

# Strumento MiSeqDx

Guida di consultazione per MOS v4

DI PROPRIETÀ DI ILLUMINA

Documento n. 200010452 v00 ITA

Novembre 2021

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

Questo documento e il suo contenuto sono di proprietà di Illumina, Inc. e delle aziende ad essa affiliate ("Illumina") e sono destinati esclusivamente ad uso contrattuale da parte dei clienti di Illumina, per quanto concerne l'utilizzo dei prodotti qui descritti, con esclusione di qualsiasi altro scopo. Questo documento e il suo contenuto non possono essere usati o distribuiti per altri scopi e/o in altro modo diffusi, resi pubblici o riprodotti, senza previa approvazione scritta da parte di Illumina. Mediante questo documento, Illumina non trasferisce a terzi alcuna licenza ai sensi dei suoi brevetti, marchi, copyright, o diritti riconosciuti dal diritto consuetudinario, né diritti simili di alcun genere.

Il Software viene concesso in licenza conformemente alle condizioni del contratto "Illumina Sequencing Software License Agreement" fornito in un documento separato. Se l'utente non accetta le condizioni specificate in tale contratto, Illumina non concede la licenza d'uso del Software e l'utente deve astenersi dall'installare o utilizzare il Software.

Al fine di assicurare un uso sicuro e corretto dei prodotti qui descritti, le istruzioni riportate in questo documento devono essere scrupolosamente ed esplicitamente seguite da personale qualificato e adeguatamente formato. Leggere e comprendere a fondo tutto il contenuto di questo documento prima di usare tali prodotti.

LA LETTURA INCOMPLETA DEL CONTENUTO DEL PRESENTE DOCUMENTO E IL MANCATO RISPETTO DI TUTTE LE ISTRUZIONI IVI CONTENUTE PUÒ CAUSARE DANNI AL PRODOTTO, LESIONI PERSONALI A UTENTI E TERZI E DANNI MATERIALI.

ILLUMINA NON SI ASSUME ALCUNA RESPONSABILITÀ DERIVANTE DALL'USO IMPROPRIO DEI PRODOTTI QUI DESCRITTI (COMPONENTI E SOFTWARE INCLUSI) O DA QUALSIASI USO DI TALI PRODOTTI NON ESPLICITAMENTE CONTEMPLATO NELLE LICENZE SCRITTE O NELLE AUTORIZZAZIONI CONCESSE DA ILLUMINA IN OCCASIONE DELL'ACQUISIZIONE DEI PRODOTTI STESSI DA PARTE DEL CLIENTE.

© 2021 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati.

Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, consultare la pagina Web [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).

Questo software contiene la libreria SeqAn, concessa in licenza a Illumina e distribuita conformemente alle condizioni della seguente licenza:

Copyright © 2010, Knut Reinert, FU Berlin. Tutti i diritti riservati. Sono consentiti la redistribuzione e l'uso nei formati sorgente e binario, con o senza modifiche, purché siano rispettate le condizioni di seguito riportate:

La redistribuzione del codice sorgente deve contenere le informazioni sul copyright riportate sopra, il presente elenco di condizioni e le limitazioni di responsabilità riportate di seguito.

La redistribuzione in formato binario deve contenere le informazioni sul copyright riportate sopra, il presente elenco di condizioni e le limitazioni di responsabilità riportate di seguito nella documentazione e/o in altro materiale fornito con la distribuzione.

I nomi "FU Berlin" e "Knut Reinert" non devono essere utilizzati per appoggiare o promuovere prodotti derivati da questo software senza previa ed esplicita autorizzazione scritta.

QUESTO SOFTWARE VIENE FORNITO DAI TITOLARI DEI DIRITTI D'AUTORE E DAI LORO COLLABORATORI "NELLO STATO IN CUI SI TROVA" SENZA ALCUNA GARANZIA ESPRESSA O IMPLICITA, INCLUSE IN VIA ESEMPLIFICATIVA, LE GARANZIE DI COMMERCIALIZZABILITÀ O IDONEITÀ A UNO SCOPO SPECIFICO. IN NESSUN CASO I TITOLARI DEI DIRITTI D'AUTORE E I LORO COLLABORATORI POTRANNO ESSERE RITENUTI RESPONSABILI DI EVENTUALI DANNI DIRETTI, INDIRETTI, INCIDENTALI, SPECIALI, ESEMPLARI O CONSEGUENZIALI, (INCLUSI, A MERO TITOLO ESEMPLIFICATIVO, I COSTI DI APPROVVIGIONAMENTO DI BENI O SERVIZI SOSTITUTIVI, I DANNI RISULTANTI DA INDISPONIBILITÀ, PERDITE DI DATI, PERDITE DI RICAVI O DA INTERRUZIONE DELL'ATTIVITÀ COMMERCIALE) INDIPENDENTEMENTE DALLA CAUSA E A PRESCINDERE DALLA INTERPRETAZIONE GIURIDICA, CHE INVOCI INADEMPIMENTO CONTRATTUALE, EXTRA CONTRATTUALE O LA RESPONSABILITÀ OGGETTIVA (INCLUSI I CASI DI NEGLIGENZA O ALTRO) DERIVANTI DALL'UTILIZZO DEL PRESENTE SOFTWARE, ANCHE NEL CASO IN CUI SIANO STATI INFORMATI DELLA POSSIBILITÀ DEL VERIFICARSI DI TALI DANNI.

# Cronologia revisioni

<b>Documento n.</b>	<b>Data</b>	<b>Descrizione della modifica</b>
Documento n. 1000000157953 v00	Novembre 2021	Versione iniziale per il supporto di MOS v4.0 e Local Run Manager v3.0.

# Sommario

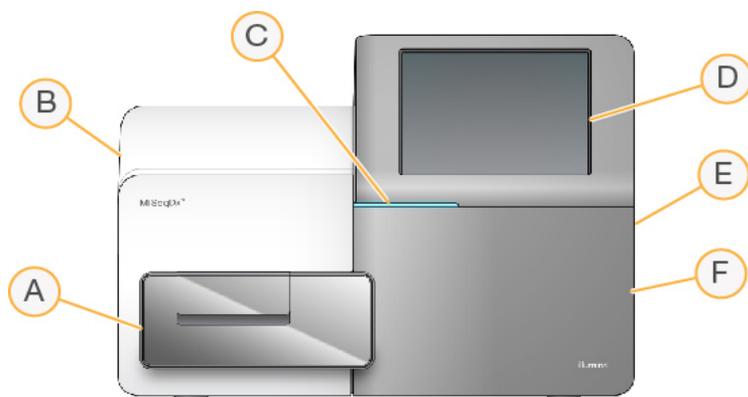
<b>Cronologia revisioni</b> .....	<b>iii</b>
<b>Descrizione generale</b> .....	<b>1</b>
Componenti del sistema .....	1
Software MiSeqDx .....	3
Software Local Run Manager .....	5
Spazio su disco necessario .....	5
Criteri di restrizione software .....	6
Software antivirus .....	6
Modalità di sequenziamento .....	6
<b>Informazioni preliminari</b> .....	<b>8</b>
Avvio di MiSeqDx .....	8
Impostazione dell'opzione per il lavaggio post-corsa .....	9
Impostazione dell'opzione di avvio automatico della corsa .....	9
Attivazione dell'assistenza Illumina Proactive .....	9
Impostazione delle preferenze per le notifiche via e-mail .....	10
Impostazione della posizione predefinita di Output Folder (Cartella di output) .....	10
Materiali di consumo richiesti .....	11
Conservazione e manipolazione .....	12
<b>Sequenziamento</b> .....	<b>13</b>
Introduzione .....	13
Durata della corsa .....	13
Generazione di cluster .....	13
Sequenziamento .....	13
Analisi .....	14
Preparazione della cartuccia di reagenti .....	14
Accesso e suggerimenti del computer per il sequenziamento .....	16
Pulizia della cella a flusso .....	16
Caricamento della cella a flusso .....	18
Caricamento reagenti .....	19
Monitoraggio della corsa .....	22
Esecuzione di un lavaggio post-corsa .....	24
<b>Manutenzione</b> .....	<b>29</b>
Frequenza di manutenzione .....	29

Manutenzione preventiva .....	29
Esecuzione di un lavaggio di manutenzione .....	29
Esecuzione di un lavaggio di standby .....	32
Spegnimento dello strumento .....	35
<b>Risoluzione dei problemi .....</b>	<b>36</b>
Introduzione .....	36
Raggruppamento dei file di registro per la risoluzione dei problemi .....	36
Esecuzione della verifica del sistema .....	37
Sospensione o arresto di una corsa .....	37
Sollevamento manuale dei pescanti della cartuccia di reagenti .....	39
Risoluzione degli errori d'impostazione corsa .....	39
Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID .....	40
Prevenzione del riavvio durante una corsa .....	42
Risoluzione degli errori per la portata .....	42
Esecuzione di un test volume .....	42
Risoluzione degli errori di temperatura del vano refrigerato per i reagenti .....	43
Risoluzione degli errori di analisi di Local Run Manager .....	44
Configurazione delle impostazioni del sistema .....	44
<b>Cartelle di output .....</b>	<b>47</b>
Cartelle delle corse .....	47
<b>Indice .....</b>	<b>48</b>
<b>Assistenza Tecnica .....</b>	<b>51</b>

# Descrizione generale

## Componenti del sistema

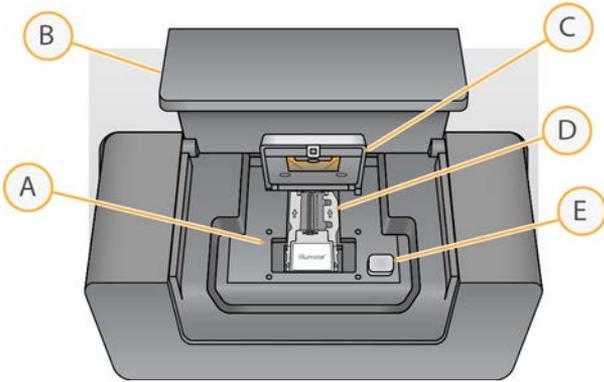
MiSeqDx dispone dei seguenti componenti esterni:



- A. **Scomparto della cella a flusso:** contiene il piano portacelle che ospita la cella a flusso durante l'esecuzione della corsa. I motori del piano portacelle fanno fuoriuscire il piano dal modulo ottica incorporato per permettere il caricamento della cella a flusso e il successivo riposizionamento in sede all'avvio della corsa.
- B. **Modulo ottica incorporato:** contiene i componenti ottici che consentono l'imaging della cella a flusso.
- C. **Barra di stato:** indica lo stato della cella a flusso come pronta per il sequenziamento (verde), in elaborazione (blu) o da controllare (arancione).
- D. **Monitor touch screen:** visualizza l'interfaccia del software di controllo per la configurazione del sistema e l'impostazione della corsa.
- E. **Porta USB esterna:** facilita il trasferimento dei file e dei dati al computer dello strumento attraverso il monitor touch screen.
- F. **Scomparto reagenti:** contiene i reagenti alla corretta temperatura, le soluzioni di lavaggio e un flacone per i reagenti usati. Un dispositivo magnetico chiude lo sportello dello scomparto reagenti.

L'interfaccia di MiSeqDx guida gli utenti durante tutta la procedura d'impostazione della corsa mediante il monitor touch screen. Per caricare i componenti della corsa, è necessario accedere allo scomparto reagenti e allo scomparto della cella a flusso.

## Scomparto della cella a flusso

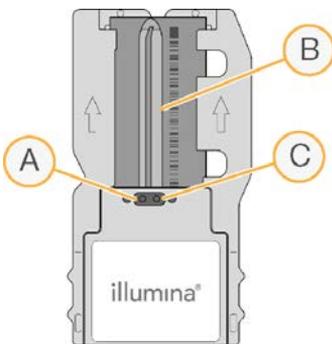


- A. Piano portacelle
- B. Sportello dello scomparto della cella a flusso
- C. Coperchio a scatto della cella a flusso
- D. Cella a flusso
- E. Pulsante di sblocco del coperchio a scatto della cella a flusso

Lo scomparto della cella a flusso contiene il piano portacelle, la stazione termica e le connessioni della fluidica alla cella a flusso. Il piano portacelle ospita la cella a flusso e il coperchio a scatto della cella a flusso fissa e tiene in posizione la cella a flusso. Quando il coperchio è chiuso, due perni accanto alla cerniera posizionano automaticamente la cella a flusso.

La stazione termica, situata sotto il piano portacelle, controlla le variazioni di temperatura della cella a flusso, necessarie per la generazione di cluster e il sequenziamento.

## Cella a flusso



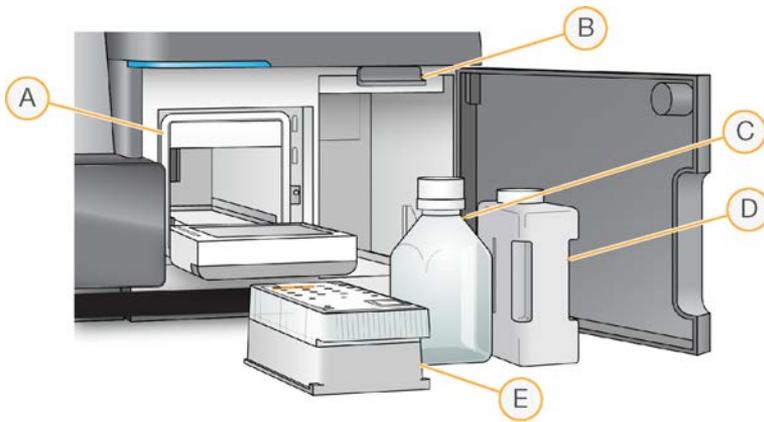
- A. Porta di uscita
- B. Area di imaging
- C. Porta di ingresso

La cella a flusso MiSeqDx è un substrato su vetro monouso su cui vengono generati i cluster e viene eseguita la reazione di sequenziamento.

I reagenti penetrano nella cella a flusso tramite la porta di ingresso, attraversano l'area di imaging a singola corsia e defluiscono dalla porta di uscita. Gli scarti provenienti dalla cella a flusso vengono raccolti nel flacone degli scarti.

Durante la corsa di sequenziamento, la singola corsia è sottoposta a imaging secondo piccole aree di imaging denominate tile.

## Scomparto reagenti



- A. Vano refrigerato per i reagenti
- B. Maniglia del pettine di aspirazione (sollevata nella figura)
- C. Flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2)
- D. Flacone degli scarti
- E. Cartuccia di reagenti

Lo scomparto reagenti comprende il vano refrigerato per i reagenti, le posizioni per il flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) e il flacone degli scarti.

