



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.

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](http://www.illumina.com/company/legal.html).

# Historique des révisions

N° de document	Date	Description des modifications
Document n° 15038356 v03	Avril 2020	Mise à jour de l'adresse du représentant autorisé de l'UE. Mise à jour de l'adresse du commanditaire australien.
Document n° 15038356 v02	Septembre 2017	Mise à jour des marquages de conformité.
Document n° 15038356 v01	Décembre 2016	Correction de renseignements dans le tableau Targets (Cibles) pour la trousse universelle 1.0. Le terme « insertions » a été remplacé par le terme « délétions » à la ligne Deletions (Délétions). Retrait de Chrome dans la liste des navigateurs pris en charge par MiSeq Reporter pour une utilisation hors de l'instrument. Correction des erreurs de formatage.
Référence 15038356 Rév. A	Mars 2014	Publication originale

# Table des matières

Historique des révisions .....	iii
Table des matières .....	iv
<b>Chapitre 1 Vue d'ensemble .....</b>	<b>1</b>
Introduction .....	2
Affichage de MiSeq Reporter .....	3
Concepts relatifs à MiSeq Reporter .....	4
Interface MiSeq Reporter .....	5
Remise en file d'attente pour analyse .....	14
Indicateurs d'analyse .....	15
Procédures d'analyse .....	17
Dossier MiSeqAnalysis .....	18
<b>Chapitre 2 Visualisation des données .....</b>	<b>19</b>
Introduction .....	20
Exigences relatives au fichier d'entrée .....	21
Flux de travail d'amplicons personnalisés .....	22
Fichiers de sortie d'analyse pour les tests de fibrose kystique (CF) .....	35
<b>Chapitre 3 Installation et dépannage .....</b>	<b>37</b>
Exigences hors instrument de MiSeq Reporter .....	38
Installation de MiSeq Reporter hors de l'instrument .....	39
Utilisation de MiSeq Reporter hors de l'instrument .....	41
Dépannage de MiSeq Reporter .....	42
<b>Annexe A Fichiers de sortie d'analyse de la trousse universelle 1.0 .....</b>	<b>45</b>
Types de fichiers de sortie d'analyse .....	46
Format de fichier BAM .....	47
Format de fichier VCF .....	48
Fichier de couverture des amplicons .....	51
Fichiers de sortie supplémentaires .....	52
<b>Index .....</b>	<b>53</b>
<b>Assistance technique .....</b>	<b>55</b>

[Cette page a été volontairement laissée vide.]

# Vue d'ensemble

Introduction .....	2
Affichage de MiSeq Reporter .....	3
Concepts relatifs à MiSeq Reporter .....	4
Interface MiSeq Reporter .....	5
Remise en file d'attente pour analyse .....	14
Indicateurs d'analyse .....	15
Procédures d'analyse .....	17
Dossier MiSeqAnalysis .....	18



## Introduction

L'instrument MiSeqDx<sup>MC</sup> comprend trois applications logicielles qui fonctionnent de façon séquentielle pour produire des images d'amplifiats sur la Flow Cell, effectuer une analyse d'images et des appels de bases et exécuter une analyse secondaire sur instrument.

- ▶ Au cours de l'analyse, le logiciel d'exploitation de MiSeq (MOS) capture des images d'amplifiats sur la Flow Cell pour l'analyse d'images, active la platine de la Flow Cell, commande la distribution des réactifs et modifie la température de la Flow Cell.
- ▶ Le logiciel d'analyse primaire intégré, Real Time Analysis (RTA), exécute les analyses d'images et les appels de bases, et affecte un score de qualité à chacune des bases de chaque cycle pendant la progression de l'analyse. La fin de l'analyse primaire par RTA indique à MiSeq Reporter de lancer l'analyse secondaire.
- ▶ MiSeq Reporter effectue une analyse secondaire sur l'instrument relative aux appels des bases et aux scores de qualité générés par RTA pendant l'analyse de séquençage. MiSeq Reporter fonctionne comme un service Windows et s'affiche par le biais d'un navigateur Web. Il peut également être installé sur un ordinateur hors de l'instrument. Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Installation de MiSeq Reporter hors de l'instrument*, page 39.

## À propos des applications de service Windows

Les applications de service Windows exécutent des fonctions spécifiques sans intervention de l'utilisateur et continuent à s'exécuter en arrière-plan tant que Windows est en cours d'exécution. Étant donné que MiSeq Reporter s'exécute en tant que service Windows, il commence automatiquement l'analyse secondaire lorsque l'analyse primaire est terminée.

## Séquençage pendant l'analyse

Les ressources informatiques de l'instrument MiSeqDx sont dédiées au séquençage ou à l'analyse. Si une nouvelle analyse de séquençage est lancée sur le système MiSeqDx avant la fin de l'analyse secondaire d'une analyse précédente, une boîte de dialogue de confirmation s'affiche. Après confirmation de l'analyse de séquençage, l'analyse secondaire s'arrête.

Pour redémarrer l'analyse secondaire, utilisez la fonctionnalité **Requeue** (File d'attente) de l'interface du logiciel MiSeq Reporter une fois que la nouvelle analyse de séquençage est terminée. L'analyse secondaire est alors relancée depuis le début.

## Affichage de MiSeq Reporter

L'interface MiSeq Reporter peut être affichée uniquement par le biais d'un navigateur Web. Pour afficher l'interface MiSeq Reporter, ouvrez n'importe quel navigateur Web sur un ordinateur ayant accès au même réseau que l'instrument MiSeqDx. Connectez-vous au service HTTP sur le port **8042** en utilisant l'une des méthodes suivantes :

- ▶ Connectez-vous en utilisant l'adresse IP de l'instrument suivie de 8042.

Adresse IP	Port du service HTTP	Adresse HTTP
10.10.10.10, par exemple	8042	10.10.10.10:8042

- ▶ Connectez-vous en utilisant le nom de réseau de MiSeqDx suivi de 8042.

Nom du réseau	Port du service HTTP	Adresse HTTP
MiSeqDx01, par exemple	8042	MiSeqDx01:8042

Pour les installations de MiSeq Reporter hors de l'instrument, connectez-vous en utilisant la méthode des applications de service installées localement, soit **localhost** suivi de 8042.

Hors instrument	Port du service HTTP	Adresse HTTP
localhost	8042	localhost:8042

Pour obtenir plus de renseignements, consultez la section *Installation de MiSeq Reporter hors de l'instrument*, page 39.



## Concepts relatifs à MiSeq Reporter

Les concepts et termes suivants sont courants dans MiSeq Reporter.

Concept	Description
Manifest (Manifeste)	Fichier qui indique un génome de référence et des régions de référence ciblées à utiliser à l'étape de l'alignement. Le fichier de manifeste utilisé pour les tests de fibrose kystique est préchargé dans le système MiSeqDx.
Référentiel	Dossier qui contient les données générées lors des analyses de séquençage. Chaque dossier d'analyse est un sous-dossier du référentiel.
Dossier d'analyse	Structure de dossier remplie par le logiciel d'analyse primaire RTA (dossier MiSeqOutput (SortieMiSeq)) ou dossier rempli par MiSeq Reporter (MiSeqAnalysis (AnalyseMiSeq)).
Feuille d'échantillons	Fichier de valeurs séparées par des virgules (*.csv) qui contient les renseignements nécessaires à la configuration et à l'étude d'une analyse de séquençage, y compris une liste d'échantillons et les séquences d'index correspondantes. Celui-ci est créé hors de l'instrument à l'aide du logiciel Illumina Worklist Manager. La feuille d'échantillons doit être fournie pendant les étapes de configuration sur le MiSeqDx. Une fois que l'analyse a commencé, la feuille d'échantillons est automatiquement renommée SampleSheet.csv et copiée dans les dossiers d'analyse : MiSeqOutput (SortieMiSeq) et MiSeqAnalysis (AnalyseMiSeq).
Flux de travail	Procédure d'analyse secondaire effectuée par MiSeq Reporter. Le flux de travail de chaque analyse figure sur la feuille d'échantillons.

## Interface MiSeq Reporter

Lorsque MiSeq Reporter s'ouvre dans un navigateur, l'écran principal s'affiche avec une image de l'instrument au milieu. L'icône Settings (Paramètres) et l'icône Help (Aide) se trouvent dans le coin supérieur droit, et l'onglet Analyses (Analyses) se trouve dans le coin supérieur gauche.


- ▶ **Aide MiSeq Reporter** : sélectionnez l'icône Help (Aide) pour ouvrir la documentation relative à MiSeq Reporter dans la fenêtre du navigateur.
- ▶ **Settings** (Paramètres) : sélectionnez l'icône Settings (Paramètres)  pour modifier l'URL du serveur et le chemin du référentiel.
- ▶ **Onglet Analyses** : sélectionnez Analyses pour développer l'onglet. L'onglet Analyses (Analyses) affiche une liste d'analyses qui sont terminées, mises en file d'attente pour analyse ou actuellement en cours de traitement.

Figure 1 Écran principal MiSeq Reporter

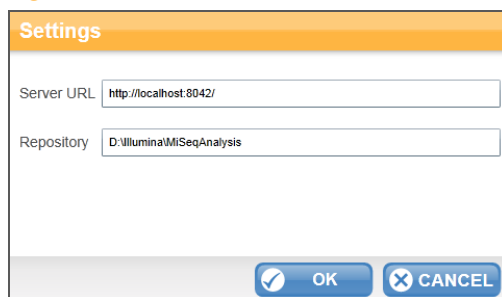


### Paramètres Server URL (URL du serveur) ou Repository (Référentiel)

Utilisez la fonction Settings (Paramètres)  pour changer l'URL du serveur et le chemin du référentiel :

- ▶ **Server URL** (URL du serveur) : le serveur sur lequel MiSeq Reporter s'exécute.
- ▶ **Repository** (Référentiel) : emplacement du dossier d'analyse où les fichiers de sortie sont écrits.

Figure 2 Paramètres Server URL (URL du serveur) et Repository (Référentiel)



Il n'est généralement pas nécessaire de modifier ces paramètres, sauf si MiSeq Reporter s'exécute hors instrument. Dans ce cas, définissez le chemin du référentiel sur

l'emplacement réseau du dossier MiSeqOutput (SortieMiSeq). Pour plus de renseignements, consultez la section *Utilisation de MiSeq Reporter hors de l'instrument*, page 41.

## Onglet Analyses (Analyses)

L'onglet Analyses (Analyses) répertorie toutes les analyses de séquençage situées dans le référentiel désigné. Dans cet onglet, il est possible d'afficher les résultats de n'importe quelle analyse répertoriée ou de remettre en file d'attente une analyse sélectionnée en vue d'une nouvelle analyse.


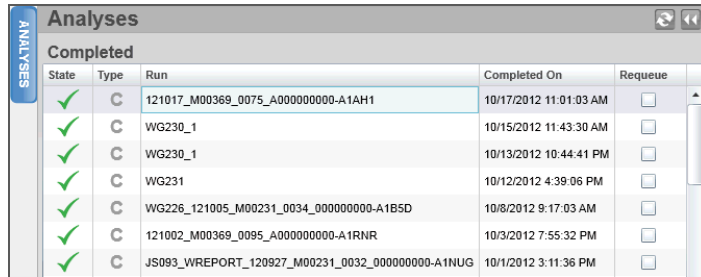
Sélectionnez l'icône **Refresh Analysis List** (Actualiser la liste d'analyses)  dans le coin supérieur droit pour actualiser la liste à tout moment.

Figure 3 Onglet Analyses (Analyses) développé






State	Type	Run	Completed On	Requeue
✓	C	121017_M00369_0075_A000000000-A1AH1	10/17/2012 11:01:03 AM	<input type="checkbox"/>
✓	C	WG230_1	10/15/2012 11:43:30 AM	<input type="checkbox"/>
✓	C	WG230_1	10/13/2012 10:44:41 PM	<input type="checkbox"/>
✓	C	WG231	10/12/2012 4:39:06 PM	<input type="checkbox"/>
✓	C	WG226_121005_M00231_0034_000000000-A1BSD	10/8/2012 9:17:03 AM	<input type="checkbox"/>
✓	C	121002_M00369_0095_A000000000-A1RNR	10/3/2012 7:55:32 PM	<input type="checkbox"/>
✓	C	JS093_WREPORT_120927_M00231_0032_000000000-A1NUG	10/1/2012 3:11:36 PM	<input type="checkbox"/>

Les colonnes de l'onglet Analyses (Analyses) sont State (État), Type (Type), Run (Analyse), Completed On (Date de fin d'exécution) et Requeue (Remettre en file d'attente) :

- ▶ **State** (État) : indique l'état actuel de l'analyse à l'aide de trois icônes d'état.

Tableau 1 Icônes d'état de l'analyse

Icône	Description
	Indique que l'analyse secondaire s'est effectuée correctement.
	Indique que l'analyse secondaire est en cours.
	Indique que des erreurs se sont produites et que l'analyse secondaire ne s'est pas effectuée correctement.

- ▶ **Type** (Type) : répertorie le flux de travail d'analyse associé à chaque analyse à l'aide d'un indicateur à lettre unique. Pour les tests de fibrose kystique (CF) et la trousse universelle 1.0, la lettre de l'indicateur est C.
- ▶ **Run** (Analyse) : indique le nom du dossier d'analyse dans les dossiers MiSeqOutput et MiSeqAnalysis.
- ▶ **Completed On** (Date de fin d'exécution) : correspond à la date à laquelle l'analyse secondaire s'est terminée.
- ▶ **Requeue** (Remettre en file d'attente) : cochez cette case pour remettre en file d'attente une tâche précise pour analyse. Le bouton Requeue (Remettre en file d'attente) s'affiche. Pour plus de renseignements, consultez la section *Remise en file d'attente pour analyse*, page 14.


