



Mode d'emploi

IFU094-FR

Numéro de la version logicielle : 1.0.5

Date de publication : Octobre 2023



ASA1.0



CareDx Pty Ltd
20 Collie Street
Fremantle, WA 6160
Australie



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



CareDx Pty Ltd

Sommaire

CHAPITRE 1 : INTRODUCTION	3
UTILISATION PREVUE.....	3
BASES DE DONNEES DE REFERENCE.....	3
CARACTERISTIQUES DE PERFORMANCE.....	4
LIMITES	4
CHAPITRE 2 : EXIGENCES INFORMATIQUES ET COMPATIBILITE	6
SYSTEMES D'EXPLOITATION ET LOGICIELS.....	6
RESOLUTION D'ECRAN	6
FORMATS DE FICHIERS DE DONNEES COMPATIBLES	6
RETROCOMPATIBILITE AVEC LES PARAMETRES PRECEDENTS	6
CHAPITRE 3 : INSTALLATION	6
CHAPITRE 4 : POUR DEMARRER	7
CHAPITRE 5 : NAVIGATION DANS L'INTERFACE	9
MENU FICHIER	9
ONGLET HOME (ACCUEIL)	9
PANEL D'ECHANTILLONS	12
REFERENCES ASSIGN	12
ÉCHANTILLONS ET LOCI.....	12
HIERARCHIE DE LA REVISION	12
OPTIONS DU PANEL D'ECHANTILLONS	13
NAVIGATEUR.....	13
NAVIGATION DE BASE.....	13
NAVIGATION AVANCEE	14
SELECTION DE BASE.....	14
LISTE DE MESAPPARIEMENTS.....	14
DETAILS SUR INS/SUPPR.....	14
POSITION DES NUCLEOTIDES PAR REGIONS OU PAR GROUPES.....	15
VUES	16
SYNTHESE	16
PANEL DE SYNTHESE DU TYPAGE	16
MOTIFS DE SEQUENCES	17
PANEL DE SYNTHESE DE LA QUALITE.....	17
PANEL DE SYNTHESE DE LA COUVERTURE	18
SYNTHESE DES GENES	18
VUE DE LA COUVERTURE	19
CONFIDENCE PLOT, LOCUS STRUCTURE, AND PHASE BLOCK DISPLAY (TRACE DE CONFIANCE, STRUCTURE DU LOCUS ET AFFICHAGE DES BLOCS DE PHASE).....	19
PANEL DES SEQUENCES.....	20
SECTION SEQUENCES	20
VUE DES LECTURES	28
VUE DE L'ALIGNEMENT ET VUE DE REFERENCE	29
CHAPITRE 6 : PRODUCTION DE RAPPORTS	30
TYPES DE RAPPORTS.....	30
CHAPITRE 7 : LANCEUR ALLOSEQ ASSIGN	36
CHAPITRE 8 : GLOSSAIRE	37
CHAPITRE 9 : ASSISTANCE ET COORDONNEES	40
CHAPITRE 10 : HISTORIQUE DES REVISIONS	41

Chapitre 1 : Introduction

Le logiciel AlloSeq Assign (appelé ci-après « Assign ») et AlloSeq Tx, un kit de séquençage NGS de capture d'hybrides ciblé, constituent ensemble un système de génotypage des gènes importants pour l'appariement des transplantations. Ces gènes comprennent les gènes de la région MHC. Assign importe les données de séquence des fichiers fastq.gz générés par un instrument de séquençage Illumina, crée une séquence de consensus par locus pour un échantillon, permet la révision et l'édition des appels de base, et compare la séquence de consensus avec une collection de séquences d'allèles de référence. Le logiciel répertorie les allèles les mieux appariés pour aider l'utilisateur à attribuer un génotype.

Assign présente les caractéristiques et fonctionnalités suivantes :

- Importation de séquences provenant de plusieurs échantillons et de plusieurs loci par échantillon dans une interface conviviale ;
- Vue des identificateurs d'échantillons, des en-têtes de loci, des lectures de séquences, des appels de base et des assignations d'allèles ;
- Piste d'audit d'analyse complète ;
- Possibilité d'analyser des données d'exon uniquement ou d'exon + non-codage ;
- Production de rapports incluant les allèles CWD, les groupes G et les groupes P ;
- Données de séquences jumelées à résolution progressive provenant des collections AlloSeq, séquencées sur le système de séquençage Illumina.

Consulter le document IFU095_AlloSeq Tx IFU CE IVD pour consulter les détails des kits de réactifs AlloSeq Tx associés.

Utilisation prévue

L'utilisation prévue du logiciel AlloSeq Assign est d'aider l'utilisateur à attribuer un génotype après un enrichissement ciblé et le séquençage à l'aide des kits de réactifs AlloSeq Tx. Le logiciel AlloSeq Assign importe les données des séquences, effectue l'alignement des séquences, permet leur édition, puis compare une séquence de consensus à une collection de séquences d'allèles.

Le produit est destiné à être utilisé dans des laboratoires dûment réglementés.

Le logiciel est réservé à un usage professionnel uniquement et ne doit pas être utilisé comme seul fondement pour des décisions cliniques. Les kits et le logiciel AlloSeq Tx ne sont pas utilisés pour le diagnostic de maladies.

Bases de données de référence

Assign compare la séquence d'un échantillon à une collection de séquences de bases de données de référence. Assign utilise des bases de données d'IMGT/HLA pour aider l'utilisateur à attribuer des génotypes à des séquences.

Base de données IMGT/HLA

La base de données IMGT/HLA comprend des séquences approuvées par le Comité de la nomenclature des facteurs du système HLA de l'Organisation mondiale de la santé (OMS). La base de données IMGT/HLA fait partie du projet international ImMunoGeneTics (IMGT) (www.imgt.org).

CWD/CIWD

La base de données CWD/CIWD répertorie les allèles fréquents, intermédiaires et bien documentés (Common, Intermediate and Well-Documented CIWD). Consultez la section Annotation pour obtenir davantage d'informations.

Caractéristiques de performance

24 échantillons peuvent être analysés en moins de 30 minutes, à l'aide d'un ordinateur ayant une configuration informatique minimale. Le tableau ci-dessous contient des informations sur la vitesse d'importation pour différentes configurations informatiques. Remarque : ces durées sont fournies à titre indicatif uniquement et peuvent varier selon la qualité de l'échantillon et les autres processus exécutés sur l'ordinateur.

Caractéristiques de l'ordinateur	Dosage	Nombre d'échantillons	Durée moyenne d'importation
64 Go de RAM, processeur i7, 3,4 GHz	AlloSeq Tx	96	16 minutes
64 Go de RAM, processeur i7, 3,4 GHz	AlloSeq Tx	24	7 minutes
32 Go de RAM	AlloSeq Tx	96	40 minutes
32 Go de RAM	AlloSeq Tx	24	7 minutes
16 Go de RAM	AlloSeq Tx	96	40 minutes

Limites

Séquençage à l'aide d'une technologie de séquençage à lecture courte avec les séquenceurs Illumina

AlloSeq Tx a été optimisé pour les séquenceurs Illumina (consulter le mode d'emploi). Le séquençage d'Illumina est une plateforme de séquençage à « lecture courte » qui séquence 150 bp des deux extrémités d'un fragment d'ADN, généralement d'une longueur de 500 bp. Pour phaser deux polymorphismes, la distance entre ces derniers doit être inférieure à la longueur des fragments d'ADN séquencés. Les polymorphismes situés hors de cette région ne seront pas phasés. L'impossibilité de phaser augmente le risque d'obtenir un rapport indiquant une ambiguïté hétérozygote. Un rapport qui répertorie un seul génotype alors que la séquence génétique n'a pas été entièrement phasée reflète le nombre limité d'allèles dans la collection de référence. Une paire d'allèles alternative, non encore décrite, peut avoir la même séquence consensus et pourrait être en fait la bonne réponse.

Limites des dosages de capture hybrides pour le typage HLA et l'appariement génétique du MHC

Le MHC a évolué en raison de la réplication et de la diversification des séquences génétiques qui couvrent le type HLA et d'autres séquences. En conséquence, le MHC contient de nombreux gènes homologues. Les sondes biotinylées capturent des fragments de séquences qui peuvent avoir jusqu'à 20 % de différence par rapport aux locus cibles, ce qui entraîne la capture de nombreuses séquences non spécifiques. Assign filtre ces résultats et les attribue au gène correct. Dans certains cas, les lectures sont toutefois attribuées à un gène incorrect. Selon notre expérience, ce problème est rare, et lorsqu'il se produit au point que l'erreur d'attribution de lectures influence l'analyse, le rapport d'appariement ne trouve pas d'appariement parfait entre l'échantillon de séquence consensus et la collection de référence.

Veuillez noter que les attributions incorrectes de lectures peuvent être un symptôme d'une baisse de la spécificité du dosage due à des conditions de dosage non optimales. Veuillez contacter votre équipe d'assistance technique si ce problème est suspecté.

Les généticiens spécialistes des transplantations doivent comprendre que même si de nombreux tests ont été effectués, en raison de la nature extrêmement diverse du MHC, il est impossible de tester tous les scénarios, et comme pour tous les dosages de typage HLA, des artefacts spécifiques à l'échantillon peuvent compliquer l'analyse et l'attribution d'un type HLA.

Limites de la base de données IMGT/HLA

Comme indiqué ci-dessus, Assign compare la séquence de l'échantillon à des séquences d'allèles de la base de données IMGT/HLA et répertorie les paires d'allèles les mieux appariées. La base de données IMGT/HLA est mise à jour tous les trois mois avec des séquences d'allèles nouvellement décrits, et les allèles les mieux appariés ne sont pertinents que pour la base de données utilisée à ce moment donné. CareDx publiera une mise à jour des fichiers de référence d'Assign tous les six mois.

Un expert des transplantations génétiques/du typage HLA doit interpréter ces données pour fournir le type HLA le plus probable. L'expert doit comprendre les limites de la base de données des séquences de référence.

Les allèles HLA reconnus n'ont pas tous été séquencés dans la même mesure. Tous les gènes HLA de classe I classiques ont été séquencés sur les exons 2+3, certains sur les exons 2+3+4, pour certains toute la séquence codante et pour d'autres, la totalité de la séquence génétique (selon la définition du comité de nomenclature de l'OMS). Ainsi, il est possible qu'un type HLA assigné provenant d'une séquence de référence limitée puisse un jour être renommé en fonction de l'identification de variants dans des régions non séquencées originellement. L'exemple classique est DRB1*14:01. DRB1*14:01 a été défini comme une séquence dans l'exon 2 de HLA-DRB1. Des chercheurs ont séquencé les exons 2+3 et ont remarqué qu'un polymorphisme de l'exon 3 divisait DRB1*14:01 en DRB1*14:01 et DRB1*14:54. L'allèle nouvellement nommé DRB1*14:54 a été identifié comme le plus fréquent des 2 allèles, dans toutes les populations où DRB1*14:01 a été identifié. En conséquence, de nombreux échantillons originellement typés comme DRB1*14:01 à partir de la séquence de l'exon 2 sont à présent considérés comme une erreur de typage. Il est possible que des donneurs et des patients considérés comme compatibles pour DRB1*14:01 soient en fait mésappariés. Les implications ne sont pas encore connues.

Le typage HLA le plus précis correspond à un rapport sur 2 allèles entièrement phasés sur la totalité du gène et le séquençage des allèles de référence, également sur la totalité du gène. Ceci reste toutefois restreint par les limites arbitraires des gènes définies par le comité de nomenclature de l'OMS et par le manque d'une définition du début et de la fin d'un gène. Des variants peuvent exister au-delà de ces limites.

Typage à quatre champs des gènes de classe 2

Remarque : La couverture des introns est incomplète pour DPA1, DPB1, DQA1, DQB1, DRB1, DRB3, DRB4 et DRB5. Les rapports sur les allèles de ces gènes avec une résolution à quatre champs peuvent donner des résultats incohérents avec les génotypes dérivés du séquençage intégral du gène. Par ailleurs, les allèles ne disposant pas d'une séquence intronique publiée dans la base de données IMGT peuvent être placés plus haut dans le tableau des résultats, alors que des allèles similaires entièrement caractérisés sont placés plus bas.

Limitations générales

Assign est validé pour une utilisation avec des données de séquence générées par les produits AlloSeq Tx et séquencées sur des instruments validés. Assign ne doit pas être utilisé pour analyser des données générées d'une autre manière. Des données de mauvaise qualité, y compris des séquences de consensus avec un bruit de fond ou une faible profondeur de couverture des séquences, peuvent entraîner des appels de base de consensus incorrects et un mauvais typage. Assign comprend une interface visuelle simple pour visualiser la qualité de lecture et la profondeur de la couverture des séquences, ce qui permet d'identifier rapidement une mauvaise qualité de lecture et une faible profondeur de couverture des séquences.

Assign aligne les lectures de la séquence à partir d'un fichier fastq d'échantillon sur la séquence consensus construite à partir de la base de données IMGT pour chacun des loci concernés. Pour faciliter un alignement précis, les allèles pour les loci DRB1 ont été divisés en différents groupes, en fonction de leurs similitudes introniques (pour plus d'informations, voir les sections *Séquence consensus du locus* et *Panel de synthèse de la couverture*). Par conséquent, un échantillon peut avoir des allèles DRB1 appartenant à deux groupes DRB1 différents, ou peut avoir deux allèles appartenant au même groupe DRB1, ou peut être homozygote et donc avoir deux copies du même allèle. De même, le fait que l'échantillon contienne des allèles pour HLA-DRB3, -DRB4 ou DRB5 dépendra de l'haplotype que l'échantillon porte, et en tant que tel, l'échantillon peut ne contenir aucun allèle HLA-DRB3/DRB4/DRB5, peut avoir un allèle pour un locus, deux allèles pour un seul locus ou deux allèles pour des loci différents. Dans les cas où un seul allèle est présent pour un locus, si la case Duplicate homozygous (Double homozygote) est cochée dans les options de production d'un rapport, le logiciel signalera deux copies du même allèle.

Par conséquent, la prudence est de mise lorsque l'on interprète le rapport de génotype comme un type HLA.

Chapitre 2 : Exigences informatiques et compatibilité

Pour garantir des performances optimales, utilisez les exigences minimales de calcul suivantes :

- Un processeur quadricœur Intel 64 bits de 1 GHz ou plus rapide, ou équivalent
- 16 Go de RAM minimum
- 16 Go d'espace disque dur disponible

Les fichiers de données séquentielles peuvent être stockés localement ou sur un emplacement du réseau. En fonction des performances du réseau, le logiciel peut subir un retard de traitement important lorsque les fichiers sont importés depuis un emplacement du réseau.

Systèmes d'exploitation et logiciels

Assign fonctionne sur Windows et a été validé pour les systèmes d'exploitation Windows 10 ou Windows Server 2012. Assign n'est pas compatible avec les éditions suivantes de Windows : Embedded (y compris Windows sur le système de séquençage Illumina), RT, Starter, Mobile, et Phone, ou tout matériel ne prenant pas en charge un clavier, une souris et un écran standard. Microsoft Excel 97 ou une version plus récente est nécessaire pour générer des rapports Excel à partir d'Assign.

Résolution d'écran

La résolution d'écran recommandée est de 1920 × 1080 pixels. Utilisez plusieurs moniteurs ou augmentez la résolution de votre écran afin d'augmenter le nombre de champs visibles pour chaque locus.

Formats de fichiers de données compatibles

Assign est compatible avec le format de fichier FASTQ, soit zippé (*.fastq.gz), soit dézippé (*.fastq). 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 pour la génération du flux de travail FASTQ par le MiSeq Reporter (document n° 15042322).

Rétrocompatibilité avec les paramètres précédents

Le programme d'installation d'AlloSeq Assign v1.0.5 comprend les fichiers de paramétrage Tx17.1 v1.0.2, Tx17.1 v1.0.3 et 1.0.4 pour permettre aux utilisateurs d'ouvrir des projets enregistrés avec des paramètres d'AlloSeq Assign antérieurs. En raison des différences de traitement des insertions/délétions par l'algorithme selon les versions, lors de la réouverture d'un projet précédemment analysé avec d'anciens paramètres d'AlloSeq Assign, il est possible que certaines insertions soient considérées comme des mésappariements. Pour rectifier ce problème, cliquez avec le bouton droit sur le locus concerné et sélectionnez Reanalyse (Réanalyser).

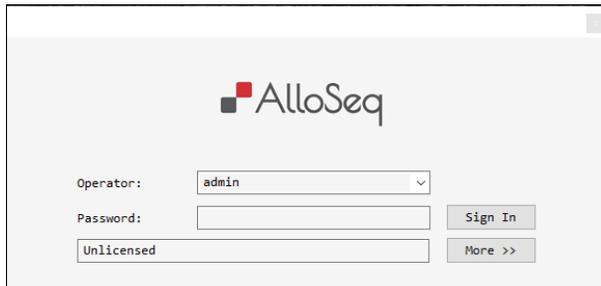
Si un utilisateur sélectionne les paramètres Tx17.1 v1.0.1 ou importe un projet précédemment analysé avec les paramètres Tx17.1 v1.0.1 dans AlloSeq Assign v1.0.5 et qu'il sélectionne « Default » (Par défaut) dans la liste déroulante, les couches non codantes seront affichées pour tous les loci.

