

MiSeq™ Dx Reagent Kit v3 Micro

DESTINÉ AU DIAGNOSTIC IN VITRO UNIQUEMENT

Utilisation prévue

Le kit Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 Micro est un ensemble de réactifs et de consommables destinés au séquençage des bibliothèques d'échantillons lorsqu'il est utilisé avec des tests validés. Le kit MiSeqDx Reagent Kit v3 Micro est destiné à être utilisé avec l'instrument et le logiciel d'analyse MiSeqDx.

Principes de procédure

Pour son entrée, le kit MiSeqDx Reagent Kit v3 Micro utilise des bibliothèques préparées à partir de l'ADN où les index d'échantillons et les séquences de capture sont ajoutés aux cibles. Les bibliothèques d'échantillons sont capturées sur une cellule de débit et séquencées sur l'instrument à l'aide de la chimie de séquençage par synthèse (SBS). La chimie SBS utilise une méthode de terminaison réversible pour détecter les bases nucléotidiques uniques marquées par fluorescence lorsqu'elles sont incorporées dans des brins d'ADN en croissance.

Le kit MiSeqDx Reagent Kit v3 Micro est conçu pour prendre en charge un débit d'échantillons inférieur pour les tests sélectionnés en mode Dx. Reportez-vous à la notice du test pour les instructions.

Pour obtenir des instructions sur l'exécution du séquençage sur l'instrument MiSeqDx, reportez-vous à la [Notice de l'instrument MiSeqDx](#) pour votre région et la version du logiciel de l'instrument.

Le kit MiSeqDx Reagent Kit v3 Micro est destiné à être utilisé avec des instruments exécutant le MiSeq Operating Software (MOS) v4 ou une version ultérieure.

Limites de la procédure

- Pour diagnostic *in vitro*.
- Les limitations décrites dans cette notice s'appuient sur des tests et des modules logiciels représentatifs, incluant les modules Local Run Manager Germline Variant et Somatic Variant, qui ont été développés dans le but d'évaluer les performances avec des tests représentatifs.
- Lectures contenant des insertions, des délétions ou des combinaisons de celles-ci (indels).
Le contenu de longueur > 25 pb n'est pas aligné par le logiciel de test. Par conséquent, les indels d'une longueur > 25 paires de bases (pb) ne sont pas détectables par le logiciel de dosage.

- Le système a été validé pour la détection de variants nucléotidiques simples (SNV), de délétions de 25 pb maximum et d'insertions de 24 pb lorsqu'il est utilisé avec le logiciel des modules Germline et Somatic Variant. Pour les appels somatiques, à une fréquence variable de 0,05, des délétions de 25 pb et des insertions de 18 pb ont été détectées.
- Il est possible que le logiciel de test n'aligne pas les lectures d'amplicon présentant du contenu de variant extrême, ce qui fait que la région est signalée comme de type sauvage. Ce contenu extrême comprend :
 - Lectures contenant plus de trois indels
 - Lectures d'une longueur d'au moins 30 pb avec une teneur en SNV > 4 % de la longueur cible totale de l'amplicon (à l'exclusion des régions sondées)
 - Lectures d'une longueur < 30 pb avec une teneur en SNV > 10 % de la longueur totale de l'amplicon (y compris les régions sondées)
- Les grands variants, y compris les variants multinucléotidiques (MNV) et les grandes indels, peuvent être signalées comme des variants plus petits distincts dans le fichier VCF de sortie.
- Les variants de délétion peuvent être filtrés ou manqués lorsqu'ils s'étendent sur deux amplicons en mosaïque, si la longueur de délétion est supérieure ou égale au chevauchement entre les amplicons en mosaïque.
- Le système ne peut pas détecter les indels si elles se trouvent directement à côté d'un primer et sans chevauchement d'amplicon. Pour les régions où des amplicons se chevauchent, il est possible que le test ne détecte pas les délétions lorsque la région de chevauchement est inférieure à la taille de la délétion à détecter. Par exemple, si la région de chevauchement entre deux amplicons adjacents est de deux bases, le test ne peut détecter aucune délétion incluant ces deux bases. Une délétion d'une seule base au niveau de l'une ou l'autre de ces bases peut être détectée.
- Comme pour toute préparation de librairie basée sur l'hybridation, les polymorphismes sous-jacents, les mutations, les insertions ou les délétions dans les régions de liaison aux oligonucléotides peuvent affecter les allèles sondés et, par conséquent, les appels effectués lors du séquençage. Par exemple :
 - Un variant en phase avec un variant dans la zone de primer peut ne pas être amplifié et peut résulter en un faux négatif.
 - Des variants dans la zone de primer pourraient empêcher l'amplification de l'allèle de référence, entraînant un appel de variant homozygote incorrect.
 - Les variants indel dans la zone de primer peuvent provoquer un appel faux-positif à la fin de la lecture adjacente au primer.
- Les indels peuvent être filtrées en raison d'une distorsion du brin si elles surviennent à proximité de la fin d'une lecture et sont ignorées lors de l'alignement.
- Les petits MNV n'ont pas été validés et ne sont signalés que dans le module Somatic Variant.