Durante la corsa, il vano refrigerato per i reagenti può contenere una cartuccia di reagenti monouso. Durante il lavaggio dello strumento, il vano refrigerato per i reagenti può contenere il vassoio di lavaggio. Il software abbassa automaticamente i pescanti in ciascun serbatoio della cartuccia di reagenti al momento opportuno durante la corsa, in base alla procedura in esecuzione.

A destra del vano refrigerato per i reagenti sono presenti due alloggiamenti appositamente conformati per accogliere il flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) e il flacone degli scarti. La maniglia del pettine di aspirazione blocca in posizione i flaconi e abbassa in ciascun flacone il pescante appropriato.

I reagenti vengono pompati nei pescanti e nelle linee della fluidica, infine giungono alla cella a flusso. Il reagente di scarto viene convogliato nel flacone degli scarti durante l'intero processo.

## Software MiSeqDx

Il gruppo di software dello strumento comprende applicazioni integrate che eseguono le corse di sequenziamento, l'analisi integrata sullo strumento e le relative funzioni.

- **MiSeq Operating Software (MOS):** controlla il funzionamento dello strumento. L'interfaccia di MiSeq Operating Software (MOS) guida l'utente nella procedura di caricamento della cella a flusso e dei reagenti prima dell'avvio della corsa. Man mano che la corsa procede, viene visualizzata una panoramica delle statistiche qualitative. Il software è installato e viene eseguito sullo strumento.
- Durante la corsa, MOS aziona il piano portacelle, eroga i reagenti, controlla le temperature della cella a flusso e cattura le immagini dei cluster sulla cella a flusso. MOS esegue la corsa in base ai parametri specificati nel software Local Run Manager.
- **Software Real-Time Analysis (RTA):** esegue l'analisi delle immagini e l'identificazione delle basi e assegna un punteggio qualitativo a ciascuna base per ciascun ciclo. Le immagini vengono temporaneamente archiviate nella cartella della corsa per essere analizzate da RTA, quindi vengono automaticamente eliminate al termine dell'analisi RTA.
- **Local Run Manager:** una soluzione integrata sullo strumento per creare una corsa, monitorare lo stato, analizzare i dati di sequenziamento e visualizzare i risultati. Local Run Manager monitora inoltre le informazioni dei campione e controlla i permessi utente. Il software viene eseguito sul computer dello strumento e viene visualizzato mediante un browser Web. Vedere [Software Local Run Manager a pagina 5](#).

## Icone di stato

Ogni volta che lo strumento viene inizializzato o avviato, un'icona di stato sull'interfaccia del software di controllo indica un cambiamento delle condizioni. Un numero sull'icona indica il numero di condizioni per uno stato.

Quando uno stato della corsa viene modificato, l'icona lampeggia per avvisare l'utente. Selezionare l'icona per visualizzare una descrizione della condizione. Selezionare **Acknowledge** (Accetta) per cancellare il messaggio, quindi **Close** (Chiudi) per chiudere la finestra di dialogo.

Per filtrare i tipi di messaggi che vengono visualizzati nella finestra di stato, selezionare le icone situate lungo il margine superiore della finestra. Selezionare un'icona per mostrare/nascondere la condizione di funzionamento associata.

Icona di stato	Nome dello stato	Descrizione
	Stato OK	Nessun cambiamento. Le condizioni del sistema sono normali.
	Avvertenza	Le avvertenze non arrestano una corsa. Tuttavia, alcune avvertenze richiedono un intervento prima di poter procedere.
	Errore	In genere gli errori provocano l'arresto di una corsa, che potrà continuare solo dopo un intervento dell'utente.

## Indicatori di rilevamento

Alla base di ciascuna schermata dell'interfaccia si trovano tre indicatori di rilevamento, ciascuno rappresenta lo stato di un componente del sistema.

Figura 1 Indicatori di rilevamento



Da sinistra a destra, gli indicatori di rilevamento segnalano lo stato dei seguenti componenti:

- Temperatura del vano refrigerato per i reagenti in °C
- Temperatura della cella a flusso in °C

## Software Local Run Manager

Il software Local Run Manager è una soluzione integrata sullo strumento per la registrazione dei campioni per una corsa, la configurazione dei parametri di una corsa, il monitoraggio dello stato, l'analisi dei dati del sequenziamento e la visualizzazione dei risultati.

Inoltre, Local Run Manager controlla l'autenticazione degli utenti, fornendo diversi permessi di accesso agli utenti. I permessi sono salvati in un file database, a cui fa riferimento MiSeqDx. Local Run Manager può inoltre monitorare la corsa di sequenziamento. Per ulteriori informazioni, vedere la *Guida di consultazione del software Local Run Manager v3 per MiSeqDx (documento n. 200003931)*.

## Sequenziamento durante l'analisi

Le risorse di calcolo dello strumento MiSeqDx sono dedicate al sequenziamento oppure all'analisi.

Con Local Run Manager, se si avvia un'altra corsa di sequenziamento su MiSeqDx prima che l'analisi secondaria di una corsa precedente sia stata completata, viene visualizzata una finestra di dialogo di conferma. Dopo aver confermato l'avvio di una nuova corsa di sequenziamento, l'analisi secondaria della corsa precedente viene arrestata fino al completamento della nuova corsa di sequenziamento.

Al termine della nuova corsa di sequenziamento, l'analisi secondaria della corsa precedente si riavvia automaticamente dall'inizio.

## Spazio su disco necessario

Il computer integrato nello strumento dispone di una capacità di memoria di circa 650 GB.

Prima di avviare una corsa, il software verifica lo spazio disponibile su disco. Se non è disponibile spazio su disco sufficiente per la corsa, viene visualizzato un messaggio del software. Il messaggio indica quanto spazio su disco è richiesto per la corsa e quanto spazio su disco deve essere liberato prima di procedere con la corsa.

Se viene richiesto di liberare spazio su disco, spostare o eliminare le cartelle delle corse secondo necessità.

## Criteri di restrizione software

La funzione Software Restriction Policy - SRP (Criteri di restrizione software) di Windows utilizza criteri per consentire l'esecuzione solo di determinati software. Per il sistema MiSeqDx, i criteri SRP si basano sui certificati, sui nomi e sulle estensioni dei file e sulle directory.

Per impostazione predefinita, i criteri di restrizione software vengono attivati per impedire l'esecuzione di software indesiderati sul computer di controllo. Solo l'utente sbsadmin può disattivare i criteri di restrizione software.

Un tecnico informatico o un amministratore di sistema può aggiungere o rimuovere i criteri per personalizzare il livello di sicurezza. Se il sistema viene aggiunto a un dominio, Group Policy Object (GPO) locale potrebbe modificare automaticamente i criteri e disattivare SRP.

Per informazioni sulla configurazione dei criteri di restrizione software, vedere [Sicurezza e rete del computer di controllo dello strumento Illumina](#).



### ATTENZIONE

La disattivazione dei criteri di restrizione software impedisce la protezione che fornisce. La modifica dei criteri sovrascrive le protezioni predefinite.

## Software antivirus

Si raccomanda vivamente di utilizzare un software antivirus a scelta per proteggere il computer di controllo dello strumento. Durante l'installazione del software antivirus, è necessario disattivare temporaneamente i criteri di restrizione software di Windows.

Per informazioni sulla configurazione del software antivirus e sui criteri di restrizione software, vedere [Sicurezza e rete del computer di controllo dello strumento Illumina](#).

## Modalità di sequenziamento

Quando si avvia lo strumento, viene visualizzata la schermata **Choose an operating system** (Scegli un sistema operativo) di Windows. Questa schermata permette di selezionare la modalità di sequenziamento del sistema operativo da utilizzare: Research (RUO) [Ricerca (RUO)] o Diagnostic (Dx) [Diagnostica (Dx)]. Dopo 10 secondi di attesa, viene automaticamente selezionata la modalità predefinita. È possibile modificare la modalità predefinita e il timer della modalità di avvio predefinito in qualsiasi momento.

- Dopo aver selezionato una modalità, è necessario riavviare il sistema per cambiare modalità. Vedere [Riavvio del software di sistema a pagina 7](#).
- Quando si passa dalla modalità RUO alla modalità Dx, viene richiesto di eseguire un lavaggio post-corsa. Lo stato di lavaggio non viene mantenuto tra le modalità.

Per utilizzare la funzione di riavvio, un utente deve disporre dei privilegi di Amministratore di Windows o dei permessi per il riavvio in modalità di ricerca.



### ATTENZIONE

L'opzione Restore Factory OS (RUO/Dx) [Ripristino del sistema operativo di fabbrica (RUO/Dx)] deve essere utilizzata solo durante un intervento di assistenza in loco di Illumina. Elimina infatti in modo permanente tutte le informazioni sull'unità C e ripristina il sistema operativo originale. Questa opzione può essere selezionata solo da un tecnico dell'assistenza Illumina in loco per ripristinare il sistema. Una volta avviata, la procedura di ripristino non può essere annullata. Selezionare questa opzione solo se raccomandata dal servizio di assistenza Illumina.

#### Per modificare la modalità di avvio predefinita:

1. Selezionare **Change defaults or choose other options** (Modifica le impostazioni predefinite o scegli altre opzioni).
2. Nella schermata Options (Opzioni), selezionare **Choose a default operating system** (Seleziona un sistema operativo predefinito).
3. Selezionare l'opzione di avvio desiderata.
4. Selezionare la freccia Indietro per tornare alla schermata **Options** (Opzioni).

#### Per modificare il timer della modalità di avvio predefinita:

1. Selezionare **Change defaults or choose other options** (Modifica le impostazioni predefinite o scegli altre opzioni).
2. Nella schermata Options (Opzioni), selezionare **Change the timer** (Modifica il timer).
3. Nella schermata Change the timer (Modifica il timer), selezionare il timer desiderato.
4. Selezionare la freccia Indietro per tornare alla schermata **Options** (Opzioni).



### AVVERTENZA

In Windows 10, se un utente riavvia il sistema, solo quell'utente sarà in grado di accedere al sistema dopo l'avvio.

## Riavvio del software di sistema

Il comando Reboot (Riavvia) consente di riavviare il software di sistema. La normale manutenzione non prevede il riavvio del software.

- Nel menu principale, selezionare **Reboot** (Riavvia).

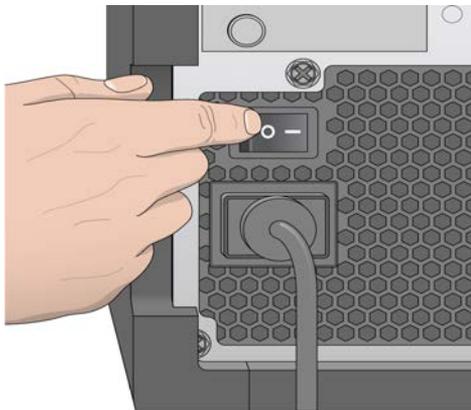
# Informazioni preliminari

## Avvio di MiSeqDx

1. Spostare l'interruttore di alimentazione che si trova nella parte posteriore dello strumento in posizione | (acceso).

**NOTA** Per ottenere prestazioni migliori, lasciare lo strumento sempre acceso. Tuttavia, se lo strumento deve essere spento, vedere [Spegnimento dello strumento a pagina 35](#). Attendere *almeno* 60 secondi prima di riaccenderlo portando l'interruttore di alimentazione su ON.

Figura 2 Posizione dell'interruttore di alimentazione



2. Attendere il caricamento del sistema, quindi selezionare il sistema operativo ed effettuare l'accesso. Se necessario, rivolgersi all'amministratore della struttura per ottenere il nome utente e la password.  
Per ulteriori informazioni sul sistema operativo e sulle opzioni della modalità di sequenziamento, vedere [Modalità di sequenziamento a pagina 6](#).  
Quando il sistema operativo è stato caricato, MiSeq Operating Software (MOS) avvia e inizializza automaticamente il sistema. Se è selezionata la modalità RUO, MCS viene avviato automaticamente.
3. Per Local Run Manager, se la gestione degli utenti è abilitata, accedere utilizzando il nome utente e la password di Local Run Manager, quindi selezionare **Next** (Avanti).

## Impostazione dell'opzione per il lavaggio post-corsa

Un lavaggio dello strumento è richiesto dopo ogni corsa. Il software richiede un lavaggio prima di impostare una corsa successiva. L'opzione Post-Run Wash (Lavaggio post-corsa) indica quale tipo di lavaggio è eseguito per impostazione predefinita. Un lavaggio post-corsa dura circa 30 minuti. Un lavaggio di manutenzione dura circa 90 minuti.

1. Nel menu principale, selezionare **System Settings** (Impostazioni di sistema).
2. Selezionare la scheda Run Settings (Impostazioni corsa).
3. Selezionare **Post Run Wash** (Lavaggio post-corsa) o **Maintenance Wash** (Lavaggio di manutenzione).

## Impostazione dell'opzione di avvio automatico della corsa

È possibile configurare l'avvio automatico di una corsa di sequenziamento su MiSeqDx dopo una verifica automatica completata correttamente. Per utilizzare questa funzione, è necessario possedere il livello di accesso Amministratore di Local Run Manager.

1. Nel menu principale, selezionare **System Settings** (Impostazioni di sistema).
2. Selezionare la scheda Run Settings (Impostazioni corsa).
3. Selezionare la casella di controllo **Start run after pre-run check. Do not prompt for confirmation.** (Avviare la corsa dopo la verifica pre-corsa. Non richiedere conferma.)  
Se questa impostazione è disattivata, avviare la corsa manualmente dopo la verifica pre-corsa.

## Attivazione dell'assistenza Illumina Proactive

1. Nel menu principale, selezionare **System Settings** (Impostazioni di sistema).
2. Selezionare la scheda Proactive.
3. Selezionare **Turn on Illumina Proactive Support** (Attiva assistenza Illumina Proactive) (Invia i dati delle prestazioni dello strumento a Illumina) (Invia le informazioni sullo stato di integrità dello strumento a Illumina) per attivare il servizio di monitoraggio Illumina Proactive.

L'attivazione di questa impostazione consente di inviare a Illumina i dati delle prestazioni dello strumento. Questi dati consentono a Illumina di risolvere facilmente eventuali problemi, di rilevare possibili malfunzionamenti, di eseguire una manutenzione proattiva e di massimizzare il tempo di funzionamento dello strumento. Per maggiori informazioni sui vantaggi di questo servizio, vedere *Nota tecnica sul servizio Illumina Proactive (documento n. 1000000052503)*.

Questo servizio:

- Non invia i dati del sequenziamento.
- Richiede che lo strumento sia connesso a una rete con accesso a Internet.

- È disattivato per impostazione predefinita. Per usufruire di questo servizio, attivare l'opzione **Turn on Illumina Proactive Support** (Attiva assistenza Illumina Proactive).
4. Dall'elenco a discesa, selezionare la regione di hosting a cui lo strumento deve connettersi.