Lorsqu'une analyse est mise en file d'attente, l'analyse s'affiche en bas de l'onglet Analyses (Analyses) et est signalée comme étant en cours au moyen de l'icône .

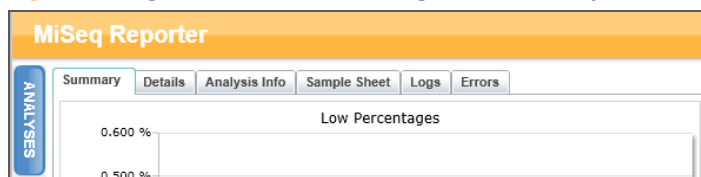
Figure 4 Analyse mise en file d'attente dans l'onglet Analyses (Analyses)

✓	C	JS092_120921_M00369_0092_A000000000-A1AHY	9/22/2012 9:20:38 PM	<input type="checkbox"/>
✓	C	WG223	9/20/2012 10:15:33 PM	<input type="checkbox"/>
<b>Queued</b>				
State	Type	Run	Started/Queued On	
⌚	C	121017_M00231_0020_A000000000-A1B5F	10/17/2012 12:11:33 PM	

## Onglets Analysis Information (Renseignements d'analyse) et Results (Résultats)

Une fois qu'une analyse est sélectionnée à l'onglet Analyses (Analyses), les renseignements et les résultats correspondant à cette analyse s'affichent dans une série d'onglets sur l'interface de MiSeq Reporter : Summary (Résumé), Details (Détails), Analysis Info (Renseignements d'analyse), Sample Sheet (Feuille d'échantillons), Logs (Journaux) et Errors (Erreurs). Les renseignements des onglets Analysis Info (Renseignements d'analyse) et Sample Sheet (Feuille d'échantillons) s'affichent en premier. Les onglets sont tous remplis une fois l'analyse terminée.

Figure 5 Onglets Information (Renseignements d'analyse) et Results (Résultats)

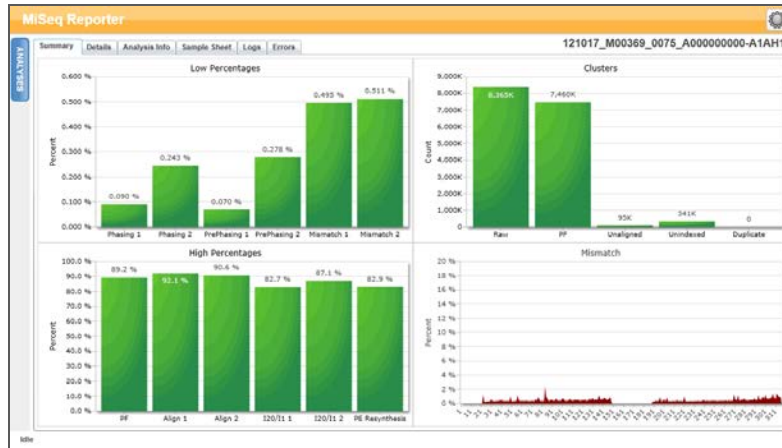


### Onglet Summary (Résumé)

L'onglet Summary (Résumé) contient un résumé des résultats d'analyse. Quatre graphiques s'affichent à l'onglet Summary (Résumé) :

- ▶ **Graphique Low Percentages** (Pourcentages faibles) : affiche la mise en phase, la mise en préphase et les mésappariements en pourcentages. Les pourcentages faibles indiquent des statistiques d'analyse correctes. Pour plus de renseignements, consultez la section *Mise en phase et en préphase*, page 15.
- ▶ **Graphique High Percentages** (Pourcentages élevés) : affiche les amplifiats passant le filtre, l'alignement sur une référence et les intensités en pourcentages. Les pourcentages élevés indiquent des statistiques d'analyse correctes.
- ▶ **Graphique Clusters** (Amplifiats) : affiche les nombres d'amplifiats bruts, d'amplifiats passant le filtre, d'amplifiats qui ne sont pas alignés, d'amplifiats non associés à un index et de doublons.
- ▶ **Graphique Mismatch** (Mésappariements) : affiche les mésappariements par cycle. Un mésappariement fait référence à tout mésappariement entre la lecture de séquençage et un génome de référence après alignement.

Figure 6 Onglet Summary (Résumé)



### Onglet Details (Détails)

L'onglet Details (Détails) contient les détails des résultats d'analyse. Les graphiques et tableaux suivants peuvent s'afficher à l'onglet Details (Détails) en fonction du test ou de la trousse utilisés :

- ▶ **Tableau Samples** (Échantillons) : résume les résultats de séquençage pour chaque échantillon.
- ▶ **Tableau Targets** (Cibles) : affiche les statistiques pour les régions ciblées d'un échantillon sélectionné. (trousse universelle 1.0 uniquement).
- ▶ **Tableau Variants** (Variants) : affiche les différences entre l'échantillon d'ADN et la référence.
- ▶ **Graphique Coverage** (Couverture) : montre le niveau de séquençage de l'échantillon en mesurant le nombre de bases présentes dans la séquence d'échantillon pour chaque position de référence.
- ▶ **Graphique Qscore** (Score de qualité) : montre le score de qualité moyen, qui indique la probabilité estimée d'une erreur d'appel de base. Pour plus de renseignements, consultez la section *Graphique Qscore (Score de qualité)*, page 33.
- ▶ **Graphique Score Variant** (Score de variant) : montre l'emplacement des SNV et des indels.

Figure 7 Onglet Details (Détails) pour le test de fibrose kystique (CF) à 139 variants, exemple

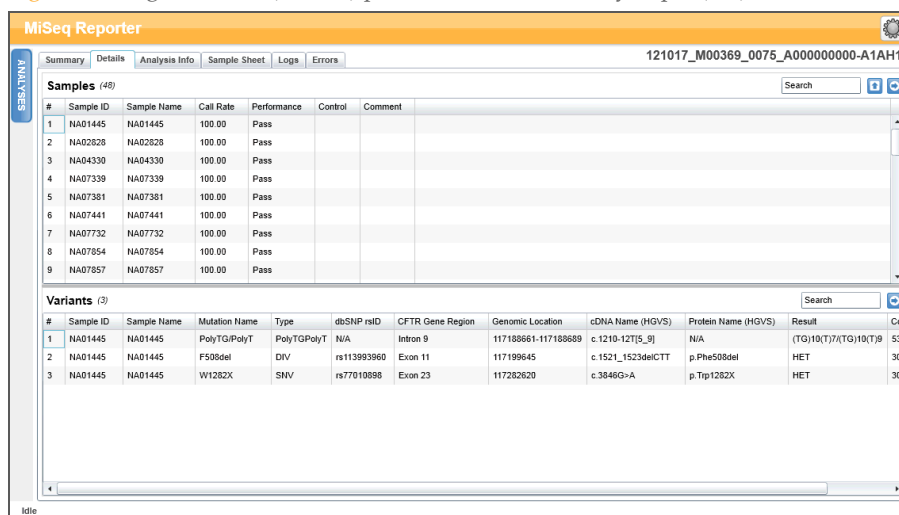
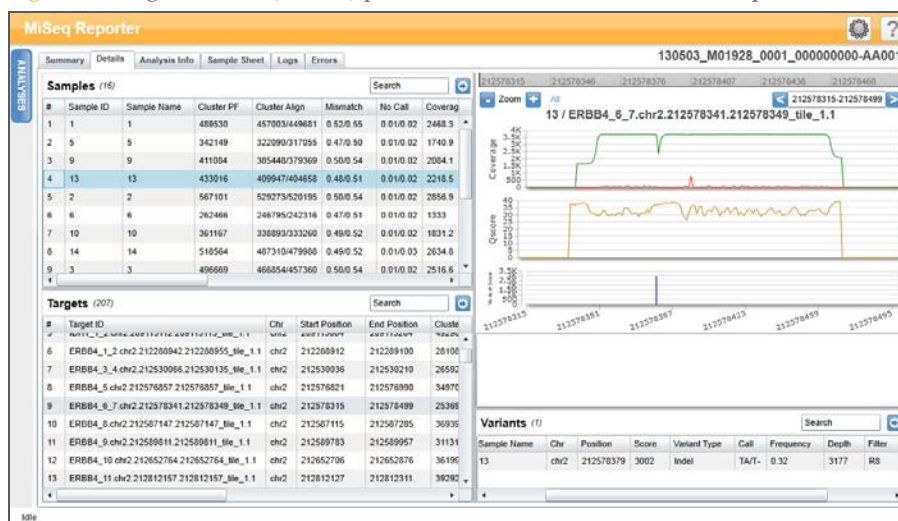


Figure 8 Onglet Details (Détails) pour la trousse universelle 1.0, exemple



Les résultats contenus dans les tableaux Samples (Échantillons), Targets (Cibles) ou Variants (Variants) peuvent être exportés individuellement vers un fichier texte à l'aide de l'icône **Export table data to text file** (Exporter les données du tableau vers un fichier texte). Cette exportation ne modifie pas le fichier de rapport d'analyse.



Pour les tests de fibrose kystique (CF), les résultats peuvent être exportés vers le fichier de rapport d'analyse CF à l'aide de l'icône **Export data to CF report** (Exporter les données vers un rapport CF). Pour plus de renseignements, consultez la section *Fichiers de sortie d'analyse pour les tests de fibrose kystique (CF)*, page 35.

## Onglet Analysis Info (Renseignements d'analyse)

L'onglet Analysis Info (Renseignements d'analyse) contient les renseignements logistiques concernant l'analyse et son exécution.

Figure 9 Onglet Analysis Info (Renseignements d'analyse)

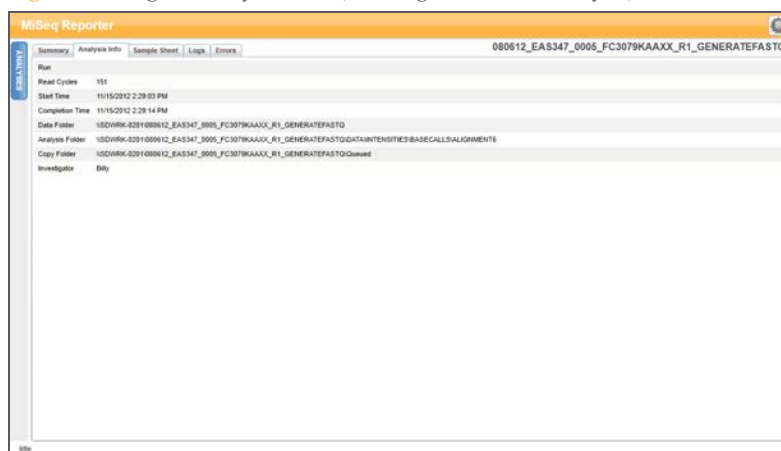


Tableau 2 Onglet Analysis Info (Renseignements d'analyse)

Ligne	Description
Cycles de lecture	Représentation du nombre de cycles dans chaque lecture, comprenant une notation pour toute lecture d'index. Par exemple, si une analyse est notée 151, 8 (I), 8 (I), 151, cela signifie qu'elle comprend 151 cycles pour la première lecture, huit cycles pour la première lecture d'index, huit cycles pour la seconde lecture d'index, puis une lecture finale de 151 cycles.
Start Time (Heure de début)	Heure à laquelle l'analyse secondaire a été lancée.
Completion Time (Heure de fin)	Heure à laquelle l'analyse secondaire s'est terminée.
Data Folder (Dossier de données)	Niveau racine du dossier de sortie produit par le logiciel d'analyse primaire RTA (MiSeqOutput (SortieMiSeq)), qui contient toutes les sorties d'analyses primaire et secondaire pour l'analyse.
Analysis Folder (Dossier d'analyse)	Chemin complet vers le dossier Alignment (Alignement) dans le dossier MiSeqAnalysis (AnalyseMiSeq) (Data\Intensities\BaseCalls\Alignment (Données\Intensités\Appels de bases\Alignement)).
Copy Folder (Dossier de copie)	Chemin complet vers le sous-dossier Queued (En file d'attente) dans le dossier MiSeqAnalysis.

## Onglet Sample Sheet (Feuille d'échantillons)

L'onglet Sample Sheet (Feuille d'échantillons) contient les paramètres d'analyse figurant dans la feuille d'échantillons et fournit des outils pour modifier la feuille d'échantillons puis remettre l'analyse en file d'attente.

