

Tờ hướng dẫn sử dụng dành cho thiết bị chạy MOS v4

DÙNG CHO CHẨN ĐOÁN TRONG ỐNG NGHIỆM. CHỈ DÙNG CHO MỤC ĐÍCH XUẤT KHẨU.

Mục đích sử dụng

Thiết bị MiSeqDx được thiết kế để giải trình tự có nhắm mục tiêu đối với thư viện ADN từ ADN hệ gen người tách chiết từ máu toàn phần ngoại vi hoặc mô cố định bằng formalin, nhúng parafin (FFPE) - khi sử dụng kết hợp với các xét nghiệm chẩn đoán *trong ống nghiệm* (IVD) thực hiện trên thiết bị. Thiết bị MiSeqDx không dùng để giải trình tự toàn bộ hệ gen hay giải trình tự *de novo* (bộ gen mới). Phải sử dụng thiết bị MiSeqDx với phần mềm phân tích và thuốc thử IVD đã đăng ký và có trong danh mục, đã thông qua hoặc được phê duyệt.

Nguyên tắc của quy trình

Illumina MiSeqDx được thiết kế để tái giải trình tự có nhắm mục tiêu đối với ADN người, sử dụng Illumina vật tư tiêu hao dùng cho giải trình tự của Illumina và thư viện chuẩn bị từ ADN hệ gen người được tách chiết từ máu toàn phần ngoại vi hoặc mô FFPE, và bằng thuốc thử IVD đã đăng ký và có trong danh mục, đã thông qua hoặc được phê duyệt. Thư viện được chuẩn bị bằng cách khuếch đại các mục tiêu và thêm các chỉ thị mẫu và trình tự thu thập. Thư viện mẫu được thu thập trên tế bào dòng chảy và giải trình tự trên thiết bị nhờ công nghệ hóa học giải trình tự theo nguyên lý tổng hợp (SBS). Công nghệ hóa học SBS sử dụng phương pháp vùng kết thúc thuận nghịch để phát hiện các base nucleotide đơn lẻ khi các base này được kết hợp vào các sợi ADN đang phát triển. Phần mềm Real-Time Analysis (RTA) thực hiện phân tích hình ảnh và phát hiện base, đồng thời chỉ định điểm chất lượng cho từng base cho mỗi chu kỳ giải trình tự. Khi quá trình phân tích chính kết thúc, quá trình phân tích phụ trên thiết bị MiSeqDx sẽ xử lý các phát hiện base.

Quá trình xử lý thường bao gồm việc tách đoạn, tạo tệp FASTQ, so khớp, phát hiện biến thể và tạo tệp định dạng phát hiện biến thể (VCF) chứa thông tin về các biến thể phát hiện được ở các vị trí cụ thể trong hệ gen tham chiếu. MiSeqDx sử dụng các mô-đun phân tích phụ khác nhau tùy theo quy trình công việc.

Cấu hình khởi động kép

Cấu hình khởi động kép bao gồm phần cứng, phần mềm và quy trình cài đặt để thiết bị MiSeqDx có thể chạy cả xét nghiệm giải trình tự chẩn đoán *trong ống nghiệm* (IVD) và chỉ dành cho mục đích nghiên cứu (RUO). Cấu hình khởi động kép cho phép người dùng chuyển đổi giữa chế độ chẩn đoán và chế độ nghiên cứu của thiết bị. Công nghệ nhận dạng qua tần số vô tuyến (RFID) trên vật tư tiêu hao dùng cho giải trình tự sẽ ngăn việc thuốc thử giải trình tự RUO được sử dụng trong các lần chạy giải trình tự chẩn đoán.

Giới hạn của quy trình

- Dùng cho chẩn đoán *trong ống nghiệm*.

- Kết quả được trình bày trong thông tin trên nhãn là kết quả thu được với các bảng xét nghiệm đại diện sử dụng dòng tế bào hoặc máu toàn phần ngoại vi cho hiệu suất dòng mầm và mô FFPE hoặc dòng tế bào FFPE cho hiệu suất sinh dưỡng, với thuốc thử và mô-đun phần mềm theo mô tả. Các Mô-đun Biến thể Germline và Biến thể Soma được phát triển nhằm mục đích đánh giá hiệu suất với các xét nghiệm đại diện. Các đặc điểm hiệu suất chỉ nhằm mục đích cung cấp thông tin. Xét nghiệm kiểm nhận được trình bày chỉ nhằm mục đích chứng minh các khả năng chung của thiết bị và không xác minh khả năng hoặc tính phù hợp của thiết bị đối với bất kỳ yêu cầu cụ thể nào. Tất cả các xét nghiệm chẩn đoán được phát triển để sử dụng trên thiết bị này yêu cầu kiểm nhận đầy đủ cho tất cả các khía cạnh về hiệu suất.
- Sản phẩm này chỉ cung cấp:
 - Đầu ra giải trình tự ≥ 5 Gb ở độ dài đoạn đọc 2×150 bp
 - Số đoạn đọc đi qua bộ lọc ≥ 15 triệu ở độ dài đoạn đọc 2×150 bp
 - Các base cao hơn Q30 $\geq 80\%$ ở độ dài đoạn đọc 2×150 bp
Từ 80% base trở lên có điểm chất lượng theo thang đo Phred lớn hơn 30, cho biết độ chính xác khi phát hiện base cao hơn 99,9%.
- Thiết bị MiSeqDx chỉ được kiểm nhận về khả năng giải trình tự thư viện ADN ở người tách chiết từ máu toàn phần ngoại vi hoặc mô FFPE. Không nên dùng thư viện tạo từ các loại mẫu xét nghiệm khác với thiết bị này để phục vụ chẩn đoán *trong ống nghiệm*. Hiệu suất của thiết bị này trong khả năng giải trình tự axit nucleic của vi-rút hoặc vi khuẩn từ các mẫu xét nghiệm lâm sàng chưa được xác minh.
- MiSeqDx được thiết kế để sử dụng cho chẩn đoán *trong ống nghiệm* với các xét nghiệm hoặc thuốc thử IVD đã đăng ký và có trong danh mục, đã được thông qua hoặc phê duyệt. Các giới hạn của thuốc thử và các đặc điểm hiệu suất được mô tả trong tờ hướng dẫn này được dựa trên các xét nghiệm đại diện và mô-đun phần mềm. Đối với xét nghiệm IVD, hãy tham khảo tờ hướng dẫn cho từng xét nghiệm cụ thể để biết mục đích sử dụng, các biến thể được phát hiện và loại mẫu.
- Thành phần indel (vùng xóa, chèn và kết hợp) có độ dài lớn hơn 25 bp không được phần mềm xét nghiệm so khớp. Do đó, phần mềm xét nghiệm không phát hiện được các indel có độ dài lớn hơn 25 bp.
- Theo kết quả kiểm nhận, hệ thống có khả năng phát hiện các biến thể nucleotide đơn (SNV), vùng xóa có kích thước tối đa 25 bp và vùng chèn có kích thước tối đa 24 bp khi được sử dụng kết hợp với phần mềm mô-đun Biến thể dòng mầm và Biến thể sinh dưỡng. Đối với phát hiện sinh dưỡng, ở tần số biến thể 0,05, vùng xóa 25 bp và vùng chèn 18 bp đã được phát hiện.
- Đoạn đọc amplicon có thành phần biến thể cực hạn có thể không được phần mềm xét nghiệm so khớp, dẫn đến việc vùng đó được báo cáo là thể đại. Các thành phần cực hạn này bao gồm:
 - Đoạn đọc chứa nhiều hơn ba indel.
 - Đoạn đọc có độ dài tối thiểu 30 bp với hàm lượng SNV lớn hơn 4% tổng độ dài mục tiêu amplicon (không bao gồm các vùng thăm dò).
 - Đoạn đọc có độ dài dưới 30 bp với hàm lượng SNV lớn hơn 10% tổng độ dài amplicon (bao gồm các vùng thăm dò).
- Biến thể lớn, bao gồm các biến thể đa nucleotide (MNV) và các indel lớn, có thể được báo cáo là các biến thể nhỏ hơn riêng biệt trong tệp VCF đầu ra.

- Các biến thể xóa có thể bị lọc hoặc bỏ sót khi mở rộng hai amplicon dạng ô nếu độ dài vùng xóa lớn hơn hoặc bằng vùng chồng lấn giữa các amplicon dạng ô.
- Hệ thống không thể phát hiện indel nếu các biến thể này xảy ra ngay liền kề mỗi và không có amplicon chồng lấn. Đối với các vùng có amplicon chồng lấn, xét nghiệm không thể phát hiện vùng xóa khi vùng chồng lấn nhỏ hơn kích thước vùng xóa cần phát hiện. Ví dụ: nếu vùng chồng lấn giữa hai amplicon liền kề là hai (2) base, xét nghiệm không thể phát hiện vùng xóa nào bao gồm cả hai base đó. Có thể phát hiện một vùng xóa base duy nhất tại một trong hai base đó.
- Như với bất kỳ quy trình công việc chuẩn bị thư viện dựa trên quá trình tạo thể lai nào, các đa hình cơ bản, đột biến, vùng chèn hoặc vùng xóa trong các vùng gắn kết oligonucleotide có thể ảnh hưởng đến các alen được thăm dò. Do đó, kết quả phát hiện trong khi giải trình tự cũng bị ảnh hưởng. Ví dụ:
 - Một biến thể cùng pha với một biến thể trong vùng mồi có thể không được khuếch đại, dẫn đến trường hợp âm tính giả.
 - Các biến thể trong vùng mồi có thể ngăn cản sự khuếch đại của alen tham chiếu, dẫn đến phát hiện biến thể đồng hợp tử không chính xác.
 - Các biến thể indel trong vùng mồi có thể dẫn đến phát hiện dương tính giả ở cuối đoạn đọc liền kề với mồi.
- Có thể lọc các indel do sai lệch sợi nếu chúng xảy ra gần cuối đoạn đọc và bị cắt mềm trong quá trình căn chỉnh.
- Các MNV nhỏ chưa được xác thực.
- Biến thể số lượng bản sao hoặc biến thể cấu trúc, chẳng hạn như hợp nhất hoặc chuyển vị, chưa được xác thực.
- Các giới hạn dành riêng cho dòng mầm:
 - Hệ thống MiSeqDx sử dụng Mô-đun biến thể dòng mầm được thiết kế để cung cấp kết quả định tính cho phát hiện biến thể dòng mầm (tức là: đồng hợp tử, dị hợp tử, thể đại).
 - Khi được sử dụng với Mô-đun biến thể dòng mầm, phạm vi tối thiểu trên mỗi amplicon cần thiết để phát hiện biến thể chính xác là 150x. Số lượng mẫu và tổng số base nhằm mục tiêu sẽ ảnh hưởng đến phạm vi. Hàm lượng GC và hàm lượng hệ gen khác có thể ảnh hưởng đến phạm vi.
 - Sự thay đổi số lượng bản sao có thể ảnh hưởng đến việc xác định một biến thể là đồng hợp tử hay dị hợp tử.
 - Các biến thể trong trường hợp lặp lại nhất định được lọc ra khỏi các tệp VCF. Bộ lọc lặp lại RMxN được sử dụng để lọc biến thể nếu tất cả hoặc một phần trình tự biến thể xuất hiện lặp đi lặp lại trong hệ gen tham chiếu liền kề với vị trí biến thể. Đối với phát hiện biến thể dòng mầm, cần ít nhất 9 lần lặp lại trong tham chiếu để lọc biến thể và chỉ xét những lần lặp lại có độ dài tối đa 5 bp (R5x9).
- Các giới hạn dành riêng cho sinh dưỡng:
 - Hệ thống MiSeqDx sử dụng Mô-đun biến thể sinh dưỡng được thiết kế để cung cấp kết quả định tính cho phát hiện biến thể sinh dưỡng (tức là: sự hiện diện của một biến thể sinh dưỡng có tần số biến thể lớn hơn hoặc bằng 0,026 với giới hạn phát hiện là 0,05).
 - Khi được sử dụng với Mô-đun biến thể sinh dưỡng, phạm vi tối thiểu trên mỗi amplicon cần thiết để phát hiện biến thể chính xác là 450x trên mỗi nhóm gộp oligonucleotide. Số lượng mẫu và tổng số base nhằm mục tiêu sẽ ảnh hưởng đến phạm vi. Hàm lượng GC và hàm lượng hệ gen khác có thể ảnh hưởng đến phạm vi.

- Các biến thể trong trường hợp lặp lại nhất định được lọc ra khỏi các tệp VCF. Bộ lọc lặp lại RMxN được sử dụng để lọc biến thể ở tất cả hoặc một phần trình tự biến thể xuất hiện lặp đi lặp lại trong hệ gen tham chiếu liền kề với vị trí biến thể. Đối với phát hiện biến thể sinh dưỡng, cần ít nhất 6 lần lặp lại trong tham chiếu để lọc biến thể và chỉ xét những lần lặp lại có độ dài tối đa 3 bp (R3x6).
- Somatic Variant Module thể sinh dưỡng không thể phân biệt giữa biến thể dòng mầm và sinh dưỡng. Mô-đun này được thiết kế để phát hiện các biến thể trên một loạt các tần số biến thể, nhưng không thể sử dụng tần số biến thể để phân biệt các biến thể sinh dưỡng với các biến thể dòng mầm.
- Mô bình thường trong mẫu xét nghiệm ảnh hưởng đến việc phát hiện các biến thể. Giới hạn phát hiện được báo cáo dựa trên tần số biến thể liên quan đến tổng số ADN tách chiết từ cả mô khối u và mô bình thường.

Thành phần sản phẩm

Illumina MiSeqDx gồm có:

MiSeqDx Thiết bị (Danh mục số DX-410-1001)

Các thành phần phần mềm sau là yêu cầu bắt buộc để vận hành thiết bị MiSeqDx và phân tích dữ liệu:

| Ứng dụng phần mềm | Chức năng | Mô tả |
|--------------------------------|-------------------------------------|--|
| MiSeq Operating Software (MOS) | Điều khiển hoạt động của thiết bị | Ứng dụng phần mềm MOS quản lý hoạt động của thiết bị trong quá trình giải trình tự và tạo hình ảnh cho phần mềm Real-Time Analysis (RTA) sử dụng. Để biết thêm thông tin, hãy tham khảo <i>Hướng dẫn tham khảo về thiết bị MiSeqDx dành cho MOS v4 (tài liệu số 200010452)</i> . |
| Real-Time Analysis (RTA) | Thực hiện quá trình phân tích chính | Ứng dụng phần mềm RTA chuyển đổi các hình ảnh do MOS tạo cho mỗi ô trong mỗi chu kỳ chạy giải trình tự thành các tệp phát hiện base, là đầu vào cho các mô-đun phân tích của Local Run Manager. Ứng dụng phần mềm RTA không có giao diện người dùng. |
| Local Run Manager | Giao diện cho phép lựa chọn mô-đun | Phần mềm Local Run Manager là một giải pháp tích hợp trên thiết bị để quản lý người dùng, thực hiện quá trình phân tích phụ và giám sát trạng thái. Để biết thêm thông tin, hãy tham khảo <i>Hướng dẫn về phần mềm Local Run Manager v4 dành cho MiSeqDx (tài liệu số 200046657)</i> . |

Bảo quản và xử lý

| Yếu tố | Thông số kỹ thuật |
|----------|--|
| Nhiệt độ | Vận chuyển và bảo quản: -10°C đến 40°C (14°F đến 104°F) Điều kiện vận hành: 19°C đến 25°C (66°F đến 77°F) |

| Yếu tố | Thông số kỹ thuật |
|--------|---|
| Độ ẩm | Vận chuyển và bảo quản: Độ ẩm không ngưng tụ Điều kiện vận hành: Độ ẩm tương đối 30-75% (không ngưng tụ) |

Các thiết bị và vật liệu cần tự chuẩn bị chứ không được cung cấp

Vật tư tiêu hao dùng trong giải trình tự

MiSeqDx Reagent Kit v3 (Danh mục số # 20037124)

MiSeqDx Reagent Kit v3 Micro (Danh mục số # 20063860)

Vật tư tiêu hao do người dùng tự chuẩn bị

Cần chuẩn bị sẵn các vật tư tiêu hao do người dùng cung cấp sau đây trước khi bắt đầu một lần chạy.

| Vật tư tiêu hao | Mục đích |
|--|---|
| Khăn lau tấm cồng, isopropyl 70% hoặc Ethanol, 70% | Làm sạch kính và bề mặt bảo dòng chảy |
| Giấy lụa dùng cho phòng thí nghiệm, ít bụi | Làm sạch bề mặt bảo dòng chảy |
| Giấy lau thấu kính, 4 x 6 inch. | Làm sạch tế bào dòng chảy |
| Tween 20 | Rửa thiết bị |
| Kẹp, nhựa đầu vuông (không bắt buộc) | Lấy tế bào dòng chảy khỏi hộp vận chuyển tế bào dòng chảy |
| Nước, cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm | Rửa thiết bị |

Hướng dẫn về nước ở cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm

Luôn sử dụng nước ở cấp độ dùng trong phòng thí nghiệm hoặc nước khử ion để thực hiện các quy trình của thiết bị. Tuyệt đối không dùng nước máy.

Chỉ sử dụng các cấp độ nước hoặc các loại tương đương sau:

- Nước khử ion
- Illumina PW1
- Nước 18 Megaohm (MΩ)
- Nước Milli-Q
- Nước Super-Q
- Nước cấp độ sinh học phân tử

Cảnh báo và biện pháp phòng ngừa



CẢNH BÁO

Bộ thuốc thử này chứa các hóa chất độc hại tiềm ẩn. Có thể xảy ra thương tích cá nhân nếu hít phải, nuốt phải, tiếp xúc với da và mắt. Thông gió phải phù hợp để xử lý các vật liệu nguy hiểm trong thuốc thử. Mang thiết bị bảo hộ, bao gồm bảo vệ mắt, găng tay và áo choàng phòng thí nghiệm tương ứng với các nguy cơ phơi nhiễm. Xử lý thuốc thử đã sử dụng như chất thải hóa học và thải bỏ theo các luật và quy định hiện hành của địa phương, quốc gia và khu vực. Để biết thêm thông tin về môi trường, sức khỏe và an toàn, hãy tham khảo SDS tại support.illumina.com/sds.html.

- Xử lý tất cả các mẫu xét nghiệm máu như thể các mẫu đó được biết là có khả năng lây nhiễm vi-rút suy giảm miễn dịch ở người (HIV), vi-rút viêm gan B ở người (HBV) và các tác nhân gây bệnh lây qua đường máu khác (các biện pháp phòng ngừa chung).
- Việc không tuân thủ các quy trình đã nêu có thể dẫn đến kết quả sai hoặc chất lượng mẫu giảm sút đáng kể.
- Sử dụng các biện pháp phòng ngừa thường quy của phòng thí nghiệm. Không dùng pipet bằng miệng. Không ăn uống hoặc hút thuốc trong khu vực làm việc được chỉ định. Đeo găng tay và mặc áo khoác phòng thí nghiệm dùng một lần khi xử lý các mẫu xét nghiệm và thuốc thử trong bộ kit. Rửa tay kỹ càng sau khi xử lý các mẫu xét nghiệm và thuốc thử trong bộ kit.
- Yêu cầu áp dụng phương pháp thực hành trong phòng thí nghiệm thích hợp và vệ sinh trong phòng thí nghiệm sạch sẽ để ngăn chặn các sản phẩm phản ứng chuỗi polymerase (PCR) làm nhiễm bẩn thuốc thử, thiết bị đo và mẫu ADN hệ gen. Tình trạng nhiễm bẩn PCR có thể khiến cho kết quả không chính xác và không đáng tin cậy.
- Để tránh tình trạng nhiễm bẩn, hãy đảm bảo rằng khu vực tiền khuếch đại và hậu khuếch đại có thiết bị và vật tư tiêu hao chuyên dụng (ví dụ: pipet, đầu pipet, khối ủ nhiệt, máy trộn mẫu và máy ly tâm).

- Khi thích hợp, ghép cặp mẫu chỉ số phải khớp chính xác với bố cục bản in. Local Run Manager tự động điền mỗi chỉ thị liên quan đến tên mẫu, khi được nhập vào mô-đun. Người dùng nên xác minh mỗi chỉ thị liên kết với mẫu trước khi bắt đầu chạy giải trình tự. Mẫu không khớp với cách bố trí khay sẽ dẫn đến việc mất khả năng nhận dạng mẫu dương tính và báo cáo kết quả không chính xác.
- Đặc biệt, người dùng nên tự cài đặt phần mềm chống vi-rút để bảo vệ máy tính khỏi vi-rút. Tham khảo hướng dẫn sử dụng để biết hướng dẫn cài đặt.
- Không vận hành MiSeqDx khi đã tháo bất kỳ tấm vỏ nào. Việc vận hành thiết bị khi đã tháo bất kỳ tấm vỏ nào đều dẫn đến nguy cơ tiếp xúc với điện áp đường dây và điện áp DC.
- Không chạm vào bề mặt bảo vệ trong khoang chứa tế bào dòng chảy. Máy sưởi trong khoang chứa này vận hành trong khoảng từ 22°C đến 95°C và có thể gây bỏng.
- Thiết bị nặng khoảng 126 lb và có thể gây thương tích nghiêm trọng nếu bị rơi hoặc thao tác sai cách.
- Báo cáo ngay mọi sự cố nghiêm trọng liên quan đến sản phẩm này cho Illumina và Cơ quan có thẩm quyền của Quốc gia thành viên nơi người dùng và/hoặc bệnh nhân cư trú.

Hướng dẫn sử dụng

Hướng dẫn sử dụng thiết bị MiSeqDx sau đây yêu cầu thuốc thử được cung cấp trong MiSeqDx Reagent Kit v3.

Tạo Lần chạy với Local Run Manager

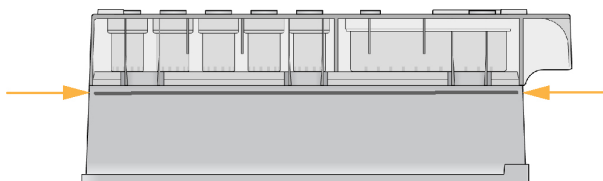
Để biết hướng dẫn chi tiết về cách tạo một lần chạy, tham khảo *Hướng dẫn về phần mềm Local Run Manager v4 dành cho MiSeqDx (tài liệu số 200046657)* và hướng dẫn mô-đun Local Run Manager cho mô-đun phân tích bạn sử dụng.

Chuẩn bị hộp thuốc thử

Hướng dẫn sau đây mô tả cách rã đông thuốc thử bằng bồn nước ở nhiệt độ phòng.

1. Lấy hộp thuốc thử ra khỏi nơi bảo quản có nhiệt độ từ -15° đến -25°C.
2. Đặt hộp thuốc thử vào bồn nước có chứa đủ nước khử ion ở nhiệt độ phòng để phần đế của hộp thuốc thử chìm xuống đến vạch nước in trên hộp thuốc thử. Không để nước vượt quá vạch nước tối đa.

Hình 1 Vạch nước tối đa



3. Để hộp thuốc thử rã đông trong bồn nước ở nhiệt độ phòng trong khoảng 60-90 phút hoặc cho đến khi rã đông hoàn toàn.

4. Lấy hộp ra khỏi bồn nước và gõ nhẹ vào hộp trên bàn thí nghiệm để nước trôi khỏi đế hộp. Lau khô đế hộp. Đảm bảo không có nước bắn lên mặt trên hộp thuốc thử.

Kiểm tra hộp thuốc thử

1. Úp ngửa hộp thuốc thử mười lần để trộn thuốc thử đã rã đông, sau đó kiểm tra xem tất cả các vị trí đã được rã đông chưa.
2. Kiểm tra thuốc thử ở các vị trí 1, 2 và 4 để đảm bảo thuốc thử được trộn đều và không có kết tủa.

LƯU Ý Thuốc thử trong hộp phải được rã đông hoàn toàn và trộn kỹ nhằm đảm bảo giải trình tự đúng cách.

3. Gõ nhẹ hộp trên bàn thí nghiệm để giảm bọt khí trong thuốc thử.

LƯU Ý Các ống sipper MiSeqDx đi đến đáy của từng ngăn chứa để hút thuốc thử nên các ngăn chứa không được có bọt khí.

4. Đặt hộp thuốc thử trên đá lạnh hoặc ở nhiệt độ từ 2°C đến 8°C (tối đa 6 giờ) cho đến khi sẵn sàng thiết lập lần chạy. Để có kết quả tốt nhất, hãy chuyển ngay sang quá trình nạp mẫu và thiết lập lần chạy.

Chuẩn bị mẫu để giải trình tự

Nếu bạn muốn biết hướng dẫn về cách chuẩn bị thư viện mẫu để giải trình tự, bao gồm cả cách pha loãng và gộp nhóm thư viện, hãy tham khảo phần Hướng dẫn Sử dụng trong tờ thông tin chuẩn bị thư viện.

Việc pha loãng thư viện mẫu phụ thuộc vào độ phức tạp của các nhóm gộp oligonucleotide. Cần phải tối ưu hóa mật độ cụm trên MiSeqDx và mật độ cụm tối ưu sẽ khác nhau tùy thuộc vào xét nghiệm chuẩn bị thư viện cụ thể.

Nạp thư viện mẫu vào hộp

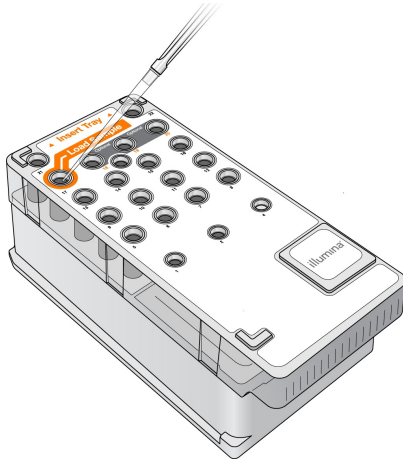
Khi hộp thuốc thử đã được rã đông hoàn toàn và sẵn sàng cho việc sử dụng, bạn hãy nạp mẫu vào hộp.

1. Sử dụng đầu pipet 1 ml riêng biệt, sạch và rỗng để chọc thủng lớp màng nhôm bịt ngăn chứa trên hộp thuốc thử có nhãn Load Samples (Nạp mẫu).

LƯU Ý Không chọc vào bất kỳ vị trí nào khác của thuốc thử. Các vị trí khác của thuốc thử được tự động chọc thủng trong quá trình chạy.

2. Dùng pipet lấy 600 µl thư viện mẫu DAL (thư viện amplicon pha loãng) đã chuẩn bị cho vào ngăn chứa Load Samples (Nạp mẫu). Tránh chạm vào lớp màng nhôm.
3. Kiểm tra xem ngăn chứa có bọt khí hay không sau khi nạp mẫu. Nếu có bọt khí, hãy gõ nhẹ hộp trên bàn thí nghiệm để bọt khí tan đi.

Hình 2 Nạp thư viện



- Chuyển ngay sang các bước thiết lập lần chạy bằng giao diện MiSeq Operating Software (MOS).

Thiết lập lần chạy

Tham khảo *Hướng dẫn tham khảo về thiết bị MiSeqDx dành cho MOS v4 (tài liệu số 200010452)* để biết hướng dẫn thiết lập lần chạy hoàn chỉnh.

- Đăng nhập vào MiSeqDx bằng mật khẩu phần mềm Local Run Manager.
- Từ màn hình Home (Chính) của phần mềm MOS, chọn Sequence (Trình tự).
- Chọn lần chạy từ danh sách, sau đó chọn Next (Tiếp).
Một loạt màn hình thiết lập chạy mở theo thứ tự sau: Nạp tế bào dòng chảy, nạp thuốc thử, Đánh giá và Kiểm tra trước khi chạy.
- Khi màn hình Load Flow Cell (Nạp tế bào dòng chảy) xuất hiện, hãy dọn sạch và sau đó nạp tế bào dòng chảy.
- Đóng chốt tế bào dòng chảy và cửa khoang chứa tế bào dòng chảy.
Phải đóng cả chốt và cửa khoang chứa trước khi bắt đầu lần chạy. Khi bạn đã nạp tế bào dòng chảy, phần mềm sẽ đọc và ghi lại RFID. Một thông báo sẽ hiển thị ở góc dưới bên phải của màn hình, xác nhận rằng RFID đã được đọc thành công.
- Làm theo lời nhắc của phần mềm để nạp chai Dung dịch SBS MiSeqDx (PR2) (đảm bảo rằng chai chất thải rỗng), và nạp hộp thuốc thử.
Khi bạn đã nạp chai Dung dịch SBS MiSeqDx (PR2) và hộp thuốc thử, phần mềm sẽ đọc và ghi lại RFID. Một thông báo sẽ hiển thị ở góc dưới bên phải của màn hình, xác nhận rằng RFID đã được đọc thành công.
- Màn hình Sequencing (Giải trình tự) sẽ mở ra khi lần chạy bắt đầu. Màn hình này cung cấp phần trình bày trực quan về lần chạy đang diễn ra, bao gồm cường độ và điểm chất lượng (điểm Q).

