

# MiSeq™ Dx-reagenskit v3

BESTEMD VOOR IN-VITRODIAGNOSTIEK

## Beoogd gebruik

De Illumina MiSeqDx-reagenskit v3 is een set reagentia en verbruiksartikelen bedoeld voor de sequencing van monsterbibliotheken bij gebruik met gevalideerde tests. De MiSeqDx-reagenskit v3 is bedoeld voor gebruik met het MiSeqDx-instrument en de bijbehorende analysessoftware.

## Principes van de procedure

De MiSeqDx-reagenskit v3 maakt voor de invoer gebruik van bibliotheken die zijn geprepareerd van DNA waarbij monsterindexen en opnamesequenties aan doelen worden toegevoegd. Monsterbibliotheken worden vastgelegd op een flowcel en gesequenced op het instrument met behulp van SBS-chemie (sequencing by synthesis). SBS-chemie maakt gebruik van een omkeerbare terminatormethode om fluorescent gelabelde enkelvoudige nucleotidebasen te detecteren wanneer ze worden opgenomen in groeiende DNA-strengen.

Voor instructies over het uitvoeren van sequencing op het MiSeqDx-instrument zie de Bijsluiter voor het MiSeqDx-instrument voor uw regio en versie van de instrumentsoftware.

## Beperkingen van de procedure

- Bestemd voor *in-vitrodiagnostiek*.
- Beperkingen die worden beschreven in deze bijsluiter zijn gebaseerd op representatieve assays en softwaremodules, inclusief de Germline Variant- en Somatic Variant-modules in Local Run Manager, die zijn ontwikkeld voor het evalueren van prestaties met representatieve assays.
- Aflezingen bevatten inserties, deleties of combinaties daarvan (indels). Inhoud met een lengte van > 25 bp wordt niet uitgelijnd door de testsoftware. Het gevolg is dat indels met een lengte van > 25 basenparen (bp) niet detecteerbaar zijn voor de testsoftware.
- Het systeem is gevalideerd voor de detectie van enkelvoudige nucleotide varianten (SNV's, single nucleotide variants) en deleties tot 25 bp en inserties tot 24 bp bij gebruik met de softwaremodule voor kiemlijn- en somatische varianten. Bij een variantfrequentie van 0,05 werden voor somatische bepalingen deleties van 25 bp en inserties van 18 bp gedetecteerd.

- Het is mogelijk dat de testsoftware de amplicon-aflezings niet uitlijnt met de inhoud van extreme varianten, waardoor de regio wordt gerapporteerd als wild-type. Dergelijke extreme inhoud omvat:
  - Aflezings met meer dan drie indels;
  - aflezings met een lengte van minimaal 30 bp met een SNV-inhoud van > 4% van de totale amplicon-doellengte (exclusief regio's van sondes);
  - aflezings met een lengte van < 30 bp met een SNV-inhoud van > 10% van de totale amplicon-lengte (inclusief regio's van sondes).
- Grote varianten, inclusief multi-nucleotide varianten (MNV's) en grote indels worden mogelijk gerapporteerd als afzonderlijke kleine varianten in het VCF-uitvoerbestand.
- Deletievarianten kunnen worden gefilterd of gemist als deze twee amplicontegels overlappen waar de deletielengte groter is dan of gelijk is aan de overlap tussen de amplicontegels.
- Het systeem kan indels niet detecteren als deze direct aangrenzend aan een primer voorkomen en er geen overlappende amplicon is. Voor regio's met overlappende amplicons, kan de test deleties niet detecteren als de overlappingsregio kleiner is dan de afmeting van de deletie die moet worden gedetecteerd. Bijvoorbeeld: als de overlappingsregio tussen twee aangrenzende amplicons twee basen betreft, kan de test geen deleties detecteren inclusief beide basen. Een deletie van een enkele base op een van deze basen kan worden gedetecteerd.
- Zoals bij elke op hybridisatie gebaseerde workflow voor bibliotheekvoorbereiding, kunnen onderliggende polymorfismen, mutaties, inserties of deleties in oligonucleotide-bindende regio's invloed hebben op de allelen die worden onderzocht en daarnaast op de sequentiebepalingen. Bijvoorbeeld:
  - Een variant in fase met een variant in de primerregio wordt mogelijk niet geamplificeerd, wat resulteert in een vals-negatief resultaat.
  - Varianten in de primerregio kunnen de amplificatie van het referentie-allel voorkomen, wat resulteert in een onjuiste homozygote variantenbepaling.
  - Indel-varianten in de primerregio kunnen een vals-positieve bepaling veroorzaken aan het einde van de aflezing naast de primer.
- Indels kunnen worden gefilterd vanwege vertekening van strengen als ze zich aan het einde van een aflezing voordoen en tijdens het uitlijnen zijn afgekapt.
- Kleine MNV's zijn niet gevalideerd en worden alleen gerapporteerd in de module voor somatische varianten.
- Deleties worden gerapporteerd in de VCF op de coördinaat van de voorgaande base per VCF-indeling. Beoordeel daarom of er aangrenzende varianten zijn voordat u meldt dat een individuele base-bepaling een homozygote referentie is.
- Germline-specifieke beperkingen:
  - Het MiSeqDx-instrument, met behulp van de module voor kiemlijnvarianten in Local Run Manager, is ontworpen om kwalitatieve resultaten te leveren voor kiemlijnvariantbepalingen (bijv. homozygoot, heterozygoot, wild-type).