Chapitre 3 : Installation

CareDx recommande l'accès de l'administrateur à l'ordinateur avant d'installer Assign. Assurez-vous que l'ordinateur est connecté à Internet pour faciliter les mises à jour du système avec les nouvelles collections et d'autres fichiers en cas de besoin.

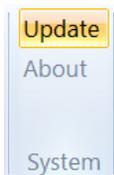
1. Double-cliquez sur le fichier d'installation (*.msi) et suivez les instructions pour installer le logiciel.
2. Consultez le contrat de licence.
3. Si vous acceptez les conditions du contrat de licence, cliquez sur **Next** (Suivant) pour continuer.
4. Sélectionnez l'emplacement du dossier d'installation. CareDx vous recommande d'accepter l'emplacement par défaut. Cliquez sur **Next** (Suivant).
5. Sélectionnez les options de raccourci, puis cliquez sur **Next** (Suivant).
6. Cliquez sur **Install** (Installer) pour lancer l'installation.
7. Lorsque l'installation est terminée, cliquez sur **Finish** (Terminer).

Chapitre 4 : Pour démarrer



1. Double-cliquez sur l'icône Assign sur le bureau ou à l'emplacement de l'installation.
2. Dans la boîte de dialogue de connexion de l'opérateur (Login), sélectionnez l'opérateur dans la liste déroulante. L'opérateur par défaut est **admin**.
3. Saisissez le mot de passe. Le mot de passe par défaut de l'opérateur administrateur est **cg01**.
4. Cliquez sur **Sign In** (Connexion) pour démarrer le logiciel.

Ajout d'une licence



1. Dans le groupe System (Système), cliquez sur **Update** (Mettre à jour).
2. Naviguez jusqu'au fichier de licence d'Assign obtenu auprès de CareDx, puis cliquez sur **Open** (Ouvrir).
3. Cliquez sur **Done** (Terminé), puis redémarrez le logiciel.
4. Les licences peuvent également être enregistrées dans le dossier d'installation du logiciel.

REMARQUE : Les clés de licence sont fournies avec un délai fixe (par exemple, 6 mois).

Pour obtenir une nouvelle clé de licence, veuillez contacter le support technique de CareDx.

Ajout d'opérateurs

1. Cliquez sur **More** (Plus) pour développer la boîte de dialogue de connexion de l'opérateur (Login) et accéder à la section Edit Users (Modifier les utilisateurs).
2. Dans le champ **Edit Operator** (Modifier l'opérateur), entrez le nouveau nom d'un opérateur.
3. Saisissez un mot de passe pour ce nouvel opérateur et retapez le même mot de passe pour vérification.
4. Depuis la liste déroulante **Default Settings** (Paramètres par défaut), sélectionnez le fichier de paramètres approprié pour le test utilisé.
5. Sélectionnez ce paramètre pour tous les opérateurs qui analyseront des données AlloSeq Tx. Les opérateurs disposant de privilèges suffisants peuvent modifier les paramètres directement dans Assign.
6. Dans la liste déroulante **Operator Level** (Niveau de l'opérateur), choisissez parmi les options énumérées dans le tableau ci-dessous.
7. Cliquez sur **Add/Update** (Ajouter/Mettre à jour).

Operator Level Permissions (Autorisations des opérateurs par niveau) :

	<i>Premier réviseur (uniquement pour la révision)</i>	<i>Premier réviseur (avec accès aux paramètres)</i>	<i>Réviseur final aux (avec accès total)</i>
Possibilité de modification des paramètres	Non	Oui	Oui
Possibilité de modification des séquences non encore approuvées par un réviseur final	Oui	Oui	Oui
Possibilité de signer la case de révision finale	Non	Non	Oui

Mise à jour de références

Des références mises à jour sont fournies par CareDx deux fois par an et peuvent être téléchargées sur le site Web de CareDx. Les utilisateurs doivent procéder à la mise à jour selon la fréquence déterminée par leurs exigences réglementaires locales. Pour une mise à jour :

- 1 Sauvegardez les fichiers et dézippez-les sur le bureau ou à un emplacement sur le réseau.
- 2 Après vous être connecté et avoir ajouté des opérateurs, sélectionnez **Update** (Mettre à jour) dans le menu **System** (Système) sur le ruban.
- 3 Cliquez sur **References** (Références) et **CWD**.
- 4 Sélectionnez tous les fichiers de référence et cliquez sur **Open** (Ouvrir).
- 5 Sélectionnez tous les fichiers **CWD** et cliquez sur **Open** (Ouvrir).
- 6 Après avoir importé les nouvelles références et **CWD**, fermez le logiciel et relancez-le, sélectionnez le nouveau fichier **CWD** dans la liste déroulante et cliquez sur **Update** (Mettre à jour).
- 7 Les nouvelles références et les fichiers **CWD** seront alors appliqués.

Mise à jour des codes NMDP [Facultatif]

Les codes NMDP compatibles avec Assign peuvent être téléchargés à partir de <https://hml.nmdp.org/mac/files/numer.v3.zip>.

Pour une mise à jour :

- 1 Enregistrez les fichiers et dézippez le fichier sur le bureau ou à un emplacement sur le réseau.
- 2 Cliquez avec le bouton droit de la souris sur le fichier et sélectionnez **Rename** (Renommer).
- 3 Supprimez le **.v3** du nom de fichier et enregistrez le fichier.
- 4 Connectez-vous à Assign et sélectionnez **Update** (Mettre à jour) dans le menu **System** (Système) du ruban.
- 5 Cliquez sur **NMDP Codes** (Codes NMDP).
- 6 Sélectionnez le fichier et cliquez sur **Open** (Ouvrir).

Import et analyse de séquences

L'importation de séquences peut prendre de quelques minutes à quelques heures selon le nombre de fichiers importés et les performances de votre système informatique. Pendant l'importation, Assign est indisponible et la barre de titre de l'application indique que le logiciel ne répond pas. Le logiciel répond une fois l'importation et l'analyse terminées. La première importation prend un peu plus de temps à analyser après l'installation initiale et après une mise à jour de référence, en raison de la mise à jour simultanée des fichiers système.

L'analyse commence automatiquement une fois les séquences importées dans Assign. L'analyse comprend l'alignement des lectures, l'appel de la base du consensus, le phasage et une comparaison de la séquence de consensus avec la collection de référence.

Importation d'erreurs

Les noms de fichiers types FASTQ ont généralement le format suivant :

samplename-HLA-date_S1.FASTQ.gz (noméchantillon-HLA-date_S1.FASTQ.gz)

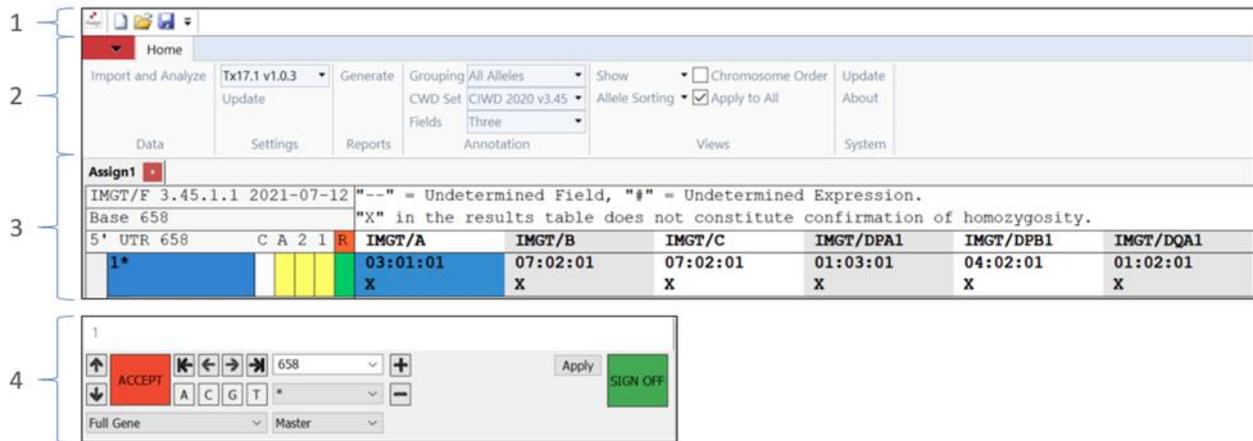
(Par ex., 00001234-HLA-04262016_S5_L001_R1_001.fastq.gz, 00001234-HLA-04262016_S5_L001_R2_001.fastq.gz)

La portion « -HLA- » du nom de l'échantillon est essentielle pour l'identification et l'analyse dans Assign.

Une fois l'analyse des séquences importées terminée, l'un des avertissements suivants peut apparaître pour indiquer que les fichiers n'ont pas été importés avec succès :

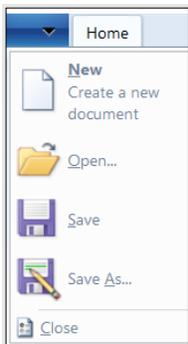
- Pas d'identificateur/de délimiteur d'échantillon.
- Il n'y a pas de tirets (-) dans le nom du fichier comme prévu.
- Il n'y a pas de caractères appropriés avant le premier tiret pour nommer l'échantillon.
- Aucun identifiant/délimiteur cible (c.-à-d. HLA manquant)
- Impossible de combiner un ou plusieurs fichiers finaux appariés.
- Une seule lecture a été importée pour un ou plusieurs échantillons.

Chapitre 5 : Navigation dans l'interface



- 1 **File menu** (Menu Fichier) — vous permet de créer de nouvelles séquences, de les ouvrir et de les enregistrer dans Assign.
- 2 **Home tab** (Onglet Accueil) — permet d'accéder à la modification des paramètres et des vues.
- 3 **Sample panel** (Panel d'échantillons) — liste les échantillons d'un projet et suit les commentaires des réviseurs et la filière de l'analyse en laboratoire. Pour plus de détails, consultez *Sample Panel* (Panel d'échantillons).
- 4 **Navigator** (Navigateur) — aide à la navigation vers les positions de base qui vous intéressent. Pour plus de détails, consultez *Navigator* (Navigateur).

Menu Fichier



Le menu Fichier est situé à gauche de l'onglet Home (Accueil). Cliquez sur la flèche vers le bas pour ouvrir le menu File (Fichier). Utilisez le menu File (Fichier) pour créer de nouveaux projets, les ouvrir et les enregistrer.

Cliquez sur **Save** (Enregistrer) ou **Save As** (Enregistrer sous) pour enregistrer des lectures alignées, la séquence du consensus de l'échantillon et des modifications apportées par l'utilisateur.

Il est recommandé d'enregistrer régulièrement les projets, comme meilleure pratique.

Onglet Home (Accueil)

L'onglet Home (Accueil) est divisé en plusieurs groupes : Data, Settings, Reports, Annotation, Views and System (Données, Paramètres, Rapports, Annotation, Vues et Système)



Data (Données)

Le groupe Data (Données) vous permet d'importer et d'analyser des données de séquences.

- 1 Cliquez sur un onglet de document ouvert pour choisir la destination de l'importation. Pour créer un document, cliquez sur le bouton File (Fichier) et sélectionnez **New** (Nouveau) ou appuyez sur **Ctrl + N**. Dans le groupe Data (Données), cliquez sur **Import and Analyse** (Importer et analyser).
- 2 Accédez au dossier contenant les fichiers FASTQ.
- 3 Utilisez la touche Ctrl pour sélectionner des fichiers individuels ou la touche Maj pour sélectionner un groupe de fichiers que vous souhaitez importer et analyser. Utilisez Ctrl + A pour sélectionner tous les fichiers d'un dossier. La boîte de recherche située en haut à droite de la boîte de dialogue d'importation peut également être utilisée pour trouver un échantillon ou un locus particulier à analyser.
- 4 Cliquez sur **Open** (Ouvrir) pour commencer l'importation et l'analyse.

REMARQUE : Chaque échantillon génère un fichier FASTQ pour Read 1 et Read 2 (Lecture 1 et Lecture 2). Assurez-vous que vous sélectionniez les deux fichiers FASTQ.

Pour une analyse optimale, les fichiers FASTQ de Read 1 et Read 2 (Lecture 1 et Lecture 2) sont importés et analysés simultanément.

Paramètres

Settings (Paramètres) permet de sélectionner des fichiers contenant différents paramètres d'analyse et de rapport. Ce menu peut ne pas contenir d'options de changement. En cliquant sur **Update** (Mettre à jour), les options d'affichage actuelles seront sauvegardées par défaut, y compris le volet actuel, le nombre de champs et l'ensemble CWD.

REMARQUE : Lorsque des fichiers de paramètres des versions antérieures à la v. 1.0.3 sont utilisés avec la v. 1.0.3 et des versions ultérieures, les échantillons feront l'objet d'une analyse comparative avec les gènes capturés par le dosage AlloSeq Tx.

Rapports

Le groupe Reports (Rapports) vous permet de générer un rapport :

- Données de génotypage et de séquence au format FASTA
- Les formats de fichier des rapports de génotypage sont texte, Excel ou XML.
- Rapport sur l'analyse des fragments.
- Rapport HML.

Pour plus de détails, consultez *Generating Reports* (Production de rapports).

Annotation

Le groupe Annotation vous permet de visualiser et de signaler les correspondances de génotype comme :

- **G Groups** (Groupes G) — regroupe la liste du panel des résultats en groupes G.
- **P Groups** (Groupes P) — regroupe la liste du panel des résultats en groupes P.
- **All Alleles** (Tous les allèles) — affiche tous les appariements d'allèles dans Results panel (Panel des résultats).

Le **CWD Set** (Ensemble CWD) montre les allèles communs, intermédiaires et bien documentés (CIWD) en gras dans le panel Résultats (Résultats). Les fichiers CIWD sont générés à partir d'une association de la version 3.0.0 du catalogue CIWD¹ de la version 2.0.0 du catalogue CWD² et sont modifiables pour refléter les allèles CIWD dans votre population. Les fichiers CIWD sont mis à jour tous les six mois avec la publication de la version de référence IMGT pour inclure tout allèle mis à jour entraînant une scission d'allèle. Les fichiers CIWD peuvent être modifiés en ouvrant les fichiers inclus avec chaque version de référence grâce à un éditeur de texte tel que Notepad. Le fichier cat 1 contient les allèles communs et intermédiaires, le fichier cat 1–2 contient les allèles communs, intermédiaires et bien documentés.

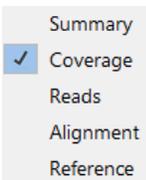
¹ Hurley, CK, Kempenich, J, Wadsworth, K, et coll. Common, intermediate and well-documented HLA alleles in world populations: CIWD version 3.0.0. HLA. 2020; 95: 516– 531. <https://doi.org/10.1111/tan.13811>

² Mack et coll. Allèles HLA communs et bien documentés : Mise à jour 2012 du catalogue CWD *Tissue Antigens*, 81:194–203, 20 mars 2013.

Important : Comme les fichiers CIWD peuvent être modifiés par l'utilisateur pour inclure les allèles spécifiques de la population, CareDx n'endosse aucune responsabilité à l'égard de ces fichiers CIWD une fois téléchargés depuis le site Web de CareDx. Le menu déroulant **Fields** (Champs) permet de limiter l'affichage des allèles dans la liste des résultats au nombre de champs spécifié. Si vous sélectionnez Maximum, la séquence utilisée pour la saisie est automatiquement étendue à la couverture maximale pour tous les loci. Lorsque le nombre de champs est réduit, les allèles peuvent apparaître plusieurs fois dans le tableau des résultats. Des paires d'allèles identiques peuvent se produire parce qu'il y a des différences de 3e ou 4e champ avec des différences de mésappariement qui en résultent. Si vous sélectionnez Default (Par défaut) et que Apply to all (Appliquer pour tout) est coché, les loci de classe I seront affichés sur 4 champs, ceux de classe II sur 3 champs et les MIC sur 2 champs.

Vues

Le groupe Views (Vues) vous permet de naviguer entre les panels pour visualiser les données de séquences de différentes manières. Utilisez la liste déroulante Show (Afficher) pour choisir la vue **Summary** (Synthèse), **Coverage** (Couverture), **Reads** (Lectures), **Alignment**, (Alignement) ou **Reference** (Référence).



Summary (Synthèse) — comprend 4 panels :

- Typing Summary panel (Panel de synthèse du typage) — indique les types attribués.
- Motifs
- Quality Summary panel (Panel de synthèse de la qualité) — indique le pourcentage d'appels de base avec qualité $\geq Q30$.
- Coverage Summary panel (Panel de synthèse de la couverture) — indique la profondeur moyenne de la couverture du séquençage.

Coverage (Couverture) — indique la couverture moyenne et la composition de l'appel de base dans l'amplicon.

Reads (Lectures) — indique les lectures utilisées dans les appels de base.