## Impostazione delle preferenze per le notifiche via e-mail

MiSeqDx può essere configurato per inviare una notifica e-mail al termine dell'analisi di RTA, al termine dell'analisi secondaria integrata sullo strumento o quando si verifica un errore critico nel software MiSeqDx. Di solito questa funzione viene configurata all'installazione di MiSeqDx. Per utilizzare questa funzione, è necessario possedere il livello di accesso Amministratore di Local Run Manager.

1. Nel menu principale, selezionare **System Settings** (Impostazioni di sistema).
2. Selezionare la scheda **Email Notifications** (Notifiche e-mail).
3. Immettere le informazioni seguenti:
  - **Local SMTP email server address** (Indirizzo locale server e-mail SMTP): utilizzare la tastiera sullo schermo per inserire l'indirizzo del server locale e-mail SMTP. Se necessario, per ottenere queste informazioni rivolgersi all'amministratore della propria struttura.
  - **Sender address** (Indirizzo del mittente): utilizzare la tastiera sullo schermo per inserire l'indirizzo e-mail del mittente. Può essere l'indirizzo e-mail dell'utente o un altro indirizzo specificato per l'invio delle notifiche e-mail. L'indirizzo e-mail del mittente deve obbligatoriamente avere lo stesso nome di dominio del server e-mail.
  - **Recipient addresses** (Indirizzi destinatari): utilizzare la tastiera sullo schermo per inserire gli indirizzi e-mail di ogni destinatario che deve ricevere le notifiche. Separare ciascun indirizzo e-mail mediante una virgola. Selezionare **Test** (Verifica): per inviare un messaggio e-mail di verifica ai destinatari delle notifiche.
  - **Notify via email when** (Notifica per e-mail quando): selezionare la corrispondente casella di controllo per ciascuno degli eventi della corsa che innesca una notifica.

## Impostazione della posizione predefinita di Output Folder (Cartella di output)

Output Folder (Cartella di output) di MiSeqDx imposta la posizione predefinita per i file di output dell'analisi. Le cartelle possono trovarsi su una rete locale o sul computer dello strumento. Spostare la cartella predefinita degli output su una posizione di rete per condividerla con altri utenti o per l'archiviazione a lungo termine.

Per utilizzare questa funzione, è necessario possedere il livello di accesso Amministratore di Local Run Manager.

1. Nel menu principale, selezionare **System Settings** (Impostazioni di sistema).

2. Selezionare la scheda Run Settings (Impostazioni corsa).
3. Nel campo Output Folder (Cartella degli output), immettere il percorso alla posizione della cartella. Assicurarsi di immettere il percorso completo di UNC, ad esempio  
`\\ServerPersonale\Percorso\OutputFolder.`



### AVVERTENZA

Se si utilizza un'unità mappata come `Z:\OutputFolder`, l'analisi della corsa di sequenziamento non viene completata.

## Materiali di consumo richiesti

### Materiali di consumo per il sequenziamento

I materiali di consumo per il sequenziamento necessari per il funzionamento di MiSeqDx sono forniti separatamente in un kit per uso diagnostico *in vitro*.

### Materiali di consumo forniti dall'utente

Prima di avviare una corsa di sequenziamento, accertarsi di avere a disposizione i seguenti materiali di consumo forniti dall'utente.

Materiali di consumo	Scopo
Salviettine imbevute di alcol isopropilico al 70% oppure etanolo al 70%	Pulizia del vetro e del piano portacelle della cella a flusso
Panno da laboratorio a bassissimo rilascio di particelle	Pulizia del piano portacelle
Carta pulente per lenti, 10 x 15 cm ca.	Pulizia della cella a flusso
Provette MiSeq	Lavaggio della linea del templatato (facoltativo)
NaOCl, 5%	Lavaggio della linea del templatato (facoltativo)
Tween 20	Lavaggio dello strumento
Pinzette di plastica con punta quadrata (facoltative)	Estrazione della cella a flusso dal relativo contenitore
Acqua da laboratorio	Lavaggio dello strumento

## Linee guida per l'acqua da laboratorio

Per eseguire le procedure dello strumento utilizzare sempre acqua da laboratorio o acqua deionizzata. Non usare mai acqua di rubinetto.

Utilizzare solo acqua da laboratorio o gli equivalenti seguenti:

- Acqua deionizzata
- PW1 Illumina
- Acqua con resistività pari a 18 Megohm (MΩ)
- Acqua Milli-Q
- Acqua Super-Q
- Acqua sterile per biologia molecolare

## Conservazione e manipolazione

Elemento	Specifica
Temperatura	Trasporto e conservazione: da -10 °C a 40 °C Condizioni di funzionamento: da 19 °C a 25 °C
Umidità	Trasporto e conservazione: umidità senza condensa Condizioni di funzionamento: umidità relativa 30-75% (senza condensa)

# Sequenziamento

## Introduzione

Per eseguire una corsa su MiSeqDx, attenersi alla procedura d'impostazione descritta nel presente capitolo. Dopo l'avvio della corsa, non è richiesto alcun altro intervento da parte dell'utente.

Al termine della corsa di sequenziamento, eseguire un lavaggio dello strumento.

## Durata della corsa

La durata della corsa si basa sul numero di cicli eseguiti. In base alla versione dei reagenti MiSeqDx, lo strumento MiSeqDx può eseguire una corsa di sequenziamento paired-end per un massimo di 2 x 301 cicli di sequenziamento.

## Numero di cicli di sequenziamento in una lettura

Il numero di cicli eseguiti in una lettura è pari a un ciclo in più rispetto al numero di cicli analizzati. L'ultimo ciclo in più è necessario per i calcoli di correzioni della determinazione delle fasi (phasing) e della predeterminazione delle fasi (prephasing).

Ad esempio, una corsa paired-end da 150 cicli esegue due letture da 151 cicli (2 x 151) per un totale di 302 cicli, oltre a qualsiasi ciclo per Index Read (Lettura indici). Al termine della corsa, si analizzano 2 x 150 cicli.

## Generazione di cluster

Durante la generazione di cluster, singole molecole di DNA si legano alla superficie della cella a flusso, quindi vengono sottoposte ad amplificazione "a ponte" per formare i cluster.

## Sequenziamento

Dopo essere stati generati, i cluster vengono sottoposti a imaging utilizzando LED e combinazioni di filtri specifici per ciascuno dei quattro dideossinucleotidi con marcatura fluorescente. Ultimato l'imaging di una delle tile della cella a flusso, la cella a flusso viene spostata per l'esposizione della tile successiva. Il processo viene ripetuto fino al completamento dell'imaging di tutte le tile. Dopo l'analisi delle immagini, il software esegue l'analisi primaria, che comprende l'identificazione delle basi, il filtraggio e il calcolo dei punteggi qualitativi.

## Analisi

Al termine della corsa, il software di analisi Local Run Manager si avvia automaticamente ed esegue l'analisi secondaria.

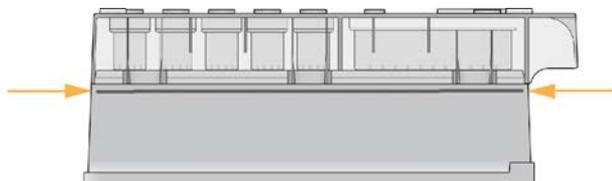
L'analisi secondaria può essere monitorata utilizzando una connessione Internet da un altro computer, a condizione che il computer condivida la connessione di rete con MiSeqDx. Vedere la *Guida di consultazione del software Local Run Manager v3 per MiSeqDx (documento n. 200003931)*.

## Preparazione della cartuccia di reagenti

Le istruzioni che seguono descrivono come scongelare la cartuccia di reagenti utilizzando un bagno d'acqua a temperatura ambiente.

1. Collocare la cartuccia di reagenti in un bagno d'acqua contenente acqua deionizzata a temperatura ambiente sufficiente per immergere la base della cartuccia di reagenti fino alla linea di livello d'acqua stampata sulla cartuccia stessa. Evitare che l'acqua superi la linea di massimo livello acqua.
2. Rimuovere la cartuccia di reagenti dal luogo di conservazione con temperatura tra  $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$  e  $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$ .
3. Posizionare la cartuccia di reagenti in un bagno d'acqua contenente acqua deionizzata a temperatura ambiente sufficiente ad immergere la base della cartuccia di reagenti. Evitare che l'acqua superi la linea di massimo livello acqua stampata sulla cartuccia di reagenti.

Figura 3 Linea di massimo livello acqua



4. Lasciare la cartuccia di reagenti a scongelare in un bagno d'acqua a temperatura ambiente fino a completo scongelamento.  
I tempi di scongelamento vanno da 60 a 90 minuti in base al tipo di cartuccia di reagenti. Per maggiori informazioni, fare riferimento all'inserito della confezione del saggio.
5. Rimuovere la cartuccia dal bagno d'acqua e picchiettarla delicatamente sul banco per far fuoriuscire l'acqua in eccesso dalla base. Asciugare la base della cartuccia. Verificare che sulla parte superiore della cartuccia di reagenti non sia caduta dell'acqua.

## Ispezione della cartuccia di reagenti

1. Capovolgere la cartuccia di reagenti dieci volte per miscelare i reagenti scongelati, quindi ispezionare tutte le posizioni per accertarsi che siano scongelate.
2. Ispezionare i reagenti nelle posizioni 1, 2 e 4 per accertarsi che siano ben miscelati e privi di precipitati.

**NOTA** È fondamentale che i reagenti nella cartuccia siano scongelati completamente e miscelati per assicurare il sequenziamento corretto.

3. Picchiettare delicatamente la cartuccia sul banco per ridurre le bolle d'aria nei reagenti.

**NOTA** I tubi dei pescanti di MiSeqDx vanno fino al fondo di ciascun serbatoio per aspirare i reagenti, per questa ragione è importante che i serbatoi non contengano bolle d'aria.

4. Riporre la cartuccia in ghiaccio o conservarla a una temperatura compresa tra 2 °C e 8 °C (fino a sei ore) finché non si è pronti a impostare la corsa. Per risultati ottimali, procedere direttamente caricando il campione e impostando la corsa.

## Caricamento delle librerie di campioni sulla cartuccia

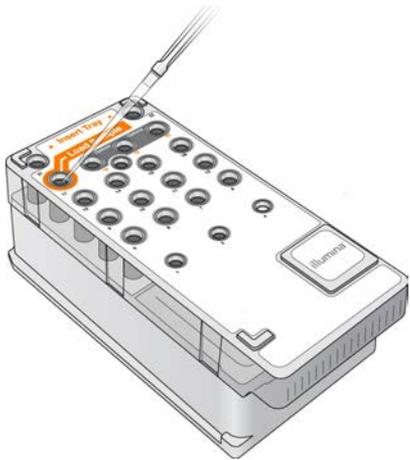
Quando la cartuccia dei reagenti è completamente scongelata e pronta per l'utilizzo, è possibile caricare i campioni sulla cartuccia.

1. Utilizzare una punta per pipette pulita e vuota da 1 ml per forare il sigillo sopra il serbatoio sulla cartuccia di reagenti contrassegnato con la dicitura **Load Samples** (Carica campioni).

**NOTA** Non perforare nessun'altra posizione di reagenti. Le altre posizioni di reagenti sono perforate automaticamente durante la corsa.

2. Dispensare 600 µl di librerie di campioni DAL (libreria di ampliconi diluita) preparate nel serbatoio **Load Samples** (Carica campioni). Evitare di toccare il sigillo in alluminio.
3. Una volta caricato il campione, verificare la presenza di bolle d'aria nel serbatoio. In caso di presenza di bolle d'aria, picchiettare delicatamente la cartuccia sul banco in modo da farle fuoriuscire.

Figura 4 Caricamento delle librerie



4. Passare direttamente alla procedura d'impostazione della corsa usando l'interfaccia di MiSeq Operating Software (MOS).

## Accesso e suggerimenti del computer per il sequenziamento

1. Nella schermata Home (Inizio), selezionare **Sequence** (Sequenziamento).
2. Se si apre la schermata di accesso, inserire le credenziali utente appropriate, quindi selezionare **Next** (Avanti). Una volta effettuato l'accesso, selezionare di nuovo **Sequence** (Sequenziamento).
3. Selezionare una corsa dall'elenco.
4. [Facoltativo] Selezionare **Preview Samples** (Anteprima campioni) per visualizzare un elenco dei campioni contenuti nella corsa.
5. Selezionare **Next** (Avanti).
6. Attenersi alle istruzioni per caricare la cella a flusso e i reagenti e impostare la corsa (vedere le sezioni seguenti).

## Pulizia della cella a flusso

La cella a flusso viene fornita in un apposito contenitore, immersa in un tampone di conservazione.

1. Indossare un nuovo paio di guanti privi di polvere.
2. Con una pinza di plastica, afferrare la cella a flusso dalla base della relativa cartuccia in plastica ed estrarla dal contenitore.

Figura 5 Rimozione della cella a flusso



3. Sciacquare delicatamente la cella a flusso con acqua da laboratorio, assicurandosi di aver eliminato i sali in eccesso dal vetro e dalla cartuccia di plastica.

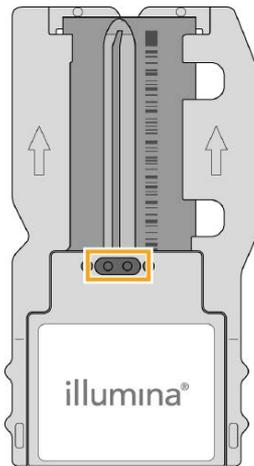
I sali in eccesso possono impedire il corretto posizionamento della cella a flusso sullo strumento. Se i sali si asciugano nell'area di imaging, questi potrebbero incidere anche sull'imaging.

Figura 6 Risciacquo della cella a flusso



4. Prestando particolare attenzione intorno alla guarnizione nera della porta della cella a flusso (evidenziata nella seguente immagine), asciugare con cura la cella a flusso e la cartuccia con un panno pulente per lenti che non lascia residui. Asciugare tamponando delicatamente l'area della guarnizione e il vetro adiacente.

Figura 7 Porte e guarnizione della cella a flusso



5. Pulire il vetro della cella a flusso con una salvietta imbevuta di alcol. Assicurarsi di non lasciare striature, impronte, particelle estranee o fibre di tessuto sul vetro.

**NOTA** Non utilizzare la salvietta imbevuta di alcol sulla guarnizione della porta della cella a flusso.

Figura 8 Asciugatura della cella a flusso

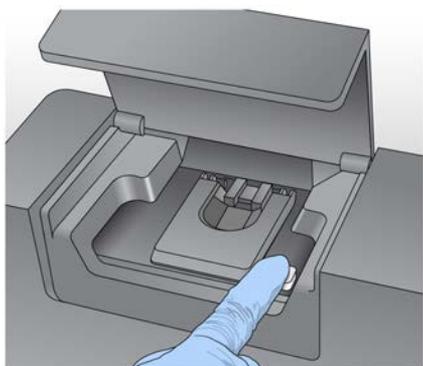


6. Asciugare l'alcol in eccesso con un panno pulente per lenti che non lascia residui.
7. Assicurarci che le porte della cella a flusso non siano ostruite e che la guarnizione aderisca correttamente intorno alle porte della cella a flusso.  
Se la guarnizione sembra anche leggermente scostata, riposizionarla esercitando una leggera pressione fino a farla aderire correttamente alle porte della cella a flusso.