Figure 10 Onglet Sample Sheet (Feuille d'échantillons), exemple de la trousse universelle 1.0

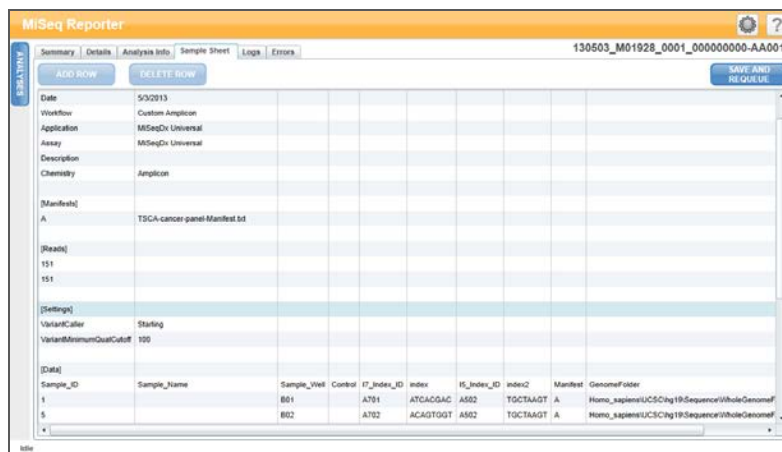


Tableau 3 Contenu de l'onglet Sample Sheet (Feuille d'échantillons)

Ligne	Description
Date	Date à laquelle l'analyse de séquençage a été effectuée.
Workflow (Flux de travail)	Flux de travail d'analyse correspondant à l'analyse. Pour les tests de fibrose kystique (CF) et la trousse universelle 1.0, le nom du flux de travail est Custom Amplicon (Amplicon personnalisé).
Application	Nom de l'application. Utilisé par le logiciel Worklist Manager d'Illumina, ce champ indique le test ou la trousse utilisés pour l'analyse.
Assay (Test)	Nom du test ou de la trousse.
Chemistry (Chimie)	Le nom de la chimie identifie les fragments de formule utilisés pour développer une formule spécifique à l'analyse. Pour les analyses MiSeqDx, le nom de la chimie est amplicon.
Manifests (Manifestes)	Nom du fichier de manifeste qui indique un génome de référence et des régions de référence ciblées à utiliser à l'étape de l'alignement.
Reads (Lectures)	Nombre de cycles effectués dans la lecture 1 et la lecture 2. Les lectures d'index ne sont pas incluses dans cette section.
Settings (Paramètres)	Paramètres d'analyse facultatifs.
Data (données)	L'identifiant de l'échantillon, le nom de l'échantillon, les séquences d'index et le chemin vers le dossier du génome. Les exigences varient selon le flux de travail.

## Onglet Logs (Journaux)

L'onglet Logs (Journaux) répertorie toutes les étapes effectuées lors de l'analyse. Ces étapes sont enregistrées dans des fichiers journaux situés dans le dossier Logs (Journaux). Un



résumé est écrit dans le fichier AnalysisLog.txt, qui est un fichier important pour résoudre les problèmes.

### Onglet Errors (Erreurs)

L'onglet Errors (Erreurs) répertorie toutes les erreurs survenues lors de l'analyse. Un résumé est écrit dans le fichier AnalysisError.txt, qui est un fichier important pour résoudre les problèmes.

## Modification de la feuille d'échantillons dans MiSeq Reporter

Les données de la feuille d'échantillons peuvent être modifiées pour une analyse spécifique à partir de l'onglet Sample Sheet (Feuille d'échantillons) sur l'interface Web de MiSeq Reporter. Une souris et un clavier sont nécessaires pour modifier la feuille d'échantillons.



#### ATTENTION

La modification des renseignements sur la feuille d'échantillons doit être effectuée avec la plus grande prudence. Le suivi des échantillons peut être modifié, ce qui risque d'entraîner des rapports de résultat erronés.

- ▶ Pour modifier une ligne dans la feuille d'échantillons, cliquez dans le champ et effectuez les modifications nécessaires.

- ▶ Pour ajouter une ligne à la feuille d'échantillons, cliquez sur la ligne et sélectionnez **Add Row** (Ajouter une ligne). La nouvelle ligne s'affiche en dessous de la ligne sélectionnée.

A blue rounded rectangular button with the text "ADD ROW" in white capital letters.

- ▶ Pour supprimer une ligne de la feuille d'échantillons, cliquez sur la ligne et sélectionnez **Delete Row** (Supprimer une ligne).

A blue rounded rectangular button with the text "DELETE ROW" in white capital letters.

- ▶ Une fois les modifications de la feuille d'échantillons terminées, sélectionnez **Save and Requeue** (Enregistrer et remettre en file d'attente). Cela permet d'enregistrer les modifications et de lancer l'analyse secondaire à l'aide de la feuille d'échantillons modifiée.

A blue rounded rectangular button with the text "SAVE AND REQUEUE" in white capital letters.

- ▶ Si une modification a été effectuée par erreur dans la feuille d'échantillons, cliquez sur l'onglet adjacent avant d'enregistrer les modifications. Un avertissement s'affiche et indique que les modifications n'ont pas été enregistrées. Cliquez sur **Discard** (Annuler) pour annuler les modifications.

A blue rounded rectangular button with a white 'X' icon and the text "DISCARD" in white capital letters.

## Enregistrement de graphiques en tant qu'images

MiSeq Reporter offre la possibilité d'enregistrer une image des graphiques générés pour une analyse. Cliquez avec le bouton droit de la souris n'importe où sur l'onglet Summary (Résumé) ou sur l'emplacement des graphiques de l'onglet Details (Détails), puis cliquez sur **Save Image As** (Enregistrer l'image sous). Lorsque vous y êtes invité, nommez le fichier et accédez à l'emplacement dans lequel enregistrer le fichier.

Toutes les images sont enregistrées au format JPG. Les graphiques sont exportés comme un seul graphique pour tous les graphiques affichés sur l'onglet. Une souris est nécessaire pour utiliser cette option.

## Remise en file d'attente pour analyse

Il est possible de remettre une analyse en file d'attente à partir de l'interface Web de MiSeq Reporter. Avant de commencer, vérifiez qu'aucune analyse de séquençage n'est en cours.

Chaque fois qu'une analyse est remise en file d'attente, un nouveau dossier Alignment (Alignement) est créé dans le dossier MiSeqAnalysis (AnalyseMiSeq) et un numéro séquentiel est ajouté au nom du dossier. Par exemple, Alignment, Alignment1, Alignment2.

MiSeqAnalysis (AnalyseMiSeq)\<RunFolderName (NomDossierAnalyse)>\Data (Données)\Intensities (Intensités)\BaseCalls (Définitions de bases)\Alignment2 (Alignement2)

- 1 Dans l'interface Web de MiSeq Reporter, cliquez sur **Analyses**.
- 2 Recherchez l'analyse dans la liste d'analyses disponibles et cochez la case Requeue (Remettre en file d'attente) à côté du nom de l'analyse.

Si l'analyse n'est pas répertoriée, modifiez le référentiel indiqué par le bon emplacement. Pour plus de renseignements, consultez la section *Paramètres Server URL (URL du serveur) ou Repository (Référentiel)*, page 5.

Figure 11 Remise en file d'attente pour analyse

Analyses				
Completed				
State	Type	Run	Completed On	Requeue
✓	C	121017_M00369_0075_A000000000-A1AH1	10/17/2012 11:01:03 AM	<input checked="" type="checkbox"/>
✓	C	WG230_1	10/15/2012 11:43:30 AM	<input type="checkbox"/>
✓	C	WG230_1	10/13/2012 10:44:41 PM	<input type="checkbox"/>
✓	C	WG231	10/12/2012 4:39:06 PM	<input type="checkbox"/>
✓	C	WG226_121005_M00231_0034_000000000-A1B5D	10/8/2012 9:17:03 AM	<input type="checkbox"/>
✓	C	121002_M00369_0095_A000000000-A1RNR	10/3/2012 7:55:32 PM	<input type="checkbox"/>

- 3 Cliquez sur **Requeue** (Remettre en file d'attente). L'icône State (État) à gauche du nom d'analyse change pour montrer que l'analyse est en cours.



#### REMARQUE

Si une analyse ne se lance pas, assurez-vous que les fichiers d'entrée suivants sont présents dans le dossier d'analyse : SampleSheet.csv, RTAComplete.txt et RunInfo.xml.

## Indicateurs d'analyse

Lors de l'analyse de séquençage, l'analyse en temps réel (RTA) génère des fichiers de données contenant des indicateurs d'analyse utilisés par MiSeq Reporter pour l'analyse secondaire. Les indicateurs qui s'affichent dans les rapports d'analyse secondaire sont les amplifiats passant le filtre, les scores de qualité des appels de base et les valeurs de mise en phase et en préphase.

### Amplifiats passant le filtre

Les amplifiats passant le filtre servent de mesure de la qualité des amplifiats. Ce filtre supprime les données les moins fiables en filtrant les données brutes afin de supprimer toute lecture ne répondant pas aux critères de qualité globale. Les amplifiats passant le filtre sont représentés par PF dans les rapports d'analyse.

### Scores de qualité

Le score de qualité, ou Q-score, permet de prédire la probabilité d'une erreur dans la définition des bases. Lors de l'analyse de séquençage, les scores de qualité d'appel de bases sont enregistrés pour chaque cycle. Lors de l'analyse, les scores de qualité sont enregistrés dans des fichiers FASTQ dans un format codé ASCII.

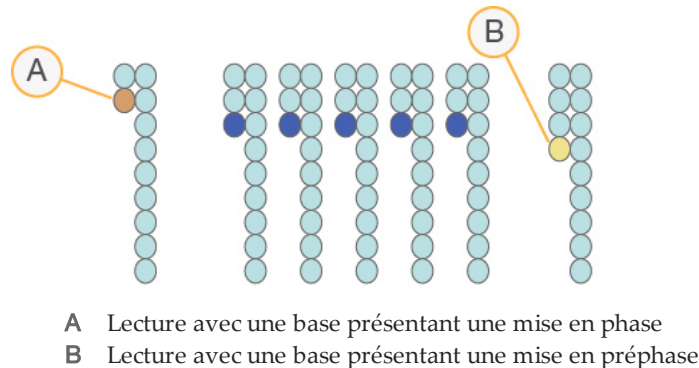
Le tableau suivant montre la relation entre le score de qualité et la probabilité d'une erreur.

Score de qualité	Probabilité d'une erreur
Q40	0,0001 (1 sur 10 000)
Q30	0,001 (1 sur 1 000)
Q20	0,01 (1 sur 100)
Q10	0,1 (1 sur 10)

### Mise en phase et en préphase

Lors de la réaction de séquençage, chaque brin d'ADN dans un amplifiat s'étend d'une base par cycle. Une petite partie des brins peut être en déphasage avec le cycle d'incorporation actuel, soit en retard d'une base (mise en phase), soit dépassant d'une base (mise en préphase). Les taux de mise en phase et en préphase indiquent une estimation de la proportion de molécules présentant une mise en phase ou en préphase dans chaque cycle.

Figure 12 Mise en phase et en préphase



Une lecture comprend un cycle de plus que le nombre de cycles analysés. Par exemple, une analyse de 150 cycles à lectures appariées effectue deux lectures de 151 cycles ( $2 \times 151$ ) pour un total de 302 cycles. À la fin de l'analyse,  $2 \times 150$  cycles sont analysés. Le cycle supplémentaire pour la lecture 1 et la lecture 2 est requis pour les calculs de mise en préphase.

## Procédures d'analyse

MiSeq Reporter effectue une analyse secondaire à l'aide d'une série de procédures d'analyse comprenant le démultiplexage, la génération de fichier FASTQ, l'alignement et l'appel des variants.

### Démultiplexage

Le démultiplexage est la première étape dans l'analyse si la feuille d'échantillons répertorie plusieurs échantillons et que l'analyse comporte des lectures d'index.

Le démultiplexage sépare les données des échantillons groupés en fonction de séquences d'indexage courtes qui marquent les échantillons provenant de bibliothèques différentes. Chaque séquence de lecture d'index est comparée aux séquences d'indexage définies dans la feuille d'échantillons. Aucune valeur de qualité n'est prise en compte lors de cette étape.

### Génération des fichiers FASTQ

Après le démultiplexage, cette procédure génère des fichiers intermédiaires au format de fichier FASTQ, un format texte utilisé pour représenter des séquences. Les fichiers FASTQ constituent les principales données d'entrée pour l'étape de l'alignement. Ils contiennent les lectures de chaque échantillon ainsi que les scores de qualité, à l'exclusion des lectures provenant de tout amplifiat n'ayant pas passé le filtre.

### Alignement

L'alignement compare les séquences par rapport à la référence pour déceler une relation entre les séquences et attribue un score en fonction des régions de similarité. Les lectures alignées sont écrites dans des fichiers au format BAM.

Pour les données générées sur MiSeq Reporter, MiSeqDx utilise un algorithme de Smith-Waterman par bande, qui effectue des alignements de séquence locaux pour identifier des régions similaires entre deux séquences. Au lieu de considérer l'intégralité de la séquence, l'algorithme de Smith-Waterman compare les segments de toutes les longueurs possibles. Les alignements locaux sont utiles pour des séquences différentes qui sont susceptibles de contenir des régions de similarité dans la plus grande séquence.

### Appel des variants

L'appel des variants enregistre les polymorphismes simples nucléotides (SNP), les insertions et les délétions (indels) ainsi que d'autres variants structurels.

Pour les données générées sur l'instrument MiSeqDx, l'appel des variants est effectué par le paramètre d'appel des variants Starling dans MiSeq Reporter. Starling appelle les SNP ainsi que les petits indels et résume la profondeur et les probabilités d'erreur pour chaque site dans le génome. Pour chaque appel de SNP ou d'indel, la probabilité d'erreur est fournie sous forme de score de qualité d'un variant.

À la fin de l'opération, Starling génère des rapports au format html sur les SNP et les indels ainsi que des fichiers textes contenant des variants au format Variant Call Format (VCF). Pour plus de renseignements, consultez la section *Format de fichier VCF*, page 48.

## Dossier MiSeqAnalysis

Le dossier MiSeqAnalysis (AnalyseMiSeq) est le dossier d'analyse principal de MiSeq Reporter. La relation entre les dossiers d'analyse MiSeqOutput (SortieMiSeq) et MiSeqAnalysis (AnalyseMiSeq) se résume comme suit :

- ▶ Lors du séquençage, le logiciel Real-Time Analysis (RTA) remplit le dossier MiSeqOutput avec des fichiers générés lors de l'analyse primaire.
- ▶ À l'exception des images de mise au point et des vignettes, RTA copie les fichiers dans le dossier MiSeqAnalysis en temps réel. Une fois l'analyse primaire terminée, RTA enregistre le fichier RTAComplete.xml dans les deux dossiers d'analyse.
- ▶ MiSeq Reporter surveille le dossier MiSeqAnalysis et lance l'analyse secondaire lorsque le fichier RTAComplete.xml s'affiche.
- ▶ Pendant que l'analyse secondaire se poursuit, MiSeq Reporter enregistre les fichiers de sortie d'analyse dans le dossier MiSeqAnalysis (AnalyseMiSeq), puis copie les fichiers dans le dossier MiSeqOutput (SortieMiSeq).

