

Este documento y su contenido son propiedad de Illumina, Inc. y sus afiliados ("Illumina") y están previstos solamente para el uso contractual de sus clientes en conexión con el uso de los productos descritos en él y no para ningún otro fin. Este documento y su contenido no se utilizarán ni distribuirán con ningún otro fin ni tampoco se comunicarán, divulgarán ni reproducirán en ninguna otra forma sin el consentimiento previo por escrito de Illumina. Illumina no transfiere mediante este documento ninguna licencia bajo sus derechos de patente, marca comercial, copyright ni derechos de autor o similares derechos de terceros.

La licencia del software se otorga bajo los términos y condiciones del Acuerdo de licencia del software de secuenciación de Illumina en un documento separado. Si no acepta los términos y condiciones que figuran en dicho acuerdo, Illumina no le otorgará la licencia del software y no podrá utilizar ni instalar el software.

Para asegurar el uso correcto y seguro de los productos descritos en este documento, el personal cualificado y adecuadamente capacitado debe seguir las instrucciones incluidas en este de manera rigurosa y expresa. Se debe leer y entender completamente todo el contenido de este documento antes de usar estos productos.

SI NO SE LEE COMPLETAMENTE EL DOCUMENTO Y NO SE SIGUEN EXPRESAMENTE TODAS LAS INSTRUCCIONES DESCRITAS EN ÉL, PODRÍAN PRODUCIRSE DAÑOS EN EL PRODUCTO, LESIONES PERSONALES (EN LOS USUARIOS O EN OTRAS PERSONAS, POR EJEMPLO) Y DAÑOS EN OTROS BIENES.

ILLUMINA NO ASUME RESPONSABILIDAD ALGUNA QUE SE DERIVE DEL USO INCORRECTO DE LOS PRODUCTOS AQUÍ DESCRITOS (INCLUIDAS LAS PIEZAS O EL SOFTWARE), NI DEL USO DE DICHS PRODUCTOS FUERA DEL ÁMBITO DE APLICACIÓN DE LAS LICENCIAS O LOS PERMISOS EXPRESOS ESCRITOS OTORGADOS POR ILLUMINA EN RELACIÓN CON LA ADQUISICIÓN DE DICHS PRODUCTOS POR PARTE DE LOS CLIENTES.

© 2018 Illumina, Inc. Todos los derechos reservados.

Todas las marcas comerciales pertenecen a Illumina, Inc. o a sus respectivos propietarios. Para obtener información específica sobre las marcas comerciales, consulte www.illumina.com/company/legal.html.

Este software contiene la biblioteca de SeqAn, cuya licencia se otorga a Illumina y que se distribuye bajo la siguiente licencia:

Copyright © 2010, Knut Reinert, FU Berlin. Todos los derechos reservados. La redistribución y el uso en formatos de fuente y binarios, con o sin modificación, se permite siempre que se cumplan las siguientes condiciones:

- 1 Las redistribuciones del código de fuente deben observar la nota de copyright anterior, esta lista de condiciones y la siguiente exención de responsabilidad.
- 2 Las redistribuciones en formato binario deben reproducir la nota de copyright anterior, esta lista de condiciones y la siguiente exención de responsabilidad de la documentación o de otros materiales que suministre el distribuidor.
- 3 Ni el nombre de FU Berlin o Knut Reinert ni los nombres de sus contribuidores puede utilizarse para divulgar o promocionar productos derivados de este software sin permiso expreso previo y por escrito.

ESTE SOFTWARE LO SUMINISTRAN "TAL CUAL" LOS PROPIETARIOS DE LOS DERECHOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL Y SUS CONTRIBUIDORES, QUE SE EXIMEN DE TODA RESPONSABILIDAD POR CUALQUIER GARANTÍA EXPRESA O IMPLÍCITA INCLUIDAS, ENTRE OTRAS, LAS GARANTÍAS IMPLÍCITAS DE COMERCIABILIDAD E IDONEIDAD PARA UN FIN PARTICULAR. EN NINGÚN CASO EL PROPIETARIO DE LOS DERECHOS DE PROPIEDAD INTELECTUAL O SUS CONTRIBUIDORES SERÁN RESPONSABLES DE NINGÚN DAÑO DIRECTO, INDIRECTO, ACCIDENTAL, ESPECIAL, EJEMPLAR O CONSECUENTE (INCLUIDO, ENTRE OTROS, LA ADQUISICIÓN DE BIENES O SERVICIOS DE SUSTITUCIÓN, LA PÉRDIDA DE USO, DATOS O BENEFICIOS O LA INTERRUPCIÓN DE ACTIVIDAD COMERCIAL), CUALQUIERA QUE SEA LA CAUSA Y BAJO NINGÚN SUPUESTO DE RESPONSABILIDADES, YA SEA EN CONTRATO, RESPONSABILIDAD OBJETIVA O AGRAVIO (INCLUIDA POR NEGLIGENCIA O POR CUALQUIER OTRA CAUSA) QUE SE PRODUZCAN DE ALGÚN MODO POR EL USO DE ESTE SOFTWARE, INCLUSO SI HUBIEREN SIDO ADVERTIDOS DE LA POSIBILIDAD DE TALES DAÑOS.

