

| | | | | | | | | | | | |
|-----|----|-----------|-----------|-----|-----|-------------------|------|-------|---|----|------|
| 90 | 14 | 58050030 | 58050110 | 81 | 81 | Indel | 0,38 | 1 215 | 0 | 0 | 100 |
| 91 | 14 | 82390559 | 82390649 | 91 | 91 | Indel | 0,35 | 1 365 | 0 | 0 | 100 |
| 92 | 14 | 92549544 | 92549609 | 66 | 66 | PolyA (5) | 0,41 | 975 | 0 | 60 | 94,2 |
| 93 | 14 | 102808496 | 102808589 | 94 | 94 | Indel | 0,62 | 1 410 | 0 | 0 | 100 |
| 94 | 15 | 43170751 | 43170848 | 98 | 96 | PolyC (5) | 0,45 | 1 440 | 0 | 0 | 100 |
| 95 | 15 | 63446149 | 63446216 | 68 | 68 | Indel | 0,25 | 1 020 | 0 | 0 | 100 |
| 96 | 15 | 77879807 | 77879901 | 95 | 93 | PolyG (5), indel | 0,68 | 1 395 | 0 | 0 | 100 |
| 97 | 15 | 81625334 | 81625428 | 95 | 95 | PolyT (6) | 0,43 | 1 425 | 0 | 0 | 100 |
| 98 | 15 | 85438263 | 85438334 | 72 | 71 | Indel | 0,65 | 1 065 | 0 | 0 | 100 |
| 99 | 15 | 89817413 | 89817503 | 91 | 91 | s. o. | 0,36 | 1 365 | 0 | 0 | 100 |
| 100 | 15 | 89864274 | 89864343 | 70 | 70 | Indel | 0,56 | 1 050 | 0 | 0 | 100 |
| 101 | 16 | 1894910 | 1894972 | 63 | 63 | s. o. | 0,27 | 945 | 0 | 0 | 100 |
| 102 | 16 | 28997904 | 28997998 | 95 | 95 | PolyC (5) | 0,67 | 1 425 | 0 | 0 | 100 |
| 103 | 16 | 53682908 | 53682994 | 87 | 87 | TA(3) | 0,41 | 1 305 | 0 | 0 | 100 |
| 104 | 16 | 57954406 | 57954509 | 104 | 104 | PolyC (5) | 0,67 | 1 560 | 0 | 0 | 100 |
| 105 | 16 | 85706375 | 85706465 | 91 | 91 | Poly T (5), indel | 0,37 | 1 362 | 0 | 3 | 99,8 |
| 106 | 17 | 3563920 | 3564008 | 89 | 89 | GC(3) | 0,64 | 1 335 | 0 | 0 | 100 |
| 107 | 17 | 3594191 | 3594277 | 87 | 87 | PolyC (5), indel | 0,67 | 1 303 | 0 | 2 | 99,8 |
| 108 | 17 | 3970090 | 3970180 | 91 | 91 | Indel | 0,46 | 1 365 | 0 | 0 | 100 |
| 109 | 17 | 16084945 | 16085037 | 93 | 93 | Indel | 0,26 | 1 395 | 0 | 0 | 100 |
| 110 | 17 | 33998759 | 33998849 | 91 | 89 | PolyT (5) | 0,54 | 1 335 | 0 | 0 | 100 |

| | | | | | | | | | | | |
|-----|----|----------|----------|----|----|---|------|-------|---|----|------|
| 111 | 17 | 39589691 | 39589774 | 84 | 82 | PolyA (13), indel (x2) | 0,29 | 1 215 | 0 | 78 | 94,0 |
| 112 | 17 | 41244394 | 41244484 | 91 | 91 | PolyA (5) | 0,34 | 1 365 | 0 | 0 | 100 |
| 113 | 17 | 45438866 | 45438957 | 92 | 92 | PolyA (7), AT(3), AT(4), AT(4), indel | 0,26 | 1 365 | 0 | 15 | 98,9 |
| 114 | 17 | 61502432 | 61502510 | 79 | 79 | Indel | 0,41 | 1 175 | 0 | 10 | 99,2 |
| 115 | 17 | 64023582 | 64023667 | 86 | 86 | PolyT (7) | 0,22 | 1 289 | 0 | 1 | 99,9 |
| 116 | 17 | 72308237 | 72308320 | 84 | 84 | GAG(3) | 0,62 | 1 260 | 0 | 0 | 100 |
| 117 | 18 | 2616456 | 2616522 | 67 | 67 | GA(3) | 0,31 | 1 005 | 0 | 0 | 100 |
| 118 | 18 | 6980478 | 6980568 | 91 | 91 | s. o. | 0,37 | 1 365 | 0 | 0 | 100 |
| 119 | 18 | 9888026 | 9888094 | 69 | 69 | PolyA (6), TG(3) | 0,43 | 1 035 | 0 | 0 | 100 |
| 120 | 18 | 38836999 | 38837073 | 75 | 75 | PolyA (5), indel | 0,37 | 1 121 | 0 | 19 | 98,3 |
| 121 | 18 | 47405382 | 47405462 | 81 | 81 | CTC(3), indel | 0,47 | 1 215 | 0 | 0 | 100 |
| 122 | 18 | 54815665 | 54815749 | 85 | 85 | CT(3), indel | 0,45 | 1 275 | 0 | 0 | 100 |
| 123 | 18 | 59773996 | 59774060 | 65 | 65 | s. o. | 0,48 | 975 | 0 | 0 | 100 |
| 124 | 19 | 625143 | 625241 | 99 | 99 | s. o. | 0,59 | 1 478 | 0 | 7 | 99,5 |
| 125 | 19 | 18121418 | 18121491 | 74 | 74 | s. o. | 0,68 | 1 110 | 0 | 0 | 100 |
| 126 | 19 | 18186574 | 18186643 | 70 | 70 | s. o. | 0,64 | 1 050 | 0 | 0 | 100 |
| 127 | 20 | 746056 | 746149 | 94 | 94 | s. o. | 0,61 | 1 410 | 0 | 0 | 100 |
| 128 | 20 | 10633195 | 10633276 | 82 | 82 | AC(3) | 0,59 | 1 230 | 0 | 0 | 100 |
| 129 | 20 | 17705633 | 17705708 | 76 | 76 | CT(3) | 0,58 | 1 140 | 0 | 0 | 100 |
| 130 | 20 | 21766821 | 21766890 | 70 | 70 | GT(3),TG(4), indel | 0,46 | 1 050 | 0 | 0 | 100 |

| | | | | | | | | | | | |
|-----|----|-----------|-----------|-----|-----|----------------------------|------|-------|---|---|-------|
| 131 | 20 | 25278421 | 25278521 | 101 | 101 | Indel | 0,63 | 1 515 | 0 | 0 | 100 |
| 132 | 20 | 50897302 | 50897368 | 67 | 67 | Indel | 0,36 | 1 005 | 0 | 6 | 99,4 |
| 133 | 20 | 62331904 | 62331994 | 91 | 88 | Poly G (6) | 0,73 | 1 320 | 0 | 0 | 100 |
| 134 | 20 | 62690860 | 62690946 | 87 | 87 | Indel | 0,57 | 1 305 | 0 | 0 | 100 |
| 135 | 21 | 30300823 | 30300888 | 66 | 66 | Indel | 0,35 | 990 | 0 | 0 | 100 |
| 136 | 21 | 33694176 | 33694273 | 98 | 98 | PolyT (6), CA(3) | 0,54 | 1 470 | 0 | 0 | 100 |
| 137 | 21 | 36710706 | 36710792 | 87 | 87 | GT(3), indel | 0,39 | 1 305 | 0 | 0 | 100 |
| 138 | 21 | 46644924 | 46644992 | 69 | 69 | PolyA (6), AG(3), indel | 0,32 | 1 029 | 0 | 7 | 99,3 |
| 139 | 21 | 46705575 | 46705664 | 90 | 90 | PolyT (5), PolyA (6) | 0,5 | 1 350 | 0 | 0 | 100 |
| 140 | 22 | 25750774 | 25750873 | 100 | 100 | Indel | 0,63 | 1 500 | 0 | 1 | 99,9 |
| 141 | 22 | 32439233 | 32439329 | 97 | 97 | s. o. | 0,68 | 1 455 | 0 | 0 | 100 |
| 142 | 22 | 37409844 | 37409940 | 97 | 97 | Indel | 0,46 | 1 455 | 0 | 0 | 100 |
| 143 | 22 | 37637596 | 37637694 | 99 | 99 | s. o. | 0,6 | 1 485 | 0 | 0 | 100 |
| 144 | 22 | 47081347 | 47081438 | 92 | 92 | Indel | 0,66 | 1 380 | 0 | 0 | 100 |
| 145 | X | 15870424 | 15870492 | 69 | 69 | PolyT (5) | 0,26 | 1 035 | 0 | 0 | 100 |
| 146 | X | 135288543 | 135288611 | 69 | 69 | PolyC (5) | 0,62 | 1 035 | 0 | 0 | 100 |
| 147 | X | 135290777 | 135290847 | 71 | 71 | s. o. | 0,52 | 1 065 | 0 | 0 | 100 |
| 148 | Y | 2655397 | 2655461 | 65 | 0 | s. o. | 0,55 | 0 | 0 | 0 | s. o. |
| 149 | Y | 2655519 | 2655609 | 91 | 0 | s. o. | 0,48 | 0 | 0 | 0 | s. o. |
| 150 | Y | 2655609 | 2655679 | 71 | 0 | PolyA (5) | 0,37 | 0 | 0 | 0 | s. o. |