Alignment (Alignement) — comparaison de la séquence consensuelle de l'échantillon et des listes de paires d'allèles dans le panel des résultats.

Reference (Référence) — comparaison de la séquence de consensus de l'échantillon et des séquences de référence pour un locus.

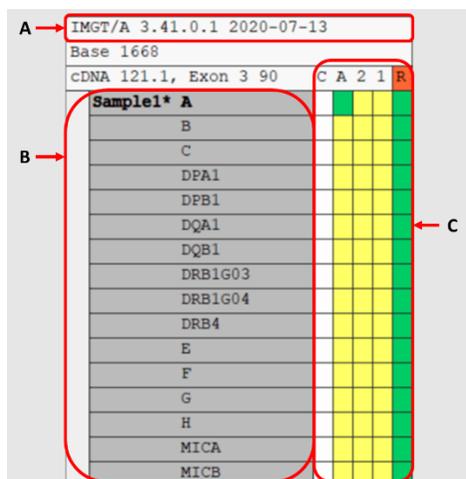
La liste déroulante Allele Sorting (Tri des allèles) vous permet de trier le Results panel (Panel des résultats) par allèles ayant la plus grande couverture de séquences de référence (les allèles qui ont un séquençage complet de gènes sont classés en priorité par rapport aux allèles qui n'ont que des exons complets ou limités), ou par le nombre de mésappariements.

Systeme

Le groupe System (Système) vous permet de mettre à jour et de consulter les informations dans le logiciel Assign. Cliquez sur **Update** (Mettre à jour) pour ouvrir une boîte de dialogue qui vous permet d'importer des clés, des références, des codes NMDP et des fichiers CWD. Cliquez sur **About** (À propos) pour ouvrir une boîte de dialogue qui fournit la version du logiciel et les informations sur la licence.

Panel d'échantillons

Le panel d'échantillons montre les noms des échantillons, les loci séquencés pour chaque échantillon, la publication de référence IMGT/HLA et le statut de la révision pour chaque locus.



	C	A	2	1	R
Sample1* A					
B					
C					
DPA1					
DPB1					
DQA1					
DQB1					
DRB1G03					
DRB1G04					
DRB4					
E					
F					
G					
H					
MICA					
MICB					

A Version de référence et de la base de données IMGT/HLA

B ID et loci des échantillons

C Révision de la hiérarchie, activation des rapports et commentaires spécifiques au locus

Références Assign

La première ligne du panel d'échantillons montre la base de données de référence utilisée pour l'affectation de la nomenclature des allèles à la séquence d'échantillons. Pour plus d'informations, consultez *Bases de données de référence*. Pour plus d'informations sur la deuxième ligne, consultez *Coordonnées*. Les exemples suivants indiquent des informations spécifiques sur les bases de données :

Référence IMGT/HLA

IMGT/A 3.35.0.0 2019-01-23

- **IMGT** – Base de données de référence.
- **A** – Nom du gène.
- **3.35.0.0** – Les 3 premiers champs indiquent la version de la base de données IMGT/HLA ; le quatrième champ indique la version de la base de données Assign.
- **2019-01-23** – Date de la publication de l'IMGT/HLA.

Échantillons et Loci

Cliquez sur un locus pour afficher les informations relatives au locus sélectionné dans les panels Sequences et Results (Séquences et Résultats).

Hiérarchie de la révision

La section pour la hiérarchie des révisions du panel d'échantillons comprend cinq colonnes, qui permettent de choisir plusieurs niveaux de révision et de commentaires pour chaque échantillon et chaque locus répertorié. Les colonnes sont intitulées C, A, 1, 2 et R. Chaque niveau de révision fait l'objet d'un suivi et d'un audit.

- **Column C** (Colonne C) — par défaut, la case de la colonne C est blanche. Cliquez sur le locus avec le bouton droit de la souris pour ajouter un commentaire lié à révision. Lorsqu'il y a des commentaires, la case passe au bleu clair. Les commentaires ajoutés dans la colonne C sont inclus dans le rapport complet de génotypage.
- **Column A** (Colonne A) — la case de la colonne A est jaune par défaut. Lorsque l'échantillon est vérifié à toutes les positions indiquées dans le Navigateur, la case de la colonne A passe automatiquement au vert.

- **Column 2** (Colonne 2) — la case de la colonne 2 est jaune par défaut. Lorsque le deuxième examen est terminé, cliquez sur la case jaune pour la faire passer au vert, ce qui indique que la deuxième révision est terminée et verrouille l'échantillon. Aucune autre modification n'est possible, sauf si la case est effacée manuellement.
- **Column 1** (Colonne 1) — la case de la colonne 2 est jaune par défaut. Une fois la première révision terminée, cliquez sur la case jaune ou sur le bouton Sign Off (Donner son approbation) du navigateur. La case passe au vert, ce qui indique que la première révision est terminée.
- **Column R** (Colonne R) — la case verte de la colonne R-A indique que le locus est inclus dans les rapports générés. Cliquez sur la case pour qu'elle passe au rouge afin d'éviter de signaler le locus.

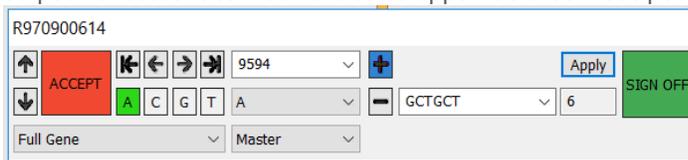
Options du panel d'échantillons

Des options supplémentaires sont disponibles pour tout locus énuméré dans le panel d'échantillons. Pour afficher les options, cliquez avec le bouton droit de la souris sur le nom d'un locus. Les options suivantes sont disponibles :

- **Show Comments** (Afficher les commentaires) — affiche tout avertissement ou commentaire sur la qualité concernant un locus échantillon.
- **Edit Comments** (Modifier les commentaires) — ouvre un champ pour ajouter ou modifier des commentaires sur l'échantillon sélectionné. Ces commentaires figurent sur le rapport. Une case bleu clair dans la colonne C indique qu'un commentaire est présent.
- **Reanalyse** (Réanalyse) — supprime toutes les modifications et tous les réglages effectués sur le locus sélectionné.
- **Remove** (Supprimer) — supprime le locus sélectionné du projet.

Navigateur

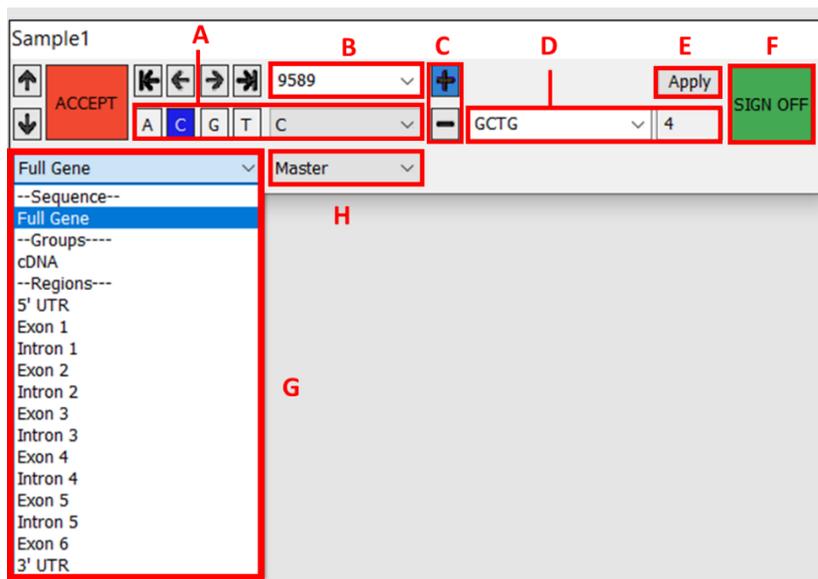
Utilisez le Navigateur pour vous rendre à une position de base qui vous intéresse, pour confirmer des appels de base ou pour effectuer des modifications d'appels de base. Vous pouvez faire glisser le Navigateur n'importe où sur l'écran.



Navigation de base

Icône de navigation	Description
	Cliquez sur les flèches haut et bas pour naviguer entre les loci dans le panel d'échantillons.
	Cliquez sur Accept (Accepter) pour confirmer un appel de base à une position spécifique. Cliquez sur Reject (Rejeter) pour modifier un appel de base précédemment accepté.
	Utilisez les flèches précédente et suivante pour naviguer entre les positions à auditer.
	Utilisez les premières et dernières flèches pour naviguer vers les premières et dernières positions de base.
	Cliquez sur Sign Off (Donner son approbation) pour confirmer que la révision est terminée. S'il n'y a plus de positions à réviser, ce bouton apparaît. Une fois que Sign Off est sélectionné par le premier réviseur, la 1 ^{re} colonne de révision dans la hiérarchie de la révision devient automatiquement verte et le logiciel passe automatiquement au gène suivant du projet.
	Cliquez sur Apply (Appliquer) pour accéder à une position ou à un intérêt.

Navigation avancée



- A Sélection de base
- B Position active des nucléotides et/ou Liste des mésappariements
- C Sélection d'insertion et de suppression
- D Détails de l'insertion
- E Appliquer l'insertion
- F Approbation
- G Changement de champ de la position des nucléotides
- H Sélection de la couche

Sélection de base

La base surlignée indique l'appel de base à la position actuelle. Plusieurs bases surlignées indiquent que plus d'une base a été positivement identifiée à la position actuelle. Un  surligné indique une insertion. Un  surligné indique une suppression.

1. L'édition des appels de base est effectuée en ajoutant ou en supprimant une base à la position active qui est en phase avec l'appel de base du consensus jugé par l'opérateur. Pour cela, il suffit de cliquer sur **A**, **C**, **G** ou **T**, + ou - ou de sélectionner dans la liste déroulante de sélection de la base.
2. Cliquez sur **Accept** (Accepter) pour accepter la base sélectionnée et passer à la position suivante de faible confiance. Consultez *Confidence Indicators (Indicateurs de confiance)* pour les critères des positions de faible confiance.
3. Pour modifier un appel de base précédemment accepté, cliquez sur **Reject** (Rejeter) pour permettre la modification.

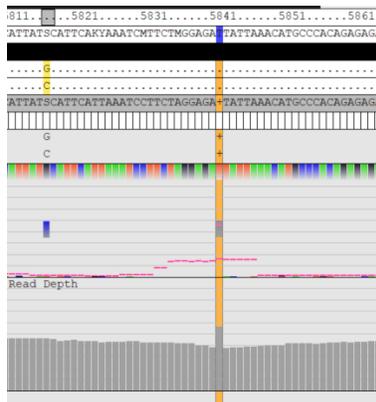
Liste de mésappariements

La liste Mismatch (Mésappariements) indique la position sélectionnée. Sélectionnez la flèche vers le bas pour afficher toutes les positions de mésappariements pour la paire d'allèles sélectionnée dans les colonnes actives de mésappariements. Pour déplacer le curseur sur une position sélectionnée, saisissez un nombre dans le champ de la position des nucléotides et cliquez sur **Apply** (Appliquer) ou sélectionnez une option dans la liste pour vous déplacer sur cette position.

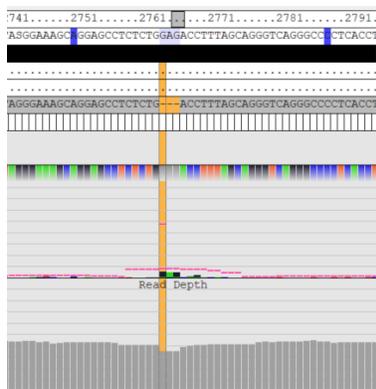
Détails sur Ins/Suppr

Lorsqu'une insertion ou une suppression est présente, la case appropriée + (insertion) ou - (suppression) est surlignée en bleu. La longueur de l'insertion et les bases incluses dans cette insertion sont indiquées à côté des symboles. Les bases insérées peuvent être éditées dans la boîte et sauvegardées en cliquant sur **Apply** (Appliquer) dans le navigateur.

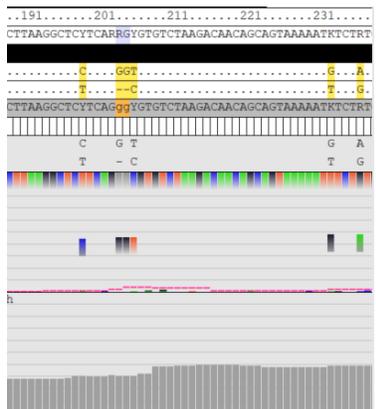
Les insertions et les suppressions sont représentées dans la séquence de consensus de la manière suivante :



Une insertion est représentée par un + dans la séquence Sample Consensus (Séquence du consensus de l'échantillon). La (les) base(s) insérée(s) tombe(nt) directement avant le +. Dans le Navigateur, la séquence insérée peut être visualisée dans la zone de texte. Lorsque les deux allèles comportent une insertion au même emplacement, utilisez le menu déroulant pour consulter la séquence insérée des deux allèles.



Une suppression homozygote est représentée par un – dans la séquence Séquence du consensus de l'échantillon. Le – indique qu'un allèle homozygote est supprimé ou que les deux allèles dans un échantillon hétérozygote sont supprimés. Lorsqu'une délétion est présente dans les deux allèles, elle ne s'affiche pas dans la couche de phase.



Une suppression hétérozygote est représentée par des lettres minuscules dans la séquence du consensus de l'échantillon, indiquant qu'un allèle est supprimé et qu'un autre ne l'est pas. Seul le premier emplacement de la délétion apparaît dans la couche de phase. Les délétions comptent comme un seul mésappariement dans la couche d'analyse.

Position des nucléotides par régions ou par groupes

- La numérotation par défaut commence à la première base du gène. Utilisez la liste déroulante pour visualiser le système de numérotation en fonction de la région ou du groupe.
- **Full Gene** (Gène complet) — position dans la séquence du gène basée sur la séquence du consensus du locus.
- **Regions** (Régions) — pour une position d'intérêt particulier, choisissez la région du gène, saisissez la position relative dans la liste des mésappariements, puis cliquez sur **Apply** (Appliquer). Utilisez cette fonction pour une navigation rapide.
- **Groups** (Groupes) — les groupes définissent une chaîne de régions. L'ADNc est un groupe d'exons.

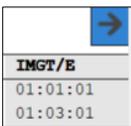
Vues

Cliquer sur **Show** (Afficher) vous permet de choisir entre les volets Summary, Coverage, Reads, Alignment et Reference (Synthèse, Couverture, Lectures, Alignement et Référence).

Synthèse

Les panels de synthèse suivants sont disponibles dans la vue Summary (Synthèse). Chacun d'eux est accessible sous forme de fenêtre unique, la fenêtre par défaut étant la synthèse du typage.

- Panel de synthèse du typage
- Motifs de séquences
- Panel de synthèse de la qualité
- Panel de synthèse de la couverture



Pour passer d'un panel de synthèse à l'autre, survolez la case bleue dans le coin supérieur droit d'une Vue de synthèse et cliquez sur la flèche bleue qui apparaît. Cette flèche est présente dans tous les panels de synthèse.



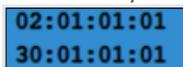
Lorsqu'il y a plus de loci que ce qui peut être affiché à l'écran, ceux-ci peuvent être visualisés sur la deuxième page du Panel de synthèse en cliquant sur la flèche bleue en bas à droite de l'écran. Cliquez sur la flèche bleue en bas à gauche pour revenir au panel de synthèse principal.

REMARQUE : Cliquez sur Chromosome order (Ordre des chromosomes) pour modifier l'ordre des loci entre alphanumérique et chromosomique. La modification de l'ordre des loci dans la vue Summary (Synthèse) modifie également l'ordre des loci dans le rapport Summary (Synthèse). Pour conserver ce paramètre, cliquez sur **Update** (Mettre à jour) dans la section Settings (Paramètres) de l'onglet Home (Accueil).

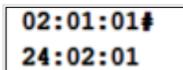
Panel de synthèse du typage

Le Typing Summary panel (Panel de synthèse du typage) montre les échantillons et les allèles les mieux appariés qui sont attribués à chaque locus pour chaque échantillon.

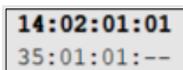
Le Panel de synthèse de typage utilise les marqueurs suivants :



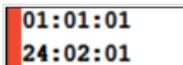
Active sample (Échantillon actif) — un surlignage bleu indique l'échantillon actif. Cliquez sur la zone en surbrillance pour ouvrir l'échantillon et le locus dans la vue de la couverture pour une enquête plus approfondie. Les champs remplis indiquent un résultat de typage sans ambiguïté.



Ambiguous expression (Expression ambiguë) — le symbole # indique une expression ambiguë dans le typage d'un allèle.



Ambiguous fields (Champs ambigus) — un double tiret (--) indique un champ ambigu dans le résultat de typage. Par exemple, --:01 indique une ambiguïté dans le premier champ, 01:-- indique une ambiguïté dans le deuxième champ, et 01:01:-- indique une ambiguïté dans le troisième champ.



