

MiSeq® Dx Reagent Kit v3

A SE UTILIZA LA DIAGNOSTICAREA IN VITRO

Utilizarea preconizată

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 este un set de reactivi și consumabile destinat secvențierii bibliotecilor de probe în condițiile utilizării cu teste validate. MiSeqDx Reagent Kit v3 este destinat utilizării împreună cu Instrument MiSeqDx și software-ul de analiză.

Principiile procedurii

Ca date introduse, MiSeqDx Reagent Kit v3 folosește biblioteci pregătite din ADN, unde indexurile de probe și secvențele de captură sunt adăugate la țintele . Bibliotecile de probe sunt capturate într-o celulă de flux și secvențiate pe instrument utilizând secvențiere prin chimie de sinteză (SBS). Chimia SBS folosește o metodă cu terminator reversibil pentru a detecta bazele mononucleotidice etichetate fluorescent, pe măsură ce acestea sunt încorporate în catenele de ADN în creștere.

Pentru instrucțiuni privind efectuarea secvențierii pe Instrument MiSeqDx, consultați prospectul instrumentului MiSeqDx pentru regiunea și versiunea software-ului instrumentului.

Limitările procedurii

- A se utiliza la diagnosticarea *in vitro*.
- Limitările descrise în acest prospect se bazează pe analize și module software reprezentative, inclusiv modulele Germline Variant și Somatic Variant Local Run Manager, care au fost dezvoltate în scopul evaluării performanței cu analize reprezentative.
- Citiri care conțin inserții, deleții sau combinații ale acestora (indele).
- Conținutul cu lungimea > 25 bp nu este aliniat cu software-ul analizei. Prin urmare, indelii cu lungimea > 25 bp nu pot fi detectați de software-ul de testare.
- Sistemul a fost validat pentru detectarea variantelor mononucleotidice (SNV) și a delețiilor de până la 25 bp și a inserțiilor de 24 bp atunci când este utilizat cu software-ul modulului Variant germinativ și somatic. Pentru definire somatică, la o frecvență variantă de 0,05, au fost detectate deleții de 25 bp și inserții de 18 bp.

- Este posibil ca software-ul de testare să nu alinieze citirile de ampliconi cu conținut de variante extrem, conducând la raportarea regiunii ca fiind de tip sălbatic. Un astfel de conținut extrem include:
 - Citiri care conțin mai mult de trei indeli
 - Citirile cu lungimi de cel puțin 30 bp cu SNV > 4% din lungimea totală a ampliconului țintă (excluzând regiunile sondei)
 - Citirile cu lungimi < 30 bp cu un conținut SNV > 10% din lungimea totală a ampliconului (incluzând regiunile sondei)
- Variantele mari, incluzând variantele de multi-nucleotide (MNV-uri) și indeli mari, pot fi raportate sub formă de variante separate mai mici în fișierul cu rezultate VCF.
- Variantele pentru deleție pot fi filtrate sau omise atunci când se lucrează pe doi ampliconi alăturați dacă lungimea deleției este mai mare sau egală cu suprapunerea între ampliconii alăturați.
- Sistemul nu poate detecta indeli dacă aceștia sunt direct adiacenți unei amorse și nu există niciun amplicon care să se suprapună. Pentru regiunile cu ampliconi care se suprapun, testarea nu poate detecta delețiile atunci când regiunea cu suprapunere este mai mică decât mărimea deleției care urmează a fi detectată. De exemplu, dacă regiunea de suprapunere între doi ampliconi adiacenți este reprezentată de două baze, testarea nu poate detecta nicio deleție care include ambele aceste baze. O deleție doar a uneia din aceste baze poate fi detectată.
- La fel ca în cazul oricărui flux de lucru de pregătire a unei biblioteci pe bază de hibridizare, polimorfismele de context, mutațiile, inserările sau ștergerile în regiunile de legare a oligonucleotidelor pot afecta alelele analizate și, prin urmare, definirile efectuate în cursul secvențierii. De exemplu:
 - Este posibil ca o variantă în fază cu o variantă în regiunea amorsei să nu fie amplificată, având ca rezultat o definire fals negativă.
 - Variantele din regiunea amorsei pot împiedica amplificarea alelei de referință, având ca rezultat o definire incorectă a variantei homozigote.
 - Variantele de indeli în regiunea amorsei pot cauza o definire fals pozitivă la finalizarea citirii adiacente amorsei.
- Indeli pot fi filtrați din cauza polarizării catenei dacă ei apar lângă capătul unei citiri și suferă o decupare soft în timpul alinierii.
- MNV-urile mici nu au fost validate și sunt raportate numai în Somatic Variant Module.
- Delețiile sunt raportate în VCF la coordonata bazei precedente conform formatului VCF. Prin urmare, luați în considerare variantele adiacente înainte de a raporta că o definire de bază individuală este o referință homozigotă.
- Limitări specifice pentru linia germinală:
 - Instrumentul MiSeqDx, utilizând Local Run Manager Germline Variant Module, este conceput să livreze rezultate calitative pentru definirea variantei de linie germinală (de ex., homozigotă, heterozigotă, de tip sălbatic).