Les variants pour lesquels il n'y a pas eu d'appel sont présentés dans le tableau 12. Les filtres ayant causé l'absence d'appel sont énumérés dans le tableau.

Tableau 12 Résumé des absences d'appel de variant

| N° d'amplicon | Chr:Pos | Variant | Contenu de l'amplicon | Filtre | Variants manqués | Variants prévus |
|---------------|-------------|---------|----------------------------|--------------------|------------------|-----------------|
| 28 | 5:1882129 | T > G | 78 % en GC | LowDP ¹ | 13 | |
| 52 | 8:24811064 | AG > A | PolyG (7), CTC(4), 61 % GC | R3x6 ² | 15 | 15 |
| 60 | 10:11784633 | C > T | PolyA (3), 87 % GC | LowDP | 13 | 13 |
| 64 | 10:55892600 | TAC > T | AC(11), 42 % GC | R3x6 | 9 | 9 |
| 111 | 17:39589692 | C > CA | PolyA (13), 29 % GC | R3x6 | 13 | 13 |

¹ LowDP : faible couverture. Le variant est filtré si la profondeur dans au moins un des regroupements à une position donnée est inférieure à 900.

² R3x6 : filtre de répétitions. Le variant est filtré lorsque sa séquence se retrouve, en totalité ou en partie, à répétition dans le génome de référence adjacent à la position du variant. Il faut au moins six répétitions dans la référence et seules les répétitions d'une longueur d'au plus 3 pb sont prises en compte.

Les résultats de séquençage pour l'échantillon ont été comparés à un génotype d'une grande fiabilité établi pour NA12878 par le National Institutes of Standards and Technology (NIST, Institut national des normes et de la technologie) (v.2.19). Parmi les 150 amplicons, 92 étaient pleinement compris dans les régions génomiques de grande fiabilité, 41 montraient des chevauchements partiels et 17 ne comportaient aucun chevauchement avec la séquence du NIST. Il en a résulté 10 000 coordonnées par réplicat, pour comparaison. Les définitions des bases sans variant ont été comparées à la séquence du génome humain de référence version hg19. Les résultats sur la précision sont affichés dans le tableau 13.

Tableau 13 Concordance des résultats des définitions des bases de l'instrument MiSeqDx avec les données de référence du NIST pour l'échantillon GM12878

| Échantillon | Nbre d'amplicons | Taux d'appel moyen | Nbre total d'appels de variants TP | Nbre total d'appels de variants FN | Nombre total d'appels TN | Nombre total d'appels FP | CPP | CNP | PGC |
|-------------|------------------|--------------------|------------------------------------|------------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----|-----|-----|
| GM12878 | 150 | 98,43 | 206 | 0 | 19 231 | 0 | 100 | 100 | 100 |

Les cinq échantillons non dilués ont également été analysés à la recherche de petites insertions et délétions (indels) (tableau 14). Dans certains cas, l'indel se retrouvait dans deux échantillons ou plus, comme le montre la colonne « Nbre total de répliquats de l'échantillon avec indel ». Les résultats des deux répliquats des cinq échantillons valides sont affichés dans le tableau 14. Il y avait au total 71 indels dont la taille variait de 1 à 24 pb pour les insertions et de 1 à 25 pb pour les délétions. 68 indels ont été détectés les deux fois, avec une concordance positive en pour cent de 1. Trois insertions et délétions n'ont eu aucun appel exact parce que chacun des variants en question n'a entraîné aucun appel en raison du filtre R3x6. Par conséquent, il n'a pas été possible de calculer la CCP, qui exclut les absences d'appel. Les trois variants correspondaient à une délétion de 1 pb (chr8 24811064 AG>A), une délétion de 2 pb (chr10 55892600 TAC>T) et une insertion de 1 pb (chr17 39589692 C>CA).

Tableau 14 Résumé de la détection des indels à l'aide de l'instrument MiSeqDx

| Amplicon | Chromosome | Position | Taille du fragment analysé | Type et longueur de l'indel de l'amplicon | Indel | Nbre total de répliquats de l'échantillon avec indel | Nombre d'absences d'appel | Nombre total d'appels d'indels inexacts | Nombre total d'appels d'indels exacts | CPP |
|----------|------------|-----------|----------------------------|---|------------------------------|--|---------------------------|---|---------------------------------------|-----|
| 1 | 1 | 36450544 | 93 | délétion de 25 pb | GAAAATTTAATGAAACACATTGTCCT>G | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |
| 2 | 1 | 109465165 | 79 | délétion de 3 pb | ACTT>A | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 3 | 1 | 218353908 | 91 | insertion de 23 pb | T>TTTTAATAGCAAAAAGAGGCTAGA | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 4 | 1 | 223906701 | 92 | délétion de 17 pb | GACAGACTGTGAGGAAGA>G | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 6 | 1 | 236372081 | 70 | insertion de 5 pb | C>CTTAAG | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 7 | 1 | 247812083 | 88 | insertion de 3 pb | C>CATG | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 8 | 2 | 55862804 | 90 | insertion de 7 pb | T>TTTGGTAA | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 9 | 2 | 87003972 | 80 | délétion de 6 pb | TTATCTC>T | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 13 | 2 | 200796749 | 87 | insertion de 5 pb | T>TTAAAA | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |

| | | | | | | | | | | |
|----|---|-----------|-----|-----------------------|------------------------------|----|---|---|----|-----|
| 14 | 2 | 212245090 | 91 | insertion de 12 pb | C>CTGAAAATAGGAT | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 16 | 2 | 235016388 | 73 | insertion de 2 pb | A>ATG | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 17 | 3 | 4466274 | 93 | délétion de 23 pb | TAACTTAAAATTACAAAATAACCC>T | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 19 | 3 | 49851375 | 70 | insertion de 9 pb | C>CCTGGCTCCT | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |
| 21 | 3 | 190106071 | 75 | délétion de 1 pb | AG>A | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 25 | 4 | 56236567 | 66 | délétion de 8 pb | TAACCGAAA>T | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 27 | 4 | 164446785 | 62 | insertion de 11 pb | T>TTATGGTATTGA | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 31 | 5 | 74077155 | 83 | délétion de 4 pb | TAGTA>T | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |
| 34 | 5 | 155662255 | 75 | insertion de 8 pb | G>GCCTACTGA | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 36 | 6 | 24950035 | 92 | délétion de 21 pb | CCCTGGGTGCTATAGCCCACCA>C | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 37 | 6 | 31084942 | 100 | délétion de 3 pb | GCTT>G | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 39 | 6 | 32986905 | 95 | délétion de 25 pb | CTTTCACCTTCCCGTCTCATGCAAAG>C | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |
| 41 | 6 | 41647442 | 95 | délétion de 23 pb | GGCATGAGGCTTGGTGACATGGCA>G | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 44 | 7 | 66276142 | 88 | insertion de 1 pb | C>CT | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |

| | | | | | | | | | | |
|----|----|-----------|----|----------------------|--------------------------|----|----|---|----|-------|
| 46 | 7 | 110939983 | 85 | délétion de 4 pb | CAAGT>C | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 47 | 7 | 128533514 | 90 | insertion de 1 pb | T>TC | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 48 | 7 | 149503916 | 91 | délétion de 4 pb | GGATA>G | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |
| 50 | 7 | 156476548 | 93 | délétion de 11 pb | GAATCTGCACTT>G | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 52 | 8 | 24811064 | 90 | délétion de 1 pb | AG>A | 15 | 15 | 0 | 0 | s. o. |
| 53 | 8 | 76518677 | 67 | insertion de 4 pb | T>TACTG | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 55 | 9 | 105586193 | 65 | insertion de 4 pb | C>CAATT | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 58 | 9 | 138995370 | 97 | délétion de 21 pb | TCTGGGGGGCAGCCCCTGAGGG>T | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 59 | 10 | 5987158 | 79 | délétion de 3 pb | TAAC>T | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 63 | 10 | 45084202 | 95 | délétion de 16 pb | AGCGTCTATAACCAAAT>A | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 64 | 10 | 55892600 | 89 | délétion de 2 pb | TAC>T | 9 | 9 | 0 | 0 | 100 |
| 68 | 11 | 30177690 | 70 | insertion de 2 pb | C>CTG | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |
| 70 | 11 | 59837721 | 62 | insertion de 8 pb | T>TTATGAAAA | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 75 | 11 | 118406328 | 85 | délétion de 8 pb | CAGTGTGGA>C | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |

| | | | | | | | | | | |
|-----|----|-----------|----|-----------------------|------------------------------|----|---|---|----|-----|
| 76 | 11 | 120357842 | 85 | délétion de 2 pb | CTT>C | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 78 | 12 | 2834814 | 84 | insertion de 21 pb | T>TTCTCAGTACGGTGAACCCCAG | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 84 | 13 | 25817002 | 89 | insertion de 19 pb | C>CAAAATATAAAAAGCTCCCT | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 85 | 13 | 44880152 | 89 | insertion de 4 pb | C>CCTGT | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 86 | 13 | 77665265 | 77 | délétion de 20 pb | ATCTATTTTCTAATAGACGGC>A | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 89 | 14 | 46958967 | 73 | délétion de 22 pb | TTTAAAATTTGAATGTGATAAAA>T | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 90 | 14 | 58050081 | 81 | insertion de 4 pb | C>CTGAT | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 91 | 14 | 82390602 | 91 | délétion de 16 pb | CTTGCTCTATAAACCGT>C | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 93 | 14 | 102808554 | 94 | délétion de 5 pb | CGTGGA>C | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 95 | 15 | 63446199 | 68 | délétion de 6 pb | CAAAATT>C | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 96 | 15 | 77879862 | 95 | délétion de 25 pb | GCCCCTGAGCCAGCCTCCCGCTCTTA>G | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 98 | 15 | 85438311 | 72 | insertion de 3 pb | C>CTTG | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 100 | 15 | 89864316 | 70 | insertion de 4 pb | G>GCTAC | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 105 | 16 | 85706416 | 91 | délétion de 7 pb | ATTATTC>A | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |

| | | | | | | | | | | |
|-----|----|----------|-----|-----------------------|-----------------------------|----|----|---|----|-----|
| 107 | 17 | 3594276 | 87 | délétion de 1 pb | TG>T | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 108 | 17 | 3970133 | 91 | insertion de 18 pb | A>ATCCTATTCTACTCTGAAT | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 109 | 17 | 16084985 | 93 | insertion de 4 pb | A>AACAC | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |
| 111 | 17 | 39589692 | 84 | insertion de 1 pb | C>CA | 13 | 13 | 0 | 0 | 100 |
| 112 | 17 | 39589739 | 84 | insertion de 24 pb | T>TTCTGAAGGTCAAGTCTATCCCTGA | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 113 | 17 | 45438886 | 92 | délétion de 4 pb | CAGTG>C | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |
| 114 | 17 | 61502459 | 79 | délétion de 12 pb | TTTGTATCTGCTG>T | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 120 | 18 | 38837054 | 75 | insertion de 22 pb | T>TGTATCTTAGCAAAAGTTTCTCA | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 121 | 18 | 47405425 | 81 | insertion de 3 pb | T>TGAG | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 122 | 18 | 54815706 | 85 | délétion de 2 pb | ACT>A | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 130 | 20 | 21766863 | 70 | délétion de 15 pb | TACTTGAGAACTGAGG>T | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 131 | 20 | 25278464 | 101 | insertion de 5 pb | A>AGTGGG | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 132 | 20 | 50897361 | 67 | insertion de 11 pb | G>GGAATGTCAGCC | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 134 | 20 | 62690925 | 87 | délétion de 16 pb | TCCTGGCTGGCCTGTGG>T | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |

| | | | | | | | | | | |
|-----|----|----------|-----|-----------------------|--------------------------|----|---|---|----|-----|
| 135 | 21 | 30300873 | 66 | insertion de 11 pb | G>GATAAAACTTTA | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 137 | 21 | 36710749 | 87 | délétion de 21 pb | ACTCAAGATAACTCATGTTATC>A | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 138 | 21 | 46644985 | 69 | délétion de 5 pb | GTTGTT>G | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 140 | 22 | 25750814 | 100 | insertion de 6 pb | C>CAGGGCA | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 142 | 22 | 37409885 | 97 | insertion de 5 pb | C>CTGTTT | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 144 | 22 | 47081407 | 92 | délétion de 10 pb | GGGCACAGGCA>G | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |

Étude 2

Cette étude portait sur des échantillons de tissus FFPE envahis par le cancer colorectal et un test représentatif à deux gènes comparé aux données de la méthode de référence, soit le séquençage bidirectionnel Sanger (la méthode Sanger). Des 1 183 sujets de l'étude, 441 avaient des résultats valides selon la méthode Sanger et le test représentatif. Au niveau du sujet (tableau 15), 230 des 441 sujets étaient positifs selon la méthode Sanger (mutation détectée par la méthode Sanger). De ces derniers, 227 étaient positifs selon le test représentatif. Les 211 sujets restants sur 441 étaient négatifs selon la méthode Sanger (aucune mutation détectée par la méthode Sanger). De ces derniers, 206 étaient négatifs selon le test représentatif. Cela a généré une concordance positive en pour cent (CPP) de 98,7 % et une concordance négative en pour cent (CNP) de 97,6 % (tableau 15).

Tableau 15 Concordance positive et négative en pour cent, au niveau des sujets

| Test représentatif | Sanger | | Total |
|--------------------|------------------|---------|-------|
| | Positif | Négatif | |
| Positif | 227 ¹ | 5 | 232 |
| Négatif | 3 ² | 206 | 209 |
| Total | 230 | 211 | 441 |

Résumé de la performance

| Statistique de concordance | Estimation ponctuelle | IC exact à 95 % |
|----------------------------|-----------------------|------------------|
| CPP | 227/230 = 98,7 % | [96,2 %, 99,7 %] |
| CNP | 206/211 = 97,6% | [94,6 %, 99,2 %] |

¹ Il y a eu 224 concordances parfaites pour les résultats d'un même sujet, au niveau de l'ensemble des mutations. Pour deux sujets, l'instrument MiSeqDx a détecté la mutation détectée par la méthode Sanger, ainsi qu'une mutation supplémentaire; pour un sujet, l'instrument MiSeqDx et la méthode Sanger ont détecté des mutations différentes.

² Pour l'un des sujets, la méthode Sanger a détecté deux mutations; pour deux sujets, la méthode Sanger a détecté une mutation.

Étude 3

L'étude portait sur les bibliothèques d'ADN préparées avec des échantillons FFPE provenant de différents types de tissus. Il y avait au total 109 échantillons FFPE provenant de huit types de tissus différents (côlon, ovaires, pancréas, glande surrénale, vessie, foie, glande thyroïde et seins) et au moins 11 échantillons FFPE de chaque type de tissu. Les tissus de la glande surrénale comportaient des métastases associées à des cancers de l'œsophage, des poumons et du côlon; les autres tissus comportaient des tumeurs primaires. Cette étude a utilisé un test représentatif conçu pour étudier 26 gènes couvrant 21 577 bases sur 17 chromosomes différents. Au total, six gènes différents (*KRAS*, *NRAS*, *TP53*, *PIK3CA*, *EGFR*, et *BRAF*) ont été séquencés, selon la méthode Sanger. Pour chaque tumeur, de un à trois gènes ont été séquencés selon la méthode Sanger en fonction de la prévalence attendue des mutations somatiques pour la tumeur en question. Le séquençage Sanger a identifié 39 mutations somatiques de SNV dans 33 des 109 échantillons FFPE. L'instrument MiSeqDx a identifié 36 mutations somatiques de SNV dans 32 des 109 échantillons FFPE. Il y a eu un faux négatif et deux variants pour lesquels il n'y a pas eu d'appel. La CPP était de 97,3 %. L'instrument MiSeqDx a identifié 78 975 bases de référence dans les 109 échantillons FFPE. Il y a eu 29 faux positifs par rapport aux résultats de la méthode de séquençage Sanger et 2 437 absences d'appel. La CNP était de 99,9%. Une délétion de deux bases concordait entre les deux méthodes. Le tableau 16 résume les résultats par type de tissu.