Confidence warning, red (Avertissement de confiance, rouge) — une boîte rouge immédiatement à gauche d'une paire d'allèles indique un locus qui pourrait justifier une enquête plus approfondie. Cet avertissement peut indiquer une qualité de lecture insuffisante, ou une profondeur moyenne de couverture inférieure à 100.

07:02:01
07:02:01

Homozygous calls duplicated, yellow (Appels homozygotes dupliqués, jaune) — une case jaune immédiatement à gauche d'une paire d'allèles indique que la case des appels homozygotes dupliqués dans la boîte de dialogue des rapports a été cochée, et que l'échantillon est homozygote au niveau des loci en question. Si la case des appels homozygotes en double n'est pas cochée, le deuxième allèle sera affiché sous la forme d'un X, comme décrit ci-dessous. Pour plus de détails, consultez la section des rapports ci-dessous.

07:02:01
X

X shown for second allele (X indiqué pour le deuxième allèle) — un X indiqué pour le deuxième allèle indique qu'aucune position hétérozygote n'a été détectée dans la séquence analysée. La présence d'un X dans l'écran récapitulatif ne constitue pas une confirmation d'homozygotie.

15:03:01
15:16:01

Bold text (Texte en gras) — indique un allèle CIWD.

Low
Coverage

Low Coverage (Faible couverture) indique un échantillon associé à un nombre trop faible de lectures pour l'aligner aux références. Cet avertissement s'affiche généralement avec des témoins négatifs ou des échantillons qui ne correspondent pas aux critères de qualité.

34:02:01G
68:02:01G

G-only (G uniquement) affiche tous les allèles de tous les loci pour lesquels IMGT a fourni un regroupement pour les groupes G.

34:02P
68:02P

P-only (P uniquement) affiche tous les allèles de tous les loci pour lesquels IMGT a fourni un regroupement pour les groupes P.

Motifs de séquences

L'onglet Sequence motifs (Motifs de séquence) dans l'affichage sommaire indique la présence de motifs définis dans les fichiers de référence. Les motifs indiqués sur cet onglet comprennent la présence des motifs Bw4/Bw6 dans HLA-A, -B et -C, le génotype de DPB1 SNP position rs9277534 qui code les variantes d'expression et d'autres positions SNP déterminées comme importantes. Une liste complète des motifs inclus dans les références se trouve dans les notes de publication des références.

Sequence Motifs.									
IMGT/A	IMGT/B	IMGT/C	IMGT/DPA1	IMGT/DPB1	IMGT/DQA1	IMGT/DQB1	IMGT/DRB1	IMGT/DRB3	IMGT/DRB4
	Bw6	Bw6		rs9277534:AA					
Bw4	Bw4	Bw6		rs9277534:GG					
Bw4	Bw6	Bw6		rs9277534:AA					

Panel de synthèse de la qualité

Un score de la qualité, ou Q-score, est la probabilité d'un appel de base incorrect. Lors du séquençage d'Illumina, chaque base dans une lecture se voit attribuer un Q-score. Un Q-score plus élevé indique une probabilité d'erreur plus faible. Par exemple, Q30 représente 1 chance sur 1 000 d'avoir un appel incorrect avec une précision d'appel correspondante de 99,9 %. Le Quality Summary panel (Panneau de synthèse de la qualité) indique le pourcentage d'appels de base ayant un score de Q30 ou supérieur pour chaque locus. Un avertissement de confiance apparaît pour les loci lorsque le pourcentage d'appels de base avec un score Q30 est de 75 % ou inférieur.

Percent base calls with Q30 or better.									
IMGT/A	IMGT/B	IMGT/C	IMGT/DPA1	IMGT/DPB1	IMGT/DQA1	IMGT/DQB1	IMGT/DRB1	IMGT/DRB3	IMGT/DRB4
97%	96%	97%	97%	97%	97%	96%	97%	97%	

Panel de synthèse de la couverture

Le panel Coverage Summary (Synthèse de la couverture) montre la profondeur moyenne de la couverture du séquençage pour chaque locus du projet. La profondeur de couverture du séquençage est le nombre moyen de bases à chaque position séquencée dans les données de séquence. Des avertissements sont présents lorsque les loci ne répondent pas aux spécifications d'une couverture moyenne de 100 fois. Si les 2 allèles d'un locus sont répartis entre 2 groupes (par exemple, DRB1*01 et DRB1*03), un avertissement apparaît lorsque le groupe ne répond pas aux spécifications d'une couverture moyenne de 50 fois.

Average sample coverage.									
IMGT/A	IMGT/B	IMGT/C	IMGT/DPA1	IMGT/DPB1	IMGT/DQA1	IMGT/DQB1	IMGT/DRB1	IMGT/DRB3	IMGT/DRB4
224	231	221	201	171	214	202	196	201	



Échantillon avec des avertissements de couverture affichés en rouge

Synthèse des gènes

Passez le curseur de la souris sur le typage d'un allèle pour voir les informations récapitulatives suivantes.

```
04:01:01
07:01:01
Min Depth : 24
Mean Depth : 100
Percent Q30: 94
```

Min Depth (Profondeur minimal) — couverture minimale des séquences dans les régions couvertes par le panel de l'enquête. Les avertissements indiqués par des barres rouges à côté du système métrique sont présents lorsque la profondeur minimale est inférieure au seuil fixé dans les références.

```
01:01:01
02:01:01
Min Depth : 4
Mean Depth : 72
Percent Q30: 96
```

Min Depth (Profondeur moyenne) — couverture moyenne des séquences dans les régions couvertes par le panel de l'enquête. Les avertissements indiqués par des barres rouges à côté de la métrique sont présents lorsque la profondeur moyenne est inférieure à 100 fois la couverture, ou 50 fois pour les allèles de loci fractionnés.

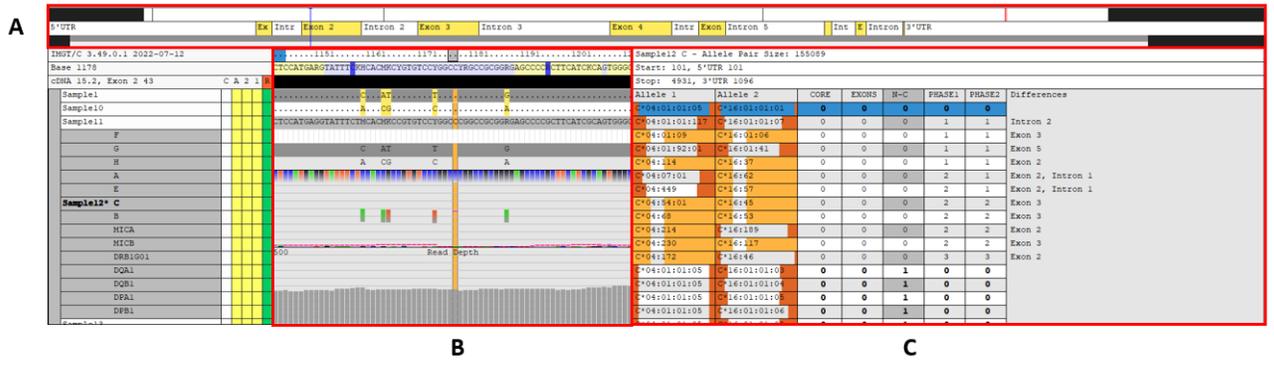
```
04:03:01
09:01:02
Min Depth : 40
Mean Depth : 178
Percent Q30: 93
```

Percent Q30 (Pourcentage Q30) — pourcentage des bases >Q30.

REMARQUE : Lorsque des allèles de plus d'un groupe sont présents, la synthèse montre les résultats pour le premier allèle listé.

Vue de la couverture

La Coverage view (Vue Couverture) comprend Confidence Plot (Tracé de confiance), Locus Structure (Structure du locus), Phase Block Display (Affichage des blocs de phase), Sequences panel (Panel de séquences) et Results panel (Panel des résultats). Pour voir la vue Couverture dans le groupe Vues, cliquez sur **Show** (Afficher), puis sur **Coverage** (Couverture).

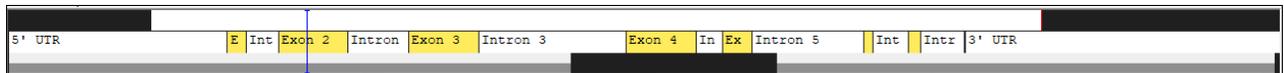


- A. Confidence Plot, Locus Structure, and Phase Block Display** (Tracé de confiance, Structure des locus et Affichage des blocs de phase) — montre une vue de la structure des locus de haut niveau, tels que les UTR, les introns et les exons. Indique la confiance et la position de l’appel de base, et indique les blocs de la séquence de phase.
- B. Sequences Panel** (Panel des séquences) — montre la séquence de référence du consensus, la séquence d’échantillons, les appels de base, la profondeur de la couverture au séquençage, la qualité des appels de base et les lectures de séquences alternatives.
- C. Results Panel** (Panel des résultats) — indique les combinaisons d’allèles qui correspondent le mieux à la séquence d’échantillons et montre les mésappariements entre la séquence des échantillons et la séquence de référence lorsqu’elle est présente.

Déplacez la case de défilement Coordinate (Coordonnées) dans le panneau des séquences afin de trouver les positions où la confiance de l’appel de base est faible. Utilisez le panel des résultats pour trouver les mésappariements avec les paires d’allèles.

Confidence Plot, Locus Structure, And Phase Block Display (Tracé de confiance, Structure du locus et Affichage des blocs de phase)

Trois lignes couvrent la largeur de l’écran en haut de la vue Coverage (Couverture).



En haut : **Confidence Plot (Tracé de confiance)**

Au milieu : **Locus Structure (Structure du locus)**

En bas : **Phase Block Display (Affichage des blocs de phase)**

Cliquez sur une ligne pour déplacer la ligne bleue qui indique la région sous View (Vue) dans le panel des séquences.

Confidence Plot (Tracé de confiance)

Le Tracé de confiance utilise des couleurs pour montrer les positions où la confiance des appels de base pourrait justifier une enquête plus approfondie.



Du noir indique l’absence de couverture. Les raisons courantes de l’absence de couverture sont les suivantes :

- La région est en dehors de la zone de couverture de l'enquête pour le locus analysé ;
- La séquence de référence contient une insertion ou une suppression qui est absente de l'échantillon.

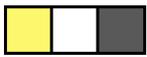
Des nuances croissantes de rouge indiquent l'une des conditions suivantes :

- La couverture des séquences $\geq Q30$ est inférieure au seuil de profondeur minimum pour le locus ;
- Le score moyen de la qualité des appels de base à cette position est faible ;
- Une base au-dessus du seuil de bruit ne fait pas l'objet d'un consensus ;
- Une base en dessous du seuil de bruit est demandée dans le consensus ;

Du blanc indique une couverture complète.

Locus Structure (Structure du locus)

La structure du locus utilise du jaune pour indiquer une séquence d'exon/de codage, et du blanc pour indiquer une séquence d'intron/de non-codage.



Yellow (Jaune) — les exons qui se trouvent dans la colonne active Mismatch (Mésappariements) du Results panel (Panel des résultats).

White (Blanc) — les régions de non-codage qui se trouvent dans la colonne active Mismatch (Mésappariements) du Results panel (Panel des résultats).

Grey (Gris) — les régions qui ne sont pas dans la colonne active Mismatch (Mésappariements) du Results panel (Panel des résultats). Cela se produit par exemple pour les exons non couverts par l'Analyse de la couche centrale lorsque seule la couche centrale est active.

Phase Block Display (Affichage des blocs de phase)

Dans l'affichage des blocs de phase, les régions sont soit en gris clair, soit en noir.



Light Grey (Gris clair) — régions où les bases sont regroupées par phase.

Black (Noir) — sections où la relation de phase entre les positions polymorphiques ne peut pas être établie.

Dans cet exemple, il y a 3 blocs de séquence de phase. La mise en phase peut ne pas être possible si les fragments séquencés sont plus petits que la distance entre les positions polymorphiques.

Panel des séquences

Le panel des séquences sur la vue Coverage (Couverture) est composé de la section Séquences et de la section des Appels de base.

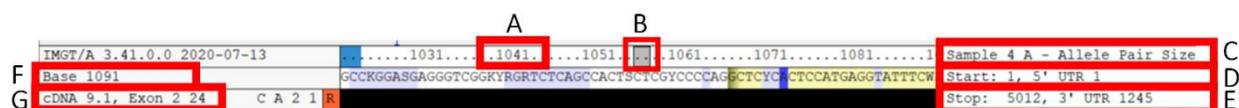
Section Séquences

La section Séquences du panel des Séquences comprend des informations provenant de comparaisons de séquences de référence à des séquences d'échantillons. Ces lignes sont mises à jour lorsque vous sélectionnez différentes paires d'allèles dans le panel des résultats.

IMGT/B 3.49.0.1 2022-07-12		1	1221.....1231.....1241.....1251.....1261.....1271.....1281.....1291.....
Base 1273			RTATTGGGACSGGRAACACRGAWSWNSAAGVSCMSRRCRCAGACTKACCGAGWGRRCCTGCGSAHCSYGCKCSGTACTA
cDNA 77.2, Exon 2 229	C A 2 1 R		
A		A.C.....T.....A.....CA.....AG.....A.....G.G.....
Sample17* B		G.G.....G.....G.....GG.....GA.....C.....T.C.....
C			STATTGGGACCGGRASACACAGATCTKCAAGRCCAASRCACAGACTGACCGAGAGRRCTGCGGAMCCTGCKCSGCTACTAC
DPAL			
DPB1			A C T A CA AG A G G
DQA1			G G G G GG GA C T C

- | | |
|---------------------------------------|--|
| 1 Coordonnées | 5 Séquence de référence de l'allèle 2 |
| 2 Séquence de consensus du locus | 6 Séquence du consensus des échantillons |
| 3 Indicateur d'édition des séquences | 7 Indicateur de confiance |
| 4 Séquence de référence de l'allèle 1 | 8 Calendrier de mise en œuvre |

1. Coordonnées



A Coordonnées des gènes

B Boîte de défilement des coordonnées — faites glisser la boîte grise pour parcourir les coordonnées

C Nom et locus de l'échantillon

D Position et emplacement de départ

E Position et emplacement de l'arrêt

F Coordonnées de base surlignées dans l'exon, l'intron ou l'UTR (extrait du panel Séquences)

G Coordonnée du codon associé à la base surlignée dans le gène (extrait du panel Séquences)

2. Séquence de consensus du locus

La Locus Consensus Sequence (Séquence de consensus du locus) représente un ensemble de variantes et de motifs communs. Les variantes rares ne sont pas incluses.

- Du jaune indique une séquence exonique/codée.
- Du blanc indique une séquence intronique/non codante.
- Du bleu clair indique les suppressions présentes dans certains allèles. Le nombre de bases surlignées indique l'importance de la suppression.
- Du bleu foncé indique les insertions présentes dans certains allèles. Les bases insérées tombent directement avant les bases surlignées.

Pour le HLA-DRB1, la séquence du consensus des échantillons est comparée à des séquences d'allèles qui ont été divisées en groupes ayant une structure de séquence intronique similaire. Par conséquent, la séquence du consensus représente le consensus du groupe d'allèles le mieux adapté. Les allèles HLA-DRB1 sont répartis en 4 groupes : DRB1G01, DRB1G03, DRB1G04, and DRB1G07.

3. Indicateur d'édition de séquences

La ligne du Sequence Edit Indicator (Indicateur d'édition de séquences) montre un code couleur pour l'état d'édition et l'état d'acceptation de chaque base dans la séquence. Le statut d'édition de base change lorsque vous éditez la séquence appelée à l'origine à l'aide du Navigateur.

Code de couleur	Statut des modifications	Statut d'acceptation
■ Noir (par défaut)	Non édité	Non accepté
■ Vert	Non édité	Accepté
■ Bleu	Édité	Non accepté
■ Bleu/Vert	Édité	Accepté

4. Séquence de référence de l'allèle 1

La séquence de référence de l'allèle 1 montre la référence IMGT/HLA pour un allèle de la paire d'allèles surlignée sélectionnée dans le panel des résultats. Allèle 1 La séquence de référence est indiquée en gris foncé.

- Une base est affichée sur cette ligne lorsque la séquence d'allèles diffère de la séquence de consensus d'échantillons pour l'échantillon, ou lorsque la position est hétérozygote.
- Les positions vides indiquent que la séquence de référence est manquante pour l'allèle sélectionné.
- Un point (.) indique que la séquence de l'allèle est identique à la séquence observée à la position sélectionnée.
- Un astérisque (*) indique une séquence sans information d'intron dans la collection de références.

