

Module d'analyse du test de 139 variants de la fibrose kystique dans Local Run Manager

Guide du flux de travail

DESTINÉ AU DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT

Vue d'ensemble	3
Saisie des renseignements sur l'analyse	3
Méthodes d'analyse	5
Afficher l'analyse et les résultats	5
Rapports de résultats	6
Historique des révisions	8
Assistance technique	9



Ce document et son contenu sont exclusifs à Illumina, Inc. et ses sociétés affiliées (« Illumina »), et 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).

© 2017 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.

Vue d'ensemble

Le module d'analyse des 139 variants de la fibrose kystique dans Local Run Manager est destiné à être utilisé avec le test de 139 variants de la fibrose kystique MiSeqDx d'Illumina. Le test détecte 139 mutations pertinentes sur le plan clinique provoquant la fibrose kystique et identifie des variants du gène régulateur de la perméabilité transmembranaire de la fibrose kystique (*CFTR*) dans l'ADN génomique isolé d'échantillons de sang entier périphérique d'origine humaine. Le module d'analyse effectue l'analyse secondaire et génère les rapports à la suite des analyses de séquençage faites au moyen du test de 139 variants de la fibrose kystique MiSeqDx. Voir la notice d'accompagnement du *test de 139 variants de la fibrose kystique MiSeqDx* (document n° 15038347).

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

À propos de ce guide

Le présent guide fournit des instructions sur la configuration des paramètres d'analyse pour le séquençage et l'analyse du module d'analyse des 139 variants de la fibrose kystique. Pour obtenir de l'information sur le tableau de bord de Local Run Manager et les paramètres du système, consultez le *Guide de référence du logiciel Local Run Manager pour MiSeqDx* (document n° 1000000011880).

Saisie des renseignements sur l'analyse

Configuration des paramètres

- 1 Ouvrez une session dans Local Run Manager.
- 2 Cliquez sur **Create Run** (Créer l'analyse) et sélectionnez **CF 139** (139 variants de la fibrose kystique).
- 3 Entrez un nom qui désignera l'analyse, du séquençage jusqu'à la fin de du processus.
Utilisez des caractères alphanumériques, des espaces, des traits de soulignement ou des tirets.
- 4 [Facultatif] Saisissez une description de l'analyse, pour l'identifier.
Utilisez des caractères alphanumériques.

Préciser les échantillons à analyser

Précisez les échantillons à analyser en procédant comme suit :

► Saisie manuelle des échantillons

- 1 Sélectionnez le nombre d'échantillons dans le menu déroulant Number of Samples (Nombre d'échantillons).
Tenez compte de ce qui suit lorsque vous faites votre sélection.
 - Choisissez le nombre d'échantillons le plus près du nombre d'échantillons que vous testez. La liste déroulante contient des échantillons en multiples de huit. Si le nombre exact d'échantillons ne figure pas dans la liste, sélectionnez le nombre le plus près, mais qui est inférieur au nombre d'échantillons testés, pour que les exigences de diversité d'index soient respectées. Par exemple, si vous voulez tester 18 échantillons, sélectionnez 16 échantillons. Ajoutez ensuite deux échantillons supplémentaires. Assurez-vous de choisir des adaptateurs d'index pour les puits supplémentaires.

- ▶ Pour 48 échantillons, il y a deux configurations possibles. La première correspond à 48 – jeu 1 et l'autre, à 48 – jeu 2. Les jeux de configuration contiennent diverses amorces d'index i7 et des emplacements de puits différents. Ces jeux peuvent servir à configurer deux analyses de séquençage, pour un total de 96 échantillons.
- 2 Utilisez le tableau vide à l'écran Create Run (Créer l'analyse).
Les puits d'échantillons suggérés sont en surbrillance.
- ▶ **Importation des échantillons** : Accédez à un fichier externe aux valeurs séparées par des virgules (*.csv). Un modèle peut être téléchargé à l'écran Create Run (Créer l'analyse).