- Când se utilizează cu Germline Variant Module, acoperirea minimă per amplicon necesară pentru o definire corectă a variantei este de 150x. Prin urmare, sunt necesare 150 de fragmente de ADN de suport, ceea ce este echivalent cu 300 de citiri suprapuse cu secvențiere la ambele capete. Numărul de probe și numărul total de baze vizate afectează acoperirea. Conținutul de GC și alt conținut genomic pot afecta acoperirea.
- Variația numărului de copii poate afecta identificarea unei variante drept homozigotă sau heterozigotă.
- Variantele într-un anumit context repetitiv sunt eliminate prin filtrare în fișierele VCF. Filtrul RMxN cu repetare este utilizat pentru a filtra variantele dacă întreaga secvență de variante sau o parte a acesteia este prezentă în mod repetat în genomul de referință adiacent poziției variantei. Pentru definirea variantei de linie de germeni, sunt necesare cel puțin nouă repetări în referință pentru ca o variantă să fie filtrată și sunt luate în considerare numai repetările cu lungimea de până la 5 bp (R5x9).
- Limitări specifice pentru Somatic:
 - Instrumentul MiSeqDx, utilizând modulul Local Run Manager Somatic Variant, este conceput să livreze rezultate calitative pentru definirea variantei somatice (de ex. prezența unei variante somatice cu o frecvență a variantei $\geq 0,026$ cu o limită a detecției de 0,05).
 - Când se utilizează cu Somatic Variant Module, acoperirea minimă per amplicon necesară pentru o definire corectă a variantei este de 450x per fond de oligonucleotide. Prin urmare, sunt necesare 450 de fragmente de ADN de suport per fond de oligonucleotide, ceea ce este echivalent cu 900 de citiri suprapuse cu secvențiere la ambele capete. Numărul de probe și numărul total de baze vizate afectează acoperirea. Conținutul de GC și alt conținut genomic pot afecta acoperirea.
 - Pentru definirea variantei somatice, sunt necesare cel puțin șase repetări în referință pentru ca varianta să fie filtrată și sunt luate în considerare numai repetările cu lungimea de până la 3 bp (R3x6).
 - Somatic Variant Module nu poate face diferența între variantele de linie germinală și variantele somatice. Modulul este conceput să detecteze variante pentru o gamă de frecvențe de variante, dar frecvența variantei nu poate fi utilizată pentru a diferenția variantele somatice de variantele de linie germinală.
 - Țesutul normal din cadrul specimenului influențează detectarea variantelor. Limita raportată a detecției se bazează pe o frecvență a variantei relativ la ADN total extras atât din țesutul tumoral, cât și din cel normal.

Componentele produsului

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3, Nr. catalog 20037124 este alcătuit din următoarele:

- Soluție tampon de diluție din bibliotecă, celulă de debit și reactivi post-amperi

Reactivi furnizați

Illumina MiSeqDx Reagent Kit v3 este un set de reactivi și consumabile de unică folosință pentru secvențierea unei rulări a uneia sau mai multor biblioteci de probe pe Instrument MiSeqDx. Numărul de biblioteci de probe depinde de multiplexarea acceptată de metoda de pregătire a bibliotecilor în amonte.

Consultați tabelele următoare pentru o listă completă a reactivilor furnizați în această trusă.