Tableau 16 Concordance positive et négative en pour cent, par type de tissus

| Type de tissus | Nombre d'échantillons | Nombre total de variants | Nombre total de variants TP | Nombre total de variants FN | Nombre total d'appels TN | Nombre total d'appels FP | Nombre total d'absences d'appel | CPP | CNP |
|------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------------|-----------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------------|------|---------|
| Glande surrénale | 16 | 6 | 4 | 1 | 11 823 | 2 | 607 | 80 | > 99,9 |
| Vessie | 12 | 4 | 4 | 0 | 7 070 | 3 | 273 | 100 | > 99,9 |
| Sein | 16 | 3 | 3 | 0 | 13 439 | 7 | 479 | 100 | 99,9 |
| Côlon | 11 | 6 | 5 | 0 | 8 720 | 2 | 133 | 100 | > 99,9 |
| Foie | 13 | 3 | 3 | 0 | 7 984 | 1 | 59 | 100 | > 99,9 |
| Ovaire | 13 | 7 | 7 | 0 | 10 581 | 1 | 724 | 100 | > 99,99 |
| Pancréas | 17 | 7 | 7 | 0 | 11 929 | 12 | 489 | 100 | 99,9 |
| Glande thyroïde | 11 | 3 | 3 | 0 | 7 429 | 1 | 652 | 100 | > 99,9 |
| Total | 109 | 39 | 36 | 1 | 78 974 | 29 | 3 416 | 97,3 | > 99,9 |

Reproductibilité

Deux études ont été menées pour évaluer la reproductibilité de l'analyse sur l'instrument MiSeqDx d'ADN extrait d'échantillons FFPE. L'étude 1 a été menée sur plusieurs instruments et l'étude 2, sur plusieurs sites.

Étude 1

La reproductibilité des résultats obtenus avec l'instrument MiSeqDx a été déterminée au moyen de deux instruments, par deux opérateurs dûment formés, dans le cadre de huit analyses au total. Le test représentatif, le contexte génomique des amplicons, les échantillons et la méthode de référence sont les mêmes que ceux décrits pour l'étude de précision ci-dessus. Les résultats sont présentés par amplicon et par instrument (tableau 17) pour illustrer la reproductibilité des appels d'un instrument à l'autre. Le pourcentage d'appels exacts comprend les appels inexacts et les absences d'appel (l'appel de variants ne passe pas un ou plusieurs filtres). Les instruments ont généré des résultats semblables pour ce qui est des absences d'appel, selon les amplicons. Un seul appel inexact dans une région de fiabilité, définie par la norme de référence Platinum Genomes, a été observé par l'appareil MiSeqDx 1. L'appel inexact était un faux positif pour un variant d'insertion à l'amplicon 64, où le chromosome 10 était analysé aux positions 55892599 à 55892687; l'amplicon comportait une répétition de dinucléotides de 11.

Tableau 17 Résultats de l'étude de reproductibilité d'un instrument à l'autre pour l'instrument MiSeqDx (au niveau de l'amplicon)

| Amplicon | Chromosome | Taille du fragment analysé | Bases dans les régions de fiabilité | Contenu génomique de l'amplicon | Teneur en GC | M70215 | | | M70217 | | |
|----------|------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------------|--------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|
| | | | | | | Nombre total d'appels exacts | Nombre total d'appels inexacts | Nombre total d'absences d'appel | Nombre total d'appels exacts | Nombre total d'appels inexacts | Nombre total d'absences d'appel |
| 1 | 1 | 93 | 93 | Indel | 0,22 | 5 580 | 0 | 0 | 5 580 | 0 | 0 |
| 2 | 1 | 79 | 79 | PolyA (5), PolyC (5), indel | 0,38 | 4 740 | 0 | 0 | 4 740 | 0 | 0 |
| 3 | 1 | 91 | 91 | Indel | 0,4 | 5 448 | 0 | 12 | 5 453 | 0 | 8 |
| 4 | 1 | 92 | 92 | Indel | 0,49 | 5 518 | 0 | 2 | 5 518 | 0 | 2 |
| 5 | 1 | 81 | 81 | PolyG (5) | 0,69 | 4 858 | 0 | 2 | 4 860 | 0 | 0 |
| 6 | 1 | 70 | 70 | PolyT (10), indel | 0,39 | 4 200 | 0 | 0 | 4 200 | 0 | 0 |
| 7 | 1 | 88 | 88 | PolyA (5), CT (3), TAA(3), indel | 0,27 | 5 279 | 0 | 1 | 5 279 | 0 | 1 |
| 8 | 2 | 90 | 90 | Indel | 0,28 | 5 400 | 0 | 0 | 5 400 | 0 | 0 |
| 9 | 2 | 80 | 80 | Indel | 0,38 | 4 800 | 0 | 0 | 4 800 | 0 | 0 |
| 10 | 2 | 85 | 81 | s. o. | 0,65 | 4 859 | 0 | 1 | 4 859 | 0 | 1 |
| 11 | 2 | 75 | 75 | PolyA (8) | 0,35 | 4 468 | 0 | 40 | 4 468 | 0 | 40 |
| 12 | 2 | 88 | 88 | PolyT (5) | 0,42 | 5 280 | 0 | 0 | 5 280 | 0 | 0 |
| 13 | 2 | 87 | 87 | PolyT (5), indel | 0,31 | 5 211 | 0 | 43 | 5 214 | 0 | 40 |

| | | | | | | | | | | | |
|----|---|----|----|---|------|-------|---|-------|-------|---|-------|
| 14 | 2 | 91 | 91 | PolyT (5), PolyA (6), indel | 0,3 | 5 453 | 0 | 7 | 5 449 | 0 | 11 |
| 15 | 2 | 93 | 93 | s. o. | 0,43 | 5 579 | 0 | 1 | 5 579 | 0 | 1 |
| 16 | 2 | 73 | 73 | PolyT (5), indel | 0,42 | 4 378 | 0 | 2 | 4 379 | 0 | 1 |
| 17 | 3 | 93 | 93 | AT(3), indel | 0,27 | 5 396 | 0 | 184 | 5 396 | 0 | 184 |
| 18 | 3 | 83 | 83 | s. o. | 0,43 | 4 980 | 0 | 0 | 4 980 | 0 | 0 |
| 19 | 3 | 70 | 70 | CT(3), indel | 0,49 | 4 193 | 0 | 7 | 4 194 | 0 | 6 |
| 20 | 3 | 88 | 88 | PolyA (5), PolyT (5), PolyA (9), TG(3) | 0,41 | 5 220 | 0 | 120 | 5 220 | 0 | 120 |
| 21 | 3 | 75 | 74 | Indel | 0,57 | 4 432 | 0 | 8 | 4 432 | 0 | 8 |
| 22 | 4 | 78 | 78 | PolyA (6) | 0,26 | 4 676 | 0 | 4 | 4 676 | 0 | 4 |
| 23 | 4 | 97 | 97 | PolyG (6), PolyT (5), PolyA (5) | 0,42 | 5 820 | 0 | 0 | 5 820 | 0 | 0 |
| 24 | 4 | 78 | 78 | s. o. | 0,29 | 4 679 | 0 | 1 | 4 677 | 0 | 3 |
| 25 | 4 | 66 | 62 | PolyA (5), indel | 0,36 | 3 720 | 0 | 0 | 3 720 | 0 | 0 |
| 26 | 4 | 71 | 69 | PolyA (5) | 0,46 | 4 140 | 0 | 0 | 4 140 | 0 | 0 |
| 27 | 4 | 62 | 62 | PolyA (7), indel | 0,27 | 3 676 | 0 | 45 | 3 671 | 0 | 51 |
| 28 | 5 | 78 | 75 | s. o. | 0,78 | 3 368 | 0 | 1 132 | 3 485 | 0 | 1 015 |
| 29 | 5 | 84 | 84 | GT(3), CCA(3) | 0,62 | 5 040 | 0 | 0 | 5 040 | 0 | 0 |