- Les délétions sont signalées dans le VCF à la coordonnée de la base précédente conformément au format VCF. Par conséquent, considérez les variants adjacents avant de signaler qu'un appel de base individuel est une référence homozygote.
- Limites spécifiques au module Germline Variant :
 - L'instrument MiSeqDx, qui utilise le module Germline Variant du Local Run Manager, est conçu pour fournir des résultats qualitatifs pour l'appel de variants germinaux (par exemple, homozygote, hétérozygote, de type sauvage).
 - Lorsqu'il est utilisé avec le module Germline Variant, la couverture minimale par amplicon nécessaire pour un appel de variant précis est de 150x. En conséquence, 150 fragments d'ADN de support sont nécessaires, ce qui équivaut à 300 lectures appariées qui se chevauchent. Le nombre d'échantillons et le nombre total de bases ciblées affectent la couverture. La teneur en GC et d'autres contenus génomiques peuvent affecter la couverture.
 - La variation du nombre de copies peut avoir une influence sur l'identification d'un variant comme homozygote ou hétérozygote.
 - Dans certains contextes répétitifs, les variants sont filtrés dans les fichiers VCF. Le filtre de répétition RMxN est utilisé pour filtrer les variants si tout ou partie de la séquence variante est présente de manière répétée dans le génome de référence adjacent à la position variante. Pour l'appel de variants germinaux, au moins neuf répétitions dans la référence sont nécessaires pour qu'un variant soit filtré, et seules les répétitions d'une longueur de 5 pb maximum sont prises en compte (R5x9).
- Limites spécifiques au module Somatic Variant :
 - L'instrument MiSeqDx, qui utilise le module Somatic Variant du Local Run Manager, est conçu pour fournir des résultats qualitatifs pour l'appel de variants somatiques (par exemple, présence d'un variant somatique avec une fréquence de variant $\geq 0,026$ pour une limite de détection de 0,05).
 - Lorsqu'il est utilisé avec le module Somatic Variant, la couverture minimale par amplicon nécessaire pour un appel précis des variants est de 450x par pool d'oligonucléotides. En conséquence, 450 fragments d'ADN de support sont nécessaires par pool d'oligonucléotides, ce qui équivaut à 900 lectures appariées qui se chevauchent. Le nombre d'échantillons et le nombre total de bases ciblées affectent la couverture. La teneur en GC et d'autres contenus génomiques peuvent affecter la couverture.
 - Pour l'appel de variants somatiques, au moins six répétitions dans la référence sont nécessaires pour que le variant soit filtré, et seules les répétitions d'une longueur de 3 pb maximum sont prises en compte (R3x6).
 - Le module Somatic Variant ne peut pas différencier les variants germinaux des variants somatiques. Le module est conçu pour détecter des variants sur une gamme de fréquences de variants, mais la fréquence de variants ne peut pas être utilisée pour différencier les variants somatiques des variants germinaux.

- Le tissu normal dans l'échantillon a un impact sur la détection des variants. La limite de détection signalée est basée sur une fréquence variable par rapport à l'ADN total extrait à la fois de la tumeur et du tissu sain.

