



AlloSeq cfDNA Software

Mode d'emploi

IFU091-FR

Numéro de version du document : 3.0

Version du logiciel : 2.2.2

Date de publication : Août 2025



ASCFS1.0



CareDx Pty Ltd
20 Collie Street
Fremantle, WA 6160
Australie



CareDx AB
Franzégatan 5
112 51 Stockholm
Suède



QbD RepS BV
Groenenborgerlaan 16
2610 Wilrijk
Belgique



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

Table des matières

1.	Présentation.....	3
1.1.	Présentation du système et du logiciel	3
1.2.	Utilisation prévue.....	3
1.3.	Fichiers de données compatibles	3
1.4.	Restrictions.....	4
2.	Instructions pour les utilisateurs expérimentés	4
3.	Instructions pour les nouveaux utilisateurs	4
3.1.	Introduction	4
3.2.	Receveurs et donneurs	4
3.3.	Échantillons	5
3.4.	Lots.....	6
3.5.	Analyse des résultats.....	7
3.6.	Examen des résultats	8
4.	Résolution des problèmes	10
5.	Références	10
6.	Coordonnées.....	11

1. Présentation

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

Un document séparé, le « Installation Guide » (IFU106), a été établi pour la famille de produits logiciels AlloSeq. Il convient de le lire avant le présent mode d'emploi.

1.1. Présentation du système et du logiciel

Le test AlloSeq cfDNA et le AlloSeq cfDNA Software (collectivement appelés AlloSeq cfDNA) forment un système qui permet la quantification relative de l'ADN acellulaire (cfDNA) dérivé du donneur dans un échantillon de cfDNA dérivé du receveur d'une greffe d'organe plein. L'ADN acellulaire est un ADN fragmenté présent dans le flux sanguin, provenant de cellules lésées ou qui meurent.

Après l'extraction du cfDNA du plasma, le cfDNA est amplifié à l'aide du PCR multiplex comprenant des PCR primers pour 202 polymorphismes mononucléotidiques. Les produits PCR obtenus sont séquencés sur un ou plusieurs séquenceurs MiSeq ou MiniSeq d'Illumina, Inc. (Illumina), et les données de séquence sont analysées à l'aide du AlloSeq cfDNA Software. En l'absence d'informations sur le génotype du donneur ou du receveur, le cfDNA présent et formant le constituant mineur de cfDNA dans les transplantations cardiaques, rénales et pulmonaires est considéré comme étant « dérivé du donneur » (DeVlaminck et coll., 2014 ; Khush et coll., 2019 ; DeVlaminck et coll., 2015 ; Grskovic et coll., 2016 ; Bloom et coll., 2017 ; Bromberg et coll., 2017).

AlloSeq cfDNA permet également l'amplification et le séquençage de l'ADN génomique afin d'identifier les génotypes du donneur, du receveur ou des deux sujets à des fins de recherche. Cette étape peut être effectuée avant ou en même temps que le test de cfDNA. Elle est nécessaire pour quantifier le cfDNA dérivé du donneur chez les receveurs de transplantations hépatiques, chez lesquels les niveaux de cfDNA dérivé du donneur, contrairement aux transplantations rénales, cardiaques et pulmonaires, peuvent représenter la fraction principale du cfDNA total chez le receveur (Schütz et al., 2017).

Il a été démontré qu'un niveau élevé de cfDNA dérivé du donneur est associé à une lésion et à un rejet de l'organe transplanté (Grskovic et al. 2016, Bloom et al. 2017, Bromberg et al. 2017 ; Khush et al., 2019 ; DeVlaminck et al., 2015).

Les produits doivent être manipulés avec tous les soins et l'attention requis. Nous recommandons à tous les utilisateurs de lire l'intégralité du document avant de commencer la procédure.

1.2. Utilisation prévue

Le AlloSeq cfDNA Software est conçu pour être utilisé conjointement avec le test AlloSeq cfDNA pour calculer la quantité relative d'ADN acellulaire dérivé du donneur (%dd-cfDNA) chez des receveurs d'organes pleins.

Le produit doit être utilisé dans des laboratoires soumis à une réglementation appropriée.

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. Les kits et le logiciel AlloSeq cfDNA ne doivent pas être utilisés pour le diagnostic de maladies.

1.3. Fichiers de données compatibles

Le AlloSeq cfDNA Software 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 processus MiSeq ou MiniSeq Reporter Generate FASTQ (document n° 15042322).