# Visualisation des données

Introduction .....	20
Exigences relatives au fichier d'entrée .....	21
Flux de travail d'amplicons personnalisés .....	22
Fichiers de sortie d'analyse pour les tests de fibrose kystique (CF) .....	35





## Introduction

Une fois l'analyse terminée, MiSeq Reporter effectue l'analyse secondaire et génère divers types de renseignements propres au test. Les résultats s'affichent sur l'interface Web de MiSeq Reporter sous forme de graphiques et de tableaux pour chaque analyse. Le tableau ci-dessous répertorie les produits MiSeqDx :

Produit	Description
Test de fibrose kystique à 139 variants	Détecte 139 variants cliniquement pertinents du gène CFTR à partir de 48 échantillons au maximum.
Test de séquençage clinique de la fibrose kystique	Détecte les mutations dans les régions de codage de protéine, y compris les limites intron/exon, deux grandes délétions et deux mutations introniques profondes du gène CFTR à partir de huit échantillons au maximum.
Trousse universelle 1.0	Ensemble de réactifs et de consommables utilisés avec un oligo personnalisé fourni par l'utilisateur pour réaliser un reséquençage ciblé des régions d'intérêt spécifiques du génome.

## Exigences relatives au fichier d'entrée

MiSeq Reporter exige que les fichiers d'analyse primaire suivants soient générés lors de l'analyse de séquençage pour effectuer une analyse secondaire ou pour remettre une analyse en file d'attente. Les fichiers d'analyse primaire, tels que \*.bcl, \*.filter et \*.locs sont nécessaires pour effectuer l'analyse.

Il n'est pas nécessaire de déplacer ou de copier ces fichiers à un autre emplacement avant le lancement de l'analyse. Les fichiers requis sont automatiquement copiés dans le dossier MiSeqAnalysis (AnalyseMiSeq) lors du processus de séquençage.

Nom de fichier	Description
RTAComplete.txt	Un fichier de marqueurs indiquant que le traitement RTA est terminé. La présence de ce fichier indique à MiSeq Reporter de mettre l'analyse en file d'attente.
SampleSheet.csv	Fournit des paramètres pour l'exécution et l'analyse ultérieure. Au début de l'analyse, la feuille d'échantillons est copiée au niveau racine du dossier d'analyse et renommée SampleSheet.csv.
RunInfo.xml	Contient des renseignements généraux sur l'analyse, tels que le nombre de lectures et de cycles de l'analyse de séquençage, et indique si une lecture est indexée ou non.

## Bases de données et génomes préinstallés

Le MiSeqDx comprend des bases de données et des génomes préinstallés.

Éléments préinstallés	Description
Bases de données	dbSNP (humains), version 131 refGene (humains)
Génomes	Assemblage humain hg19 ( <i>Homo sapiens</i> )

## Flux de travail d'amplicons personnalisés

Le flux de travail d'amplicons personnalisés utilisé pour les tests de fibrose kystique (CF) et la trousse universelle 1.0 évalue de courtes régions d'ADN amplifié ou des amplicons, à la recherche de variants. Un séquençage ciblé des amplicons permet une couverture élevée de régions particulières dans un grand nombre d'échantillons.

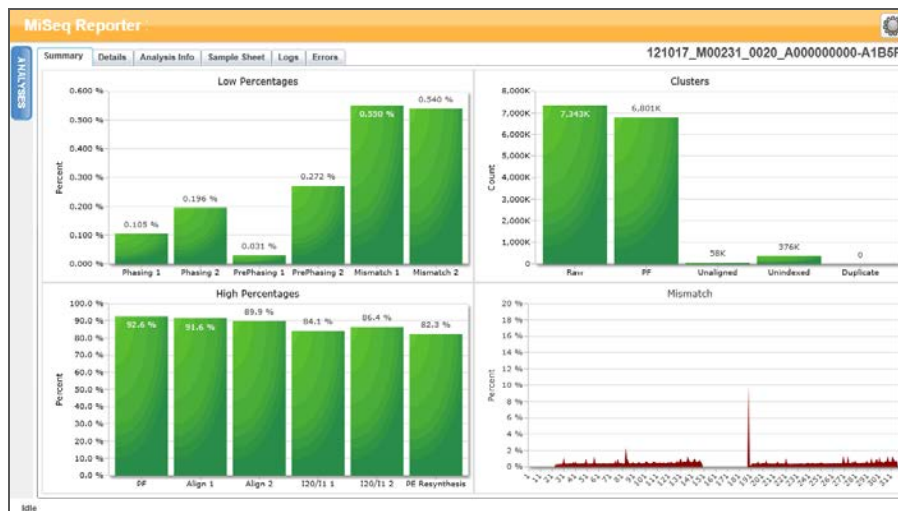
Après le démultiplexage et la génération de fichier FASTQ, le flux de travail passe par les étapes suivantes :

- ▶ **Alignement** : les amplifiats provenant de chaque échantillon sont alignés sur les séquences d'amplicon définies dans le fichier de manifeste.
  - Pour les données appariées, chaque lecture est d'abord évaluée en termes d'alignement sur les séquences de sonde correspondantes. La lecture 1 est évaluée par rapport au complément inverse des oligos locus spécifiques en aval (DLSO) et la lecture 2 est évaluée par rapport aux oligos locus spécifiques en amont (ULSO). Si le début d'une séquence de lecture correspond à une séquence de sonde ne présentant pas plus d'un mésappariement, la longueur totale de la lecture est alors alignée sur la séquence d'amplicon cible pour cette séquence de sonde. Cet alignement est effectué sur toute la longueur des séquences d'amplicon cibles à l'aide d'un alignement Smith-Waterman par bande.
  - Les indels dans les DLSO et ULSO ne sont pas observés étant donné la chimie du test.
- ▶ **Évaluation à lecture appariée** : pour les analyses à lecture appariée, l'alignement présentant le meilleur score pour chaque lecture est pris en compte. Si l'une ou l'autre lecture n'est pas alignée ou est alignée sur des chromosomes différents, ces lectures sont signalées comme une paire non résolue. En outre, si les deux alignements proviennent d'amplicons différents (c.-à-d., différentes rangées dans la section des cibles du manifeste), les lectures sont signalées comme une paire non résolue.
- ▶ **Classement/Tri** : les lectures sont regroupées par échantillon et chromosome, puis triées par position de chromosome. Les résultats sont écrits dans un fichier BAM par échantillon.
- ▶ **Appel des variants** : les mutations sont identifiées par le paramètre d'appel des variants. Pour plus de renseignements, consultez la section *Appel des variants*, page 17.
- ▶ **Analyse et annotation des variants** : toute mutation connue est signalée dans le fichier de rapport d'analyse à l'aide d'une base de données SNP préinstallée (dbsnp.txt).
- ▶ **Rapports statistiques** : les statistiques sont synthétisées et font l'objet de rapports.

### Onglet Summary (Résumé)

Les renseignements qui s'affichent à l'onglet Summary (Résumé) comprennent un graphique de pourcentages faibles, un graphique de pourcentages élevés, un graphique d'amplifiats et un graphique de mésappariements.

Figure 13 Exemple d'onglet Summary (Résumé)



### Graphique Low Percentages (Pourcentages faibles)

Axe des Y	Axe des X	Description
Percent (Pourcent)	Phasing 1 (Mise en phase 1)	Pourcentage de molécules dans un amplifiat qui sont en retard par rapport au cycle actuel dans la lecture 1.
	Phasing 2 (Mise en phase 2)	Pourcentage de molécules dans un amplifiat qui sont en retard par rapport au cycle actuel dans la lecture 2.
	PrePhasing 1 (Mise en préphase 1)	Pourcentage de molécules dans un amplifiat qui dépassent le cycle actuel dans la lecture 1.
	PrePhasing 2 (Mise en préphase 2)	Pourcentage de molécules dans un amplifiat qui dépassent le cycle actuel dans la lecture 2.
	Mismatch 1 (Mésappariement 1)	Pourcentage moyen de mésappariements pour la lecture 1 sur tous les cycles.
	Mismatch 2 (Mésappariement 2)	Pourcentage moyen de mésappariements pour la lecture 2 sur tous les cycles.

### Graphique High Percentages (Pourcentages élevés)

Axe des Y	Axe des X	Description
Percent (Pourcent)	PF	Pourcentage d'amplifiats passant les filtres.
	Align 1 (Alignement 1)	Pourcentage d'amplifiats qui sont alignés sur la référence dans la lecture 1.
	Align 2 (Alignement 2)	Pourcentage d'amplifiats qui sont alignés sur la référence dans la lecture 2.
	I20 / I1 1	Rapport des intensités au cycle 20 sur les intensités au cycle 1 pour la lecture 1.
	I20 / I1 2	Rapport des intensités au cycle 20 sur les intensités au cycle 1 pour la lecture 2.
	PE Resynthesis (Resynthèse PE)	Rapport des intensités du premier cycle pour la lecture 1 sur les intensités du premier cycle pour la lecture 2.

## Graphique Clusters (Amplifiats)

Axe des Y	Axe des X	Description
Clusters (Amplifiats)	Raw (Valeur brute)	Nombre total d'amplifiats détectés dans l'analyse.
	PF	Nombre total d'amplifiats passant le filtre dans l'analyse.
	Unaligned (Non alignés)	Nombre total d'amplifiats passant le filtre qui ne sont pas alignés sur le génome de référence, le cas échéant. Les amplifiats non indexés ne sont pas inclus dans le nombre d'amplifiats non alignés.
	Unindexed (Non indexés)	Nombre total d'amplifiats passant le filtre qui n'ont été associés à aucune séquence d'indexage dans l'analyse.
	Duplicate (Doublet)	Cette valeur n'est pas applicable aux tests CF ou à la trousse universelle 1.0; elle sera donc toujours nulle.

## Graphique Mismatch (Mésappariements)

Axe des Y	Axe des X	Description
Percent (Pour cent)	Cycle	Représente le pourcentage de mésappariements pour tous les amplifiats dans une analyse par cycle.

## Onglet Details (Détails) pour le test de fibrose kystique (CF) à 139 variants

Les renseignements qui s'affichent à l'onglet Details (Détails) pour le test de fibrose kystique (CF) à 139 variants comprennent un tableau d'échantillons et un tableau de variants.

Figure 14 Onglet Details (Détails) pour le test de fibrose kystique (CF) à 139 variants, exemple

MiSeq Reporter											
Summary Details Analysis Info Sample Sheet Logs Errors										121017_M00369_0075_A000000000-A1AH1	
<b>Samples (46)</b>											
#	Sample ID	Sample Name	Call Rate	Performance	Control	Comment					
1	NA01445	NA01445	100.00	Pass							
2	NA02828	NA02828	100.00	Pass							
3	NA04330	NA04330	100.00	Pass							
4	NA07339	NA07339	100.00	Pass							
5	NA07381	NA07381	100.00	Pass							
6	NA07441	NA07441	100.00	Pass							
7	NA07732	NA07732	100.00	Pass							
8	NA07854	NA07854	100.00	Pass							
9	NA07857	NA07857	100.00	Pass							
<b>Variants (3)</b>											
#	Sample ID	Sample Name	Mutation Name	Type	dbSNP rsID	CFTR Gene Region	Genomic Location	cDNA Name (HGVS)	Protein Name (HGVS)	Result	Col
1	NA01445	NA01445	PolyTGIPolyT	PolyTGPolyT	N/A	Intron 9	117188661-117188689	c.1210-12T[S_9]	N/A	(TG)10(T)(T)(TG)10(T)9	S3
2	NA01445	NA01445	F538del	DEL	rs113993960	Exon 11	117199645	c.1521_1523delCTT	p.Phe538del	HET	301
3	NA01445	NA01445	W1282X	SNV	rs77010898	Exon 23	117282620	c.3846G>A	p.Trp1282X	HET	301

## Tableau Samples (Échantillons) pour le test de fibrose kystique (CF) à 139 variants

Colonne	Description
#	Numéro d'identification ordinal dans le tableau.
Sample ID (Identifiant de l'échantillon)	Identifiant de l'échantillon figurant sur la feuille d'échantillons. L'identifiant de l'échantillon doit toujours être une valeur unique.
Sample Name (Nom de l'échantillon)	Nom de l'échantillon figurant sur la feuille d'échantillons.
Call Rate (Débit d'appel)	<p>Nombre de positions mutationnelles atteignant un seuil de valeur de confiance prédéfini divisé par le nombre total de positions mutationnelles interrogées.</p> <p>Le débit d'appel est décrit pour chaque échantillon et indiqué par un pourcentage qui est calculé comme suit : 1 moins [nombre de positions avec appels incomplets divisé par le nombre total de positions séquencées].</p>
Performance	<p>Classement Pass (Réussite) ou Fail (Échec) en fonction du débit d'appel.</p> <p>Pour un échantillon de contrôle positif :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• RÉUSSITE : avec un débit d'appel <math>\geq 99</math> %</li> <li>• ÉCHEC : avec un débit d'appel <math>&lt; 99</math> %</li> </ul> <p>Pour un échantillon de contrôle négatif :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• RÉUSSITE : avec un débit d'appel <math>\leq 10</math> %</li> <li>• ÉCHEC : avec un débit d'appel <math>&gt; 10</math> %</li> </ul> <p>Pour un échantillon non étiqueté comme un contrôle positif ou négatif :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• RÉUSSITE : avec un débit d'appel <math>\geq 99</math> %</li> <li>• ÉCHEC : avec un débit d'appel <math>&lt; 99</math> %</li> </ul>
Control (Contrôle)	<p>Type de contrôle tel que répertorié dans la feuille d'échantillons.</p> <p>Les valeurs peuvent être positives ou négatives. Un champ vide indique un échantillon uniquement.</p>
Comment (Commentaire)	<p>Champ de texte facultatif pour les commentaires. 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.</p>

## Tableau Variants (Variants) pour le test de fibrose kystique (CF) à 139 variants

Colonne	Description
#	Numéro d'identification ordinal dans le tableau.