Composants du produit

Le kit Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 Micro, n° de référence 20063860, comprend les éléments suivants :

- Tampon de dilution de la librairie, cellule de débit et réactifs post-amplification

Réactifs fournis

Le kit Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 Micro est un ensemble à usage unique de réactifs et de consommables pour le séquençage d'une série d'une ou de 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 librairie en amont.

Reportez-vous aux tableaux suivants pour une liste complète des réactifs fournis dans ce kit.

MiSeqDx Reagent Kit v3 Micro, boîte 1

Tableau 1 Boîte 1 Réactifs post-amplification

Composant	Quantité	Volume de remplissage	Ingrédients actifs	Stockage
Tampon de dilution de librairie	1 tube	4,5 ml	Solution aqueuse tamponnée	-25 °C à -15 °C
MiSeqDx Reagent v3 Cartridge Micro Kit (étiqueté RFID)	1 de chaque	Divers	Cartouche préremplie à usage unique	-25 °C à -15 °C

MiSeqDx Reagent Kit v3 Micro, boîte 2

Tableau 2 Boîte 2 Réactifs post-amplification

Composant	Quantité	Volume de remplissage	Ingrédients actifs	Stockage
MiSeqDx SBS Solution (PR2) (étiquetée RFID)	1 flacon	500 ml	Solution aqueuse tamponnée	2 °C à 8 °C
MiSeqDx Flow Cell (étiquetée RFID)	1 de chaque	Non applicable	Cellule de débit en verre à usage unique, à extrémité jumelée, dans une solution aqueuse tamponnée	2 °C à 8 °C

Stockage et manutention

- La température ambiante est définie entre 15 °C et 30 °C.
- Les réactifs suivants sont expédiés congelés et sont stables lorsqu'ils sont conservés entre -25 °C et -15 °C jusqu'à la date de péremption spécifiée.
 - Tampon de dilution de librairie
 - MiSeqDx Reagent v3 Cartridge Micro Kit

REMARQUE : Le tampon de dilution de librairie et le MiSeqDx Reagent v3 Cartridge Micro Kit sont à usage unique et sont stables pour une décongélation maximum à température ambiante avant la date de péremption spécifiée. Une fois décongelée, la cartouche de réactifs doit être chargée avec la librairie d'échantillons et le cycle doit être immédiatement lancé sur l'instrument MiSeqDx. Autrement, la cartouche de réactifs décongelée peut être conservée entre 2 °C et 8 °C pendant 6 heures maximum, à la suite de quoi elle doit être chargée avec la librairie d'échantillons et le cycle doit être immédiatement lancé sur l'instrument MiSeqDx.

- Les réactifs suivants sont expédiés réfrigérés et sont stables lorsqu'ils sont conservés entre 2 °C et 8 °C jusqu'à la date de péremption spécifiée.
 - MiSeqDx SBS Solution (PR2)
 - MiSeqDx Flow Cell
 MiSeqDx SBS Solution (PR2) et MiSeqDx Flow Cell sont à usage unique.

- Des changements dans l'apparence physique des réactifs peuvent indiquer une détérioration des matériaux. En cas de changements dans l'apparence physique (par exemple, une modification manifeste de la couleur du réactif ou un trouble apparent avec 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 réserve la vente de cet appareil par ou sur l'ordre d'un médecin ou d'un autre praticien autorisé par la loi de l'État dans lequel il exerce, à utiliser ou à ordonner l'utilisation de l'appareil.



AVERTISSEMENT

Cet ensemble de réactifs contient des produits chimiques potentiellement dangereux. Des blessures corporelles peuvent survenir par inhalation, ingestion, contact avec la peau et contact avec les yeux. Porter un équipement de protection, y compris une protection oculaire, des gants et une blouse de laboratoire adaptés au risque d'exposition. Manipuler les réactifs usagés comme des déchets chimiques et les mettre au rebut conformément aux lois et règles régionales, nationales et locales en vigueur. Pour plus d'informations sur l'environnement, la santé et la sécurité, reportez-vous à la fiche de données de sécurité (FDS) à l'adresse support.illumina.com/sds.html.