1.4. Restrictions

- Le logiciel n'a pas été évalué à l'aide de fichiers fastq générés par : Un séquenceur autre qu'un séquenceur MiSeq ou MiniSeq utilisant des paramètres par défaut qui ne sont pas des paramètres Runtime par défaut
- Le lien de parenté donneur/receveur doit être fourni pour obtenir des résultats précis : parent, enfant, grand-parent, petit-enfant, frère ou sœur, demi-frère ou demi-sœur, tante, oncle, nièce, neveu, cousin, sans lien de parenté, autre (précisez) sous « Relatedness » (Lien de parenté) dans « Donor Details » (Renseignements du donneur).
- Lorsqu'aucun génotypage du receveur ou du donneur n'est fourni, le logiciel signale par défaut la fraction d'ADN acellulaire mineure comme étant la fraction du donneur. Si le donneur a le potentiel d'être la fraction majeure (>50 %), un échantillon de génotype pré-transplantation « receveur seulement » ou « donneur seulement » (idéalement les deux) doit être utilisé afin d'affecter correctement la fraction au donneur.
- Pour les receveurs de greffe hépatique, il est nécessaire d'avoir un seul génotype pour l'analyse. Il est fortement recommandé, dans la mesure du possible, de disposer du génotype du donneur et de celui du receveur, pour les receveurs de greffe hépatique. Si l'analyse est effectuée à partir d'un seul échantillon de génotype pré-transplantation (désigné ci-après par n-1), l'analyse ciblée peut donner des résultats incorrects (>20 %, alors que les résultats devraient être proches de zéro). Il est fortement recommandé de comparer l'écart type au résultat afin d'identifier ces cas. Les valeurs masquées peuvent, dans ce cas, être rapportées à la place.
- Le génotypage peut être réalisé à partir d'ADN génomique
- AlloSeq cfDNA n'est pas en mesure d'effectuer une surveillance pour de vrais jumeaux.

2. Instructions pour les utilisateurs expérimentés

1. Créez des « Recipients » (Receveurs), ajoutez des « Donors » (Donneurs) aux « Recipients », ajoutez des « Samples » (Échantillons) aux « Recipients ».
2. Créez un « Batch » (Lot), ajoutez des « Samples » au « Batch ». « Generate Run Sheet » (Générer une feuille de traitement) pour le Lot « Batch ».
3. Exécutez le protocole de laboratoire, chargez le séquenceur.
4. Une fois le séquençage terminé, « Analyze Results » (Analyser les résultats) pour le « Batch », sélectionnez le dossier contenant les fichiers fastq.
5. Échantillons de surveillance post-transplantation : examinez les résultats, marquez-les « Approved » (Approuvés) et exportez les résultats.

3. Instructions pour les nouveaux utilisateurs

3.1. Introduction

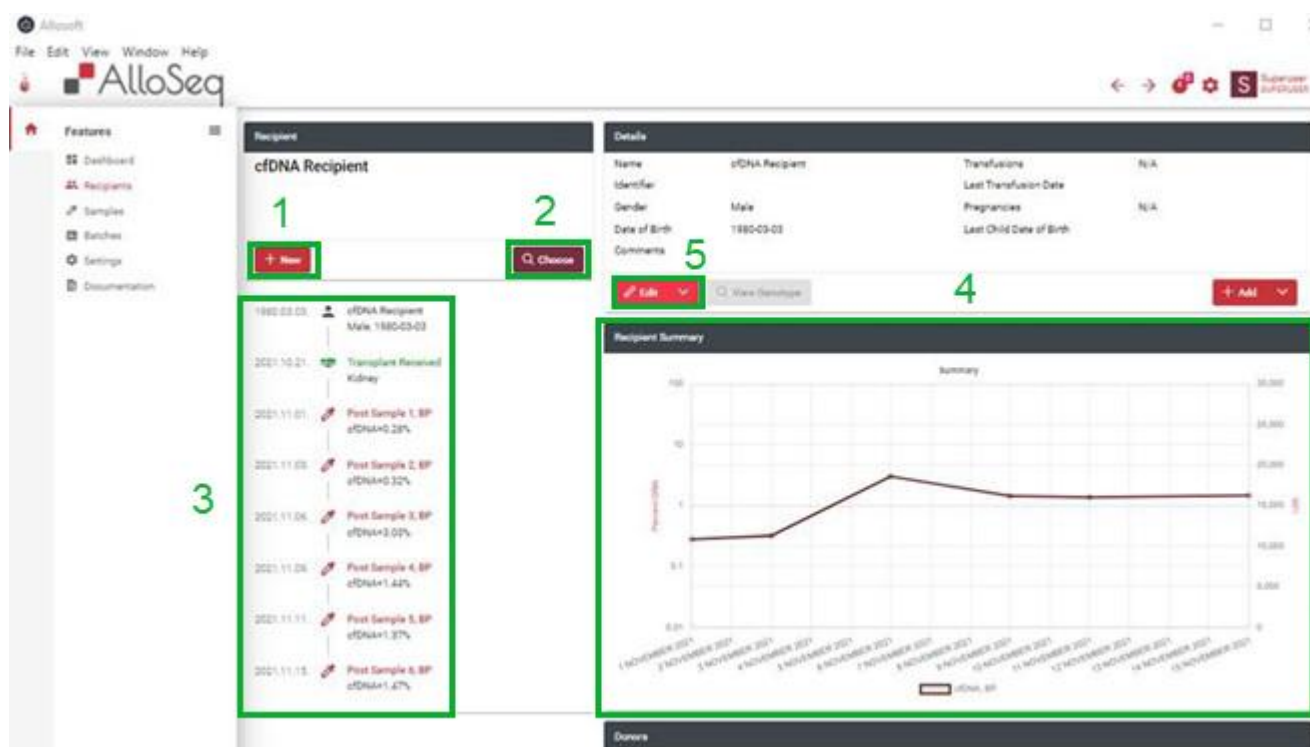
La convention dans ces modes d'emploi est de mettre en majuscule les « entités » dans le AlloSeq cfDNA Software, telles que « Recipient » ou « Sample », pour attirer l'attention sur un élément qui est suivi par le logiciel.