MiSeqDx Reagent Kit v3, Caseta 1

Tabelul 1 Caseta 1 Reactivi pentru postamplificare

Componentă	Cantitate	Volum de umplere	Ingrediente active	Depozitare
Soluție tampon de diluție pentru bibliotecă	1 eprubetă	4,5 ml	Soluție apoasă tamponată	între -25 °C și -15 °C
Cartuș MiSeqDx Reagent v3 (etichetat cu RFID)	câte 1 de fiecare	Diverse	Cartuș preumplut de unică folosință	între -25 °C și -15 °C

MiSeqDx Reagent Kit v3, Caseta 2

Tabelul 2 Caseta 2 Reactivi pentru postamplificare

Componentă	Cantitate	Volum de umplere	Ingrediente active	Depozitare
Soluție MiSeqDx SBS (PR2) (etichetat cu RFID)	1 flacon	500 ml	Soluție apoasă tamponată	între 2 °C și 8 °C
Celulă de flux MiSeqDx (etichetat cu RFID)	câte 1 de fiecare	Nu se aplică	Celulă de flux din sticlă, de unică folosință, cu capete pereche, în soluție apoasă tamponată	între 2 °C și 8 °C

Depozitare și manipulare

- Temperatura camerei este definită ca fiind intervalul dintre 15°C și 30°C.
- Următorii reactivi sunt expediați în stare congelată și sunt stabili atunci când sunt depozitați la -25 °C până la -15 °C până la data de expirare specificată.
 - Soluție tampon de diluție pentru bibliotecă
 - Cartuș MiSeqDx Reagent v3

NOTĂ: Soluție tampon de diluție pentru bibliotecă și Cartuș MiSeqDx Reagent v3 sunt de unică folosință și sunt stabile pentru maximum un decongelare la temperatura camerei înainte de data de expirare specificată. După dezghețare, cartușul reactivului trebuie încărcat cu bibliotecă de probe și rulat imediat pe Instrument MiSeqDx. Alternativ, cartușul reactivului dezghețat poate fi păstrat la 2°C până la 8°C timp de până la 6 ore, apoi încărcat cu bibliotecă de probe și rulat imediat pe Instrument MiSeqDx.

- Următorii reactivi sunt livrați refrigerați și stabili atunci când sunt depozitați la 2 °C până la 8 °C până la data de expirare specificată.
 - Soluție MiSeqDx SBS (PR2)
 - Celulă de flux MiSeqDxSoluție MiSeqDx SBS (PR2) și Celulă de flux MiSeqDx sunt de unică folosință.
- Modificările aspectului fizic al reactivilor pot indica deteriorarea materialelor. Dacă apar modificări ale aspectului fizic (ca, de exemplu modificări evidente ale culorii reactivilor sau tulburare vizibilă la contaminarea microbiană), nu folosiți reactivii.

Echipamentele și materialele necesare, vândute separat

- **Instrumentul MiSeqDx**, nr. catalog DX-410-1001

Avertizări și precauții



ATENȚIE

Legislația federală a Statelor Unite permite vânzarea acestui dispozitiv numai de către sau la comanda unui medic sau a altui cadru medical licențiat să utilizeze sau să comande dispozitivul în statul în care își exercită profesiunea.



AVERTIZARE

Acest set de reactivi conține substanțe chimice potențial periculoase. Se pot produce vătămări corporale prin inhalare, ingerare, contact cu pielea și contact cu ochii. Purtați echipament de protecție, inclusiv protecție pentru ochi, mănuși și halat de laborator corespunzătoare riscului de expunere. Manipulați reactivii folosiți ca deșeuri chimice și eliminați-i în conformitate cu legile și reglementările regionale, naționale și locale aplicabile. Pentru informații suplimentare privind mediul, sănătatea și siguranța, consultați Fișele cu date de securitate (SDS) la adresa support.illumina.com/sds.html.

(Pentru mai multe informații, consultați Reactivi de la pagina 1.)

- Nerespectarea procedurilor menționate poate duce la rezultate greșite sau la reducerea semnificativă a calității probelor.
- Utilizați măsurile de precauție obișnuite pentru activitățile de laborator. Nu pipetați cu gura. Nu mâncați, nu beți și nu fumați în spațiile de lucru desemnate. Purtați mănuși de unică folosință și halate de laborator atunci când manipulați specimene și reactivi pentru testare. După ce manipulați specimene și reactivi pentru teste, spălați-vă temeinic pe mâini.
- Este necesară respectarea practicilor de laborator corespunzătoare și a igienei în laborator corespunzătoare pentru a împiedica produsele PCR să contamineze reactivii, instrumentarul și probele de ADN genomic. Contaminarea PCR poate cauza rezultate lipsite de precizie și de fiabilitate.
- Pentru a preveni contaminarea, asigurați-vă că zonele de pre-amplificare și post-amplificare beneficiază de echipamente dedicate (de ex. pipete, vârfuri de pipete, aparat de vortex și centrifugă).
- Indexul pentru împerecherea probelor trebuie să corespundă exact structurii plăcii imprimate de . Local Run Manager populează automat amorsele de indexare asociate cu denumirile probelor, atunci când acestea sunt introduse în modul. Verificați primerii de indexare asociați cu probele înainte de a iniția ciclul de secvențiere. Nepotrivirile între imprimate și probă vor duce la pierderea identificării pozitive a probei și la raportarea incorectă a rezultatelor.
- Raportați imediat orice incidente grave în legătură cu acest produs către Illumina și autoritățile competente ale statelor membre în care sunt rezidenți utilizatorul și/sau pacientul.