Kết quả

Real-Time Analysis (RTA) là phần mềm tích hợp thực hiện phân tích hình ảnh và phát hiện base, đồng thời chỉ định điểm chất lượng cho từng base cho mỗi chu kỳ giải trình tự. Khi quá trình phân tích chính kết thúc, mô-đun trên thiết bị MiSeqDx mà bạn đã chọn ở phần [Tạo Lần chạy với Local Run Manager trên trang 7](#) sẽ bắt đầu quá trình phân tích phụ. Để biết về các quy trình công việc khác, hãy tham khảo tài liệu hướng dẫn cho từng xét nghiệm cụ thể.

Quy trình đối chứng chất lượng

Phần mềm MiSeqDx đánh giá từng lần chạy, mẫu và phát hiện base dựa trên các số liệu đối chứng chất lượng. Khi được yêu cầu, mẫu chứng dương và âm trong quá trình chuẩn bị thư viện cũng cần được đánh giá đối với kết quả dự kiến.

Đặc điểm hiệu suất

Tất cả các nghiên cứu đều được thực hiện trên MiSeqDx.

Các nghiên cứu dòng mầm đã sử dụng Xét nghiệm 139 biến thể xơ nang MiSeqDx hoặc thuốc thử TruSeq Custom Amplicon Kit Dx để chuẩn bị thư viện. Hai bộ kit sử dụng các thuốc thử chuẩn bị thư viện giống nhau và chỉ có một sự khác biệt về quy trình công việc: số chu kỳ phản ứng chuỗi polymerase (PCR) (lần lượt là 25 và 28). TruSeq Custom Amplicon Kit Dx (50 ng) có thêm chu kỳ PCR nên cho phép đầu vào ADN thấp hơn so với Xét nghiệm 139 biến thể xơ nang MiSeqDx (250 ng), như được chứng minh trong nghiên cứu đầu vào ADN bằng TruSeq Custom Amplicon Kit Dx. Thư viện được chuẩn bị với Xét nghiệm 139 biến thể xơ nang MiSeqDx được giải trình tự với các thuốc thử giải trình tự kèm theo trong bộ kit. Thư viện được chuẩn bị với TruSeq Custom Amplicon Kit Dx được giải trình tự với MiSeqDx Reagent Kit v3. Thuốc thử giải trình tự MiSeqDx v3 đã tăng đầu ra so với các thuốc thử trong Xét nghiệm 139 biến thể xơ nang MiSeqDx.

Xét nghiệm bao gồm các phạm vi thông lượng mẫu được hỗ trợ bởi MiSeqDx Reagent Kit v3 Micro. MiSeqDx có thể hỗ trợ 1-96 mẫu/lần chạy, tùy thuộc vào xét nghiệm. MiSeqDx Reagent Kit v3 Micro được thiết kế để hỗ trợ lượng mẫu thấp hơn trong phạm vi này cho các xét nghiệm đã chọn.

Các nghiên cứu sinh dưỡng sử dụng TruSeq® Custom Amplicon Kit Dx với MiSeqDx Reagent Kit v3.

Các quy trình công việc dòng mầm hoặc sinh dưỡng, được mô tả là dành cho TruSeq Custom Amplicon Kit Dx để chuẩn bị thư viện cho việc giải trình tự, đều có bước tương ứng theo sau là phân tích bằng Mô-đun biến thể dòng mầm hoặc Mô-đun biến thể sinh dưỡng, với hai trường hợp ngoại lệ. Các nghiên cứu sử dụng một gen (hiệu suất dòng mầm; Xét nghiệm 139 biến thể xơ nang MiSeqDx) hoặc hai gen (hiệu suất sinh dưỡng) làm bảng đột biến đại diện đã sử dụng quy trình công việc và mô-đun phân tích dành riêng cho xét nghiệm cụ thể.

LƯU Ý Hàm lượng hệ gen của amplicon được tóm tắt tùy theo sợi hệ gen được giải trình tự. Đối với amplicon được thiết kế dựa trên sợi trừ, hàm lượng hệ gen tham chiếu là phần bổ sung ngược (ví dụ: vùng PolyA trên amplicon sợi trừ tương ứng với vùng PolyT trên hệ gen tham chiếu).

Định nghĩa các phép tính được sử dụng trong đặc điểm hiệu suất

- Tỷ lệ phần trăm độ tương hợp dương (PPA) được tính bằng tỷ lệ các lô-cut được phân loại là biến thể theo một phương pháp tham chiếu và được báo cáo chính xác thông qua xét nghiệm.
 - (số lô-cut biến thể được báo cáo chính xác thông qua xét nghiệm) / (tổng số lô-cut biến thể)
Các lô-cut biến thể được báo cáo thông qua xét nghiệm và phù hợp với phương pháp tham chiếu là dương tính thật (TP). Các lô-cut biến thể được báo cáo là phát hiện tham chiếu hoặc phát hiện biến thể khác thông qua xét nghiệm là âm tính giả (FN)
- Tỷ lệ phần trăm độ tương hợp âm (NPA) được tính bằng tỷ lệ các lô-cut được phân loại là thể đại theo một phương pháp tham chiếu và được báo cáo chính xác thông qua xét nghiệm.
 - (số lô-cut thể đại được báo cáo chính xác thông qua xét nghiệm) / (tổng số lô-cut thể đại)
Các lô-cut thể đại được báo cáo thông qua xét nghiệm và phù hợp với phương pháp tham chiếu là âm tính thật (TN). Các lô-cut thể đại được báo cáo là biến thể thông qua xét nghiệm là dương tính giả (FP).
- Tỷ lệ phần trăm độ tương hợp tổng thể (OPA) được tính bằng tỷ lệ các lô-cut được báo cáo chính xác thông qua xét nghiệm so với một phương pháp tham chiếu.
 - ((số lô-cut biến thể được báo cáo chính xác thông qua xét nghiệm) + (số lô-cut thể đại được báo cáo chính xác thông qua xét nghiệm)) / ((tổng số lô-cut biến thể) + (tổng số lô-cut thể đại))
- Với các ứng dụng phát hiện biến thể, các phép tính PPA, NPA và OPA không bao gồm trường hợp không có phát hiện (các lô-cut biến thể hoặc tham chiếu không đáp ứng một hoặc nhiều bộ lọc chất lượng). Hai nghiên cứu rõ ràng bao gồm trường hợp không phát hiện trong số liệu "% phát hiện chính xác" và việc bao gồm trường hợp không phát hiện được này được ghi nhận cho các bảng áp dụng.
- Tỷ lệ phát hiện được tính bằng cách lấy tổng số lô-cut đi qua bộ lọc chia cho tổng số vị trí giải trình tự đối với các nhiễm sắc thể 1-22. Nhiễm sắc thể X và Y bị loại trừ. Số liệu này không xét đến độ tương hợp của kết quả phát hiện với phương pháp tham chiếu.

Về các đặc điểm hiệu suất liên quan đến các yếu tố trước khi phân tích (ví dụ: phương pháp tách chiết hoặc đầu vào ADN), hãy tham khảo tờ hướng dẫn cho phương pháp chuẩn bị thư viện tương ứng.

Lập chỉ thị mẫu

Mỗi chỉ thị mẫu, được thêm vào trong quá trình chuẩn bị thư viện, chỉ định một trình tự duy nhất cho mỗi ADN mẫu, cho phép gộp nhiều mẫu lại với nhau thành một lần chạy giải trình tự duy nhất. Việc lập chỉ thị mẫu được xét nghiệm cho cả quy trình công việc dòng mầm và sinh dưỡng.

Tổng số 96 chỉ thị mẫu đã được xét nghiệm với một xét nghiệm đại diện được thiết kế để truy vấn nhiều loại gen bao gồm 12.588 base trên mỗi sợi trên tất cả 23 nhiễm sắc thể người. Mục đích là xác minh khả năng của xét nghiệm trong việc thực hiện nhất quán phát hiện định kiểu gen cho một mẫu nhất định trên các tổ hợp mỗi lập chỉ thị khác nhau. Nhiễm sắc thể Y không chứa vùng tin cậy và không được đánh giá. Tám mẫu duy nhất đã được xét nghiệm với 12 tổ hợp mỗi lập chỉ thị khác nhau trên mỗi mẫu. Kết quả mẫu từ Mô-đun phân tích dòng mầm được so sánh với Hệ gen bạch kim phiên bản

2016-01. PPA (SNV và indel) vượt quá 97% (số lần phát hiện dương tính thực sự ít nhất là 70 đối với SNV, 38 đối với vùng chèn, 36 đối với vùng xóa) và NPA là 100% (ít nhất 23.440 vị trí tham chiếu trên mỗi tổ hợp chi thị) cho mỗi tổ hợp trong số 96 tổ hợp chi thị. Một chi thị đơn lẻ đã được xét nghiệm độc lập để xác minh rằng công nghệ hóa học giải trình tự của MiSeqDx Reagent Kit v3 có thể hỗ trợ ít hơn 8 mẫu (công nghệ hóa học trước đó trong MiSeqDx Universal Kit 1.0 giới hạn ở tối thiểu 8 mẫu). Chi thị đơn lẻ này có các giá trị PPA là 98,9% (180/182) đối với SNV, 100% (38/38) đối với vùng chèn và 100% (46/46) đối với vùng xóa. NPA là 100% (23.856/23.856).

12 mẫu lặp (24 thư viện) của một mẫu đã được xét nghiệm để đo độ chính xác của chi thị với các biến thể sinh dưỡng ở tần số từ 0,05-0,10 bằng cách sử dụng Mô-đun biến thể sinh dưỡng (2 tổ hợp chi thị trên mỗi mẫu lặp được sử dụng để thực hiện các phát hiện sinh dưỡng). PPA là 100% đối với SNV (64/64), vùng chèn (11/11) và vùng xóa (19/19). NPA là 100% (ít nhất 11.590 vị trí tham chiếu cho mỗi tổ hợp chi thị) cho tất cả các tổ hợp chi thị.

Tồn đọng mẫu

Quy trình công việc của thiết bị MiSeqDx đòi hỏi phải chuẩn bị thư viện và giải trình tự nhiều mẫu cộng với các mẫu chứng được xử lý cùng một lúc. Nghiên cứu về tình trạng Tồn đọng mẫu được thực hiện để đánh giá xem kết quả dương tính giả, do tồn đọng từ việc nhiễm bẩn giữa các giếng trong quá trình chuẩn bị thư viện mẫu cũng như từ việc nhiễm bẩn giữa các lần chạy giải trình tự liên tiếp, có tác động đến kết quả xét nghiệm không. Các biến thể sinh dưỡng đã được sử dụng vì các biến thể này có thể được phát hiện ở các trường hợp có tần số alen thấp hơn so với các biến thể dòng mầm. Các mẫu bao gồm bốn mẫu ADN hệ gen từ các dòng tế bào, mỗi mẫu chứa các đột biến khác nhau trong một xét nghiệm đại diện hai gen. Các mẫu được bố trí sao cho một đột biến ở một vị trí trong gen này sẽ có một trình tự tham chiếu (thể đại) ở gen kia.

Tình trạng tồn đọng giữa các giếng là một chế độ lỗi có thể phát sinh từ các bước xử lý thủ công (sử dụng pipet, trộn mẫu, v.v.). Hai lần chạy thử nghiệm đã được thực hiện để đánh giá mức độ tồn đọng giữa các giếng mẫu:

- Bố cục bàn cờ của mẫu ADN hệ gen đầu vào cao (gADN) chứa đột biến ở Gen 1 xen kẽ với mẫu gADN đầu vào thấp chứa đột biến ở Gen 2.
- Bố cục bàn cờ của mẫu gADN đầu vào cao chứa đột biến ở Gen 2 xen kẽ với mẫu gADN đầu vào thấp chứa đột biến ở Gen 1.

Trong mỗi lần chạy, tổng cộng 12 mẫu lặp đã được đánh giá để tìm kết quả dương tính giả (ví dụ: đột biến Gen 1 được báo cáo trong một giếng được chỉ định là mẫu đột biến Gen 2 hoặc ngược lại).

Tồn đọng giữa các lần chạy được định nghĩa là chế độ lỗi có thể phát sinh từ phần dư trong lần chạy giải trình tự trước đó. Nhằm xác định xem có sự tồn đọng giữa các lần chạy giải trình tự hay không, hai khay - mỗi khay chứa 11 mẫu lặp của một mẫu gADN đầu vào cao duy nhất cùng với một mẫu trống - đã được chuẩn bị và giải trình tự liên tiếp trên một thiết bị MiSeqDx rồi được đánh giá để tìm kết quả dương tính giả. Lần chạy đầu tiên bao gồm 11 mẫu lặp của mẫu đột biến Gen 2 cùng với một mẫu trống. Lần chạy thứ hai bao gồm 11 mẫu lặp của mẫu đột biến Gen 1 cùng với 1 mẫu trống. Thư viện mẫu đột biến Gen 2 được giải trình tự trước, sau đó chạy giải trình tự thư viện mẫu đột biến Gen 1, rồi lặp lại một lần chạy giải trình tự khác đối với thư viện mẫu đột biến Gen 2. Nếu quan sát thấy bất kỳ đột biến Gen 2 nào trong lần chạy chỉ có đột biến Gen 1 và ngược lại, điều đó cho thấy có sự tồn đọng.

Báo cáo ghi nhận không có dương tính giả (0/24, 0%) do tồn đọng *giữa các giếng*. Đã phát hiện mọi đột biến dự kiến.
Báo cáo ghi nhận không có dương tính giả (0/24, 0%) do tồn đọng *giữa các lần chạy*. Đã phát hiện mọi đột biến dự kiến.
Báo cáo ghi nhận không có dương tính giả (0/48, 0%) do *tổng lượng tồn đọng* (kết hợp giữa các giếng và giữa các lần chạy).

Đặc điểm hiệu suất dòng mầm

Các nghiên cứu được mô tả trong tài liệu này đã sử dụng Mô-đun biến thể dòng mầm để phân tích dữ liệu giải trình tự, ngoại trừ nghiên cứu sử dụng bảng một gen trong đó mô-đun cho từng xét nghiệm được sử dụng.

Độ chính xác

Nghiên cứu sau đây được thực hiện để đánh giá độ chính xác của thiết bị MiSeqDx với MiSeqDx Reagent Kit v3 và ADN chất lượng cao. Nghiên cứu sử dụng một xét nghiệm đại diện được thiết kế để truy vấn nhiều loại gen bao gồm 12.588 base trên 23 nhiễm sắc thể khác nhau bằng 150 amplicon. Nhiễm sắc thể Y không chứa vùng tin cậy và không được đánh giá. 12 mẫu duy nhất được sử dụng trong nghiên cứu này là từ một gia đình - bố mẹ và 10 con - thường được giải trình tự bởi nhiều phòng thí nghiệm và bằng nhiều phương pháp giải trình tự. Có năm mẫu từ nữ giới và bảy mẫu từ nam giới. Mỗi mẫu được xét nghiệm hai lần. Độ chính xác được xác định đối với SNV, vùng chèn và vùng xóa bằng cách so sánh dữ liệu nghiên cứu với cơ sở dữ liệu tham chiếu có đặc điểm rõ ràng. Trình tự cơ sở dữ liệu tham chiếu (Hệ gen bạch kim phiên bản 2016-01) bắt nguồn từ sự kết hợp của nhiều phương pháp giải trình tự, dữ liệu có sẵn công khai và thông tin di truyền. Các vùng gen tin cậy được xác định dựa trên phương pháp tham chiếu này trừ khi có quy định khác. Tính tổng cộng, các mẫu đã được chạy 8 lần; các bảng được trình bày để thể hiện độ chính xác dựa trên dữ liệu từ lần chạy đầu tiên.

Bảng 1 bao gồm các dữ liệu nghiên cứu được trình bày với tỷ lệ phần trăm độ tương hợp dương và âm trên cơ sở mỗi mẫu, trong đó các kết quả biến thể được so sánh với phương pháp tham chiếu tổng hợp có đặc điểm rõ ràng để tính PPA. Ba loại biến thể (SNV, vùng chèn và vùng xóa) được kết hợp. Vì phương pháp tham chiếu chỉ cung cấp kết quả cho các biến thể nucleotide đơn và vùng chèn/vùng xóa, kết quả base không phải biến thể được so sánh với trình tự tham chiếu hệ gen người bản dụng hg19 để tính NPA.

Bảng 1 Độ tương hợp của kết quả phát hiện base của thiết bị MiSeqDx trên mỗi mẫu

| Mẫu | Tỷ lệ phát hiện trung bình | Tổng số biến thể | Tổng số biến thể TP | Tổng số biến thể FN | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện TN | PPA | NPA | OPA |
|---------|----------------------------|------------------|---------------------|---------------------|--------------------------------|--------------------------|-----|-----|-----|
| NA12877 | > 99,9 | 152 | 152 | 0 | 4 | 24024 | 100 | 100 | 100 |
| NA12878 | > 99,9 | 270 | 266 | 0 | 4 | 23856 | 100 | 100 | 100 |

| Mẫu | Tỷ lệ phát hiện trung bình | Tổng số biến thể | Tổng số biến thể TP | Tổng số biến thể FN | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện TN | PPA | NPA | OPA |
|---------|----------------------------|------------------|---------------------|---------------------|--------------------------------|--------------------------|------|-----|--------|
| NA12879 | > 99,9 | 192 | 190 | 1 | 1 | 24054 | 99,5 | 100 | > 99,9 |
| NA12880 | > 99,9 | 222 | 220 | 0 | 6 | 24052 | 100 | 100 | 100 |
| NA12881 | > 99,9 | 250 | 247 | 1 | 2 | 23862 | 99,6 | 100 | > 99,9 |
| NA12882 | > 99,9 | 200 | 196 | 2 | 2 | 23962 | 99,0 | 100 | > 99,9 |
| NA12883 | > 99,9 | 226 | 224 | 0 | 6 | 23870 | 100 | 100 | 100 |
| NA12884 | > 99,9 | 228 | 226 | 1 | 1 | 23942 | 99,6 | 100 | > 99,9 |
| NA12885 | > 99,9 | 244 | 240 | 2 | 2 | 23942 | 99,2 | 100 | > 99,9 |
| NA12886 | > 99,9 | 230 | 228 | 1 | 1 | 23888 | 99,6 | 100 | > 99,9 |
| NA12888 | > 99,9 | 216 | 216 | 0 | 4 | 24002 | 100 | 100 | 100 |
| NA12893 | > 99,9 | 236 | 234 | 0 | 2 | 23810 | 100 | 100 | 100 |

Xét nghiệm đại diện bao gồm 150 amplicon được thiết kế để bao gồm nhiều hàm lượng gen khác nhau. Hàm lượng GC của amplicon dao động từ 26-87%. Amplicon cũng có một loạt các trình tự nucleotide đơn (ví dụ: PolyA, PolyT), dinucleotide và trinucleotide lặp lại. Dữ liệu được tổng hợp trên cơ sở mỗi amplicon (Bảng 2) để xác định ảnh hưởng của hàm lượng hệ gen đối với % phát hiện chính xác. % phát hiện chính xác bao gồm số lần phát hiện biến thể và tham chiếu và nhỏ hơn 100% nếu có lần phát hiện không chính xác hoặc không có phát hiện. Trường hợp không có phát hiện xảy ra khi một hoặc nhiều bộ lọc không được đáp ứng cho việc phát hiện biến thể (ví dụ: phạm vi không đủ).

Trong số tám biến thể FN từ Bảng 2, bảy biến thể xảy ra với vùng chèn 1 bp trên amplicon 111 - amplicon này cũng chứa homopolyme PolyA và hàm lượng GC là 0,29. 1 FN còn lại (phát hiện không chính xác) là do SNV dị hợp tử dự kiến trên amplicon 125 với hàm lượng GC là 0,68, được phát hiện là biến thể đồng hợp tử. Tần số biến thể SNV là 0,71, cao hơn ngưỡng 0,70 để được phân loại là biến thể đồng hợp tử. Amplicon có % số lần phát hiện chính xác thấp nhất (98,2%) là amplicon 17 với 40 lần không có phát hiện và chứa trình tự lặp lại AT và hàm lượng GC là 27%.