Le AlloSeq cfDNA Software permet de suivre plusieurs tests de surveillance pour le même « Recipient » sur le long terme. D'autres résultats de test peuvent également être saisis dans le logiciel, tels que les résultats d'anticorps spécifiques du donneur (DSA) ou les résultats de créatinine rénale, qui permettront de mieux visualiser les derniers tests effectués pour le Receveur.

3.2. Receveurs et donneurs

Le point de départ du AlloSeq cfDNA Software est de créer un « Recipient » et d'ajouter un « Donor » (Donneur) à ce « Recipient ». « Donor Relatedness » (Le Lien de parenté du donneur) est requis, car il appliquera un facteur de correction sur le résultat. Il est également possible d'ajouter au « Recipient » le « Transplant Time Point » (Point temporel de la greffe) (reçue ou requise/prévue) ainsi que les « Treatments » (Traitements) (interventions connues qui pourraient être utiles pour aider à interpréter les résultats du test).

L'écran « Recipient » est accessible depuis le menu principal à gauche (en cliquant sur la maison et en choisissant « Recipients »).



Une fois sur l'écran « Recipient », vous pouvez ajouter un nouveau receveur en cliquant sur le bouton « New » (Nouveau) (1). Vous pouvez également rechercher et choisir un receveur existant (2). Le logiciel effectue une vérification des doublons pour les receveurs existants ayant le même identifiant (le plus souvent le numéro de dossier médical (MRN)) uniquement si cette option est sélectionnée dans les paramètres (general settings->lab setup->recipient identifier) (Paramètres généraux → Configuration du laboratoire → Identifiant du receveur).

