

Documentation produit : disponible en téléchargement au format PDF sur le site Web d'Illumina. Rendez-vous sur support.illumina.com, sélectionnez un produit, puis cliquez sur **Documentation & Literature** (Documentation).



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
The Netherlands



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

DESTINÉ AU DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT

© 2020 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

illumina®