5. Séquence de référence de l'allèle 2

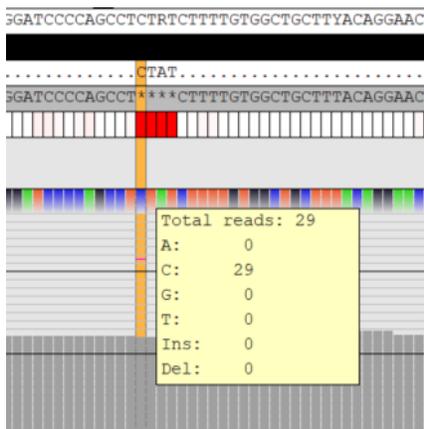
La séquence de référence de l'allèle 2 montre la référence IMGT/HLA pour un allèle de la paire d'allèles surlignée sélectionnée dans le panel des résultats. Allèle 2 La séquence de référence est indiquée en gris clair.

- Une base est affichée sur cette ligne lorsque la séquence d'allèles diffère de la séquence de consensus d'échantillons pour l'échantillon, ou lorsque la position est hétérozygote.
- Les positions vides indiquent que la séquence de référence est manquante pour l'allèle sélectionné.
- Un point (.) indique que la séquence de l'allèle est identique à la séquence observée à la position sélectionnée.
- Un astérisque (*) indique une séquence sans information d'intron dans la collection de références.

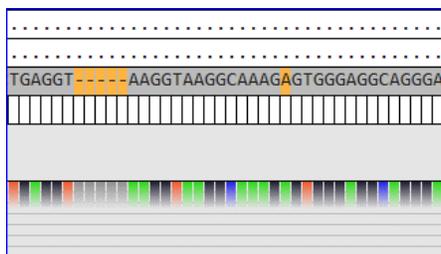
6. Séquence du consensus d'échantillons

La Sample Consensus Sequence (Séquence du consensus d'échantillons) montre la séquence de consensus de l'échantillon séquençé avec le panel de séquençage AlloSeq Tx.

Les positions qui sont en dessous du seuil de profondeur minimum seront exclues de la séquence du consensus de l'échantillon. Ceci est indiqué par un astérisque (*) comme le montre l'image ci-dessous. Pour la plupart des loci, le seuil de profondeur minimum est fixé à 30 lectures. Reportez-vous aux notes de publication de référence pour chaque publication de référence pour les seuils.



La couleur orange dans le consensus de l'échantillon indique un polymorphisme non inclus dans la séquence combinée pour ce gène.



7. Indicateur de confiance

L'indicateur de confiance est une représentation par base du tracé de confiance. La confiance d'un appel de base à toute position donnée peut varier en fonction de plusieurs facteurs, notamment l'équilibre des allèles, le seuil du bruit, la profondeur de la couverture et la qualité de la séquence. Du blanc dans l'indicateur de confiance indique un appel de base de confiance élevée. Un indicateur de confiance rouge indique les appels de base dans lesquels l'une des conditions suivantes s'est produite :

- 1 <75 % des lectures ont un score de qualité de Q30 ou plus ;
- 2 Une base au-dessus du seuil de bruit ne fait pas l'objet d'un consensus ;
- 3 Une base en dessous du seuil de bruit est demandée dans le consensus ;
- 4 Les positions sont modifiées.

8. Calendrier de mise en œuvre

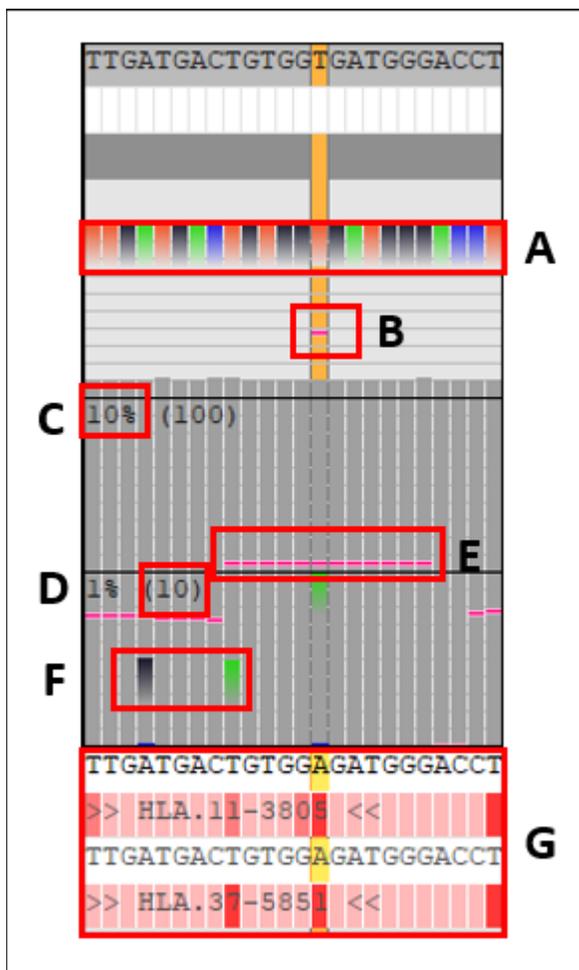
Pour les combinaisons d'allèles hétérozygotes, les lignes de la piste de phasage montrent la relation de phase entre les bases reliées par des lectures simples ou des lectures appariées. Une affectation de phase n'est effectuée que lorsque la plupart des séquences de phase sont concordantes. Le gris foncé indique la phase liée à l'allèle 1 et le gris clair celle liée à la phase 2.

Profondeur de séquence de la synthèse de couverture et Appel de base

La fenêtre centrale montre les informations sur la profondeur de couverture de la séquence (DoC) sous forme d'histogrammes. Cette fenêtre résume les séquences qui contribuent au consensus. Les barres grises indiquent la DoC à chaque position et le contenu de la séquence est indiqué par les blocs de couleurs. Les données peuvent être présentées sous forme linéaire ou logarithmique. L'emplacement des blocs de couleurs indique la contribution en pourcentage d'une base spécifique à la DoC.

CTRL + L permet de passer de la vue **logarithmic** (logarithmique) à la vue **linear** (linéaire).

Vue logarithmique



A La base primaire est appelée. Les couleurs suivantes indiquent l'appel de base le plus fréquent pour une position donnée.

A C G T

A — vert
C — bleu
G — noir
T — rouge

B Ratio d'allèles approximatif Lorsqu'un emplacement de base est surligné, la ligne rose supérieure indique le ratio moyen approximatif de la profondeur de lecture du deuxième allèle présent dans l'échantillon pour les loci hétérozygotes.

C Ratio d'appel de base Représenté à l'aide d'une échelle logarithmique, comme suit :

- La section la plus basse a un ratio entre 0 % et 1 %
- La section du milieu a un ratio entre 1 % et 10 %
- La section la plus élevée a un ratio entre 10 % et 100 %

D Profondeur de la couverture du séquençage Représenté avec des barres grises pour chaque base en utilisant l'échelle logarithmique entre parenthèses :

- La section la plus basse montre une profondeur de couverture comprise entre 0 et 10 fois ;
- La section du milieu montre une profondeur de couverture entre 10 et 100 fois ;
- La section la plus élevée montre une profondeur de couverture comprise entre 100 et 1 000 fois.

REMARQUE : Si la couverture est inférieure à 30, aucun appel n'est affiché.

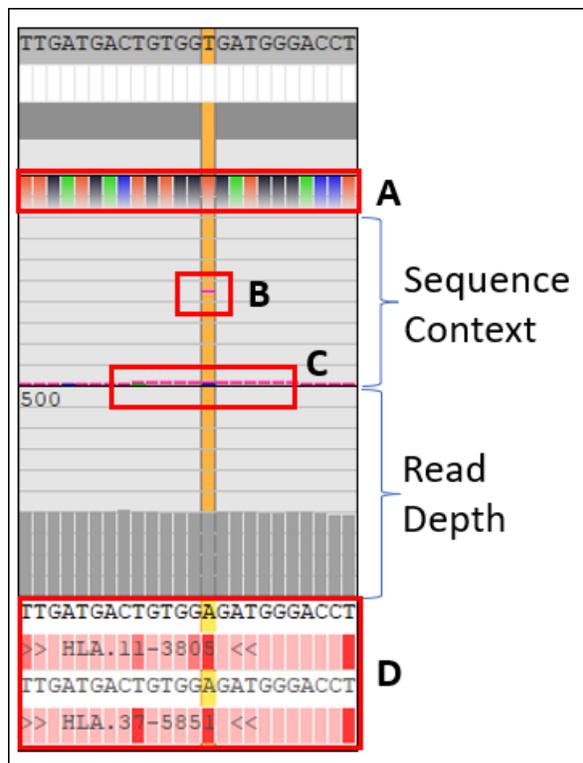
E Seuil de bruit approximatif Le bruit est un sous-produit courant de la spécificité, des erreurs de séquençage et de l'alignement des séquences. Assign fixe dynamiquement un seuil de bruit à une position de base

donnée. Une ligne pointillée rose indique le seuil de bruit approximatif à tous les emplacements de base. Généralement, les appels de base en dessous du seuil de bruit ne sont pas appelés.

- F Autres appels de base Affiche les appels de base qui diffèrent de l'appel de base le plus fréquent pour une position donnée et utilisent les mêmes indicateurs de couleur que ceux utilisés dans la section Appel de base primaire.
- G Lectures de séquence couvrant la position de base qui n'ont pas été incluses dans la séquence de consensus pour l'échantillon.

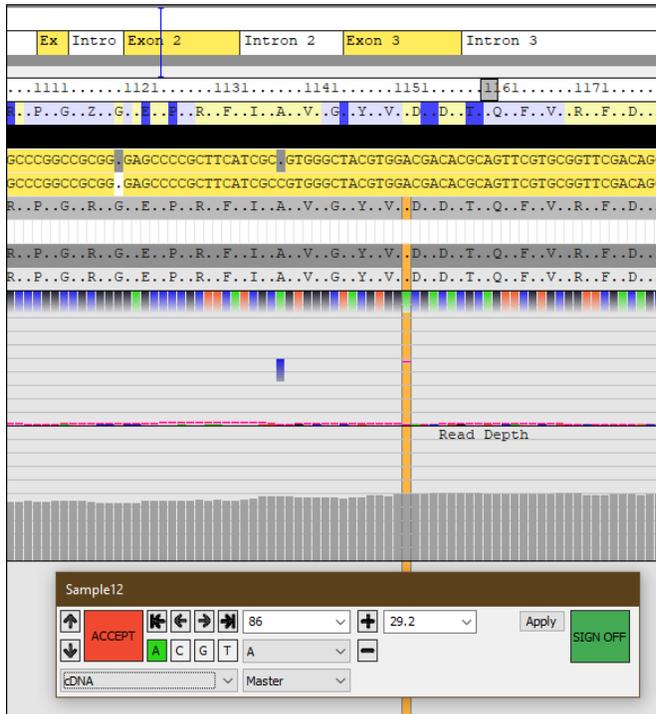
Vue linéaire

- A La base la plus souvent appelée
- B Ratio d'allèles approximatif
- C Seuil de bruit approximatif
- D Lectures de séquence couvrant la position de base qui n'ont pas été incluses dans la séquence de consensus pour l'échantillon. Chaque ligne du contexte de séquence correspond à 10 %, chaque ligne de profondeur de lecture correspond à 25 lectures.



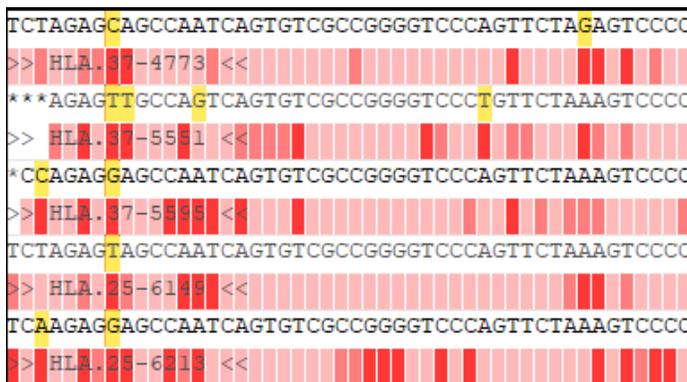
Vue des acides aminés

Pour activer l'affichage des acides aminés, sélectionnez cDNA dans le navigateur, cliquez sur un exon, et appuyez sur **Ctrl + A**.



Lectures de séquences

La section Sequence Reads (Lectures de séquences) contient les appels qui ne sont pas inclus dans la séquence de consensus d'échantillons à la position de base surlignée.



La qualité de l'appel de base pour les lectures alternatives, telle que rapportée dans le fichier FASTQ, est indiquée en dessous de la séquence dans un dégradé de rouge.

- **Dark red** (Rouge foncé) — appel de base de la plus basse qualité
- **Light Pink** (Rose clair) — appel de base de la plus haute qualité

Cliquez sur une lecture avec le bouton droit de la souris pour ouvrir un menu.

- **Copy Sequence** (Séquence de copie) — place toutes les bases dans la lecture sur le presse-papiers.
- **Copy Aligned** (Copie alignée) — place les bases utilisées lors de l'alignement sur le presse-papiers.
- **BLAST Sequence** (Séquence BLAST) — soumet la séquence complète à NCBI BLAST.
- **Copy Pair** (Copier la paire) — place la séquence d'une paire lue dans le presse-papiers.

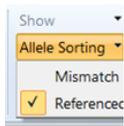
Panel des résultats

Le panel des résultats énumère toutes les paires d'allèles IMGT/HLA qui correspondent le mieux à la séquence du consensus d'échantillons. Le panel des résultats fournit également des informations pour chacune des paires d'allèles énumérées.

A		B					C
Allele 1	Allele 2	CORE	EXONS	N-C	PHASE1	PHASE2	Differences
A*02:01:01:01	A*30:01:01:01	0	0	0	0	0	
A*02:24:01	A*30:74	0	0	0	1	1	Exon 3
A*02:34	A*30:157	0	0	0	1	1	Exon 2
A*02:90	A*30:16	0	0	0	1	1	Exon 2
A*02:174	A*30:54	0	0	0	1	1	Exon 3
A*02:327	A*30:136	0	0	0	1	1	Exon 4
A*02:35:01	A*30:44	0	0	0	2	2	Exon 2
A*02:01:01:01	A*30:01:01:02	0	0	1	0	0	

- A Colonnes d'allèles
- B Colonnes de mésappariements de séquences
- C Colonne des différences
- D Allèles CIWD en gras

Colonnes d'allèles



Par défaut, toutes les paires d'allèles apparaissent dans l'ordre en fonction du nombre de mésappariements qu'elles contiennent par rapport à la séquence de consensus d'échantillons. Les paires d'allèles sans mésappariement apparaissent en haut des colonnes, suivies des paires avec un nombre croissant de mésappariements. Lorsque la case Duplicate Homozygous Calls (Dupliquer les appels homozygotes) est décochée sous l'onglet Reports (Rapports), si aucune position hétérozygote n'est détectée dans la séquence utilisée pour le typage (par défaut, tous les exons), la colonne Allèle 2 contiendra un X. La présence d'un X ne constitue pas une confirmation d'homozygotie. Lorsqu'une position hétérozygote est trouvée dans la séquence active, un deuxième allèle est signalé. Lorsque le tableau ou le rapport des résultats est tronqué à 2 ou 3 champs, le deuxième allèle peut apparaître identique. En sélectionnant Referenced (Référéncé) dans le menu Allele Sorting (Tri des allèles), vous pouvez trier les paires d'allèles selon les allèles les plus complètement référencés.

Allèles communs, intermédiaires et bien documentés (CIWD/CWD)

Dans le panel des résultats et le panel de synthèse, les allèles CIWD/CWD sont indiqués en gras, comme décrit ci-dessus.

Couverture des références IMGT/HLA

Les paires d'allèles sont marquées de bandes blanches et grises en alternant les lignes pour faciliter l'observation. L'allèle comprend parfois une couleur orange, ce qui indique qu'une partie de la séquence de référence est manquante dans la référence IMGT/HLA pour cet allèle. L'orange foncé indique que l'allèle a une couverture génomique dans la base de données IMGT et que la séquence manquante se trouve dans la région de non-codage, tandis que l'orange clair indique que l'allèle a une couverture d'ADNc uniquement dans la base de données IMGT et que la séquence manquante se trouve dans la région de codage. La largeur du conteneur de l'allèle est directement proportionnelle à la longueur de la séquence.

Colonnes de mésappariements

Le nombre de mésappariements dans les régions sélectionnées apparaît dans les colonnes à droite des paires d'allèles.

Allele 1	Allele 2	A	B	C	D	E
		CORE	EXONS	N-C	PHASE1	PHASE2
B*35:12:01:01	B*35:43:01	0	0	0	0	0
B*35:12:01:02	B*35:43:01	0	0	1	0	0
B*35:12:01:01	B*05:43:03	1	0	0	--	--
B*35:12:01:01	B*35:43:04	1	0	0	--	--
B*35:12:01:01	B*35:79	1	0	0	--	--

A Mésappariements des exons de base ; y compris des emplacements supplémentaires pour les mutations d'expression non codantes connues. Pour les allèles de classe I, « Core » (de base) est constitué des exons 2–4 et des exons 2–3 pour la classe II.

B Mésappariements dans les exons restants

C Mésappariements dans la séquence de non-codage (introns et UTR)

D Mésappariements en phase de l'allèle 1

E Mésappariements en phase de l'allèle 2

Les tirets dans les couches de phase indiquent un mésappariement à la séquence de référence.