Après avoir généré le tableau d'échantillons, vous pouvez exporter l'information sur les échantillons dans un fichier externe et utiliser ce fichier comme référence lorsque vous préparez des bibliothèques, ou vous pouvez importer le fichier pour une autre analyse.

Saisie manuelle des échantillons

- 1 Entrez un nom d'échantillon distinct dans le champ Sample Name (Nom de l'échantillon).
Utilisez des caractères alphanumériques, des tirets ou des traits de soulignement.
- 2 Faites un clic droit et sélectionnez les échantillons de contrôle positifs et négatifs.
- 3 [Facultatif] Entrez la description de l'échantillon à l'onglet Description.
Utilisez des caractères alphanumériques, des tirets ou des traits de soulignement.
- 4 [Facultatif] Sélectionnez l'adaptateur d'index 1 dans la liste déroulante Index 1 (i7).
Cette étape est facultative parce que la combinaison des index i7 et i5 qui remplit automatiquement les données sur les puits en surbrillance respecte déjà les exigences de diversité d'index.
- 5 [Facultatif] Sélectionnez l'adaptateur d'index 2 dans la liste déroulante Index 2 (i5).
Cette étape est facultative parce que la combinaison des index i7 et i5 qui remplit automatiquement les données sur les puits en surbrillance respecte déjà les exigences de diversité d'index.
- 6 Cliquez sur l'icône  **Print** (Imprimer) pour afficher la présentation de la plaque.
- 7 Sélectionnez **Print** (Imprimer) pour imprimer la présentation de la plaque à titre de référence pour la préparation des bibliothèques.
- 8 [Facultatif] Cliquez sur **Export** (Exporter) pour exporter l'information sur les échantillons dans un fichier externe.
- 9 Cliquez sur **Save Run** (Enregistrer l'analyse).

Importation des échantillons

- 1 Cliquez sur **Import Samples** (Importer les échantillons) et accédez à l'emplacement du fichier d'information sur les échantillons. Vous pouvez importer deux types de fichiers.
 - ▶ Cliquez sur **Template** (Modèle) à l'écran Create Run (Créer l'analyse) pour établir une nouvelle présentation de plaque. Le fichier modèle contient les bons en-têtes de colonnes en vue de l'importation. Entrez l'information sur les échantillons dans chaque colonne en vue de l'analyse. Supprimez l'information donnée en exemple dans les cellules inutilisées, puis enregistrez le fichier.

Sample_Name	Description	I7_Index_ID	I5_Index_ID	Sample_Well	Control
Sample1		A701	A503	A01	
Sample2		A701	A503	A02	
Sample3		A701	A504	A03	
Sample4		A702	A504	A04	
Sample5		A702	A505	A05	
Sample6		A702	A505	A06	
Sample7		A710	A503	A07	Positive
Sample8		A710	A504	A08	Negative

- ▶ Utilisez un fichier d'information sur les échantillons qui a été exporté du module d'analyse des 139 variants de la fibrose kystique en utilisant la fonction Export (Exporter).
- 2 Cliquez sur l'icône  **Print** (Imprimer) pour afficher la présentation de la plaque.
- 3 Sélectionnez **Print** (Imprimer) pour imprimer la présentation de la plaque à titre de référence pour la préparation des bibliothèques.
- 4 [Facultatif] Cliquez sur **Export** (Exporter) pour exporter l'information sur les échantillons dans un fichier externe.
- 5 Cliquez sur **Save Run** (Enregistrer l'analyse).

Modification d'une analyse

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

Méthodes d'analyse

Pour obtenir une description des méthodes d'analyse du test de 139 variants de la fibrose kystique MiSeqDx, reportez-vous à la notice d'accompagnement du *test de 139 variants de la fibrose kystique MiSeqDx (document n° 15038347)*.