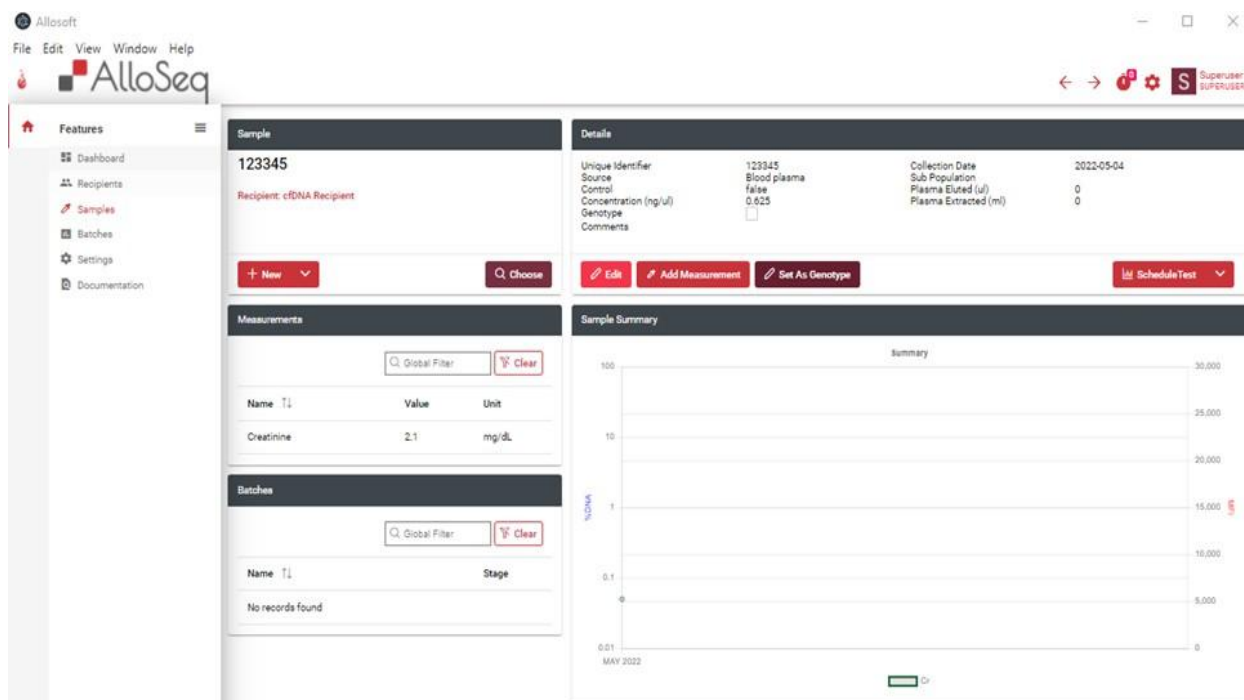
L'écran « Recipient » comprend une chronologie de tous les événements qui ont été enregistrés pour le receveur (3), ainsi qu'un graphique qui résume toutes les mesures AlloSeq cfDNA (et autres tests) qui ont été effectuées (4). Vous pouvez ajouter des « Commentaires » (Commentaires) à chaque receveur (5), ce qui peut être utile pour résumer l'état clinique actuel.

Les donneurs sont répertoriés en dessous du graphique de l'écran « Recipients ». C'est là que vous pouvez ajouter de nouveaux « Donors » et que vous pouvez modifier les « Donor details » (Détails du donneur). La saisie du lien de parenté donneur/receveur est obligatoire.

3.3. Échantillons

Une fois que vous avez créé le « Recipient » et le « Donor », la tâche suivante consiste à ajouter des « Samples ». Cette opération peut être effectuée sur l'écran « Samples », accessible via le menu principal. Vous pouvez également y accéder depuis l'écran « Recipients ».

- Si vous commencez sur l'écran « Recipients », vous pouvez utiliser le bouton « Add » (Ajouter). La liste déroulante contient l'option « Sample » (Échantillon).
- Si vous commencez sur l'écran « Samples », vous pouvez sélectionner le bouton « New » (Nouveau) et choisir d'ajouter un « Recipient Sample » (Échantillon de Receveur) ou un « Control Sample » (Échantillon de contrôle). Vous serez ensuite invité à sélectionner un « Recipient ». C'est la seule façon d'ajouter des « Control Samples » dans le logiciel.



Lors de l'ajout d'échantillons, les seuls éléments de données obligatoires sont l'identifiant de l'échantillon (il doit être unique parmi tous les échantillons), la date de prélèvement de l'échantillon et la concentration de l'ADN extrait (cette information n'est actuellement conservée qu'à des fins de référence). Notez que ces métadonnées de l'échantillon peuvent être modifiées à tout moment.

Sur l'écran « Samples », il est également possible d'ajouter d'autres « Measurements » (Mesures) obtenues pour d'autres résultats de test effectués sur le même échantillon/au même moment. Pour AlloSeq cfDNA, il s'agit généralement des résultats sur le DSA ou sur le fonctionnement de l'organe pour l'échantillon. Vous pouvez également ajouter des « commentaires » à chaque Échantillon si nécessaire.

3.4. Lots

Les « Batches » (Lots) sont un groupe de « Samples » qui seront préparés ensemble à l'aide des réactifs AlloSeq cfDNA et séquencés ensemble. Vous pouvez créer un lot à tout moment pour commencer à anticiper les prochaines semaines de test. Vous pouvez accéder à l'écran « Batch » via le menu principal. Vous pouvez également ajouter un échantillon à un lot existant ou en créer un nouveau depuis l'écran « Samples » à l'aide du bouton « Schedule Test » (Programmer un test).

Utilisez le bouton « New » (Nouveau) pour créer un nouveau lot depuis l'écran « Batch ». Vous devrez ajouter une date et choisir « cfDNA » comme « Test Family » (Famille de test). Le nom du lot est facultatif mais recommandé pour distinguer plus facilement un lot d'un autre. Des commentaires peuvent également être ajoutés à un lot.