Colonne	Description
Sample ID (Identifiant de l'échantillon)	Identifiant de l'échantillon figurant sur la feuille d'échantillons. L'identifiant de l'échantillon doit toujours être une valeur unique.
Sample Name (Nom de l'échantillon)	Nom de l'échantillon figurant sur la feuille d'échantillons.
Mutations (Nom courant)	Nom courant du variant de la fibrose kystique, tel que décrit dans la base de données CFTR2.
Mutation Type (Type de mutation)	Le type de variant. <ul style="list-style-type: none"> <li>• SNV : variant à simple nucléotide</li> <li>• DIV : variant de délétion/insertion</li> <li>• DEL : grande délétion</li> <li>• PolyTGPolyT : génotype PolyTG/PolyT dans le gène de la CF</li> </ul>
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)	Emplacement génomique du variant.
cDNA Name (HGVS) (Nom de l'ADNc (HGVS))	Description d'un 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).
Protein Name (HGVS) (Nom de 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).
Result (Résultat)	Génotype de variant. Pour les SNV, DIV et DEL : <ul style="list-style-type: none"> <li>• HET : hétérozygote</li> <li>• HOM : homozygote</li> </ul> Pour un variant PolyTGPolyT, le génotype réel est signalé. <b>REMARQUE</b> : le PolyTGPolyT est signalé uniquement lors de la détection du variant R117H.

## Onglet Details (Détails) pour le test de séquençage clinique de la fibrose kystique (CF)

Les renseignements qui s'affichent à l'onglet Details (Détails) pour le test de séquençage clinique de la fibrose kystique (CF) comprennent un tableau d'échantillons, un tableau de variants, un graphique de couverture, un graphique de scores de qualité et un graphique de scores de variant.

Figure 15 Onglet Details (Détails) pour le test de séquençage clinique de la fibrose kystique (CF), exemple

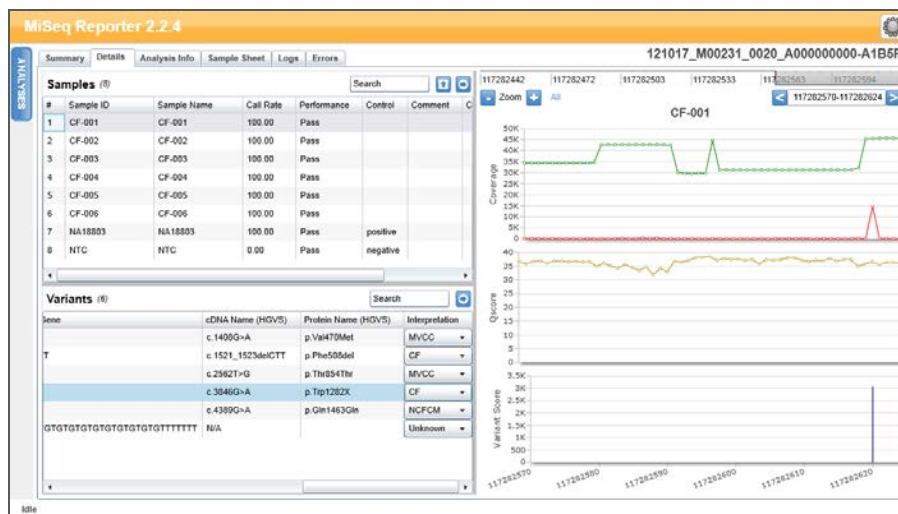


Tableau Samples (Échantillons) pour le test de séquençage clinique de la fibrose kystique (CF)

Colonne	Description
#	Numéro d'identification ordinal dans le tableau.
Sample ID (Identifiant de l'échantillon)	Identifiant de l'échantillon figurant sur la feuille d'échantillons. L'identifiant de l'échantillon doit toujours être une valeur unique.
Sample Name (Nom de l'échantillon)	Nom de l'échantillon figurant sur la feuille d'échantillons.
Call Rate (Débit d'appel)	Nombre de bases atteignant le seuil de score de qualité divisé par le nombre total de bases 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 avec appels incomplets divisé par le nombre total de bases/positions 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"> <li>• RÉUSSITE : avec un débit d'appel <math>\geq 99</math> %</li> <li>• ÉCHEC : avec un débit d'appel <math>&lt; 99</math> %</li> </ul> Pour un échantillon de contrôle négatif : <ul style="list-style-type: none"> <li>• RÉUSSITE : avec un débit d'appel <math>\leq 10</math> %</li> <li>• ÉCHEC : avec un débit d'appel <math>&gt; 10</math> %</li> </ul> Pour un échantillon non étiqueté comme un contrôle positif ou négatif : <ul style="list-style-type: none"> <li>• RÉUSSITE : avec un débit d'appel <math>\geq 99</math> %</li> <li>• ÉCHEC : avec un débit d'appel <math>&lt; 99</math> %</li> </ul>



Colonne	Description
Control (Contrôle)	Type de contrôle tel que répertorié dans la feuille d'échantillons. Les valeurs peuvent être positives ou négatives. Un champ vide indique un échantillon uniquement.
Comment (Commentaire)	Champ de texte facultatif pour les commentaires. Les commentaires saisis dans ce champ sont enregistrés dans le fichier de rapport d'analyse, MiSeqDxCFClinicalSequencing.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.
Coordinates Not Called (Coordonnées non appelées)	Coordonnées de génome dans la région ciblée où un appel n'a pas été rapporté en raison de faibles valeurs de confiance.

### Tableau Variants (Variants) pour le test de séquençage clinique de la fibrose kystique (CF)

Colonne	Description
#	Numéro d'identification ordinal dans le tableau.
Sample ID (Identifiant de l'échantillon)	Identifiant de l'échantillon figurant sur la feuille d'échantillons. L'identifiant de l'échantillon doit toujours être une valeur unique.
Sample Name (Nom de l'échantillon)	Nom de l'échantillon figurant sur la feuille d'échantillons.
Chr (Chromosome)	Nom du chromosome ou de la cible de référence.
Position	Position à laquelle le variant a été trouvé.
Variant Type (Type de variant)	Le type de variant. <ul style="list-style-type: none"> <li>• SNV : variant à simple nucléotide</li> <li>• DIV : variant de délétion/insertion</li> <li>• DEL : grande délétion</li> <li>• PolyTGPolyT : génotype PolyTG/PolyT dans le gène de la CF</li> </ul>
Call (Appel)	Chaîne représentant la manière dont la ou les bases ont changé à cet emplacement dans la référence.
Frequency (Fréquence)	La proportion de lectures de l'échantillon qui comprend le variant. Par exemple, si la base de référence à une position particulière est A et que l'échantillon 1 présente 60 lectures A et 40 lectures T, alors le SNV présente une fréquence de variant de 0,4.
Depth (Profondeur)	Le nombre de lectures pour un échantillon couvrant une position particulière.
Filter (Filtre)	Les critères pour un variant filtré.

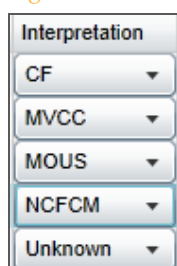
Colonne	Description
dbSNP ID (Identifiant dbSNP)	Le nom dbSNP du variant.
RefGene (Gène de référence)	Gène selon le RefGene dans lequel ce variant apparaît.
cDNA Name (HGVS) (Nom de l'ADNc (HGVS))	Description d'un variant au niveau de l'ADN en utilisant la nomenclature de séquence d'ADN codant (ADNc), tel qu'il est recommandé par la Human Genome Variation Society (HGVS).
Protein Name (HGVS) (Nom de 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).
Interpretation (Interprétation)	<p>Ce champ permet au médecin généticien de fournir une interprétation clinique de la mutation pour chaque échantillon. La liste déroulante pour chaque échantillon comprend les options suivantes :</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• CF : provoquant la CF</li> <li>• MVCC : mutation aux conséquences cliniques variables</li> <li>• MOUS : mutation d'une importance inconnue</li> <li>• NCFCM : mutation ne provoquant pas la CF</li> <li>• Unknown (Inconnue)</li> </ul> <p>Un nouveau rapport peut être généré à l'aide de l'icône.</p>

### Colonne Interpretation (Interprétation) du tableau Variants (Variants)

La colonne Interpretation (Interprétation) fournit des options permettant au généticien médical de fournir une interprétation clinique de la mutation pour chaque échantillon. La liste déroulante de la colonne Interpretation (Interprétation) comprend les options suivantes :

- **CF** : provoquant la CF
- **MVCC** : mutation aux conséquences cliniques variables
- **MOUS** : mutation d'une importance inconnue
- **NCFCM** : mutation ne provoquant pas la CF
- **Unknown** (Inconnue)

Figure 16 Colonne Interpretation (Interprétation)



Les résultats contenus dans les tableaux Variants (Variants) peuvent être exportés individuellement vers un fichier texte à l'aide de l'icône **Export table data to text file** (Exporter les données du tableau vers un fichier texte). Cette exportation ne modifie pas le fichier de rapport d'analyse.



Une fois que le médecin généticien a fini de déterminer la signification des variants, les paramètres d'interprétation peuvent être enregistrés dans le rapport d'analyse. Un horodatage est automatiquement ajouté au nom du fichier du rapport d'analyse d'origine.

### Graphique Coverage (Couverture) pour le test de séquençage clinique de la fibrose kystique (CF)

Axe des Y	Axe des X	Description
Couverture	Position	La courbe verte correspond au nombre de lectures alignées couvrant chaque position dans la référence. La courbe rouge correspond au nombre de lectures alignées présentant un appel incorrect à cette position dans la référence. Les SNV et autres variants s'affichent sous forme de pics dans la courbe rouge.

### Graphique Qscore (Score de qualité)

Axe des Y	Axe des X	Description
Qscore (Score de qualité)	Position	Le score de qualité moyen des bases à une position donnée de la référence.

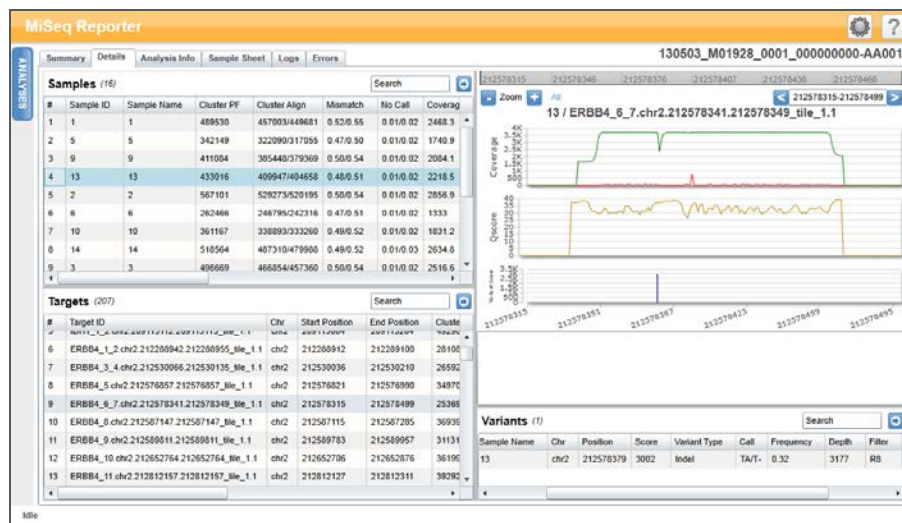
### Graphique Variant Score (Score de variant) pour le test de séquençage clinique de la fibrose kystique (CF)

Axe des Y	Axe des X	Description
Score	Position	Affiche une représentation graphique du score de qualité et de la position des SNV et indels.

### Onglet Details (Détails) pour la trousse universelle 1.0

Les renseignements qui s'affichent à l'onglet Details (Détails) pour la trousse universelle 1.0 comprennent un tableau d'échantillons, un tableau de cibles, un graphique de couverture, un graphique de scores de qualité, un graphique de scores de variant ainsi qu'un tableau de variants.

Figure 17 Onglet Details (Détails) pour la trousse universelle 1.0, exemple



## Tableau Samples (Échantillons) pour la trousse universelle 1.0

Colonne	Description
#	Numéro d'identification ordinal dans le tableau.
Sample ID (Identifiant de l'échantillon)	Identifiant de l'échantillon figurant sur la feuille d'échantillons. L'identifiant de l'échantillon doit toujours être une valeur unique.
Sample Name (Nom de l'échantillon)	Nom de l'échantillon figurant sur la feuille d'échantillons.
Cluster PF (amplifiats passant le filtre)	Nombre d'amplifiats passant le filtre pour l'échantillon.
Cluster Align (Alignement des amplifiats)	Nombre total d'amplifiats passant le filtre correspondant à l'échantillon (Lecture 1/Lecture 2).
Mismatch (Mésappariement)	Pourcentage de mésappariements à mentionner en moyenne sur l'ensemble des cycles par lecture (Lecture 1/Lecture 2).
No Call (Aucun-appel)	Pourcentage de bases qui n'ont pas pu être appelées (aucun-appel) pour l'échantillon en moyenne sur l'ensemble des cycles par lecture (Lecture 1/Lecture 2).
Coverage (Couverture)	Couverture médiane (nombre de bases alignées sur une position de référence donnée) en moyenne sur l'ensemble des positions.
SNP Het (SNP hétérozygotes)	Nombre de SNP hétérozygotes détectés dans l'échantillon.
SNP Hom (SNP homozygotes)	Nombre de SNP homozygotes détectés dans l'échantillon.
Insertions (Insertions)	Nombre d'insertions détectées dans l'échantillon.
Deletions (Délétions)	Nombre de délétions détectées dans l'échantillon.
Manifest (Manifeste)	Fichier qui indique un génome de référence et des régions de référence ciblées à utiliser à l'étape de l'alignement.
Genome (Génome)	Nom du génome de référence.