Bảng 2 Độ chính xác cấp độ amplicon đối với thiết bị MiSeqDx

| Amplicon | Nhiệm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | % số lần phát hiện chính xác |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|--|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| 1 | 1 | 36450499 | 36450591 | 93 | 93 | Indel | 0,22 | 2232 | 0 | 0 | 100 |
| 2 | 1 | 109465122 | 109465200 | 79 | 79 | PolyA (5), PolyC (5), indel | 0,38 | 1896 | 0 | 0 | 100 |
| 3 | 1 | 218353867 | 218353957 | 91 | 91 | Indel | 0,4 | 2184 | 0 | 0 | 100 |
| 4 | 1 | 223906657 | 223906748 | 92 | 92 | Indel | 0,49 | 2208 | 0 | 0 | 100 |
| 5 | 1 | 228526602 | 228526682 | 81 | 81 | PolyG (5) | 0,69 | 1944 | 0 | 0 | 100 |
| 6 | 1 | 236372039 | 236372108 | 70 | 70 | PolyT (10), indel | 0,39 | 1680 | 0 | 0 | 100 |
| 7 | 1 | 247812041 | 247812128 | 88 | 88 | PolyA (5), CT(3), TAA(3), indel | 0,27 | 2112 | 0 | 0 | 100 |
| 8 | 2 | 55862774 | 55862863 | 90 | 90 | Indel | 0,28 | 2160 | 0 | 0 | 100 |
| 9 | 2 | 87003930 | 87004009 | 80 | 80 | Indel | 0,38 | 1920 | 0 | 0 | 100 |
| 10 | 2 | 177016721 | 177016805 | 85 | 81 | Không áp dụng | 0,65 | 1944 | 0 | 0 | 100 |
| 11 | 2 | 186625727 | 186625801 | 75 | 75 | PolyA (8) | 0,35 | 1800 | 0 | 0 | 100 |
| 12 | 2 | 190323504 | 190323591 | 88 | 88 | PolyT (5) | 0,42 | 2112 | 0 | 0 | 100 |
| 13 | 2 | 200796740 | 200796826 | 87 | 87 | PolyT (5), indel | 0,31 | 2088 | 0 | 0 | 100 |
| 14 | 2 | 212245049 | 212245139 | 91 | 91 | PolyT (5), PolyA (6), indel | 0,3 | 2184 | 0 | 0 | 100 |
| 15 | 2 | 228147052 | 228147144 | 93 | 93 | Không áp dụng | 0,43 | 2232 | 0 | 0 | 100 |
| 16 | 2 | 235016350 | 235016422 | 73 | 73 | PolyT (5), indel | 0,42 | 1752 | 0 | 0 | 100 |
| 17 | 3 | 4466229 | 4466321 | 93 | 93 | AT(3), indel | 0,27 | 2192 | 0 | 40 | 98,2 |
| 18 | 3 | 46620561 | 46620643 | 83 | 83 | Không áp dụng | 0,43 | 1992 | 0 | 0 | 100 |
| 19 | 3 | 49851331 | 49851400 | 70 | 70 | CT(3), indel | 0,49 | 1680 | 0 | 0 | 100 |
| 20 | 3 | 189713161 | 189713248 | 88 | 88 | PolyA (5), PolyT (5), PolyA (9), TG(3) | 0,41 | 2112 | 0 | 0 | 100 |
| 21 | 3 | 190106030 | 190106104 | 75 | 74 | Indel | 0,57 | 1774 | 0 | 2 | 99,9 |
| 22 | 4 | 2233667 | 2233744 | 78 | 78 | PolyA (6) | 0,26 | 1872 | 0 | 0 | 100 |
| 23 | 4 | 7780541 | 7780637 | 97 | 97 | PolyG (6), PolyT (5), PolyA (5) | 0,42 | 2328 | 0 | 0 | 100 |
| 24 | 4 | 15688604 | 15688681 | 78 | 78 | Không áp dụng | 0,29 | 1872 | 0 | 0 | 100 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | % số lần phát hiện chính xác |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| 25 | 4 | 56236521 | 56236586 | 66 | 62 | PolyA (5), indel | 0,36 | 1488 | 0 | 0 | 100 |
| 26 | 4 | 102839244 | 102839314 | 71 | 69 | PolyA (5) | 0,46 | 1656 | 0 | 0 | 100 |
| 27 | 4 | 164446743 | 164446804 | 62 | 62 | PolyA (7), indel | 0,27 | 1488 | 0 | 0 | 100 |
| 28 | 5 | 1882081 | 1882158 | 78 | 75 | Không áp dụng | 0,78 | 1800 | 0 | 0 | 100 |
| 29 | 5 | 14769061 | 14769144 | 84 | 84 | GT(3), CCA(3) | 0,62 | 2016 | 0 | 0 | 100 |
| 30 | 5 | 41069808 | 41069871 | 64 | 64 | Không áp dụng | 0,39 | 1536 | 0 | 0 | 100 |
| 31 | 5 | 74077114 | 74077196 | 83 | 83 | PolyA (6), indel | 0,3 | 1992 | 0 | 0 | 100 |
| 32 | 5 | 147475343 | 147475409 | 67 | 67 | PolyT (5) | 0,37 | 1608 | 0 | 0 | 100 |
| 33 | 5 | 149323731 | 149323821 | 91 | 91 | CT(4), AG(3) | 0,55 | 2184 | 0 | 0 | 100 |
| 34 | 5 | 155662213 | 155662287 | 75 | 75 | Indel | 0,43 | 1800 | 0 | 0 | 100 |
| 35 | 6 | 6318713 | 6318814 | 10 | 10 | PolyG (6) | 0,68 | 2448 | 0 | 0 | 100 |
| 36 | 6 | 24949983 | 24950074 | 92 | 92 | Indel | 0,63 | 2208 | 0 | 0 | 100 |
| 37 | 6 | 31084900 | 31084999 | 100 | 94 | GCT(5), indel | 0,61 | 2244 | 0 | 12 | 99,5 |
| 38 | 6 | 32147987 | 32148084 | 98 | 98 | PolyT (5), TCT(3), CTT(3) | 0,55 | 2352 | 0 | 0 | 100 |
| 39 | 6 | 32986864 | 32986958 | 95 | 95 | Indel | 0,53 | 2280 | 0 | 0 | 100 |
| 40 | 6 | 33408498 | 33408583 | 86 | 86 | PolyC (6) | 0,7 | 2064 | 0 | 0 | 100 |
| 41 | 6 | 41647401 | 41647495 | 95 | 94 | PolyG (5), indel | 0,61 | 2256 | 0 | 0 | 100 |
| 42 | 6 | 112435865 | 112435955 | 91 | 91 | PolyA (5) | 0,44 | 2184 | 0 | 0 | 100 |
| 43 | 7 | 22202076 | 22202148 | 73 | 73 | Không áp dụng | 0,44 | 1752 | 0 | 0 | 100 |
| 44 | 7 | 66276100 | 66276187 | 88 | 88 | Indel | 0,35 | 2112 | 0 | 0 | 100 |
| 45 | 7 | 77365735 | 77365821 | 87 | 87 | PolyA (7), AG(4) | 0,26 | 2088 | 0 | 0 | 100 |
| 46 | 7 | 110939946 | 110940030 | 85 | 85 | Indel | 0,38 | 2040 | 0 | 0 | 100 |
| 47 | 7 | 128533468 | 128533557 | 90 | 90 | PolyG (5), indel | 0,62 | 2160 | 0 | 0 | 100 |
| 48 | 7 | 149503875 | 149503965 | 91 | 91 | PolyG (6), PolyC (6), indel | 0,71 | 2184 | 0 | 0 | 100 |
| 49 | 7 | 154404519 | 154404599 | 81 | 66 | Không áp dụng | 0,31 | 1584 | 0 | 0 | 100 |
| 50 | 7 | 156476507 | 156476599 | 93 | 93 | Indel | 0,35 | 2232 | 0 | 0 | 100 |
| 51 | 8 | 1817312 | 1817394 | 83 | 83 | Không áp dụng | 0,42 | 1992 | 0 | 0 | 100 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | % số lần phát hiện chính xác |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| 52 | 8 | 24811020 | 24811109 | 90 | 89 | PolyG (7), CTC(4), indel | 0,61 | 2113 | 0 | 23 | 98,9 |
| 53 | 8 | 76518625 | 76518691 | 67 | 67 | Indel | 0,3 | 1608 | 0 | 0 | 100 |
| 54 | 9 | 103054909 | 103055006 | 98 | 98 | PolyG (6) | 0,67 | 2352 | 0 | 0 | 100 |
| 55 | 9 | 105586150 | 105586214 | 65 | 65 | Indel | 0,32 | 1560 | 0 | 0 | 100 |
| 56 | 9 | 107620823 | 107620918 | 96 | 96 | Không áp dụng | 0,49 | 2304 | 0 | 0 | 100 |
| 57 | 9 | 123769149 | 123769231 | 83 | 83 | AT(3) | 0,37 | 1992 | 0 | 0 | 100 |
| 58 | 9 | 138995345 | 138995441 | 97 | 97 | PolyC (6), indel | 0,68 | 2328 | 0 | 0 | 100 |
| 59 | 10 | 5987120 | 5987198 | 79 | 78 | PolyG (5), indel | 0,47 | 1872 | 0 | 0 | 100 |
| 60 | 10 | 11784629 | 11784726 | 98 | 91 | GC(3) | 0,87 | 2184 | 0 | 0 | 100 |
| 61 | 10 | 27317777 | 27317855 | 79 | 79 | PolyT (5) | 0,3 | 1896 | 0 | 0 | 100 |
| 62 | 10 | 33018351 | 33018440 | 90 | 90 | PolyA (5), PolyT (5) | 0,2 | 2160 | 0 | 0 | 100 |
| 63 | 10 | 45084159 | 45084253 | 95 | 95 | Indel | 0,35 | 2280 | 0 | 0 | 100 |
| 64 | 10 | 55892599 | 55892687 | 89 | 88 | AC(11), indel | 0,42 | 2102 | 0 | 10 | 99,5 |
| 65 | 10 | 101611250 | 101611329 | 80 | 80 | Không áp dụng | 0,49 | 1920 | 0 | 0 | 100 |
| 66 | 10 | 118351373 | 118351453 | 81 | 81 | Không áp dụng | 0,51 | 1944 | 0 | 0 | 100 |
| 67 | 11 | 8159816 | 8159912 | 97 | 96 | Không áp dụng | 0,45 | 2304 | 0 | 0 | 100 |
| 68 | 11 | 30177648 | 30177717 | 70 | 70 | Indel | 0,46 | 1680 | 0 | 0 | 100 |
| 69 | 11 | 47470345 | 47470444 | 100 | 100 | Không áp dụng | 0,65 | 2400 | 0 | 0 | 100 |
| 70 | 11 | 59837679 | 59837740 | 62 | 62 | Indel | 0,37 | 1488 | 0 | 0 | 100 |
| 71 | 11 | 64418856 | 64418957 | 102 | 102 | Không áp dụng | 0,59 | 2448 | 0 | 0 | 100 |
| 72 | 11 | 93529612 | 93529684 | 73 | 73 | PolyA (5) | 0,4 | 1752 | 0 | 0 | 100 |
| 73 | 11 | 101347052 | 101347136 | 85 | 85 | Không áp dụng | 0,42 | 2040 | 0 | 0 | 100 |
| 74 | 11 | 102477336 | 102477426 | 91 | 91 | PolyG (6) | 0,55 | 2184 | 0 | 0 | 100 |
| 75 | 11 | 118406285 | 118406369 | 85 | 85 | Indel | 0,53 | 2040 | 0 | 0 | 100 |
| 76 | 11 | 120357801 | 120357885 | 85 | 85 | PolyA (5), CA(3), indel | 0,34 | 2040 | 0 | 0 | 100 |
| 77 | 11 | 125769313 | 125769397 | 85 | 85 | GA(3) | 0,52 | 2040 | 0 | 0 | 100 |
| 78 | 12 | 2834770 | 2834853 | 84 | 84 | PolyC (5), indel | 0,52 | 2016 | 0 | 0 | 100 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | % số lần phát hiện chính xác |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|--|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| 79 | 12 | 26811004 | 26811096 | 93 | 93 | PolyA (7), AC(4) | 0,33 | 2232 | 0 | 0 | 100 |
| 80 | 12 | 30881766 | 30881846 | 81 | 81 | Không áp dụng | 0,49 | 1944 | 0 | 0 | 100 |
| 81 | 12 | 88474105 | 88474175 | 71 | 71 | PolyA (6) | 0,35 | 1704 | 0 | 0 | 100 |
| 82 | 12 | 120966872 | 120966966 | 95 | 95 | PolyG (5) | 0,68 | 2280 | 0 | 0 | 100 |
| 83 | 13 | 24167504 | 24167576 | 73 | 73 | Không áp dụng | 0,52 | 1752 | 0 | 0 | 100 |
| 84 | 13 | 25816961 | 25817049 | 89 | 88 | PolyA (5), PolyT (7), PolyA (7), indel | 0,22 | 2112 | 0 | 0 | 100 |
| 85 | 13 | 44880112 | 44880200 | 89 | 89 | Indel | 0,49 | 2136 | 0 | 0 | 100 |
| 86 | 13 | 77665218 | 77665294 | 77 | 77 | Indel | 0,39 | 1848 | 0 | 0 | 100 |
| 87 | 14 | 31619327 | 31619393 | 67 | 67 | GA(3),TA(3) | 0,39 | 1608 | 0 | 0 | 100 |
| 88 | 14 | 39517884 | 39517966 | 83 | 83 | Không áp dụng | 0,25 | 1992 | 0 | 0 | 100 |
| 89 | 14 | 46958962 | 46959034 | 73 | 72 | PolyT (5), indel | 0,19 | 1727 | 0 | 1 | 99,9 |
| 90 | 14 | 58050030 | 58050110 | 81 | 81 | Indel | 0,38 | 1944 | 0 | 0 | 100 |
| 91 | 14 | 82390559 | 82390649 | 91 | 91 | Indel | 0,35 | 2184 | 0 | 0 | 100 |
| 92 | 14 | 92549544 | 92549609 | 66 | 66 | PolyA (5) | 0,41 | 1584 | 0 | 0 | 100 |
| 93 | 14 | 102808496 | 102808589 | 94 | 94 | Indel | 0,62 | 2256 | 0 | 0 | 100 |
| 94 | 15 | 43170751 | 43170848 | 98 | 96 | PolyC (5) | 0,45 | 2304 | 0 | 0 | 100 |
| 95 | 15 | 63446149 | 63446216 | 68 | 68 | Indel | 0,25 | 1632 | 0 | 0 | 100 |
| 96 | 15 | 77879807 | 77879901 | 95 | 93 | PolyG (5), indel | 0,68 | 2232 | 0 | 0 | 100 |
| 97 | 15 | 81625334 | 81625428 | 95 | 95 | PolyT (6) | 0,43 | 2280 | 0 | 0 | 100 |
| 98 | 15 | 85438263 | 85438334 | 72 | 71 | Indel | 0,65 | 1704 | 0 | 0 | 100 |
| 99 | 15 | 89817413 | 89817503 | 91 | 91 | Không áp dụng | 0,36 | 2184 | 0 | 0 | 100 |
| 100 | 15 | 89864274 | 89864343 | 70 | 70 | Indel | 0,56 | 1680 | 0 | 0 | 100 |
| 101 | 16 | 1894910 | 1894972 | 63 | 63 | Không áp dụng | 0,27 | 1512 | 0 | 0 | 100 |
| 102 | 16 | 28997904 | 28997998 | 95 | 95 | PolyC (5) | 0,67 | 2280 | 0 | 0 | 100 |
| 103 | 16 | 53682908 | 53682994 | 87 | 87 | TA(3) | 0,41 | 2088 | 0 | 0 | 100 |
| 104 | 16 | 57954406 | 57954509 | 104 | 104 | PolyC (5) | 0,67 | 2496 | 0 | 0 | 100 |
| 105 | 16 | 85706375 | 85706465 | 91 | 91 | Poly T (5), indel | 0,37 | 2184 | 0 | 0 | 100 |
| 106 | 17 | 3563920 | 3564008 | 89 | 89 | GC(3) | 0,64 | 2136 | 0 | 0 | 100 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | % số lần phát hiện chính xác |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|--|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| 107 | 17 | 3594191 | 3594277 | 87 | 87 | PolyC (5), indel | 0,67 | 2088 | 0 | 0 | 100 |
| 108 | 17 | 3970090 | 3970180 | 91 | 91 | Indel | 0,46 | 2184 | 0 | 0 | 100 |
| 109 | 17 | 16084945 | 16085037 | 93 | 93 | Indel | 0,26 | 2232 | 0 | 0 | 100 |
| 110 | 17 | 33998759 | 33998849 | 91 | 89 | PolyT (5) | 0,54 | 2136 | 0 | 0 | 100 |
| 111 | 17 | 39589691 | 39589774 | 84 | 82 | PolyA (13), indel (x2) | 0,29 | 1944 | 7 | 17 | 98,8 |
| 112 | 17 | 41244394 | 41244484 | 91 | 91 | PolyA (5) | 0,34 | 2184 | 0 | 0 | 100 |
| 113 | 17 | 45438866 | 45438957 | 92 | 92 | PolyA (7), AT(3), AT (4), AT(4), indel | 0,26 | 2208 | 0 | 0 | 100 |
| 114 | 17 | 61502432 | 61502510 | 79 | 79 | Indel | 0,41 | 1887 | 0 | 9 | 99,5 |
| 115 | 17 | 64023582 | 64023667 | 86 | 86 | PolyT (7) | 0,22 | 2064 | 0 | 0 | 100 |
| 116 | 17 | 72308237 | 72308320 | 84 | 84 | GAG(3) | 0,62 | 2016 | 0 | 0 | 100 |
| 117 | 18 | 2616456 | 2616522 | 67 | 67 | GA(3) | 0,31 | 1608 | 0 | 0 | 100 |
| 118 | 18 | 6980478 | 6980568 | 91 | 91 | Không áp dụng | 0,37 | 2184 | 0 | 0 | 100 |
| 119 | 18 | 9888026 | 9888094 | 69 | 69 | PolyA (6), TG(3) | 0,43 | 1656 | 0 | 0 | 100 |
| 120 | 18 | 38836999 | 38837073 | 75 | 75 | PolyA (5), indel | 0,37 | 1800 | 0 | 0 | 100 |
| 121 | 18 | 47405382 | 47405462 | 81 | 81 | CTC(3), indel | 0,47 | 1944 | 0 | 0 | 100 |
| 122 | 18 | 54815665 | 54815749 | 85 | 85 | CT(3), indel | 0,45 | 2040 | 0 | 0 | 100 |
| 123 | 18 | 59773996 | 59774060 | 65 | 65 | Không áp dụng | 0,48 | 1560 | 0 | 0 | 100 |
| 124 | 19 | 625143 | 625241 | 99 | 99 | Không áp dụng | 0,59 | 2376 | 0 | 0 | 100 |
| 125 | 19 | 18121418 | 18121491 | 74 | 74 | Không áp dụng | 0,68 | 1775 | 1 | 0 | 99,9 |
| 126 | 19 | 18186574 | 18186643 | 70 | 70 | Không áp dụng | 0,64 | 1680 | 0 | 0 | 100 |
| 127 | 20 | 746056 | 746149 | 94 | 94 | Không áp dụng | 0,61 | 2256 | 0 | 0 | 100 |
| 128 | 20 | 10633195 | 10633276 | 82 | 82 | AC(3) | 0,59 | 1968 | 0 | 0 | 100 |
| 129 | 20 | 17705633 | 17705708 | 76 | 76 | CT(3) | 0,58 | 1824 | 0 | 0 | 100 |
| 130 | 20 | 21766821 | 21766890 | 70 | 70 | GT(3),TG(4), indel | 0,46 | 1680 | 0 | 0 | 100 |
| 131 | 20 | 25278421 | 25278521 | 101 | 101 | Indel | 0,63 | 2424 | 0 | 0 | 100 |
| 132 | 20 | 50897302 | 50897368 | 67 | 67 | Indel | 0,36 | 1608 | 0 | 0 | 100 |
| 133 | 20 | 62331904 | 62331994 | 91 | 88 | PolyG (6) | 0,73 | 2112 | 0 | 0 | 100 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | % số lần phát hiện chính xác |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| 134 | 20 | 62690860 | 62690946 | 87 | 87 | Indel | 0,57 | 2088 | 0 | 0 | 100 |
| 135 | 21 | 30300823 | 30300888 | 66 | 66 | Indel | 0,35 | 1584 | 0 | 0 | 100 |
| 136 | 21 | 33694176 | 33694273 | 98 | 98 | PolyT (6), CA(3) | 0,54 | 2352 | 0 | 0 | 100 |
| 137 | 21 | 36710706 | 36710792 | 87 | 87 | GT(3), indel | 0,39 | 2088 | 0 | 0 | 100 |
| 138 | 21 | 46644924 | 46644992 | 69 | 69 | PolyA (6), AG(3), indel | 0,32 | 1656 | 0 | 0 | 100 |
| 139 | 21 | 46705575 | 46705664 | 90 | 90 | PolyT (5), PolyA (6) | 0,5 | 2160 | 0 | 0 | 100 |
| 140 | 22 | 25750774 | 25750873 | 100 | 100 | Indel | 0,63 | 2400 | 0 | 0 | 100 |
| 141 | 22 | 32439233 | 32439329 | 97 | 97 | Không áp dụng | 0,68 | 2328 | 0 | 0 | 100 |
| 142 | 22 | 37409844 | 37409940 | 97 | 97 | Indel | 0,46 | 2328 | 0 | 0 | 100 |
| 143 | 22 | 37637596 | 37637694 | 99 | 99 | Không áp dụng | 0,6 | 2376 | 0 | 0 | 100 |
| 144 | 22 | 47081347 | 47081438 | 92 | 92 | Indel | 0,66 | 2208 | 0 | 0 | 100 |
| 145 | X | 15870424 | 15870492 | 69 | 69 | PolyT (5) | 0,26 | 1656 | 0 | 0 | 100 |
| 146 | X | 135288543 | 135288611 | 69 | 69 | PolyC (5) | 0,62 | 1656 | 0 | 0 | 100 |
| 147 | X | 135290777 | 135290847 | 71 | 71 | Không áp dụng | 0,52 | 1704 | 0 | 0 | 100 |
| 148 | Y | 2655397 | 2655461 | 65 | 0 | Không áp dụng | 0,55 | 0 | 0 | 0 | Không áp dụng |
| 149 | Y | 2655519 | 2655609 | 91 | 0 | Không áp dụng | 0,48 | 0 | 0 | 0 | Không áp dụng |
| 150 | Y | 2655609 | 2655679 | 71 | 0 | PolyA (5) | 0,37 | 0 | 0 | 0 | Không áp dụng |

Các biến thể không có phát hiện được tóm tắt trong [Bảng 3](#). Các bộ lọc cụ thể dẫn đến trường hợp không có phát hiện được liệt kê trong bảng. Vùng chèn trên amplicon 111 đã được lọc cho 9 trong số 16 lần xuất hiện với 7 lần xuất hiện còn lại được phát hiện là tham chiếu và do đó là FN.

Bảng 3 Tóm tắt các biến thể thuộc dạng không phát hiện đột biến

| Số amplicon | Chr:Pos | Biến thể | Hàm lượng amplicon tương ứng | Bộ lọc | Biến thể bị bỏ sót | Biến thể theo dự kiến | Số lần phát hiện FN |
|-------------|-------------|----------|------------------------------|-------------------|--------------------|-----------------------|---------------------|
| 64 | 10:55892600 | TAC > T | AC(11), GC 42% | R5x9 ¹ | 10 | 10 | 0 |
| 111 | 17:39589692 | C > CA | PolyA (13), GC 29% | R5x9 | 9 | 16 | 7 |

¹ R5x9: Lặp lại bộ lọc. Biến thể được lọc nếu tất cả hoặc một phần biến thể xuất hiện lặp đi lặp lại trong hệ gen tham chiếu liền kề với vị trí biến thể. Cần ít nhất 9 trình tự lặp lại trong tham chiếu và chỉ xét những trình tự lặp lại có độ dài tối đa 5 bp.

Kết quả giải trình tự cho mẫu NA12878 được so sánh với một kiểu gen có độ tin cậy cao đối với NA12878, do Viện Tiêu chuẩn và Công nghệ Quốc gia (NIST) thiết lập (v.2.19). Trong số 150 amplicon, 92 amplicon nằm trọn trong vùng hệ gen có độ tin cậy cao, 41 amplicon có sự chồng lấn một phần và 17 amplicon không có sự chồng lấn trong trình tự NIST. Điều này dẫn đến 10.000 tọa độ trên mỗi mẫu lặp để so sánh. Phát hiện base không phải biến thể được so sánh với trình tự tham chiếu hệ gen người (bản dựng 19). Kết quả về độ chính xác được thể hiện trong [Bảng 4](#).

Bảng 4 Độ tương hợp giữa kết quả phát hiện base của thiết bị MiSeqDx cho mẫu NA12878 với cơ sở dữ liệu NIST

| Mẫu | Số amplicon | Tỷ lệ phát hiện trung bình | Tổng số biến thể TP | Tổng số biến thể FN | Tổng số lần phát hiện TN | Tổng số lần phát hiện FP | PPA | NPA | OPA |
|---------|-------------|----------------------------|---------------------|---------------------|--------------------------|--------------------------|-----|-----|-----|
| NA12878 | 133 | 99,98 | 208 | 0 | 19380 | 0 | 100 | 100 | 100 |

Các mẫu đã được phân tích thêm để phát hiện vùng chèn và xóa nhỏ (indel) ([Bảng 5](#)). Trong một số trường hợp, indel này phổ biến trong hai mẫu trở lên như được phản ánh trong cột Tổng số mẫu lặp của mẫu có indel. Kết quả cho cả hai mẫu lặp của 12 mẫu hợp lệ được đưa vào [Bảng 5](#). Có tổng cộng 71 indel có kích thước từ 1-24 bp đối với vùng chèn và 1-25 bp đối với vùng xóa. Có 69 indel mà mỗi indel trong số đó được phát hiện với phần trăm độ tương hợp dương là 100%. Một lần xóa (khuếch đại 64; xóa 2 bp (chr10 55892600 TAC>T) không có phát hiện chính xác vì mỗi biến thể trong số này đều là không phát hiện được do bộ lọc R5x9. Do đó, không thể tính toán PPA, loại trừ không phát hiện được. Một indel khác, chèn 1 bp (chr17 39589692 C>CA trên khuếch đại 111), cũng không có phát hiện chính xác vì chín biến thể là không phát hiện được do bộ lọc R5x9 và bảy biến thể là phát hiện FN.

Bảng 5 Tóm tắt về khả năng phát hiện indel bằng thiết bị MiSeqDx

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Vị trí | Kích thước phân đoạn được phân tích | Loại và chiều dài của indel trên amplicon | Indel | Tổng số mẫu lặp có indel | Số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện indel không chính xác | Tổng số lần phát hiện indel chính xác | PPA |
|----------|---------------|-----------|-------------------------------------|---|------------------------------|--------------------------|---------------------------|---|---------------------------------------|-----|
| 1 | 1 | 36450544 | 93 | Vùng xóa 25 bp | GAAAATTTAATGAAACACATTGTCCT>G | 2 | 0 | 0 | 2 | 100 |
| 2 | 1 | 109465165 | 79 | Vùng xóa 3 bp | ACTT>A | 12 | 0 | 0 | 12 | 100 |
| 3 | 1 | 218353908 | 91 | Vùng chèn 23 bp | T>TTTTAATAGCAAAAAGAGGCTAGA | 24 | 0 | 0 | 24 | 100 |
| 4 | 1 | 223906701 | 92 | Vùng xóa 17 bp | GACAGACTGTGAGGAAGA>G | 10 | 0 | 0 | 10 | 100 |
| 6 | 1 | 236372081 | 70 | Vùng chèn 5 bp | C>CTTAAG | 10 | 0 | 0 | 10 | 100 |
| 7 | 1 | 247812083 | 88 | Vùng chèn 3 bp | C>CATG | 10 | 0 | 0 | 10 | 100 |
| 8 | 2 | 55862804 | 90 | Vùng chèn 7 bp | T>TTTGGTAA | 14 | 0 | 0 | 14 | 100 |
| 9 | 2 | 87003972 | 80 | Vùng xóa 6 bp | TTATCTC>T | 6 | 0 | 0 | 6 | 100 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Vị trí | Kích thước phân đoạn được phân tích | Loại và chiều dài của indel trên amplicon | Indel | Tổng số mẫu lập có indel | Số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện indel không chính xác | Tổng số lần phát hiện indel chính xác | PPA |
|----------|---------------|-----------|-------------------------------------|---|------------------------------|--------------------------|---------------------------|---|---------------------------------------|---------------|
| 13 | 2 | 200796749 | 87 | Vùng chèn 5 bp | T>TTAAAA | 24 | 0 | 0 | 24 | 100 |
| 14 | 2 | 212245090 | 91 | Vùng chèn 12 bp | C>CTGAAAATAGGAT | 14 | 0 | 0 | 14 | 100 |
| 16 | 2 | 235016388 | 73 | Vùng chèn 2 bp | A>ATG | 12 | 0 | 0 | 12 | 100 |
| 17 | 3 | 4466274 | 93 | Vùng xóa 23 bp | TAACCTAAAATTACAAAATAACCC>T | 2 | 0 | 0 | 2 | 100 |
| 19 | 3 | 49851375 | 70 | Vùng chèn 9 bp | C>CCTGGCTCCT | 4 | 0 | 0 | 4 | 100 |
| 21 | 3 | 190106071 | 75 | Vùng xóa 1 bp | AG>A | 20 | 0 | 0 | 20 | 100 |
| 25 | 4 | 56236567 | 66 | Vùng xóa 8 bp | TAACCGAAA>T | 12 | 0 | 0 | 12 | 100 |
| 27 | 4 | 164446785 | 62 | Vùng chèn 11 bp | T>TTATGGTATTGA | 12 | 0 | 0 | 12 | 100 |
| 31 | 5 | 74077155 | 83 | Vùng xóa 4 bp | TAGTA>T | 10 | 0 | 0 | 10 | 100 |
| 34 | 5 | 155662255 | 75 | Vùng chèn 8 bp | G>GCCTACTGA | 20 | 0 | 0 | 20 | 100 |
| 36 | 6 | 24950035 | 92 | Vùng xóa 21 bp | CCCTGGGTGCTATAGCCCACCA>C | 10 | 0 | 0 | 10 | 100 |
| 37 | 6 | 31084942 | 100 | Vùng xóa 3 bp | GCTT>G | 14 | 0 | 0 | 14 | 100 |
| 39 | 6 | 32986905 | 95 | Vùng xóa 25 bp | CTTTCACCTTCCCGTCTCATGCAAAG>C | 12 | 0 | 0 | 12 | 100 |
| 41 | 6 | 41647442 | 95 | Vùng xóa 23 bp | GGCATGAGGCTTGGTGACATGGCA>G | 8 | 0 | 0 | 8 | 100 |
| 44 | 7 | 66276142 | 88 | Vùng chèn 1 bp | C>CT | 16 | 0 | 0 | 16 | 100 |
| 46 | 7 | 110939983 | 85 | Vùng xóa 4 bp | CAAGT>C | 12 | 0 | 0 | 12 | 100 |
| 47 | 7 | 128533514 | 90 | Vùng chèn 1 bp | T>TC | 24 | 0 | 0 | 24 | 100 |
| 48 | 7 | 149503916 | 91 | Vùng xóa 4 bp | GGATA>G | 8 | 0 | 0 | 8 | 100 |
| 50 | 7 | 156476548 | 93 | Vùng xóa 11 bp | GAATCTGCACTT>G | 12 | 0 | 0 | 12 | 100 |
| 52 | 8 | 24811064 | 90 | Vùng xóa 1 bp | AG>A | 24 | 0 | 0 | 24 | 100 |
| 53 | 8 | 76518677 | 67 | Vùng chèn 4 bp | T>TACTG | 14 | 0 | 0 | 14 | 100 |
| 55 | 9 | 105586193 | 65 | Vùng chèn 4 bp | C>CAATT | 2 | 0 | 0 | 2 | 100 |
| 58 | 9 | 138995370 | 97 | Vùng xóa 21 bp | TCTGGGGGGCAGCCCCTGAGGG>T | 14 | 0 | 0 | 14 | 100 |
| 59 | 10 | 5987158 | 79 | Vùng xóa 3 bp | TAAC>T | 10 | 0 | 0 | 10 | 100 |
| 63 | 10 | 45084202 | 95 | Vùng xóa 16 bp | AGCGTCTATAACCAAAT>A | 12 | 0 | 0 | 12 | 100 |
| 64 | 10 | 55892600 | 89 | Vùng xóa 2 bp | TAC>T | 10 | 10 | 0 | 0 | Không áp dụng |
| 68 | 11 | 30177690 | 70 | Vùng chèn 2 bp | C>CTG | 10 | 0 | 0 | 10 | 100 |
| 70 | 11 | 59837721 | 62 | Vùng chèn 8 bp | T>TTATGAAAA | 12 | 0 | 0 | 12 | 100 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Vị trí | Kích thước phân đoạn được phân tích | Loại và chiều dài của indel trên amplicon | Indel | Tổng số mẫu lặp có indel | Số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện indel không chính xác | Tổng số lần phát hiện indel chính xác | PPA |
|----------|---------------|-----------|-------------------------------------|---|------------------------------|--------------------------|---------------------------|---|---------------------------------------|-----|
| 75 | 11 | 118406328 | 85 | Vùng xóa 8 bp | CAGTGTGGA>C | 10 | 0 | 0 | 10 | 100 |
| 76 | 11 | 120357842 | 85 | Vùng xóa 2 bp | CTT>C | 10 | 0 | 0 | 10 | 100 |
| 78 | 12 | 2834814 | 84 | Vùng chèn 21 bp | T>TTCTCAGTACGGTGAACCCAG | 24 | 0 | 0 | 24 | 100 |
| 84 | 13 | 25817002 | 89 | Vùng chèn 19 bp | C>CAAAATATAAAAAGCTCCCT | 24 | 0 | 0 | 24 | 100 |
| 85 | 13 | 44880152 | 89 | Vùng chèn 4 bp | C>CCTGT | 12 | 0 | 0 | 12 | 100 |
| 86 | 13 | 77665265 | 77 | Vùng xóa 20 bp | ATCTATTTTCTAATAGACGGC>A | 14 | 0 | 0 | 14 | 100 |
| 89 | 14 | 46958967 | 73 | Vùng xóa 22 bp | TTTAAAATTTGAATGTGATAAAA>T | 24 | 0 | 0 | 24 | 100 |
| 90 | 14 | 58050081 | 81 | Vùng chèn 4 bp | C>CTGAT | 20 | 0 | 0 | 20 | 100 |
| 91 | 14 | 82390602 | 91 | Vùng xóa 16 bp | CTTGCTCTATAAACCGT>C | 10 | 0 | 0 | 10 | 100 |
| 93 | 14 | 102808554 | 94 | Vùng xóa 5 bp | CGTGGA>C | 10 | 0 | 0 | 10 | 100 |
| 95 | 15 | 63446199 | 68 | Vùng xóa 6 bp | CAAATT>C | 12 | 0 | 0 | 12 | 100 |
| 96 | 15 | 77879862 | 95 | Vùng xóa 25 bp | GCCCCTGAGCCAGCCTCCCGCTCTTA>G | 14 | 0 | 0 | 14 | 100 |
| 98 | 15 | 85438311 | 72 | Vùng chèn 3 bp | C>CTTG | 8 | 0 | 0 | 8 | 100 |
| 100 | 15 | 89864316 | 70 | Vùng chèn 4 bp | G>GCTAC | 8 | 0 | 0 | 8 | 100 |
| 105 | 16 | 85706416 | 91 | Vùng xóa 7 bp | ATTATTTTC>A | 16 | 0 | 0 | 16 | 100 |
| 107 | 17 | 3594276 | 87 | Vùng xóa 1 bp | TG>T | 2 | 0 | 0 | 2 | 100 |
| 108 | 17 | 3970133 | 91 | Vùng chèn 18 bp | A>ATCCTATTCTACTCTGAAT | 10 | 0 | 0 | 10 | 100 |
| 109 | 17 | 16084985 | 93 | Vùng chèn 4 bp | A>AACAC | 10 | 0 | 0 | 10 | 100 |
| 111 | 17 | 39589692 | 84 | Vùng chèn 1 bp | C>CA | 16 | 9 | 7 | 0 | 0 |
| 112 | 17 | 39589739 | 84 | Vùng chèn 24 bp | T>TTCTGAAGGTCAAGTCTATCCCTGA | 24 | 0 | 0 | 24 | 100 |
| 113 | 17 | 45438886 | 92 | Vùng xóa 4 bp | CAGTG>C | 12 | 0 | 0 | 12 | 100 |
| 114 | 17 | 61502459 | 79 | Vùng xóa 12 bp | TTTGTATCTGCTG>T | 20 | 0 | 0 | 20 | 100 |
| 120 | 18 | 38837054 | 75 | Vùng chèn 22 bp | T>TGTATCTTAGCAAAAGTTTCTCA | 24 | 0 | 0 | 24 | 100 |
| 121 | 18 | 47405425 | 81 | Vùng chèn 3 bp | T>TGAG | 20 | 0 | 0 | 20 | 100 |
| 122 | 18 | 54815706 | 85 | Vùng xóa 2 bp | ACT>A | 20 | 0 | 0 | 20 | 100 |
| 130 | 20 | 21766863 | 70 | Vùng xóa 15 bp | TACTTGAGAACTGAGG>T | 4 | 0 | 0 | 4 | 100 |
| 131 | 20 | 25278464 | 101 | Vùng chèn 5 bp | A>AGTGGG | 20 | 0 | 0 | 20 | 100 |
| 132 | 20 | 50897361 | 67 | Vùng chèn 11 bp | G>GGAATGTACGCC | 24 | 0 | 0 | 24 | 100 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Vị trí | Kích thước phân đoạn được phân tích | Loại và chiều dài của indel trên amplicon | Indel | Tổng số mẫu lặp có indel | Số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện indel không chính xác | Tổng số lần phát hiện indel chính xác | PPA |
|----------|---------------|----------|-------------------------------------|---|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---|---------------------------------------|-----|
| 134 | 20 | 62690925 | 87 | Vùng xóa 16 bp | TCCTGGCTGGCCTGTGG>T | 10 | 0 | 0 | 10 | 100 |
| 135 | 21 | 30300873 | 66 | Vùng chèn 11 bp | G>GATAAACTTTA | 10 | 0 | 0 | 10 | 100 |
| 137 | 21 | 36710749 | 87 | Vùng xóa 21 bp | ACTCAAGATAACTCATGTTATC>A | 16 | 0 | 0 | 16 | 100 |
| 138 | 21 | 46644985 | 69 | Vùng xóa 5 bp | GTTGTT>G | 8 | 0 | 0 | 8 | 100 |
| 140 | 22 | 25750814 | 100 | Vùng chèn 6 bp | C>CAGGGCA | 20 | 0 | 0 | 20 | 100 |
| 142 | 22 | 37409885 | 97 | Vùng chèn 5 bp | C>CTGTTT | 2 | 0 | 0 | 2 | 100 |
| 144 | 22 | 47081407 | 92 | Vùng xóa 10 bp | GGGCACAGGCA>G | 12 | 0 | 0 | 12 | 100 |

Khả năng tái lập

Hai nghiên cứu đã được thực hiện để đánh giá khả năng tái lập của thiết bị MiSeqDx với các dòng tế bào (nghiên cứu 1 và 2) hoặc máu bị suy giảm bạch cầu được thêm các dòng tế bào (nghiên cứu 2). Nghiên cứu 1 sử dụng nhiều thiết bị. Nghiên cứu 2 có nhiều địa điểm.

