

Trousse de réactifs MiSeqDx v3

DESTINÉ AU DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT

N° de référence 20012552 ou 20037124 : une analyse

Utilisation prévue

La trousse de réactifs MiSeqDx^{MC} v3 d'Illumina est un ensemble de réactifs et de consommables conçu pour le séquençage de bibliothèques d'échantillons, à utiliser avec des tests validés. La trousse de réactifs MiSeqDx v3 est prévue pour une utilisation avec l'instrument MiSeqDx et un logiciel d'analyse.

Principes procéduraux

Au départ, la trousse de réactifs MiSeqDx v3 utilise des bibliothèques préparées à partir d'ADN pour lesquelles des index d'échantillons et des séquences de saisie sont ajoutés à des cibles. Les bibliothèques d'échantillons sont capturées sur la Flow Cell puis séquencées sur l'instrument à l'aide de la chimie de séquençage par synthèse (SBS). La chimie SBS utilise une méthode basée sur des terminateurs réversibles pour détecter les bases à simple nucléotide à mesure qu'elles sont intégrées aux brins d'ADN croissants.

La Notice d'accompagnement de l'instrument MiSeqDx (document n° 1000000021963) présente les instructions pour le séquençage sur l'instrument MiSeqDx.

Limites de la procédure

- 1 Destiné au diagnostic *in vitro*.
- 2 Lectures comprenant des insertions, des délétions, ou une combinaison des deux (indels).
Le contenu dont la longueur est supérieure à 25 pb n'est pas aligné par le logiciel de test. Par conséquent, les indels de plus de 25 pb ne sont pas détectables par le logiciel de test.
- 3 Le système a été validé pour la détection des variants à simple nucléotide (SNV), les délétions d'au plus 25 pb et les insertions d'au plus 24 pb lorsqu'il est utilisé avec le logiciel des modules d'analyse des variants germinaux et somatiques. Pour la définition des variants somatiques, à une fréquence de variant de 0,05, des délétions de 25 pb et des insertions de 18 pb ont été détectées.
- 4 Il se peut que les lectures d'amplicons affichant un contenu de variants extrême ne soient pas alignées par le logiciel de test, et que la région soit ainsi signalée comme étant de type sauvage. Les contenus extrêmes comprennent :
 - ▶ les lectures comportant plus de trois indels;
 - ▶ les lectures d'une longueur d'au moins 30 pb dont le contenu SNV est supérieur à 4 % de la longueur totale d'amplicon cible (excluant les régions sondées);
 - ▶ les lectures d'une longueur inférieure à 30 pb dont le contenu SNV est supérieur à 10 % de la longueur totale d'amplicon cible (y compris les régions sondées);
- 5 Les variants importants, y compris les variants à multiples nucléotides (MNV) et les indels importants, peuvent être désignés comme plusieurs variants distincts de plus petite taille dans le fichier VCF de sortie.
- 6 Les variants de délétion peuvent être filtrés ou omis lorsqu'ils s'étendent sur deux amplicons qui se chevauchent, si la longueur de la délétion est supérieure ou égale au chevauchement entre les amplicons.
- 7 Le système ne peut détecter les indels s'ils sont directement adjacents à un primer et qu'il n'y a pas d'amplicons se chevauchant. Pour les régions contenant des amplicons de chevauchement, le test ne peut pas détecter des délétions lorsque la zone de chevauchement est plus petite que la délétion à détecter. Par exemple, si la région de chevauchement entre deux amplicons adjacents est de deux bases, le test ne détectera aucune délétion, pas même ces deux bases. Une délétion de base unique au niveau de l'une ou l'autre de ces bases peut être détectée.