(Pour plus d'information, voir Réactifs à la page 1.)

- Le non-respect des procédures décrites peut entraîner des résultats erronés ou une réduction significative de la qualité de l'échantillon.
- Utiliser les précautions de laboratoire de routine. Ne pas pipeter à la bouche. Ne pas manger, boire ou fumer dans les zones de travail désignées. Porter des gants jetables et une blouse de laboratoire lors de la manipulation des échantillons et des réactifs de dosage. Se laver soigneusement les mains après avoir manipulé des échantillons et des réactifs de dosage.

- Des pratiques de laboratoire appropriées et une bonne hygiène de laboratoire sont nécessaires pour empêcher les produits PCR de contaminer les réactifs, les instruments et les échantillons d'ADN génomique. La contamination par PCR peut entraîner des résultats inexacts et peu fiables.
- Pour éviter toute contamination, assurez-vous que les zones de pré-amplification et de post-amplification disposent d'un équipement dédié (par exemple, pipettes, embouts de pipette, vortex et centrifugeuse).
- Le jumelage index-échantillon doit correspondre exactement à la disposition du plateau imprimé. Local Run Manager renseigne automatiquement les primers d'indexation associés avec les noms d'échantillons lorsqu'ils ont été saisis dans le module. Vérifiez que les primers d'indexation sont bien associés aux échantillons avant de commencer le cycle de séquençage. Des décalages entre la disposition du plateau imprimé et l'échantillon entraîneront la perte de l'identification positive de l'échantillon et des erreurs dans le rapport de résultats.
- 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/ou le patient est établi.

Mode d'emploi

Référez-vous à la [Notice de l'instrument MiSeqDx](#) pour votre région et la version du logiciel de l'instrument.

Caractéristiques de performance

Référez-vous à la [Notice de l'instrument MiSeqDx](#) pour votre région et la version du logiciel de l'instrument.

Historique de révision

Document n°	Date	Description de la modification
Document n° 200008456 v00	Mai 2022	Publication initiale.

Brevets et Marques

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 le présent document et à aucun autre usage. Ce document et son contenu ne doivent pas être utilisés ou distribués à d'autres fins et/ou communiqués, divulgués ou reproduits de quelque manière que ce soit sans le consentement écrit préalable d'Illumina. Illumina ne cède aucune licence en vertu de ses brevets, marques, droits d'auteur ou droits de common law, ni de droits similaires de tiers par ce document.

Les instructions contenues dans ce document doivent être strictement et explicitement suivies par un personnel qualifié et correctement formé afin de garantir une utilisation optimale et sûre du ou des produits décrits dans ce document. Le contenu de ce document doit être lu et compris dans son intégralité avant toute utilisation de ce(s) produit(s).

LE NON-RESPECT DE L'ENSEMBLE DES INSTRUCTIONS CONTENUES DANS LE PRÉSENT DOCUMENT PEUT ENTRAÎNER DES DOMMAGES AU(X) PRODUIT(S), DES BLESSURES AUX PERSONNES, Y COMPRIS LES UTILISATEURS OU D'AUTRES PERSONNES, ET DES DOMMAGES AUX AUTRES BIENS, ET ANNULERA TOUTE GARANTIE APPLICABLE AU(X) PRODUIT(S).

ILLUMINA N'ASSUME AUCUNE RESPONSABILITÉ DÉCOULANT DE L'UTILISATION INCORRECTE DU OU DES PRODUITS DÉCRITS DANS LE PRÉSENT DOCUMENT (Y COMPRIS LES PARTIES DE CEUX-CI OU LE LOGICIEL).

© 2022 Illumina, Inc. Tous droits réservés.

Toutes les marques sont la propriété d'Illumina, Inc. ou de leurs propriétaires respectifs. Pour plus d'informations sur les marques, consultez 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

Étiquetage du produit

Pour obtenir des informations détaillées sur les symboles susceptibles d'apparaître sur l'emballage et l'étiquette du produit, consultez la légende des symboles pour votre kit à l'adresse support.illumina.com.