Nghiên cứu 1

Khả năng tái lập của thiết bị MiSeqDx được xác định bằng cách sử dụng hai thiết bị và giao cho hai người vận hành, cùng hai lô thuốc thử trong tổng cộng tám lần chạy. Xét nghiệm đại diện, mẫu và phương pháp tham chiếu giống như thông tin mô tả cho nghiên cứu về độ chính xác.

Kết quả được trình bày trên cơ sở mỗi amplicon cho mỗi thiết bị ([Bảng 6](#)) để chứng minh khả năng tái lập của việc phát hiện trên các thiết bị. % số lần phát hiện chính xác bao gồm cả lần phát hiện không chính xác và lần không có phát hiện (một hoặc nhiều bộ lọc không được đáp ứng cho việc phát hiện biến thể). Các thiết bị tạo ra số lần không có phát hiện và phát hiện không chính xác tương tự tùy theo amplicon cụ thể.

Bảng 6 Kết quả nghiên cứu về khả năng tái lập giữa các thiết bị đối với thiết bị MiSeqDx (cấp độ Amplicon)

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 1 | 1 | 36450499 | 36450591 | 93 | 93 | Indel | 0,22 | 8928 | 0 | 0 | 8928 | 0 | 0 |
| 2 | 1 | 109465122 | 109465200 | 79 | 79 | PolyA (5), PolyC (5), indel | 0,38 | 7584 | 0 | 0 | 7584 | 0 | 0 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|--|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 3 | 1 | 218353867 | 218353957 | 91 | 91 | Indel | 0,4 | 8736 | 0 | 0 | 8736 | 0 | 0 |
| 4 | 1 | 223906657 | 223906748 | 92 | 92 | Indel | 0,49 | 8832 | 0 | 0 | 8832 | 0 | 0 |
| 5 | 1 | 228526602 | 228526682 | 81 | 81 | PolyG (5) | 0,69 | 7776 | 0 | 0 | 7776 | 0 | 0 |
| 6 | 1 | 236372039 | 236372108 | 70 | 70 | PolyT (10), indel | 0,39 | 6720 | 0 | 0 | 6720 | 0 | 0 |
| 7 | 1 | 247812041 | 247812128 | 88 | 88 | PolyA (5), CT (3), TAA(3), indel | 0,27 | 8448 | 0 | 0 | 8448 | 0 | 0 |
| 8 | 2 | 55862774 | 55862863 | 90 | 90 | Indel | 0,28 | 8640 | 0 | 0 | 8640 | 0 | 0 |
| 9 | 2 | 87003930 | 87004009 | 80 | 80 | Indel | 0,38 | 7680 | 0 | 0 | 7680 | 0 | 0 |
| 10 | 2 | 177016721 | 177016805 | 85 | 81 | Không áp dụng | 0,65 | 7775 | 1 | 0 | 7775 | 1 | 0 |
| 11 | 2 | 186625727 | 186625801 | 75 | 75 | PolyA (8) | 0,35 | 7200 | 0 | 0 | 7200 | 0 | 0 |
| 12 | 2 | 190323504 | 190323591 | 88 | 88 | PolyT (5) | 0,42 | 8448 | 0 | 0 | 8448 | 0 | 0 |
| 13 | 2 | 200796740 | 200796826 | 87 | 87 | PolyT (5), indel | 0,31 | 8352 | 0 | 0 | 8352 | 0 | 0 |
| 14 | 2 | 212245049 | 212245139 | 91 | 91 | PolyT (5), PolyA (6), indel | 0,3 | 8736 | 0 | 0 | 8736 | 0 | 0 |
| 15 | 2 | 228147052 | 228147144 | 93 | 93 | Không áp dụng | 0,43 | 8928 | 0 | 0 | 8928 | 0 | 0 |
| 16 | 2 | 235016350 | 235016422 | 73 | 73 | PolyT (5), indel | 0,42 | 7008 | 0 | 0 | 7008 | 0 | 0 |
| 17 | 3 | 4466229 | 4466321 | 93 | 93 | AT(3), indel | 0,27 | 8761 | 0 | 167 | 8760 | 0 | 168 |
| 18 | 3 | 46620561 | 46620643 | 83 | 83 | Không áp dụng | 0,43 | 7968 | 0 | 0 | 7968 | 0 | 0 |
| 19 | 3 | 49851331 | 49851400 | 70 | 70 | CT(3), indel | 0,49 | 6720 | 0 | 0 | 6720 | 0 | 0 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|--|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 20 | 3 | 189713161 | 189713248 | 88 | 88 | PolyA (5), PolyT (5), PolyA (9), TG(3) | 0,41 | 8448 | 0 | 0 | 8448 | 0 | 0 |
| 21 | 3 | 190106030 | 190106104 | 75 | 74 | Indel | 0,57 | 7096 | 0 | 8 | 7096 | 0 | 8 |
| 22 | 4 | 2233667 | 2233744 | 78 | 78 | PolyA (6) | 0,26 | 7488 | 0 | 0 | 7488 | 0 | 0 |
| 23 | 4 | 7780541 | 7780637 | 97 | 97 | PolyG (6), PolyT (5), PolyA (5) | 0,42 | 9312 | 0 | 0 | 9312 | 0 | 0 |
| 24 | 4 | 15688604 | 15688681 | 78 | 78 | Không áp dụng | 0,29 | 7488 | 0 | 0 | 7488 | 0 | 0 |
| 25 | 4 | 56236521 | 56236586 | 66 | 62 | PolyA (5), indel | 0,36 | 5952 | 0 | 0 | 5952 | 0 | 0 |
| 26 | 4 | 102839244 | 102839314 | 71 | 69 | PolyA (5) | 0,46 | 6624 | 0 | 0 | 6624 | 0 | 0 |
| 27 | 4 | 164446743 | 164446804 | 62 | 62 | PolyA (7), indel | 0,27 | 5952 | 0 | 0 | 5952 | 0 | 0 |
| 28 | 5 | 1882081 | 1882158 | 78 | 75 | Không áp dụng | 0,78 | 7200 | 0 | 0 | 7200 | 0 | 0 |
| 29 | 5 | 14769061 | 14769144 | 84 | 84 | GT(3), CCA (3) | 0,62 | 8064 | 0 | 0 | 8064 | 0 | 0 |
| 30 | 5 | 41069808 | 41069871 | 64 | 64 | Không áp dụng | 0,39 | 6144 | 0 | 0 | 6144 | 0 | 0 |
| 31 | 5 | 74077114 | 74077196 | 83 | 83 | PolyA (6), indel | 0,3 | 7968 | 0 | 0 | 7968 | 0 | 0 |
| 32 | 5 | 147475343 | 147475409 | 67 | 67 | PolyT (5) | 0,37 | 6432 | 0 | 0 | 6432 | 0 | 0 |
| 33 | 5 | 149323731 | 149323821 | 91 | 91 | CT(4), AG(3) | 0,55 | 8736 | 0 | 0 | 8736 | 0 | 0 |
| 34 | 5 | 155662213 | 155662287 | 75 | 75 | Indel | 0,43 | 7200 | 0 | 0 | 7200 | 0 | 0 |
| 35 | 6 | 6318713 | 6318814 | 102 | 102 | PolyG (6) | 0,68 | 9792 | 0 | 0 | 9792 | 0 | 0 |
| 36 | 6 | 24949983 | 24950074 | 92 | 92 | Indel | 0,63 | 8832 | 0 | 0 | 8832 | 0 | 0 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 37 | 6 | 31084900 | 31084999 | 100 | 94 | GCT(5), indel | 0,61 | 8979 | 0 | 45 | 8979 | 0 | 45 |
| 38 | 6 | 32147987 | 32148084 | 98 | 98 | PolyT (5), TCT(3), CTT (3) | 0,55 | 9408 | 0 | 0 | 9408 | 0 | 0 |
| 39 | 6 | 32986864 | 32986958 | 95 | 95 | Indel | 0,53 | 9120 | 0 | 0 | 9120 | 0 | 0 |
| 40 | 6 | 33408498 | 33408583 | 86 | 86 | PolyC (6) | 0,7 | 8256 | 0 | 0 | 8256 | 0 | 0 |
| 41 | 6 | 41647401 | 41647495 | 95 | 94 | PolyG (5), indel | 0,61 | 9024 | 0 | 0 | 9024 | 0 | 0 |
| 42 | 6 | 112435865 | 112435955 | 91 | 91 | PolyA (5) | 0,44 | 8736 | 0 | 0 | 8736 | 0 | 0 |
| 43 | 7 | 22202076 | 22202148 | 73 | 73 | Không áp dụng | 0,44 | 7008 | 0 | 0 | 7008 | 0 | 0 |
| 44 | 7 | 66276100 | 66276187 | 88 | 88 | Indel | 0,35 | 8448 | 0 | 0 | 8448 | 0 | 0 |
| 45 | 7 | 77365735 | 77365821 | 87 | 87 | PolyA (7), AG(4) | 0,26 | 8352 | 0 | 0 | 8352 | 0 | 0 |
| 46 | 7 | 110939946 | 110940030 | 85 | 85 | Indel | 0,38 | 8160 | 0 | 0 | 8160 | 0 | 0 |
| 47 | 7 | 128533468 | 128533557 | 90 | 90 | PolyG (5), indel | 0,62 | 8550 | 0 | 90 | 8550 | 0 | 90 |
| 48 | 7 | 149503875 | 149503965 | 91 | 91 | PolyG (6), PolyC (6), indel | 0,71 | 8736 | 0 | 0 | 8736 | 0 | 0 |
| 49 | 7 | 154404519 | 154404599 | 81 | 66 | Không áp dụng | 0,31 | 6336 | 0 | 0 | 6336 | 0 | 0 |
| 50 | 7 | 156476507 | 156476599 | 93 | 93 | Indel | 0,35 | 8928 | 0 | 0 | 8928 | 0 | 0 |
| 51 | 8 | 1817312 | 1817394 | 83 | 83 | Không áp dụng | 0,42 | 7968 | 0 | 0 | 7968 | 0 | 0 |
| 52 | 8 | 24811020 | 24811109 | 90 | 89 | PolyG (7), CTC(4), indel | 0,61 | 8452 | 0 | 92 | 8449 | 0 | 95 |
| 53 | 8 | 76518625 | 76518691 | 67 | 67 | Indel | 0,3 | 6432 | 0 | 0 | 6432 | 0 | 0 |
| 54 | 9 | 103054909 | 103055006 | 98 | 98 | PolyG (6) | 0,67 | 9408 | 0 | 0 | 9408 | 0 | 0 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 55 | 9 | 105586150 | 105586214 | 65 | 65 | Indel | 0,32 | 6240 | 0 | 0 | 6240 | 0 | 0 |
| 56 | 9 | 107620823 | 107620918 | 96 | 96 | Không áp dụng | 0,49 | 9216 | 0 | 0 | 9216 | 0 | 0 |
| 57 | 9 | 123769149 | 123769231 | 83 | 83 | AT(3) | 0,37 | 7968 | 0 | 0 | 7968 | 0 | 0 |
| 58 | 9 | 138995345 | 138995441 | 97 | 97 | PolyC (6), indel | 0,68 | 9312 | 0 | 0 | 9312 | 0 | 0 |
| 59 | 10 | 5987120 | 5987198 | 79 | 78 | PolyG (5), indel | 0,47 | 7488 | 0 | 0 | 7488 | 0 | 0 |
| 60 | 10 | 11784629 | 11784726 | 98 | 91 | GC(3) | 0,87 | 8644 | 1 | 91 | 8644 | 1 | 91 |
| 61 | 10 | 27317777 | 27317855 | 79 | 79 | PolyT (5) | 0,3 | 7584 | 0 | 0 | 7584 | 0 | 0 |
| 62 | 10 | 33018351 | 33018440 | 90 | 90 | PolyA (5), PolyT (5) | 0,2 | 8640 | 0 | 0 | 8640 | 0 | 0 |
| 63 | 10 | 45084159 | 45084253 | 95 | 95 | Indel | 0,35 | 9120 | 0 | 0 | 9120 | 0 | 0 |
| 64 | 10 | 55892599 | 55892687 | 89 | 88 | AC(11), indel | 0,42 | 8408 | 0 | 40 | 8407 | 0 | 41 |
| 65 | 10 | 101611250 | 101611329 | 80 | 80 | Không áp dụng | 0,49 | 7680 | 0 | 0 | 7680 | 0 | 0 |
| 66 | 10 | 118351373 | 118351453 | 81 | 81 | Không áp dụng | 0,51 | 7776 | 0 | 0 | 7776 | 0 | 0 |
| 67 | 11 | 8159816 | 8159912 | 97 | 96 | Không áp dụng | 0,45 | 9216 | 0 | 0 | 9216 | 0 | 0 |
| 68 | 11 | 30177648 | 30177717 | 70 | 70 | Indel | 0,46 | 6720 | 0 | 0 | 6720 | 0 | 0 |
| 69 | 11 | 47470345 | 47470444 | 100 | 100 | Không áp dụng | 0,65 | 9600 | 0 | 0 | 9600 | 0 | 0 |
| 70 | 11 | 59837679 | 59837740 | 62 | 62 | Indel | 0,37 | 5952 | 0 | 0 | 5952 | 0 | 0 |
| 71 | 11 | 64418856 | 64418957 | 102 | 102 | Không áp dụng | 0,59 | 9792 | 0 | 0 | 9792 | 0 | 0 |
| 72 | 11 | 93529612 | 93529684 | 73 | 73 | PolyA (5) | 0,4 | 7008 | 0 | 0 | 7008 | 0 | 0 |
| 73 | 11 | 101347052 | 101347136 | 85 | 85 | Không áp dụng | 0,42 | 8160 | 0 | 0 | 8160 | 0 | 0 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|--|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 74 | 11 | 102477336 | 102477426 | 91 | 91 | PolyG (6) | 0,55 | 8736 | 0 | 0 | 8736 | 0 | 0 |
| 75 | 11 | 118406285 | 118406369 | 85 | 85 | Indel | 0,53 | 8160 | 0 | 0 | 8160 | 0 | 0 |
| 76 | 11 | 120357801 | 120357885 | 85 | 85 | PolyA (5), CA(3), indel | 0,34 | 8160 | 0 | 0 | 8160 | 0 | 0 |
| 77 | 11 | 125769313 | 125769397 | 85 | 85 | GA(3) | 0,52 | 8160 | 0 | 0 | 8160 | 0 | 0 |
| 78 | 12 | 2834770 | 2834853 | 84 | 84 | PolyC (5), indel | 0,52 | 8064 | 0 | 0 | 8064 | 0 | 0 |
| 79 | 12 | 26811004 | 26811096 | 93 | 93 | PolyA (7), AC(4) | 0,33 | 8928 | 0 | 0 | 8928 | 0 | 0 |
| 80 | 12 | 30881766 | 30881846 | 81 | 81 | Không áp dụng | 0,49 | 7776 | 0 | 0 | 7776 | 0 | 0 |
| 81 | 12 | 88474105 | 88474175 | 71 | 71 | PolyA (6) | 0,35 | 6816 | 0 | 0 | 6816 | 0 | 0 |
| 82 | 12 | 120966872 | 120966966 | 95 | 95 | PolyG (5) | 0,68 | 9117 | 3 | 0 | 9119 | 1 | 0 |
| 83 | 13 | 24167504 | 24167576 | 73 | 73 | Không áp dụng | 0,52 | 7008 | 0 | 0 | 7008 | 0 | 0 |
| 84 | 13 | 25816961 | 25817049 | 89 | 88 | PolyA (5), PolyT (7), PolyA (7), indel | 0,22 | 8448 | 0 | 0 | 8448 | 0 | 0 |
| 85 | 13 | 44880112 | 44880200 | 89 | 89 | Indel | 0,49 | 8544 | 0 | 0 | 8544 | 0 | 0 |
| 86 | 13 | 77665218 | 77665294 | 77 | 77 | Indel | 0,39 | 7392 | 0 | 0 | 7392 | 0 | 0 |
| 87 | 14 | 31619327 | 31619393 | 67 | 67 | GA(3),TA(3) | 0,39 | 6432 | 0 | 0 | 6432 | 0 | 0 |
| 88 | 14 | 39517884 | 39517966 | 83 | 83 | Không áp dụng | 0,25 | 7968 | 0 | 0 | 7968 | 0 | 0 |
| 89 | 14 | 46958962 | 46959034 | 73 | 72 | PolyT (5), indel | 0,19 | 6830 | 0 | 82 | 6835 | 0 | 77 |
| 90 | 14 | 58050030 | 58050110 | 81 | 81 | Indel | 0,38 | 7776 | 0 | 0 | 7776 | 0 | 0 |
| 91 | 14 | 82390559 | 82390649 | 91 | 91 | Indel | 0,35 | 8736 | 0 | 0 | 8736 | 0 | 0 |
| 92 | 14 | 92549544 | 92549609 | 66 | 66 | PolyA (5) | 0,41 | 6336 | 0 | 0 | 6336 | 0 | 0 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 93 | 14 | 102808496 | 102808589 | 94 | 94 | Indel | 0,62 | 9024 | 0 | 0 | 9024 | 0 | 0 |
| 94 | 15 | 43170751 | 43170848 | 98 | 96 | PolyC (5) | 0,45 | 9216 | 0 | 0 | 9216 | 0 | 0 |
| 95 | 15 | 63446149 | 63446216 | 68 | 68 | Indel | 0,25 | 6528 | 0 | 0 | 6528 | 0 | 0 |
| 96 | 15 | 77879807 | 77879901 | 95 | 93 | PolyG (5), indel | 0,68 | 8928 | 0 | 0 | 8926 | 2 | 0 |
| 97 | 15 | 81625334 | 81625428 | 95 | 95 | PolyT (6) | 0,43 | 9120 | 0 | 0 | 9120 | 0 | 0 |
| 98 | 15 | 85438263 | 85438334 | 72 | 71 | Indel | 0,65 | 6816 | 0 | 0 | 6816 | 0 | 0 |
| 99 | 15 | 89817413 | 89817503 | 91 | 91 | Không áp dụng | 0,36 | 8736 | 0 | 0 | 8736 | 0 | 0 |
| 100 | 15 | 89864274 | 89864343 | 70 | 70 | Indel | 0,56 | 6720 | 0 | 0 | 6720 | 0 | 0 |
| 101 | 16 | 1894910 | 1894972 | 63 | 63 | Không áp dụng | 0,27 | 6048 | 0 | 0 | 6048 | 0 | 0 |
| 102 | 16 | 28997904 | 28997998 | 95 | 95 | PolyC (5) | 0,67 | 9120 | 0 | 0 | 9120 | 0 | 0 |
| 103 | 16 | 53682908 | 53682994 | 87 | 87 | TA(3) | 0,41 | 8352 | 0 | 0 | 8352 | 0 | 0 |
| 104 | 16 | 57954406 | 57954509 | 104 | 104 | PolyC (5) | 0,67 | 9984 | 0 | 0 | 9984 | 0 | 0 |
| 105 | 16 | 85706375 | 85706465 | 91 | 91 | PolyT (5), indel | 0,37 | 8736 | 0 | 0 | 8736 | 0 | 0 |
| 106 | 17 | 3563920 | 3564008 | 89 | 89 | GC(3) | 0,64 | 8544 | 0 | 0 | 8544 | 0 | 0 |
| 107 | 17 | 3594191 | 3594277 | 87 | 87 | PolyC (5), indel | 0,67 | 8347 | 0 | 5 | 8347 | 0 | 5 |
| 108 | 17 | 3970090 | 3970180 | 91 | 91 | Indel | 0,46 | 8736 | 0 | 0 | 8736 | 0 | 0 |
| 109 | 17 | 16084945 | 16085037 | 93 | 93 | Indel | 0,26 | 8928 | 0 | 0 | 8928 | 0 | 0 |
| 110 | 17 | 33998759 | 33998849 | 91 | 89 | PolyT (5) | 0,54 | 8544 | 0 | 0 | 8544 | 0 | 0 |
| 111 | 17 | 39589691 | 39589774 | 84 | 82 | PolyA (13), indel (x2) | 0,29 | 7776 | 7 | 89 | 7777 | 12 | 83 |
| 112 | 17 | 41244394 | 41244484 | 91 | 91 | PolyA (5) | 0,34 | 8736 | 0 | 0 | 8736 | 0 | 0 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|--|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 113 | 17 | 45438866 | 45438957 | 92 | 92 | PolyA (7), AT (3), AT(4), AT(4), indel | 0,26 | 8832 | 0 | 0 | 8832 | 0 | 0 |
| 114 | 17 | 61502432 | 61502510 | 79 | 79 | Indel | 0,41 | 7546 | 0 | 38 | 7547 | 0 | 37 |
| 115 | 17 | 64023582 | 64023667 | 86 | 86 | PolyT (7) | 0,22 | 8256 | 0 | 0 | 8256 | 0 | 0 |
| 116 | 17 | 72308237 | 72308320 | 84 | 84 | GAG(3) | 0,62 | 8064 | 0 | 0 | 8064 | 0 | 0 |
| 117 | 18 | 2616456 | 2616522 | 67 | 67 | GA(3) | 0,31 | 6432 | 0 | 0 | 6432 | 0 | 0 |
| 118 | 18 | 6980478 | 6980568 | 91 | 91 | Không áp dụng | 0,37 | 8736 | 0 | 0 | 8736 | 0 | 0 |
| 119 | 18 | 9888026 | 9888094 | 69 | 69 | PolyA (6), TG(3) | 0,43 | 6624 | 0 | 0 | 6624 | 0 | 0 |
| 120 | 18 | 38836999 | 38837073 | 75 | 75 | PolyA (5), indel | 0,37 | 7200 | 0 | 0 | 7200 | 0 | 0 |
| 121 | 18 | 47405382 | 47405462 | 81 | 81 | CTC(3), indel | 0,47 | 7776 | 0 | 0 | 7776 | 0 | 0 |
| 122 | 18 | 54815665 | 54815749 | 85 | 85 | CT(3), indel | 0,45 | 8160 | 0 | 0 | 8160 | 0 | 0 |
| 123 | 18 | 59773996 | 59774060 | 65 | 65 | Không áp dụng | 0,48 | 6240 | 0 | 0 | 6240 | 0 | 0 |
| 124 | 19 | 625143 | 625241 | 99 | 99 | Không áp dụng | 0,59 | 9504 | 0 | 0 | 9504 | 0 | 0 |
| 125 | 19 | 18121418 | 18121491 | 74 | 74 | Không áp dụng | 0,68 | 7102 | 2 | 0 | 7104 | 0 | 0 |
| 126 | 19 | 18186574 | 18186643 | 70 | 70 | Không áp dụng | 0,64 | 6718 | 2 | 0 | 6718 | 2 | 0 |
| 127 | 20 | 746056 | 746149 | 94 | 94 | Không áp dụng | 0,61 | 9024 | 0 | 0 | 9024 | 0 | 0 |
| 128 | 20 | 10633195 | 10633276 | 82 | 82 | AC(3) | 0,59 | 7872 | 0 | 0 | 7872 | 0 | 0 |
| 129 | 20 | 17705633 | 17705708 | 76 | 76 | CT(3) | 0,58 | 7296 | 0 | 0 | 7296 | 0 | 0 |
| 130 | 20 | 21766821 | 21766890 | 70 | 70 | GT(3),TG(4), indel | 0,46 | 6720 | 0 | 0 | 6720 | 0 | 0 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 131 | 20 | 25278421 | 25278521 | 101 | 101 | Indel | 0,63 | 9696 | 0 | 0 | 9696 | 0 | 0 |
| 132 | 20 | 50897302 | 50897368 | 67 | 67 | Indel | 0,36 | 6432 | 0 | 0 | 6432 | 0 | 0 |
| 133 | 20 | 62331904 | 62331994 | 91 | 88 | PolyG (6) | 0,73 | 8360 | 0 | 88 | 8360 | 0 | 88 |
| 134 | 20 | 62690860 | 62690946 | 87 | 87 | Indel | 0,57 | 8352 | 0 | 0 | 8352 | 0 | 0 |
| 135 | 21 | 30300823 | 30300888 | 66 | 66 | Indel | 0,35 | 6336 | 0 | 0 | 6336 | 0 | 0 |
| 136 | 21 | 33694176 | 33694273 | 98 | 98 | PolyT (6), CA (3) | 0,54 | 9408 | 0 | 0 | 9408 | 0 | 0 |
| 137 | 21 | 36710706 | 36710792 | 87 | 87 | GT(3), indel | 0,39 | 8352 | 0 | 0 | 8352 | 0 | 0 |
| 138 | 21 | 46644924 | 46644992 | 69 | 69 | PolyA (6), AG(3), indel | 0,32 | 6603 | 0 | 21 | 6601 | 0 | 23 |
| 139 | 21 | 46705575 | 46705664 | 90 | 90 | PolyT (5), PolyA (6) | 0,5 | 8640 | 0 | 0 | 8640 | 0 | 0 |
| 140 | 22 | 25750774 | 25750873 | 100 | 100 | Indel | 0,63 | 9600 | 0 | 0 | 9600 | 0 | 0 |
| 141 | 22 | 32439233 | 32439329 | 97 | 97 | Không áp dụng | 0,68 | 9312 | 0 | 0 | 9312 | 0 | 0 |
| 142 | 22 | 37409844 | 37409940 | 97 | 97 | Indel | 0,46 | 9312 | 0 | 0 | 9312 | 0 | 0 |
| 143 | 22 | 37637596 | 37637694 | 99 | 99 | Không áp dụng | 0,6 | 9504 | 0 | 0 | 9504 | 0 | 0 |
| 144 | 22 | 47081347 | 47081438 | 92 | 92 | Indel | 0,66 | 8832 | 0 | 0 | 8832 | 0 | 0 |
| 145 | X | 15870424 | 15870492 | 69 | 69 | PolyT (5) | 0,26 | 6624 | 0 | 0 | 6624 | 0 | 0 |
| 146 | X | 135288543 | 135288611 | 69 | 69 | PolyC (5) | 0,62 | 6624 | 0 | 0 | 6624 | 0 | 0 |
| 147 | X | 135290777 | 135290847 | 71 | 71 | Không áp dụng | 0,52 | 6816 | 0 | 0 | 6816 | 0 | 0 |
| 148 | Y | 2655397 | 2655461 | 65 | 0 | Không áp dụng | 0,55 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 149 | Y | 2655519 | 2655609 | 91 | 0 | Không áp dụng | 0,48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 150 | Y | 2655609 | 2655679 | 71 | 0 | PolyA (5) | 0,37 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Kết quả nghiên cứu khả năng tái lập được phân tích trên cơ sở mỗi người vận hành, bằng cách sử dụng tần số biến thể (Bảng 7). Phân tích này đã chứng minh rằng các tần số biến thể có sự nhất quán giữa những người vận hành. Tần số biến thể trung bình +/- 1 độ lệch chuẩn được trình bày.

