



AlloSeq HCT

Logiciel AlloSeq HCT

Notice d'utilisation

IFU108-FR

Numéro de version du logiciel : 2.2.1

Numéro de version du document : 1.0

Date de publication : Février 2024



ASHCTS2



CareDx Pty Ltd
20 Collie Street
Fremantle, WA 6160
Australie



CareDx AB
Franzégatan 5
112 51 Stockholm
Suède



Qarad BV
Cipalstraat 3
2440 Geel
Belgique



Qarad Suisse S.A.
World Trade Center, Avenue Gratta-Paille 2
1018 Lausanne
Suisse
CHRN : CHRN-AR-20002058

Table des matières

1.	Aperçu	2
1.1	Vue d'ensemble du système et du logiciel	2
1.2	Utilisation prévue.....	2
1.3	Limitations.....	3
2.	Configuration requise et compatibilité informatique.....	3
2.1	Fichiers de données compatibles.....	3
3.	Instructions d'utilisation expérimentées	3
4.	Instructions pour les nouveaux utilisateurs.....	4
4.1	Introduction	4
4.2	Receveurs et donateurs	4
4.3	Samples (Échantillons)	5
4.4	Lots.....	6
4.5	Analyse des résultats	7
4.6	Examen des résultats	7
5.	Résolution des problèmes	10
6.	Informations de contact.....	12

1. Aperçu

Ce mode d'emploi (IFU) décrit les fonctionnalités et les étapes nécessaires pour effectuer l'analyse des données à l'aide du logiciel AlloSeq HCT. Le kit de test AlloSeq HCT et le logiciel AlloSeq HCT sont désignés collectivement sous le nom d'AlloSeq HCT.

Il existe un document « Guide d'installation » séparé (IFU106) pour la famille de produits AlloSeq, qui doit être lu avant ce mode d'emploi.

1.1 Vue d'ensemble du système et du logiciel

AlloSeq HCT est une solution multiplexée basée sur la PCR en une seule étape pour la préparation de banques de séquençage à partir d'ADN extrait d'échantillons biologiques de receveurs et de donneurs de greffes de cellules souches hématopoïétiques. Les données de séquençage générées (dans les fichiers FASTQ) sont utilisées pour calculer le pourcentage d'ADN du receveur et du ou des donneurs présents dans l'échantillon biologique afin de déterminer le niveau de chimérisme génétique du receveur post-greffe au moment où l'échantillon a été prélevé. Vous trouverez plus d'informations sur le test AlloSeq HCT dans le mode d'emploi du test AlloSeq HCT.

Les 202 polymorphismes nucléotidiques (SNP) cibles sont :

- (1) répartis sur les 22 paires de chromosomes autosomiques du génome humain,
- (2) bialléliques, avec une fréquence d'allèle comprise entre 0,4 et 0,6 dans toutes les populations,
- (3) situés dans des régions génomiques qui peuvent être séquencées avec un degré de confiance élevé, et
- (4) qui ne sont pas en déséquilibre de liaison ou associés à des maladies.

Les données de séquençage sont analysées à l'aide du logiciel AlloSeq HCT qui produit le pourcentage d'ADN (% d'ADN) pour un maximum de trois génomes distincts (contributeurs génétiques) détectés dans les échantillons post-transplantation.

Le calcul du pourcentage d'ADN du receveur et du ou des donneurs présents dans les échantillons post-greffe est réalisé en déterminant la fraction de différents nucléotides séquencés à chaque emplacement SNP évalué. Les génotypes pré-greffe du receveur et du donneur obtenus à l'aide d'AlloSeq HCT doivent calculer le pourcentage d'ADN obtenu à partir de chaque contributeur génétique présent dans l'échantillon post-greffe. Les lectures qui se chevauchent sont fusionnées, alignées et comptées. Les résultats sont comparés aux génotypes du receveur et du ou des donneurs (SNP/loci informatifs). Il est recommandé d'entrer le génotype de tous les contributeurs génétiques (receveur et donneur) dans l'analyse des échantillons post-transplantation, mais les échantillons peuvent toujours être analysés sans qu'un seul génotype soit manquant (soit un donneur, soit un receveur).

Une fois les données analysées par le logiciel, les résultats de tous les échantillons sont affichés dans une fenêtre d'interface utilisateur et sont exportés dans un fichier PDF ou Excel compatible. Les résultats comprennent des fractions d'ADN en % calculées pour chaque échantillon post-transplantation, ainsi que des mesures de contrôle de la qualité utilisées par le logiciel pour accepter ou refuser un échantillon.

1.2 Utilisation prévue

L'utilisation prévue des produits AlloSeq HCT (kit de test et logiciel) fabriqués par CareDx Pty Ltd est d'aider l'utilisateur à surveiller la greffe après une greffe de cellules souches hématopoïétiques (HSCT).

Le kit AlloSeq HCT est destiné à être utilisé pour mesurer le % de donneur et le % d'ADN du receveur présents dans un seul échantillon chez les receveurs allogéniques de HSCT.

Le logiciel AlloSeq HCT est destiné à être utilisé avec les données générées à l'aide du kit AlloSeq HCT.

L'utilisation du logiciel est exclusivement réservée au personnel de santé dûment formé exerçant dans des laboratoires agréés. Le logiciel ne doit pas être utilisé comme seule source d'information pour des décisions à des fins cliniques. Le produit AlloSeq HCT n'est pas utilisé pour le diagnostic de la maladie et ne doit pas être utilisé comme seule base pour les décisions cliniques.