Une fois le lot créé, vous pouvez choisir le puits de départ (si le kit doit être réparti sur plusieurs runs), ce qui correspond aux index assignés utilisés pour chaque lot. Pour ce faire, cliquez sur « Show Platemap » (Afficher le plan de plaque) en bas à droite de l'écran Lots. Après avoir confirmé le puits de départ correct, cliquez sur « Add Samples » (Ajouter des échantillons) et choisissez 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 des tubes d'indexage dans le kit de réactifs AlloSeq cfDNA.

Remarque : l'ordre des échantillons dans le lot sera l'ordre dans lequel vous les ajoutez dans le lot. Il peut être modifié en ouvrant le plan de plaque en bas à droite de l'écran du « Batch » et en utilisant la fonction glisser-déposer si les échantillons doivent être réorganisés. Cette feuille d'exécution peut également être imprimée et apportée au laboratoire pour faciliter la mise en correspondance de chaque échantillon avec son index dans la plaque d'indexage.

Une fois que vous avez ajouté tous vos échantillons dans le « Batch », vous pouvez choisir l'option « Generate Run Sheet » (Générer une feuille d'exécution), ce qui créera un nouveau fichier de feuille d'exécution au format CSV à utiliser sur le séquenceur Illumina. Cela fera passer les échantillons du statut « Scheduled » (Programmé) au statut « Protocol » (Protocole).

Remarque : des précautions s'imposent si vous ouvrez ce fichier dans Excel : enregistrer les modifications apportées au fichier CSV sous Excel peut l'empêcher de fonctionner sur le séquenceur Illumina ! Il est généralement plus sûr d'imprimer ce fichier sous Excel et d'effectuer toute modification (normalement non requise) à l'aide d'un éditeur de texte tel que Notepad++.

La « Run Sheet » (feuille d'exécution) peut être générée à nouveau à tout moment : si rien n'a changé dans le « Batch », le contenu sera identique à chaque fois.

Une fois la « Run Sheet » générée, il est temps de passer au protocole de laboratoire AlloSeq cfDNA et de préparer les échantillons pour le séquençage.

3.5. Analyse des résultats

Une fois le séquençage terminé, un dossier contenant les fichiers fastq sera créé sur le séquenceur. 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 sur un réseau peut ralentir l'analyse).

L'analyse est effectuée en accédant à l'écran « Batch », en sélectionnant le lot approprié et en utilisant le bouton « Analyze Results » (Analyser les résultats). Vous serez invité à renseigner l'emplacement du dossier contenant les fichiers fastq. Le système vérifiera le dossier pour s'assurer que tous les fichiers de chaque « Sample » sont présents, puis il lancera une analyse. L'analyse prend environ 30 secondes par échantillon. Une fois l'analyse terminée, le système créera une nouvelle « Task » (tâche) pour chaque résultat. Ces tâches seront attribuées à la personne qui a effectué l'analyse. Vous pouvez consulter vos tâches dans le « Dashboard » (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 « Approved » (Approuvé) par un directeur de laboratoire (ou un super utilisateur).

Remarque : les résultats s'afficheront dans les graphiques des écrans « Recipient » et « Sample », quel que soit leur statut d'approbation.

3.6. Examen des résultats

Un résumé de très haut niveau de la qualité de chaque résultat est visible sur le « Dashboard » et dans l'écran « Batch » : il s'affiche sous la forme d'un bouton à code couleur (vert, jaune ou rouge). L'écran « Batch » est un bon endroit pour évaluer le succès du test dans son ensemble. Si le résultat contient un avertissement (jaune) ou une erreur (rouge), la raison de l'échec de ce contrôle qualité (CQ) s'affichera dans l'onglet « Quality Control » (Contrôle qualité) de l'écran Résultats.

Les résultats peuvent être consultés (et doivent être examinés) individuellement. Cependant, il est généralement plus significatif de commencer par examiner le résultat résumé avec tous les autres résultats d'un receveur dans l'écran « Recipient ». Vous pouvez accéder à l'écran « Results » pour consulter les détails du résultat en cliquant sur l'identificateur de l'échantillon dans la chronologie de l'écran « Recipient » (l'écran « Sample » s'ouvrira si vous n'avez pas encore de résultat pour cet échantillon).