Bảng 7 Kết quả giữa những người vận hành cho thiết bị MiSeqDx Instrument

| Khoảng tần số biến thể | Số biến thể duy nhất | Tổng số biến thể được phân tích, người vận hành 1 | Tổng số biến thể được phân tích, người vận hành 2 | Tần số biến thể trung bình (SD) được báo cáo, người vận hành 1 | Tần số biến thể trung bình (SD) được báo cáo, người vận hành 2 |
|-------------------------|----------------------|---|---|--|--|
| Đồng hợp tử (0,70-1,00) | 2424 | 2424 | 2422 | 0,94 +/- 0,07 | 0,96 +/- 0,05 |
| Dị hợp tử (0,20-0,70) | 8240 | 8132 | 8128 | 0,48 +/- 0,04 | 0,49 +/- 0,04 |

Kết quả nghiên cứu về khả năng tái lập cho từng mẫu trình bày được tổng hợp từ tất cả tám lần chạy (Bảng 8). Khả năng phát hiện được đánh giá cho riêng từng loại biến thể - SNV, vùng chèn và vùng xóa. Loại trừ các vị trí tham chiếu. Phân tích này chứng minh rằng kết quả cho các biến thể có thể tái lập trên các mẫu.

Bảng 8 Độ tương hợp của kết quả phát hiện base của thiết bị MiSeqDx trên mỗi mẫu

| Mẫu | SNV | | | | Vùng chèn | | | | Vùng xóa | | | |
|---------|---------|------------|------------|------------|-----------|------------|------------|------------|----------|------------|------------|------------|
| | Tổng số | Tổng số TP | Tổng số FP | Tổng số FN | Tổng số | Tổng số TP | Tổng số FP | Tổng số FN | Tổng số | Tổng số TP | Tổng số FP | Tổng số FN |
| NA12877 | 592 | 592 | 0 | 0 | 336 | 336 | 0 | 0 | 288 | 288 | 0 | 0 |
| NA12878 | 1456 | 1456 | 0 | 0 | 320 | 304 | 0 | 0 | 384 | 368 | 0 | 0 |
| NA12879 | 912 | 912 | 0 | 0 | 336 | 320 | 0 | 2 | 288 | 288 | 0 | 0 |
| NA12880 | 1072 | 1071 | 0 | 1 | 384 | 384 | 0 | 0 | 320 | 304 | 0 | 0 |
| NA12881 | 1248 | 1247 | 0 | 1 | 384 | 368 | 0 | 0 | 368 | 368 | 0 | 0 |
| NA12882 | 944 | 943 | 0 | 1 | 352 | 336 | 0 | 4 | 304 | 288 | 0 | 0 |
| NA12883 | 1088 | 1087 | 0 | 1 | 368 | 368 | 0 | 0 | 352 | 335 | 0 | 1 |
| NA12884 | 1088 | 1088 | 0 | 0 | 400 | 384 | 0 | 5 | 336 | 336 | 0 | 0 |
| NA12885 | 1200 | 1189 | 0 | 7 | 400 | 382 | 0 | 4 | 352 | 336 | 0 | 0 |

| Mẫu | SNV | | | | Vùng chèn | | | | Vùng xóa | | | |
|---------|---------|------------|------------|------------|-----------|------------|------------|------------|----------|------------|------------|------------|
| | Tổng số | Tổng số TP | Tổng số FP | Tổng số FN | Tổng số | Tổng số TP | Tổng số FP | Tổng số FN | Tổng số | Tổng số TP | Tổng số FP | Tổng số FN |
| NA12886 | 1104 | 1102 | 0 | 2 | 368 | 352 | 0 | 3 | 368 | 368 | 0 | 0 |
| NA12888 | 1056 | 1054 | 0 | 2 | 368 | 368 | 0 | 0 | 304 | 304 | 0 | 0 |
| NA12893 | 1168 | 1168 | 0 | 0 | 352 | 336 | 0 | 1 | 368 | 368 | 0 | 0 |

Dữ liệu có được qua 8 lần chạy trong nghiên cứu về khả năng tái lập này chứng minh cho tuyên bố rằng thiết bị MiSeqDx có thể giải trình tự một cách nhất quán:

- Hàm lượng GC $\geq 19\%$ (tất cả các base được phát hiện ở 192/192 amplicon được giải trình tự có hàm lượng GC 19% được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 1,1%)
- Hàm lượng GC $\leq 78\%$ (tất cả các base được phát hiện ở 192/192 amplicon được giải trình tự có hàm lượng GC 78% được phát hiện chính xác với 0 lần không có phát hiện)
- Độ dài PolyA ≤ 8 (Đoạn lặp lại PolyA gồm 8 nucleotide được phát hiện chính xác ở 192/192 amplicon được giải trình tự có chứa PolyA = 8)
- Độ dài PolyT ≤ 10 (Đoạn lặp lại PolyT gồm 10 nucleotide được phát hiện chính xác ở 192/192 amplicon được giải trình tự có chứa PolyT = 10)
- Độ dài PolyG ≤ 7 (Đoạn lặp lại PolyG gồm 7 nucleotide được phát hiện chính xác ở 192/192 amplicon được giải trình tự có chứa PolyG = 7)
- Độ dài PolyC ≤ 6 (Đoạn lặp lại PolyC gồm 6 nucleotide được phát hiện chính xác ở 576/576 amplicon được giải trình tự có chứa PolyC = 6)
- Độ dài đoạn lặp lại dinucleotide $\leq 11x$ (tất cả các base được phát hiện ở 192/192 amplicon được giải trình tự có đoạn lặp lại dinucleotide 11x được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 0,5%)
- Độ dài đoạn lặp lại trinucleotide $\leq 5x$ (tất cả các base được phát hiện ở 192/192 amplicon được giải trình tự có đoạn lặp lại trinucleotide 5x được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 0,5%)
- vùng chèn có kích thước 24 base trở xuống hoặc vùng xóa 25 base trở xuống
 - Vùng chèn có kích thước 24 base được phát hiện chính xác ở 192/192 mẫu
 - Vùng xóa có kích thước 25 base được phát hiện chính xác ở 223 mẫu và phát hiện nhầm ở 1/224 mẫu

Nghiên cứu 2

Nghiên cứu về khả năng tái lập giữa các địa điểm được thực hiện với một xét nghiệm đại diện, Xét nghiệm 139 biến thể xơ nang Illumina MiSeqDx. Trong đó, một tập hợp phụ gồm các biến thể di truyền có ý nghĩa lâm sàng *CFTR* được phân tích bằng phần mềm MiSeq Reporter, sử dụng quy trình công việc giải trình tự ADN được nhằm mục tiêu trên Nền tảng MiSeqDx. Nghiên cứu sử dụng 3 địa điểm thử nghiệm và 2 người vận hành

tại mỗi địa điểm. Hai bảng có đặc điểm rõ ràng gồm 46 mẫu, mỗi bảng được từng người vận hành xét nghiệm tại mỗi địa điểm với tổng số 810 lần phát hiện ở mỗi địa điểm. Các bảng chứa tổ hợp ADN hệ gen từ các dòng tế bào với các biến thể đã biết trong gen *CFTR*, cũng như máu bị suy giảm bạch cầu được thêm các dòng tế bào có các biến thể đã biết trong gen *CFTR*. Các mẫu máu được cung cấp nhằm hỗ trợ quá trình kết hợp các bước tách chiết được sử dụng để chuẩn bị gADN đóng vai trò đầu vào chính cho quy trình công việc xét nghiệm. Tỷ lệ đạt của mẫu, nghĩa là số lượng mẫu đạt số liệu QC trong lần thực hiện đầu tiên, là 99,88%. Tất cả các kết quả xét nghiệm đều dựa trên xét nghiệm ban đầu.

Bảng 9 Tóm tắt kết quả nghiên cứu về khả năng tái lập được thực hiện với xét nghiệm đại diện 139 biến thể xơ nang MiSeqDx

| Bảng | Số mẫu | Kiểu gen mẫu | Biến thể | Tổng số lần phát hiện trên mỗi địa điểm | Số lần phát hiện tương hợp dương (Biến thể) | | | Số lần phát hiện tương hợp âm (Thể đại) | | | Số lần phát hiện sai | Số lần không có phát hiện | Tỷ lệ tương hợp dương (%) | Tỷ lệ tương hợp âm (%) | Tổng tỷ lệ tương hợp (%) |
|------|-----------------|----------------------------|----------|---|---|------------|------------|---|------------|------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|
| | | | | | Địa điểm 1 | Địa điểm 2 | Địa điểm 3 | Địa điểm 1 | Địa điểm 2 | Địa điểm 3 | | | | | |
| A | 1 | S549N (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 2 | 1812-1 G>A (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 3 | Q493X/F508del (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 4 ¹ | F508del/2184delA (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 797 | 798 | 798 | 0 | 1 ¹ | 100 | 100 | 100 |
| A | 5 ² | Y122X/R1158X (HET) | | 810 | 12 | 10 | 12 | 798 | 665 | 798 | 0 | 135 ² | 94,44 | 94,44 | 94,44 |
| A | 6 | F508del/2183AA>G (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 7 | R75X (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 8 | I507del/F508del (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 9 ³ | F508del/W1282X (HET) | | 810 | 12 | 11 | 12 | 798 | 797 | 798 | 2 ³ | 0 | 97,22 | 99,96 | 99,92 |
| A | 10 ³ | F508del/3272-26A>G (HET) | | 810 | 12 | 11 | 12 | 798 | 797 | 798 | 2 ³ | 0 | 97,22 | 99,96 | 99,92 |
| A | 11 | F508del/3849+10kbC>T (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 12 | 621+1G>T/3120+1G>A (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 13 | E60X/F508del (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |

| Bảng | Số mẫu | Kiểu gen mẫu | Biến thể | Tổng số lần phát hiện trên mỗi địa điểm | Số lần phát hiện tương hợp dương (Biến thể) | | | Số lần phát hiện tương hợp âm (Thể đại) | | | Số lần phát hiện sai | Số lần không có phát hiện | Tỷ lệ tương hợp dương (%) | Tỷ lệ tương hợp âm (%) | Tổng tỷ lệ tương hợp (%) |
|------|--------|----------------------------|-------------------------------------|---|---|------------|------------|---|------------|------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|
| | | | | | Địa điểm 1 | Địa điểm 2 | Địa điểm 3 | Địa điểm 1 | Địa điểm 2 | Địa điểm 3 | | | | | |
| A | 14 | M1101K (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 15 | M1101K (HOM) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 16 | F508del (HOM) | I506V, I507V, F508C không hiện diện | 828 | 6 | 6 | 6 | 822 | 822 | 822 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 17 | F508del/3659delC (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 18 | R117H/F508del (HET) | (TG)10(T)9/(TG)12(T)5 | 816 | 18 | 18 | 18 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 19 | 621+1G>T/711+1G>T (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 20 | G85E/621+1G>T (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 21 | A455E/F508del (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 22 | F508del/R560T (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 23 | F508del/Y1092X (C>A) (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 24 | N1303K (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 25 | G542X (HOM) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 26 | G542X (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 27 | G551D/R553X (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 28 | 3849+10kbC>T (HOM) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 29 | WT | | 810 | 0 | 0 | 0 | 810 | 810 | 810 | 0 | 0 | Không áp dụng | 100 | 100 |
| A | 30 | F508del (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 31 | 1717-1G>A (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 32 | R1162X (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |

| Bảng | Số mẫu | Kiểu gen mẫu | Biến thể | Tổng số lần phát hiện trên mỗi địa điểm | Số lần phát hiện tương hợp dương (Biến thể) | | | Số lần phát hiện tương hợp âm (Thể đại) | | | Số lần phát hiện sai | Số lần không có phát hiện | Tỷ lệ tương hợp dương (%) | Tỷ lệ tương hợp âm (%) | Tổng tỷ lệ tương hợp (%) |
|------|--------|-----------------------------|-----------------------|---|---|------------|------------|---|------------|------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|
| | | | | | Địa điểm 1 | Địa điểm 2 | Địa điểm 3 | Địa điểm 1 | Địa điểm 2 | Địa điểm 3 | | | | | |
| A | 33 | R347P/G551D (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 34 | R334W (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 35 | WT | | 810 | 0 | 0 | 0 | 810 | 810 | 810 | 0 | 0 | Không áp dụng | 100 | 100 |
| A | 36 | G85E (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 37 | I336K (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 38 | WT | | 810 | 0 | 0 | 0 | 810 | 810 | 810 | 0 | 0 | Không áp dụng | 100 | 100 |
| A | 39 | F508del/3849+10kbC>T (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 40 | 621+1G>T/3120+1G>A (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 41 | F508del/3659delC (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 42 | R117H/F508del (HET) | (TG)10(T)9/(TG)12(T)5 | 816 | 18 | 18 | 18 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 43 | G85E/621+1G>T (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 44 | A455E/F508del (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 45 | N1303K (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| A | 46 | G551D/R553X (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 47 | 2789+5G>A (HOM) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 48 | CFTR dele2, 3/F508del (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 49 | F508del/1898+1G>A (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 50 | WT | | 810 | 0 | 0 | 0 | 810 | 810 | 810 | 0 | 0 | Không áp dụng | 100 | 100 |

| Bảng | Số mẫu | Kiểu gen mẫu | Biến thể | Tổng số lần phát hiện trên mỗi địa điểm | Số lần phát hiện tương hợp dương (Biến thể) | | | Số lần phát hiện tương hợp âm (Thể đại) | | | Số lần phát hiện sai | Số lần không có phát hiện | Tỷ lệ tương hợp dương (%) | Tỷ lệ tương hợp âm (%) | Tổng tỷ lệ tương hợp (%) |
|------|--------|-------------------------|----------|---|---|------------|------------|---|------------|------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|
| | | | | | Địa điểm 1 | Địa điểm 2 | Địa điểm 3 | Địa điểm 1 | Địa điểm 2 | Địa điểm 3 | | | | | |
| B | 51 | F508del/2143delT (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 52 | 3876delA (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 53 | 3905insT (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 54 | 394delTT (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 55 | F508del (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 56 | WT | | 810 | 0 | 0 | 0 | 810 | 810 | 810 | 0 | 0 | Không áp dụng | 100 | 100 |
| B | 57 | WT | | 810 | 0 | 0 | 0 | 810 | 810 | 810 | 0 | 0 | Không áp dụng | 100 | 100 |
| B | 58 | F508del (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 59 | WT | | 810 | 0 | 0 | 0 | 810 | 810 | 810 | 0 | 0 | Không áp dụng | 100 | 100 |
| B | 60 | L206W (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 61 | WT | | 810 | 0 | 0 | 0 | 810 | 810 | 810 | 0 | 0 | Không áp dụng | 100 | 100 |
| B | 62 | G330X (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 63 | WT | | 810 | 0 | 0 | 0 | 810 | 810 | 810 | 0 | 0 | Không áp dụng | 100 | 100 |
| B | 64 | R347H (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 65 | 1078delIT (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 66 | G178R/F508del (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 67 | S549R (c.1647T>G) (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 68 | S549N (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 69 | W846X (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |

| Bảng | Số mẫu | Kiểu gen mẫu | Biến thể | Tổng số lần phát hiện trên mỗi địa điểm | Số lần phát hiện tương hợp dương (Biến thể) | | | Số lần phát hiện tương hợp âm (Thể đại) | | | Số lần phát hiện sai | Số lần không có phát hiện | Tỷ lệ tương hợp dương (%) | Tỷ lệ tương hợp âm (%) | Tổng tỷ lệ tương hợp (%) |
|------|-----------------|-----------------------------|-----------------------|---|---|------------|------------|---|------------|------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|
| | | | | | Địa điểm 1 | Địa điểm 2 | Địa điểm 3 | Địa điểm 1 | Địa điểm 2 | Địa điểm 3 | | | | | |
| B | 70 | WT | | 810 | 0 | 0 | 0 | 810 | 810 | 810 | 0 | 0 | Không áp dụng | 100 | 100 |
| B | 71 | E92X/F508del (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 72 ⁴ | 621+1G>T/1154insTC (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 797 | 0 | 1 ⁴ | 100 | 99,96 | 99,96 |
| B | 73 | G542X (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 74 | F508del (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 75 ² | F508del (HET) | | 810 | 6 | 5 | 6 | 804 | 670 | 804 | 0 | 135 ² | 94,44 | 94,44 | 94,44 |
| B | 76 | F508del (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 77 | 621+1G>T/A455E (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 78 | 1812-1 G>A (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 79 | WT | | 810 | 0 | 0 | 0 | 810 | 810 | 810 | 0 | 0 | Không áp dụng | 100 | 100 |
| B | 80 | F508del/R553X (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 81 | F508del/G551D (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 82 | R347P/F508del (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 83 | R117H/F508del (HET) | (TG)10(T)9/(TG)12(T)5 | 816 | 18 | 18 | 18 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 84 | I507del (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 85 | 2789+5G>A (HOM) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 86 ⁴ | CFTR dele2, 3/F508del (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 797 | 798 | 0 | 1 ⁴ | 100 | 99,96 | 99,96 |
| B | 87 | F508del/1898+1G>A (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 88 | WT | | 810 | 0 | 0 | 0 | 810 | 810 | 810 | 0 | 0 | Không áp dụng | 100 | 100 |

| Bảng | Số mẫu | Kiểu gen mẫu | Biến thể | Tổng số lần phát hiện trên mỗi địa điểm | Số lần phát hiện tương hợp dương (Biến thể) | | | Số lần phát hiện tương hợp âm (Thể đại) | | | Số lần phát hiện sai | Số lần không có phát hiện | Tỷ lệ tương hợp dương (%) | Tỷ lệ tương hợp âm (%) | Tổng tỷ lệ tương hợp (%) |
|------|--------|------------------------|----------|---|---|------------|------------|---|------------|------------|----------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------|--------------------------|
| | | | | | Địa điểm 1 | Địa điểm 2 | Địa điểm 3 | Địa điểm 1 | Địa điểm 2 | Địa điểm 3 | | | | | |
| B | 89 | F508del/2143delT (HET) | | 810 | 12 | 12 | 12 | 798 | 798 | 798 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 90 | 3905insT (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 91 | 394delTT (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| B | 92 | F508del (HET) | | 810 | 6 | 6 | 6 | 804 | 804 | 804 | 0 | 0 | 100 | 100 | 100 |
| Tổng | | | | 74556 | 2209 | | | 221182 | | | 4 | 273 | 99,77 | 99,88 | 99,88 |

¹ Vị trí thể đại tương ứng với biến thể N1303K cho một mẫu lặp dẫn đến kết quả Không có phát hiện do không đủ phạm vi.

² Một mẫu lặp của các mẫu 5 và 75 có tỷ lệ phát hiện là 0%. Kết quả nghiên cứu sâu hơn cho thấy các mẫu có thể đã không được thêm vào khay mẫu trước khi chuẩn bị thư viện vì thể tích mẫu còn lại trong các ống phù hợp với việc không thể tích nào được loại bỏ.

³ Bằng chứng chỉ ra rằng các mẫu 9 và 10 có thể đã được người vận hành chuyển đổi trước khi chuẩn bị thư viện.

⁴ Vị trí thể đại tương ứng với biến thể M1V cho một mẫu lặp của mỗi mẫu trong số hai mẫu dẫn đến kết quả Không có phát hiện do không đủ phạm vi.

Đặc điểm hiệu suất sinh dưỡng

Các nghiên cứu được mô tả trong tài liệu này đã sử dụng Mô-đun biến thể sinh dưỡng để phân tích dữ liệu giải trình tự, ngoại trừ nghiên cứu sử dụng bảng 2 gen trong đó mô-đun cho từng xét nghiệm cụ thể được sử dụng.

Độ chính xác

Ba nghiên cứu đã được thực hiện để đánh giá độ chính xác của thiết bị MiSeqDx với ADN tách chiết từ các mẫu FFPE.

Nghiên cứu 1

Nghiên cứu sử dụng một xét nghiệm đại diện được thiết kế để truy vấn nhiều loại gen bao gồm 12.588 base trên 23 nhiễm sắc thể khác nhau bằng 150 amplicon. Nhiễm sắc thể Y không chứa vùng tin cậy và không được đánh giá. Năm mẫu duy nhất được sử dụng trong nghiên cứu này là từ một gia đình - bố mẹ và ba con - thường được giải trình tự bởi nhiều phòng thí nghiệm và bằng nhiều phương pháp giải trình tự. Có ba mẫu từ nữ giới và hai mẫu từ nam giới. Tất cả các mẫu đã được cố định formalin và nhúng parafin trước khi ADN được tách chiết cho nghiên cứu. Mẫu GM12877 được pha loãng, ở cấp độ ADN, với mẫu GM12878 để tạo ra GM12877-D nhằm hình thành một tập hợp các biến thể có tần số gần bằng 5% và

10%. Mỗi mẫu được xét nghiệm hai lần ngoại trừ GM12877-D được xét nghiệm với năm mẫu lặp. Độ chính xác được xác định đối với SNV, vùng chèn và vùng xóa bằng cách so sánh dữ liệu nghiên cứu với cơ sở dữ liệu tham chiếu có đặc điểm rõ ràng. Trình tự cơ sở dữ liệu tham chiếu (Hệ gen bạch kim phiên bản 2016-01) bắt nguồn từ sự kết hợp của nhiều phương pháp giải trình tự, dữ liệu có sẵn công khai và thông tin di truyền. Các vùng gen tin cậy được xác định dựa trên phương pháp tham chiếu này trừ khi có quy định khác. Tính tổng cộng, các mẫu đã được chạy 8 lần. Các bảng được trình bày để thể hiện độ chính xác dựa trên dữ liệu từ lần chạy đầu tiên.

Bảng 10 bao gồm các dữ liệu nghiên cứu được trình bày với tỷ lệ phần trăm độ tương hợp dương và âm trên cơ sở mỗi mẫu, trong đó các kết quả biến thể được so sánh với phương pháp tham chiếu tổng hợp có đặc điểm rõ ràng để tính PPA. Ba loại biến thể (SNV, vùng chèn và vùng xóa) được kết hợp. Vì phương pháp tham chiếu chỉ cung cấp kết quả cho các biến thể nucleotide đơn và vùng chèn/vùng xóa, kết quả base không phải biến thể được so sánh với trình tự tham chiếu hệ gen người bản dựng hg19 để tính NPA.

Bảng 10 Độ tương hợp giữa kết quả phát hiện base của thiết bị MiSeqDx với dữ liệu tham chiếu cho 6 mẫu có đặc điểm rõ ràng

| Mẫu | Tỷ lệ phát hiện trung bình | Tổng số biến thể | Tổng số biến thể TP | Tổng số biến thể FN | Tổng số lần phát hiện TN | PPA | NPA | OPA |
|------------------------|----------------------------|------------------|---------------------|---------------------|--------------------------|-----|-----|-----|
| GM12877 | 98,7 | 152 | 147 | 0 | 23719 | 100 | 100 | 100 |
| GM12878 | 98,4 | 270 | 260 | 0 | 23482 | 100 | 100 | 100 |
| GM12879 | 98,7 | 192 | 186 | 0 | 23744 | 100 | 100 | 100 |
| GM12885 | 99,1 | 244 | 236 | 0 | 23713 | 100 | 100 | 100 |
| GM12886 | 98,7 | 230 | 226 | 0 | 23652 | 100 | 100 | 100 |
| GM12877-D ¹ | | 675 | 650 | 0 | | 100 | 100 | 100 |
| GM12877-D ² | 98,4 | 155 | 155 | 0 | 57608 | 100 | 100 | 100 |

¹ Biến thể có tần số lớn hơn 20%.

² Biến thể có tần số nhỏ hơn 20%.

150 amplicon được thiết kế để bao gồm nhiều hàm lượng gen khác nhau. Hàm lượng GC của amplicon dao động từ 26-87%. Amplicon cũng có một loạt các trình tự nucleotide đơn (ví dụ: PolyA, PolyT), dinucleotide và trinucleotide lặp lại. 6 mẫu duy nhất được sử dụng trong xét nghiệm. Dữ liệu được tổng hợp trên cơ sở mỗi amplicon (**Bảng 11**) để xác định ảnh hưởng của hàm lượng hệ gen đối với % phát hiện chính xác. % phát hiện chính xác bao gồm số lần phát hiện biến thể và tham chiếu và nhỏ hơn 100% nếu có lần phát hiện không chính xác hoặc không có phát hiện. Trường hợp không có phát hiện xảy ra khi một hoặc nhiều bộ lọc không được đáp ứng cho việc phát hiện biến thể (ví dụ: phạm vi không đủ). Không có phát hiện không chính xác nào. Số lần không có phát hiện thay đổi đáng kể giữa các amplicon. Hàm lượng GC và một số hoạt động tương tác với hàm lượng GC là những yếu tố dự đoán quan trọng nhất về số lần không có phát hiện. 2040/2580 (79%) số lần không có phát hiện là do không đáp ứng thông số kỹ thuật về phạm vi. Amplicon có hàm lượng GC lớn hơn 78% dẫn đến nhiều lần không có phát hiện nhất. Một amplicon đại diện

với hàm lượng GC 78% có tổng số 675 lần không có phát hiện. Một amplicon đại diện với hàm lượng GC 87% có tổng số 1365 lần không có phát hiện. Có thể tăng phạm vi bằng cách giảm số lượng mẫu nạp trên tế bào dòng chảy, từ đó có thể hỗ trợ khả năng phát hiện trên amplicon có hàm lượng GC cao.