1.3 Limitations

Identité génétique entre le(s) donneur(s) et le(s) receveur(s)

AlloSeq HCT n'est pas en mesure d'effectuer une surveillance pour les jumeaux identiques.

Génotypes inconnus

- Donateur(s) non apparenté(s) : -
 - Il est possible d'effectuer une surveillance lorsque le génotype prégreffe du receveur ou de l'un des donneurs est inconnu. Il n'est pas possible d'effectuer une surveillance s'il y a plus d'un génotype inconnu. Certaines mesures de contrôle qualité exigent la présence de tous les génotypes et sont désactivées si l'un des génotypes est inconnu.
 - Dans le cas d'un génotype inconnu, une rechute de la maladie ou une perte d'hétérozygotie peut avoir un impact sur les résultats
- Donneur(s) apparenté(s) - tous les génotypages prégreffes sont requis pour les tests de surveillance.

Les anomalies connues sont enregistrées dans *TEC935_AlloSeq logiciel HCT - Anomalies connues*.

2. Configuration requise et compatibilité informatique

Reportez-vous au Guide d'installation du logiciel IFU106 AlloSeq pour plus de détails.

2.1 Fichiers de données compatibles

Le logiciel AlloSeq HCT est compatible avec le format de fichier zippé FASTQ (*.fastq.gz). Le système de séquençage Illumina génère ces formats de fichiers. Pour plus d'informations sur le format de fichier FASTQ, par exemple, consultez le Guide de référence du flux de travail MiSeq Reporter Generate FASTQ (document # 15042322).

3. Instructions d'utilisation expérimentées

Les prélèvements pré-transplantation sont recommandés pour AlloSeq HCT, pour toutes les parties concernées (receveur et tous les donneurs). Des échantillons pré-transplantation sont nécessaires pour la surveillance multi-donneurs, pour toutes les parties concernées.

1. Créez des destinataires, ajoutez des donateurs aux destinataires, ajoutez des échantillons aux destinataires et aux donateurs.
 - a. Marquez les échantillons de donneurs et de receveurs pré-greffe comme des « génotypes ».
2. Créez un lot, ajoutez des échantillons au lot. 'Générer une feuille de traitement' pour le lot.
3. Exécutez le protocole de laboratoire, chargez le séquenceur.
4. Une fois le séquençage terminé, 'Analyser les résultats' pour Batch, sélectionnez le dossier contenant les fichiers fastq.
5. Échantillons pré-transplantation – examinez les résultats, définissez « Approuvé ».
6. Échantillons de surveillance post-transplantation – examinez les résultats, définissez « Approuvé » et exportez les résultats.

4. Instructions pour les nouveaux utilisateurs

4.1 Introduction

La convention dans ces modes d'emploi est de mettre en majuscule les « entités » dans le logiciel AlloSeq HCT, telles que Destinataire ou Échantillon, pour attirer l'attention sur un élément qui est suivi par le logiciel.

Le logiciel AlloSeq HCT permet de suivre plusieurs tests de surveillance pour le même receveur au fil du temps. D'autres résultats de tests de chimérisme peuvent également être saisis dans le logiciel, pour faciliter la validation.

Les échantillons pré-transplantation sont recommandés pour AlloSeq HCT et requis pour les échantillons de donneurs multiples. Le logiciel AlloSeq HCT peut surveiller un, deux ou trois* donneurs simultanément, à condition que le génotypage pré-greffe ait été effectué pour toutes les parties (receveur et tous les donneurs).

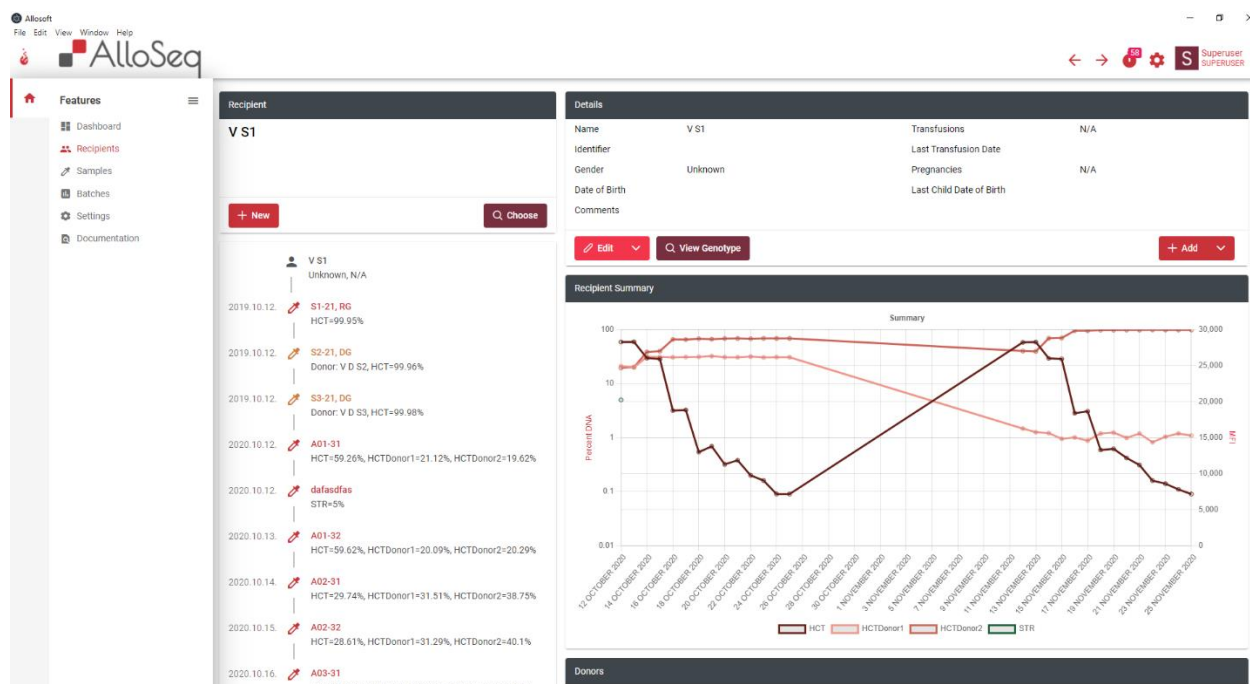
***Remarque :** Il peut y avoir de rares cas où la variabilité génétique entre les parties est insuffisante pour suivre plusieurs donneurs apparentés. Les donneurs se voient attribuer des identifiants ('Donateur 1', 'Donateur 2', 'Donateur 3') dans l'ordre dans lequel les échantillons sont saisis dans le logiciel AlloSeq HCT.