Instrucțiuni de utilizare

Consultați prospectul instrumentului MiSeqDx pentru regiunea și versiunea software-ului instrumentului.

Caracteristici de performanță

Consultați prospectul instrumentului MiSeqDx pentru regiunea și versiunea software-ului instrumentului.

Istoricul versiunilor

Document nr.	Data	Descrierea modificării
Document nr. 1000000030849 v04	Noiembrie 2021	S-au actualizat referințele din prospectul instrumentului MiSeqDx S-au actualizat limitările procedurii și avertismentele și precauțiile cu clarificări suplimentare. Actualizări minore pentru alinierea la stilul și standardele documentației Illumina.
Document nr. 1000000030849 v03	August 2021	S-a actualizat adresa Reprezentantului autorizat în Comunitatea Europeană. S-a adăugat tabelul Istoricul reviziilor.

Brevete și mărci comerciale

Prezentul document și conținutul acestuia constituie proprietatea Illumina, Inc. și a afiliaților săi („Illumina”) și sunt destinate exclusiv pentru utilizarea contractuală de către client în legătură cu folosirea produsului sau produselor descrise în prezentul document și în niciun alt scop. Acest document și conținutul său nu trebuie utilizate sau distribuite pentru niciun alt scop și/sau nici comunicate, divulgate sau reproduse în orice alt mod și în orice formă fără consimțământul prealabil acordat în scris de Illumina. Illumina nu transmite, în temeiul brevetelor sale, al mărcilor sale comerciale, al drepturilor sale de autor sau în temeiul dreptului comun, nicio licență și nici drepturi similare ale oricăror terți prin acest document.

Instrucțiunile din acest document trebuie respectate în mod strict și explicit de către personalul calificat și corespunzător instruit pentru a asigura utilizarea corespunzătoare și în siguranță a produsului descris/produselor descrise în acest document. Înainte de utilizarea acestui produs/acestor produse, întreg conținutul acestui document trebuie citit și înțeles în întregime.

NERESPECTAREA OBLIGAȚIEI DE A CITI COMPLET ȘI DE A RESPECTA ÎN MOD EXPLICIT TOATE INSTRUCȚIUNILE CUPRINSE ÎN PREZENTUL DOCUMENT POATE DUCE LA DETERIORAREA PRODUSULUI SAU PRODUSELOR, LA VĂTĂMAREA PERSOANELOR, INCLUSIV A UTILIZATORILOR SAU A ALTOR PERSOANE ȘI LA DAUNE ALE ALTOR PROPRIETĂȚI ȘI VA ANULA ORICE GARANȚIE APLICABILĂ PRODUSULUI SAU PRODUSELOR.

ILLUMINA NU ÎȘI ASUMĂ NICIO RĂSPUNDERE CARE DECURGE DIN UTILIZAREA INADECVATĂ A PRODUSULUI SAU PRODUSELOR DESCRISE ÎN PREZENTUL DOCUMENT (INCLUSIV A COMPONENTELOR SAU SOFTWARE-ULUI ACESTORA).

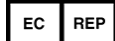
© 2021 Illumina, Inc. Toate drepturile rezervate.

Toate mărcile comerciale sunt proprietatea Illumina, Inc. sau a proprietarilor lor respectivi. Pentru informații specifice privind mărcile comerciale, consultați www.illumina.com/company/legal.html.

Informații de contact



Illumina
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 S.U.A.
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (în afara Americii de Nord)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
Țările de Jos

Sponsor australian

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

Etichetarea produsului

Pentru referințe complete la simbolurile care pot apărea pe ambalajele și etichetele produselor, consultați legenda simbolurilor pentru setul dvs. la adresa support.illumina.com.