## Caricamento della cella a flusso

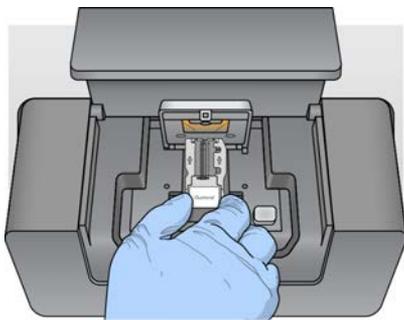
1. Sollevare lo sportello dello scomparto della cella a flusso, quindi premere il pulsante di sblocco a destra del coperchio a scatto della cella a flusso. Il coperchio a scatto della cella a flusso si apre.

Figura 9 Apertura del coperchio a scatto della cella a flusso



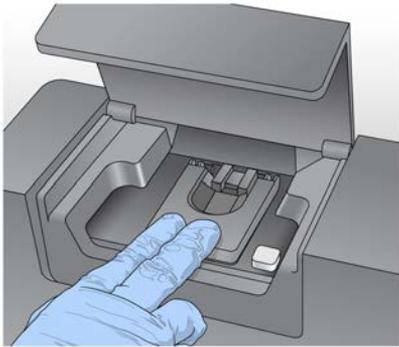
2. Assicurarci che il piano portacelle sia privo di residui. Se si riscontra la presenza di fibre o altre particelle estranee, pulire il piano portacelle con una salvietta imbevuta di alcol o un panno che non lascia residui imbevuto di etanolo o isopropanolo. Strofinare delicatamente la superficie del piano portacelle finché non è perfettamente pulita e asciutta.
3. Tenendo la cella a flusso per i bordi della cartuccia della cella a flusso, posizionarla sul piano portacelle.

Figura 10 Posizionamento della cella a flusso sul piano portacelle



4. Premere delicatamente il coperchio a scatto della cella a flusso per abbassarlo sulla cella a flusso. Mentre il coperchio a scatto si chiude, i perni di allineamento posizionano la cella a flusso. Quando si sente un 'clic' vuol dire che il coperchio a scatto della cella a flusso è chiuso correttamente.

Figura 11 Chiusura del coperchio a scatto della cella a flusso



5. Se il software non identifica l'etichetta RFID della cella a flusso, vedere [Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID a pagina 40](#).

**NOTA** Se l'etichetta RFID non può essere letta, le informazioni identificative possono essere inserite manualmente. Tuttavia, il software permette un solo errore sui tre componenti con etichetta RFID (cella a flusso, cartuccia di reagenti, MiSeqDx SBS Solution (PR2)) su una corsa diagnostica in vitro. Per maggiori informazioni, vedere [Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID a pagina 40](#).

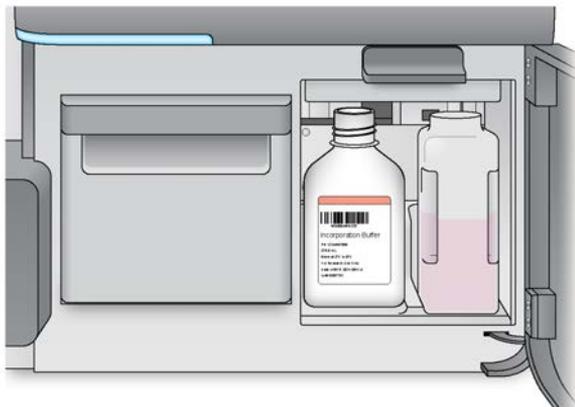
6. Chiudere lo sportello dello scomparto della cella a flusso.
7. Selezionare **Next** (Avanti).

## Caricamento reagenti

### Caricamento di MiSeqDx SBS Solution (PR2) e verifica del flacone degli scarti

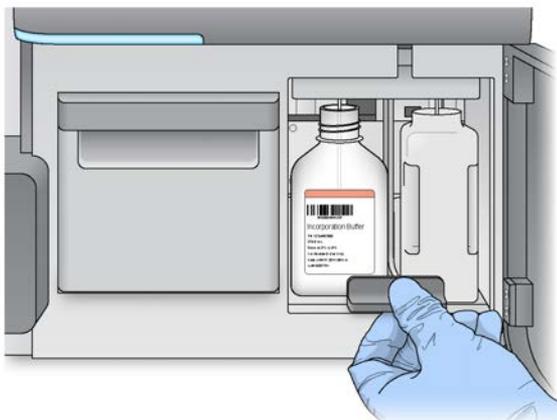
1. Rimuovere il flacone MiSeqDx SBS Solution (PR2) dalla temperatura di conservazione compresa tra 2 °C e 8 °C. Capovolgere per miscelare, quindi rimuovere il coperchio.
2. Aprire lo sportello dello scomparto reagenti.
3. Sollevare la maniglia del pettine di aspirazione finché non si blocca in sede.
4. Rimuovere il flacone di lavaggio e caricare il flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2).

Figura 12 Caricamento del flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2)



5. Svuotare il contenuto del flacone degli scarti nell'apposito contenitore.
6. Abbassare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione. Assicurarsi che i pescanti vengano abbassati nel flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) e nel flacone degli scarti.

Figura 13 Abbassamento della maniglia del pettine di aspirazione



7. Se il software non identifica l'etichetta RFID del flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2), vedere [Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID a pagina 40](#).

**NOTA** Se l'etichetta RFID non può essere letta, le informazioni identificative possono essere inserite manualmente. Tuttavia, il software permette un solo errore sui tre componenti con etichetta RFID (cella a flusso, cartuccia di reagenti, MiSeqDx SBS Solution (PR2)) su una corsa diagnostica in vitro. Per maggiori informazioni, vedere [Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID a pagina 40](#).

8. Selezionare **Next** (Avanti).

## Caricamento della cartuccia di reagenti

1. Aprire lo sportello del vano refrigerato.

**NOTA** Non lasciare lo sportello del vano refrigerato per i reagenti aperto per periodi prolungati.

2. Tenere la cartuccia di reagenti dall'estremità con l'etichetta Illumina e farla scorrere all'interno del vano refrigerato finché non si arresta.

Figura 14 Caricamento della cartuccia di reagenti



3. Chiudere lo sportello del vano refrigerato per i reagenti.
4. Se il software non identifica l'etichetta RFID della cartuccia di reagenti, vedere [Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID a pagina 40](#).

**NOTA** Se l'etichetta RFID non può essere letta, le informazioni identificative possono essere inserite manualmente. Tuttavia, il software permette un solo errore sui tre componenti con etichetta RFID (cella a flusso, cartuccia di reagenti, MiSeqDx SBS Solution (PR2)) su una corsa diagnostica in vitro. Per maggiori informazioni, vedere [Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID a pagina 40](#).

5. La corsa si avvia in uno dei modi seguenti.
  - Se il sistema non è stato configurato per l'avvio automatico dopo una verifica completata correttamente, selezionare **Start Run** (Avvia corsa).
  - Se il sistema è stato configurato per l'avvio automatico dopo una verifica completata correttamente, la corsa di sequenziamento si avvia automaticamente. Non è necessaria la presenza dell'utente. Tuttavia, se si verifica un errore durante la verifica, la corsa non viene avviata automaticamente.

**NOTA** Se la temperatura del vano refrigerato per i reagenti non rientra nell'intervallo, la corsa di sequenziamento potrebbe non essere avviata. Vedere [Risoluzione degli errori di temperatura del vano refrigerato per i reagenti a pagina 43](#).

## Nota importante prima di avviare la corsa



### AVVERTENZA

**Il sistema MiSeqDx è sensibile alle vibrazioni. Toccare lo strumento dopo l'avvio di una corsa può incidere negativamente sui risultati del sequenziamento.**

Dopo aver caricato la cartuccia di reagenti e chiuso lo sportello dello scomparto reagenti, non aprire lo scomparto della cella a flusso o gli sportelli dello scomparto reagenti. Non toccare il monitor dello strumento a meno che non sia necessario mettere in pausa la corsa. Per maggiori informazioni, vedere [Sospensione di una corsa a pagina 38](#).



### AVVERTENZA

Assicurarsi di chiudere tutti i file su MiSeqDx prima di avviare una corsa; non aprire i file durante una corsa.

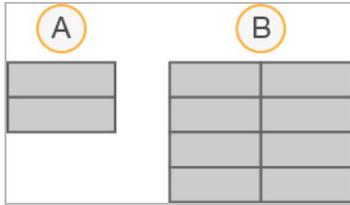
## Monitoraggio della corsa

Durante una corsa, monitorarne i dettagli utilizzando la schermata Sequencing (Sequenziamento) dello strumento. La schermata Sequencing (Sequenziamento) è di sola visualizzazione.

Per il monitoraggio della corsa da remoto è possibile utilizzare anche Local Run Manager, se lo strumento è collegato alla stessa rete.

Local Run Manager mostra l'avanzamento della corsa e le informazioni sul sequenziamento [Total Clusters (Cluster totali), % Cluster PF (% di cluster che attraversano il filtro), Read 1 e Read 2 %  $\geq$  Q30 (Lettura 1 e Lettura 2 %  $\geq$  Q30) e Last Scored Cycle (Ultimo ciclo qualitativamente valutato)]. Per ulteriori informazioni, vedere [Software Local Run Manager a pagina 5](#).

1. Sulla schermata Sequencing (Sequenziamento) dello strumento, monitorare l'avanzamento, le intensità e i punteggi qualitativi della corsa.
  - **Run progress** (Avanzamento della corsa): mostra l'avanzamento della corsa in una barra di stato ed elenca il numero di cicli completati.
  - **Intensity** (Intensità): mostra il valore delle intensità dei cluster per il 90° percentile per ogni tile. Il grafico dell'area Intensity (Intensità) rappresenta il numero di tile sottoposte a imaging.
    - Se la cella a flusso è sottoposta a imaging solo sulla superficie superiore, viene visualizzato un grafico a colonna singola.
    - Se la cella a flusso è sottoposta a imaging sulla superficie superiore e inferiore, viene visualizzato un grafico a due colonne.



- A. Indica due tile, solo superficie superiore
- B. Indica quattro tile, superficie superiore e inferiore

- **Q-Score All Cycles** (Punteggi qualitativi per tutti i cicli): mostra la percentuale media di basi con punteggio qualitativo superiore a Q30. Un punteggio qualitativo è una predizione della probabilità di un'errata identificazione delle basi. I punteggi qualitativi (Q-score) sono calcolati dopo il ciclo 25.

Punteggio qualitativo	Probabilità di errata identificazione delle basi
Q40	1 su 10.000
Q30	1 su 1.000
Q20	1 su 100
Q10	1 su 10

- **Cluster Density K/mm<sup>2</sup>** (Densità dei cluster - K/mm<sup>2</sup>): mostra il numero di cluster per millimetro quadro per la corsa. La densità dei cluster prevista ottimale è 800 K/mm<sup>2</sup>.

**NOTA** Il valore chastity di un'identificazione delle basi è dato dal rapporto di intensità del segnale maggiore diviso per la somma dei due segnali maggiori. Le letture non attraversano il filtro qualità se sono presenti una o più identificazioni delle basi con valore chastity inferiore a 0,6 durante i primi 25 cicli.

- **Estimated Yield (Mb)** (Resa prevista - Mb): mostra il numero previsto di basi identificate per la corsa, misurato in megabasi. Questi dati appaiono solo dopo il ciclo 25.
2. Al termine della corsa, compare il pulsante Next (Avanti). Prima di procedere, esaminare i risultati sulla schermata Sequencing (Sequenziamento).

**NOTA** La schermata Sequencing (Sequenziamento) è visualizzabile finché si seleziona Next (Avanti). Dopo aver selezionato Next (Avanti), non è possibile ritornare alla schermata Sequencing (Sequenziamento).

3. Selezionare **Next** (Avanti) per uscire dalla schermata Sequencing (Sequenziamento) e procedere con un lavaggio post-corsa.

## Generazione della griglia per l'identificazione dei cluster

Real-Time Analysis (RTA) usa i primi quattro cicli della corsa di sequenziamento per generare la griglia per l'identificazione dei cluster. La generazione della griglia per l'identificazione dei cluster è il processo mediante il quale le posizioni dei cluster sull'intera superficie della cella a flusso sono definite secondo le coordinate X e Y.

Una volta generata la griglia delle posizioni dei cluster, le immagini generate a ogni successivo ciclo di imaging vengono allineate rispetto alla griglia. Le intensità dei singoli cluster in tutti e quattro i canali cromatici dei nucleotidi possono essere estratte e le identificazioni delle basi possono essere ricavate dalle intensità dei cluster normalizzate.

## Metriche della corsa

Le metriche della corsa appaiono sulla schermata Sequencing (Sequenziamento) in fasi differenti della corsa. Durante le fasi di generazione di cluster non appare alcuna metrica.

Dopo l'inizio del sequenziamento, in corrispondenza dei cicli indicati appaiono le seguenti metriche:

Ciclo	Metrica
Ciclo 1-4	Intensity (Intensità)
Ciclo 4-25	Intensity (Intensità) e Cluster Density (Densità cluster)
Dal ciclo 25 al termine della corsa	Intensity (Intensità), Cluster Density (Densità cluster), % PF (% che attraversa il filtro), Yield (Resa) e Q-scores (Punteggi qualitativi)

## Esecuzione di un lavaggio post-corsa

Il lavaggio post-corsa è un lavaggio standard dello strumento eseguito tra le corse di sequenziamento. Eseguire sistematicamente un lavaggio post-corsa dello strumento dopo il completamento di una corsa di sequenziamento. Attenersi alle istruzioni del software per caricare i componenti di lavaggio ed eseguire il lavaggio. Il lavaggio post-corsa impiega circa 20 minuti.

Avviare il lavaggio subito dopo la corsa. Un lavaggio dello strumento è richiesto prima di poter impostare una corsa successiva. Per eseguire un lavaggio post-corsa in un momento che non sia subito dopo una corsa, utilizzare il comando sulla schermata Perform Wash (Esecuzione lavaggio) per avviare il lavaggio.

I lavaggi eseguiti regolarmente assicurano la continuità delle prestazioni per i motivi seguenti:

- Eliminano gli eventuali residui di reagenti dalle linee della fluidica e dai pescanti
- Impediscono l'accumulo e la cristallizzazione dei sali nelle linee della fluidica e nei pescanti
- Impediscono la contaminazione incrociata con la corsa precedente

È possibile scegliere l'opzione di eseguire un lavaggio post-corsa che includa un lavaggio della linea del templatato con una soluzione di ipoclorito di sodio (NaOCl). Il lavaggio impiega circa 30 minuti. Vedere [Procedura per il lavaggio della linea del templatato a pagina 26](#).