Une fois dans l'écran « Result », les détails de l'analyse sont disponibles. Le « Summary Result » (Récapitulatif des résultats) s'affiche. Dans le cas d'un suivi AlloSeq cfDNA, le résultat indiquera les pourcentages exacts détectés pour chaque partie du mélange, par exemple, « **Recipient** » **99,5 % (supposé)**, « **Donor** » **0,5 % (supposé)**. Le logiciel suppose que le signal le plus faible détecté appartient au donneur.

Le processus AlloSeq cfDNA peut être résumé comme de la façon suivante :

1. Utilisez le test et le logiciel pour préparer et analyser les échantillons de surveillance post-greffe pour le receveur

Le récapitulatif des résultats indique le « Analysis Type » (Type d'analyse) utilisé pour l'analyse. Un seul type d'analyse est utilisé pour le cfDNA lorsqu'aucun génotype n'est ajouté dans un cas :

- **En aveugle :** effectué automatiquement pour tous les échantillons
 - Comprend un mécanisme de « outlier detection » (Détection des valeurs aberrantes), pour filtrer automatiquement tout résultat statistique aberrant
 - Remarque : la détection des valeurs aberrantes peut être compromise en cas d'amplification non optimale ou de contamination. Il est conseillé d'examiner l'échantillon en détail si l'écart type est élevé par rapport au résultat.
 - Restrictions :
 - Ne permet pas de déterminer qui est qui dans le mélange
 - Ne permet pas de gérer plusieurs donneurs
 - Ne permet pas de détecter correctement le signal minoritaire lorsque sa proportion est relativement élevée, typiquement entre 30 et 70 %. De telles proportions sont inhabituelles dans l'ADN libre circulant (cfDNA), sauf après une transplantation hépatique. Dans ce contexte, un génotypage d'au moins un, idéalement des les deux contributeurs génomiques, est indispensable pour permettre une interprétation fiable. Pour les greffes de foie provenant de donneurs vivants apparentés, tous les génotypes sont requis.

Il est possible de réanalyser les résultats, en utilisant à nouveau le bouton « Analyze Results » (Analyser les résultats) de l'écran « Batch ». Cette option peut être utilisée lorsqu'il est nécessaire de séquencer à nouveau un lot. Si l'option « Analyze Results » (Analyser les résultats) est utilisée une deuxième fois sur un lot, l'analyse initiale sera écrasée.

Lors de l'examen des résultats, quelques éléments sont particulièrement importants :

- Résultat
- Écart type (SD) : l'écart type doit être faible par rapport au résultat.
- « Total Reads Processed » (Nombre total de lectures traitées) : généralement limité par le logiciel à un maximum de 3 millions de lectures par échantillon. Si ce nombre est inférieur à 300 000 lectures, le système déclenche un avertissement de qualité (indiquant une perte potentielle de sensibilité pour les valeurs très faibles). Un minimum de 1 million de lectures est recommandé, dans l'idéal.
- « Avg Marker Coverage » (Couverture moyenne des marqueurs) : quantité moyenne de lectures alignées par marqueur.
- « QC Status » (Statut Contrôle Qualité) : couleur Verte, Jaune ou Rouge.
- « QC Reason » (Raison QC) : s'affiche si l'état du contrôle qualité est « Warning or Failed » (Avertissement ou Échec). Les raisons motivant un problème de contrôle qualité peuvent être consultées dans l'onglet « Quality Control ».

Plusieurs indicateurs de contrôle qualité sont mesurés. Le tableau suivant récapitule ces indicateurs de contrôle qualité.

Remarque : les valeurs aberrantes sont détectées si la différence entre la valeur du marqueur et la moyenne initiale du signal minoritaire est supérieure à 5 fois l'écart type initialement calculé. Une fois les valeurs aberrantes supprimées, la moyenne du signal minoritaire et l'écart type sont recalculés ; ce sont ces valeurs qui sont affichées dans l'interface utilisateur. Il est possible qu'une amplification légèrement déséquilibrée ou un contaminant inattendu compromettent le mécanisme de détection des valeurs aberrantes, ce qui peut conduire à un contrôle qualité (QC) « vert » alors que le résultat est surestimé. Le logiciel part du principe que les échantillons ne sont pas contaminés.

- Si l'écart type ou le résultat sont plus élevés que prévu, il est recommandé de consulter le tableau des marqueurs pour vérifier la présence éventuelle d'un déséquilibre d'amplification ou d'une contamination.

Les marqueurs avec moins de 50 lectures (faible couverture) ou présentant un troisième signal significatif (marqueurs multialléliques) échouent aux contrôles qualité au niveau du locus et ne sont pas pris en compte dans le calcul des résultats ni dans celui de l'écart type.