Navigation dans les colonnes de mésappariements

Parmi les 5 colonnes de mésappariements possibles, les colonnes **Core** (de base) et **Exons** sont activées à l'importation. Lorsque l'affichage par défaut est réglé sur Maximum, la colonne de non-codage est présente pour la classe I, mais pas pour la classe II. Cliquez sur l'en-tête de la colonne **Core** (De base) pour développer ou réduire la colonne **Exons**. Cliquez sur l'en-tête de la colonne **Exons** pour développer ou réduire la colonne **N-C**. Les colonnes de mésappariements de phase ne sont présentes que si nécessaire, pour résoudre une ambiguïté de séquence.

Colonne des différences

La colonne des différences indique l'emplacement des différences entre les paires d'allèles par rapport à la première paire d'allèles répertoriée. Lorsque des ambiguïtés existent, les régions dans lesquelles elles pourraient être résolues sont indiquées dans cette colonne.

Avertissements

Sur l'écran affiché, lorsque le curseur de la souris survole un allèle associé à un commentaire, ce dernier s'affiche dans un cadre contextuel.

Stop: 5012, 3' UTR 1245							
Allele 1	Allele 2	CORE	EXONS	N-C	PHASE1	PHASE2	Differences
A*02:01:01:01	A*02:07:01:01	0	0	0	0	0	
A*02:01:01:01	A*02:07:01:02	0	0	1	0	0	
A*02:01:01:01	A*02:07:01:03	0	0	1	0	0	
A*02:01:01:04	A*02:07:01:01	0	0	1	0	0	
A*02:01:01:05	A*02:07:01:01	0	0	1	0	0	
A*02:01:01:06	A*02:07:01:01	0	0	1	0	0	
A*02:01:01:07	A*02:07:01:01	0	0	1	0	0	
A*02:01:01:08	A*02:07:01:01	0	0	1	0	0	
A*02:01:01:09	A*02:07:01:01	0	0	1	0	0	

Warning! The allele A*02:07:01:01 has been reported for your sample. This is a difficult allele to characterise so review with caution.

En l'absence d'avertissement, un autre message s'affiche lorsque vous entrez dans la section des commentaires :

The screenshot shows a software interface with a sequence alignment. A context menu is open over the alignment, displaying the following options: Show Comments, Edit Comments, Reanalyze, and Remove. To the right, an 'Assign' dialog box is visible, containing an information icon, the identifier '00034007', the text 'No warnings.', and an 'OK' button.

Vue des lectures

La vue Reads (Lectures) montre les lectures de séquence utilisée dans l'appel de base pour la position sélectionnée. Pour voir la vue Reads (Lectures) dans le groupe Views (Vues), cliquez sur **Show** (Afficher), puis sur **Reads** (Lectures).

Sample18 A - Allele Pair Size: 1	
GGAGAGGCCAGGCGCCTTWA	Start: 1, 5' UTR 1
CCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATYCCCCCGGGTTGGTCGGG	Stop: 4635, 3' UTR 868
.....A.....	Allele 1
.....G.....	Allele 2
GGAGAGGCCAGGCGCCTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTCGGG	A*02:06:01:01 A*11:01:01:01
	A*02:06:09 A*11:01:34
	A*02:06:12 A*11:01:106
GGAGAGGCCAGGCGCCTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGT	A*02:06:25 A*11:01:90
>> HLA.11-13 <<	A*02:79:01 A*11:73
GGAGAGGCCAGGCGCCTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGAGGTTGGTCGGG	A*02:137 A*11:119:01
>> HLA.37-25 <<	A*02:331 A*11:06
*****CCAGGCGCCTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTCGGG	A*02:358 A*11:103
>> HLA.37-67 <<	A*02:415 A*11:224
GGAGAGGCCAGGCGCCTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGGGTTGGTCGGG	A*02:142 A*11:24:02
>> HLA.37-187 <<	A*02:06:01:01 A*11:01:01:03
GGCCAGGCGCCTTACCCGGTTTCATTTTCAGTTTAGGCCAAAAATCCCCCGAGGTTGGTCGGG	A*02:06:01:01 A*11:01:01:05
>> HLA.37-201 <<	A*02:06:01:01 A*11:01:01:06

A Nucleotide Sequences (Séquences de nucléotides)

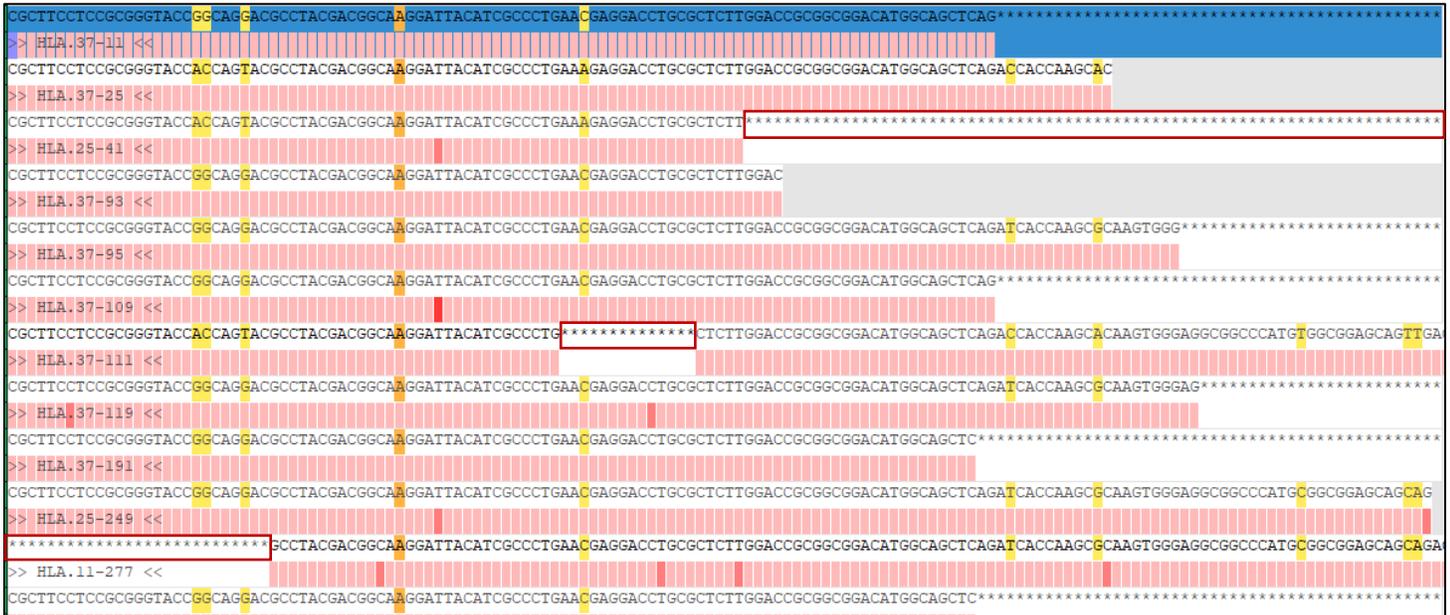
B Base call quality from FASTQ file (Qualité de l'appel de base à partir du fichier FASTQ) — la qualité est indiquée de rose clair (qualité la plus élevée) à rouge foncé (qualité la plus faible).

C Flèches de défilement des lectures — Utilisez les flèches de défilement pour consulter le lot de lecture suivant. Vous pouvez également naviguer en appuyant sur les touches Page Haut et Page Bas de votre clavier. Pour masquer les lectures d'un nucléotide spécifique à la base sélectionnée, appuyez simultanément sur la touche Maj et sur la lettre du nucléotide. Les lectures réapparaissent en utilisant les mêmes touches. Par exemple, appuyez sur Maj + A pour masquer les appels de lecture A à la position sélectionnée. Un clic droit sur une séquence permet d'ouvrir un menu qui comprend les options pour copier la séquence dans le presse-papiers, d'envoyer la séquence à BLAST pour alignement, ou d'afficher des avertissements pour un échantillon.

Les lectures qui contiennent une séquence insérée par rapport à la séquence de référence sont indiquées par un « + ». La séquence insérée est affichée au-dessus du + dans l'affichage des lectures. La séquence insérée peut être copiée en cliquant avec le bouton droit sur le + et en sélectionnant « copy insertion » (copier l'insertion).

CCCTCGAATACTGATGAGTGGTCCCTTTGACACA	CACA
+GCAGCAGCCTTGGGCCGTGACTTTTCCTCTCAG	
>> HLA.37-45 <<	
CCCTCGAATACTGATGAGTGGTCCCTTTGACACA	CACA
+GCAGCAGCCTTGGGCCGTGACTT*****	
>> HLA.37-59 <<	
CCCTCGAATACTGATGAGTGGTCCCTTTGACACA	CACA
+GCAGCAGCCTTGGGCCGTGACTTTTCCTCTCAG	
>> HLA.37-129 <<	
CCCTCGAATACTGATGAGTGGTCCCTTTGACACA	CACC
+GCAGCAGCCTTGGGCCGTGACTT*****	
>> HLA.11-173 <<	
*****ATGAGTGGTCCCTTTGACACA	CACC
+GCAGCAGCCTTGGGCCGTGACTTTTCCTCTCAG	
>> HLA.25-203 <<	

Les étoiles (*) de l’affichage des lectures indiquent le lien entre les paires de lecture.



Vue de l’alignement et Vue de référence

La vue Alignment (Alignement) et la vue Reference (Référence) permettent de comparer la séquence de consensus d’échantillons et vos données avec les séquences IMGT.

Vue de l’alignement

La vue Alignment (Alignement) montre une comparaison entre la séquence de consensus de l’échantillon et les paires d’allèles énumérées dans le Results panel (Panel des résultats). Cliquez sur les rubriques **Allele 1** ou **Allele 2** pour ajouter ou supprimer la contribution des allèles dans cette colonne. Pour voir la vue Alignment dans le groupe Views (Vues), cliquez sur **Show** (Afficher), puis sur **Alignment** (Alignement).

Vue de référence

La vue Référence montre une comparaison entre la séquence de consensus d’échantillons et les séquences de référence pour un locus. Pour voir la vue Référence dans le groupe Views (Vues), cliquez sur **Show** (Afficher), puis sur **Reference** (Référence). Vous pouvez limiter les allèles de référence qui apparaissent dans la vue Référence. Saisissez les allèles de référence qui vous intéressent dans le champ inférieur du Navigateur, puis cliquez sur **Filter** (Filtre) à droite du champ de texte. Les allèles qui contiennent le texte saisi dans la case sont affichés. Vous pouvez saisir des entrées multiples séparées par des virgules dans le champ de filtrage.

Chapitre 6 : Production de rapports

Types de rapports

Assign génère un rapport de génotypage ou un rapport FASTA ou HML.

- Genotyping Report (Rapport de génotypage) — rapport sur un seul échantillon ou locus ou sur tous les échantillons et loci du projet.
- Sequence Data Report in FASTA format (Rapport sur les données séquentielles en format FASTA) — produit un fichier fasta de la séquence de consensus d'échantillons en utilisant les désignations de l'UICPA.
- Fragment Analysis (Analyse des fragments) — rapports sur la distribution des fragments d'ADN regroupés et lus par le séquenceur Illumina et importés dans Assign.
- HML report (Rapport HML) : rapport sur un seul échantillon ou locus ou sur tous les échantillons et loci du projet au format HML.

Les rapports peuvent être personnalisés avec un logo, des numéros de page, la date et l'heure, et d'autres références sur le rapport. Pour plus d'informations, consultez *Changer le logo du rapport complet*.

Rapport sur le génotypage

Cliquez sur **Generate** (Générer) pour lancer l'outil de production de rapports.

The screenshot shows the 'Reports' dialog box with the 'Genotyping' tab selected. The 'Filters' section has 'Sample' set to '_All_' and 'Locus' set to '_All_' with an 'Other' button. Under 'Report Options', 'Full Report' is selected, and 'Sample' is set to 'Summary'. 'Auditing' is selected for the next dropdown, and all three 'Layers' are set to 'Empty'. 'Audit Options' includes 'Save', 'Confirm', 'G Groups', 'Full allele list', and 'Differences' checked. 'Grouping' has 'G Groups' checked. 'Report Display Options' has 'Default' checked. 'Additional Options' has 'NMDP', 'Motifs', and 'Duplicate Homozygote Calls' checked. 'Output Format' has 'Excel' selected. 'Summary Table Report' and 'Single Page Report Per Sample' are unselected. There are three empty text boxes for 'Comments'. The 'Generate Report' button is highlighted, with 'Done' and 'Update' buttons below it.

Production d'un rapport complet

Un rapport de génotypage complet comprend un en-tête avec votre logo préféré, les numéros de page, la date et l'heure de création, le nom de l'échantillon et les références utilisées, ainsi que l'ensemble CWD utilisé.

- 1 Sous l'onglet Genotyping (Génotypage) dans la section Filters (Filtres), utilisez la liste **Sample** (Échantillons) pour sélectionner les échantillons à inclure dans le rapport. Sélectionnez **All** (Tout) pour inclure tous les échantillons du projet.
- 2 Depuis la liste **Locus**, avec les paramètres Tx17, sélectionnez All (Tout), 6 Loci, 11 Loci, 17 Loci ou Other (Autre).

- a. Sélectionnez **All** (Tout) pour inclure tous les loci du projet dans le rapport.
 - b. Sélectionnez 6 Loci pour inclure HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1, -DPB1 dans le rapport du projet.
 - c. Sélectionnez 11 Loci pour inclure HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DRB3/4/5, -DQB1, -DQA1, -DPB1, -DPA1 dans le rapport du projet.
 - d. Sélectionnez 17 loci pour inclure les 11 loci énumérés ci-dessus, plus HLA-E, -F, -G, -H, et MICA/MICB dans le rapport du projet.
 - e. En sélectionnant Other (Autre), l'utilisateur peut choisir les loci à signaler dans la liste qui s'ouvre en cliquant sur le bouton Other (Autre).
- 3 Dans la section Sorting (Tri), sélectionnez **Name** (nom) de l'échantillon ou **Locus** pour trier le rapport.
 - 4 Sélectionnez le bouton **Full Report** (Rapport complet).
 - 5 Dans la section Full Report (Rapport complet), utilisez les listes **Sample** (Échantillons) pour sélectionner **Summary** (Synthèse) ou **Auditing** (Audit) dans la liste. Sélectionnez **Empty** (Vide) si une liste de sélection n'est pas nécessaire.
 - **Summary** (Synthèse) — inclut tous les avertissements concernant le typage et les paires d'allèles qui sont compatibles avec la Séquence de consensus d'échantillons (telle qu'éditée) pour chaque locus sélectionné dans la section Filtrés. Des modifications supplémentaires à cette section du rapport sont disponibles dans les options de Synthèse.
 - **Auditing** (Audit) — pour chaque locus sélectionné dans la section Filtrés, le rapport d'audit comprend le statut du réviseur comme étant Pass (Réussi) ou Fail (Échoué), et si toutes les positions ont été confirmées comme Pass ou Fail. Le rapport marque la date, l'heure et l'utilisateur pour chaque point réussi. Des modifications supplémentaires à cette section du rapport sont disponibles dans les options d'Audit
 - 6 Dans la section Full Report (Rapport complet), utilisez les listes **Layers** (Couches) pour sélectionner le niveau de détail des couches à inclure dans le rapport. Sélectionnez **Empty** (Vide) si une liste de sélection n'est pas nécessaire.
 - **Sequences** (Séquences) — pour chaque locus sélectionné dans les filtres, le rapport des séquences imprime la séquence de consensus d'échantillons (telle qu'elle a été éditée).
 - **Edit List** (Liste d'édition) — pour chaque locus sélectionné dans Filtrés, le rapport de Edit List (Liste d'édition) montre les positions éditées, l'édition qui a été faite et l'utilisateur qui a réalisé l'édition.
 - **Mismatch List** (Liste de mésappariements) : pour chaque locus sélectionné dans les filtres, la liste de mésappariements affiche les principaux mésappariements de l'échantillon. Les limites de mésappariements s'appliquent à l'ensemble de la séquence de gènes. Cette fonctionnalité est utile pour les nouveaux allèles.
 - 7 Dans la section Summary Options (Synthèse des options), cochez la case de chaque option à inclure dans le rapport.

Option Synthèse	Description
Liste complète des allèles	Comprend tous les allèles.
Groupes P	Rapport sur les allèles ambigus des groupes P, et tous les autres allèles vers 2 champs. Pour plus d'informations, consultez hla.alleles.org/alleles/p_groups.html .
Groupes G	Rapport sur les allèles ambigus des groupes G, et tous les autres allèles vers 3 champs. Pour plus d'informations, consultez hla.alleles.org/alleles/g_groups.html .
NMDP	Fournit le code NMDP correspondant à la paire d'allèles correspondants pour un locus.
Différences	Inclut les informations dans la colonne des différences du panel des résultats.
Motifs	Comprend les variantes d'expression Bw4/Bw6 et DPB1 et d'autres motifs répertoriés dans les notes de publication de référence.