Le logiciel AlloSeq HCT permet également de combiner la source de l'échantillon et la sous-population, de sorte que les sous-populations séparées des cellules peuvent être surveillées séparément au fil du temps si nécessaire.

4.2 Receveurs et donateurs

Le point de départ du logiciel AlloSeq HCT est de créer un receveur et d'ajouter un ou plusieurs donneurs au receveur. Il est également possible d'ajouter au receveur les points temporels de la greffe (soit reçue, soit requise/prévue) et les traitements (interventions connues qui pourraient être utiles pour aider à interpréter les résultats du test).

L'écran Receveur est accessible depuis le menu principal à gauche (en cliquant sur la maison et en choisissant « Receveurs ») ou via le bouton rond « Démarrage rapide » sur le tableau de bord principal (l'écran de démarrage s'affiche après la connexion).



Une fois sur l'écran Receveur, vous pouvez ajouter un nouveau destinataire en cliquant sur le bouton « Nouveau ». Vous pouvez également rechercher et choisir un destinataire existant. Le logiciel n'effectue aucune vérification des doublons pour les receveurs, il est donc plus sûr de vérifier d'abord pour vous assurer que le receveur que vous souhaitez ajouter n'a pas déjà été ajouté au logiciel.

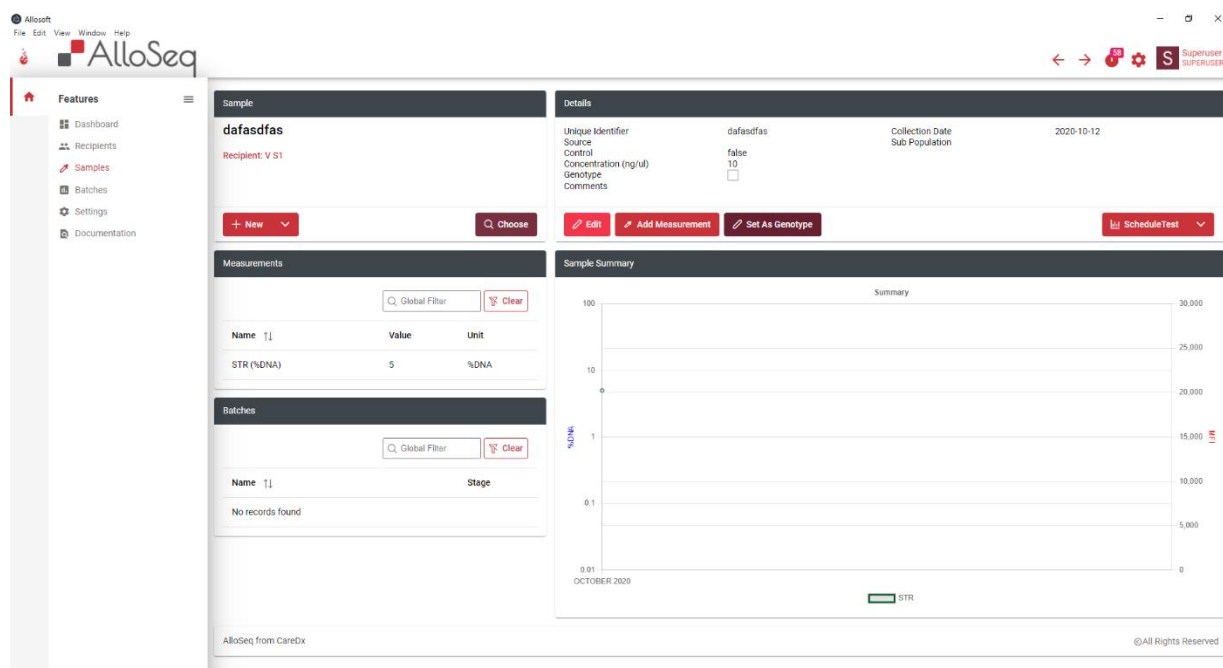
L'écran Receveur contient une chronologie de tous les événements qui ont été enregistrés pour le receveur, ainsi qu'un graphique qui résume toutes les mesures AlloSeq HCT (et autres tests de chimérisme) qui ont été effectuées. Les résultats marqués comme « génotypes » (c'est-à-dire les résultats pré-greffe pour le receveur et le ou les donneurs) ne seront pas affichés dans le graphique. Vous pouvez ajouter des « commentaires » à chaque receveur, ce qui peut être utile pour résumer l'état clinique actuel.