Bảng 11 Dữ liệu về độ chính xác cấp độ amplicon

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | % số lần phát hiện chính xác |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|--|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| 1 | 1 | 36450499 | 36450591 | 93 | 93 | Indel | 0,22 | 1395 | 0 | 0 | 100 |
| 2 | 1 | 109465122 | 109465200 | 79 | 79 | PolyA (5), PolyC (5), indel | 0,38 | 1185 | 0 | 0 | 100 |
| 3 | 1 | 218353867 | 218353957 | 91 | 91 | Indel | 0,4 | 1364 | 0 | 1 | 99,9 |
| 4 | 1 | 223906657 | 223906748 | 92 | 92 | Indel | 0,49 | 1380 | 0 | 0 | 100 |
| 5 | 1 | 228526602 | 228526682 | 81 | 81 | PolyG (5) | 0,69 | 1215 | 0 | 0 | 100 |
| 6 | 1 | 236372039 | 236372108 | 70 | 70 | PolyT (10), indel | 0,39 | 1050 | 0 | 0 | 100 |
| 7 | 1 | 247812041 | 247812128 | 88 | 88 | PolyA (5), CT(3), TAA(3), indel | 0,27 | 1320 | 0 | 0 | 100 |
| 8 | 2 | 55862774 | 55862863 | 90 | 90 | Indel | 0,28 | 1350 | 0 | 0 | 100 |
| 9 | 2 | 87003930 | 87004009 | 80 | 80 | Indel | 0,38 | 1200 | 0 | 0 | 100 |
| 10 | 2 | 177016721 | 177016805 | 85 | 81 | Không áp dụng | 0,65 | 1215 | 0 | 0 | 100 |
| 11 | 2 | 186625727 | 186625801 | 75 | 75 | PolyA (8) | 0,35 | 1117 | 0 | 10 | 99,1 |
| 12 | 2 | 190323504 | 190323591 | 88 | 88 | PolyT (5) | 0,42 | 1320 | 0 | 0 | 100 |
| 13 | 2 | 200796740 | 200796826 | 87 | 87 | PolyT (5), indel | 0,31 | 1302 | 0 | 8 | 99,4 |
| 14 | 2 | 212245049 | 212245139 | 91 | 91 | PolyT (5), PolyA (6), indel | 0,3 | 1365 | 0 | 0 | 100 |
| 15 | 2 | 228147052 | 228147144 | 93 | 93 | Không áp dụng | 0,43 | 1395 | 0 | 0 | 100 |
| 16 | 2 | 235016350 | 235016422 | 73 | 73 | PolyT (5), indel | 0,42 | 1095 | 0 | 0 | 100 |
| 17 | 3 | 4466229 | 4466321 | 93 | 93 | AT(3), indel | 0,27 | 1349 | 0 | 46 | 96,7 |
| 18 | 3 | 46620561 | 46620643 | 83 | 83 | Không áp dụng | 0,43 | 1245 | 0 | 0 | 100 |
| 19 | 3 | 49851331 | 49851400 | 70 | 70 | CT(3), indel | 0,49 | 1050 | 0 | 0 | 100 |
| 20 | 3 | 189713161 | 189713248 | 88 | 88 | PolyA (5), PolyT (5), PolyA (9), TG(3) | 0,41 | 1305 | 0 | 30 | 97,8 |
| 21 | 3 | 190106030 | 190106104 | 75 | 74 | Indel | 0,57 | 1108 | 0 | 2 | 99,8 |
| 22 | 4 | 2233667 | 2233744 | 78 | 78 | PolyA (6) | 0,26 | 1170 | 0 | 0 | 100 |
| 23 | 4 | 7780541 | 7780637 | 97 | 97 | PolyG (6), PolyT (5), PolyA (5) | 0,42 | 1455 | 0 | 0 | 100 |
| 24 | 4 | 15688604 | 15688681 | 78 | 78 | Không áp dụng | 0,29 | 1169 | 0 | 1 | 99,9 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | % số lần phát hiện chính xác |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| 25 | 4 | 56236521 | 56236586 | 66 | 62 | PolyA (5), indel | 0,36 | 930 | 0 | 0 | 100 |
| 26 | 4 | 102839244 | 102839314 | 71 | 69 | PolyA (5) | 0,46 | 1035 | 0 | 0 | 100 |
| 27 | 4 | 164446743 | 164446804 | 62 | 62 | PolyA (7), indel | 0,27 | 920 | 0 | 10 | 98,9 |
| 28 | 5 | 1882081 | 1882158 | 78 | 75 | Không áp dụng | 0,78 | 450 | 0 | 675 | 40,0 |
| 29 | 5 | 14769061 | 14769144 | 84 | 84 | GT(3), CCA(3) | 0,62 | 1260 | 0 | 0 | 100 |
| 30 | 5 | 41069808 | 41069871 | 64 | 64 | Không áp dụng | 0,39 | 960 | 0 | 0 | 100 |
| 31 | 5 | 74077114 | 74077196 | 83 | 83 | PolyA (6), indel | 0,3 | 1245 | 0 | 0 | 100 |
| 32 | 5 | 147475343 | 147475409 | 67 | 67 | PolyT (5) | 0,37 | 1005 | 0 | 0 | 100 |
| 33 | 5 | 149323731 | 149323821 | 91 | 91 | CT(4), AG(3) | 0,55 | 1365 | 0 | 0 | 100 |
| 34 | 5 | 155662213 | 155662287 | 75 | 75 | Indel | 0,43 | 1125 | 0 | 0 | 100 |
| 35 | 6 | 6318713 | 6318814 | 102 | 102 | PolyG (6) | 0,68 | 1530 | 0 | 0 | 100 |
| 36 | 6 | 24949983 | 24950074 | 92 | 92 | Indel | 0,63 | 1380 | 0 | 0 | 100 |
| 37 | 6 | 31084900 | 31084999 | 100 | 94 | GCT(5), indel | 0,61 | 1383 | 0 | 27 | 98,1 |
| 38 | 6 | 32147987 | 32148084 | 98 | 98 | PolyT (5), TCT(3), CTT(3) | 0,55 | 1455 | 0 | 15 | 99,0 |
| 39 | 6 | 32986864 | 32986958 | 95 | 95 | Indel | 0,53 | 1425 | 0 | 0 | 100 |
| 40 | 6 | 33408498 | 33408583 | 86 | 86 | PolyC (6) | 0,7 | 1290 | 0 | 0 | 100 |
| 41 | 6 | 41647401 | 41647495 | 95 | 94 | PolyG (5), indel | 0,61 | 1410 | 0 | 0 | 100 |
| 42 | 6 | 112435865 | 112435955 | 91 | 91 | PolyA (5) | 0,44 | 1365 | 0 | 0 | 100 |
| 43 | 7 | 22202076 | 22202148 | 73 | 73 | Không áp dụng | 0,44 | 1095 | 0 | 0 | 100 |
| 44 | 7 | 66276100 | 66276187 | 88 | 88 | Indel | 0,35 | 1320 | 0 | 0 | 100 |
| 45 | 7 | 77365735 | 77365821 | 87 | 87 | PolyA (7), AG(4) | 0,26 | 1299 | 0 | 6 | 99,5 |
| 46 | 7 | 110939946 | 110940030 | 85 | 85 | Indel | 0,38 | 1275 | 0 | 0 | 100 |
| 47 | 7 | 128533468 | 128533557 | 90 | 90 | PolyG (5), indel | 0,62 | 1350 | 0 | 0 | 100 |
| 48 | 7 | 149503875 | 149503965 | 91 | 91 | PolyG (6), PolyC (6), indel | 0,71 | 1365 | 0 | 0 | 100 |
| 49 | 7 | 154404519 | 154404599 | 81 | 66 | Không áp dụng | 0,31 | 990 | 0 | 0 | 100 |
| 50 | 7 | 156476507 | 156476599 | 93 | 93 | Indel | 0,35 | 1395 | 0 | 0 | 100 |
| 51 | 8 | 1817312 | 1817394 | 83 | 83 | Không áp dụng | 0,42 | 1245 | 0 | 0 | 100 |
| 52 | 8 | 24811020 | 24811109 | 90 | 89 | PolyG (7), CTC(4), indel | 0,61 | 1305 | 0 | 30 | 97,8 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | % số lần phát hiện chính xác |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| 53 | 8 | 76518625 | 76518691 | 67 | 67 | Indel | 0,3 | 1005 | 0 | 0 | 100 |
| 54 | 9 | 103054909 | 103055006 | 98 | 98 | PolyG (6) | 0,67 | 1470 | 0 | 0 | 100 |
| 55 | 9 | 105586150 | 105586214 | 65 | 65 | Indel | 0,32 | 973 | 0 | 2 | 99,8 |
| 56 | 9 | 107620823 | 107620918 | 96 | 96 | Không áp dụng | 0,49 | 1440 | 0 | 0 | 100 |
| 57 | 9 | 123769149 | 123769231 | 83 | 83 | AT(3) | 0,37 | 1242 | 0 | 3 | 99,8 |
| 58 | 9 | 138995345 | 138995441 | 97 | 97 | PolyC (6), indel | 0,68 | 1455 | 0 | 0 | 100 |
| 59 | 10 | 5987120 | 5987198 | 79 | 78 | PolyG (5), indel | 0,47 | 1170 | 0 | 0 | 100 |
| 60 | 10 | 11784629 | 11784726 | 98 | 91 | GC(3) | 0,87 | 0 | 0 | 1365 | 0 |
| 61 | 10 | 27317777 | 27317855 | 79 | 79 | PolyT (5) | 0,3 | 1185 | 0 | 0 | 100 |
| 62 | 10 | 33018351 | 33018440 | 90 | 90 | PolyA (5), PolyT (5) | 0,2 | 1350 | 0 | 0 | 100 |
| 63 | 10 | 45084159 | 45084253 | 95 | 95 | Indel | 0,35 | 1425 | 0 | 0 | 100 |
| 64 | 10 | 55892599 | 55892687 | 89 | 88 | AC(11), indel | 0,42 | 1290 | 0 | 69 | 94,9 |
| 65 | 10 | 101611250 | 101611329 | 80 | 80 | Không áp dụng | 0,49 | 1200 | 0 | 0 | 100 |
| 66 | 10 | 118351373 | 118351453 | 81 | 81 | Không áp dụng | 0,51 | 1215 | 0 | 0 | 100 |
| 67 | 11 | 8159816 | 8159912 | 97 | 96 | Không áp dụng | 0,45 | 1440 | 0 | 0 | 100 |
| 68 | 11 | 30177648 | 30177717 | 70 | 70 | Indel | 0,46 | 1050 | 0 | 0 | 100 |
| 69 | 11 | 47470345 | 47470444 | 100 | 100 | Không áp dụng | 0,65 | 1500 | 0 | 0 | 100 |
| 70 | 11 | 59837679 | 59837740 | 62 | 62 | Indel | 0,37 | 930 | 0 | 0 | 100 |
| 71 | 11 | 64418856 | 64418957 | 102 | 102 | Không áp dụng | 0,59 | 1530 | 0 | 0 | 100 |
| 72 | 11 | 93529612 | 93529684 | 73 | 73 | PolyA (5) | 0,4 | 1095 | 0 | 0 | 100 |
| 73 | 11 | 101347052 | 101347136 | 85 | 85 | Không áp dụng | 0,42 | 1275 | 0 | 0 | 100 |
| 74 | 11 | 102477336 | 102477426 | 91 | 91 | PolyG (6) | 0,55 | 1365 | 0 | 0 | 100 |
| 75 | 11 | 118406285 | 118406369 | 85 | 85 | Indel | 0,53 | 1275 | 0 | 0 | 100 |
| 76 | 11 | 120357801 | 120357885 | 85 | 85 | PolyA (5), CA(3), indel | 0,34 | 1275 | 0 | 0 | 100 |
| 77 | 11 | 125769313 | 125769397 | 85 | 85 | GA(3) | 0,52 | 1275 | 0 | 0 | 100 |
| 78 | 12 | 2834770 | 2834853 | 84 | 84 | PolyC (5), indel | 0,52 | 1260 | 0 | 14 | 98,9 |
| 79 | 12 | 26811004 | 26811096 | 93 | 93 | PolyA (7), AC(4) | 0,33 | 1395 | 0 | 0 | 100 |
| 80 | 12 | 30881766 | 30881846 | 81 | 81 | Không áp dụng | 0,49 | 1215 | 0 | 0 | 100 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | % số lần phát hiện chính xác |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|--|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| 81 | 12 | 88474105 | 88474175 | 71 | 71 | PolyA (6) | 0,35 | 1065 | 0 | 0 | 100 |
| 82 | 12 | 120966872 | 120966966 | 95 | 95 | PolyG (5) | 0,68 | 1425 | 0 | 0 | 100 |
| 83 | 12 | 24167504 | 24167576 | 73 | 73 | Không áp dụng | 0,52 | 1095 | 0 | 0 | 100 |
| 84 | 13 | 25816961 | 25817049 | 89 | 88 | PolyA (5), PolyT (7), PolyA (7), indel | 0,22 | 1305 | 0 | 15 | 98,9 |
| 85 | 13 | 44880112 | 44880200 | 89 | 89 | Indel | 0,49 | 1335 | 0 | 0 | 100 |
| 86 | 13 | 77665218 | 77665294 | 77 | 77 | Indel | 0,39 | 1155 | 0 | 0 | 100 |
| 87 | 14 | 31619327 | 31619393 | 67 | 67 | GA(3),TA(3) | 0,39 | 1005 | 0 | 0 | 100 |
| 88 | 14 | 39517884 | 39517966 | 83 | 83 | Không áp dụng | 0,25 | 1245 | 0 | 0 | 100 |
| 89 | 14 | 46958962 | 46959034 | 73 | 72 | PolyT (5), indel | 0,19 | 1038 | 0 | 42 | 96,1 |
| 90 | 14 | 58050030 | 58050110 | 81 | 81 | Indel | 0,38 | 1215 | 0 | 0 | 100 |
| 91 | 14 | 82390559 | 82390649 | 91 | 91 | Indel | 0,35 | 1365 | 0 | 0 | 100 |
| 92 | 14 | 92549544 | 92549609 | 66 | 66 | PolyA (5) | 0,41 | 975 | 0 | 60 | 94,2 |
| 93 | 14 | 102808496 | 102808589 | 94 | 94 | Indel | 0,62 | 1410 | 0 | 0 | 100 |
| 94 | 15 | 43170751 | 43170848 | 98 | 96 | PolyC (5) | 0,45 | 1440 | 0 | 0 | 100 |
| 95 | 15 | 63446149 | 63446216 | 68 | 68 | Indel | 0,25 | 1020 | 0 | 0 | 100 |
| 96 | 15 | 77879807 | 77879901 | 95 | 93 | PolyG (5), indel | 0,68 | 1395 | 0 | 0 | 100 |
| 97 | 15 | 81625334 | 81625428 | 95 | 95 | PolyT (6) | 0,43 | 1425 | 0 | 0 | 100 |
| 98 | 15 | 85438263 | 85438334 | 72 | 71 | Indel | 0,65 | 1065 | 0 | 0 | 100 |
| 99 | 15 | 89817413 | 89817503 | 91 | 91 | Không áp dụng | 0,36 | 1365 | 0 | 0 | 100 |
| 100 | 15 | 89864274 | 89864343 | 70 | 70 | Indel | 0,56 | 1050 | 0 | 0 | 100 |
| 101 | 16 | 1894910 | 1894972 | 63 | 63 | Không áp dụng | 0,27 | 945 | 0 | 0 | 100 |
| 102 | 16 | 28997904 | 28997998 | 95 | 95 | PolyC (5) | 0,67 | 1425 | 0 | 0 | 100 |
| 103 | 16 | 3682908 | 53682994 | 87 | 87 | TA(3) | 0,41 | 1305 | 0 | 0 | 100 |
| 104 | 16 | 57954406 | 57954509 | 104 | 104 | PolyC (5) | 0,67 | 1560 | 0 | 0 | 100 |
| 105 | 16 | 85706375 | 85706465 | 91 | 91 | Poly T (5), indel | 0,37 | 1362 | 0 | 3 | 99,8 |
| 106 | 17 | 3563920 | 3564008 | 89 | 89 | GC(3) | 0,64 | 1335 | 0 | 0 | 100 |
| 107 | 17 | 3594191 | 3594277 | 87 | 87 | PolyC (5), indel | 0,67 | 1303 | 0 | 2 | 99,8 |
| 108 | 17 | 3970090 | 3970180 | 91 | 91 | Indel | 0,46 | 1365 | 0 | 0 | 100 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | % số lần phát hiện chính xác |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| 109 | 17 | 16084945 | 16085037 | 93 | 93 | Indel | 0,26 | 1395 | 0 | 0 | 100 |
| 110 | 17 | 33998759 | 33998849 | 91 | 89 | PolyT (5) | 0,54 | 1335 | 0 | 0 | 100 |
| 111 | 17 | 39589691 | 39589774 | 84 | 82 | PolyA (13), indel (x2) | 0,29 | 1215 | 0 | 78 | 94,0 |
| 112 | 17 | 41244394 | 41244484 | 91 | 91 | PolyA (5) | 0,34 | 1365 | 0 | 0 | 100 |
| 113 | 17 | 45438866 | 45438957 | 92 | 92 | PolyA (7), AT(3), AT(4), AT(4), indel | 0,26 | 1365 | 0 | 15 | 98,9 |
| 114 | 17 | 61502432 | 61502510 | 79 | 79 | Indel | 0,41 | 1175 | 0 | 10 | 99,2 |
| 115 | 17 | 64023582 | 64023667 | 86 | 86 | PolyT (7) | 0,22 | 1289 | 0 | 1 | 99,9 |
| 116 | 17 | 72308237 | 72308320 | 84 | 84 | GAG(3) | 0,62 | 1260 | 0 | 0 | 100 |
| 117 | 18 | 2616456 | 2616522 | 67 | 67 | GA(3) | 0,31 | 1005 | 0 | 0 | 100 |
| 118 | 18 | 6980478 | 6980568 | 91 | 91 | Không áp dụng | 0,37 | 1365 | 0 | 0 | 100 |
| 119 | 18 | 9888026 | 9888094 | 69 | 69 | PolyA (6), TG(3) | 0,43 | 1035 | 0 | 0 | 100 |
| 120 | 18 | 38836999 | 38837073 | 75 | 75 | PolyA (5), indel | 0,37 | 1121 | 0 | 19 | 98,3 |
| 121 | 18 | 47405382 | 47405462 | 81 | 81 | CTC(3), indel | 0,47 | 1215 | 0 | 0 | 100 |
| 122 | 18 | 54815665 | 54815749 | 85 | 85 | CT(3), indel | 0,45 | 1275 | 0 | 0 | 100 |
| 123 | 18 | 59773996 | 59774060 | 65 | 65 | Không áp dụng | 0,48 | 975 | 0 | 0 | 100 |
| 124 | 19 | 625143 | 625241 | 99 | 99 | Không áp dụng | 0,59 | 1478 | 0 | 7 | 99,5 |
| 125 | 19 | 18121418 | 18121491 | 74 | 74 | Không áp dụng | 0,68 | 1110 | 0 | 0 | 100 |
| 126 | 19 | 18186574 | 18186643 | 70 | 70 | Không áp dụng | 0,64 | 1050 | 0 | 0 | 100 |
| 127 | 20 | 746056 | 746149 | 94 | 94 | Không áp dụng | 0,61 | 1410 | 0 | 0 | 100 |
| 128 | 20 | 10633195 | 10633276 | 82 | 82 | AC(3) | 0,59 | 1230 | 0 | 0 | 100 |
| 129 | 20 | 17705633 | 17705708 | 76 | 76 | CT(3) | 0,58 | 1140 | 0 | 0 | 100 |
| 130 | 20 | 21766821 | 21766890 | 70 | 70 | GT(3),TG(4), indel | 0,46 | 1050 | 0 | 0 | 100 |
| 131 | 20 | 25278421 | 25278521 | 101 | 101 | Indel | 0,63 | 1515 | 0 | 0 | 100 |
| 132 | 20 | 50897302 | 50897368 | 67 | 67 | Indel | 0,36 | 1005 | 0 | 6 | 99,4 |
| 133 | 20 | 62331904 | 62331994 | 91 | 88 | Poly G (6) | 0,73 | 1320 | 0 | 0 | 100 |
| 134 | 20 | 62690860 | 62690946 | 87 | 87 | Indel | 0,57 | 1305 | 0 | 0 | 100 |
| 135 | 21 | 30300823 | 30300888 | 66 | 66 | Indel | 0,35 | 990 | 0 | 0 | 100 |
| 136 | 21 | 33694176 | 33694273 | 98 | 98 | PolyT (6), CA(3) | 0,54 | 1470 | 0 | 0 | 100 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Phần bắt đầu của amplicon | Phần kết thúc của amplicon | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | % số lần phát hiện chính xác |
|----------|---------------|---------------------------|----------------------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|------------------------------|
| 137 | 21 | 36710706 | 36710792 | 87 | 87 | GT(3), indel | 0,39 | 1305 | 0 | 0 | 100 |
| 138 | 21 | 46644924 | 46644992 | 69 | 69 | PolyA (6), AG(3), indel | 0,32 | 1029 | 0 | 7 | 99,3 |
| 139 | 21 | 46705575 | 46705664 | 90 | 90 | PolyT (5), PolyA (6) | 0,5 | 1350 | 0 | 0 | 100 |
| 140 | 22 | 25750774 | 25750873 | 100 | 100 | Indel | 0,63 | 1500 | 0 | 1 | 99,9 |
| 141 | 22 | 32439233 | 32439329 | 97 | 97 | Không áp dụng | 0,68 | 1455 | 0 | 0 | 100 |
| 142 | 22 | 37409844 | 37409940 | 97 | 97 | Indel | 0,46 | 1455 | 0 | 0 | 100 |
| 143 | 22 | 37637596 | 37637694 | 99 | 99 | Không áp dụng | 0,6 | 1485 | 0 | 0 | 100 |
| 144 | 22 | 47081347 | 47081438 | 92 | 92 | Indel | 0,66 | 1380 | 0 | 0 | 100 |
| 145 | X | 15870424 | 15870492 | 69 | 69 | PolyT (5) | 0,26 | 1035 | 0 | 0 | 100 |
| 146 | X | 135288543 | 135288611 | 69 | 69 | PolyC (5) | 0,62 | 1035 | 0 | 0 | 100 |
| 147 | X | 135290777 | 135290847 | 71 | 71 | Không áp dụng | 0,52 | 1065 | 0 | 0 | 100 |
| 148 | Y | 2655397 | 2655461 | 65 | 0 | Không áp dụng | 0,55 | 0 | 0 | 0 | Không áp dụng |
| 149 | Y | 2655519 | 2655609 | 91 | 0 | Không áp dụng | 0,48 | 0 | 0 | 0 | Không áp dụng |
| 150 | Y | 2655609 | 2655679 | 71 | 0 | PolyA (5) | 0,37 | 0 | 0 | 0 | Không áp dụng |

Các biến thể không có phát hiện được tóm tắt trong [Bảng 12](#). Các bộ lọc cụ thể dẫn đến trường hợp không có phát hiện được liệt kê trong bảng.

Bảng 12 Tóm tắt các biến thể thuộc dạng không phát hiện đột biến

| Số amplicon | Chr:Pos | Biến thể | Hàm lượng amplicon tương ứng | Bộ lọc | Biến thể bị bỏ sót | Biến thể theo dự kiến |
|-------------|-------------|----------|------------------------------|--------------------|--------------------|-----------------------|
| 28 | 5:1882129 | T > G | GC 78% | LowDP ¹ | 8 | 13 |
| 52 | 8:24811064 | AG > A | PolyG (7), CTC(4), GC 61% | R3x6 ² | 15 | 15 |
| 60 | 10:11784633 | C > T | PolyGC (3), GC 87% | LowDP | 13 | 13 |
| 64 | 10:55892600 | TAC > T | AC(11), GC 42% | R3x6 | 9 | 9 |
| 111 | 17:39589692 | C > CA | PolyA (13), GC 29% | R3x6 | 13 | 13 |

¹ DP thấp: Phạm vi bảo hiểm thấp. Biến thể được lọc nếu độ sâu ở ít nhất một trong các nhóm gộp tại vị trí cụ thể này là dưới 900.

² R3x6: Lặp lại bộ lọc. Biến thể được lọc nếu tất cả hoặc một phần biến thể xuất hiện lặp đi lặp lại trong hệ gen tham chiếu liền kề với vị trí biến thể. Cần ít nhất sáu trình tự lặp lại trong tham chiếu và chỉ xét những trình tự lặp lại có độ dài tối đa 3 bp.

Kết quả giải trình tự cho mẫu được so sánh với kiểu gen có độ tin cậy cao đối với NA12878, do Viện Tiêu chuẩn và Công nghệ Quốc gia (NIST) thiết lập (v.2.19). Trong số 150 amplicon, 92 amplicon nằm trọn trong vùng hệ gen có độ tin cậy cao, 41 amplicon có sự chồng lấn một phần và 17 amplicon không có sự chồng lấn trong trình tự NIST. Điều này dẫn đến 10.000 tọa độ trên mỗi mẫu lặp để so sánh. Các phát hiện base không phải biến thể được so sánh với trình tự tham chiếu hệ gen người (bản dựng hg19). Kết quả về độ chính xác được thể hiện trong [Bảng 13](#).

Bảng 13 Độ tương hợp giữa kết quả phát hiện base của thiết bị MiSeqDx với tham chiếu NIST cho mẫu GM12878

| Mẫu | Số amplicon | Tỷ lệ phát hiện trung bình | Tổng số lần phát hiện biến thể TP | Tổng số lần phát hiện biến thể FN | Tổng số lần phát hiện TN | Tổng số lần phát hiện FP | PPA | NPA | OPA |
|---------|-------------|----------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|--------------------------|--------------------------|-----|-----|-----|
| GM12878 | 150 | 98,43 | 206 | 0 | 19231 | 0 | 100 | 100 | 100 |

Năm mẫu không pha loãng được phân tích thêm để phát hiện vùng chèn và xóa nhỏ (indel) ([Bảng 14](#)). Trong một số trường hợp, indel này phổ biến trong hai mẫu trở lên như được phản ánh trong cột Tổng số mẫu lặp của mẫu có indel. Kết quả cho cả hai mẫu lặp của 5 mẫu được đưa vào [Bảng 14](#). Có tổng cộng 71 indel có kích thước từ 1-24 bp đối với vùng chèn và 1-25 bp đối với vùng xóa. Mỗi indel trong 68 indel đều được phát hiện với tỷ lệ phần trăm độ tương hợp dương là 1. Ba lần chèn và xóa không có phát hiện chính xác vì mỗi biến thể này là không phát hiện được do bộ lọc R3x6. Vì vậy, không thể tính toán PPA do PPA loại trừ trường hợp không có phát hiện. Ba biến thể là vùng xóa 1 bp (chr8 24811064 AG>A); vùng xóa 2 bp (chr10 55892600 TAC>T); và vùng chèn 1 bp (chr17 39589692 C>CA).