REMARQUE : Si le résultat d'un échantillon est ambigu, le logiciel appliquera automatiquement la résolution de groupe G ou P au plus haut niveau de typage possible. S'il n'est pas possible de condenser l'ambiguïté sous la forme d'un groupe G ou P, alors la liste des combinaisons d'allèles ambiguës sera énumérée dans le rapport par ordre numérique. En outre, les chaînes d'ambiguïté seront signalées sous un nouvel onglet Ambiguïtés (Ambiguïtés) sur le Summary Report (Rapport de synthèse).

- 8 Dans la section Audit Options (Options d'audit), sélectionnez **Save** (Sauvegarder) pour générer un historique des événements de sauvegarde et de chargement. Sélectionnez **Confirm** (Confirmer) pour inclure un historique

Auditing	
First Review:	Fail
Final Review:	Pass
Confirmed All Positions:	Fail
Mar 01 2019 09:36	admin set the final review to pass
Mar 01 2019 09:36	admin saved the sample
Mar 01 2019 09:36	admin saved the sample

des confirmations du réviseur.

- 9 Dans la section Format de production, choisissez parmi les formats suivants :
- **Texte** — génère un rapport des options sélectionnées au format texte.
 - **Excel** — génère un rapport des options sélectionnées dans une feuille de calcul Excel.
 - **XML** — génère un rapport des options sélectionnées dans un fichier *.xml étiqueté qui est le mieux adapté à l'importation dans une base de données externe.
 - **PDF** — génère un rapport des options sélectionnées au format PDF.
 - **Page Breaks** (Saut de page) — ajoute des sauts de page à la feuille de calcul Excel.
- 10 [Facultatif] Sélectionnez **Duplicate Homozygote Calls** (Dupliquer les appels homozygotes) pour imprimer 2 allèles au lieu de l'allèle 1 et X pour des échantillons homozygotes putatifs. Cette boîte aura également un impact sur la façon dont les appels homozygotes sont affichés dans la vue sommaire et les volets d'allèles. Pour conserver cette préférence, cochez ou décochez la case correspondante, cliquez sur Update (Mettre à jour) dans l'onglet Reports (Rapports), puis sur Update (Mettre à jour) dans la section Settings (Paramètres) du ruban d'accueil.
- 11 Cliquez sur **Generate Report** (Générer le rapport). Les rapports Excel sont générés et s'ouvrent automatiquement dans Excel. Les rapports en format texte ou XML sont générés lorsque vous choisissez un emplacement de sauvegarde sur votre ordinateur.

Rapport du tableau de synthèse

Un rapport de synthèse comprend un en-tête avec votre logo préféré, les numéros de page, la date et l'heure de création, la version du logiciel, les références utilisées, l'ensemble CWD utilisé et l'opérateur qui génère le rapport. Les volets de synthèse sont affichés dans des onglets séparés du classeur Excel.

- 1 Sous l'onglet Genotyping (Génotypage) dans la section Filters (Filtres), utilisez la liste **Sample** (Échantillons) pour sélectionner les échantillons à inclure dans le rapport. Sélectionnez **All** (Tout) pour inclure tous les échantillons du projet.
- 2 Depuis la liste **Locus**, avec les paramètres Tx17, sélectionnez All (Tout), 6 Loci, 11 Loci, 17 Loci ou Other (Autre).
 - a. Sélectionnez **All** (Tout) pour inclure tous les loci du projet dans le rapport.
 - b. Sélectionnez 6 Loci pour inclure HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DQB1, -DPB1 dans le rapport du projet.
 - c. Sélectionnez 11 Loci pour inclure HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DRB3/4/5, -DQB1, -DQA1, -DPB1, -DPA1 dans le rapport du projet.
 - d. Sélectionnez 17 loci pour inclure les 11 loci énumérés ci-dessus, plus HLA-E, -F, -G, -H, MICA et MICB dans le rapport du projet.
 - e. En sélectionnant Other (Autre), l'utilisateur peut choisir les loci à signaler dans la liste qui s'ouvre en cliquant sur le bouton Other (Autre).
- 3 Sélectionnez le bouton **Summary Table Report** (Rapport du tableau de synthèse).
- 4 Dans les options supplémentaires, sélectionnez NMDP et Motifs si vous le souhaitez.
 - a. **IMPORTANT** : En sélectionnant **Motifs / Additional Options** (Motifs/Options supplémentaires), les informations sur le motif seront incluses sous l'onglet Summary (Synthèse) du rapport Excel. Cette ligne supplémentaire par échantillon peut générer un format de rapport qui est incompatible avec certains LIMS et utilitaires de base de données. Si cette incompatibilité se produit avec votre LIMS, il est recommandé de laisser la case Motifs non cochée dans les options de synthèse (utilisez l'option

Update (Mettre à jour) pour conserver les paramètres) et d'utiliser plutôt l'onglet Motifs dans le rapport Excel.

- 5 Sélectionnez le format de production souhaité : Texte ou Excel.
- 6 [Facultatif] Sélectionnez **Duplicate Homozygote Calls** (Dupliquer les appels homozygotes) pour imprimer 2 allèles au lieu de l'allèle 1 et X pour des échantillons homozygotes putatifs. Cette boîte aura également un impact sur la façon dont les appels homozygotes sont affichés dans la vue sommaire et les volets d'allèles. Pour conserver cette préférence, cochez ou décochez la case correspondante, cliquez sur Update (Mettre à jour) sous l'onglet Reports (Rapports), puis sur Update (Mettre à jour) dans la section Settings (Paramètres) du ruban d'accueil.
- 7 Cliquez sur **Generate Report** (Générer le rapport). Les rapports Excel sont générés et s'ouvrent automatiquement dans Excel. Des rapports au format texte sont générés lorsque vous choisissez un emplacement de sauvegarde sur votre ordinateur.

Single page report per sample (Rapport en page unique par échantillon)

Le rapport en page unique affiche les allèles de chaque gène, ainsi que les groupes G et P sur une page unique pour chaque échantillon. Le contenu de chaque gène est également répertorié. Veuillez noter que pour les gènes pour lesquels 4 champs ont été sélectionnés et dont le contenu est inférieur à 98,5, l'allèle à 4 champs ne sera pas répertorié.

- 1 Sous l'onglet Genotyping (Génotypage) dans la section Filters (Filtres), utilisez la liste **Sample** (Échantillons) pour sélectionner les échantillons à inclure dans le rapport. Sélectionnez **All** (Tout) pour inclure tous les échantillons du projet.
- 2 Depuis la liste **Locus**, avec les paramètres Tx17, sélectionnez All (Tout), 11 Loci, 17 Loci ou Other (Autre).
 - a. Sélectionnez **All** (Tout) pour inclure tous les loci du projet dans le rapport.
 - b. Sélectionnez 11 Loci pour inclure HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DRB3/4/5, -DQB1, -DQA1, -DPB1, -DPA1 dans le rapport du projet.
 - c. Sélectionnez 17 loci pour inclure les 11 loci énumérés ci-dessus, plus HLA-E, -F, -G, -H, MICA et MICB dans le rapport du projet.
 - d. En sélectionnant Other (Autre), l'utilisateur peut choisir les loci à signaler dans la liste qui s'ouvre en cliquant sur le bouton Other (Autre).
- 3 Sélectionnez le bouton **Single Page Report Per Sample** (Rapport en page unique par échantillon).
- 4 Sélectionnez le format de production souhaité : Texte, Excel, XML ou PDF.
- 5 [Facultatif] Sélectionnez **Duplicate Homozygote Calls** (Dupliquer les appels homozygotes) pour imprimer 2 allèles au lieu de l'allèle 1 et X pour des échantillons homozygotes putatifs. Cette boîte aura également un impact sur la façon dont les appels homozygotes sont affichés dans la vue sommaire et les volets d'allèles. Pour conserver cette préférence, cochez ou décochez la case correspondante, cliquez sur Update (Mettre à jour) dans l'onglet Reports (Rapports), puis sur Update (Mettre à jour) dans la section Settings (Paramètres) du ruban d'accueil.
- 6 Cliquez sur Report (Rapport). Les rapports Excel sont générés et s'ouvrent automatiquement dans Excel. Des rapports au format texte, XML et PDF sont générés lorsque vous choisissez un emplacement de sauvegarde sur votre ordinateur.

Changer le logo du rapport complet

Vous pouvez modifier l'image en éditant directement le modèle Excel inclus avec Assign. Pour changer le logo, ouvrez Excel, puis choisissez le fichier modèle Genotyping.xlt. Dans une installation par défaut, le modèle se trouve dans C:\ProgramData\CareDx\AlloSeq v1.0.5\data\templates. Pour un dossier d'installation personnalisé, naviguez vers le dossier approprié et choisissez ensuite data\templates\Genotyping.xlt. Pour remplacer l'image du logo, sous Print (Imprimer), voir Page Setup (Mise en page) et modifier l'en-tête et le pied de page.

Changer le logo du rapport PDF

Vous pouvez modifier l'image en remplaçant l'image .png incluse dans Assign. Pour modifier le logo, enregistrez votre logo avec le nom « CareDx-logo.png » et remplacez l'image enregistrée dans C:\ProgramData\CareDx\AlloSeq v1.0.5\data\templates. Il est recommandé d'utiliser une image mesurant environ 513 x 219 pixels.

Rapport FASTA

Le format de fichier FASTA est un format de texte simple qui est devenu un outil bio-informatique standard pour la représentation de séquences génétiques. Le format FASTA commence par une ligne de description qui comprend un symbole plus grand que (>) suivi de l'identifiant unique qui pourrait être le nom de l'échantillon/du locus/de l'entrée. La ligne suivante de la FASTA est la séquence de consensus d'échantillons utilisant les désignations de l'UICPA.

- 1 Cliquez sur **Generate** (Générer) pour lancer l'outil de production de rapports et sélectionnez l'onglet FASTA.
- 2 Dans la section Output Filters and Numbering (Filtres et numérotation de production), utilisez la liste **Sample** (Échantillons) pour sélectionner un échantillon individuel à inclure dans le rapport. Sélectionnez **All** (Tout) pour inclure tous les échantillons. Le nom de l'échantillon est automatiquement inclus dans la ligne de description FASTA qui précède la séquence.
- 3 Dans la liste **Locus**, sélectionnez un locus individuel pour faire état des échantillons sélectionnés. Sélectionnez **All** (Tout) pour inclure tous les loci des échantillons sélectionnés. Cochez la case pour insérer le nom du locus dans le fichier FASTA (par exemple : > Sample Name_IMGT/A).
- 4 Dans la liste **Layer** (Couche), sélectionnez une seule couche pour limiter la production. Cochez la case pour insérer le nom de la couche dans le fichier FASTA.
- 5 Dans la liste **Group** (Groupe), sélectionnez un groupe désigné de régions pour limiter la production.
- 6 Dans la liste **Region** (Région), sélectionnez une région désignée, par exemple un exon. Cochez la case pour insérer le nom de la région dans le fichier FASTA.
- 7 Dans la section Sort by (Trier par), sélectionnez **Name** (nom) de l'échantillon ou **Locus** pour trier le rapport.
- 8 Dans la section Options, cochez la case **Pad Ends** (Extrémités des coussinets) pour ajouter N appels de base à chaque séquence afin de couvrir tout l'amplicon.
- 9 Cliquez sur **Generate Report** (Générer un rapport), puis choisissez un emplacement de sauvegarde sur votre ordinateur.

Analyse des fragments

Fragment Analysis (Analyse des fragments) est un rapport Excel qui fournit des détails sur la distribution des tailles des fragments importés dans Assign pour chaque échantillon et locus.

- 1 Cliquez sur **Reports** (Rapports) pour lancer l'outil de production de rapports.
- 2 Sous l'onglet Fragment Analysis (Analyse des fragments), effectuez l'une des opérations suivantes :
 - a. Sélectionnez un seul échantillon dans le projet et sélectionnez un seul locus ou tous les loci dans les listes déroulantes ;
 - b. Sélectionnez tous les échantillons et choisissez un seul locus ou tous les loci dans les listes déroulantes ;
- 3 Cliquez sur **Report** (Rapport) pour générer l'analyse des fragments.

L'analyse des fragments s'ouvre automatiquement dans Excel.

Rapport de locus personnalisé

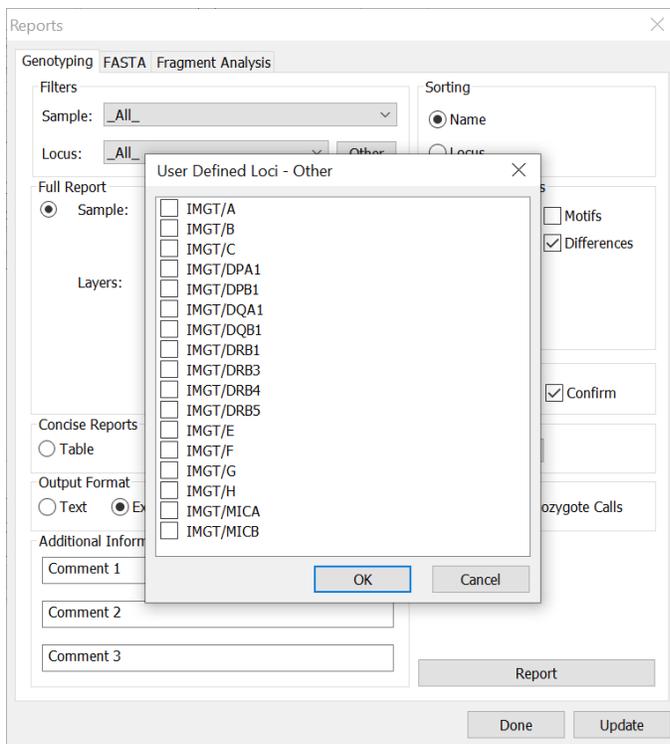
Il existe deux ensembles de locus prédéfinis dans les paramètres de Tx17 (11 loci ou 17 loci).

11 Loci : HLA-A, -B, -C, -DRB1, -DRB3/4/5, -DQB1, -DQA1, -DPB1, -DPA1

17 Loci : Ceux énumérés ci-dessus plus HLA-E, -F, -G, -H et MICA/MICB.

Si nécessaire, un rapport peut être généré pour afficher des loci spécifiques :

- 1 Cliquez sur **Reports** (Rapports) pour lancer l'outil de production de rapports.
- 2 Dans la case locus, sélectionnez Other (Autre).
- 3 Cliquez sur le bouton **Other** (Autre).
- 4 Sélectionnez les lieux que vous souhaitez signaler en cochant les cases correspondantes, puis cliquez sur OK.
- 5 Cliquez sur Update (Mettre à jour) sous l'onglet Reports (Rapports) et dans la section Settings (Paramètres) du ruban Home (Accueil) pour enregistrer ce paramètre pour utilisation ultérieure.
- 6 Cliquez sur **Report** (Rapport) pour générer le rapport.



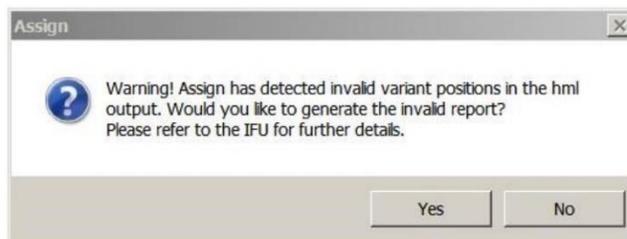
Rapport HML

La fonctionnalité des rapports HML a été incluse dans AlloSeq Assign v. 1.0.5 pour permettre la transmission de données vers l'HIWS. Le rapport HML généré depuis AlloSeq Assign est spécifique au schéma 1.0.1 fourni par NMDP. Pour obtenir plus de renseignements sur HML et le schéma utilisé, consultez <https://bioinformatics.bethematchclinical.org/hla-resources/hml/> et <http://schemas.nmdp.org/>.

Pour générer un rapport HML :

1. Cliquez sur **Generate** (Générer) pour lancer l'outil de production de rapports et sélectionnez l'onglet HML.
2. Utilisez la liste **Sample** (Échantillons) pour sélectionner les échantillons à inclure dans le rapport. Sélectionnez **All** (Tout) pour inclure tous les échantillons du projet.
3. Cliquez sur **Modify Additional Information** (Modifier des informations supplémentaires). Les informations supplémentaires seront enregistrées après la fermeture de la fenêtre des rapports.
4. Par défaut, Assign générera un GLString par locus. Sélectionner l'option **Summative GLString** (GLString résumé) produira un seul GLString pour chaque échantillon.

IMPORTANT Lors de la génération du rapport HML, AlloSeq Assign effectue une vérification de la validité des localisations de variant pour chaque gène, afin de s'assurer qu'aucun nucléotide dégénéré ne fait l'objet d'un rapport. Si un gène échoue à cette vérification de la validité, Assign affichera le message d'erreur suivant :



Cliquer sur « Non » en réponse au message génère un rapport HML qui ne couvre pas le gène concerné.