Les donateurs sont répertoriés sous le graphique de l'écran Receveurs. Ici, vous pouvez ajouter de nouveaux donateurs, modifier les détails du donneur et ajouter des échantillons de génotypage pré-transplantation aux donateurs (en utilisant le bouton « Modifier »). Le nom/l'identifiant et la parenté sont obligatoires.

4.3 Samples (Échantillons)

Une fois que vous avez créé le(s) receveur(s) et le(s) donneur(s), la tâche suivante consiste à ajouter des échantillons. Cette opération peut être effectuée sur l'écran Échantillons (accessible via le menu principal et le bouton de démarrage rapide) ou peut également être atteinte à partir de l'écran Receveur.

- Si vous commencez sur l'écran Receveur, vous pouvez utiliser le bouton « Ajouter » (la liste déroulante contient « Échantillon »), et pour les donneurs, vous pouvez cliquer sur le donneur et utiliser le bouton « Modifier », qui a l'option « Ajouter un échantillon ».
- Si vous commencez sur l'écran Échantillon, vous pouvez sélectionner le bouton « Nouveau » et choisir d'ajouter un « Échantillon de receveur », un « Échantillon de donneur » ou un « Échantillon de contrôle ». Vous serez ensuite invité à sélectionner un receveur/donneur. C'est la seule façon d'ajouter des échantillons de contrôle au logiciel.



Lors de l'ajout d'échantillons, les seuls éléments de données obligatoires sont l'identifiant de l'échantillon (il doit être unique pour tous les échantillons), la date de prélèvement de l'échantillon et la concentration de l'ADN extrait (celui-ci n'est actuellement conservé qu'à des fins de référence). Pour HCT, vous pouvez également ajouter une source et une sous-population à votre échantillon. Si vous suivez différentes sous-populations à partir d'un seul échantillon de sang ou de moelle osseuse, celles-ci doivent être saisies dans le logiciel sous forme d'échantillons distincts. Chaque combinaison de source (y compris aucune) et de sous-population (y compris aucune) fera l'objet d'un suivi distinct, p. ex., un échantillon marqué à la fois comme « Source : sang total + sous-population : CD14 »,

fera l'objet d'un suivi séparé de celui portant uniquement la mention « Source : sang total », ou une mention « Sous-population : CD14 ». Notez que ces métadonnées de l'échantillon peuvent être modifiées à tout moment.

Pour les échantillons pré-transplantation qui seront utilisés comme « génotype » pour le receveur ou le donneur, vous pouvez sélectionner l'option pour les définir comme génotype lors de la création de l'échantillon ou appuyer sur le bouton « Définir le génotype » une fois que vous avez créé l'échantillon. Cela permet au résultat d'être automatiquement attribué en tant que génotype une fois l'analyse terminée.

Sur l'écran Échantillon, il est également possible d'ajouter d'autres mesures que vous avez pour d'autres résultats de test qui ont été effectués au même échantillon/point de temps. Pour AlloSeq HCT, il s'agit généralement de résultats STR ou qPCR pour l'échantillon, qui peuvent être utilisés pour valider les résultats AlloSeq HCT parallèlement à votre technique existante. Il est possible d'ajouter les résultats des tests d'anticorps ici. Vous pouvez également ajouter des « commentaires » à chaque échantillon si nécessaire.

4.4 Lots

Les lots sont un groupe d'échantillons qui seront préparés ensemble à l'aide des réactifs AlloSeq HCT et séquencés ensemble. Vous pouvez créer un lot à tout moment pour commencer à planifier les prochaines semaines de test. Vous pouvez accéder à l'écran Lot via le menu principal et le bouton de démarrage rapide. Vous pouvez également ajouter un échantillon à un lot existant ou en créer un nouveau à partir de l'écran Échantillon.

Utilisez le bouton « Nouveau » pour créer un nouveau lot. Vous devrez ajouter une date et choisir « HCT » comme « Famille de test ». Le nom du lot est facultatif mais recommandé pour aider à distinguer un lot d'un autre. Les commentaires peuvent également être ajoutés à un lot.

Sample	Stage	Assigned User	Results	QC
A01-31	Assigned	Superuser	59.26%	🟢
A02-31	Assigned	Superuser	29.74%	🟢
A03-31	Assigned	Superuser	3.18%	🟢
A04-31	Assigned	Superuser	0.54%	🟢
A05-31	Assigned	Superuser	0.32%	🟢
A06-31	Assigned	Superuser	0.2%	🟢
A07-31	Assigned	Superuser	0.09%	🟢
B01-31	Assigned	Superuser	58.29%	🟢

Une fois le lot créé, vous pouvez « Ajouter des échantillons » et choisir les échantillons de la liste que vous souhaitez tester dans le lot. L'ordre des échantillons dans le lot correspondra à l'ordre des index d'échantillons à utiliser à partir de la plaque d'index dans le kit de réactifs AlloSeq HCT.

Remarque : L'ordre des échantillons dans le lot sera l'ordre dans lequel vous les ajoutez au lot, la seule façon de modifier l'ordre est de supprimer les échantillons et de les ajouter à nouveau.