Afficher l'analyse et les résultats

- 1 Dans le tableau de bord de Local Run Manager, cliquez sur le nom de l'analyse.
- 2 À l'onglet Run Overview (Aperçu de l'analyse), vérifiez les indicateurs de l'analyse de séquençage.
- 3 [Facultatif] Cliquez sur l'icône **Copy to Clipboard**  (Copier dans le bloc-notes) pour copier le chemin de sortie du dossier d'analyse.
- 4 Cliquez sur l'onglet Sequencing Information (Renseignements sur le séquençage) pour vérifier les paramètres de l'analyse et les renseignements sur les consommables.
- 5 Cliquez sur l'onglet Samples and Results (Échantillons et résultats) pour voir l'emplacement du fichier des résultats de l'analyse.
L'onglet comporte aussi une liste d'échantillons qui résume le débit d'appel, la performance et l'information sur les contrôles.
 - ▶ Si l'analyse est répétée, développez le menu déroulant Select Analysis (Sélectionner l'analyse) et choisissez l'analyse appropriée.

6 [Facultatif] Double-cliquez sur le champ Comment (Commentaire) pour entrer un commentaire sur un échantillon de la liste.

7 Sélectionnez les échantillons dans la liste pour afficher les renseignements détaillés sur les variants. Les renseignements détaillés sur les variants des échantillons se trouvent sous la liste des échantillons.

Pour plus de renseignements sur les onglets Run Overview (Aperçu de l'analyse) et Sequencing Information (Renseignements sur le séquençage), ainsi que sur la façon de remettre une analyse en file d'attente, consultez le *Guide de référence du logiciel Local Run Manager pour MiSeqDx (document n° 1000000011880)*.

Rapports de résultats

Après l'analyse secondaire, les résultats de l'analyse sont résumés à l'onglet Samples and Results (Échantillons et résultats). Un fichier (de sortie) des résultats de l'analyse pour le test résume également les résultats dans un fichier de texte séparé par des tabulations nommé MiSeqDxCF139VariantAssay.txt.

Renseignements sur les échantillons

Tableau 1 Renseignements sur la liste d'échantillons

Titre de la colonne	Description
Sample Name (Nom de l'échantillon)	Le nom de l'échantillon indiqué lors de la création de l'analyse.
Sample ID (Identifiant de l'échantillon)	Le nom de l'échantillon indiqué lors de la création de l'analyse, combiné à l'identifiant de l'analyse attribué par le logiciel Local Run Manager. Si vous remettez une analyse en file d'attente, la partie de l'identifiant de l'échantillon qui correspond au nom de l'échantillon demeure la même, tandis que l'identifiant de l'analyse change. Ce champ se trouve dans le fichier *.txt seulement.
Sample Call Rate (Taux de définition de l'échantillon)	Nombre de positions de variants atteignant un seuil de valeur de confiance prédéfini divisé par le nombre total de positions de variants interrogées. Le débit d'appel est décrit pour chaque échantillon et indiqué par un pourcentage qui est calculé comme suit : 1 moins [nombre de positions de variants avec appels incomplets divisé par le nombre total de positions de variants séquencées].
Performance	Classement Pass (Réussite) ou Fail (Échec) en fonction du débit d'appel. Pour un échantillon de contrôle positif : <ul style="list-style-type: none"> • PASS (Réussite) – débit d'appel ≥ 99 % • FAIL (Échec) – débit d'appel < 99 % Pour un échantillon de contrôle négatif : <ul style="list-style-type: none"> • PASS (Réussite) – débit d'appel ≤ 10 % • FAIL (Échec) – débit d'appel > 10 % Pour un échantillon non étiqueté comme un contrôle positif ou négatif : <ul style="list-style-type: none"> • PASS (Réussite) – débit d'appel ≥ 99 % • FAIL (Échec) – débit d'appel < 99 %
Control (Contrôle)	Le type de contrôle indiqué lors de la création de l'analyse. Les valeurs peuvent être positives ou négatives. Un champ vide indique un échantillon uniquement.
Comment (Commentaire)	Champ de texte facultatif pour les commentaires. Pour entrer un commentaire, double-cliquez sur le champ Comment (Commentaire). Les commentaires saisis dans ce champ sont enregistrés dans le fichier de rapport d'analyse, MiSeqDxCF139VariantAssay.txt. Si une analyse est remise en file d'attente, un nouveau fichier de rapport est écrit. Les commentaires d'une analyse précédente ne sont pas reportés dans l'analyse suivante.

