

Trousse de réactifs MiSeq™Dx v3

DESTINÉ AU DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT

Utilisation prévue

La trousse de réactifs MiSeqDx 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 marqueur fluorescent, à mesure qu'elles sont intégrées aux brins d'ADN croissants.

Pour obtenir des instructions pour réaliser un séquençage sur l'instrument MiSeqDx, consultez la notice d'accompagnement de l'instrument MiSeqDx correspondant à votre zone géographique et à la version du logiciel de l'instrument.

Limites de la procédure

- Destiné au diagnostic *in vitro*.
- Les limites décrites dans cette notice d'accompagnement sont fondées sur des tests représentatifs et des modules de logiciel, dont les modules d'analyse des variants germinaux et d'analyse des variants somatiques de Local Run Manager, qui ont été développés à des fins d'évaluation de la performance avec des tests représentatifs.
- Lectures comprenant des insertions, des suppressions, 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 paires de base (pb) ne sont pas détectables par le logiciel de test.

- Le système a été validé pour la détection des variants à simple nucléotide (SNV), les suppressions 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 suppressions de 25 pb et des insertions de 18 pb ont été détectées.
- 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 de SNV est supérieur à 10 % de la longueur totale d'amplicon (y compris les régions sondées)
- 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.
- Les variants de suppression peuvent être filtrés ou omis lorsqu'ils s'étendent sur deux amplicons qui se chevauchent, si la longueur de la suppression est supérieure ou égale au chevauchement entre les amplicons.
- 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 se chevauchant, le test ne peut pas détecter les suppressions lorsque la zone de chevauchement est plus petite que la suppression à détecter. Par exemple, si la région de chevauchement entre deux amplicons adjacents est de deux bases, le test ne détectera aucune suppression, pas même ces deux bases. Une suppression de base unique au niveau de l'une ou l'autre de ces bases peut être détectée.
- Comme avec n'importe quel flux de travail de préparation de librairie de type hybridation, les polymorphismes, mutations, insertions ou suppressions 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.
- 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.
- Les petits MNV n'ont pas été validés et ne sont signalés que dans le module d'analyse des variants somatiques.

- Les suppressions 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'une définition des bases est une référence homozygote.
- 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 le module d'analyse des variants germinaux est utilisé, 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).
- 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 le module d'analyse des variants somatiques est utilisé, 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 (n° de référence 20037124) comprend les composants suivants :

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

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 au moins une librairie 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	-25 à -15 °C
Cartouche de réactifs MiSeqDx v3 (avec étiquette RFID)	1 de chaque	Divers	Cartouche préremplie à usage unique	-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	2 à 8 °C
MiSeqDx Flow Cell (avec étiquette RFID)	1 de chaque	S. O.	Flow Cell en verre à usage unique, à lecture appariée, dans une solution aqueuse tamponnée	2 à 8 °C

Stockage et manipulation

- La température ambiante correspond à une température de 15 à 30 °C.
- 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.

- 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.

- 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

- **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 praticien autorisé par la législation de l'État dans lequel il ou elle exerce à utiliser ou ordonner l'utilisation de cet appareil.



AVERTISSEMENT

Ce groupe de réactifs contient 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, adapté 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 plus de renseignements relatifs à la protection de l'environnement, à la santé et à la sécurité, consultez la fiche signalétique (SDS) à l'adresse support.illumina.com/sds.html.

(Consultez la section Réactifs à la page 1 pour obtenir de plus amples renseignements.)

- Le non-respect des procédures décrites peut entraîner des résultats erronés ou une baisse considérable de la qualité des échantillons.
- 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 soigneusement les mains après avoir manipulé les échantillons et les réactifs du test.

- 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.
- 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 et centrifugeuse).
- 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.
- Signalez immédiatement tout incident grave lié à ce produit à Illumina et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et le patient résident.

Mode d'emploi

Consultez la notice d'accompagnement de l'instrument MiSeqDx correspondant à votre zone géographique et à la version du logiciel de l'instrument.

Caractéristiques de performance

Consultez la notice d'accompagnement de l'instrument MiSeqDx correspondant à votre zone géographique et à la version du logiciel de l'instrument.

Historique des révisions

N° de document	Date	Description des modifications
N° de document 1000000030849 v04	Novembre 2021	Mise à jour des références figurant dans la notice d'accompagnement de l'instrument MiSeqDx. Mise à jour des sections Limites de la procédure et Avertissements et précautions avec des clarifications supplémentaires. Mises à jour mineures afin d'harmoniser le style et les normes de la documentation Illumina.
N° de document 1000000030849 v03	Août 2021	Mise à jour de l'adresse du représentant autorisé de l'UE. Ajout d'un tableau reprenant l'historique des révisions.

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 ni communiqués, divulgués ou reproduits d'aucune façon sans le consentement écrit préalable d'Illumina. Illumina ne cède aucune licence en vertu de son brevet, de sa marque de commerce, de ses droits d'auteur ou de ses droits traditionnels ni des droits similaires d'un tiers quelconque par 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 SUIVIT 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).

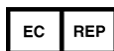
© 2021 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

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.

Coordonnées



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.
Steenoven 19
5626 DK 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 figurer sur l'emballage et l'étiquetage du produit, reportez-vous à la légende des symboles de votre trousse sur le site support.illumina.com.