Une fois que vous avez ajouté tous vos échantillons au lot, vous pouvez choisir l'option « Générer une feuille d'exécution », ce qui créera un nouveau fichier de feuille d'exécution au format CSV à utiliser sur le séquenceur Illumina. Celui-ci peut également être imprimé et apporté au laboratoire pour aider à faire correspondre chaque échantillon avec son index de la plaque d'index.

Remarque : Soyez prudent si vous ouvrez ce fichier dans Excel - l'enregistrement des modifications apportées au fichier CSV dans Excel peut entraîner l'arrêt de son fonctionnement pour le séquenceur Illumina ! Il est généralement plus sûr d'imprimer ce fichier à l'aide d'Excel et d'effectuer toute modification (normalement non requise) à l'aide d'un éditeur de texte tel que Notepad++.

Remarque : Vous pouvez choisir un « puits de départ » pour la feuille d'exécution - si vous avez choisi de diviser un seul kit AlloSeq HCT en plusieurs cycles de séquençage, vous pouvez définir un puits de départ différent pour les index. Les index de la feuille d'exécution seront utilisés pour démultiplexer les données de l'échantillon (c'est-à-dire décider quelles données appartiennent à quel échantillon) à la fin du séquençage.

La feuille d'exécution peut être régénérée à tout moment – si rien n'a changé avec le lot, le contenu sera identique à chaque fois.

Une fois que la feuille de traitement a été générée, il est temps de passer au protocole de laboratoire AlloSeq HCT et de préparer les échantillons d'ADN pour le séquençage.

Fonctionnalité Platemap

Un composant de carte a été ajouté au logiciel. Il s'agit d'une utilisation facultative pour l'utilisateur final. Cette fonction permet d'organiser la position des puits sur la carte pour le fichier de sortie (feuille d'exécution).

4.5 Analyse des résultats

Une fois le séquençage terminé, un dossier sera créé sur le séquenceur contenant les fichiers fastq. Il y aura deux fichiers fastq par échantillon. Nous vous recommandons de copier/déplacer le dossier contenant les fichiers fastq vers le serveur pour l'analyse (l'accès aux fichiers fastq à distance via un réseau peut ralentir l'analyse).

L'analyse est effectuée en accédant à l'écran Lot, en sélectionnant le lot approprié et en utilisant le bouton « Analyser les résultats ». Cela vous demandera de fournir l'emplacement du dossier contenant les fichiers fastq. Il vérifiera le dossier pour s'assurer que tous les fichiers de chaque échantillon sont présents, puis lancera une analyse. L'analyse prend environ 30 secondes par échantillon. Une fois qu'il est terminé, il créera une nouvelle « tâche » pour chaque résultat – ces tâches seront attribuées à la personne qui a effectué l'analyse. Vous pouvez voir vos tâches dans le tableau de bord principal lorsque vous vous connectez. Ces tâches peuvent être réattribuées à d'autres utilisateurs du logiciel si nécessaire. Ces tâches resteront ouvertes jusqu'à ce que le résultat ait été « approuvé » par un directeur de laboratoire (ou un super utilisateur).

Remarque : Les résultats seront affichés dans les graphiques sur les écrans Receveur et Échantillon, quel que soit le statut d'approbation.

4.6 Examen des résultats

Il y a un résumé de très haut niveau de la qualité de chaque résultat visible dans le tableau de bord et l'écran Lot - un bouton à code couleur avec une couleur verte, jaune ou rouge. Si le résultat contient un avertissement (jaune) ou une erreur (rouge), la raison de cet échec de contrôle qualité (CQ) s'affichera dans l'onglet Contrôle qualité de l'écran Résultats.

Les résultats peuvent être consultés (et doivent être examinés) individuellement, cependant, il est généralement plus informatif de commencer par examiner le résultat résumé avec tous les autres résultats d'un destinataire dans l'écran Receveur. Vous pouvez accéder à l'écran Résultat pour voir le détail du résultat en cliquant sur l'identificateur de l'échantillon dans la chronologie de l'écran Receveur (cela vous amènera à l'écran Échantillon si vous n'avez pas encore de résultat pour cet échantillon).

Vous pouvez également accéder au détail de chaque résultat à partir du tableau de bord principal en sélectionnant l'élément dans la liste des tâches et en choisissant « Afficher les résultats » dans le menu « Workflow » ou en

choisissant « Résultats » dans le menu « Affichage ». Vous pouvez également accéder aux résultats via l'écran Échantillon (cliquez avec le bouton droit de la souris sur l'élément dans la liste « Tests » et « Afficher les résultats »).

Une fois dans l'écran Résultat, les détails de l'analyse sont disponibles. Le résultat récapitulatif s'affiche. Celui-ci différera dans son affichage en fonction des métadonnées disponibles.

- S'il s'agit d'un résultat de surveillance AlloSeq HCT avec des génotypes connus déjà attribués pour le receveur et le(s) donneur(s), le résultat indiquera les pourcentages exacts détectés pour chaque partie dans le mélange, par exemple, **Receveur 0,5 %, Donneur 99,5 %**.
- S'il s'agit d'un résultat de génotypage du receveur avant la greffe (c'est-à-dire que l'échantillon est défini comme un « génotype »), le logiciel attribuera automatiquement le signal majoritaire comme receveur.
- S'il s'agit d'un résultat de génotypage de donneur avant la greffe (c'est-à-dire que l'échantillon est un « génotype »), le logiciel attribuera automatiquement le signal majoritaire à un donneur.