Nom	Analyse	Type d'Échantillon	Réussi	Avertissement	Échec	Description
Trop de valeurs aberrantes	En aveugle	Tous	<2	>=2	>10	Les valeurs statistiques aberrantes dans les résultats des marqueurs sont automatiquement détectées et exclues. Un nombre de valeurs aberrantes trop important peut indiquer une contamination ou une confusion dans l'échantillon.
Marqueurs passant les filtres	En aveugle	Tous	>186	<186	<101	Nombre total de marqueurs qui réussissent toutes les mesures de contrôle qualité au niveau du locus. Pour qu'un échantillon passe, le seuil minimal est de 92 % (186 marqueurs).
Uniformité	En aveugle	Tous	>=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	En aveugle	Tous	>=400	<400	<250	Nombre moyen de lectures couvrant chaque marqueur. Un nombre de lectures insuffisamment élevé entraînera une perte de sensibilité (avertissement) ou un résultat peu fiable (échec).
Nombre total de lectures	En aveugle	Tous	>300k	<=300k	<=150k	Nombre total de lectures traitées. Un nombre de lectures insuffisamment élevé entraînera une perte de sensibilité (avertissement) ou un résultat peu fiable (échec).

Par défaut, seuls les SNP les plus significatifs sont affichés. Si vous le souhaitez, vous pouvez choisir d'autres options pour filtrer la liste des SNP, dont l'affichage de tous les résultats SNP. Un SNP sera considéré comme significatif si :

- Il s'agit d'un marqueur qui satisfait aux critères du filtre (pas de faible couverture et pas multiallélique) ;
- Il n'est pas considéré comme une valeur aberrante ;
- Il indique un signal secondaire <30 %.

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

Lorsque vous êtes satisfait des résultats, vous pouvez les envoyer pour approbation au directeur du laboratoire afin qu'il les approuve et les exporte. Les Résultats peuvent être exportés aux formats CSV, TSV ou PDF. Un rapport groupé (pour un lot d'échantillons) ne peut être exporté qu'une seule fois depuis la liste des tâches ou le tableau de bord principal. Des rapports individuels pour chaque échantillon peuvent être générés depuis l'écran « Results » via le bouton « Workflow » (Flux de travail).

4. Résolution des problèmes

Les indicateurs de contrôle qualité jaunes/Avertissement indiquent qu'un point du résultat nécessite un contrôle manuel rigoureux. Parfois, ces résultats peuvent tout de même être rapportés. Les indicateurs de contrôle qualité Avertissement peuvent également fournir des informations générales si d'autres mesures de contrôle qualité ont échoué. Il revient à l'utilisateur de décider si un résultat d'échantillon doit être validé, après un examen attentif des résultats des marqueurs et des autres indicateurs fournis pour cet échantillon. Les indicateurs de contrôle qualité rouges/Échec indiquent que le résultat est incertain. Dans certains cas, il est encore possible d'accepter et de transmettre des résultats présentant des échecs de contrôle qualité. Voir les exemples ci-dessous.

Un séquençage profond est nécessaire pour une sensibilité maximale

AlloSeq cfDNA ne peut pas fournir les niveaux de sensibilité les plus élevés si un nombre de données de séquençage insuffisant a été créé 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 « Average Marker » (couverture moyenne des marqueurs) et/ou le « Total Read » (nombre total de lectures). Cependant, si le résultat est supérieur à 1 %, les pertes de sensibilité n'auront pas d'impact majeur et le résultat pourra probablement être transmis malgré tout (à moins que d'autres indicateurs 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).

Lot bruyant

Si plusieurs échantillons d'un lot présentent des résultats supérieurs aux valeurs attendues, ou si le contrôle « single genome » (génomique unique) semble « bruyant », cela peut indiquer une contamination par index. Celle-ci peut résulter de la réutilisation des mêmes index d'échantillons que lors du run de séquençage précédent et/ou d'un nettoyage insuffisant du séquenceur entre les runs, en violation des recommandations du mode d'emploi (IFU) du Test.

Si de nombreux échantillons d'un run présentent des marqueurs multialléliques sans lien apparent avec une faible couverture, cela peut indiquer un niveau de bruit de séquençage important provenant du run. Il est alors nécessaire de vérifier les indicateurs SAV d'Illumina, notamment les scores Q30 et le taux d'erreur. Si ces anomalies sont confirmées, il peut être nécessaire de séquencer à nouveau le lot.