- Bij gebruik in combinatie met de module voor kiemlijnvarianten is de minimale dekking per amplicon die nodig is voor nauwkeurige variantbepalingen 150x. Dit betekent dat er 150 ondersteunende DNA-fragmenten vereist zijn, wat overeenkomt met 300 overlappende paired-end-bepalingen. Het aantal monsters en het totale aantal beoogde basen kunnen de dekking beïnvloeden. GC-inhoud en andere genomische inhoud kunnen de dekking beïnvloeden.
- Variatie in het aantal kopieën kan van invloed zijn op het feit of een variant wordt geïdentificeerd als homozygoot of heterozygoot.
- Varianten in een bepaalde repetitieve context worden uitgefilterd in de VCF-bestanden. Het RMxN-herhalingsfilter wordt gebruikt om varianten te filteren als het geheel of een deel van de variantsequentie herhaaldelijk aanwezig is in de referentiegenoom naast de positie van de variant. Voor een bepaling van kiembaanvarianten zijn ten minste negen herhalingen in de referentie vereist om een variant te filteren, en alleen herhalingen met een lengte tot 5 bp worden in aanmerking genomen (R5x9).
- Specifieke somatische beperkingen:
  - Het MiSeqDx-instrument, dat gebruikmaakt van de somatische variantmodule in Lokaal runbeheer, is ontworpen om kwalitatieve resultaten te leveren voor somatische variantbepalingen (d.w.z. de aanwezigheid van een somatische variant met een variantfrequentie van  $\geq 0,026$  met een detectielimiet van 0,05).
  - Bij gebruik in combinatie met de module voor somatische varianten is de minimale dekking per amplicon die nodig is voor nauwkeurige variantbepalingen 450x per oligonucleotidenpool. Dit betekent dat er 450 ondersteunende DNA-fragmenten vereist zijn per oligonucleotidenpool, wat overeenkomt met 900 overlappende paired-end-bepalingen. Het aantal monsters en het totale aantal beoogde basen kunnen de dekking beïnvloeden. GC-inhoud en andere genomische inhoud kunnen de dekking beïnvloeden.
  - Voor een bepaling van somatische varianten zijn ten minste zes herhalingen in de referentie vereist om de variant te filteren, en alleen herhalingen met een lengte tot 3 bp worden in aanmerking genomen (R3x6).
  - De module voor somatische varianten maakt geen onderscheid tussen kiemlijn- en somatische varianten. De module is ontworpen om varianten op een reeks variantfrequenties te detecteren, maar variantfrequentie kan niet worden gebruikt om somatische varianten van kiemlijnvarianten te onderscheiden.
  - Normaal weefsel in het monster kan de detectie van varianten beïnvloeden. De gerapporteerde detectielimiet is gebaseerd op een variantfrequentie ten opzichte van het totale DNA dat is geëxtraheerd uit zowel tumorweefsel als normaal weefsel.

# Productonderdelen

Illumina MiSeqDx-reagenskit v3, Catalogusnr. 20037124 omvat:

- Bibliotheekverdunningsbuffer, flowcel en reagentia na amplificatie

## Meegeleverde reagentia

De Illumina MiSeqDx-reagenskit v3 is een set met reagentia en verbruiksartikelen voor eenmalig gebruik bij sequencing van een run met één of meer monsterbibliotheken op het MiSeqDx-instrument. Het aantal monsterbibliotheken is afhankelijk van de multiplexing die wordt ondersteund door de methode van bibliotheekvoorbereiding upstream.

Zie de volgende tabellen voor een volledige lijst van reagentia die in deze kit worden geleverd.