Le logiciel suppose que le génotypage pré-greffe aura été effectué à l'avance pour les receveurs et les donneurs d'AlloSeq HCT. Si vous avez un seul lot avec un mélange d'échantillons avant et après la greffe, les échantillons pré-greffe (génotypes) seront analysés en premier, puis tous les échantillons post-greffe par la suite.

Le flux de travail AlloSeq HCT peut être résumé comme suit :

1. Utilisez le logiciel pour créer des échantillons de génotype pré-greffe pour le receveur et le ou les donneurs, marquez ces échantillons comme « génotypes »
2. Utilisez le test pour préparer ces échantillons, séquencez-les et utilisez le logiciel pour analyser les résultats
3. Utilisez un test et un logiciel pour préparer et analyser les échantillons de surveillance post-greffe pour le receveur

Le récapitulatif des résultats indique le « type d'analyse » utilisé pour l'analyse. Il existe deux types d'analyse :

- **Aveugle** : Effectué automatiquement pour tous les échantillons (pour AlloSeq HCT principalement utilisé pour le génotypage pré-greffe)
 - Comprend un mécanisme de « détection des valeurs aberrantes », pour filtrer automatiquement tous les résultats statistiques des valeurs aberrantes
 - Limites – ne peut pas vous dire qui est qui dans le mélange, ne peut pas gérer plusieurs donneurs et a un « angle mort » de l'ordre de 30 à 70 % (c'est pourquoi le génotypage et l'analyse ciblée subséquente sont recommandés pour AlloSeq HCT)
- **Ciblé** : Effectué automatiquement si les échantillons (de surveillance) appartiennent à des receveurs avec des génotypes de receveur et/ou de donneur.
 - Nécessite des données de séquençage approfondies
 - Il n'a pas de points faibles, mais nécessite un génotypage pré-greffe
 - **Ne sera pas** effectuée pour les échantillons/résultats qui sont déjà marqués comme étant un génotype, seule l'analyse à l'aveugle sera effectuée

Il est possible de réanalyser les résultats, toujours en utilisant le bouton « Analyser les résultats » de l'écran Lot. Il y a une option sur cet écran pour « Effectuer uniquement une méta-analyse » – cela signifie que l'analyse de base (et chronophage) des données fastq ne sera pas effectuée à nouveau, mais uniquement la méta-analyse (aveugle/ciblée) qui suit l'analyse de base. Cela peut être utile pour réanalyser rapidement les échantillons de surveillance lorsque les génotypes n'ont pas été définis correctement à l'avance.

Lors de l'examen des résultats, il y a quelques éléments qui sont particulièrement importants :

- Le résultat principal, avec l'écart-type de tous les marqueurs informatifs
- Nombre total de lectures traitées : généralement limité par le logiciel à un maximum de 3 millions de lectures par échantillon. S'il est inférieur à 300k lectures, il déclenchera un avertissement de qualité (indiquant une perte potentielle de sensibilité pour les valeurs très faibles).
- Couverture moyenne des marqueurs : la quantité moyenne de lectures fastq couvrant chaque marqueur
- Statut QC (contrôle de la qualité) - dira Réussi si tout est OK

- Raison QC : s'affiche si l'état du contrôle qualité est « Avertissement ou Échec ». Les raisons d'un problème de contrôle qualité peuvent être consultées dans l'onglet Contrôle qualité.

Plusieurs mesures de contrôle qualité sont mesurées, cela varie d'un échantillon à l'autre en fonction du type d'échantillon et du type d'analyse effectué. Le tableau suivant récapitule ces mesures de contrôle qualité.

Remarque : Les valeurs aberrantes sont détectées si la différence entre la valeur et la moyenne est supérieure à 5 fois la différence standard. Les marqueurs avec moins de 50 lectures ou avec un troisième signal significatif échoueront aux contrôles de qualité au niveau du locus.