| | | | | | | | | | | | |
|----|---|-----|-----|----------------------------------|------|-------|---|-----|-------|---|-----|
| 30 | 5 | 64 | 64 | s. o. | 0,39 | 3 840 | 0 | 0 | 3 840 | 0 | 0 |
| 31 | 5 | 83 | 83 | PolyA (6), indel | 0,3 | 4 979 | 0 | 1 | 4 980 | 0 | 0 |
| 32 | 5 | 67 | 67 | PolyT (5) | 0,37 | 4 020 | 0 | 0 | 4 020 | 0 | 0 |
| 33 | 5 | 91 | 91 | CT(4), AG(3) | 0,55 | 5 460 | 0 | 0 | 5 460 | 0 | 0 |
| 34 | 5 | 75 | 75 | Indel | 0,43 | 4 498 | 0 | 6 | 4 500 | 0 | 1 |
| 35 | 6 | 102 | 102 | PolyG (6) | 0,68 | 6 120 | 0 | 0 | 6 120 | 0 | 0 |
| 36 | 6 | 92 | 92 | Indel | 0,63 | 5 520 | 0 | 0 | 5 520 | 0 | 0 |
| 37 | 6 | 100 | 94 | GCT(5), indel | 0,61 | 5 532 | 0 | 108 | 5 532 | 0 | 108 |
| 38 | 6 | 98 | 98 | Poly T (5), TCT(3), CTT(3) | 0,55 | 5 820 | 0 | 60 | 5 820 | 0 | 60 |
| 39 | 6 | 95 | 95 | Indel | 0,53 | 5 697 | 0 | 3 | 5 698 | 0 | 2 |
| 40 | 6 | 86 | 86 | PolyC (6) | 0,7 | 5 159 | 0 | 1 | 5 160 | 0 | 0 |
| 41 | 6 | 95 | 94 | PolyG (5), indel | 0,61 | 5 638 | 0 | 2 | 5 638 | 0 | 2 |
| 42 | 6 | 91 | 91 | PolyA (5) | 0,44 | 5 460 | 0 | 0 | 5 460 | 0 | 0 |
| 43 | 7 | 73 | 73 | s. o. | 0,44 | 4 380 | 0 | 0 | 4 380 | 0 | 0 |
| 44 | 7 | 88 | 88 | Indel | 0,35 | 5 279 | 0 | 1 | 5 276 | 0 | 4 |
| 45 | 7 | 87 | 87 | PolyA (7), AG(4) | 0,26 | 5 184 | 0 | 36 | 5 181 | 0 | 39 |
| 46 | 7 | 85 | 85 | Indel | 0,38 | 5 100 | 0 | 0 | 5 100 | 0 | 0 |
| 47 | 7 | 90 | 90 | PolyG (5), indel | 0,62 | 5 398 | 0 | 2 | 5 399 | 0 | 1 |

| | | | | | | | | | | | |
|----|----|----|----|-----------------------------------|------|-------|---|-------|-------|---|-------|
| 48 | 7 | 91 | 91 | PolyG (6), PolyC (6), indel | 0,71 | 5 460 | 0 | 0 | 5 459 | 0 | 1 |
| 49 | 7 | 81 | 66 | s. o. | 0,31 | 3 960 | 0 | 0 | 3 960 | 0 | 0 |
| 50 | 7 | 93 | 93 | Indel | 0,35 | 5 580 | 0 | 0 | 5 579 | 0 | 1 |
| 51 | 8 | 83 | 83 | s. o. | 0,42 | 4 980 | 0 | 0 | 4 980 | 0 | 0 |
| 52 | 8 | 90 | 89 | PolyG (7), CTC(4), indel | 0,61 | 5 219 | 0 | 121 | 5 220 | 0 | 120 |
| 53 | 8 | 67 | 67 | Indel | 0,3 | 4 020 | 0 | 0 | 4 020 | 0 | 0 |
| 54 | 9 | 98 | 98 | PolyG (6) | 0,67 | 5 879 | 0 | 1 | 5 880 | 0 | 0 |
| 55 | 9 | 65 | 65 | Indel | 0,32 | 3 894 | 0 | 6 | 3 895 | 0 | 5 |
| 56 | 9 | 96 | 96 | s. o. | 0,49 | 5 760 | 0 | 0 | 5 760 | 0 | 0 |
| 57 | 9 | 83 | 83 | AT(3) | 0,37 | 4 973 | 0 | 7 | 4 978 | 0 | 2 |
| 58 | 9 | 97 | 97 | PolyC (6), indel | 0,68 | 5 817 | 0 | 3 | 5 818 | 0 | 2 |
| 59 | 10 | 79 | 78 | PolyG (5), indel | 0,47 | 4 679 | 0 | 1 | 4 680 | 0 | 0 |
| 60 | 10 | 98 | 91 | GC(3) | 0,87 | 450 | 0 | 5 010 | 632 | 0 | 4 828 |
| 61 | 10 | 79 | 79 | PolyT (5) | 0,3 | 4 740 | 0 | 0 | 4 740 | 0 | 0 |
| 62 | 10 | 90 | 90 | PolyA (5), PolyT (5) | 0,2 | 5 400 | 0 | 0 | 5 400 | 0 | 0 |
| 63 | 10 | 95 | 95 | Indel | 0,35 | 5 699 | 0 | 1 | 5 699 | 0 | 1 |
| 64 | 10 | 89 | 88 | AC(11), indel | 0,42 | 5 157 | 0 | 276 | 5 153 | 2 | 273 |
| 65 | 10 | 80 | 80 | s. o. | 0,49 | 4 800 | 0 | 0 | 4 800 | 0 | 0 |
| 66 | 10 | 81 | 81 | s. o. | 0,51 | 4 860 | 0 | 0 | 4 860 | 0 | 0 |

| | | | | | | | | | | | |
|----|----|-----|-----|---|------|-------|---|----|-------|---|----|
| 67 | 11 | 97 | 96 | s. o. | 0,45 | 5 760 | 0 | 0 | 5 760 | 0 | 0 |
| 68 | 11 | 70 | 70 | Indel | 0,46 | 4 199 | 0 | 2 | 4 200 | 0 | 1 |
| 69 | 11 | 100 | 100 | s. o. | 0,65 | 5 999 | 0 | 1 | 5 998 | 0 | 2 |
| 70 | 11 | 62 | 62 | Indel | 0,37 | 3 720 | 0 | 0 | 3 720 | 0 | 0 |
| 71 | 11 | 102 | 102 | s. o. | 0,59 | 6 120 | 0 | 0 | 6 118 | 0 | 2 |
| 72 | 11 | 73 | 73 | PolyA (5) | 0,4 | 4 380 | 0 | 0 | 4 380 | 0 | 0 |
| 73 | 11 | 85 | 85 | s. o. | 0,42 | 5 100 | 0 | 0 | 5 100 | 0 | 0 |
| 74 | 11 | 91 | 91 | PolyG (6) | 0,55 | 5 437 | 0 | 23 | 5 441 | 0 | 19 |
| 75 | 11 | 85 | 85 | Indel | 0,53 | 5 100 | 0 | 0 | 5 100 | 0 | 0 |
| 76 | 11 | 85 | 85 | Poly A (5), CA(3), indel | 0,34 | 5 100 | 0 | 0 | 5 100 | 0 | 0 |
| 77 | 11 | 85 | 85 | GA(3) | 0,52 | 5 100 | 0 | 0 | 5 100 | 0 | 0 |
| 78 | 12 | 84 | 84 | PolyC (5), indel | 0,52 | 5 040 | 0 | 60 | 5 038 | 0 | 63 |
| 79 | 12 | 93 | 93 | PolyA (7), AC(4) | 0,33 | 5 577 | 0 | 3 | 5 573 | 0 | 7 |
| 80 | 12 | 81 | 81 | | 0,49 | 4 860 | 0 | 0 | 4 860 | 0 | 0 |
| 81 | 12 | 71 | 71 | PolyA (6) | 0,35 | 4 260 | 0 | 0 | 4 260 | 0 | 0 |
| 82 | 12 | 95 | 95 | PolyG (5) | 0,68 | 5 605 | 0 | 95 | 5 605 | 0 | 95 |
| 83 | 13 | 73 | 73 | s. o. | 0,52 | 4 380 | 0 | 0 | 4 379 | 0 | 1 |
| 84 | 13 | 89 | 88 | PolyA (5), PolyT (7), PolyA (7), indel | 0,22 | 5 220 | 0 | 60 | 5 220 | 0 | 60 |
| 85 | 13 | 89 | 89 | Indel | 0,49 | 5 340 | 0 | 0 | 5 340 | 0 | 0 |