5. Références

Circulating cell-free DNA enables noninvasive diagnosis of heart transplant rejection, DeVlaminck *et al.*, *Sci Transl Med*. 2014 Jun 18;6(241):241ra77

Noninvasive detection of graft injury after heart transplant using donor-derived cell-free DNA: A prospective multicenter study, Khush *et al.*, *Am J Transplant*. 2019 Mar 5. doi: 10.1111/ajt.15339

Graft-derived cell-free DNA, a noninvasive early rejection and graft damage marker in liver transplantation: A prospective, observational, multicenter cohort study, Schütz *et al.*, *PLoS Med*. 2017 Apr 25;14(4):e1002286

Noninvasive monitoring of infection and rejection after lung transplantation, DeVlaminck *et al.*, *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2015 Oct 27;112(43):13336-41

Validation of a Clinical-Grade Assay to Measure Donor-Derived Cell-Free DNA in Solid Organ Transplant Recipients, Grskovic *et al.*, *J Mol Diagn*. 2016 Nov;18(6):890-902

Cell-Free DNA and Active Rejection in Kidney Allografts, Bloom *et al.*, *J Am Soc Nephrol*. 2017 Jul; 28(7):2221-2232 *Biological Variation of Donor-Derived Cell-Free DNA in Renal Transplant Recipients: Clinical Implications*. Bromberg *et al.*, *JALM*, 2017 Nov; 2(3): 309-321

Repeat kidney transplant recipients with active rejection have elevated donor-derived cell-free DNA, Mehta, *et al.* *Am J Transplant*. 2019 May;19(5):1597-1598

Interference Testing in Clinical Chemistry; Approved Guideline—Second Edition, EP7-A2 (ISBN 1-56238-584-4)

6. Coordonnées

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>

Importé / distribué par :

Asie-Pacifique (APAC)
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>

Europe (Importateur), 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/>

Soutien technique :

E-mail: techsupport-global@caredx.com

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

Produits connexes :

AlloSeq cfDNA



Historique de la méthode

Version	Date	Modification (IFU091-FR v3.0 est traduit du document principal en anglais IFU091_AlloSeq cfDNA Software IFU CE v10.0)
IFU091 v1.0	16 déc. 19	Première version du mode d'emploi du logiciel AlloSeq cfDNA pour la version CE. Publié par E. Naughton le 17 déc. 19.
IFU091 v2.0	25 mars 21	Modification du distributeur de Vienne à Stockholm dans la section 8.0 conformément à la CR 2020-097. Réédité par L. Langley le 09 avr. 21
IFU091 v3.0	17 mai 22	Mise à jour du logo, mise à jour des coordonnées du représentant de la CE, ajout d'un importateur pour l'UE, mise à jour de la formulation de la section Utilisation prévue Suppression des sections Installation (désormais incluse dans le guide d'installation), analyse logicielle, processus logiciel, et remplacement par des instructions pour les utilisateurs expérimentés et pour les nouveaux utilisateurs. Mise à jour de la formulation pour la résolution des problèmes et ajout de restrictions. Réédité par L. Langley le 19 mai 22
IFU091 v4.0	24 mai 22	Mise à jour des restrictions de la section 6 pour greffe de donneur vivant apparenté. Réédité par L. Langley le 24 mai 22
IFU091 v5.0	25 juil. 23	Suppression de la section 2. La « Description du produit » ne concerne que le logiciel v1. Suppression de la section 6 « Limitations » et déplacement à la section 1.4 Restrictions Ajout de MiniSeq en tant qu'équipement validé Ajout d'une fonctionnalité optionnelle « Platemap » (Plan de plaque) à la section 3.4 « Lots », comme utilisation optionnelle des fonctionnalités
IFU091 v6.0	18 oct. 23	Mise à jour à la section 3.2 « Receveurs et Donneurs ». Après avoir ajouté le Donneur au Receveur, Lien de parenté si nécessaire.
IFU091 v7.0	24 oct. 23	Ajout des coordonnées du représentant suisse.
IFU091 v8.0	11 janv. 24	Mise à jour du numéro de version logicielle pour la version v2.2.1. Se reporter à CR-2023-018.
IFU091-FR v1.0	27 mars 24	La première traduction en français.
IFU091-FR v2.0	07 juil. 25	Mise à jour du nom et de l'adresse de EC-REP. Seuils affinés pour deux indicateurs de contrôle de qualité. Reformulation des informations concernant l'analyse en aveugle.
IFU091-FR v3.0	07 août 25	Mise à jour pour clarifier les consignes relatives aux indicateurs de contrôle qualité lors de l'examen des résultats. Autres mises à jour apportées dans l'ensemble du document afin de le mettre en conformité avec la version actuelle du logiciel.