**NOTA** Lasciare la cella a flusso usata nello strumento. Per eseguire un lavaggio dello strumento, è necessario che una cella a flusso sia caricata sullo strumento.

#### Materiali di consumo forniti dall'utente

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, n. di catalogo P7949)
- Acqua da laboratorio
- NaOCl (da utilizzare con un lavaggio post-corsa che include un lavaggio della linea del templatato)
- Provetta MiSeq (cod. art. MS-102-9999) (per lavaggi post-corsa che includono un lavaggio della linea del templatato)

#### Procedura

1. Preparare al momento una soluzione di lavaggio con Tween 20 e acqua da laboratorio nel modo seguente:
  - a. Dispensare 5 ml di Tween 20 al 100% in 45 ml di acqua da laboratorio. Con questi volumi si otterrà Tween 20 al 10%.
  - b. Dispensare 25 ml di Tween 20 al 10% in 475 ml di acqua da laboratorio. Con questi volumi si otterrà una soluzione di lavaggio Tween 20 allo 0,5%.
  - c. Capovolgere diverse volte per miscelare.
2. Preparare al momento i componenti di lavaggio con soluzione di lavaggio Tween 20 allo 0,5% nel modo seguente:
  - a. Dispensare 6 ml di soluzione di lavaggio in ciascun serbatoio del vassoio di lavaggio.
  - b. Dispensare 350 ml di soluzione di lavaggio nel flacone di lavaggio da 500 ml.
3. Dalla schermata del lavaggio post-corsa, selezionare **Start Wash** (Avvia lavaggio). Il software solleva automaticamente i pescanti nel vano refrigerato per i reagenti. Prima di proseguire, attendere diversi secondi per permettere ai pescanti di sollevarsi completamente.  
*Non* selezionare **Perform optional template line wash** (Esegui un lavaggio facoltativo della linea del templatato) sulla schermata Post-Run wash (Lavaggio post-corsa). Il lavaggio della linea del templatato richiede una procedura diversa. Vedere [Procedura per il lavaggio della linea del templatato a pagina 26](#).
4. Aprire lo sportello dello scomparto reagenti e lo sportello del vano refrigerato per i reagenti e far scorrere la cartuccia di reagenti usata dal vano refrigerato.
5. Far scorrere il vassoio di lavaggio all'interno del vano refrigerato per i reagenti finché non si arresta in posizione, quindi chiudere lo sportello del vano refrigerato.

- Sollevare la maniglia del pettine di aspirazione di fronte al flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) e al flacone degli scarti finché non si blocca in posizione.
- Rimuovere il flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) e sostituirlo con un flacone di lavaggio.

**NOTA** Smaltire il flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) dopo ogni corsa. Non riutilizzare alcuna soluzione residua di MiSeqDx SBS Solution (PR2).

- Rimuovere il flacone degli scarti ed eliminarne il contenuto seguendo le opportune procedure di smaltimento. Riposizionare il flacone degli scarti nello scomparto reagenti.



### AVVERTENZA

**Questo set di reagenti contiene materiali chimici potenzialmente pericolosi. L'inalazione, l'ingestione, il contatto con la pelle o con gli occhi possono causare lesioni personali. Indossare l'attrezzatura protettiva, inclusi protezione per gli occhi, guanti e indumento da laboratorio appropriato per evitare i rischi di esposizione. Manipolare i reagenti usati come rifiuti chimici e smaltirli in base alle leggi e alle regolamentazioni applicabili a livello regionale, nazionale e locale.** Per maggiori informazioni sulle considerazioni ambientali, sulla sicurezza e sulla salute, vedere le schede di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS) alla pagina Web [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

- Abbassare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione, accertandosi che i pescanti vengano abbassati nei flaconi di lavaggio e degli scarti.
- Chiudere lo sportello dello scomparto reagenti.
- Selezionare **Next** (Avanti). Il lavaggio post-corsa ha inizio.

Dopo il completamento del lavaggio, lasciare sullo strumento la cella a flusso usata, il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio contenente la soluzione di lavaggio residua.

**NOTA** I pescanti rimangono nella posizione abbassata, il che è normale. Lasciare la soluzione di lavaggio non utilizzata nel vassoio di lavaggio e nel flacone di lavaggio per evitare che i pescanti si asciughino e che entri aria nel sistema.

## Procedura per il lavaggio della linea del template

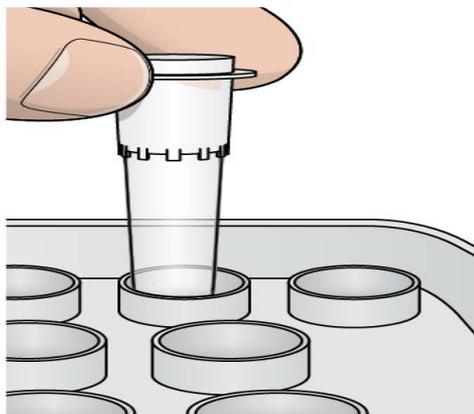
- Preparare al momento una soluzione di lavaggio con Tween 20 e acqua da laboratorio nel seguente modo.
  - Dispensare 5 ml di Tween 20 al 100% in 45 ml di acqua da laboratorio. Con questi volumi si otterrà Tween 20 al 10%.
  - Dispensare 25 ml di Tween 20 al 10% in 475 ml di acqua da laboratorio. Con questi volumi si otterrà una soluzione di lavaggio Tween 20 allo 0,5%.
  - Capovolgere cinque volte per miscelare.

2. Preparare al momento una soluzione di lavaggio di NaOCl con acqua da laboratorio nel modo seguente.
  - a. Dispensare 36  $\mu$ l di NaOCl al 5% in 864  $\mu$ l di acqua da laboratorio. Questi volumi forniscono una diluizione di NaOCl 1:25.
  - b. Dispensare 50  $\mu$ l di NaOCl 1:25 a 950  $\mu$ l di acqua da laboratorio in una provetta MiSeq (cod. art. MS-102-9999).

**NOTA** È importante utilizzare una concentrazione corretta di NaOCl. Assicurarsi di verificare la percentuale di NaOCl sull'etichetta del prodotto. Se la concentrazione è troppo alta, potrebbe impedire la generazione di cluster nelle corse successive. Se non è disponibile NaOCl al 5%, preparare una soluzione di 1 ml di NaOCl allo 0,01% in acqua da laboratorio. *Non* utilizzare NaOCl per un lavaggio di manutenzione o un lavaggio di standby.

3. Preparare al momento i componenti di lavaggio con soluzione di lavaggio, nel modo seguente.
  - a. Dispensare 6 ml di soluzione di lavaggio in ciascun serbatoio del vassoio di lavaggio.
  - b. Dispensare 350 ml di soluzione di lavaggio nel flacone di lavaggio da 500 ml.
4. Inserire la provetta MiSeq contenente la soluzione di lavaggio di NaOCl allo 0,01% nella posizione 17 del vassoio di lavaggio fino a quando il collo della provetta viene lavato con il vassoio. La provetta sposta la soluzione di lavaggio composta da Tween 20 e acqua da laboratorio nella posizione 17.

Figura 15 Provetta MiSeq nella posizione 17 del vassoio di lavaggio



**NOTA** Assicurarsi di inserire la provetta MiSeq con NaOCl solo nella posizione 17 del vassoio. Se la provetta viene inserita in un'altra posizione potrebbe causare la mancata generazione di cluster nelle corse successive e danneggiare il sistema di fluidica dello strumento MiSeqDx.

5. Al termine della corsa, selezionare **Start Wash** (Avvia lavaggio). Il software solleva automaticamente i pescanti nel vano refrigerato per i reagenti.

6. Selezionare **Perform optional template line wash** (Esegui un lavaggio facoltativo della linea del template) sulla schermata Post-Run Wash (Lavaggio post-corsa).
7. Aprire lo sportello dello scomparto reagenti e lo sportello del vano refrigerato per i reagenti e far scorrere la cartuccia di reagenti usata dal vano refrigerato.
8. Far scorrere il vassoio di lavaggio all'interno del vano refrigerato per i reagenti finché non si arresta in posizione, quindi chiudere lo sportello del vano refrigerato.
9. Sollevare la maniglia del pettine di aspirazione di fronte ai flaconi di PR2 e degli scarti finché non si blocca in sede.
10. Rimuovere il flacone di PR2 e sostituirlo con un flacone di lavaggio.
11. Rimuovere il flacone degli scarti ed eliminarne il contenuto seguendo le opportune procedure di smaltimento. Riposizionare il flacone degli scarti nello scomparto reagenti.



### AVVERTENZA

**Questo set di reagenti contiene materiali chimici potenzialmente pericolosi. L'inalazione, l'ingestione, il contatto con la pelle o con gli occhi possono causare lesioni personali. Indossare l'attrezzatura protettiva, inclusi protezione per gli occhi, guanti e indumento da laboratorio appropriato per evitare i rischi di esposizione. Manipolare i reagenti usati come rifiuti chimici e smaltirli in base alle leggi e alle regolamentazioni applicabili a livello regionale, nazionale e locale.** Per maggiori informazioni sulle considerazioni ambientali, sulla sicurezza e sulla salute, vedere le schede di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS) alla pagina Web [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

12. Abbassare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione, accertandosi che i pescanti vengano abbassati nei flaconi di lavaggio e degli scarti.
13. Chiudere lo sportello dello scomparto reagenti.
14. Selezionare **Next** (Avanti). Il lavaggio post-corsa ha inizio.

Dopo il completamento del lavaggio, lasciare sullo strumento la cella a flusso usata, il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio contenente la soluzione di lavaggio residua.

**NOTA** I pescanti rimangono nella posizione abbassata, il che è normale. Lasciare la soluzione di lavaggio non utilizzata nel vassoio di lavaggio e nel flacone di lavaggio per evitare che i pescanti si asciughino e che entri aria nel sistema.

# Manutenzione

## Frequenza di manutenzione

Eseguire le attività di manutenzione descritte nel presente capitolo con la frequenza riportata nelle tabelle seguenti.

Tabella 1 Manutenzione durante il normale funzionamento

Attività	Mensilmente	Secondo necessità
Lavaggio di manutenzione	X	
Lavaggio di standby		Per preparare all'inattività ( $\geq 7$ giorni di non utilizzo)
Spegnimento dello strumento		X

Tabella 2 Manutenzione durante il periodo di inattività ( $\geq 7$  giorni di non utilizzo)

Attività	Mensilmente	Secondo necessità
Lavaggio di standby	X	
Spegnimento dello strumento		X

## Manutenzione preventiva

illumina raccomanda di eseguire una manutenzione preventiva ogni anno solare. Se non si dispone di un contratto di assistenza, contattare il responsabile di zona o l'Assistenza Tecnica illumina per organizzare un servizio di manutenzione preventiva a pagamento.

## Esecuzione di un lavaggio di manutenzione

Eseguire un lavaggio di manutenzione ogni 30 giorni per garantire prestazioni ottimali. Il lavaggio di manutenzione impiega circa 90 minuti. Il lavaggio include una serie di tre fasi di lavaggio che lavano completamente il sistema utilizzando una soluzione di lavaggio di acqua da laboratorio miscelata con Tween 20.

È possibile configurare lo strumento affinché esegua un lavaggio di manutenzione tra le corse, invece che post-corsa. Vedere [Impostazione dell'opzione per il lavaggio post-corsa a pagina 9](#).

### Materiali di consumo forniti dall'utente

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, n. di catalogo P7949)
- Acqua da laboratorio



## ATTENZIONE

Chiudere sempre lo sportello del vano refrigerato per i reagenti dopo aver caricato il vassoio di lavaggio e prima di avviare un lavaggio. Questo impedirà eventuali lesioni alle mani in prossimità del percorso dei pescanti durante la fase di abbassamento.

## Procedura

1. Accertarsi che sullo strumento sia caricata una cella a flusso usata.
2. Nella schermata Home (Inizio), selezionare **Perform Wash** (Esecuzione lavaggio).
3. Nella schermata Perform Wash (Esecuzione lavaggio), selezionare **Maintenance Wash** (Lavaggio di manutenzione). Il software solleva automaticamente i pescanti nel vano refrigerato per i reagenti.

**NOTA** Per ciascuna fase di lavaggio usare sempre una soluzione di lavaggio preparata al momento. Il riutilizzo di soluzione di lavaggio da un lavaggio precedente può riportare degli scarti nelle linee della fluidica.

## Esecuzione del primo lavaggio

1. Preparare al momento una soluzione di lavaggio con Tween 20 e acqua da laboratorio nel seguente modo:
  - a. Dispensare 5 ml di Tween 20 al 100% in 45 ml di acqua da laboratorio. Con questi volumi si otterrà Tween 20 al 10%.
  - b. Dispensare 25 ml di Tween 20 al 10% in 475 ml di acqua da laboratorio. Con questi volumi si otterrà una soluzione di lavaggio Tween 20 allo 0,5%.
  - c. Capovolgere diverse volte per miscelare.
2. Preparare al momento i componenti di lavaggio con soluzione di lavaggio Tween 20 allo 0,5% nel modo seguente:
  - a. Dispensare 6 ml di soluzione di lavaggio in ciascun serbatoio del vassoio di lavaggio.
  - b. Dispensare 350 ml di soluzione di lavaggio nel flacone di lavaggio da 500 ml.
3. Caricare sullo strumento il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio:
  - a. Aprire lo sportello dello scomparto reagenti e lo sportello del vano refrigerato per i reagenti e far scorrere la cartuccia di reagenti usata o il vassoio di lavaggio dal vano refrigerato per i reagenti.
  - b. Far scorrere il vassoio di lavaggio all'interno del vano refrigerato per i reagenti finché non si arresta. Chiudere lo sportello del vano refrigerato per i reagenti.
  - c. Sollevare la maniglia del pettine di aspirazione di fronte al flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) e al flacone degli scarti finché non si blocca in sede, quindi sostituire il flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) con il flacone di lavaggio.

**NOTA** Smaltire il flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) dopo ogni corsa. Non riutilizzare alcuna soluzione residua di MiSeqDx SBS Solution (PR2).

- d. Rimuovere il flacone degli scarti ed eliminarne il contenuto seguendo le opportune procedure di smaltimento. Riposizionare il flacone degli scarti nello scomparto reagenti.
  - e. Abbassare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione, accertandosi che i pescanti vengano abbassati nei flaconi di lavaggio e degli scarti.
  - f. Chiudere lo sportello dello scomparto reagenti.
4. Selezionare **Next** (Avanti). Il primo lavaggio ha inizio.