| | | | | | | | | | | | |
|-----|----|-----|-----|---------------------|------|-------|---|-----|-------|---|-----|
| 86 | 13 | 77 | 77 | Indel | 0,39 | 4 620 | 0 | 0 | 4 620 | 0 | 0 |
| 87 | 14 | 67 | 67 | GA(3),TA(3) | 0,39 | 4 020 | 0 | 0 | 4 020 | 0 | 0 |
| 88 | 14 | 83 | 83 | s. o. | 0,25 | 4 980 | 0 | 0 | 4 980 | 0 | 0 |
| 89 | 14 | 73 | 72 | PolyT (5), indel | 0,19 | 4 173 | 0 | 147 | 4 173 | 0 | 147 |
| 90 | 14 | 81 | 81 | Indel | 0,38 | 4 860 | 0 | 2 | 4 860 | 0 | 0 |
| 91 | 14 | 91 | 91 | Indel | 0,35 | 5 459 | 0 | 1 | 5 460 | 0 | 0 |
| 92 | 14 | 66 | 66 | PolyA (5) | 0,41 | 3 900 | 0 | 240 | 3 900 | 0 | 240 |
| 93 | 14 | 94 | 94 | Indel | 0,62 | 5 637 | 0 | 3 | 5 637 | 0 | 3 |
| 94 | 15 | 98 | 96 | PolyC (5) | 0,45 | 5 760 | 0 | 0 | 5 760 | 0 | 0 |
| 95 | 15 | 68 | 68 | Indel | 0,25 | 4 079 | 0 | 1 | 4 078 | 0 | 2 |
| 96 | 15 | 95 | 93 | PolyG (5), indel | 0,68 | 5 475 | 0 | 105 | 5 487 | 0 | 93 |
| 97 | 15 | 95 | 95 | PolyT (6) | 0,43 | 5 699 | 0 | 1 | 5 700 | 0 | 0 |
| 98 | 15 | 72 | 71 | Indel | 0,65 | 4 260 | 0 | 0 | 4 260 | 0 | 0 |
| 99 | 15 | 91 | 91 | s. o. | 0,36 | 5 460 | 0 | 0 | 5 460 | 0 | 0 |
| 100 | 15 | 70 | 70 | Indel | 0,56 | 4 200 | 0 | 0 | 4 200 | 0 | 0 |
| 101 | 16 | 63 | 63 | s. o. | 0,27 | 3 780 | 0 | 0 | 3 780 | 0 | 0 |
| 102 | 16 | 95 | 95 | PolyC (5) | 0,67 | 5 700 | 0 | 0 | 5 700 | 0 | 0 |
| 103 | 16 | 87 | 87 | TA(3) | 0,41 | 5 220 | 0 | 0 | 5 220 | 0 | 0 |
| 104 | 16 | 104 | 104 | PolyC (5) | 0,67 | 6 238 | 0 | 3 | 6 238 | 0 | 3 |
| 105 | 16 | 91 | 91 | PolyT (5), indel | 0,37 | 5 443 | 0 | 17 | 5 444 | 0 | 16 |

| | | | | | | | | | | | |
|-----|----|----|----|---|------|-------|---|-----|-------|---|-----|
| 106 | 17 | 89 | 89 | GC(3) | 0,64 | 5 251 | 0 | 89 | 5 339 | 0 | 1 |
| 107 | 17 | 87 | 87 | PolyC (5), indel | 0,67 | 5 212 | 0 | 8 | 5 212 | 0 | 8 |
| 108 | 17 | 91 | 91 | Indel | 0,46 | 5 459 | 0 | 1 | 5 459 | 0 | 1 |
| 109 | 17 | 93 | 93 | Indel | 0,26 | 5 580 | 0 | 0 | 5 580 | 0 | 0 |
| 110 | 17 | 91 | 89 | PolyT (5) | 0,54 | 5 340 | 0 | 0 | 5 340 | 0 | 0 |
| 111 | 17 | 84 | 82 | Poly A (13), indel (x2) | 0,29 | 4 860 | 0 | 308 | 4 860 | 0 | 307 |
| 112 | 17 | 91 | 91 | PolyA (5) | 0,34 | 5 459 | 0 | 1 | 5 459 | 0 | 1 |
| 113 | 17 | 92 | 92 | PolyA (7), AT(3), AT(4), AT(4), indel | 0,26 | 5 460 | 0 | 60 | 5 460 | 0 | 60 |
| 114 | 17 | 79 | 79 | Indel | 0,41 | 4 699 | 0 | 41 | 4 700 | 0 | 40 |
| 115 | 17 | 86 | 86 | PolyT (7) | 0,22 | 5 153 | 0 | 7 | 5 156 | 0 | 4 |
| 116 | 17 | 84 | 84 | GAG(3) | 0,62 | 5 039 | 0 | 1 | 5 039 | 0 | 1 |
| 117 | 18 | 67 | 67 | GA(3) | 0,31 | 4 020 | 0 | 0 | 4 020 | 0 | 0 |
| 118 | 18 | 91 | 91 | s. o. | 0,37 | 5 460 | 0 | 0 | 5 460 | 0 | 0 |
| 119 | 18 | 69 | 69 | PolyA (6), TG(3) | 0,43 | 4 132 | 0 | 8 | 4 131 | 0 | 9 |
| 120 | 18 | 75 | 75 | PolyA (5), indel | 0,37 | 4 475 | 0 | 85 | 4 480 | 0 | 79 |
| 121 | 18 | 81 | 81 | CTC(3), indel | 0,47 | 4 860 | 0 | 0 | 4 860 | 0 | 0 |
| 122 | 18 | 85 | 85 | CT(3), indel | 0,45 | 5 098 | 0 | 2 | 5 098 | 0 | 2 |
| 123 | 18 | 65 | 65 | s. o. | 0,48 | 3 900 | 0 | 0 | 3 900 | 0 | 0 |
| 124 | 19 | 99 | 99 | s. o. | 0,59 | 5 926 | 0 | 14 | 5 924 | 0 | 16 |

| | | | | | | | | | | | |
|-----|----|-----|-----|----------------------------|------|-------|---|----|-------|---|----|
| 125 | 19 | 74 | 74 | s. o. | 0,68 | 4 440 | 0 | 0 | 4 438 | 0 | 2 |
| 126 | 19 | 70 | 70 | s. o. | 0,64 | 4 199 | 0 | 1 | 4 200 | 0 | 0 |
| 127 | 20 | 94 | 94 | s. o. | 0,61 | 5 640 | 0 | 1 | 5 638 | 0 | 3 |
| 128 | 20 | 82 | 82 | AC(3) | 0,59 | 4 920 | 0 | 0 | 4 920 | 0 | 0 |
| 129 | 20 | 76 | 76 | CT(3) | 0,58 | 4 559 | 0 | 1 | 4 558 | 0 | 2 |
| 130 | 20 | 70 | 70 | GT(3),TG(4), indel | 0,46 | 4 200 | 0 | 0 | 4 200 | 0 | 0 |
| 131 | 20 | 101 | 101 | Indel | 0,63 | 6 060 | 0 | 0 | 6 060 | 0 | 0 |
| 132 | 20 | 67 | 67 | Indel | 0,36 | 4 020 | 0 | 31 | 4 020 | 0 | 25 |
| 133 | 20 | 91 | 88 | PolyG (6) | 0,73 | 5 277 | 0 | 3 | 5 274 | 0 | 6 |
| 134 | 20 | 87 | 87 | Indel | 0,57 | 5 218 | 0 | 2 | 5 218 | 0 | 2 |
| 135 | 21 | 66 | 66 | Indel | 0,35 | 3 959 | 0 | 1 | 3 957 | 0 | 3 |
| 136 | 21 | 98 | 98 | PolyT (6), CA(3) | 0,54 | 5 880 | 0 | 0 | 5 880 | 0 | 0 |
| 137 | 21 | 87 | 87 | GT(3), indel | 0,39 | 5 220 | 0 | 0 | 5 220 | 0 | 0 |
| 138 | 21 | 69 | 69 | PolyA (6), AG(3), indel | 0,32 | 4 119 | 0 | 31 | 4 113 | 0 | 37 |
| 139 | 21 | 90 | 90 | PolyT (5), PolyA (6) | 0,5 | 5 399 | 0 | 1 | 5 399 | 0 | 1 |
| 140 | 22 | 100 | 100 | Indel | 0,63 | 5 998 | 0 | 7 | 5 997 | 0 | 5 |
| 141 | 22 | 97 | 97 | s. o. | 0,68 | 5 819 | 0 | 1 | 5 819 | 0 | 1 |
| 142 | 22 | 97 | 97 | Indel | 0,46 | 5 818 | 0 | 2 | 5 816 | 0 | 4 |
| 143 | 22 | 99 | 99 | s. o. | 0,6 | 5 940 | 0 | 0 | 5 940 | 0 | 0 |
| 144 | 22 | 92 | 92 | Indel | 0,66 | 5 519 | 0 | 1 | 5 519 | 0 | 1 |