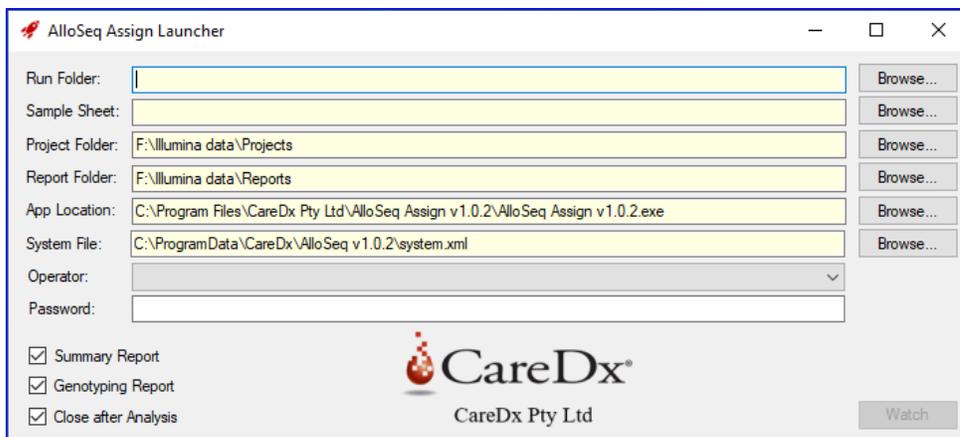
Pour permettre aux utilisateurs de modifier et de valider le gène affecté, sélectionner « Oui » génère deux rapports, un ne couvrant pas le gène impacté et l'autre couvrant les variants non valides. Veuillez noter que les fichiers HML générés avec des variantes non valides ne peuvent pas être transmis à l'IHIWS. Des localisations de variant non valides ont été observées pour 1/25 500 gènes testés, en raison de l'absence de la phase pendant laquelle le logiciel ne peut pas attribuer la localisation de variant à l'un ou l'autre allèle.

Chapitre 7 : Lanceur AlloSeq Assign

Le logiciel AlloSeq Assign de versions 1.0.2 et supérieures est compatible avec le lanceur AlloSeq Assign.

Le lanceur AlloSeq Assign est une application autonome conçue pour lancer automatiquement AlloSeq Assign une fois les fichiers fastq créés par le séquenceur.

Consultez le document IFU098_AlloSeq Assign Launcher pour plus d'informations sur cette application.



Chapitre 8 : Glossaire

CIWD/CWD : L'allèle commun, intermédiaire et bien documenté (CIWD) identifie le sous-ensemble des allèles HLA dont les fréquences sont bien connues (commun), ou les allèles identifiés plusieurs fois par l'utilisation de méthodes de typage basées sur la séquence (bien documenté). Pour plus de renseignements sur les allèles CIWD, consultez : <https://www.ihw18.org/component-immunogenetics/download-common-and-well-documented-alleles-3-0/>
Ou pour la liste CWD, consultez : <http://igdawg.org/cwd.html>

Groupes G : Les allèles HLA qui ont des séquences de nucléotides identiques parmi les exons codant les domaines de liaison de l'antigène (exon 2 et 3 pour les HLA de classe I et exon 2 seulement pour les allèles HLA de classe II). Pour plus de détails, reportez-vous à : http://hla.alleles.org/alleles/g_groups.html

Groupes P : Les allèles HLA qui ont des séquences protéiques identiques parmi les exons codant les domaines de liaison de l'antigène (codés par les exon 2 et 3 pour les HLA de classe I et l'exon 2 seulement pour les allèles HLA de classe II). Pour plus de détails, reportez-vous à : http://hla.alleles.org/alleles/p_groups.html

Nomenclature HLA : Assign convertit les séquences dans la nomenclature HLA version 3.0, établie en 2010, en accord avec le Comité de la nomenclature de l'OMS pour les facteurs du système HLA (www.imgt.org).

La nomenclature HLA utilise le format suivant : **HLA-A*02:01:01:02L**

HLA	Le préfixe HLA
-	Le trait d'union sépare le nom du gène du préfixe HLA.
A	Le nom du gène
*	L'astérisque sépare le nom du gène des informations sur la séquence et indique le typage génétique.
02	Champ 1 – Le groupe d'allèles
:	Un deux-points sépare les champs.
01	Champ 2 – Allèles différenciés avec une séquence de protéine unique
:	Un deux-points sépare les champs.
01	Champ 3 – Substitutions d'ADN synonymes dans les régions de codage du gène
:	Un deux-points sépare les champs.
02	Champ 4 – Différences dans les régions de non-codage du gène
L	Ce modificateur d'expression est présent quel que soit le nombre de champs signalés. À ce jour, les modificateurs suivants sont possibles : <ul style="list-style-type: none">• N désigne Nul : un allèle qui n'est pas exprimé.• L désigne Faible : un allèle codant pour une protéine dont l'expression à la surface des cellules est significativement réduite ou faible.• S désigne Sécrété : un allèle codant pour une protéine qui est exprimée uniquement sous forme de molécule sécrétée.• Q désigne incertain : un allèle présentant une mutation dont il a été précédemment démontré qu'elle avait un effet significatif sur l'expression à la surface des cellules, mais qui n'est pas confirmée. Par conséquent, son expression reste discutable.

Nomenclature MICA/B :

La nomenclature MICA/B utilise le format suivant : **MICB*002:01:01**

MIC	Le préfixe MIC
B	Le nom du gène
*	L'astérisque sépare le nom du gène des informations sur la séquence et indique le typage génétique.
002	Champ 1 – Allèles différenciés avec une séquence de protéine unique
:	Un deux-points sépare les champs.
01	Champ 2 – Substitutions d'ADN synonymes dans les régions de codage du gène

: Un deux-points sépare les champs.

01 Champ 3 – Différences dans les régions de non-codage du gène

Désignations de base dégénérées : Les lignes de séquences de consensus dans la section Séquences (lignes 2 et 6) comprennent les désignations de bases dégénérées de l'Union internationale de chimie pure et appliquée (UICPA).

Code UICPA	Bases	Description
W	A T	Weak (Faible)
S	C G	Strong (Fort)
M	A C	Amino
K	G T	Keto
R	A G	Purine
Y	C T	Pyrimidine
B	G C T	pas A
D	A G T	pas C
H	A C T	pas G
V	A C G	pas T
N	A C G T	toutes les bases
*		pas d'appel de base

Motifs de séquence BW4/Bw6 : La fonctionnalité de motif de séquence dans Assign (Assigner) signale la présence de motifs définis basés sur des séquences de nucléotides ou d'acides aminés dans l'alignement des séquences. La reconnaissance des motifs Bw4 et Bw6 rapportés à partir d'Assign (Assigner) est basée sur les séquences d'acides aminés signalées par Gumperz et coll.

Serological epitope	Class I locus	Class I position				
		77	80	81	82	83
Bw4	HLA-A,B	N	I	A	L	R
	HLA-B	N	T	A	L	R
	HLA-A	S	I	A	L	R
	HLA-B	S	T	L	L	R
	HLA-B	D	T	L	L	R
Bw6	HLA-B	S	N	L	R	G
	HLA-B	G	N	L	R	G

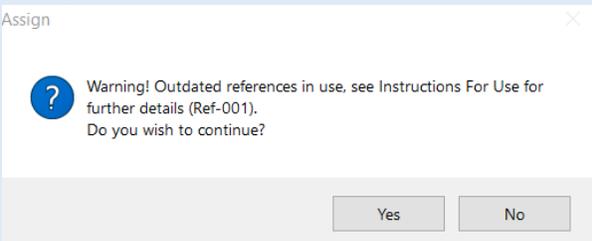
Figure 1 : Motifs de la séquence HLA de classe I déterminant les épitopes sérologiques Bw4 et Bw6.

¹Gumperz, J., Litwin, V., Phillips, J., Lanier, L. et Parham, P. (1995) *The Bw4 public epitope of HLA-B molecules confers reactivity with natural killer cell clones that express NKB1, a putative HLA receptor (L'épitope public Bw4 des molécules HLA-B confère une réactivité aux clones de cellules tueuses naturelles qui expriment NKB1, un récepteur HLA putatif.) Journal of Experimental Medicine, 181(3), pp. 1133–114*

Raccourcis clavier :

Touches	Description
Ctrl + L	Changer à partir de log/linear
Ctrl + M	Masquer/Dévoiler la zone des cartes
Ctrl + F	Trouver séquence
Ctrl + A	Activer l'affichage des acides aminés
Maj + A/G/C/T	Filtrer par base
Flèche de droite	Passer à la base suivante vers la droite

Ctrl + Flèche de droite	Passer à l'emplacement marqué suivant
Ctrl + Maj + Flèche de droite	Aller à la fin de la séquence de consensus
Flèche de gauche	Passer à la base suivante vers la gauche
Ctrl + Flèche de gauche	Revenir à l'emplacement marqué précédent
Ctrl + Maj + Flèche de gauche	Aller au début de la séquence de consensus
Flèche vers le haut	Revenir à l'échantillon précédent
Maj + Flèche vers le haut	Réduire la profondeur de la séquence de l'affichage Couverture
Flèche vers le bas	Passer à l'échantillon suivant
Maj + Flèche vers le bas	Augmente la profondeur de la séquence de l'affichage Couverture
Tabulation	Confirmer l'appel de la base à l'emplacement actuel
A/C/G/T/M/K/R/W/D/S/Y/B/V/H/N	Modifier la base à la position actuelle
Maj + I	Alterner entre les informations de lecture

Messages d'erreur	Description
<p>Ref-001</p> 	<p>AlloSeq Assign version 1.0.3 comporte plusieurs modifications basées sur l'utilisation de versions de référence 3.45.1.1 et plus récentes.</p> <p>L'utilisation de références antérieures peut entraîner des problèmes impliquant des erreurs de phases et des ambiguïtés supplémentaires avec DQB1*03.</p>

Avertissement concernant les allèles difficiles à caractériser

Allele 1	Allele 2	CORE	EXONS	Differences
DRB4*01:01:01	X	0	0	
DRB4*01:01:01	DRB4*03:01N	0	0	
DRB4*03:01N	X	0	0	
DRB4*01:01:01	DRB4*01:156	0	1	

IMPORTANT!! The DRB4*03:01N allele has been reported for your sample. This allele is difficult to characterise so caution is advised when reviewing.

Reference: **IMGT/DRB4 3.51.0.0 2023-01-12**

Summary

The allele pairs listed below are compatible with the consensus sequence.

DRB4*01:01:01	X
DRB4*01:01:01	DRB4*03:01N
DRB4*03:01N	X

IMPORTANT!! The DRB4*03:01N allele has been reported for your sample. This allele is difficult to characterise so caution is advised when reviewing.

Le message d'avertissement s'affiche dans le panneau de la couverture lorsque le curseur survole les allèles et dans le rapport complet, lorsque des allèles difficiles à caractériser sont répertoriés comme résultat possible. Ces allèles difficiles à caractériser peuvent être signalés de façon incorrecte comme la meilleure correspondance, en raison d'insertions/délétions de grande taille.

Chapitre 9 : Assistance et coordonnées

Fabricant :

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

Distribué par :

Asie du Pacifique (APAC)
CareDx Pty Ltd,
20 Collie Street, Fremantle, WA, Australia, 6160.
Tél. : +61-8-9336-4212
Courriel : 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
Télécopie : +46-8-717 88 18
Courriel : 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
Télécopie : 610-344-7989
Courriel : orders-us@caredx.com
Site Web : <http://www.caredx.com>

Assistance technique et signalement d'incidents graves :

Courriel : techsupport-labproducts@caredx.com

Tout incident grave survenu en association 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 réside.

Pour des renseignements complémentaires, veuillez consulter le site Web de CareDx (<https://www.caredx.com/contact-us/>).

Produits associés :

AlloSeq Tx

Chapitre 10 : Historique des révisions

Version	Date	Modification (modifications par rapport à la version précédente IFU094)
1.0	06Apr20	Première édition de AlloSeq Assign IFU CE IVD. Publié par E. Naughton le 29 avril 2020
1.1	11May20	Détails ajoutés aux Détails sur Ins/Suppr et aux Indicateurs de confiance Instructions ajoutées pour générer un rapport concis Limitation de logiciels ajoutée Section Report (Rapport) mise à jour pour inclure un format PDF. JE a mis à jour les références de groupes DRB1 dans la section Limites
1.2	19Jun20	Références de section ajoutées à Limites Republié par E. Naughton le 19 juin 2020
2.0	04Dec20	Mise à jour des limites Publié par E. Naughton le 4 décembre 2020
3.0	30Mar21	IFU accepté et vérifié pour refléter les modifications de la v1.0.2.1270 : <ul style="list-style-type: none"> - Ajout de la référence au lanceur AlloSeq Assign : Chapitre 7 : Lanceur AlloSeq Assign - Ajout de la description de la coloration orange dans le consensus d'échantillon : Chapitre 5 : Section Séquences - Ajout d'une description complémentaire des colonnes de différences : Chapitre 5 : Colonne des différences - Ajout d'une référence aux paramètres Tx8 : Chapitre 4 : Ajout d'opérateurs Chapitre 6 : Production de rapports - Ajout de ABO et CCR5 : Chapitre 1 : Bases de données de référence Chapitre 5 : Onglet Home (Accueil) et Assign References (Références Assign) Chapitre 6 : Rapport de locus personnalisé Chapitre 8 : Glossaire - Mise à jour des caractéristiques de performances avec les durées d'importations pour différents PC : Chapitre 1 : Caractéristiques de performance - Ajout de l'affichage des acides aminés : Chapitre 5 : Section Séquences - Ajout de la référence à AlloSeq Tx 8 : Chapitre 1 : Introduction et caractéristiques de performances Republié par L.Langley, 31 mars 21
4.0	01Apr21	Ajout de la déclaration de responsabilité limitée à l'égard des fichiers CIWD modifiés par l'utilisateur dans le chapitre 5 : Annotation. Republié par L.Langley, 1er avril 21
5.0	14Dec21	IFU accepté et vérifié pour refléter les modifications de la v1.0.3 : <ul style="list-style-type: none"> - Mise à jour de la section des rapports avec de nouveaux écrans de la fenêtre des rapports. - Ajout de la méthode de modification du logo du rapport pdf. - Retrait des références aux rapports concis. - Mise à jour du processus des rapports complets pour correspondre aux modifications de la fenêtre des rapports. - Mise à jour du rapport du tableau de synthèse et du rapport en une page selon les méthodes des rapports d'échantillon. - Ajout de la section des rapports HML. - Ajout des raccourcis et des messages d'erreur antérieurs à l'annexe. - Mise à jour de la rétrocompatibilité - Ajout du typage à quatre champs des gènes de casse II aux limitations. - Modification de Qarad bvba en Qarad bv

		Republié par E. Naughton le 16 décembre 2021
6.0	15Sep2022	Mise à jour du logo Assign (suppression des symboles TM et R). Mise à jour des informations de Qarad. Ajout du numéro de la version logicielle, suppression de la référence aux kits AlloSeq Tx et mise à jour de la référence au mode d'emploi d'AlloSeq Tx sur les détails des kits d'AlloSeq Tx. Caractéristiques de performance à mettre à jour pour refléter tous les SKU d'AlloSeq Tx. Suppression de toutes les références à Tx 8 et ABO/CCR5 dans tout le document. Section 9 : Ajout d'informations sur le fabricant et le distributeur; Ajout des exigences de signalement en matière de vigilance. Republié par L. Langley le 12 oct. 22
7.0	27 fév. 23	Mises à jour pour la version v1.0.4 : <ul style="list-style-type: none"> - Mise à jour de la rétrocompatibilité - Mise à jour de la copie d'écran de démarrage - Suppression de la référence à Tx17.1 - Mise à jour de la copie d'écran de l'onglet Home (Accueil) - Copies d'écran de la vue des couvertures - Ajout de détails sur les mises en évidence en gris dans les séquences de référence des allèles, de la carte de couverture et du suivi des phases - Mise à jour des copies d'écran des DOC de séquence - Vue des acides aminés - Mise à jour des copies d'écran de la vue des lectures, suppression de la référence à l'indicateur du sens de lecture, ajout du nouvel affichage des insertions et d'étoiles pour lier les paires de lecture. - Ajout d'une remarque sur le rapport en page unique par échantillon pour décrire le contenu du gène et les limites. - Ajout de l'option GLString résumé à la section du rapport HML. - Suppression des touches de raccourci dupliquées
8.0	15May23	Les versions logicielles dans la section « Rétrocompatibilité avec les réglages antérieurs » ont été mises à jour.
9.0	29Aug23	La section Avertissement a été ajoutée dans le panneau des résultats. Suppression de la caractéristique erronée dans la section de l'historique des révisions pour la version 8.0. Mise à jour vers la v. 1.0.5 dans tout le document. Ajout des détails CH-REP.
10	09Oct23	Suppression des instructions sur l'utilisation de ctrl+G et des instructions d'utilisation du rapport résumé P uniquement et G uniquement.