### **Esecuzione del secondo lavaggio**

1. Preparare al momento una soluzione di lavaggio con Tween 20 e acqua da laboratorio nel modo seguente:
  - a. Dispensare 5 ml di Tween 20 al 100% in 45 ml di acqua da laboratorio. Con questi volumi si otterrà Tween 20 al 10%.
  - b. Dispensare 25 ml di Tween 20 al 10% in 475 ml di acqua da laboratorio. Con questi volumi si otterrà una soluzione di lavaggio Tween 20 allo 0,5%.
  - c. Capovolgere diverse volte per miscelare.
2. Al termine del primo lavaggio, rimuovere il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio e smaltire la soluzione di lavaggio rimanente.
3. Riempire di nuovo i componenti di lavaggio con soluzione di lavaggio Tween 20 allo 0,5% preparata al momento nel modo seguente:
  - a. Dispensare 6 ml di soluzione di lavaggio in ciascun serbatoio del vassoio di lavaggio.
  - b. Dispensare 350 ml di soluzione di lavaggio nel flacone di lavaggio da 500 ml.
4. Caricare il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio nel modo seguente:
  - a. Far scorrere il vassoio di lavaggio all'interno del vano refrigerato per i reagenti finché non si arresta. Chiudere lo sportello del vano refrigerato per i reagenti.
  - b. Caricare il flacone di lavaggio e abbassare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione, accertandosi che i pescanti vengano abbassati nei flaconi di lavaggio e degli scarti.
  - c. Chiudere lo sportello dello scomparto reagenti.
5. Selezionare **Next** (Avanti). Il secondo lavaggio ha inizio.

## Esecuzione del lavaggio finale

1. Preparare al momento una soluzione di lavaggio con Tween 20 e acqua da laboratorio nel modo seguente:
  - a. Dispensare 5 ml di Tween 20 al 100% in 45 ml di acqua da laboratorio. Con questi volumi si otterrà Tween 20 al 10%.
  - b. Dispensare 25 ml di Tween 20 al 10% in 475 ml di acqua da laboratorio. Con questi volumi si otterrà una soluzione di lavaggio Tween 20 allo 0,5%.
  - c. Capovolgere diverse volte per miscelare.
2. Al termine del secondo lavaggio, rimuovere il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio e smaltire la soluzione di lavaggio rimanente.
3. Riempire di nuovo i componenti di lavaggio con soluzione di lavaggio Tween 20 allo 0,5% preparata al momento nel modo seguente:
  - a. Dispensare 6 ml di soluzione di lavaggio in ciascun serbatoio del vassoio di lavaggio.
  - b. Dispensare 350 ml di soluzione di lavaggio nel flacone di lavaggio da 500 ml.
4. Caricare il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio nel modo seguente:
  - a. Far scorrere il vassoio di lavaggio all'interno del vano refrigerato per i reagenti finché non si arresta. Chiudere lo sportello del vano refrigerato per i reagenti.
  - b. Caricare il flacone di lavaggio e abbassare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione, accertandosi che i pescanti vengano abbassati nei flaconi di lavaggio e degli scarti.
  - c. Chiudere lo sportello dello scomparto reagenti.
5. Selezionare **Next** (Avanti). Il lavaggio finale ha inizio.

## Dopo il lavaggio

Dopo il completamento del lavaggio, lasciare sullo strumento la cella a flusso usata, il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio contenente la soluzione di lavaggio residua.

**NOTA** I pescanti rimangono nella posizione abbassata, il che è normale. Lasciare la soluzione di lavaggio non utilizzata nel vassoio di lavaggio e nel flacone di lavaggio per evitare che i pescanti si asciughino e che entri aria nel sistema.

## Esecuzione di un lavaggio di standby

Nel caso si preveda di non usare lo strumento nei sette giorni successivi, prepararlo per lo stato di inattività (idle) eseguendo un lavaggio di standby. Il lavaggio di standby prepara le linee della fluidica per lo stato di inattività (idle) ed esegue due lavaggi consecutivi che puliscono ciascuna posizione liberandola da eventuali residui di reagente o accumulo di sali. Ciascun lavaggio dura circa 60 minuti. Per l'esecuzione del lavaggio di standby prevedere circa due ore.

Al termine del lavaggio di standby, lo strumento è in modalità di standby e appare un messaggio sulla schermata Home (Inizio) che indica lo stato dello strumento. Quando lo strumento è in modalità di standby, deve essere eseguito un lavaggio di manutenzione prima di poter avviare una corsa di sequenziamento.

**NOTA** Illumina raccomanda di ripetere il lavaggio di standby *ogni 30 giorni* di permanenza nello stato inattivo (idle).

### Materiali di consumo forniti dall'utente

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, n. di catalogo P7949)
- Acqua da laboratorio o acqua deionizzata (per le linee guida sull'acqua da laboratorio, vedere la *Guida alla preparazione della sede di installazione di MiSeqDx (documento n. 15070066)*)

### Procedura

1. Accertarsi che sullo strumento sia caricata una cella a flusso usata.
2. Nella schermata Home (Inizio), selezionare **Perform Wash** (Esecuzione lavaggio).
3. Nella schermata Wash Options (Opzioni lavaggio), selezionare **Standby Wash** (Lavaggio di standby). Il software solleva automaticamente i pescanti nel vano refrigerato per i reagenti.

**NOTA** Per ciascuna fase di lavaggio usare sempre una soluzione di lavaggio preparata al momento. Il riutilizzo di soluzione di lavaggio da un lavaggio precedente può riportare degli scarti nelle linee della fluidica.

### Esecuzione del primo lavaggio

1. Preparare al momento una soluzione di lavaggio con Tween 20 e acqua da laboratorio nel seguente modo:
  - a. Dispensare 5 ml di Tween 20 al 100% in 45 ml di acqua da laboratorio. Con questi volumi si otterrà Tween 20 al 10%.
  - b. Dispensare 25 ml di Tween 20 al 10% in 475 ml di acqua da laboratorio. Con questi volumi si otterrà una soluzione di lavaggio Tween 20 allo 0,5%.
  - c. Capovolgere diverse volte per miscelare.
2. Preparare al momento i componenti di lavaggio con soluzione di lavaggio Tween 20 allo 0,5% nel modo seguente:
  - a. Dispensare 6 ml di soluzione di lavaggio in ciascun serbatoio del vassoio di lavaggio.
  - b. Dispensare 350 ml di soluzione di lavaggio nel flacone di lavaggio da 500 ml.

3. Caricare sullo strumento il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio:
  - a. Aprire lo sportello dello scomparto reagenti e lo sportello del vano refrigerato per i reagenti e far scorrere la cartuccia di reagenti usata o il vassoio di lavaggio dal vano refrigerato per i reagenti.
  - b. Far scorrere il vassoio di lavaggio all'interno del vano refrigerato per i reagenti finché non si arresta. Chiudere lo sportello del vano refrigerato per i reagenti.
  - c. Sollevare la maniglia del pettine di aspirazione di fronte al flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) e al flacone degli scarti finché non si blocca in sede, quindi sostituire il flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) con il flacone di lavaggio.

**NOTA** Smaltire il flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) dopo ogni corsa. Non riutilizzare alcuna soluzione residua di MiSeqDx SBS Solution (PR2).

- d. Rimuovere il flacone degli scarti ed eliminarne il contenuto seguendo le opportune procedure di smaltimento. Riposizionare il flacone degli scarti nello scomparto reagenti.
  - e. Abbassare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione, accertandosi che i pescanti vengano abbassati nei flaconi di lavaggio e degli scarti.
  - f. Chiudere lo sportello dello scomparto reagenti.
4. Selezionare **Next** (Avanti). Il primo lavaggio ha inizio.

## **Esecuzione del secondo lavaggio**

1. Preparare al momento una soluzione di lavaggio con Tween 20 e acqua da laboratorio nel modo seguente:
  - a. Dispensare 5 ml di Tween 20 al 100% in 45 ml di acqua da laboratorio. Con questi volumi si otterrà Tween 20 al 10%.
  - b. Dispensare 25 ml di Tween 20 al 10% in 475 ml di acqua da laboratorio. Con questi volumi si otterrà una soluzione di lavaggio Tween 20 allo 0,5%.
  - c. Capovolgere diverse volte per miscelare.
2. Al termine del primo lavaggio, rimuovere il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio e smaltire la soluzione di lavaggio rimanente.
3. Riempire di nuovo i componenti di lavaggio con soluzione di lavaggio Tween 20 allo 0,5% preparata al momento nel modo seguente:
  - a. Dispensare 6 ml di soluzione di lavaggio in ciascun serbatoio del vassoio di lavaggio.
  - b. Dispensare 350 ml di soluzione di lavaggio nel flacone di lavaggio da 500 ml.
4. Caricare il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio nel modo seguente:
  - a. Far scorrere il vassoio di lavaggio all'interno del vano refrigerato per i reagenti finché non si arresta. Chiudere lo sportello del vano refrigerato per i reagenti.

- b. Caricare il flacone di lavaggio e abbassare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione, accertandosi che i pescanti vengano abbassati nei flaconi di lavaggio e degli scarti.
  - c. Chiudere lo sportello dello scomparto reagenti.
5. Selezionare **Next** (Avanti). Il secondo lavaggio ha inizio.

## Dopo il lavaggio

Dopo il completamento del lavaggio, lasciare sullo strumento la cella a flusso usata, il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio contenente la soluzione di lavaggio residua.

**NOTA** I pescanti rimangono nella posizione abbassata, il che è normale. Lasciare la soluzione di lavaggio non utilizzata nel vassoio di lavaggio e nel flacone di lavaggio per evitare che i pescanti si asciughino e che entri aria nel sistema.

## Spegnimento dello strumento

Di norma, si consiglia di lasciare lo strumento sempre acceso. Tuttavia, nel caso sia necessario spegnere lo strumento, attenersi alla procedura seguente per spegnere Windows e preparare le linee della fluidica.

1. Eseguire un lavaggio di manutenzione. Per maggiori informazioni, vedere [Procedura a pagina 30](#).
2. Rimuovere il flacone degli scarti ed eliminarne il contenuto seguendo le opportune procedure di smaltimento. Riposizionare il flacone degli scarti nello scomparto reagenti.
3. Chiudere lo sportello dello scomparto reagenti.
4. Nel menu principale, selezionare **Shut Down Instrument** (Spegni strumento). Questo comando spegne il software dello strumento.
5. Portare l'interruttore di alimentazione nella posizione OFF.

**NOTA** Se si spegne lo strumento, attendere *almeno* 60 secondi prima di riaccenderlo portando l'interruttore di alimentazione su ON.

# Risoluzione dei problemi

## Introduzione

Questa sezione descrive i comuni passaggi per la risoluzione dei problemi da eseguire prima di rivolgersi all'Assistenza Tecnica Illumina. Per la maggior parte dei problemi, appare un messaggio sullo schermo con istruzioni per la risoluzione.

Per eventuali domande tecniche, visitare le pagine di supporto del sistema MiSeqDx sul sito Web Illumina. Le pagine di supporto forniscono l'accesso a documentazione, download e domande frequenti.

Per accedere ai bollettini di supporto, accedere al proprio account MyIllumina.

Per problemi relativi alla qualità della corsa o alle prestazioni, rivolgersi all'Assistenza Tecnica Illumina. Per maggiori informazioni, vedere [Assistenza Tecnica a pagina 51](#).

Un addetto dell'Assistenza Tecnica Illumina di solito richiede le copie di file specifici della corsa, al fine di risolvere il problema. È possibile usare la funzione Bundle Logs (Raggruppa file di registro) sulla schermata Manage Files (Gestione file) per raggruppare e comprimere in formato zip i file richiesti per la risoluzione dei problemi.

## Raggruppamento dei file di registro per la risoluzione dei problemi

Bundle Logs (Raggruppa file di registro) è una funzione che raggruppa i file da inviare all'Assistenza Tecnica Illumina per la risoluzione dei problemi. Usare la scheda Bundle Logs (Raggruppa file di registro) sulla schermata Manage Files (Gestione file) per selezionare un gruppo di file, chiamato *raggruppamento*. Il raggruppamento viene automaticamente compresso in formato zip.

La funzione Bundle Logs (Raggruppa file di registro) raggruppa i file di una corsa in un tipo di raggruppamento alla volta. Ripetere la procedura di raggruppamento dei file di registro per ogni corsa e tipo di raggruppamento richiesti dall'Assistenza Tecnica Illumina.

1. Sulla schermata Manage Files (Gestione file), selezionare la scheda Bundle Logs (Raggruppa file di registro).
2. Selezionare **Browse** (Sfogliare) per andare alla cartella MiSeqOutput (Output di MiSeq).
3. Selezionare la casella accanto alla corsa.
4. Selezionare **Bundle Logs** (Raggruppa file di registro).

Viene visualizzata una schermata Bundle Files (Raggruppa file di registro) con le informazioni relative al raggruppamento, incluso un elenco di singoli file contenuti nel raggruppamento. Per maggiori informazioni sui singoli file e cartelle della funzione Bundle Logs (Raggruppa file di registro), vedere la *Scheda di consultazione rapida per le cartelle di output e di analisi di MiSeq (documento n. 15034791)*.

5. Selezionare **Next** (Avanti).
6. Andare alla posizione in cui si desidera salvare i file raggruppati compressi in formato zip.
7. Selezionare **Save** (Salva).  
Quando i file sono stati raggruppati, si apre nuovamente la scheda Bundle Logs (Raggruppa file di registro).
8. Inviare il raggruppamento compresso all'Assistenza Tecnica Illumina.

## Esecuzione della verifica del sistema

Alcuni controlli di sistema possono essere eseguiti prima di rivolgersi all'Assistenza Tecnica Illumina, ad esempio il Volume Test (Test volume). Il test volume verifica il corretto stato del sistema di fluidica stimando il volume del flusso al passaggio delle bolle tra i sensori. Per maggiori informazioni, vedere [Esecuzione di un test volume a pagina 42](#).



### ATTENZIONE

I test Tip/Tilt (Punta/Inclinazione) e Full Optics (Test completo ottica) richiedono una cella a flusso speciale e dovrebbero essere eseguiti solo da un tecnico Illumina.

1. Nel menu principale, selezionare **System Check** (Verifica del sistema).
2. Eseguire una delle operazioni seguenti:
  - Selezionare i singoli test da eseguire.
  - Scegliere **Select All** (Seleziona tutti) per eseguire tutti i test.
3. Selezionare **Next** (Avanti).  
Una volta completati i test, i risultati sono visualizzati sulla schermata.
4. [Facoltativo] Selezionare **Show Details** (Mostra dettagli) per visualizzare un riepilogo dei risultati sull'interfaccia software.
5. [Facoltativo] Selezionare **Export Results** (Esporta risultati) per esportare i risultati in formato \*.csv su un dispositivo USB.
6. Selezionare **Done** (Fatto).