Bảng 14 Tóm tắt về khả năng phát hiện indel bằng thiết bị MiSeqDx

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Vị trí | Kích thước phân đoạn được phân tích | Loại và chiều dài của indel trên amplicon | Indel | Tổng số mẫu lặp có indel | Số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện indel không chính xác | Tổng số lần phát hiện indel chính xác | PPA |
|----------|---------------|-----------|-------------------------------------|---|------------------------------|--------------------------|---------------------------|---|---------------------------------------|-----|
| 1 | 1 | 36450544 | 93 | Vùng xóa 25 bp | GAAAATTTAATGAAACACATTGTCCT>G | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |
| 2 | 1 | 109465165 | 79 | Vùng xóa 3 bp | ACTT>A | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 3 | 1 | 218353908 | 91 | Vùng chèn 23 bp | T>TTTTAATAGCAAAAAGAGGCTAGA | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 4 | 1 | 223906701 | 92 | Vùng xóa 17 bp | GACAGACTGTGAGGAAGA>G | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 6 | 1 | 236372081 | 70 | Vùng chèn 5 bp | C>CTTAAG | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 7 | 1 | 247812083 | 88 | Vùng chèn 3 bp | C>CATG | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 8 | 2 | 55862804 | 90 | Vùng chèn 7 bp | T>TTTGGTAA | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 9 | 2 | 87003972 | 80 | Vùng xóa 6 bp | TTATCTC>T | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 13 | 2 | 200796749 | 87 | Vùng chèn 5 bp | T>TTAAAA | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Vị trí | Kích thước phân đoạn được phân tích | Loại và chiều dài của indel trên amplicon | Indel | Tổng số mẫu lặp có indel | Số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện indel không chính xác | Tổng số lần phát hiện indel chính xác | PPA |
|----------|---------------|-----------|-------------------------------------|---|------------------------------|--------------------------|---------------------------|---|---------------------------------------|---------------|
| 14 | 2 | 212245090 | 91 | Vùng chèn 12 bp | C>CTGAAAATAGGAT | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 16 | 2 | 235016388 | 73 | Vùng chèn 2 bp | A>ATG | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 17 | 3 | 4466274 | 93 | Vùng xóa 23 bp | TAACCTAAAATTACAAAATAACCC>T | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 19 | 3 | 49851375 | 70 | Vùng chèn 9 bp | C>CCTGGCTCCT | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |
| 21 | 3 | 190106071 | 75 | Vùng xóa 1 bp | AG>A | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 25 | 4 | 56236567 | 66 | Vùng xóa 8 bp | TAACCGAAA>T | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 27 | 4 | 164446785 | 62 | Vùng chèn 11 bp | T>TTATGGTATTGA | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 31 | 5 | 74077155 | 83 | Vùng xóa 4 bp | TAGTA>T | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |
| 34 | 5 | 155662255 | 75 | Vùng chèn 8 bp | G>GCCTACTGA | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 36 | 6 | 24950035 | 92 | Vùng xóa 21 bp | CCCTGGGTGCTATAGCCCACCA>C | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 37 | 6 | 31084942 | 100 | Vùng xóa 3 bp | GCTT>G | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 39 | 6 | 32986905 | 95 | Vùng xóa 25 bp | CTTTCACCTTCCCGTCTCATGCAAAG>C | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |
| 41 | 6 | 41647442 | 95 | Vùng xóa 23 bp | GGCATGAGGCTTGGTGACATGGCA>G | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 44 | 7 | 66276142 | 88 | Vùng chèn 1 bp | C>CT | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 46 | 7 | 110939983 | 85 | Vùng xóa 4 bp | CAAGT>C | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 47 | 7 | 128533514 | 90 | Vùng chèn 1 bp | T>TC | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 48 | 7 | 149503916 | 91 | Vùng xóa 4 bp | GGATA>G | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |
| 50 | 7 | 156476548 | 93 | Vùng xóa 11 bp | GAATCTGCACTT>G | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 52 | 8 | 24811064 | 90 | Vùng xóa 1 bp | AG>A | 15 | 15 | 0 | 0 | Không áp dụng |
| 53 | 8 | 76518677 | 67 | Vùng chèn 4 bp | T>TACTG | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 55 | 9 | 105586193 | 65 | Vùng chèn 4 bp | C>CAATT | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 58 | 9 | 138995370 | 97 | Vùng xóa 21 bp | TCTGGGGGGCAGCCCCTGAGGG>T | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 59 | 10 | 5987158 | 79 | Vùng xóa 3 bp | TAAC>T | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 63 | 10 | 45084202 | 95 | Vùng xóa 16 bp | AGCGTCTATAACCAAT>A | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 64 | 10 | 55892600 | 89 | Vùng xóa 2 bp | TAC>T | 9 | 9 | 0 | 0 | 100 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Vị trí | Kích thước phân đoạn được phân tích | Loại và chiều dài của indel trên amplicon | Indel | Tổng số mẫu lập có indel | Số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện indel không chính xác | Tổng số lần phát hiện indel chính xác | PPA |
|----------|---------------|-----------|-------------------------------------|---|-----------------------------|--------------------------|---------------------------|---|---------------------------------------|-----|
| 68 | 11 | 30177690 | 70 | Vùng chèn 2 bp | C>CTG | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |
| 70 | 11 | 59837721 | 62 | Vùng chèn 8 bp | T>TTATGAAAA | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 75 | 11 | 118406328 | 85 | Vùng xóa 8 bp | CAGTGTGGA>C | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 76 | 11 | 120357842 | 85 | Vùng xóa 2 bp | CTT>C | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 78 | 12 | 2834814 | 84 | Vùng chèn 21 bp | T>TTCTCAGTACGGTGAACCCAG | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 84 | 13 | 25817002 | 89 | Vùng chèn 19 bp | C>CAAAATATAAAAAGCTCCCT | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 85 | 13 | 44880152 | 89 | Vùng chèn 4 bp | C>CCTGT | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 86 | 13 | 77665265 | 77 | Vùng xóa 20 bp | ATCTATTTTCTAATAGACGGC>A | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 89 | 14 | 46958967 | 73 | Vùng xóa 22 bp | TTTAAAATTTGAATGTGATAAAA>T | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 90 | 14 | 58050081 | 81 | Vùng chèn 4 bp | C>CTGAT | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 91 | 14 | 82390602 | 91 | Vùng xóa 16 bp | CTTGCTCTATAAACCGT>C | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 93 | 14 | 102808554 | 94 | Vùng xóa 5 bp | CGTGGA>C | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 95 | 15 | 63446199 | 68 | Vùng xóa 6 bp | CAAAATT>C | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 96 | 15 | 77879862 | 95 | Vùng xóa 25 bp | GCCCCTGAGCCAGCCTCCCCTCTTA>G | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 98 | 15 | 85438311 | 72 | Vùng chèn 3 bp | C>CTTG | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 100 | 15 | 89864316 | 70 | Vùng chèn 4 bp | G>GCTAC | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 105 | 16 | 85706416 | 91 | Vùng xóa 7 bp | ATTATTC>A | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 107 | 17 | 3594276 | 87 | Vùng xóa 1 bp | TG>T | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 108 | 17 | 3970133 | 91 | Vùng chèn 18 bp | A>ATCCTATTCTACTCTGAAT | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |
| 109 | 17 | 16084985 | 93 | Vùng chèn 4 bp | A>AACAC | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |
| 111 | 17 | 39589692 | 84 | Vùng chèn 1 bp | C>CA | 13 | 13 | 0 | 0 | 100 |
| 112 | 17 | 39589739 | 84 | Vùng chèn 24 bp | T>TTCTGAAGGTCAAGTCTATCCCTGA | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 113 | 17 | 45438886 | 92 | Vùng xóa 4 bp | CAGTG>C | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |
| 114 | 17 | 61502459 | 79 | Vùng xóa 12 bp | TTTGATCTGCTG>T | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 120 | 18 | 38837054 | 75 | Vùng chèn 22 bp | T>TGTATCTTAGCAAAAGTTTCTCA | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 121 | 18 | 47405425 | 81 | Vùng chèn 3 bp | T>TGAG | 11 | 0 | 0 | 11 | 100 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Vị trí | Kích thước phân đoạn được phân tích | Loại và chiều dài của indel trên amplicon | Indel | Tổng số mẫu lập có indel | Số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện indel không chính xác | Tổng số lần phát hiện indel chính xác | PPA |
|----------|---------------|----------|-------------------------------------|---|--------------------------|--------------------------|---------------------------|---|---------------------------------------|-----|
| 122 | 18 | 54815706 | 85 | Vùng xóa 2 bp | ACT>A | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 130 | 20 | 21766863 | 70 | Vùng xóa 15 bp | TACTTGAGAACTGAGG>T | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 131 | 20 | 25278464 | 101 | Vùng chèn 5 bp | A>AGTGGG | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 132 | 20 | 50897361 | 67 | Vùng chèn 11 bp | G>GGAATGTCAGCC | 15 | 0 | 0 | 15 | 100 |
| 134 | 20 | 62690925 | 87 | Vùng xóa 16 bp | TCCTGGCTGGCCTGTGG>T | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 135 | 21 | 30300873 | 66 | Vùng chèn 11 bp | G>GATAAACTTTA | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 137 | 21 | 36710749 | 87 | Vùng xóa 21 bp | ACTCAAGATAACTCATGTTATC>A | 9 | 0 | 0 | 9 | 100 |
| 138 | 21 | 46644985 | 69 | Vùng xóa 5 bp | GTTGTT>G | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 140 | 22 | 25750814 | 100 | Vùng chèn 6 bp | C>CAGGGCA | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 142 | 22 | 37409885 | 97 | Vùng chèn 5 bp | C>CTGTTT | 13 | 0 | 0 | 13 | 100 |
| 144 | 22 | 47081407 | 92 | Vùng xóa 10 bp | GGGCACAGGCA>G | 7 | 0 | 0 | 7 | 100 |

Nghiên cứu 2

Nghiên cứu này sử dụng các mẫu mô ung thư đại trực tràng FFPE trong ngân hàng và xét nghiệm 2 gen đại diện được so sánh với phương pháp tham chiếu là giải trình tự Sanger hai chiều (Sanger). Trong tổng số 1183 đối tượng, 441 đối tượng có kết quả xét nghiệm đại diện và theo phương pháp Sanger hợp lệ. Khi đánh giá ở cấp độ đối tượng (Bảng 15), 230 trong số 441 đối tượng có kết quả dương tính theo Sanger (phát hiện đột biến theo Sanger). Trong 230 đối tượng này, 227 đối tượng có kết quả dương tính theo xét nghiệm đại diện. 211 đối tượng còn lại trong số 441 đối tượng có kết quả âm tính theo Sanger (không phát hiện đột biến theo Sanger). Trong 211 đối tượng này, 206 đối tượng có kết quả âm tính theo xét nghiệm đại diện. Điều này dẫn đến Tỷ lệ phần trăm độ tương hợp dương (PPA) là 98,7% và Tỷ lệ phần trăm độ tương hợp âm (NPA) là 97,6% (Bảng 15).

Bảng 15 Tỷ lệ phần trăm độ tương hợp dương và âm của kết quả cấp độ đối tượng

| Xét nghiệm đại diện | Sanger | | Tổng |
|---------------------|------------------|---------|------|
| | Dương tính | Âm tính | |
| Dương tính | 227 ¹ | 5 | 232 |
| Âm tính | 3 ² | 206 | 209 |
| Tổng | 230 | 211 | 441 |

| Hiệu suất Tóm tắt | | |
|-----------------------|-----------------|------------------|
| Độ tương hợp Thống kê | Ước tính điểm | Chính xác 95% CI |
| PPA | 227/230 = 98,7% | [96,2%,99,7%] |
| NPA | 206/211 = 97,6% | [94,6%,99,2%] |

¹Có 224 đối tượng khớp chính xác đối với các kết quả theo cấp độ trong phạm vi đối tượng, mọi đột biến. Đối với 2 đối tượng, MiSeqDx phát hiện đột biến được phát hiện theo Sanger và 1 đột biến khác. Đối với 1 đối tượng, MiSeqDx và Sanger phát hiện các đột biến khác nhau.

²1 đối tượng có 2 đột biến được phát hiện theo Sanger. 2 đối tượng có 1 đột biến được phát hiện theo Sanger.

Nghiên cứu 3

Nghiên cứu này đã đánh giá thư viện ADN được chuẩn bị với các mẫu xét nghiệm FFPE trên nhiều loại mô. Tổng số 109 mẫu xét nghiệm FFPE từ tám mô khác nhau (ruột kết, buồng trứng, tuyến tụy, tuyến thượng thận, bàng quang, gan, tuyến giáp và vú) với ít nhất 11 mẫu xét nghiệm FFPE đại diện cho mỗi loại mô). Mô tuyến thượng thận bao gồm mô di căn từ các khối u thực quản, phổi, ruột kết. Mô còn lại có khối u nguyên phát. Nghiên cứu này sử dụng một thiết kế xét nghiệm đại diện để truy vấn 26 gen bao gồm 21.577 base trên 17 nhiễm sắc thể khác nhau. Tổng số 6 gen khác nhau (*KRAS*, *NRAS*, *TP53*, *PIK3CA*, *EGFR* và *BRAF*) được giải trình tự theo Sanger với mỗi khối u có 1-3 gen được giải trình tự theo Sanger dựa trên tỷ lệ hiện hành dự kiến của các đột biến sinh dưỡng đối với khối u đó. Kết quả giải trình tự theo Sanger đã xác định được 39 đột biến sinh dưỡng SNV ở 33/109 mẫu xét nghiệm FFPE. MiSeqDx đã xác định được 36 đột biến sinh dưỡng SNV ở 32/109 mẫu xét nghiệm FFPE với 1 kết quả âm tính giả và 2 kết quả không có phát hiện vị trí biến thể. PPA là 97,3%. MiSeqDx đã xác định được 78.975 base tham chiếu trên 109 mẫu xét nghiệm FFPE với 29 lần dương tính giả liên quan đến giải trình tự theo Sanger và 3416 lần không có phát hiện. NPA là 99,9%. Vùng xóa hai base nhất quán giữa hai phương pháp. [Bảng 16](#) tóm tắt kết quả theo loại mô.

Bảng 16 Phần trăm độ tương hợp dương và âm theo loại mô

| Loại mô | Số mẫu | Tổng số biến thể | Tổng số biến thể TP | Tổng số biến thể FN | Tổng số lần phát hiện TN | Tổng số lần phát hiện FP | Tổng số lần không có phát hiện | PPA | NPA |
|-------------------|--------|------------------|---------------------|---------------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------------|------|--------|
| Tuyến thượng thận | 16 | 6 | 4 | 1 | 11823 | 2 | 607 | 80 | >99,9 |
| Bàng quang | 12 | 4 | 4 | 0 | 7070 | 3 | 273 | 100 | >99,9 |
| Vú | 16 | 3 | 3 | 0 | 13439 | 7 | 479 | 100 | 99,9 |
| Ruột kết | 11 | 6 | 5 | 0 | 8720 | 2 | 133 | 100 | >99,9 |
| Gan | 13 | 3 | 3 | 0 | 7984 | 1 | 59 | 100 | >99,9 |
| Buồng trứng | 13 | 7 | 7 | 0 | 10581 | 1 | 724 | 100 | >99,99 |
| Tuyến tụy | 17 | 7 | 7 | 0 | 11929 | 12 | 489 | 100 | 99,9 |
| Tuyến giáp | 11 | 3 | 3 | 0 | 7429 | 1 | 652 | 100 | >99,9 |
| Tổng | 109 | 39 | 36 | 1 | 78975 | 29 | 3416 | 97,3 | >99,9 |

Khả năng tái lập

Hai nghiên cứu đã được thực hiện để đánh giá khả năng tái lập của thiết bị MiSeqDx với ADN tách chiết từ các mẫu FFPE. Nghiên cứu 1 sử dụng nhiều thiết bị. Nghiên cứu 2 có nhiều địa điểm.

Nghiên cứu 1

Khả năng tái lập của thiết bị MiSeqDx được xác định bằng cách sử dụng hai thiết bị và giao cho hai người vận hành được đào tạo, thực hiện tổng cộng tám lần chạy. Xét nghiệm đại diện, bối cảnh hệ gen amplicon, mẫu và phương pháp tham chiếu giống như thông tin mô tả cho nghiên cứu về độ chính xác 1 ở trên. Kết quả được trình bày trên cơ sở mỗi amplicon cho mỗi thiết bị (**Bảng 17**) để chứng minh khả năng tái lập của việc phát hiện trên các thiết bị. % số lần phát hiện chính xác bao gồm cả lần phát hiện không chính xác và lần không có phát hiện (một hoặc nhiều bộ lọc không được đáp ứng cho việc phát hiện biến thể). Các thiết bị tạo ra số lần không có phát hiện tương tự tùy theo amplicon cụ thể. Đã quan sát thấy lượt phát hiện không chính xác trong vùng tin cậy như được xác định theo tiêu chuẩn tham chiếu Hệ gen Bạch kim đối với MiSeqDx 1. Phát hiện không chính xác là một phát hiện dương tính giả của một biến thể chèn trong bộ khuếch đại 64 truy vấn nhiễm sắc thể 10 ở các vị trí từ 55892599 đến 55892687. Amplicon này có trình tự lặp lại dinucleotide là 11.

Bảng 17 Kết quả nghiên cứu về khả năng tái lập giữa các thiết bị đối với thiết bị MiSeqDx (cấp độ Amplicon)

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|-------------------------------------|----------------------------|----------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 1 | 1 | 93 | 93 | Indel | 0,22 | 5580 | 0 | 0 | 5580 | 0 | 0 |
| 2 | 1 | 79 | 79 | PolyA (5), PolyC (5), indel | 0,38 | 4740 | 0 | 0 | 4740 | 0 | 0 |
| 3 | 1 | 91 | 91 | Indel | 0,4 | 5448 | 0 | 12 | 5453 | 0 | 8 |
| 4 | 1 | 92 | 92 | Indel | 0,49 | 5518 | 0 | 2 | 5518 | 0 | 2 |
| 5 | 1 | 81 | 81 | PolyG (5) | 0,69 | 4858 | 0 | 2 | 4860 | 0 | 0 |
| 6 | 1 | 70 | 70 | Indel PolyT (10) | 0,39 | 4200 | 0 | 0 | 4200 | 0 | 0 |
| 7 | 1 | 88 | 88 | PolyA (5), CT(3), TAA (3), indel | 0,27 | 5279 | 0 | 1 | 5279 | 0 | 1 |
| 8 | 2 | 90 | 90 | Indel | 0,28 | 5400 | 0 | 0 | 5400 | 0 | 0 |
| 9 | 2 | 80 | 80 | Indel | 0,38 | 4800 | 0 | 0 | 4800 | 0 | 0 |
| 10 | 2 | 85 | 81 | Không áp dụng | 0,65 | 4859 | 0 | 1 | 4859 | 0 | 1 |
| 11 | 2 | 75 | 75 | PolyA (8) | 0,35 | 4468 | 0 | 40 | 4468 | 0 | 40 |
| 12 | 2 | 88 | 88 | PolyT (5) | 0,42 | 5280 | 0 | 0 | 5280 | 0 | 0 |
| 13 | 2 | 87 | 87 | PolyT (5), indel | 0,31 | 5211 | 0 | 43 | 5214 | 0 | 40 |
| 14 | 2 | 91 | 91 | PolyT (5), PolyA (6), indel | 0,3 | 5453 | 0 | 7 | 5449 | 0 | 11 |
| 15 | 2 | 93 | 93 | Không áp dụng | 0,43 | 5579 | 0 | 1 | 5579 | 0 | 1 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|-------------------------------------|----------------------------|--|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 16 | 2 | 73 | 73 | PolyT (5), indel | 0,42 | 4378 | 0 | 2 | 4379 | 0 | 1 |
| 17 | 3 | 93 | 93 | AT(3), indel | 0,27 | 5396 | 0 | 184 | 5396 | 0 | 184 |
| 18 | 3 | 83 | 83 | Không áp dụng | 0,43 | 4980 | 0 | 0 | 4980 | 0 | 0 |
| 19 | 3 | 70 | 70 | CT(3), indel | 0,49 | 4193 | 0 | 7 | 4194 | 0 | 6 |
| 20 | 3 | 88 | 88 | PolyA (5), PolyT (5), PolyA (9), TG(3) | 0,41 | 5220 | 0 | 120 | 5220 | 0 | 120 |
| 21 | 3 | 75 | 74 | Indel | 0,57 | 4432 | 0 | 8 | 4432 | 0 | 8 |
| 22 | 4 | 78 | 78 | PolyA (6) | 0,26 | 4676 | 0 | 4 | 4676 | 0 | 4 |
| 23 | 4 | 97 | 97 | PolyG (6), PolyT (5), PolyA (5) | 0,42 | 5820 | 0 | 0 | 5820 | 0 | 0 |
| 24 | 4 | 78 | 78 | Không áp dụng | 0,29 | 4679 | 0 | 1 | 4677 | 0 | 3 |
| 25 | 4 | 66 | 62 | PolyA (5), indel | 0,36 | 3720 | 0 | 0 | 3720 | 0 | 0 |
| 26 | 4 | 71 | 69 | PolyA (5) | 0,46 | 4140 | 0 | 0 | 4140 | 0 | 0 |
| 27 | 4 | 62 | 62 | PolyA (7), indel | 0,27 | 3676 | 0 | 45 | 3671 | 0 | 51 |
| 28 | 5 | 78 | 75 | Không áp dụng | 0,78 | 3368 | 0 | 1132 | 3485 | 0 | 1015 |
| 29 | 5 | 84 | 84 | GT(3), CCA (3) | 0,62 | 5040 | 0 | 0 | 5040 | 0 | 0 |
| 30 | 5 | 64 | 64 | Không áp dụng | 0,39 | 3840 | 0 | 0 | 3840 | 0 | 0 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 31 | 5 | 83 | 83 | PolyA (6), indel | 0,3 | 4979 | 0 | 1 | 4980 | 0 | 0 |
| 32 | 5 | 67 | 67 | PolyT (5) | 0,37 | 4020 | 0 | 0 | 4020 | 0 | 0 |
| 33 | 5 | 91 | 91 | CT(4), AG (3) | 0,55 | 5460 | 0 | 0 | 5460 | 0 | 0 |
| 34 | 5 | 75 | 75 | Indel | 0,43 | 4498 | 0 | 6 | 4500 | 0 | 1 |
| 35 | 6 | 102 | 102 | PolyG (6) | 0,68 | 6120 | 0 | 0 | 6120 | 0 | 0 |
| 36 | 6 | 92 | 92 | Indel | 0,63 | 5520 | 0 | 0 | 5520 | 0 | 0 |
| 37 | 6 | 100 | 94 | GCT(5), indel | 0,61 | 5532 | 0 | 108 | 5532 | 0 | 108 |
| 38 | 6 | 98 | 98 | Poly T (5), TCT(3), CTT (3) | 0,55 | 5820 | 0 | 60 | 5820 | 0 | 60 |
| 39 | 6 | 95 | 95 | Indel | 0,53 | 5697 | 0 | 3 | 5698 | 0 | 2 |
| 40 | 6 | 86 | 86 | PolyC (6) | 0,7 | 5159 | 0 | 1 | 5160 | 0 | 0 |
| 41 | 6 | 95 | 94 | PolyG (5), indel | 0,61 | 5638 | 0 | 2 | 5638 | 0 | 2 |
| 42 | 6 | 91 | 91 | PolyA (5) | 0,44 | 5460 | 0 | 0 | 5460 | 0 | 0 |
| 43 | 7 | 73 | 73 | Không áp dụng | 0,44 | 4380 | 0 | 0 | 4380 | 0 | 0 |
| 44 | 7 | 88 | 88 | Indel | 0,35 | 5279 | 0 | 1 | 5276 | 0 | 4 |
| 45 | 7 | 87 | 87 | PolyA (7), AG(4) | 0,26 | 5184 | 0 | 36 | 5181 | 0 | 39 |
| 46 | 7 | 85 | 85 | Indel | 0,38 | 5100 | 0 | 0 | 5100 | 0 | 0 |
| 47 | 7 | 90 | 90 | PolyG (5), indel | 0,62 | 5398 | 0 | 2 | 5399 | 0 | 1 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 48 | 7 | 91 | 91 | PolyG (6), PolyC (6), indel | 0,71 | 5460 | 0 | 0 | 5459 | 0 | 1 |
| 49 | 7 | 81 | 66 | Không áp dụng | 0,31 | 3960 | 0 | 0 | 3960 | 0 | 0 |
| 50 | 7 | 93 | 93 | Indel | 0,35 | 5580 | 0 | 0 | 5579 | 0 | 1 |
| 51 | 8 | 83 | 83 | Không áp dụng | 0,42 | 4980 | 0 | 0 | 4980 | 0 | 0 |
| 52 | 8 | 90 | 89 | PolyG (7), CTC(4), indel | 0,61 | 5219 | 0 | 121 | 5220 | 0 | 120 |
| 53 | 8 | 67 | 67 | Indel | 0,3 | 4020 | 0 | 0 | 4020 | 0 | 0 |
| 54 | 9 | 98 | 98 | PolyG (6) | 0,67 | 5879 | 0 | 1 | 5880 | 0 | 0 |
| 55 | 9 | 65 | 65 | Indel | 0,32 | 3894 | 0 | 6 | 3895 | 0 | 5 |
| 56 | 9 | 96 | 96 | Không áp dụng | 0,49 | 5760 | 0 | 0 | 5760 | 0 | 0 |
| 57 | 9 | 83 | 83 | AT(3) | 0,37 | 4973 | 0 | 7 | 4978 | 0 | 2 |
| 58 | 9 | 97 | 97 | PolyC (6), indel | 0,68 | 5817 | 0 | 3 | 5818 | 0 | 2 |
| 59 | 10 | 79 | 78 | PolyG (5), indel | 0,47 | 4679 | 0 | 1 | 4680 | 0 | 0 |
| 60 | 10 | 98 | 91 | GC(3) | 0,87 | 450 | 0 | 5010 | 632 | 0 | 4828 |
| 61 | 10 | 79 | 79 | PolyT (5) | 0,3 | 4740 | 0 | 0 | 4740 | 0 | 0 |
| 62 | 10 | 90 | 90 | PolyA (5), PolyT (5) | 0,2 | 5400 | 0 | 0 | 5400 | 0 | 0 |
| 63 | 10 | 95 | 95 | Indel | 0,35 | 5699 | 0 | 1 | 5699 | 0 | 1 |
| 64 | 10 | 89 | 88 | AC(11), indel | 0,42 | 5157 | 0 | 276 | 5153 | 2 | 273 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 65 | 10 | 80 | 80 | Không áp dụng | 0,49 | 4800 | 0 | 0 | 4800 | 0 | 0 |
| 66 | 10 | 81 | 81 | Không áp dụng | 0,51 | 4860 | 0 | 0 | 4860 | 0 | 0 |
| 67 | 11 | 97 | 96 | Không áp dụng | 0,45 | 5760 | 0 | 0 | 5760 | 0 | 0 |
| 68 | 11 | 70 | 70 | Indel | 0,46 | 4199 | 0 | 2 | 4200 | 0 | 1 |
| 69 | 11 | 100 | 100 | Không áp dụng | 0,65 | 5999 | 0 | 1 | 5998 | 0 | 2 |
| 70 | 11 | 62 | 62 | Indel | 0,37 | 3720 | 0 | 0 | 3720 | 0 | 0 |
| 71 | 11 | 102 | 102 | Không áp dụng | 0,59 | 6120 | 0 | 0 | 6118 | 0 | 2 |
| 72 | 11 | 73 | 73 | PolyA (5) | 0,4 | 4380 | 0 | 0 | 4380 | 0 | 0 |
| 73 | 11 | 85 | 85 | Không áp dụng | 0,42 | 5100 | 0 | 0 | 5100 | 0 | 0 |
| 74 | 11 | 91 | 91 | PolyG (6) | 0,55 | 5437 | 0 | 23 | 5441 | 0 | 19 |
| 75 | 11 | 85 | 85 | Indel | 0,53 | 5100 | 0 | 0 | 5100 | 0 | 0 |
| 76 | 11 | 85 | 85 | Poly A (5), CA (3), indel | 0,34 | 5100 | 0 | 0 | 5100 | 0 | 0 |
| 77 | 11 | 85 | 85 | GA(3) | 0,52 | 5100 | 0 | 0 | 5100 | 0 | 0 |
| 78 | 12 | 84 | 84 | PolyC (5), indel | 0,52 | 5040 | 0 | 60 | 5038 | 0 | 63 |
| 79 | 12 | 93 | 93 | PolyA (7), AC(4) | 0,33 | 5577 | 0 | 3 | 5573 | 0 | 7 |
| 80 | 12 | 81 | 81 | Không áp dụng | 0,49 | 4860 | 0 | 0 | 4860 | 0 | 0 |
| 81 | 12 | 71 | 71 | PolyA (6) | 0,35 | 4260 | 0 | 0 | 4260 | 0 | 0 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|-------------------------------------|----------------------------|--|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 82 | 2 | 95 | 95 | PolyG (5) | 0,68 | 5605 | 0 | 95 | 5605 | 0 | 95 |
| 83 | 13 | 73 | 73 | Không áp dụng | 0,52 | 4380 | 0 | 0 | 4379 | 0 | 1 |
| 84 | 13 | 89 | 88 | PolyA (5), PolyT (7), PolyA (7), indel | 0,22 | 5220 | 0 | 60 | 5220 | 0 | 60 |
| 85 | 13 | 89 | 89 | Indel | 0,49 | 5340 | 0 | 0 | 5340 | 0 | 0 |
| 86 | 13 | 77 | 77 | Indel | 0,39 | 4620 | 0 | 0 | 4620 | 0 | 0 |
| 87 | 14 | 67 | 67 | GA(3),TA(3) | 0,39 | 4020 | 0 | 0 | 4020 | 0 | 0 |
| 88 | 14 | 83 | 83 | Không áp dụng | 0,25 | 4980 | 0 | 0 | 4980 | 0 | 0 |
| 89 | 14 | 73 | 72 | PolyT (5), indel | 0,19 | 4173 | 0 | 147 | 4173 | 0 | 147 |
| 90 | 14 | 81 | 81 | Indel | 0,38 | 4860 | 0 | 2 | 4860 | 0 | 0 |
| 91 | 14 | 91 | 91 | Indel | 0,35 | 5459 | 0 | 1 | 5460 | 0 | 0 |
| 92 | 14 | 66 | 66 | PolyA (5) | 0,41 | 3900 | 0 | 240 | 3900 | 0 | 240 |
| 93 | 14 | 94 | 94 | Indel | 0,62 | 5637 | 0 | 3 | 5637 | 0 | 3 |
| 94 | 15 | 98 | 96 | PolyC (5) | 0,45 | 5760 | 0 | 0 | 5760 | 0 | 0 |
| 95 | 15 | 68 | 68 | Indel | 0,25 | 4079 | 0 | 1 | 4078 | 0 | 2 |
| 96 | 15 | 95 | 93 | PolyG (5), indel | 0,68 | 5475 | 0 | 105 | 5487 | 0 | 93 |
| 97 | 15 | 95 | 95 | PolyT (6) | 0,43 | 5699 | 0 | 1 | 5700 | 0 | 0 |
| 98 | 15 | 72 | 71 | Indel | 0,65 | 4260 | 0 | 0 | 4260 | 0 | 0 |
| 99 | 15 | 91 | 91 | Không áp dụng | 0,36 | 5460 | 0 | 0 | 5460 | 0 | 0 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|-------------------------------------|----------------------------|---------------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 100 | 15 | 70 | 70 | Indel | 0,56 | 4200 | 0 | 0 | 4200 | 0 | 0 |
| 101 | 16 | 63 | 63 | Không áp dụng | 0,27 | 3780 | 0 | 0 | 780 | 0 | 0 |
| 102 | 16 | 95 | 95 | PolyC (5) | 0,67 | 5700 | 0 | 0 | 5700 | 0 | 0 |
| 103 | 16 | 87 | 87 | TA(3) | 0,41 | 5220 | 0 | 0 | 5220 | 0 | 0 |
| 104 | 16 | 104 | 104 | PolyC (5) | 0,67 | 6238 | 0 | 3 | 6238 | 0 | 3 |
| 105 | 16 | 91 | 91 | PolyT (5), indel | 0,37 | 5443 | 0 | 17 | 5444 | 0 | 16 |
| 106 | 17 | 89 | 89 | GC(3) | 0,64 | 5251 | 0 | 89 | 5339 | 0 | 1 |
| 107 | 17 | 87 | 87 | PolyC (5), indel | 0,67 | 5212 | 0 | 8 | 5212 | 0 | 8 |
| 108 | 17 | 91 | 91 | Indel | 0,46 | 5459 | 0 | 1 | 5459 | 0 | 1 |
| 109 | 17 | 93 | 93 | Indel | 0,26 | 5580 | 0 | 0 | 5580 | 0 | 0 |
| 110 | 17 | 91 | 89 | PolyT (5) | 0,54 | 5340 | 0 | 0 | 5340 | 0 | 0 |
| 111 | 17 | 84 | 82 | Poly A (13), indel (x2) | 0,29 | 4860 | 0 | 308 | 4860 | 0 | 07 |
| 112 | 17 | 91 | 91 | PolyA (5) | 0,34 | 5459 | 0 | 1 | 5459 | 0 | 1 |
| 113 | 17 | 92 | 92 | PolyA (7), AT(3), AT(4), AT(4), indel | 0,26 | 5460 | 0 | 60 | 5460 | 0 | 60 |
| 114 | 17 | 79 | 79 | Indel | 0,41 | 4699 | 0 | 41 | 4700 | 0 | 40 |
| 115 | 17 | 86 | 86 | PolyT (7) | 0,22 | 5153 | 0 | 7 | 5156 | 0 | 4 |
| 116 | 17 | 84 | 84 | GAG(3) | 0,62 | 5039 | 0 | 1 | 5039 | 0 | 1 |
| 117 | 18 | 67 | 67 | GA(3) | 0,31 | 4020 | 0 | 0 | 4020 | 0 | 0 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 118 | 18 | 91 | 91 | Không áp dụng | 0,37 | 5460 | 0 | 0 | 5460 | 0 | 0 |
| 119 | 18 | 69 | 69 | PolyA (6), TG(3) | 0,43 | 4132 | 0 | 8 | 4131 | 0 | 9 |
| 120 | 18 | 75 | 75 | PolyA (5), indel | 0,37 | 4475 | 0 | 85 | 4480 | 0 | 79 |
| 121 | 18 | 81 | 81 | CTC(3), indel | 0,47 | 4860 | 0 | 0 | 4860 | 0 | 0 |
| 122 | 18 | 85 | 85 | CT(3), indel | 0,45 | 5098 | 0 | 2 | 5098 | 0 | 2 |
| 123 | 18 | 65 | 65 | Không áp dụng | 0,48 | 3900 | 0 | 0 | 3900 | 0 | 0 |
| 124 | 19 | 99 | 99 | Không áp dụng | 0,59 | 5926 | 0 | 14 | 5924 | 0 | 16 |
| 125 | 19 | 74 | 74 | Không áp dụng | 0,68 | 4440 | 0 | 0 | 4438 | 0 | 2 |
| 126 | 19 | 70 | 70 | Không áp dụng | 0,64 | 4199 | 0 | 1 | 4200 | 0 | 0 |
| 127 | 20 | 94 | 94 | Không áp dụng | 0,61 | 5640 | 0 | 1 | 5638 | 0 | 3 |
| 128 | 20 | 82 | 82 | AC(3) | 0,59 | 4920 | 0 | 0 | 4920 | 0 | 0 |
| 129 | 20 | 76 | 76 | CT(3) | 0,58 | 4559 | 0 | 1 | 4558 | 0 | 2 |
| 130 | 20 | 70 | 70 | GT(3),TG (4), indel | 0,46 | 4200 | 0 | 0 | 4200 | 0 | 0 |
| 131 | 20 | 101 | 101 | Indel | 0,63 | 6060 | 0 | 0 | 6060 | 0 | 0 |
| 132 | 20 | 67 | 67 | Indel | 0,36 | 4020 | 0 | 31 | 4020 | 0 | 25 |
| 133 | 20 | 91 | 88 | PolyG (6) | 0,73 | 5277 | 0 | 3 | 5274 | 0 | 6 |
| 134 | 20 | 87 | 87 | Indel | 0,57 | 5218 | 0 | 2 | 5218 | 0 | 2 |