| | | | | | | | | | | | |
|-----|---|----|----|-----------|------|-------|---|---|-------|---|---|
| 145 | X | 69 | 69 | PolyT (5) | 0,26 | 4 139 | 0 | 1 | 4 140 | 0 | 0 |
| 146 | X | 69 | 69 | PolyC (5) | 0,62 | 4 136 | 0 | 4 | 4 137 | 0 | 3 |
| 147 | X | 71 | 71 | s. o. | 0,52 | 4 260 | 0 | 0 | 4 260 | 0 | 0 |
| 148 | Y | 65 | 0 | s. o. | 0,55 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 149 | Y | 91 | 0 | s. o. | 0,48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 150 | Y | 71 | 0 | PolyA (5) | 0,37 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Les résultats de l'étude de reproductibilité ont été analysés par opérateur, en fonction de la fréquence des variants (tableau 18). L'analyse a démontré que la fréquence des variants concorde entre les deux opérateurs. La fréquence moyenne des variants +/- un écart-type de 1 a été observée.

Tableau 18 Comparaison des résultats de l'instrument MiSeqDx, par opérateur

| Plage de fréquence des variants | Nbre de variants uniques | Nbre total de variants analysés, opérateur 1 | Nbre total de variants analysés, opérateur 2 | Fréquence moyenne des variants (écart-type), opérateur 1 | Fréquence moyenne des variants (écart-type), opérateur 2 |
|---------------------------------|--------------------------|--|--|--|--|
| Fréquence élevée (~100 %) | 1 112 | 1 072 | 1 072 | 0,96 +/- 0,05 | 0,96 +/- 0,05 |
| Fréquence moyenne (~50 %) | 3 240 | 3 151 | 3 161 | 0,49 +/- 0,04 | 0,49 +/- 0,04 |
| Fréquence faible (de 3 à 7 %) | 620 | 618 | 612 | 0,05 +/- 0,01 | 0,05 +/- 0,01 |

Les résultats des huit analyses de l'étude de reproductibilité ont été regroupés par échantillon (tableau 19). La détection est évaluée séparément pour chaque type de variant (SNV, insertions et délétions). Les positions de référence sont exclues. L'analyse a montré que les résultats des variants étaient reproductibles pour tous les échantillons.

Tableau 19 Concordance des résultats des définitions des bases sur l'instrument MiSeqDx, par échantillon

| Échantillon | SNV | | | | Insertions | | | | Délétions | | | |
|-------------------------|------------|--------------|--------------|--------------|------------|--------------|--------------|--------------|------------|--------------|--------------|--------------|
| | Nbre total | Total des TP | Total des FP | Total des FN | Nbre total | Total des TP | Total des FP | Total des FN | Nbre total | Total des TP | Total des FP | Total des FN |
| GM12877 | 592 | 574 | 2 | 0 | 336 | 336 | 0 | 0 | 228 | 272 | 0 | 0 |
| GM12878 | 1 456 | 1 432 | 0 | 0 | 320 | 304 | 0 | 0 | 384 | 352 | 0 | 0 |
| GM12879 | 912 | 896 | 0 | 0 | 336 | 320 | 0 | 0 | 288 | 272 | 0 | 0 |
| GM12885 | 1 200 | 1 192 | 0 | 0 | 400 | 384 | 0 | 0 | 352 | 320 | 0 | 0 |
| GM12886 | 1 104 | 1 104 | 0 | 0 | 368 | 352 | 0 | 0 | 368 | 352 | 0 | 0 |
| GM12877-D1 ¹ | 3 640 | 3 582 | 0 | 0 | 800 | 760 | 0 | 0 | 960 | 880 | 0 | 0 |
| GM12877-D2 ² | 400 | 398 | 0 | 0 | 520 | 516 | 0 | 0 | 560 | 556 | 0 | 0 |

¹ Variants dont la fréquence est supérieure à 20 %.

² Variants dont la fréquence est inférieure à 20 %.

Les données des huit analyses de cette étude de reproductibilité confirment que l'instrument MiSeqDx peut séquencer ce qui suit de façon uniforme :

- Teneur en GC \geq 19 % (toutes les bases définies dans 120 des 120 amplicons séquencés ayant une teneur en GC de 19 % ont été appelées correctement et le taux d'absences d'appel est de 3,4 %)
- Teneur en GC \leq 73 % (toutes les bases définies dans 120 des 120 amplicons séquencés ayant une teneur en GC de 73 % ont été appelées correctement et le taux d'absences d'appel est de 0,1 %)
- Longueurs de PolyA \leq 8 (la répétition PolyA de huit nucléotides a été appelée correctement dans 120 des 120 amplicons séquencés contenant PolyA = 8)
- Longueurs de PolyT \leq 10 (la répétition PolyT de dix nucléotides a été appelée correctement dans 120 des 120 amplicons séquencés contenant PolyT = 10)
- Longueurs de PolyG \leq 6 (la répétition PolyG de six nucléotides a été appelée correctement dans 720 des 720 amplicons séquencés contenant PolyG = 6)
- Longueurs de PolyC \leq 6 (la répétition PolyC de six nucléotides a été appelée correctement dans 359 des 360 amplicons séquencés contenant PolyC = 6 et il y a eu une absence d'appel)
- Longueurs de répétition de dinucléotides \leq 4x x (toutes les bases définies dans 600 des 600 amplicons séquencés avec une répétition de dinucléotides de 4 x ont été appelées correctement et le taux d'absences d'appel est de 0,4 %)

- Longueurs de répétition de trinuécléotides $\leq 5 \times$ (toutes les bases définies dans 120 des 120 amplicons séquencés avec une répétition de trinuécléotides de $5 \times$ ont été appelées correctement et le taux d'absences d'appel est de 1,9 %)
- Insertions de 24 bases ou moins et délétions de 25 bases ou moins
 - Les insertions de 24 bases ou moins ont été appelées correctement dans 120 des 120 échantillons
 - Les délétions de 25 bases ou moins ont été appelées correctement dans 182 échantillons et on fait l'objet d'une absence d'appel dans deux des 184 échantillons

Étude 2

Une étude externe a été réalisée pour évaluer la reproductibilité du test représentatif à deux gènes, décrit à l'étude de précision 2, dans trois sites de tests externes (deux opérateurs par site), avec un lot de réactifs, sur trois jours non consécutifs. Les tests ont été faits sur six panels d'échantillons bien caractérisés d'ADN génomique provenant d'échantillons cliniques FFPE ou de lignées cellulaires. Chaque panel comportait 10 éléments, pour un total de 60.

Les 60 éléments des panels étaient formés de doublons de quatre échantillons uniques de type sauvage (pour les mutations du panel), de 12 échantillons mutants uniques (avec une seule mutation) préparés à des niveaux de fréquence de mutation faibles et élevés, et de deux échantillons mutants uniques (avec une seule mutation) préparés uniquement à un faible niveau de fréquence de mutation. Pour chaque échantillon unique/niveau de fréquence de mutation (testé en double dans chaque analyse), il y avait 36 résultats possibles (deux répliquats \times deux opérateurs \times trois jours \times trois sites) si tous les résultats étaient valides.