## Tableau Targets (Cibles) pour la trousse universelle 1.0

Colonne	Description
#	Numéro d'identification ordinal dans le tableau.
Target ID (Identifiant de la cible)	Nom de la cible dans le manifeste.
Chr (Chromosome)	Nom du chromosome ou de la cible de référence.
Start Position (Position de départ)	Position de départ de la région cible.
End position (Position finale)	Position finale de la région cible.
Cluster PF (amplifiats passant le filtre)	Nombre d'amplifiats passant le filtre pour la cible affichée par lecture (Lecture 1/Lecture 2).
Mismatch (Mésappariement)	Pourcentage de bases ne concordant pas avec la cible en moyenne sur l'ensemble des cycles, affiché par lecture. Mésappariement = [moyenne (nombre d'erreurs dans les cycles)/amplifiats PF]*100.
No Call (Aucun-appel)	Pourcentage de bases auxquelles ne correspond aucun appel pour la cible en moyenne sur l'ensemble des cycles, affiché par lecture.
SNP Het (SNP hétérozygotes)	Nombre de SNP hétérozygotes détectés pour la cible sur l'ensemble des échantillons.
SNP Hom (SNP homozygotes)	Nombre de SNP homozygotes détectés pour la cible sur l'ensemble des échantillons.
Insertions (Insertions)	Nombre d'insertions détectées pour la cible sur l'ensemble des échantillons.
Deletions (Délétions)	Nombre de délétions détectées pour la cible sur l'ensemble des échantillons.
Manifest (Manifeste)	Fichier qui indique un génome de référence et des régions de référence ciblées à utiliser à l'étape de l'alignement.

## Graphique Coverage (Couverture) pour la trousse universelle 1.0

Axe des Y	Axe des X	Description
Couverture	Position	La courbe verte correspond au nombre de lectures alignées couvrant chaque position dans la référence. La courbe rouge correspond au nombre de lectures alignées présentant un appel incorrect à cette position dans la référence. Les SNP et autres variants s'affichent sous forme de pics dans la courbe rouge.

## Graphique Qscore (Score de qualité)

Axe des Y	Axe des X	Description
Qscore (Score de qualité)	Position	Le score de qualité moyen des bases à une position donnée de la référence.

## Graphique Variant Score (Scores des variants) pour la trousse universelle 1.0

Axe des Y	Axe des X	Description
Score (Score)	Position	Affiche une représentation graphique du score de qualité du variant et de la position des SNP et indels.

## Tableau Variants (Variants) pour la trousse universelle 1.0

Colonne	Description
#	Numéro d'identification ordinal dans le tableau.
Sample ID (Identifiant de l'échantillon)	Identifiant de l'échantillon figurant sur la feuille d'échantillons. L'identifiant de l'échantillon doit toujours être une valeur unique.
Sample Name (Nom de l'échantillon)	Nom de l'échantillon figurant sur la feuille d'échantillons.
Chr (Chromosome)	Nom du chromosome ou de la cible de référence.
Position	Position à laquelle le variant a été trouvé.
Score (Score)	Score de qualité du variant de ce variant.
Variant Type (Type de variant)	Type de variant SNP ou indel.
Call (Appel)	Représentation indiquant la manière dont la ou les bases ont changé à cet emplacement dans la référence. <ul style="list-style-type: none"> <li>• Les SNP sont répertoriés au format Référence &gt; AllèleA/AllèleB.</li> <li>• Les insertions sont répertoriées au format Référence/Insertion. G-/GA indique l'insertion de A.</li> <li>• Les délétions sont répertoriées au format Référence/Délétion. AGG/A-- indique la délétion de GG.</li> </ul>
Frequency (Fréquence)	La proportion de lectures de l'échantillon qui comprend le variant. Par exemple, si la base de référence est A et que l'échantillon 1 présente 60 lectures A et 40 lectures T, alors le SNP présente une fréquence de variant de 0,4.
Depth (Profondeur)	Le nombre de lectures pour un échantillon couvrant une position particulière.

Colonne	Description
Filter (Filtre)	Les critères pour un variant filtré. Si tous les filtres sont passés, PASS (Réussite) s'inscrit dans la colonne Filter (Filtre). Pour plus de renseignements, consultez la section <i>En-têtes et annotations du fichier VCF</i> , page 49.
dbSNP	Nom dbSNP du variant, le cas échéant.
RefGene (Gène de référence)	Gène selon le RefGene dans lequel ce variant apparaît.

## Fichiers de sortie d'analyse pour les tests de fibrose kystique (CF)

Les résultats d'analyse des tests de fibrose kystique (CF) s'affichent à l'onglet Details (Détails).

Figure 18 Onglet Details (Détails) pour le test de fibrose kystique (CF) à 139 variants, exemple

#	Sample ID	Sample Name	Call Rate	Performance	Control	Comment
1	NA01445	NA01445	100.00	Pass		
2	NA02828	NA02828	100.00	Pass		
3	NA04330	NA04330	100.00	Pass		
4	NA07339	NA07339	100.00	Pass		
5	NA07381	NA07381	100.00	Pass		
6	NA07441	NA07441	100.00	Pass		
7	NA07732	NA07732	100.00	Pass		
8	NA07854	NA07854	100.00	Pass		
9	NA07857	NA07857	100.00	Pass		

#	Sample ID	Sample Name	Mutation Name	Type	dbSNP rsID	CFTR Gene Region	Genomic Location	cDNA Name (HGVS)	Protein Name (HGVS)	Result	Cor
1	NA01445	NA01445	PolyTGIPolyT	PolyTGPolyT	N/A	Intron 9	117188661-117188689	c.1210-12T[5_9]	N/A	(TG)10(T)/(T)10(T)9	S3
2	NA01445	NA01445	F526del	DEL	rs113993960	Exon 11	117199645	c.1521_1523delCTT	p.Phe526del	HET	301
3	NA01445	NA01445	W1282X	SNV	rs77010888	Exon 23	117282620	c.3846G>A	p.Trp1282X	HET	301



Les résultats contenus dans les tableaux Variants (Variants) peuvent être exportés individuellement vers un fichier texte à l'aide de l'icône **Export table data to text file** (Exporter les données du tableau vers un fichier texte). Cette exportation ne modifie pas le fichier de rapport d'analyse.



Une fois que le médecin généticien a fini de déterminer la signification des variants, les paramètres d'interprétation peuvent être enregistrés dans le rapport d'analyse. Un horodatage est automatiquement ajouté au nom du fichier du rapport d'analyse d'origine.

Les fichiers de sortie des tests de fibrose kystique (CF) sont également résumés dans un fichier de texte séparé par des tabulations dénommé en fonction du test utilisé pour l'analyse. Les résultats sont identiques à ceux indiqués à l'onglet Details (Détails).

- ▶ Pour le test à 139 variants de la fibrose kystique (CF), le fichier est nommé MiSeqDxCf139VariantAssay.txt.
- ▶ Pour le test de séquençage clinique de la fibrose kystique (CF), le fichier est nommé MiSeqDxCfClinicalSequencingAssay.txt.

Une fois l'analyse terminée, le fichier de sortie est écrit dans le dossier Alignment (Alignement) de l'analyse. Par exemple :

```
MiSeqAnalysis (AnalyseMiSeq)\<RunFolderName (NomDossierAnalyse)>\Data
(Données)\Intensities (Intensités)\BaseCalls (Définitions de bases)\Alignment
(Alignement)
```



Si une analyse a été répétée ou remise en file d'attente, un nouveau fichier de rapport est écrit dans le dossier **Alignment (Alignement)** pour cette analyse. Pour plus de renseignements, consultez la section *Remise en file d'attente pour analyse*, page 14.

Le fichier de sortie contient un en-tête comprenant les renseignements suivants concernant l'analyse :

En-tête	Description
Test	Il s'agit de la description du test qui a été effectué.
Run ID (ID d'analyse)	Il s'agit de l'identifiant de l'analyse qui a été généré par MOS au début de l'analyse de séquençage.
Run Date (Date de l'analyse)	Il s'agit de la date (JJMMAA) à laquelle l'analyse de séquençage a été lancée dans MOS.
Analysis Version (Version de l'analyse)	Il s'agit de la version de MiSeq Reporter qui a été utilisée pour l'analyse.

**Figure 19** En-tête du fichier de sortie du test de fibrose kystique (CF) à 139 variants, exemple

```

Test CF 139-Variant Assay
For In Vitro Diagnostic Use.
Run ID 140212_M01018_0071_000000000-A2618
Run Date 140212
Analysis Version 2.2.31.1

```

Après l'en-tête se trouve une section récapitulative pour chaque identifiant d'échantillon contenant des colonnes pour chaque valeur rapportée. Pour une description des colonnes, consultez la section *Onglet Details (Détails) pour le test de fibrose kystique (CF) à 139 variants*, page 24 et *Onglet Details (Détails) pour le test de séquençage clinique de la fibrose kystique (CF)*, page 26.



#### REMARQUE

Le pipeline d'analyse qui génère les fichiers de sortie n'est pas identique pour les tests de fibrose kystique (CF) et la trousse universelle 1.0. Les fichiers de sortie générés pour la trousse universelle 1.0 sont des fichiers \*.bam, \*.vcf et AmpliconCoverage\_M#.tsv. Pour plus de renseignements sur les fichiers de sortie de la trousse universelle 1.0, consultez l'Annexe A Fichiers de sortie d'analyse de la trousse universelle 1.0.

# Installation et dépannage

Exigences hors instrument de MiSeq Reporter .....	38
Installation de MiSeq Reporter hors de l'instrument .....	39
Utilisation de MiSeq Reporter hors de l'instrument .....	41
Dépannage de MiSeq Reporter .....	42



## Exigences hors instrument de MiSeq Reporter

L'installation d'une copie de MiSeq Reporter sur un ordinateur Windows hors de l'instrument permet une analyse secondaire des données de séquençage pendant que le MiSeqDx effectue une autre analyse de séquençage.

Pour plus de renseignements, consultez la section *Installation de MiSeq Reporter hors de l'instrument*, page 39.

### Spécifications informatiques

Le logiciel MiSeq Reporter nécessite les composants informatiques suivants :

- ▶ Système d'exploitation Windows 64 bits (Vista, Windows 7, Windows Server 2008 64 bits)
- ▶ ≥ 8 Go de mémoire vive au minimum; ≥ 16 Go de mémoire vive recommandée
- ▶ ≥ 1 To d'espace disque
- ▶ Processeur quadri-cœur (2,8 GHz ou supérieur)
- ▶ Microsoft .NET 4

### Navigateurs pris en charge

MiSeq Reporter peut être consulté à l'aide des navigateurs Web suivants :

- ▶ Safari 5.1.7 ou version ultérieure
- ▶ Firefox 13.0.1 ou version ultérieure
- ▶ Internet Explorer 8 ou version ultérieure

### Téléchargement et licence

- 1 Téléchargez une seconde copie du logiciel MiSeq Reporter qui se trouve sur le site Web d'Illumina. Des identifiants de connexion MyIllumina sont requis.
- 2 Acceptez le contrat de licence de l'utilisateur final (EULA) lorsque vous y êtes invité lors de l'installation. Aucune clé de licence n'est nécessaire, cette copie supplémentaire étant fournie gratuitement.

## Installation de MiSeq Reporter hors de l'instrument

Pour installer MiSeq Reporter sur un ordinateur Windows hors de l'instrument, configurez d'abord l'autorisation **Ouvrir une session en tant que service**, puis exécutez l'assistant d'installation. Configurez ensuite le logiciel de sorte qu'il pointe vers le référentiel ou le chemin de génome approprié.

### Configurer des comptes d'utilisateur ou de groupe sur Windows 7

Les droits d'administrateur sont requis pour configurer des comptes d'utilisateur ou de groupe pour activer l'autorisation **Ouvrir une session en tant que service**. Communiquez avec l'administrateur de l'installation locale pour obtenir de l'aide au besoin.

- 1 Dans le menu **Démarrer** de Windows, sélectionnez **Panneau de configuration**, puis cliquez sur **Système et sécurité**.
- 2 Cliquez sur **Outils d'administration**, puis double-cliquez sur **Stratégie de sécurité locale**.
- 3 Dans l'arborescence des Paramètres de sécurité, à gauche, double-cliquez sur **Stratégies locales**, puis cliquez sur **Attribution des droits utilisateur**.
- 4 Dans le volet des détails, à droite, double-cliquez sur **Ouvrir une session en tant que service**.
- 5 Dans la boîte de dialogue Propriétés, cliquez sur **Ajouter un utilisateur ou un groupe**.
- 6 Saisissez le nom du compte d'utilisateur ou de groupe pour cet ordinateur. Cliquez sur **Vérifier les noms** pour valider le compte.
- 7 Cliquez sur **OK** dans toutes les boîtes de dialogue qui s'affichent, puis fermez le panneau de configuration.

Pour plus de renseignements, consultez le lien suivant [technet.microsoft.com/frfr/library/cc739424\(W.S.10\).aspx](http://technet.microsoft.com/frfr/library/cc739424(W.S.10).aspx) sur le site Web de Microsoft.