- 8 Comme avec n'importe quel flux de travail de préparation de librairie de type hybridation, les polymorphismes, mutations, insertions ou délétions sous-jacents dans les régions de liaison d'un oligonucléotide peuvent affecter les allèles sondés et, par conséquent, les définitions obtenues durant le séquençage. Par exemple :
 - ▶ Un variant en phase avec un variant dans la région du primer peut ne pas être amplifié, ce qui entraîne un faux négatif.
 - ▶ Les variants dans la région du primer pourraient empêcher l'amplification de l'allèle de référence et entraîner une définition de variant homozygote erronée.
 - ▶ Les variants d'indels dans la région du primer peuvent entraîner un faux positif à la fin de la lecture adjacente au primer.
- 9 Les indels peuvent être filtrés en raison du biais de brin, s'ils se trouvent près de la fin d'une lecture et sont écrêtés doucement durant l'alignement.
- 10 Les petits MNV n'ont pas été validés et ne sont signalés que dans le module d'analyse des variants somatiques.
- 11 Les délétions sont signalées dans les fichiers VCF aux coordonnées de la base précédente, selon le format VCF. Par conséquent, il faut tenir compte des variants adjacents avant de déclarer qu'un appel de base est une référence homozygote.
- 12 Limites spécifiques au flux de travail germinaux :
 - ▶ Le module d'analyse des variants germinaux de Local Run Manager, utilisé sur l'instrument MiSeqDx, est conçu pour produire des résultats qualitatifs aux fins de la définition des variants germinaux (p. ex., homozygote, hétérozygote, type sauvage).
 - ▶ Lorsque la trousse est utilisée avec le module d'analyse des variants germinaux, la couverture minimale par amplicon requise pour obtenir une définition de variants précise est de 150x. Par conséquent, il faut 150 fragments d'ADN pris en charge, ce qui équivaut à 300 lectures appariées se chevauchant. Le nombre d'échantillons et le nombre total de bases ciblées ont une incidence sur la couverture. Le contenu génomique, notamment la teneur en GC, peut avoir une incidence sur la couverture.
 - ▶ La variation du nombre de copies peut déterminer si un variant est identifié comme étant homozygote ou hétérozygote.
 - ▶ Dans certains contextes répétitifs, les variants sont filtrés dans les fichiers VCF. Le filtre de répétitions RMxN sert à filtrer les variants lorsque la séquence du variant se retrouve, en totalité ou en partie, à répétition dans le génome de référence adjacent à la position du variant. En ce qui concerne la définition des variants germinaux, il faut qu'il y ait au moins neuf répétitions dans le génome de référence pour qu'un variant soit filtré, et seules les répétitions d'une longueur d'au plus 5 pb seront prises en compte (R5x9).
- 13 Limites spécifiques au flux de travail somatique :
 - ▶ Le module d'analyse des variants somatiques de Local Run Manager, utilisé sur l'instrument MiSeqDx, est conçu pour produire des résultats qualitatifs aux fins de la définition des variants somatiques (p. ex., présence d'un variant somatique dont la fréquence de variant est supérieure ou égale à 0,026, avec une limite de détection de 0,05).
 - ▶ Lorsque la trousse est utilisée avec le module d'analyse des variants somatiques, la couverture minimale par amplicon requise pour obtenir une définition de variants précise est de 450x par pool d'oligonucléotides. Par conséquent, il faut 450 fragments d'ADN pris en charge par pool d'oligonucléotides, ce qui équivaut à 900 lectures appariées se chevauchant. Le nombre d'échantillons et le nombre total de bases ciblées ont une incidence sur la couverture. Le contenu génomique, notamment la teneur en GC, peut avoir une incidence sur la couverture.
 - ▶ En ce qui concerne la définition des variants somatiques, il faut qu'il y ait au moins six répétitions dans le génome de référence pour qu'un variant soit filtré, et seules les répétitions d'une longueur d'au plus 3 pb seront prises en compte (R3x6).
 - ▶ Le module d'analyse des variants somatiques ne peut distinguer les variants germinaux des variants somatiques. Le module est conçu pour détecter les variants dans une fourchette de fréquences de variant, mais elle ne peut servir à différencier les variants somatiques et germinaux.
 - ▶ Le tissu normal dans l'échantillon a une incidence sur la détection des variants. La limite de détection indiquée est fondée sur une fréquence de variant relative à l'ADN total extrait des tissus tumoraux et normaux.

Composants du produit

La trousse de réactifs MiSeqDx v3 d'Illumina comprend les composants suivants :

- ▶ Tampon de dilution de librairie, Flow Cell et réactifs de postamplification

Réactifs

Réactifs fournis

La trousse de réactifs MiSeqDx v3 d'Illumina est un ensemble de réactifs et de consommables à usage unique pour une analyse de séquençage comportant une ou plusieurs librairies d'échantillons, sur l'instrument MiSeqDx. Le nombre de librairies d'échantillons dépend du multiplexage pris en charge par la méthode de préparation de librairies en amont.

Consultez les tableaux ci-dessous pour voir la liste complète des réactifs fournis dans cette trousse.

Trousse de réactifs MiSeqDx v3, boîte 1

Tableau 1 Boîte 1 : réactifs de postamplification

Composant	Quantité	Volume de remplissage	Ingrédients actifs	Stockage
Tampon de dilution de librairie	1 tube	4,5 ml	Solution aqueuse tamponnée	de -25 à -15 °C
Cartouche de réactifs MiSeqDx v3 (avec étiquette RFID)	1 de chacun	Divers	Cartouche préremplie à usage unique	de -25 à -15 °C

Trousse de réactifs MiSeqDx v3, boîte 2

Tableau 2 Boîte 2 : réactifs de postamplification

Composant	Quantité	Volume de remplissage	Ingrédients actifs	Stockage
Solution SBS (PR2) MiSeqDx (avec étiquette RFID)	1 flacon	500 ml	Solution aqueuse tamponnée	de 2 à 8 °C
Flow Cell MiSeqDx (avec étiquette RFID)	1 de chacun	s. o.	Flow Cell en verre à usage unique, à lecture appariée, dans une solution aqueuse tamponnée	de 2 à 8 °C