Nom	Analyse	Type d'échantillon	Réussi	Avertissement	Échoué	Description
Trop de valeurs aberrantes	Aveugle	Tout	<2	>=2	>10	Les valeurs aberrantes statistiques dans les résultats des marqueurs sont automatiquement détectées et exclues. S'il y a trop de valeurs aberrantes, cela peut indiquer une contamination ou une confusion de l'échantillon.
Marqueurs passant les filtres	Aveugle	Tout	>=186	<186	<101	Nombre total de marqueurs qui réussissent toutes les mesures de contrôle qualité au niveau du locus. Le seuil minimal est de 92 % (186 marqueurs) pour qu'un échantillon réussisse.
Uniformité	Aveugle	Tout	>=151	<151	<81	Pour qu'un échantillon passe le filtre d'uniformité, ≥75 % (151) des 202 marqueurs doivent avoir une couverture supérieure à 20 % de la moyenne.
Couverture moyenne des marqueurs	Aveugle	Tout	>=400	<400	<250	Nombre moyen de lectures couvrant chaque marqueur. Trop peu de lectures entraîneront une perte de sensibilité (avertissement) ou un résultat peu fiable (échec).
Nombre total de lectures	Aveugle	Tout	>300k	<=300k	<=150k	Nombre total de lectures traitées. Trop peu de lectures entraîneront une perte de sensibilité (avertissement) ou un résultat peu fiable (échec).
Pas de marqueurs uniques	Ciblée	2+ génotypes	>1	N/A	0	Il n'y a pas de marqueurs uniques trouvés pour une ou plusieurs parties, la surveillance n'est pas possible.
Hétérozygote insuffisant Marqueurs	Ciblée	2+ génotypes	>5	<=5	N/A	Attention s'il y a très peu de marqueurs hétérozygotes uniques disponibles.
Signal mineur inattendu	Ciblée	2+ génotypes, aucun génotype manquant	0	<=2	>2	Il ne devrait pas y avoir de deuxième signal significatif (>0,5 %) dans les positions qui sont identiquement homozygotes pour toutes les parties. Détecte la contamination et les mélanges d'échantillons.
Hétérozygote Déséquilibre	Ciblée	2+ génotypes, aucun génotype manquant	0	<=2	>2	Les positions identiquement hétérozygotes pour toutes les parties devraient être de 50/50 dans le résultat. Un nombre élevé de marqueurs déséquilibrés (en dehors de la plage de 70:30) est une indication possible d'un mélange ou d'une contamination de l'échantillon.
Écart-type trop élevé	Ciblée	Aucun génotype manquant	<=5	>5	>10	Un écart-type élevé dans les résultats est inattendu et peut être une indication d'un mélange de l'échantillon, d'une contamination ou d'informations génotypiques manquantes.
Bruit	Méta-analyse	Génotype	<0,5 %	>=0,5 %	>=25 %	On s'attend à ce que les génotypes antérieurs à la greffe soient à 100 % ceux du receveur ou du donneur. Les échantillons mixtes ne conviendront pas à l'utilisation comme génotype.
Génotypes insuffisants	Ciblée	3+ parties	<=1	N/A	>1	Les échantillons avec deux donneurs ou plus ne peuvent manquer qu'à un seul génotype. Davantage d'informations sur le génotypage sont nécessaires pour l'analyse.

Par défaut, seuls les SNP les plus significatifs sont affichés. Si vous le souhaitez, vous pouvez choisir d'autres options pour filtrer la liste SNP, y compris l'affichage de tous les résultats SNP.

Un SNP sera considéré comme significatif dans l'un de ces deux cas :

- Il est hétérozygote chez une partie, et identiquement homozygote chez toutes les autres parties, par exemple AT chez le receveur et AA chez tous les donneurs
- Il est homozygote chez une partie et homozygote de façon opposée chez toutes les autres parties, par exemple TT chez un donneur et AA chez le receveur et tous les autres donneurs

L'onglet « Statistiques » fournit des points de données supplémentaires pour ceux qui s'intéressent davantage à la bioinformatique sous-jacente.

Une fois que vous êtes satisfait des résultats, vous pouvez les envoyer pour approbation au directeur du laboratoire pour qu'il les approuve et les exporte. Les résultats peuvent être exportés aux formats CSV, TSV ou PDF. Plusieurs résultats peuvent être exportés ensemble à partir du tableau de bord principal ou de la liste des tâches.

5. Résolution des problèmes

Si tous les paramètres de contrôle de la qualité sont verts/réussis, il n'est pas nécessaire de procéder à un dépannage des résultats.

Les mesures de contrôle qualité jaune/d'avertissement indiquent qu'il y a quelque chose dans le résultat qui nécessite une inspection manuelle. Les résultats dans ce cas ne seront pas affectés et pourront être rapportés. Les mesures de contrôle qualité d'avertissement peuvent également fournir des informations de base si d'autres mesures de contrôle qualité ont échoué.

Les mesures de contrôle qualité rouges/échouées indiquent que le résultat est incertain. Dans certains cas, il est encore possible d'accepter et de signaler des résultats avec des échecs de contrôle qualité, voir ci-dessous pour des exemples.

Un séquençage profond est nécessaire pour une sensibilité maximale

AlloSeq HCT n'est pas en mesure de fournir les niveaux de sensibilité les plus élevés si des données de séquençage insuffisantes ont été créées par la préparation et le séquençage d'un échantillon. Dans ce cas, l'échantillon sera marqué d'un échec du contrôle qualité en raison des mesures de contrôle qualité pour la couverture moyenne des marqueurs et/ou le nombre total de lectures. Cependant, si le résultat est supérieur à 1 %, toute perte de sensibilité n'aura pas d'impact majeur et le résultat peut probablement encore être signalé (à moins que d'autres mesures de contrôle qualité n'aient également échoué). Si le résultat est inférieur à 1 %, il est recommandé de répéter l'échantillon (répéter la préparation de l'échantillon en commençant par le début du protocole d'essai).

Génotypes bruyants

Un échantillon de génotype pré-greffe peut échouer à la mesure du contrôle qualité du bruit, ce qui indique que l'échantillon n'est pas à 100 % receveur ou donneur comme prévu. Cet échantillon peut encore être utilisé comme génotype dans ce cas, car le logiciel a une certaine tolérance intégrée pour cela. Il est recommandé de vérifier le génotype à l'aide de la fonction « Afficher le génotype » sur l'écran Receveur avant d'utiliser cet échantillon comme génotype pour les échantillons de surveillance ultérieurs.

Lot bruyant

Si plusieurs échantillons de génotype dans un lot échouent avec la métrique de contrôle qualité « bruit » et/ou plusieurs échantillons de surveillance échouent avec la métrique de contrôle qualité « signal mineur inattendu », cela est probablement dû à une contamination de l'index causée par l'utilisation des mêmes index d'échantillon que lors du séquençage précédent et/ou par le fait de ne pas nettoyer le séquenceur entre les passages en suivant les directives de l'IFU du test. Dans ce cas, les génotypes seront toujours utilisables et des échantillons de surveillance avec des résultats plus élevés (>10 %) pourront probablement encore être signalés, mais de faibles niveaux de contamination comme celui-ci nécessiteront la répétition d'échantillons de surveillance avec de faibles résultats.