| Amplicon | Nhiễm sắc thể | Kích thước phân đoạn được phân tích | Số base trong vùng tin cậy | Hàm lượng hệ gen của amplicon | Hàm lượng GC | MiSeqDx 1 | | | MiSeqDx 2 | | |
|----------|---------------|-------------------------------------|----------------------------|-------------------------------|--------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------|--------------------------------|
| | | | | | | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện | Tổng số lần phát hiện chính xác | Tổng số lần phát hiện không chính xác | Tổng số lần không có phát hiện |
| 135 | 21 | 66 | 66 | Indel | 0,35 | 3959 | 0 | 1 | 3957 | 0 | 3 |
| 136 | 21 | 98 | 98 | PolyT (6), CA(3) | 0,54 | 5880 | 0 | 0 | 5880 | 0 | 0 |
| 137 | 21 | 87 | 87 | GT(3), indel | 0,39 | 5220 | 0 | 0 | 5220 | 0 | 0 |
| 138 | 21 | 69 | 69 | PolyA (6), AG(3), indel | 0,32 | 4119 | 0 | 31 | 4113 | 0 | 37 |
| 139 | 21 | 90 | 90 | PolyT (5), PolyA (6) | 0,5 | 5399 | 0 | 1 | 5399 | 0 | 1 |
| 140 | 22 | 100 | 100 | Indel | 0,63 | 5998 | 0 | 7 | 5997 | 0 | 5 |
| 141 | 22 | 97 | 97 | Không áp dụng | 0,68 | 5819 | 0 | 1 | 5819 | 0 | 1 |
| 142 | 22 | 97 | 97 | Indel | 0,46 | 5818 | 0 | 2 | 5816 | 0 | 4 |
| 143 | 22 | 99 | 99 | Không áp dụng | 0,6 | 5940 | 0 | 0 | 5940 | 0 | 0 |
| 144 | 22 | 92 | 92 | Indel | 0,66 | 5519 | 0 | 1 | 5519 | 0 | 1 |
| 145 | X | 69 | 69 | PolyT (5) | 0,26 | 4139 | 0 | 1 | 4140 | 0 | 0 |
| 146 | X | 69 | 69 | PolyC (5) | 0,62 | 4136 | 0 | 4 | 4137 | 0 | 3 |
| 147 | X | 71 | 71 | Không áp dụng | 0,52 | 4260 | 0 | 0 | 4260 | 0 | 0 |
| 148 | Y | 65 | 0 | Không áp dụng | 0,55 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 149 | Y | 91 | 0 | Không áp dụng | 0,48 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 150 | Y | 71 | 0 | PolyA (5) | 0,37 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |

Kết quả nghiên cứu khả năng tái lập được phân tích trên cơ sở mỗi người vận hành, bằng cách sử dụng tần số biến thể (Bảng 18). Phân tích này đã chứng minh rằng các tần số biến thể có sự nhất quán giữa những người vận hành. Tần số biến thể trung bình +/- 1 độ lệch chuẩn được trình bày.

Bảng 18 Kết quả giữa những người vận hành cho thiết bị MiSeqDx

| Khoảng tần số biến thể | Số biến thể duy nhất | Tổng số biến thể được phân tích, người vận hành 1 | Tổng số biến thể được phân tích, người vận hành 2 | Tần số biến thể trung bình (SD) được báo cáo, người vận hành 1 | Tần số biến thể trung bình (SD) được báo cáo, người vận hành 2 |
|--------------------------|----------------------|---|---|--|--|
| Tần số cao (~100%) | 1112 | 1072 | 1072 | 0,96 +/- 0,05 | 0,96 +/- 0,05 |
| Tần số trung bình (~50%) | 3240 | 3151 | 3161 | 0,49 +/- 0,04 | 0,49 +/- 0,04 |
| Tần số thấp (3-7%) | 620 | 618 | 612 | 0,05 +/- 0,01 | 0,05 +/- 0,01 |

Kết quả nghiên cứu về khả năng tái lập cho từng mẫu trình bày được tổng hợp từ tất cả tám lần chạy (Bảng 19). Việc phát hiện được đánh giá riêng cho từng loại biến thể – SNV, vùng chèn và vùng xóa riêng biệt. Loại trừ các vị trí được tham chiếu. Phân tích này chứng minh rằng kết quả cho các biến thể có thể tái lập trên các mẫu.

Bảng 19 Độ tương hợp của kết quả phát hiện base của thiết bị MiSeqDx trên mỗi mẫu

| Mẫu | SNV | | | | Vùng chèn | | | | Vùng xóa | | | |
|-------------------------|---------|------------|------------|------------|-----------|------------|------------|------------|----------|------------|------------|------------|
| | Tổng số | Tổng số TP | Tổng số FP | Tổng số FN | Tổng số | Tổng số TP | Tổng số FP | Tổng số FN | Tổng số | Tổng số TP | Tổng số FP | Tổng số FN |
| GM12877 | 592 | 574 | 2 | 0 | 336 | 336 | 0 | 0 | 228 | 272 | 0 | 0 |
| GM12878 | 1456 | 1432 | 0 | 0 | 320 | 304 | 0 | 0 | 384 | 352 | 0 | 0 |
| GM12879 | 912 | 896 | 0 | 0 | 336 | 320 | 0 | 0 | 288 | 272 | 0 | 0 |
| GM12885 | 1200 | 1192 | 0 | 0 | 400 | 384 | 0 | 0 | 352 | 320 | 0 | 0 |
| GM12886 | 1104 | 1104 | 0 | 0 | 368 | 352 | 0 | 0 | 368 | 352 | 0 | 0 |
| GM12877-D1 ¹ | 3640 | 3582 | 0 | 0 | 800 | 760 | 0 | 0 | 960 | 880 | 0 | 0 |
| GM12877-D2 ² | 400 | 398 | 0 | 0 | 520 | 516 | 0 | 0 | 560 | 556 | 0 | 0 |

¹Biến thể có tần số lớn hơn 20%.

²Biến thể có tần số nhỏ hơn 20%.

Dữ liệu có được qua 8 lần chạy trong nghiên cứu về khả năng tái lập này chứng minh cho tuyên bố rằng thiết bị MiSeqDx có thể giải trình tự một cách nhất quán:

- Hàm lượng GC \geq 19% (tất cả các base được phát hiện ở 120/120 amplicon được giải trình tự có hàm lượng GC 19% được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 3,4%)
- Hàm lượng GC \leq 73% (tất cả các base được phát hiện ở 120/120 amplicon được giải trình tự có hàm lượng GC 73% được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 0,1%)
- Độ dài PolyA \leq 8 (Đoạn lặp lại PolyA gồm 8 nucleotide được phát hiện chính xác ở 120/120 amplicon được giải trình tự có chứa PolyA = 8)
- Độ dài PolyT \leq 10 (Đoạn lặp lại PolyT gồm 10 nucleotide được phát hiện chính xác ở 120/120 amplicon được giải trình tự có chứa PolyT = 10)
- Độ dài PolyG \leq 6 (Đoạn lặp lại PolyG gồm 6 nucleotide được phát hiện chính xác ở 720/720 amplicon được giải trình tự có chứa PolyG = 6)
- Độ dài PolyC \leq 6 (Đoạn lặp lại PolyC gồm 6 nucleotide được phát hiện chính xác ở 359/360 amplicon được giải trình tự có chứa PolyC = 6, với 1 lần không có phát hiện)

- Độ dài đoạn lặp lại dinucleotide $\leq 4x$ (tất cả các base được phát hiện ở 600/600 amplicon được giải trình tự có đoạn lặp lại dinucleotide 4x được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 0,4%)
- Độ dài đoạn lặp lại trinucleotide $\leq 5x$ (tất cả các base được phát hiện ở 120/120 amplicon được giải trình tự có đoạn lặp lại trinucleotide 5x được phát hiện chính xác với tỷ lệ không có phát hiện là 1,9%)
- vùng chèn có kích thước 24 base trở xuống hoặc vùng xóa 25 base trở xuống
 - vùng chèn có kích thước 24 base được phát hiện chính xác ở 120/120 mẫu
 - vùng xóa có kích thước 25 base được phát hiện chính xác ở 182 mẫu và được báo cáo là không có phát hiện ở 2/184 mẫu

Nghiên cứu 2

Một nghiên cứu bên ngoài được thực hiện để đánh giá khả năng tái lập của xét nghiệm 2 gen đại diện, được mô tả trong nghiên cứu độ chính xác 2, ở 3 địa điểm xét nghiệm bên ngoài (2 người vận hành ở mỗi địa điểm), 1 lô thuốc thử và 3 ngày xét nghiệm không liên tiếp. Xét nghiệm được tiến hành với 6 bảng mẫu có đặc điểm rõ ràng gồm các mẫu ADN hệ gen từ các dòng tế bào hoặc mẫu xét nghiệm lâm sàng FFPE. Mỗi bảng gồm 10 thành viên, tổng số thành viên trong toàn bộ các bảng là 60.

60 thành viên trong bảng bao gồm các bản sao của 4 mẫu xét nghiệm thể đại duy nhất (đối với đột biến trong bảng), 12 mẫu xét nghiệm đột biến duy nhất (có một đột biến duy nhất) được chuẩn bị ở cả mức tần số đột biến cao lẫn thấp và 2 mẫu xét nghiệm đột biến duy nhất (có một đột biến duy nhất) chỉ được chuẩn bị ở mức tần số đột biến thấp. Mỗi mẫu xét nghiệm/mẫu mức tần số đột biến duy nhất (được xét nghiệm 2 lần trong mỗi lần chạy) có thể có 36 kết quả (2 mẫu lặp \times 2 người vận hành \times 3 ngày \times 3 địa điểm) nếu tất cả các kết quả đều hợp lệ.

Tỷ lệ phần trăm phát hiện dự kiến (PEC) trên tất cả các biến thể dương tính và âm tính được đánh giá bằng cách so sánh kết quả xét nghiệm đại diện với kết quả đột biến dự kiến (đột biến dự kiến được phát hiện hoặc không được phát hiện) trong mỗi mẫu. PEC được tính bằng 100% nhân số lần phát hiện dự kiến chia cho số lần phát hiện đã thực hiện. Khoảng tin cậy 95% ở hai phía được tính bằng phương pháp tính điểm Wilson.

Kết hợp các địa điểm, tỷ lệ đạt của mẫu là $\geq 94,7\%$ cho lần chạy mẫu đầu tiên hoặc trong các mẫu được xét nghiệm trong các lần chạy hợp lệ vào lần đạt đầu tiên. PEC cấp độ đột biến trên tất cả các mẫu đột biến là 99,6% (905/909) (Khoảng tin cậy 95%; 98,9, 99,8). Số lần phát hiện đã thực hiện trên tất cả 56 đột biến trong bảng (bất kể đột biến được phát hiện có nằm trong dự kiến hay không) cho tất cả các mẫu hợp lệ là 58.856 (56 \times 1051). Trong số 58.856 kết quả quan sát cấp độ đột biến này, chỉ có 6 trường hợp có kết quả quan sát được và kết quả dự kiến trái ngược nhau. PEC cấp độ đột biến trên tất cả các biến thể dương tính và âm tính từ tất cả các thành viên trong bảng đột biến và thể đại cộng lại là 99,99% (58.850/58.856).

Độ nhạy phân tích (Giới hạn mẫu trắng (LoB) và Giới hạn phát hiện (LoD))

Nghiên cứu này xác minh ngưỡng xét nghiệm và xác định Giới hạn phát hiện (LoD) cho MiSeqDx khi có một bảng đại diện. Tóm lại, các dòng tế bào Platinum Genome (Hệ gen bạch kim) có đặc điểm rõ ràng GM12878 và GM12877 đã được cố định bằng formalin và nhúng parafin và sau đó ADN được tách chiết. GM12878 được pha loãng với GM12877 sao cho tần số biến thể của bảy mươi biến thể (52 SNV, chín vùng chèn và chín vùng xóa) gần bằng 0,05. Hai mẫu ADN được hai người vận hành xét nghiệm, sử dụng hai thiết bị và hai lô thuốc thử, cho tổng số 10 lần chạy giải trình tự trên MiSeqDx. Kết quả là 40 mẫu lặp cho mỗi biến thể ở GM12878 và 60 mẫu lặp cho mỗi tọa độ thể đại tương ứng ở GM12877 đối với mỗi lô thuốc thử. LoB và LoD được tính bằng phương pháp cổ điển nêu trong tài liệu EP17-A2 của CLSI, sử dụng tùy chọn không tham số. LoB và LoD được tính riêng biệt cho SNV, vùng chèn và vùng xóa bằng cách gộp các tần số biến thể cho một loại biến thể nhất định. Sai số loại I được xác định là 0,01 và sai số loại II được xác định là 0,05.

Đối với LoB, tần số biến thể đã gộp nhóm được sắp xếp từ thấp nhất đến cao nhất và vị trí xếp hạng thứ 99 cho mỗi lô thuốc thử đối với mỗi loại biến thể đã được tính toán (Bảng 20). Phần mềm MiSeqDx sử dụng một ngưỡng (LoB hiệu dụng) tần số biến thể là 0,026 để xác định khả năng phát hiện biến thể về mặt định tính. Các giới hạn mẫu trắng được tính toán đã xác minh rằng ngưỡng này dẫn đến sai số loại I không quá 0,01.

Bảng 20 Giới hạn mẫu trắng

| Loại biến thể | Tổng số tần số biến thể | LoB lô thuốc thử 1 (%) | LoB lô thuốc thử 2 (%) |
|---------------|-------------------------|------------------------|------------------------|
| SNV | 3120 | 0,87 | 0,75 |
| Vùng chèn | 540 | 0,79 | 0,60 |
| Vùng xóa | 540 | 0,96 | 0,84 |

Đối với LoD, tỷ lệ phần trăm tần số đột biến riêng lẻ cho mỗi lô thuốc thử đối với mỗi loại biến thể nằm dưới ngưỡng 0,026 đã được tính toán (Bảng 21). Vì tỷ lệ phần trăm này thấp hơn sai số loại II là 5% (0,05), giá trị trung bình của các tần số biến thể kết hợp được tính toán là LoD (Bảng 21). LoD cho mỗi loại biến thể được lấy theo giá trị lớn hơn trong hai giá trị được tính toán cho hai lô thuốc thử: 5,45% đối với SNV, 4,88% đối với vùng chèn và 5,44% đối với vùng xóa.

Bảng 21 Giới hạn phát hiện

| Lô thuốc thử | Loại biến thể | Tổng số tần số biến thể | Số phép đo VF < 2,6% | % phép đo VF < 2,6% | Giới hạn phát hiện (%) |
|--------------|---------------|-------------------------|----------------------|---------------------|------------------------|
| 1 | SNV | 2080 | 4 | 0,20 | 5,45 |
| | Vùng chèn | 360 | 0 | 0,00 | 4,86 |
| | Vùng xóa | 360 | 2 | 0,60 | 5,44 |
| 2 | SNV | 2080 | 26 | 1,30 | 5,44 |
| | Vùng chèn | 360 | 0 | 0,00 | 4,88 |
| | Vùng xóa | 360 | 0 | 0,00 | 5,24 |

Các nghiên cứu sau đây chứng minh các đặc điểm hiệu suất của MiSeqDx với một xét nghiệm đại diện khác nhằm vào 56 đột biến trong hai gen ung thư có liên quan về mặt lâm sàng (Bảng đột biến). Bảng đột biến được thiết kế để phát hiện cụ thể 56 đột biến trong hai gen ung thư có liên quan về mặt lâm sàng (Gen 1 và Gen 2). Xét nghiệm xác định đồng thời sự hiện diện hoặc vắng mặt của mỗi đột biến trong số 56 đột biến trong mỗi mẫu được giải trình tự. Phương pháp tham chiếu cho các nghiên cứu này là giải trình tự Sanger hai chiều.

Độ chụm giữa các lô

Nghiên cứu về độ chụm giữa các lô đã được thực hiện để đánh giá hiệu suất của thiết bị MiSeqDx giữa các lô bộ kit thuốc thử được sản xuất (bao gồm đánh giá chất lượng mẫu, chuẩn bị thư viện và thuốc thử giải trình tự). Phương pháp được sử dụng là xét nghiệm đại diện 2 gen thông qua bảng 5 mẫu xét nghiệm FFPE hỗn hợp đáp ứng các yêu cầu về đánh giá chất lượng mẫu. Mỗi mẫu xét nghiệm FFPE chứa 2 đột biến duy nhất: một ở mức tần số đột biến thấp hơn (khoảng 8%) và một ở mức tần số đột biến cao (khoảng 14%). Mười hai (12) lần quan sát đối với mỗi loại trong số 5 hỗn hợp mẫu xét nghiệm được thu thập trong 3 ngày không liên tục với 3 lô bộ kit thuốc thử. Tổng số lần quan sát của nghiên cứu trên tất cả các lô thuốc thử là 180 lần trên tất cả các hỗn hợp mẫu xét nghiệm và 360 lần trên tất cả các mức tần số đột biến. Trên tất cả các lô và ngày, 99,7% (359/360) số lần quan sát cho thấy kết quả đột biến theo dự kiến. Một đột biến tần số thấp được phát hiện không chính xác là một thể đại. Phân tích thành phần phương sai được thực hiện cho từng đột biến/mức tần số đột biến để ước tính độ biến thiên của hệ thống. Tổng độ lệch chuẩn dao động từ 0,011 đến 0,029. Thành phần lô thuốc thử trong tổng độ lệch chuẩn dao động từ 0 đến 0,015.

Lịch sử sửa đổi

| Tài liệu số | Ngày | Mô tả thay đổi |
|------------------------------|-------------------------|---|
| Tài liệu số 200006218 v02 | Tháng 10 năm 2023 | Đã cập nhật tham chiếu đến Local Run Manager cho phiên bản 4. Đã cập nhật nhãn để thêm chi tiết về nhà bảo trợ tại Úc. Các sai lệch đã được sửa trong đó tờ hướng dẫn sử dụng khác với báo cáo nghiên cứu xác minh thiết bị cho MiSeqDx. |
| Tài liệu số 200006218 v01 | Tháng 5 năm 2022 | Đã thêm MiSeqDx Reagent Kit v3 Micro Package Insert CN vào Thiết bị và Vật liệu được cung cấp, Không bắt buộc. Đã thêm thông tin xét nghiệm cho MiSeqDx Reagent Kit v3 Micro vào các Đặc điểm hiệu suất. Đã xóa lưu ý thận trọng cụ thể của Hoa Kỳ khỏi Cảnh báo và Thận trọng. |
| Tài liệu số 200006218 v00 | Tháng 11 năm 2021 | Bản phát hành ban đầu để hỗ trợ MOS phiên bản 4.0 và Local Run Manager 3.0. |

Bảng sáng chế và nhãn hiệu

Tài liệu này và nội dung trong đó thuộc quyền sở hữu của Illumina, Inc. và các công ty liên kết của Illumina, Inc. ("Illumina") và chỉ dành cho việc sử dụng theo hợp đồng với khách hàng của Illumina liên quan đến việc sử dụng (các) sản phẩm được mô tả trong tài liệu này và không dành cho mục đích nào khác. Tài liệu này và nội dung trong đó sẽ không được sử dụng hay phân phối vì bất kỳ mục đích nào khác và/hoặc không được truyền tải, tiết lộ hay sao chép dưới bất kỳ hình thức nào khác mà không có sự cho phép trước bằng văn bản của Illumina. Illumina không chuyển nhượng bất kỳ giấy phép nào theo các bằng sáng chế, nhãn hiệu, bản quyền hoặc các quyền theo thông luật cũng như các quyền tương tự của bất kỳ bên thứ ba nào thông qua tài liệu này.

Các hướng dẫn nêu trong tài liệu này phải được tuân thủ nghiêm ngặt và rõ ràng bởi cá nhân được đào tạo phù hợp và có đủ trình độ nhằm đảm bảo sử dụng an toàn và đúng cách (các) sản phẩm được mô tả trong tài liệu này. Phải đọc và hiểu hoàn toàn tất cả nội dung của tài liệu này trước khi sử dụng (các) sản phẩm đó.

VIỆC KHÔNG ĐỌC TOÀN BỘ VÀ TUÂN THỦ RÕ RÀNG TẤT CẢ CÁC HƯỚNG DẪN NÊU TRONG TÀI LIỆU NÀY CÓ THỂ DẪN ĐẾN GÂY HƯ HỎNG (CÁC) SẢN PHẨM, GÂY TỔN THƯƠNG CHO CON NGƯỜI, BAO GỒM NGƯỜI DÙNG HOẶC NHỮNG NGƯỜI KHÁC VÀ GÂY THIẾT HẠI TÀI SẢN KHÁC, VÀ SẼ LÀM MẤT HIỆU LỰC BẢO HÀNH ÁP DỤNG CHO (CÁC) SẢN PHẨM ĐÓ.

ILLUMINA KHÔNG CHỊU BẤT KỲ TRÁCH NHIỆM NÀO PHÁT SINH TỪ VIỆC SỬ DỤNG KHÔNG ĐÚNG CÁCH (CÁC) SẢN PHẨM ĐƯỢC MÔ TẢ TRONG TÀI LIỆU NÀY (BAO GỒM CẢ CÁC BỘ PHẬN CỦA SẢN PHẨM HOẶC PHẦN MỀM).

© 2023 Illumina, Inc. Bảo lưu mọi quyền.

Tất cả các nhãn hiệu đều là tài sản của Illumina, Inc. hoặc các chủ sở hữu tương ứng. Để biết thông tin cụ thể về nhãn hiệu, hãy tham khảo trang www.illumina.com/company/legal.html.

Thông tin liên hệ



Illumina, Inc.
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 U.S.A.
+1.800.809.ILMN (4566)
+1.858.202.4566 (ngoài khu vực Bắc Mỹ)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com

CE



EC REP



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

Nhà bảo trợ tại Úc
Illumina Australia Pty Ltd
Nursing Association Building
Level 3, 535 Elizabeth Street
Melbourne, VIC 3000
Úc

Thông tin trên nhãn sản phẩm

Để có thông tin tham chiếu đầy đủ về các ký hiệu xuất hiện trên bao bì và nhãn sản phẩm, hãy tham khảo bản chú giải ký hiệu tại địa chỉ support.illumina.com, trên tab *Documentation* (Tài liệu) cho bộ kit của bạn.