Le taux d'appels attendus en pour cent pour tous les variants positifs et négatifs a été évalué en comparant les résultats du test représentatif aux résultats attendus des mutations (mutations attendues détectées ou non détectées) dans chaque échantillon. Le taux d'appels attendus en pour cent est calculé en multipliant 100 % par le nombre d'appels attendus, divisé par le nombre d'appels tentés. L'intervalle de confiance bilatéral de 95 % est calculé selon la méthode de Wilson.

Pour l'ensemble des sites, le débit était $\geq 94,7$ % au premier passage de l'échantillon ou pour les échantillons des analyses qui étaient valides au premier passage. Pour l'ensemble des échantillons mutants, le taux d'appels attendus en pour cent au niveau de la mutation était de 99,6 % (905/909) (IC de 95 %; 98,9, 99,8).

Le nombre de tentatives d'appel pour les 56 mutations du panel (que la mutation détectée ait été attendue ou non) pour tous les échantillons valides était de 58 856 (56 \times 1 051). De ces 58 856 observations au niveau de la mutation, les résultats attendus et observés n'étaient discordants que dans six cas; le taux d'appels attendus en pour cent au niveau de la mutation, pour tous les variants positifs et négatifs de tous les éléments mutants ou de type sauvage du panel combinés, était de 99,99 % (58 850/58 856).

Sensibilité analytique (limite de blanc (LB) et limite de détection (LD))

Cette étude servait à évaluer la limite du test et à déterminer la limite de détection (LD) de l'instrument MiSeqDx avec un panel représentatif. En bref, les lignées cellulaires GM12878 et GM12877, bien caractérisées par le Platinum Genome, ont été fixées au formol et imprégnées à la paraffine, puis l'ADN a été extrait. GM12878 a été dilué avec GM12877 de façon à ce que la fréquence de 70 variants (52 SNV, neuf insertions et neuf délétions) soit près de 0,05. Les deux échantillons d'ADN ont été testés par deux opérateurs, sur deux instruments, avec deux lots de réactifs, ce qui a donné un total de dix analyses de séquençage MiSeqDx. Il en a résulté 40 réplicats pour chaque variant de GM12878 et 60 réplicats pour chaque coordonnée correspondante de type sauvage de GM12877, pour chaque lot de réactifs. La LB et la LD ont été calculées au moyen des méthodes habituelles énoncées dans la norme CLSI EP17-A2 en utilisant l'option non paramétrique. La LB et la LD ont été calculées séparément pour les SNV, les insertions et les délétions en regroupant les fréquences de variants pour chaque type de variant. L'erreur de type I a été définie à 0,01 et l'erreur de type II, à 0,05.

Pour la LB, les fréquences de variants regroupées ont été classées de la moins élevée à la plus élevée, et la position arrivant au 99^e rang a été calculée pour chaque lot de réactifs, pour chaque type de variant (tableau 20). Le logiciel de l'instrument MiSeqDx utilise comme limite (la LB appliquée) la fréquence de variants de 0,026 pour déterminer la détection qualitative des variants. La limite de blanc calculée servait à vérifier que cette limite n'entraîne que des erreurs de type I ne dépassant pas 0,01.

Tableau 20 Limite de blanc

| Type de variant | Nombre total de fréquences de variants | LB, Lot de réactifs 1 (en %) | LB, Lot de réactifs 2 (en %) |
|-----------------|--|------------------------------|------------------------------|
| SNV | 3 120 | 0,87 | 0,75 |
| Insertion | 540 | 0,79 | 0,60 |
| Délétion | 540 | 0,96 | 0,84 |

Pour la LB, le pourcentage de la fréquence de chaque mutation pour chaque lot de réactifs et pour chaque type de variant tombant sous la limite de 0,026 a été calculé (tableau 21). Puisque les pourcentages étaient inférieurs à ceux des erreurs de type II, soit 5 % (0,05), la médiane des fréquences de variants combinées a été établie comme LD (tableau 22). La LD de chaque type de variant a été utilisée comme la plus élevée des deux valeurs calculées pour les deux lots de réactifs (5,45 % pour les SNV, 4,88 % pour les insertions et 5,44 % pour les délétions).

Tableau 21 Limite de détection

| Lot de réactifs | Type de variant | Nombre total de fréquences de variants (VF) | Nbre de mesures de VF < 2,6 % | % de mesures de VF < 2,6 % | Limite de détection (%) |
|-----------------|-----------------|---|-------------------------------|----------------------------|-------------------------|
| 1 | SNV | 2 080 | 5 | 0,20 | 5,45 |
| | Insertion | 360 | 0 | 0,00 | 4,86 |
| | Délétion | 360 | 3 | 0,80 | 5,44 |
| 2 | SNV | 2 080 | 26 | 1,30 | 5,44 |
| | Insertion | 360 | 0 | 0,00 | 4,88 |
| | Délétion | 360 | 0 | 0,00 | 5,24 |

Les études suivantes montrent les caractéristiques de performance de l'instrument MiSeqDx avec un autre test représentatif ciblant 56 mutations dans deux gènes du cancer pertinents sur le plan clinique (panel de mutation). Le panel de mutation est conçu pour détecter expressément 56 mutations dans deux gènes du cancer pertinents sur le plan clinique (gène 1 et gène 2).

Le test détermine simultanément la présence ou l'absence de chacune des 56 mutations dans chaque échantillon séquencé. La méthode de référence de ces études est la méthode de séquençage bidirectionnel Sanger.

Précision entre lots

Une étude examinant la précision entre lots a été menée pour évaluer la performance de l'instrument MiSeqDx pour l'ensemble des lots de trousse de réactifs manufacturés (y compris la validation des échantillons, la préparation des librairies et les réactifs de séquençage) au moyen du test représentatif de deux gènes et d'un panel de cinq échantillons FFPE mélangés répondant aux exigences de validation des échantillons. Chaque échantillon FFPE comportait deux mutations uniques : l'une à un niveau de fréquence de mutation peu élevé (environ 8 %) et l'autre à un niveau de fréquence de mutation élevé (environ 14 %). Douze (12) observations ont été obtenues pour chacun des cinq mélanges d'échantillons, sur trois jours non consécutifs, au moyen de trois lots de trousse de réactifs. Le nombre total d'observations de l'étude, pour l'ensemble des lots de réactifs, était de 180 observations pour l'ensemble des mélanges d'échantillons et de 360 observations pour l'ensemble des niveaux de fréquence des mutations. Pour l'ensemble des lots et des jours, 99,7 % des observations (359/360) ont donné les résultats de mutation attendus. Une mutation à fréquence faible a été caractérisée de type sauvage de façon erronée. Une analyse des composantes de variance a été menée pour chaque mutation/niveau de fréquence des mutations, pour estimer la variabilité du système. L'écart-type total varie de 0,011 à 0,029. La composante de l'écart-type total correspondant au lot de réactifs varie de 0 à 0,015.

Brevets et marques de commerce

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.

LE MANQUEMENT À LIRE COMPLÈTEMENT ET À SUIVRE EXPLICITEMENT TOUTES LES INSTRUCTIONS CONTENUES DANS LES PRÉSENTES POURRA CAUSER DES DOMMAGES AU(X) PRODUIT(S), DES BLESSURES AUX PERSONNES, UTILISATEURS OU AUTRES, ET DES DOMMAGES AUX AUTRES BIENS.

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.

Illumina, MiSeqDx, TruSeq, la couleur citrouille et la conception de bases en flux sont des marques de commerce d'Illumina, Inc. ou de ses sociétés affiliées aux États-Unis ou dans d'autres pays. Tous les autres noms, logos et marques de commerce sont la propriété de leurs détenteurs respectifs.

Coordonnées



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, CA 92122 États-Unis
+(1) 800 809-ILMN (4566)
+(1) 858 202-4566 (en dehors de l'Amérique
du Nord)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B. V.
Freddy van Riemsdijkweg
15
5657 EE Eindhoven
Pays-Bas

Commanditaire australien :
Illumina Australia Pty Ltd
Nursing Association
Building
Level 3, 535 Elizabeth
Street
Melbourne, VIC 3000
Australie

Étiquette du produit

Pour voir la liste complète des symboles qui figurent sur l’emballage et l’étiquetage du produit, reportez-vous à la légende des symboles, sur le site support.illumina.com, à l’onglet *Documentation & Literature* (Documentation) propre à votre trousse.