### MiSeqDx-reagenskit v3, doos 1

Tabel 1 Doos 1 Reagentia na amplificatie

Onderdeel	Aantal	Vulvolume	Werkzame bestanddelen	Opslag
Bibliotheekverdunningsbuffer	1 buisje	4,5 ml	Gebufferde waterige oplossing	-25 °C tot -15 °C
MiSeqDx-reagenscartridge v3 (met RFID-label)	per stuk	Variërend	Voorgevulde cartridge voor eenmalig gebruik	-25 °C tot -15 °C

### MiSeqDx-reagenskit v3, doos 2

Tabel 2 Doos 2 Reagentia na amplificatie

Onderdeel	Aantal	Vulvolume	Werkzame bestanddelen	Opslag
MiSeqDx SBS-oplossing (PR2) (met RFID-label)	1 fles	500 ml	Gebufferde waterige oplossing	2 °C tot 8 °C
MiSeqDx-flowcel (met RFID-label)	per stuk	N.v.t.	Glazen flowcel in gebufferde waterige oplossing, paired-end, voor eenmalig gebruik	2 °C tot 8 °C

# Opslag en hantering

- Kamertemperatuur wordt gedefinieerd als 15 °C tot 30 °C.
- De volgende reagentia worden bevroren verzonden en zijn bij opslag tussen -25 °C en -15 °C stabiel tot de gespecificeerde vervaldatum.
  - Bibliotheekverdunningsbuffer
  - MiSeqDx-reagenscartridge v3

**OPMERKING:** De bibliotheekverdunningsbuffer en MiSeqDx-reagenscartridge v3 zijn uitsluitend bedoeld voor eenmalig gebruik en zijn stabiel bij maximaal één keer ontdooien tot kamertemperatuur vóór de gespecificeerde vervaldatum. Eenmaal ontdooid, moet de reagenscartridge worden geladen met de monsterbibliotheek en onmiddellijk worden uitgevoerd op het MiSeqDx-instrument. Als alternatief kan de ontdooid reagenscartridge maximaal 6 uur bij 2 °C tot 8 °C worden bewaard, vervolgens worden geladen met de monsterbibliotheek en onmiddellijk worden uitgevoerd op het MiSeqDx-instrument.

- De volgende reagentia worden gekoeld verzonden en zijn bij opslag tussen 2 °C en 8 °C stabiel tot de gespecificeerde vervaldatum.
  - MiSeqDx SBS-oplossing (PR2)
  - MiSeqDx-flowcelMiSeqDx SBS-oplossing (PR2) en MiSeqDx-flowcellen zijn bedoeld voor eenmalig gebruik.
- Uiterlijke veranderingen in de reagentia kunnen duiden op kwaliteitsverslechtering van de materialen. Als er sprake is van uiterlijke veranderingen (zoals duidelijke veranderingen in de kleur van het reagens of troebelheid als gevolg van microbiële verontreiniging), mogen de reagentia niet worden gebruikt.

## Benodigde apparatuur en materialen, apart verkrijgbaar

- **MiseqDx-instrument**, Catalogusnr. DX-410-1001

# Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen



## LET OP

Op grond van federale Amerikaanse wetgeving mag dit apparaat alleen worden verkocht door of in opdracht van een arts of een andere beroepsbeoefenaar die daartoe bevoegd is volgens de wetgeving van de staat waarin deze persoon werkzaam is, met het oogmerk om het apparaat te gebruiken of te doen gebruiken.



## WAARSCHUWING

**Deze set reagentia bevat mogelijk gevaarlijke chemicaliën. Inademen, inslikken en contact met de huid en met de ogen kunnen resulteren in persoonlijk letsel. Draag beschermende hulpmiddelen, met inbegrip van oogbescherming, handschoenen en een laboratoriumjas, passend bij het blootstellingsrisico. Behandel gebruikte reagentia als chemisch afval en voer deze af in overeenstemming met de geldende regionale, nationale en lokale wet- en regelgeving. Raadpleeg voor informatie met betrekking tot milieu, gezondheid en veiligheid het veiligheidsinformatieblad (SDS) op [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).**

(Zie Reagentia op pagina 1 voor meer informatie.)

- Wanneer de omschreven procedures niet worden gevolgd, kunnen de resultaten onjuist zijn of kan de monsterkwaliteit aanzienlijk slechter zijn.
- Volg de standaard voorzorgsmaatregelen die in het laboratorium gelden. Pipetteer niet met de mond. Niet eten, drinken of roken in de aangegeven werkgebieden. Draag wegwerphandschoenen en een laboratoriumjas bij het hanteren van monsters en assayreagentia. Was de handen grondig na het hanteren van monsters en assayreagentia.
- Goede laboratoriumpraktijken en goede laboratoriumhygiëne zijn vereist om te voorkomen dat reagentia, instrumenten en genomische DNA-monsters worden verontreinigd door PCR-producten. PCR-verontreiniging kan onjuiste en onbetrouwbare resultaten veroorzaken.
- Zorg ervoor dat de pre-amplificatie- en post-amplificatiegebieden zijn voorzien van speciale apparatuur (bijv. pipetten, pipetpunten, vortexer en centrifuge).
- Het paren van indexmonsters moet exact overeenkomen met de lay-out van de afgedrukte plaat. Lokaal runbeheer vult bij invoer in de module automatisch de indexprimers in die aan de monsternamen zijn gekoppeld. Controleer of de indexprimers zijn gekoppeld aan monsters voordat u de sequencing-run start. Verkeerde combinaties tussen de lay-out van de afgedrukte plaat en het monster veroorzaakt een minder positieve monsteridentificaties en onjuiste resultaatrapportages.