## Sospensione o arresto di una corsa

MiSeqDx è progettato per eseguire una corsa dall'inizio alla fine senza l'intervento dell'utente. È tuttavia possibile sospendere o arrestare una corsa dalla schermata Sequencing (Sequenziamento).

## Sospensione di una corsa

È possibile sospendere temporaneamente una corsa prima del suo completamento. Ad esempio, se si pensa che il flacone degli scarti sia pieno, è possibile sospendere una corsa. È possibile riprendere le corse sospese.

Quando si seleziona **Pause** (Pausa), l'attuale comando viene portato a termine prima della sospensione della corsa e la cella a flusso viene messa in uno stato sicuro.



### ATTENZIONE

*Non* sospendere una corsa durante la generazione di cluster o nei primi cinque cicli di sequenziamento. Non è possibile riprendere una corsa che è stata sospesa in queste fasi.

Per sospendere la corsa dalla schermata Sequencing (Sequenziamento), selezionare **Pause** (Pausa). Il pulsante passa a **Resume** (Riprendi).

Quando si è pronti a riprendere la corsa, selezionare **Resume** (Riprendi).

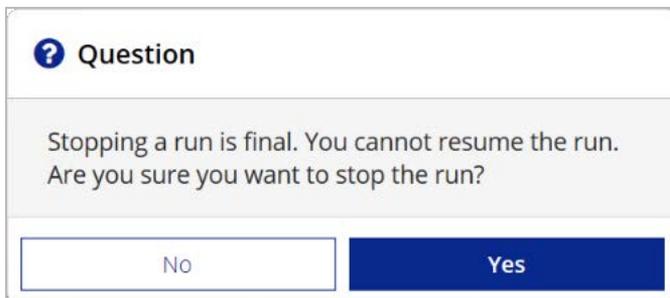
## Arresto di una corsa

L'utente può arrestare una corsa durante il sequenziamento prima che la corsa sia giunta a termine utilizzando il pulsante **Stop** (Arresta) sulla schermata Sequencing (Sequenziamento). È possibile arrestare una corsa in caso di errata impostazione, se la qualità dei dati è insoddisfacente o se si verifica un errore hardware.

Quando si arresta una corsa, l'esecuzione del comando corrente non viene portata a termine e il piano portacelle si sposta nella posizione di espulsione. L'analisi primaria continua per l'ultimo ciclo completato.

Per arrestare una corsa dalla schermata Sequencing (Sequenziamento), selezionare **Stop** (Arresta). Quando si arresta una corsa, l'esecuzione del comando corrente non viene portata a termine e il piano portacelle si sposta nella posizione di espulsione. L'analisi primaria continua per l'ultimo ciclo completato.

Figura 16 Arresto di una corsa



*L'arresto di una corsa è definitivo.* Una corsa arrestata non può essere completata. Si può solo passare al lavaggio dello strumento.

## Sollevamento manuale dei pescanti della cartuccia di reagenti

I pescanti della cartuccia di reagenti potrebbero non sollevarsi automaticamente se una corsa viene interrotta inaspettatamente o si verifica un errore durante la corsa. Per rimuovere la cartuccia di reagenti, sollevare manualmente i pescanti della cartuccia di reagenti.

1. Nella schermata Home (Inizio), selezionare **Perform Wash** (Esecuzione lavaggio).
2. Selezionare **Raise Sippers** (Solleva pescanti).
3. Rimuovere la cartuccia di reagenti.

## Risoluzione degli errori d'impostazione corsa

Se durante la verifica pre-corsa una qualsiasi delle verifiche non viene superata, appare un'icona rossa **X** vicino all'elemento interessato. Sullo schermo viene visualizzato un messaggio che descrive l'errore e il modo per correggerlo.

Errore	Intervento
<b>X Flow Rate Measured</b> (Portata misurata)	<p>Si apre la schermata della portata. Utilizzare l'elenco a discesa o la tastiera sullo schermo per inserire quanto segue:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Solution (Soluzione): <b>PR2</b></li> <li>• Volume (Volume): <b>250 µl</b></li> <li>• Aspirate Rate (Velocità di aspirazione): <b>2.500</b></li> <li>• Dispense Rate (Velocità di erogazione): <b>2.500</b></li> </ul> <p>Selezionare <b>Pump</b> (Pompa). Se l'errore persiste, impostare il volume per pompare 500 µl di MiSeqDx SBS Solution (PR2) e ripetere il processo. Dopo l'erogazione dei fluidi, selezionare <b>Restart Check</b> (Riavvia verifica). Se la verifica pre-corsa viene eseguita correttamente, il pulsante <b>Start Run</b> (Avvia corsa) diventa attivo.</p> <p>Se di nuovo la verifica del flusso non viene superata, risistemare nella sua sede la cella a flusso per assicurare che il flusso non si interrompa a causa di un allineamento scorretto. Ispezionare la guarnizione della cella a flusso controllando che non ci siano particelle estranee o irregolarità.</p>
<b>X Free Disk Space</b> (Spazio libero su disco)	<p>Se lo spazio su disco è insufficiente, viene visualizzato un messaggio indicante lo spazio necessario. Usare la funzione <b>Manage Files</b> (Gestione file) per liberare lo spazio necessario sul computer dello strumento.</p>

Errore	Intervento
<p><b>X Network Connection Active (Connessione rete attiva)</b></p>	<p>Verificare che il cavo di rete sia ben collegato allo strumento.</p> <p>Se la connessione alla rete non è ripristinata, selezionare <b>Reboot</b> (Riavvia) sulla schermata Manage Instrument (Gestione strumento) per riavviare il software.</p> <p>Se la connessione continua a non essere ripristinata, selezionare <b>Shut Down</b> (Spegnimento) sulla schermata Manage Instrument (Gestione strumento), quindi spegnere lo strumento utilizzando l'interruttore di alimentazione. Attendere almeno 60 secondi, quindi accendere lo strumento e avviare il software.</p>
<p><b>X Primary Analysis Ready (Pronta l'analisi primaria)</b></p>	<p>L'analisi primaria della corsa precedente non è terminata. Il tempo preimpostato concesso per la conclusione dell'analisi primaria è un'ora e sullo schermo compare un conteggio alla rovescia. Le opzioni sono di attendere un'ora o di selezionare <b>Terminate Analysis</b> (Termina analisi). L'analisi secondaria si interrompe per ciascun ciclo incompleto.</p>

## Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID

Gli errori di lettura dell'etichetta RFID sono attivati se:

- Il componente caricato non fa parte di un kit diagnostico *in vitro*.
- Il componente caricato non fa parte del kit identificato dal modulo Local Run Manager.
- Errore tecnico con la lettura dell'etichetta RFID sul componente.

Le fasi seguenti possono essere utilizzate per risolvere gli errori di lettura dell'etichetta RFID provenienti da un guasto tecnico.

**NOTA** Per una corsa diagnostica è permesso che si verifichi un solo errore di lettura dell'etichetta RFID. Nel caso in cui l'etichetta RFID di due materiali di consumo non possa essere letta, il software non può procedere con la fase d'impostazione della corsa successiva. In questo caso, contattare l'Assistenza Tecnica Illumina.

### Cella a flusso

1. Riprovare sempre una seconda volta l'operazione di lettura dell'etichetta RFID prima di continuare. A tale scopo, aprire e poi chiudere lo sportello dello scomparto della cella a flusso.
2. Se l'errore di lettura dell'etichetta RFID si ripete, selezionare **Get Code** (Richiedi codice). Contattare l'Assistenza tecnica Illumina per ottenere un codice di bypass temporaneo dell'etichetta RFID. Un codice temporaneo di bypass scade dopo sette giorni.
3. Immettere il codice di bypass temporaneo utilizzando la tastiera sullo schermo.
4. Selezionare **Next** (Avanti).

5. Immettere le informazioni seguenti:
  - Il numero del codice a barre della cella a flusso, che si trova sull'etichetta del contenitore della cella a flusso direttamente sotto il codice a barre
  - Il codice articolo della cella a flusso
6. Selezionare **Next** (Avanti) per passare alla schermata Load Flow Cell (Caricamento cella a flusso).
7. Sezionare **Next** (Avanti) per procedere con la fase d'impostazione della corsa successiva.

#### **Flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2)**

1. Riprovare sempre una seconda volta l'operazione di lettura dell'etichetta RFID prima di continuare. A tale scopo, alzare e poi abbassare la maniglia del pettine di aspirazione.
2. Se l'errore di lettura dell'etichetta RFID si ripete, selezionare **Get Code** (Richiedi codice). Contattare l'Assistenza tecnica Illumina per ottenere un codice di bypass temporaneo dell'etichetta RFID. Un codice temporaneo di bypass scade dopo sette giorni.
3. Immettere il codice di bypass temporaneo utilizzando la tastiera sullo schermo.
4. Selezionare **Next** (Avanti).
5. Immettere le informazioni seguenti:
  - Il numero del codice a barre del flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2), che si trova sull'etichetta del flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) direttamente sotto il codice a barre
  - Il codice articolo del flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2)
6. Selezionare **Next** (Avanti) per passare alla schermata Load Reagents (Caricamento reagenti).
7. Sezionare **Next** (Avanti) per procedere con la fase d'impostazione della corsa successiva.

#### **Cartuccia di reagenti**

1. Riprovare sempre una seconda volta l'operazione di lettura dell'etichetta RFID prima di continuare. A tale scopo, aprire e poi chiudere lo sportello del vano refrigerato per i reagenti.
2. Se l'errore di lettura dell'etichetta RFID si ripete, selezionare **Get Code** (Richiedi codice). Contattare l'Assistenza tecnica Illumina per ottenere un codice di bypass temporaneo dell'etichetta RFID. Un codice temporaneo di bypass scade dopo sette giorni.
3. Immettere il codice di bypass temporaneo utilizzando la tastiera sullo schermo.
4. Selezionare **Next** (Avanti).
5. Immettere le informazioni seguenti:
  - Il numero del codice a barre del kit di reagenti, che si trova sull'etichetta del kit immediatamente sotto il codice a barre
  - Il numero di codice del kit di reagenti
6. Selezionare **Next** (Avanti) per ritornare alla schermata Load Reagents (Caricamento reagenti).
7. Sezionare **Next** (Avanti) per procedere con la fase d'impostazione della corsa successiva.

## Prevenzione del riavvio durante una corsa

Se il sistema MiSeqDx si riavvia durante una corsa, è possibile che il software Windows Update sulla rete sia configurato per installare automaticamente gli aggiornamenti del software. Questa impostazione avrebbe dovuto essere disattivata durante l'installazione. Rivolgersi al reparto IT locale per assistenza sulla disattivazione degli aggiornamenti automatici del sistema operativo Windows eseguiti in background su MiSeqDx.

## Risoluzione degli errori per la portata

La portata è la velocità con la quale i fluidi transitano nel sistema di fluidica ( $\mu\text{l}/\text{min}$ ) ed è misurata prima di ciascuna corsa durante la verifica pre-corsa. Se il sistema non è in grado di misurare la portata, pompare un volume di reagente (MiSeqDx SBS Solution (PR2)) attraverso il sistema prima di una nuova verifica della portata.

1. Utilizzare l'elenco a discesa o la tastiera sullo schermo per inserire le seguenti informazioni:
  - Solution (Soluzione): **PR2**
  - Volume (Volume): **250  $\mu\text{l}$**
  - Aspirate Rate (Velocità di aspirazione): **2.500  $\mu\text{l}/\text{min}$**
  - Dispense Rate (Velocità di erogazione): **2.500  $\mu\text{l}/\text{min}$**
2. Selezionare **Pump** (Pompa).
3. Una volta terminata la fase di pompaggio, selezionare **Restart Check** (Riavvia verifica).
4. Se l'errore persiste, impostare il volume per pompare 500  $\mu\text{l}$  di MiSeqDx SBS Solution (PR2) e ripetere il processo ancora una volta. Se il secondo tentativo non risolve l'errore, contattare l'Assistenza Tecnica Illumina.

## Esecuzione di un test volume

Un'ostruzione nelle linee della fluidica può provocare scarsa erogazione dei reagenti e incidere sui risultati del sequenziamento. Nel caso si sospetti una possibile ostruzione delle linee della fluidica, eseguire un test volume.

Un test volume verifica lo stato di integrità del sistema di fluidica stimando il volume tra le bolle al loro passaggio tra i sensori. Per eseguire un test volume con una cella a flusso usata presente sul dispositivo, caricare con acqua da laboratorio il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio. Per eseguire il test, seguire le istruzioni sullo schermo.

1. Accertarsi che sullo strumento sia caricata una cella a flusso usata.
2. Nel menu principale, selezionare **System Check** (Verifica del sistema).
3. Selezionare **Conduct Volume Test** (Esegui test volume), quindi selezionare **Next** (Avanti).
4. Riempire ciascun serbatoio del vassoio di lavaggio con 6 ml di acqua da laboratorio.

5. Riempire con 350 ml di acqua da laboratorio il flacone di lavaggio da 500 ml.
6. Caricare sullo strumento il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio.
  - a. Aprire lo sportello dello scomparto reagenti e lo sportello del vano refrigerato per i reagenti e fare scorrere il vassoio di lavaggio all'interno del vano refrigerato per i reagenti finché non si arresta. Chiudere lo sportello del vano refrigerato per i reagenti.
  - b. Sollevare la maniglia del pettine di aspirazione finché non si blocca in sede e caricare il flacone di lavaggio.
  - c. Rimuovere il flacone degli scarti ed eliminarne il contenuto seguendo le opportune procedure di smaltimento. Riposizionare il flacone degli scarti nello scomparto reagenti.
  - d. Abbassare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione, accertandosi che i pescanti vengano abbassati nei flaconi di lavaggio e degli scarti.
7. Seguendo le istruzioni sullo schermo, rimuovere le eventuali goccioline dal pescante del flacone di lavaggio, nel modo seguente:
  - a. Quando compare la corrispondente istruzione, sollevare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione e verificare che sul pescante del flacone di lavaggio sia presente una grossa gocciolina d'acqua.
  - b. Quando compare la corrispondente istruzione, abbassare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione a sufficienza nell'acqua per consentire che la tensione superficiale rimuova la gocciolina.
  - c. Quando compare la corrispondente istruzione, sollevare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione e verificare che sul pescante del flacone di lavaggio sia presente una grossa gocciolina d'acqua.
  - d. Quando compare la corrispondente istruzione, abbassare lentamente e completamente la maniglia del pettine di aspirazione, accertandosi che i pescanti vengano abbassati nei flaconi di lavaggio e degli scarti.
8. Selezionare **Next** (Avanti). Ha inizio il test volume.

Una volta terminato il test volume, sullo schermo appaiono i risultati.

Nel caso il test non sia stato superato con successo, eseguire un lavaggio di manutenzione.