Contamination de l'échantillon

La mesure de contrôle qualité du signal mineur inattendu peut détecter une contamination supérieure à 0,5 % dans un échantillon. Cette mesure du CQ n'est disponible que si tous les génotypes antérieurs à la greffe sont connus. Si le résultat est faible et que cette mesure de contrôle qualité a échoué, l'échantillon doit être répété.

Mélange d'échantillons

Si la métrique de contrôle qualité du signal mineur inattendu échoue avec un déséquilibre hétérozygote et/ou un écart-type trop élevé, ce n'est probablement pas l'échantillon correct pour le receveur, il y a donc eu une confusion avec les échantillons. Une attention particulière doit être portée aux autres échantillons du même lot, car deux

échantillons peuvent avoir été échangés par accident. Il peut être possible de résoudre cette confusion sans répéter les échantillons, mais nous vous recommandons de contacter le support technique de CareDx et de demander leur aide.

Failed								
Name	Status	Algorithm	Sample Type	Value Detected	Pass Threshold	Warn Threshold	Fail Threshold	Description
Unexpected Minor Signal		Targeted	2+ Genotypes	55	0	<=2	>2	There should be no significant (>0.5%) second signal in positions that are identically homozygous for all parties. Detects contamination and sample mix ups.
Heterozygous Imbalance		Targeted	2+ Genotypes	37	0	<=2	>2	Identically heterozygous positions for all parties should be 50:50 in the result. High numbers of imbalanced markers (outside 70:30 range) is a possible indication of sample mix up or contamination.
Standard Deviation Too High		Targeted	All	30.08	<=5	>5	>10	A high standard deviation in the results is unexpected and may be an indication of sample mix up, contamination or missing genotype information.

6. Informations de contact

Fabricant :

CareDx Pty Ltd,
20 Collie Street, Fremantle, WA, Australie, 6160.
Tél : +61-8-9336-4212
E-mail : orders-aus@caredx.com
Site Web : <http://www.caredx.com>

Distribué par :

Asie-Pacifique (APAC)
CareDx Pty Ltd,
20 Collie Street, Fremantle, WA, Australie, 6160.
Tél. : +61-8-9336-4212e
E-mail : orders-aus@caredx.com
Site Web : <http://www.caredx.com>

Europe, Moyen-Orient et Afrique (EMEA)
CareDx AB,
Franzégatan 5, SE-112 51 Stockholm, Suède.
Tél : +46-8-508 939 00
Fax : +46-8-717 88 18
E-mail : orders-se@caredx.com
Site Web : <http://www.caredx.com/>

Amériques
CareDx Lab Solutions Inc.,
901 S. Bolmar St., Suite R, West Chester, PA 19382
Tél : 1-877-OLERUP1
Fax : 610-344-7989
E-mail : orders-us@caredx.com
Site Web : <http://www.caredx.com>

Support technique et signalement d'incidents graves :

E-mail : techsupport-labproducts@caredx.com

Tout incident grave survenu en relation avec le dispositif doit être signalé au fabricant et à l'autorité compétente de l'État membre dans lequel l'utilisateur et/ou le patient est établi

Pour plus d'informations, veuillez consulter le site Web de CareDx (<https://www.caredx.com/contact-us/>).

Produits connexes :

AlloSeq HCT

Historique de la méthode

Version	Date	Modification (<u>IFU108-FR v1.0 est traduit du document principal en anglais IFU108 AlloSeq HCT Software v2 IFU CE IVD v7.0</u>)
IFU108 v1.0	31Mar22	Première version du mode d'emploi CE pour le logiciel AlloSeq HCT.
IFU108 v2.0	02Mai22	Ajout des détails de l'importateur (symbole). Déplacement des limitations à la section 1.2. Ajout section 2. Suppression de la métrique CQ pour les marqueurs homozygotes insuffisants. Ajout section 5 résolution des problèmes.
IFU108 v2.1	11Mai22	Mise à jour pour corriger le code postal de Qarad.
IFU108 v3.0	30Août22	La version 2.1.1 a supprimé la restriction sur l'analyse à double parent, affiné les seuils pour 3 métriques de contrôle qualité Section 10 : Ajout d'exigences en matière de rapports de vigilance.
IFU108 v4.0	25Juillet23	Mise à jour 1.2 Limitations – génotypes requis pour les échantillons de surveillance avec des donneurs apparentés. Mise à jour 4.1 Receveurs et donneurs – Pour plus de détails sur les donneurs, la parenté est requise si des génotypes sont manquants. Ajout d'une fonctionnalité optionnelle Platemap à la section 4.4 « Lots » en tant qu'utilisation optionnelle des fonctionnalités
IFU108 v5.0	24Oct23	Ajout des détails CH-REP.
IFU108 v6.0	11Jan24	Mise à jour 1.3 Limitations - Dans les cas d'un génotype inconnu, une rechute de la maladie ou une perte d'hétérozygotie peut avoir un impact sur les résultats.
IFU108 v7.0	09Fév24	Ajout de précisions concernant les identifiants d'échantillons de donneurs.
IFU108-FR v1.0	21Mars24	La première traduction en français.