- Meld ernstige incidenten in verband met dit product onmiddellijk aan Illumina en de bevoegde autoriteit van de lidstaat waar de gebruiker en/of de patiënt gevestigd zijn.

## Gebruiksaanwijzing

Zie de Bijsluiter voor het MiSeqDx-instrument voor uw regio en versie van de instrumentsoftware.

## Werkingeigenschappen

Zie de Bijsluiter voor het MiSeqDx-instrument voor uw regio en versie van de instrumentsoftware.

## Revisiegeschiedenis

Documentnr.	Datum	Omschrijving van wijziging
Documentnr. 1000000030849 v04	November 2021	Bijgewerkte referenties voor bijsluiter voor het MiSeqDx-instrument. Bijgewerkte Beperkingen van de procedure en Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen met aanvullende verduidelijkingen. Kline updates voor afstemming met de stijl en standaarden voor Illumina-documentatie.
Documentnr. 1000000030849 v03	Augustus 2021	Adres gemachtigd vertegenwoordiger voor de EU bijgewerkt. Revisiegeschiedenistabel toegevoegd.

## Octrooien en handelsmerken

Dit document en de inhoud ervan zijn eigendom van Illumina, Inc. en haar dochterondernemingen ('Illumina'), en zijn alleen bedoeld voor contractueel gebruik door haar klanten in verband met het gebruik van de hierin beschreven producten en voor geen enkel ander doel. Dit document en de inhoud ervan mogen niet worden gebruikt of gedistribueerd voor welk ander doel dan ook en/of op een andere manier worden gecommuniceerd, geopenbaard of gereproduceerd zonder de voorafgaande schriftelijke toestemming van Illumina. Illumina geeft door middel van dit document geen licenties onder haar patent, handelsmerk, auteursrecht of gewoonterechten noch soortgelijke rechten van derden door.

De instructies in dit document moeten strikt en uitdrukkelijk worden opgevolgd door gekwalificeerd en voldoende opgeleid personeel om een correct en veilig gebruik van de hierin beschreven producten te waarborgen. Alle inhoud van dit document moet volledig worden gelezen en begrepen voordat dergelijke producten worden gebruikt.

HET NIET VOLLEDIG LEZEN EN UITDRUKKELIJK OPVOLGEN VAN ALLE INSTRUCTIES IN DIT DOCUMENT KAN RESULTEREN IN SCHADE AAN DE PRODUCTEN, LETSEL AAN PERSONEN (INCLUSIEF GEBRUIKERS OF ANDEREN) EN SCHADE AAN ANDERE EIGENDOMMEN. BIJ HET NIET VOLLEDIG LEZEN EN UITDRUKKELIJK OPVOLGEN VAN ALLE INSTRUCTIES IN DIT DOCUMENT VERVALLEN ALLE GARANTIES DIE VAN TOEPASSING ZIJN OP HET PRODUCT.

ILLUMINA IS OP GEEN ENKELE MANIER AANSPRAKELIJK VOOR GEVOLGEN VAN EEN ONJUIST GEBRUIK VAN DE PRODUCTEN DIE HIERIN WORDEN BESCHREVEN (INCLUSIEF DELEN DAARVAN OF SOFTWARE).

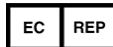
© 2021 Illumina, Inc. Alle rechten voorbehouden.

Alle handelsmerken zijn het eigendom van Illumina, Inc. of hun respectievelijke eigenaren. Ga naar [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html) voor meer informatie over specifieke handelsmerken.

## Contactgegevens



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, Californië 92122 VS  
+1 800 809 ILMN (4566)  
+1 858 202 4566 (buiten Noord-Amerika)  
techsupport@illumina.com  
[www.illumina.com](http://www.illumina.com)



Illumina Netherlands B.V.  
Steenoven 19  
5626 DK Eindhoven  
Nederland

### Australische sponsor

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

## Productlabeling

Raadpleeg voor een volledige uitleg van symbolen die mogelijk worden weergegeven op de verpakkingen en labels van de producten het symbooloverzicht voor uw kit via [support.illumina.com](http://support.illumina.com).