### Exécuter l'assistant d'installation MiSeq Reporter

- 1 Téléchargez et décompressez la trousse d'installation de MiSeq Reporter sur le site Web d'Illumina.
- 2 Double-cliquez sur le fichier setup.exe.
- 3 Cliquez sur **Next** (Suivant) dans les invites de l'assistant d'installation.
- 4 Lorsque vous y êtes invité, indiquez le nom d'utilisateur et le mot de passe d'un compte disposant d'une autorisation **Ouvrir une session en tant que service**, comme configuré à l'étape précédente.
- 5 Poursuivez avec toutes les invites restantes.

### Configurer MiSeq Reporter

Pour configurer MiSeq Reporter afin de localiser le dossier d'analyse et le dossier des génomes de référence, modifiez le fichier de configuration dans un éditeur de texte, tel que Bloc-notes.

- 1 Accédez au dossier d'installation (C:\Illumina\MiSeq Reporter, par défaut) et ouvrez le fichier MiSeq Reporter.exe.config dans un éditeur de texte.

- 2 Recherchez la balise **Repository** (Référentiel) et modifiez **value** (valeur) par l'emplacement de données par défaut sur l'ordinateur hors de l'instrument.  
Exemple :  

```
<add key="Repository" value="E:\Data\Repository" />
```

Cet emplacement peut également être un emplacement réseau accessible à partir de l'ordinateur hors de l'instrument.
- 3 Recherchez la balise **GenomePath** (Chemin du génome) et modifiez **value** (valeur) par l'emplacement du dossier contenant les fichiers des génomes de référence au format FASTA.  
Exemple :  

```
<add key="GenomePath" value="E:\MyGenomes\FASTA" />
```


## Démarrer le service MiSeq Reporter

Une fois l'installation terminée, le service MiSeq Reporter démarre automatiquement. Si le service ne démarre pas, démarrez-le manuellement en suivant les instructions ci-après ou redémarrez l'ordinateur.

- 1 Dans le menu **Démarrer** de Windows, cliquez avec le bouton droit de la souris sur **Ordinateur** et sélectionnez **Gérer**.
- 2 Dans l'arborescence Gestion de l'ordinateur située à gauche, double-cliquez sur **Services et applications**, puis cliquez sur **Services**.
- 3 Cliquez avec le bouton droit de la souris sur **MiSeq Reporter** et sélectionnez **Propriétés**.
- 4 À l'onglet Général, assurez-vous que l'option **Type de démarrage** est définie comme **Automatique**, puis cliquez sur **Démarrer**.
- 5 À l'onglet Connexion, définissez le **nom d'utilisateur** et le **mot de passe** d'un compte de Services disposant d'autorisations d'écriture sur le serveur. Illumina recommande le compte **Système local** pour la plupart des utilisateurs. Pour obtenir de l'aide ou connaître les exigences réseau spécifiques à un site, communiquez avec l'administrateur de l'installation locale.
- 6 Cliquez sur **OK** dans toutes les boîtes de dialogue qui s'affichent, puis fermez la fenêtre Gestion de l'ordinateur.
- 7 Une fois que le service MiSeq Reporter a démarré, connectez-vous localement au logiciel en utilisant localhost:8042 dans un navigateur Web.

## Utilisation de MiSeq Reporter hors de l'instrument

Pour l'utilisation de MiSeq Reporter hors de l'instrument, les dossiers contenant les données d'analyse et les génomes de référence doivent être accessibles.

- 1 À moins d'utiliser un emplacement réseau pour les données de séquençage et les génomes de référence, copiez les dossiers suivants vers l'ordinateur local :
  - Copiez les données d'analyse à partir de l'ordinateur MiSeqDx dans D:\MiSeqOutput\  - Copiez les génomes de référence à partir de l'ordinateur MiSeqDx dans C:\Illumina\MiSeq Reporter\Genomes.
- 2 Ouvrez un navigateur Web en utilisant <http://localhost:8042>, ce qui permet d'ouvrir l'interface Web MiSeq Reporter.
- 3 Changez le chemin vers le référentiel à l'aide de l'icône **Settings**  (Paramètres) dans le coin supérieur droit de l'interface Web.



### REMARQUE

La spécification du chemin vers le référentiel dans Settings (Paramètres) est temporaire. Lors du prochain démarrage de l'ordinateur, le chemin utilisé par défaut sera l'emplacement du référentiel indiqué dans MiSeq Reporter.exe.config.

- 4 Sélectionnez **Analyses** (Analyses) sur la gauche de l'interface Web pour afficher les analyses disponibles dans l'emplacement de référentiel indiqué.
- 5 Pour qu'une analyse puisse être remise en file d'attente à l'aide de l'installation hors de l'instrument de MiSeq Reporter, le chemin vers le dossier du génome doit être mis à jour dans la feuille d'échantillons, ce qui peut être effectué à l'onglet Sample Sheet (Feuille d'échantillons). Une fois que le chemin du dossier du génome a été mis à jour, cliquez sur **Save and Requeue** (Enregistrer et remettre en file d'attente).  
Pour plus de renseignements, consultez la section *Modification de la feuille d'échantillons dans MiSeq Reporter*, page 12.

## Dépannage de MiSeq Reporter

MiSeq Reporter s'exécute comme une application de service Windows. Les comptes d'utilisateur doivent être configurés pour activer les autorisations **Ouvrir une session en tant que service** avant l'installation de MiSeq Reporter. Pour plus de renseignements, consultez la section *Configurer des comptes d'utilisateur ou de groupe sur Windows 7*, page 39.

Pour plus de renseignements, consultez le lien [msdn.microsoft.com/frfr/library/ms189964.aspx](http://msdn.microsoft.com/frfr/library/ms189964.aspx).


### Échec de démarrage du service

En cas d'échec de démarrage du service, vérifiez le Journal d'événements Windows et consultez les détails du message d'erreur.

- 1 Ouvrez le **Panneau de configuration** et sélectionnez **Outils d'administration**.
- 2 Sélectionnez **Observateur d'événements**.
- 3 Dans la fenêtre Observateur d'événements, sélectionnez **Journaux Windows** | **Application**. L'erreur répertoriée dans le journal des événements décrit toute erreur de syntaxe dans le fichier MiSeq Reporter.exe.config. Une syntaxe incorrecte dans le fichier MiSeq Reporter.exe.config peut provoquer un échec du service.

### Échec de copie des fichiers

En cas d'échec de copie des fichiers vers l'emplacement prévu, vérifiez les paramètres suivants :

- 1 Vérifiez le chemin vers le dossier du référentiel indiqué ou le dossier MiSeqOutput :
  - Pour des installations hors de l'instrument, vérifiez l'emplacement du référentiel à l'aide de l'option Settings (Paramètres)  sur l'interface Web de MiSeq Reporter.
  - Pour des installations sur instrument, vérifiez l'emplacement du dossier MiSeqOutput (SortieMiSeq) à l'écran Run Options (Options d'analyse) MOS, onglet Folder Settings (Paramètres du dossier).

Le chemin UNC complet (p. ex., \\server1\Runs) doit être utilisé. Étant donné que MiSeq Reporter s'exécute comme un service Windows, il ne reconnaît pas les lecteurs mappés par l'utilisateur (p. ex., Z:\Runs (Analyses)).

- 2 Confirmez l'accès en écriture à l'emplacement du dossier de sortie. Pour obtenir de l'aide, communiquez avec l'administrateur de l'installation locale.
- 3 Vérifiez que la copie n'est pas désactivée dans le fichier MiSeq Reporter.exe.config. Ce paramètre se trouve dans la section <appSettings> (Paramètre de l'application) et la valeur doit être définie en tant que **1**.  

```
<add key="CopyToRTAOutputPath" value="1"/>
```

### Affichage des fichiers journaux en cas d'échec d'une analyse

L'affichage des fichiers journaux facilite l'identification d'erreurs spécifiques à des fins de dépannage.

- 1 Pour afficher les fichiers journaux à l'aide de l'interface de navigateur Web MiSeq Reporter, sélectionnez l'analyse à l'onglet Analyses (Analyses).

- 2 Sélectionnez l'onglet Logs (Journaux) pour afficher chaque étape qui s'est déroulée lors de l'analyse. Les renseignements relatifs aux journaux sont enregistrés dans le fichier AnalysisLog.txt, qui se trouve au niveau racine du dossier MiSeqAnalysis (AnalyseMiSeq).
- 3 Sélectionnez l'onglet Errors (Erreurs) pour afficher la liste des erreurs survenues lors de l'analyse. Les renseignements relatifs aux erreurs sont enregistrés dans le fichier AnalysisError.txt, qui se trouve au niveau racine du dossier MiSeqAnalysis (AnalyseMiSeq).



[Cette page a été volontairement laissée vide.]

# Fichiers de sortie d'analyse de la trousse universelle 1.0

Types de fichiers de sortie d'analyse .....	46
Format de fichier BAM .....	47
Format de fichier VCF .....	48
Fichier de couverture des amplicons .....	51
Fichiers de sortie supplémentaires .....	52



## Types de fichiers de sortie d'analyse

Le tableau suivant décrit les fichiers de sortie générés pour la trousse universelle 1.0, qui fournissent des résultats d'analyse relatifs à l'alignement, à l'appel des variants et à la couverture.

Nom de fichier	Description
fichiers *.bam	Contiennent les lectures alignées pour un échantillon donné. Situés sous Data \ Intensities \ BaseCalls \ Alignment (Données/Intensités/Appels de bases/Alignement).
fichiers *.vcf	Contiennent des renseignements sur les variants trouvés à des positions spécifiques dans un génome de référence. Situés sous Data \ Intensities \ BaseCalls \ Alignment (Données/Intensités/Appels de bases/Alignement).
AmpliconCoverage_M#.tsv	Contient des renseignements sur la couverture résultante par amplicon et par échantillon. M# représente le numéro de manifeste. Situés sous Data \ Intensities \ BaseCalls \ Alignment (Données/Intensités/Appels de bases/Alignement).



### REMARQUE

Le pipeline d'analyse qui génère ces fichiers de sortie n'est pas identique pour les tests de fibrose kystique (CF) et la trousse universelle 1.0. Cette section décrit les fichiers de sortie d'analyse pour la trousse universelle 1.0 uniquement.

## Format de fichier BAM

Un fichier BAM (\*.bam) est la version binaire compressée d'un fichier SAM utilisée pour représenter des séquences alignées. Les formats SAM et BAM sont présentés de façon détaillée sur le site Web dédié aux outils SAM : [samtools.sourceforge.net](http://samtools.sourceforge.net).

Les fichiers BAM sont écrits dans le dossier d'alignement dans `Data\Intensities\BaseCalls\Alignment` (Données\Intensités\Appels de bases\Alignement) sous le format de dénomination de fichier `NomÉchantillon_S#.bam`, où le symbole « # » représente le numéro de l'échantillon en fonction de l'ordre dans lequel figurent les échantillons sur la feuille d'échantillons.

Les fichiers BAM contiennent une section d'en-tête et une section pour les alignements.

- ▶ **Header** (En-tête) : contient les renseignements sur la totalité du fichier, tels que le nom de l'échantillon et sa longueur. Les alignements dans la section des alignements sont associés aux renseignements spécifiques figurant dans la section d'en-tête.
- ▶ **Alignments** (Alignements) : contient le nom de la lecture, la séquence de lecture, la qualité de la lecture et des balises personnalisées.

**Figure 20** Exemple : section des alignements d'un fichier BAM

```
GA23_40:8:1:10271:11781 64 chr22 17552189 8 35M * 0 0
TACAGACATCCACCACCACACCCAGCTAATTTTTG
IIIII>FA?C::B=:GGGB>GGGEGIIIIHI3EEE#
BC:Z:ATCACG XD:Z:55 SM:I:8
```

Le nom de la lecture comprend le chromosome et les coordonnées de départ (**chr22 17552189**), la qualité de l'alignement (**8**) et le descripteur de correspondance (**35M \* 0 0**).

Les fichiers BAM peuvent être visualisés avec un visualiseur externe tel que l'IGV ou le navigateur génomique UCSC.

## Format de fichier VCF

VCF est un format de fichier largement utilisé développé par la communauté scientifique travaillant sur la génomique. Il contient des renseignements sur les variants que l'on trouve à des positions spécifiques dans un génome de référence.

Les fichiers VCF utilisent le format de dénomination de fichier NomÉchantillon\_S#.vcf, où le symbole « # » représente le numéro de l'échantillon en fonction de l'ordre dans lequel figurent les échantillons sur la feuille d'échantillons.

- ▶ **En-tête de fichier VCF** : inclut la version du format de fichier VCF ainsi que la version du paramètre d'appel des variants. L'en-tête répertorie les annotations utilisées dans le reste du fichier. La dernière ligne de l'en-tête est constituée d'en-têtes de colonnes pour les lignes de données. Pour plus de renseignements, consultez la section *En-têtes et annotations du fichier VCF*, page 49.