Vedere [Procedura a pagina 30](#).
9. Al termine del lavaggio di manutenzione, ripetere il test volume.

## Risoluzione degli errori di temperatura del vano refrigerato per i reagenti

L'intervallo di temperatura richiesto per il vano refrigerato per i reagenti è tra 2 °C e 11 °C. L'indicatore di rilevamento segnala la temperatura del vano refrigerato per i reagenti. Vedere [Indicatori di rilevamento a pagina 5](#).

Se viene visualizzato un messaggio di errore che segnala che la temperatura del vano refrigerato non rientra nell'intervallo di temperatura specificato, contattare l'Assistenza Tecnica Illumina.

Se la temperatura del vano refrigerato per i reagenti non rientra nell'intervallo, la corsa di sequenziamento potrebbe non essere avviata. Se viene visualizzato un messaggio di errore durante una corsa di sequenziamento, terminare la corsa.

Per maggiori informazioni sul vano refrigerato per i reagenti, vedere [Scomparto reagenti a pagina 3](#).

## Risoluzione degli errori di analisi di Local Run Manager

Per informazioni sulla risoluzione dei problemi relativi agli errori di analisi, contattare l'Assistenza Tecnica Illumina. La *Guida di consultazione del software Local Run Manager v3 per MiSeqDx* (documento n. 200003931) include le istruzioni per rimettere in coda l'analisi.

## Configurazione delle impostazioni del sistema

MOS include schermate che danno accesso ai comandi per configurare il sistema.

- Le impostazioni di IP e DNS sono configurate nella scheda IP. Per utilizzare questa funzione, è necessario possedere il livello di accesso Amministratore di Windows.
- Le impostazioni di rete e di avvio sono configurate nelle schede seguenti:
  - Network Credentials (Credenziali di rete): per utilizzare questa funzione, è necessario possedere il livello di accesso Amministratore di Windows.
  - Start-Up Options (Opzioni di avvio): per utilizzare questa funzione, è necessario possedere il livello di accesso Amministratore di Local Run Manager.

Di solito le impostazioni del sistema sono configurate durante l'installazione di MiSeqDx.

## Configurazione delle impostazioni di IP e DNS

Se necessario, a causa di una modifica della rete o presso la sede, configurare l'indirizzo IP e gli indirizzi del server DNS. Per utilizzare questa funzione, è necessario possedere il livello di accesso Amministratore di Windows.

1. Nel menu principale, selezionare **System Settings** (Impostazioni di sistema).
2. Selezionare la scheda IP, quindi scegliere una delle opzioni seguenti per impostare l'indirizzo IP:
  - **Obtain an IP address automatically** (Ottieni un indirizzo IP automaticamente): selezionare questa opzione per ottenere l'indirizzo IP usando il server DHCP (Dynamic Host Configuration Protocol, Protocollo di configurazione host dinamico).

**NOTA** Il protocollo DHCP è un protocollo di rete standard utilizzato sulle reti IP per distribuire dinamicamente i parametri di configurazione della rete.

- **Use the following IP address** (Usa l'indirizzo IP seguente): selezionare questa opzione per collegare manualmente lo strumento a un altro server, come indicato di seguito. Contattare l'amministratore della rete per ottenere gli indirizzi specifici per la struttura.
    - Immettere l'indirizzo IP. L'indirizzo IP è una serie di quattro numeri separati da un punto, ad esempio 168.62.20.37.
    - Immettere la maschera di sottorete, che è una sottodivisione della rete IP.
    - Immettere il gateway predefinito, che è un router sulla rete che collega a Internet.
3. Selezionare una delle seguenti opzioni per impostare l'indirizzo DNS:
    - **Obtain a DNS address automatically** (Ottieni un indirizzo DNS automaticamente): legge l'indirizzo DNS associato con l'indirizzo IP.
    - **Use the following DNS addresses** (Usa gli indirizzi server DNS seguenti): connette lo strumento a un server che traduce i nomi di dominio in indirizzi IP.
      - Immettere l'indirizzo DNS prescelto. L'indirizzo DNS è il nome del server usato per tradurre i nomi di dominio in indirizzi IP.
      - Immettere l'indirizzo DNS alternativo. L'indirizzo alternativo è usato se il DNS prescelto non è in grado di tradurre un determinato nome di dominio in un indirizzo IP.
  4. Selezionare **Save** (Salva).

## Configurazione delle impostazioni di rete e di avvio

Configurare le impostazioni di rete e di avvio nella scheda Network Credentials (Credenziali di rete) (per utilizzare questa funzione, è necessario possedere il livello di accesso Amministratore di Windows) e Start-Up Options (Opzioni di avvio) (è necessario possedere il livello di accesso Amministratore di Local Run Manager).

1. Nel menu principale, selezionare **System Settings** (Impostazioni di sistema).
2. Selezionare la scheda Network Credentials (Credenziali di rete), quindi configurare le impostazioni di rete come indicato di seguito.
3. Il nome della macchina viene assegnato al computer dello strumento al momento della fabbricazione. Di solito, non è necessario modificare il nome della macchina. Qualsiasi modifica effettuata al nome della macchina in questa schermata può incidere sulla connettività e richiede il nome utente e la password di un amministratore di rete.  
Il nome della macchina viene registrato come il nome dello strumento negli output del software Local Run Manager.
4. Collegare il computer dello strumento a un dominio o a un gruppo di lavoro nel modo descritto di seguito.
  - **Per gli strumenti collegati a Internet:** selezionare **Domain** (Dominio) e immettere il nome del dominio associato con la connessione Internet presso la sede.
  - **Per gli strumenti non collegati a Internet:** selezionare **Workgroup** (Gruppo di lavoro) e immettere il nome di un gruppo di lavoro.
5. Selezionare la scheda Start-Up Options (Opzioni di avvio), quindi scegliere una delle opzioni seguenti:
  - **Kiosk Mode** (Modalità kiosk) raccomandata: mostra l'interfaccia del software di controllo a schermo intero. Il software è progettato per l'uso in modalità kiosk.
  - **Windows Mode** (Modalità Windows): consente l'accesso a Windows sul computer dello strumento. In questa modalità l'interazione con l'interfaccia software, come la posizione dei pulsanti, potrebbe essere alterata.
6. Selezionare **Save** (Salva).

# Cartelle di output

## Cartelle delle corse

Ogni corsa su MiSeqDx genera tre cartelle della corsa, ciascuna con uno scopo specifico:

- **D:\Illumina\MiSeqTemp**: all'inizio della corsa, sul disco locale del computer dello strumento viene scritta una cartella temporanea che è utilizzata come area di lavoro per MOS e RTA. Non è necessario accedere alla cartella Temp (Temporanea). Dopo sette giorni il contenuto di questa cartella viene eliminato.
- **D:\Illumina\MiSeqOutput**: RTA copia i file dalla cartella Temp (Temporanea) alla cartella Output (Output). Mentre vengono generati file dell'analisi primaria, RTA ricopia i file nella cartella Temp (Temporanea) e riempie la cartella Analysis (Analisi). Le immagini di focalizzazione e le immagini in miniatura non sono copiate nella cartella Analysis (Analisi).
- **D:\Illumina\MiSeqAnalysis**: al termine dell'analisi primaria, Local Run Manager accede alla cartella Analysis (Analisi) del disco locale dello strumento per iniziare l'analisi secondaria. Tutti i file scritti nella cartella Analysis (Analisi) vengono copiati nella cartella Output (Output).

## Denominazione della cartella della corsa al livello base

Il nome della cartella della corsa al livello base individua la data della corsa, il numero dello strumento e la cella a flusso utilizzata per la corsa. Per ciascuna corsa, ogni cartella della corsa ha lo stesso nome di cartella.

Per impostazione predefinita, il nome della cartella utilizza il seguente formato:

AAMMGG\_<NumeroStrumento>\_<Numero Corsa>\_A<CodiceBarreCellaFlusso>

Il numero della corsa viene incrementato di uno ogni volta che si esegue una corsa su un dato strumento.

# Indice

## A

- arresto di una corsa 38
- assistenza clienti 51
- assistenza tecnica 51
- attraversamento del filtro (PF) 24
- avvio corsa
  - opzioni corsa 9

## C

- caricamento dei reagenti
  - cartuccia 21
  - PR2 19
  - soluzione SBS 19
- cartelle corsa
  - temporanea, output, analisi 47
- cartelle delle corse
  - denominazione 47
- cella a flusso
  - caricamento 18
  - panoramica 2
  - pulizia 16
- cicli di sequenziamento 24
- cicli in una lettura 13
- componenti
  - cella a flusso 2
  - modulo ottica 1
  - scomparto della cella a flusso 1-2
  - scomparto reagenti 1, 3
- connessione rete 39
- coperchio a scatto 2
- criteri di restrizione software 6

## D

- dati prestazioni strumento 9
- densità cluster 22
- documentazione 51
- durata della corsa 13

## F

- flacone degli scarti 3
- fluidica
  - lavaggio 29, 32
  - risoluzione dei problemi 42
- flusso di lavoro
  - durata della corsa 13
- foglio campioni 39

## G

- generazione della griglia 24
- generazione di cluster 24
- gestione strumento
  - dominio 46
  - gruppo di lavoro 46
  - impostazioni sistema 45
  - indirizzi IP e DNS 45
  - nome dominio 45
  - nome macchina 46
  - opzioni avvio 46
- guida, tecnica 51

## I

- icone
  - sensori 5
- impostazioni di sistema 44
- impostazioni rete 45
- impostazioni sistema 9, 45-46
- indicatori di rilevamento 5
- indirizzo DNS 45
- indirizzo IP 45
- intensità 24

## L

- lavaggi
  - benefici di 24, 29
  - impostazioni lavaggio post-corsa 9-10
  - manutenzione 9-10, 29

- post-corsa 24
- preparazione allo spegnimento 35
- preparazione allo stato inattivo (idle) 32
- standby 29, 33
- lavaggio di manutenzione 29
- lavaggio di standby 33
- lavaggio post-corsa 24, 29
- linee guida acqua da laboratorio 12
- lunghezza lettura 13

## **M**

- maniglia del pettine di aspirazione 3
- materiali di consumo
  - acqua da laboratorio 12
  - forniti da Illumina 11
  - forniti dall'utente 11
- materiali di consumo forniti dall'utente 11
- modalità di ricerca 7
- modalità kiosk 46
- modalità Windows 46
- modulo ottica 1
- monitoraggio della corsa 22

## **N**

- nome dominio 45-46
- nome gruppo di lavoro 46
- notifiche e-mail 10

## **O**

- opzioni corsa 9-10

## **P**

- porre lo strumento in stato inattivo (idle) 32
- portata, risoluzione dei problemi 42
- PR2, caricamento 19
- punteggi qualitativi 22, 24

## **R**

- raggruppamento file di registro 36

- reagenti
  - in kit 11
- RFID
  - cartuccia dei reagenti 21
  - cella a flusso 18
  - PR2 19
  - risoluzione dei problemi 40
  - soluzione SBS 19
- riavvio 7
- riavvio in modalità di ricerca 7
- risoluzione dei problemi
  - errori impostazione corsa 39
  - file specifici per la corsa per 36
  - fluidica 42
  - portata 42
  - raggruppamento file di registro 36
  - RFID 40

## **S**

- schermata Sequencing (Sequenziamento) 22
- scomparto della cella a flusso 1-2
- scomparto reagenti 1, 3
- sensore sportello cella a flusso 5
- servizio di monitoraggio Illumina Proactive 9
- software
  - durata della corsa 13
  - Local Run Manager 3, 5
  - MiSeqDx Operating Software 3
  - Real-Time Analysis 3
  - sullo strumento 3
  - verifica dello spazio su disco 5
- software Local Run Manager 3, 5
- software MiSeq Operating System 3
- software Real-Time Analysis 3
  - cartella corsa 47
- software Real-Time Analysis (RTA)
  - generazione della griglia 24
- soluzione SBS, caricamento 19
- sospensione di una corsa 38
- spazio su disco
  - spazio su disco insufficiente 39
  - verifica 5

spegnimento dello strumento 29, 35  
SRP 6

## **T**

test volume 42

## **V**

vano refrigerato dei reagenti, temperatura 5

# Assistenza Tecnica

Per ricevere assistenza tecnica, contattare l'Assistenza Tecnica Illumina.

**Sito Web:** [www.illumina.com](http://www.illumina.com)  
**E-mail:** [techsupport@illumina.com](mailto:techsupport@illumina.com)

## Numeri di telefono dell'Assistenza Tecnica Illumina

Area geografica	Gratuito	Internazionale
Australia	+61 1800 775 688	
Austria	+43 800 006249	+43 1 9286540
Belgio	+32 800 77 160	+32 3 400 29 73
Canada	+1 800 809 4566	
Cina		+86 400 066 5835
Corea del Sud	+82 802345300	
Danimarca	+45 80 82 01 83	+45 89 87 11 56
Filippine	+63 180016510798	
Finlandia	+358 800 918 363	+358 9 7479 0110
Francia	+33 8 05 10 21 93	+33 1 70 77 04 46
Germania	+49 800 101 4940	+49 89 3803 5677
Giappone	+81 0800 111 5011	
Hong Kong, Cina	+852 800 960 230	
India	+91 8006500375	
Indonesia		0078036510048
Irlanda	+353 1800 936608	+353 1 695 0506
Italia	+39 800 985513	+39 236003759
Malesia	+60 1800 80 6789	
Norvegia	+47 800 16 836	+47 21 93 96 93
Nuova Zelanda	+64 800 451 650	
Paesi Bassi	+31 800 022 2493	+31 20 713 2960
Regno Unito	+44 800 012 6019	+44 20 7305 7197

Area geografica	Gratuito	Internazionale
Singapore	1 800 5792 745	
Spagna	+34 800 300 143	+34 911 899 417
Stati Uniti	+1 800 809 4566	+1 858 202 4566
Svezia	+46 2 00883979	+46 8 50619671
Svizzera	+41 800 200 442	+41 56 580 00 00
Taiwan, Cina	+886 8 06651752	
Thailandia	+66 1800 011 304	
Vietnam	+84 1206 5263	

**Schede dei dati di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS):** sono disponibili sul sito Web Illumina all'indirizzo [support.illumina.com/sds.html](http://support.illumina.com/sds.html).

**Documentazione sul prodotto:** disponibile per il download all'indirizzo [support.illumina.com](http://support.illumina.com).



Illumina  
5200 Illumina Way  
San Diego, California 92122 U.S.A.  
+1.800.809.ILMN (4566)  
+1.858.202.4566 (fuori dal Nord America)  
techsupport@illumina.com  
www.illumina.com

CE



Illumina Netherlands B.V.  
Steenoven 19  
5626 DK Eindhoven  
Paesi Bassi

**Sponsor Australiano**

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

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

© 2021 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati.

**illumina**<sup>®</sup>