Renseignements sur les variants d'échantillon

Tableau 2 Tableau des variants

Titre de la colonne	Description
Mutations Name (Nom des mutations) Mutations (Common Name) (Mutations (Nom courant))	Nom courant du variant de la fibrose kystique, tel que décrit dans la base de données CFTR2. Le nom du champ est Mutations (Common Name) (Mutations (Nom courant)) dans le fichier *.txt.
Mutations Type (Type de mutation)	Le type de variant. <ul style="list-style-type: none"> • SNV (Single Nucleotide Variant) : variant à simple nucléotide • DIV (Deletion Insertion Variant) : variant de délétion/insertion • DEL (Large deletion) : grande délétion • PolyTGPolyT : génotype PolyTG/PolyT dans le gène de la fibrose kystique
dbSNP rsID (Identifiant rs dbSNP)	L'identifiant rs dbSNP du variant, le cas échéant.
CFTR Gene Region (Région de gène CFTR)	La région de gène CFTR (n° exon ou n° intron) où se trouve un variant.
Genomic Location (Emplacement génomique)	L'emplacement génomique du variant dans le chromosome 7.
cDNA Name (Nom de l'ADNc) cDNA Name (HGVS) (Nom de l'ADNc (HGVS))	Description du variant au niveau de l'ADN en utilisant la nomenclature de séquence d'ADN codant (ADNc), tel qu'il est recommandé par la Human Genome Variation Society (HGVS). Le nom du champ est cDNA Name (HGVS) (Nom de l'ADNc (HGVS)) dans le fichier *.txt.
Protein Name (Nom de la protéine) Protein Name (HGVS) (Nom de la protéine (HGVS))	Description d'un variant au niveau de la protéine en utilisant la nomenclature de séquence protéique, tel qu'il est recommandé par la Human Genome Variation Society (HGVS). Le nom du champ est Protein Name (HGVS) (Nom de la protéine (HGVS)) dans le fichier *.txt.
Result (Résultat)	Génotype de variant. Pour les SNV, DIV et DEL : <ul style="list-style-type: none"> • HET : hétérozygote • HOM : homozygote Pour un variant PolyTGPolyT, le génotype réel est signalé. REMARQUE : le PolyTGPolyT est signalé uniquement lors de la détection du variant R117H.

Fichier des résultats d'analyse

Les résultats figurant dans le fichier d'analyse sont identiques à ceux qui se trouvent à l'onglet Sample and Results (Échantillons et résultats). Consultez la section [Renseignements sur les échantillons](#), page 6 et la section [Renseignements sur les variants d'échantillon](#), page 7.

- 1 Choisissez l'une des options suivantes pour voir le fichier des résultats d'analyse MiSeqDxCf139VariantAssay.txt.
 - ▶ À l'onglet Sample and Results (Échantillons et résultats), cliquez sur **Export Data** (Exporter les données).
 - ▶ Ouvrez le fichier dans le dossier Alignment (Alignement).
Le chemin menant au dossier Alignment (Alignement) est affiché à l'onglet Samples and Results (Échantillons et résultats), dans le champ Analysis Folder (Dossier d'analyse).
Une fois l'analyse terminée, le fichier des résultats d'analyse est écrit dans le dossier Alignment (Alignement) de l'analyse.
Par exemple : MiSeqAnalysis\X représente l'identifiant de l'analyse. AAAAMMJJ correspond à la date de l'analyse. N est le numéro séquentiel qui augmente si l'analyse a été répétée ou remise en file d'attente.