Figure 21 Exemple d'en-tête de fichier VCF

```
##fileformat=VCFv4.1
##FORMAT=<ID=GQX,Number=1,Type=Integer,Description="Minimum of
  {Genotype quality assuming variant position,Genotype quality
  assuming non-variant position}">
##FORMAT=<ID=GT,Number=1,Type=String,Description="Genotype">
##FORMAT=<ID=GQ,Number=1,Type=Float,Description="Genotype
  Quality">
##FORMAT=<ID=AD,Number=.,Type=Integer,Description="Allelic depths
  for the ref and alt alleles in the order listed">
##FORMAT=<ID=VF,Number=1,Type=Float,Description="Variant
  Frequency, the ratio of the sum of the called variant depth to
  the total depth">
##INFO=<ID=TI,Number=.,Type=String,Description="Transcript ID">
##INFO=<ID=GI,Number=.,Type=String,Description="Gene ID">
##INFO=<ID=EXON,Number=0,Type=Flag,Description="Exon Region">
##INFO=<ID=FC,Number=.,Type=String,Description="Functional
  Consequence">
##INFO=<ID=AC,Number=A,Type=Integer,Description="Allele count in
  genotypes, for each ALT allele, in the same order as listed">
##INFO=<ID=AF,Number=A,Type=Float,Description="Allele Frequency,
  for each ALT allele, in the same order as listed">
##INFO=<ID=AN,Number=1,Type=Integer,Description="Total number of
  alleles in called genotypes">
##INFO=<ID=DP,Number=1,Type=Integer,Description="Approximate read
  depth; some reads may have been filtered">
##FILTER=<ID=LowVariantFreq,Description="Low variant frequency <
  0.20">
##FILTER=<ID=LowGQ,Description="GQ below < 20.00">
##FILTER=<ID=LowQual,Description="QUAL below < 100.00">
##FILTER=<ID=R8,Description="IndelRepeatLength is greater than
  8">
##fileDate=20130506
##source=Starling 0.3
##phasing=none
#CHROM POS ID REF ALT QUAL FILTER INFO FORMAT
```

- **Lignes de données d'un fichier VCF** : contiennent des renseignements sur un seul variant. Les lignes de données sont répertoriées sous les en-têtes de colonnes comprises dans l'en-tête.

## En-têtes et annotations du fichier VCF

Le format de fichier VCF est flexible et extensible. Les tableaux suivants décrivent les en-têtes et les annotations du fichier VCF générées par MiSeq Reporter.

### En-têtes du fichier VCF

En-tête	Description
CHROM	Chromosome du génome de référence. Les chromosomes apparaissent dans le même ordre que dans le fichier de référence FASTA.
POS	Position de la base unique du variant dans le chromosome de référence. Pour les SNP, cette position est la base de référence avec le variant pour les indels ou les délétions. Il s'agit de la base de référence immédiatement avant le variant.
ID	Numéro rs pour le SNP obtenu à partir du fichier dbSNP.txt le cas échéant. S'il existe plusieurs numéros rs à cet emplacement, la liste est délimitée par des points-virgules. Si aucune entrée dbSNP n'existe à cette position, un marqueur de valeur manquante (.) est utilisé.
REF	Génotype de référence. Par exemple, une délétion d'un T unique est représentée TT comme référence et T comme alternative.
ALT	Allèles qui diffèrent de la lecture de référence. Par exemple, une délétion d'un T unique est représentée TT comme référence et AT comme alternative.
QUAL	Score de qualité de l'échelle Phred attribué par le paramètre d'appel des variants. Des scores supérieurs indiquent une confiance accrue dans le variant et une moindre probabilité d'erreur. Pour un score de qualité de Q, la probabilité estimée d'une erreur est de 10 <sup>-Q/10</sup> . Par exemple, l'ensemble d'appels Q30 est associé à un taux d'erreur de 0,1 %. De nombreux paramètres d'appel des variants attribuent des scores de qualité en fonction de leurs modèles statistiques, qui sont élevés par rapport au taux d'erreur observé.

### Annotations du fichier VCF

En-tête	Description
<b>FILTER</b> (Filtre)	Si tous les filtres sont passés, PASS (Réussite) s'inscrit dans la colonne Filter (Filtre). <ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>LowDP</b> : appliqué aux sites dont la profondeur de couverture est inférieure à la limite.</li> <li>• <b>LowGQ</b> : la qualité du génotypage (GQ) est inférieure à la limite.</li> <li>• <b>LowQual</b> : la qualité du variant (QUAL) est inférieure à la limite.</li> <li>• <b>LowVariantFreq</b> : la fréquence du variant est inférieure au seuil.</li> <li>• <b>R8</b> : pour un indel, le nombre de répétitions adjacentes (d'une base ou de deux bases) dans la référence est supérieur à 8.</li> </ul>

En-tête	Description
INFO	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>AC</b> : comptage des allèles dans les génotypes pour chaque allèle ALT dans le même ordre que celui indiqué.</li> <li>• <b>AF</b> : fréquence des allèles pour chaque allèle ALT dans le même ordre que celui indiqué.</li> <li>• <b>AN</b> : nombre total d'allèles dans les génotypes appelés.</li> <li>• <b>Exon</b> : liste séparée par des virgules d'une lecture de régions exoniques à partir du gène de référence.</li> <li>• <b>FC</b> : conséquence fonctionnelle.</li> <li>• <b>GI</b> : liste séparée par des virgules d'une lecture d'identifiants génétiques à partir du gène de référence.</li> <li>• <b>TI</b> : liste séparée par des virgules d'une lecture d'identifiants de transcrits à partir du gène de référence.</li> </ul>
FORMAT	<ul style="list-style-type: none"> <li>• <b>AD</b> : entrée du format X, Y, où X est le nombre d'appels de référence et Y le nombre d'appels autres.</li> <li>• <b>DP</b> : profondeur de lecture approximative; les lectures avec MQ=255 ou de mauvais appariements sont filtrées.</li> <li>• <b>GQ</b> : qualité du génotype.</li> <li>• <b>GQX</b> : qualité du génotype. GQX est le minimum de la valeur GQ et de la colonne QUAL. En général, ces valeurs sont identiques; en prenant en compte la valeur minimale, GQX est la mesure la plus conservatrice pour mesurer la qualité du génotype.</li> <li>• <b>GT</b> : génotype. 0 correspond à la base de référence, 1 correspond à la première entrée dans la colonne ALT, etc. La barre oblique (/) indique qu'aucun renseignement relatif à la mise en phase n'est disponible.</li> <li>• <b>VF</b> : fréquence du variant; pourcentage de lectures prenant en charge l'allèle alternatif.</li> </ul>
SAMPLE (Échantillon)	La colonne relative aux échantillons indique les valeurs précisées dans la colonne FORMAT.

## Fichier de couverture des amplicons

Un fichier de couverture des amplicons est généré pour chaque manifeste. Le n° M dans le nom du fichier indique le numéro du manifeste tel qu'il figure sur la feuille d'échantillons.

Chaque fichier commence par une rangée d'en-têtes contenant les identifiants d'échantillon associés au manifeste. La première colonne contient les identifiants de cible. Chaque colonne supplémentaire répertorie la profondeur de couverture de l'identifiant d'échantillon correspondant.



## Fichiers de sortie supplémentaires

Les fichiers de sortie supplémentaires fournissent des renseignements complémentaires ou résumés des résultats de l'analyse ainsi que les erreurs associées. Bien que ces fichiers ne soient pas requis pour l'évaluation des résultats de l'analyse, ils peuvent être utilisés à des fins de dépannage.

Nom de fichier	Description
AnalysisLog.txt	Journal de traitement qui décrit chaque étape survenue au cours de l'analyse du dossier d'analyse actuel. Ce fichier ne contient pas de messages d'erreur. Situé au niveau racine du dossier d'analyse.
AnalysisError.txt	Journal de traitement qui répertorie toutes les erreurs qui se sont produites au cours de l'analyse. Ce fichier est généré uniquement en cas d'erreurs. Situé au niveau racine du dossier d'analyse.
AmpliconRunStatistics.xml	Contient des statistiques récapitulatives propres à l'analyse. Situé au niveau racine du dossier d'analyse.
CompletedJobInfo.xml	Écrit une fois l'analyse terminée, il contient des renseignements sur l'analyse, tels que la date, l'identifiant de la Flow Cell, la version du logiciel ainsi que d'autres paramètres. Situé au niveau racine du dossier d'analyse.
DemultiplexSummaryF1L1.txt	Résultats de démultiplexité des rapports dans un tableau avec une rangée par plaque et une colonne par échantillon. Situé sous Data\Intensities\BaseCalls\Alignment (Données/Intensités/Appels de bases/Alignement).
ErrorsAndNoCallsByLaneTileReadCycle.csv	Fichier de valeurs séparées par des virgules qui contient le pourcentage d'erreurs et d'aucun-appel pour chaque plaque, lecture et cycle. Situé sous Data\Intensities\BaseCalls\Alignment (Données/Intensités/Appels de bases/Alignement).
Mismatch.htm	Contient des histogrammes de mésappariements par cycle et d'aucun-appel par cycle pour chaque plaque. Situé sous Data\Intensities\BaseCalls\Alignment (Données/Intensités/Appels de bases/Alignement).
Summary.xml	Contient un résumé des taux de mésappariements et d'autres résultats relatifs aux définitions de bases. Situé sous Data\Intensities\BaseCalls\Alignment (Données/Intensités/Appels de bases/Alignement).
Summary.htm	Contient une page Web récapitulative générée à partir de Summary.xml. Situé sous Data\Intensities\BaseCalls\Alignment (Données/Intensités/Appels de bases/Alignement).

\*

\*.bam 47  
\*.bam.bai 47  
\*.vcf 48

## A

adresse IP, MiSeq Reporter 3  
affichage de MiSeq Reporter 3  
aide, technique 55  
alignement 17  
amplifiats passant le filtre 15  
analyse  
  pendant le séquençage 2  
AnalysisError.txt 42  
AnalysisLog.txt 42  
assistance clientèle 55  
assistance technique 55

## B

base de données dbsnp 21  
base de données refGene 21  
bases de données, préinstallées 21

## C

chemin du génome 39  
chemin du référentiel 5, 39  
compte Système local 40  
cycles de lectures 9

## D

démultiplexage 17  
dépannage  
  échec de copie des fichiers 42  
  échec de démarrage du service 42  
  fichiers journaux 42  
DLSO 22  
documentation 55  
dossier d'analyse 9  
  relation 18  
dossier de copie 9  
dossier de données 9  
dossier MiSeqAnalysis  
  (AnalyseMiSeq) 18  
dossier MiSeqOutput (SortieMiSeq) 18

## E

échec de copie des fichiers 42  
échec de démarrage du service 42

## F

feuille d'échantillons  
  à propos de 4  
  modification 12  
fichier d'analyse  
  à propos de 4

fichier de manifeste 4, 11  
fichiers BAM  
  format de fichier 47  
fichiers d'entrée 21  
fichiers d'index BAM 47  
fichiers FASTQ 17  
fichiers journaux 42  
fichiers VCF  
  annotations 49  
  format de fichier 48  
flux de travail  
  amplicons personnalisés 22  
  logiciel MiSeqDx 2  
flux de travail par amplicons  
  personnalisés 22  
fréquence du variant (VF) 49

## G

génomomes de référence, préinstallés 21  
génotype (GT) 49  
graphique d'amplifiats 7  
graphique de couverture 8  
graphique de mésappariements 7  
graphique de pourcentages élevés 7  
graphique de pourcentages faibles 7  
graphique de scores de variant 8  
graphique Qscore (Score de qualité) 8

## I

icônes, état de l'analyse 6  
identifiants de transcrits (TI) 49  
identifiants génétiques (GI) 49  
installation, hors instrument 39

## L

licence (EULA) 38  
localhost 3  
LowDP 49  
LowGQ 49  
LowVariantFreq 49

## M

mise en phase, mise en préphase 15  
MiSeqDxCf139VariantAssay.txt 35  
MiSeqDxCfClinicalSequencingAssay.txt  
  35  
modification de la feuille  
  d'échantillons 12

## O

outils SAM 47  
ouvrir une session en tant que  
  service 39

## P

passant le filtre (PF) 15  
probabilité d'une erreur 15

## Q

Q-score 15

## R

r8 49  
remise en file d'attente pour analyse 6,  
12, 14  
RTAComplete.txt 21  
RunInfo.xml 21

## S

SampleSheet.csv 21  
scores de qualité 15  
service Windows  
à propos de 2  
Ouvrir une session en tant que  
service 42  
Smith-Waterman 17, 22  
spécifications informatiques 38  
stratégie de sécurité locale 39

## T

tableau d'échantillons 8  
tableau de variants 8  
test de fibrose kystique à 139  
variants 20  
test de séquençage clinique de la fibrose  
kystique (CF) 20  
tests 20  
trousse 20  
trousse universelle 1.0 20

## U

ULSO 22  
URL du serveur 5

## Assistance technique

Pour obtenir une assistance technique, communiquez avec l'assistance technique d'Illumina.

**Tableau 4** Coordonnées générales d'Illumina

Site Web	www.illumina.com
Courriel	techsupport@illumina.com

**Tableau 5** Coordonnées générales d'Illumina

Site Web	www.illumina.com
Courriel	techsupport@illumina.com

**Tableau 6** Numéros de téléphone de l'assistance clientèle d'Illumina

Région	Numéro de la personne-ressource	Région	Numéro de la personne-ressource
Amérique du Nord	1.800.809.4566	Italie	800.874909
Allemagne	0800.180.8994	Japon	0800.111.5011
Australie	1.800.775.688	Norvège	800.16836
Autriche	0800.296575	Nouvelle-Zélande	0800.451.650
Belgique	0800.81102	Pays-Bas	0800.0223859
Chine	400.635.9898	Royaume-Uni	0800.917.0041
Danemark	80882346	Singapour	1.800.579.2745
Espagne	900.812168	Suède	020790181
Finlande	0800.918363	Suisse	0800.563118
France	0800.911850	Taiïwan	00806651752
Hong Kong	800960230	Autres pays	+44.1799.534000
Irlande	1.800.812949		

### Fiches signalétiques

Les fiches signalétiques sont disponibles sur le site Web d'Illumina à l'adresse [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

### Documentation produit

De la documentation sur les produits est disponible en téléchargement sur le site Web d'Illumina. Accédez au site [support.illumina.com](http://support.illumina.com), sélectionnez un produit, puis cliquez sur **Documentation & Littérature** (Documentation et littérature).