Stockage et manipulation

- 1 La température ambiante correspond à une température de 15 °C à 30 °C.
- 2 Les réactifs suivants sont expédiés congelés et sont stables lorsqu'ils sont stockés entre -25 °C et -15 °C jusqu'à la date de péremption indiquée.
 - ▶ Tampon de dilution de librairie
 - ▶ Cartouche de réactifs MiSeqDx v3

**REMARQUE**

Le tampon de dilution de librairie et la cartouche de réactifs MiSeqDx v3 sont des articles à usage unique qui sont stables jusqu'à ce qu'ils soient décongelés une fois au maximum, à température ambiante, avant la date de péremption indiquée. Une fois la cartouche de réactifs décongelée, on doit y charger la librairie d'échantillons et l'utiliser immédiatement sur l'instrument MiSeqDx. La cartouche décongelée peut aussi être conservée pendant un maximum de 6 heures à une température maintenue entre 2°C et 8°C, puis on doit y charger la librairie d'échantillons et l'utiliser immédiatement sur l'instrument MiSeqDx.

- 3 Les réactifs suivants sont expédiés réfrigérés et sont stables lorsqu'ils sont stockés entre 2 °C et 8 °C jusqu'à la date de péremption indiquée.
 - ▶ Solution SBS (PR2) MiSeqDx
 - ▶ Flow Cell MiSeqDx
 La solution SBS (PR2) MiSeqDx et la Flow Cell MiSeqDx sont des articles à usage unique.
- 4 Les changements dans l'apparence physique des réactifs peuvent indiquer la détérioration des matières. Si des changements dans l'apparence physique se produisent (p. ex., des changements apparents de la couleur des réactifs ou une trace de voile montrant une contamination microbienne), n'utilisez pas les réactifs.

Équipement et matériel requis, vendus séparément

- 1 **Instrument MiSeqDx**, n° de référence DX-410-1001

Avertissements et précautions

**ATTENTION**

La loi fédérale américaine n'autorise la vente de ce dispositif que sur ordonnance ou par un médecin ou tout autre professionnel de la santé autorisé par la législation de l'État dans lequel il ou elle exerce à utiliser ou ordonner l'utilisation de cet appareil.

- 1 **Certains composants de ce test contiennent des produits chimiques potentiellement dangereux. Des risques de lésions corporelles peuvent survenir par inhalation, ingestion, contact avec la peau et contact avec les yeux. Portez un équipement de protection, y compris des lunettes, des gants et une blouse de laboratoire adaptée à l'exposition à ces risques. Traitez les réactifs usagés comme des déchets chimiques et éliminez-les conformément aux lois et règles régionales, nationales et locales en vigueur.** Pour obtenir des renseignements supplémentaires sur l'environnement, la santé et la sécurité, consultez la fiche signalétique sur support.illumina.com/sds.html. (Consultez la section *Réactifs*, page 3 pour obtenir de plus amples renseignements.)
- 2 Le non-respect des procédures décrites peut entraîner des résultats erronés ou une baisse considérable de la qualité des échantillons.
- 3 Utilisez les précautions habituelles en laboratoire. Ne pipettez pas avec la bouche. Ne mangez pas, ne buvez pas et ne fumez pas dans les zones de travail indiquées. Portez des gants jetables et des blouses de laboratoire lors de la manipulation des échantillons et des réactifs du test. Lavez-vous les mains soigneusement après avoir manipulé les échantillons et les réactifs du test.
- 4 Les pratiques de laboratoire appropriées et une bonne hygiène dans le laboratoire sont nécessaires pour empêcher les produits PCR de contaminer les réactifs, les instruments et les échantillons d'ADN génomique. La contamination par des produits PCR peut causer des résultats erronés et non fiables.
- 5 Pour éviter la contamination, veillez à ce que les zones de préamplification et de postamplification aient un équipement réservé (p. ex., pipettes, pointes de pipette, agitateur vortex et centrifugeuse).
- 6 La paire index-échantillon doit correspondre exactement au schéma imprimé de la plaque. Le logiciel Local Run Manager inscrit automatiquement les primers d'index associés au nom de chaque échantillon lorsque ces derniers sont entrés dans le module. Vérifiez les primers d'index associés aux échantillons avant de lancer l'analyse de séquençage. Les inadéquations entre les échantillons et le schéma imprimé de la plaque entraîneront une perte de l'identification positive des échantillons et un rapport de résultats erroné.

Mode d'emploi

Voir la *Notice d'accompagnement de l'instrument MiSeqDx* (document n° 1000000021963).

Caractéristiques de performance

Voir la *Notice d'accompagnement de l'instrument MiSeqDx* (document n° 1000000021963).

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.

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.

Illumina, MiSeqDx et la conception de bases en flux sont des marques de commerce déposées ou en cours de dépôt 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 peuvent apparaître 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.