Tableau 3 En-tête de fichier MiSeqDxCF139VariantAssay.txt

Titre de la colonne	Description
Test	Description du test qui a été effectué.
Run ID (Identifiant de l'analyse)	L'identifiant de l'analyse généré par le logiciel MiSeq Operating Software (MOS) au début de l'analyse de séquençage.
Run Date (Date de l'analyse)	La date (JJMMAA) à laquelle l'analyse de séquençage a été lancée dans MOS.
Analysis Version (Version de l'analyse)	La version du module d'analyse des 139 variants de la fibrose kystique dans Local Run Manager qui a été utilisée pour l'analyse.

Historique des révisions

Document	Date	Description des modifications
Document n° 1000000012184 v01	Août 2017	<p>Changement du nom de la section Rapport d'analyse, qui devient Rapports de résultats.</p> <p>Ajout de renseignements sur les différences touchant le nom des champs entre le logiciel Local Run Manager et le fichier *.txt dans les sections Renseignements sur les échantillons et Renseignements sur les variants d'échantillon.</p> <p>Ajout d'une description de l'identifiant de l'échantillon.</p> <p>Suppression des renseignements de la section Méthodes d'analyse.</p> <p>Les méthodes d'analyse sont présentées de façon détaillée dans la notice d'accompagnement du <i>test de 139 variants de la fibrose kystique MiSeqDx (document n° 15038347)</i>.</p> <p>Dans la section Préciser les échantillons à analyser, des renseignements ont été ajoutés pour indiquer que les jeux 1 et 2 de la configuration à 48 échantillons peuvent être utilisés pour les analyses comportant 96 échantillons et deux analyses de séquençage.</p> <p>Dans la section Saisie manuelle des échantillons, les points suivants ont été révisés :</p> <ul style="list-style-type: none"> • Modification de l'étape 1, où l'identifiant de l'échantillon est maintenant appelé le nom de l'échantillon, pour assurer l'uniformité avec le logiciel. • Modification de l'étape 2 pour indiquer que des échantillons de contrôle positif et négatif sont requis. • Modification de l'étape 3 pour indiquer que les espaces ne peuvent pas être utilisés dans les descriptions d'échantillons. <p>Déplacement de la section Modification des renseignements sur l'analyse dans le <i>Guide de référence du logiciel Local Run Manager pour MiSeqDx (document n° 1000000011880)</i>.</p> <p>Dans le tableau des exemples de la section Importation des échantillons, ajout de zéros devant les chiffres de la colonne Sample_Well (Échantillon_Puits). Bien qu'il soit possible de créer un fichier d'importation des échantillons sans ces zéros, le tableau est maintenant conforme au modèle fourni par le logiciel.</p> <p>Dans la section Fichier des résultats d'analyse, ajout de renseignements sur la convention de nomenclature du dossier Alignment (Alignement) qui précisent que N est un numéro séquentiel qui augmente si l'analyse a été répétée ou remise en file d'attente.</p> <p>Ajout du présent historique des révisions.</p>
Document n° 1000000012184 v00	Juin 2017	Publication originale.

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	400 635 9898	
Danemark	+45 80820183	+45 89871156
Finlande	+358 800918363	+358 974790110
France	+33 805102193	+33 170770446
Hong Kong	800 960 230	
Irlande	+353 1800936608	+353 016950506
Italie	+39 800985513	+39 236003759
Japon	0800 111 5011	
Pays-Bas	+31 8000222493	+31 207132960
Nouvelle-Zélande	0 800 451 650	
Norvège	+47 800 16836	+47 21939693
Singapour	+1 800 579 2745	
Espagne	+34 911899417	+34 800300143
Suède	+46 850619671	+46 200883979
Suisse	+41 565800000	+41 800200442
Taiwan	00806 65 1752	
Royaume-Uni	+44 8000126019	+44 2073057197
Autres pays	+44 1799 534 000	

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 Cambridge Limited
Chesterford Research Park, Little Chesterford
Saffron Walden, CB10 1XL
ROYAUME-UNI

Commanditaire australien :
Illumina Australia
1 International Court
Scoresby, Victoria, 3179
Australie

DESTINÉ AU DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT

© 2017 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

illumina®