Historial de revisiones

Documento n.º	Fecha	Descripción del cambio
N.º de documento 15070067 v04	Marzo de 2018	Se ha añadido información relativa al servicio de supervisión proactiva de Illumina en la sección Pantalla Run Options (Opciones de experimento).
N.º de documento 15070067 v03	Septiembre de 2017	Se han actualizado las marcas normativas.
N.º de documento 15070067 v02	Marzo de 2017	Corrección de la declaración de uso previsto. Eliminación de la frase "El MiSeqDx está indicado para el uso con los kits de reactivos y ensayos de DVI suministrados por Illumina".
N.º de documento 15070067 v01	Diciembre de 2016	<p>Modificación de la advertencia de formamida a una advertencia general por sustancias químicas potencialmente peligrosas, con una recomendación de uso de equipos de protección.</p> <p>Modificación del tipo de agua necesaria para lavar el instrumento: de agua sin ADNasa ni ARNasa a agua de laboratorio. Enumeración de ejemplos aceptables de agua de laboratorio, entre los que se incluye la Illumina PW1.</p> <p>Eliminación de la sección "Medición de los volúmenes de lavado esperados".</p> <p>Cambio de la pantalla Welcome (Bienvenida) a la pantalla Home (Inicio).</p> <p>Modificación de la declaración de uso previsto para que sea igual que la declaración del <i>Prospecto del instrumento MiSeqDx para instrumentos con configuración de doble arranque</i> (n.º de documento: 15070068).</p> <p>Incorporación de información de almacenamiento y manipulación.</p> <p>Cambios de marcado y formato.</p>
N.º de referencia 15070067 Rev. A	Marzo de 2015	Publicación inicial. Para los clientes que tienen un instrumento con configuración de doble arranque, esta guía sustituye a la <i>Guía de referencia de MiSeqDx</i> (n.º de referencia 15038353).

[Página en blanco intencionada]

Índice

Historial de revisiones	iii
Índice	v
Capítulo 1 Primeros pasos	1
Uso previsto	2
Componentes	3
Inicio del MiSeqDx	6
Consumibles necesarios	7
Almacenamiento y manipulación	7
Software antivirus	8
Capítulo 2 Software MiSeqDx	9
Introducción	10
Illumina User Management Software	11
Illumina Worklist Manager Software	15
MiSeq Operating Software (MOS)	16
Análisis en tiempo real (RTA)	36
MiSeq Reporter	37
Capítulo 3 Realización de un experimento	39
Introducción	40
Flujo de trabajo de MiSeqDx	41
Preparación del cartucho de reactivo	43
Inicio de sesión y seguimiento de las indicaciones de secuenciación	45
Limpieza de la celda de flujo	46
Carga de la celda de flujo	48
Carga de reactivos	50
Inicio del experimento	52
Supervisión del experimento	53
Capítulo 4 Procedimientos de mantenimiento	55
Introducción	56
Realización de un lavado posterior al experimento	57
Realización de un lavado de mantenimiento	59
Realización de un lavado en modo en espera	62
Apagado del instrumento	65
Capítulo 5 Solución de problemas	67
Introducción	68
Resolución de errores de configuración del experimento	69
Resolución del error de lectura de RFID	70
Prevención de reinicios durante un experimento	72
Solución de problemas de velocidad de flujo	73
Realización de una prueba de volumen	74
Resolución de errores de análisis de MiSeq Reporter	77
Índice	79
Asistencia técnica	81

[Página en blanco intencionada]

Primeros pasos

Uso previsto	2
Componentes	3
Inicio del MiSeqDx	6
Consumibles necesarios	7
Almacenamiento y manipulación	7
Software antivirus	8

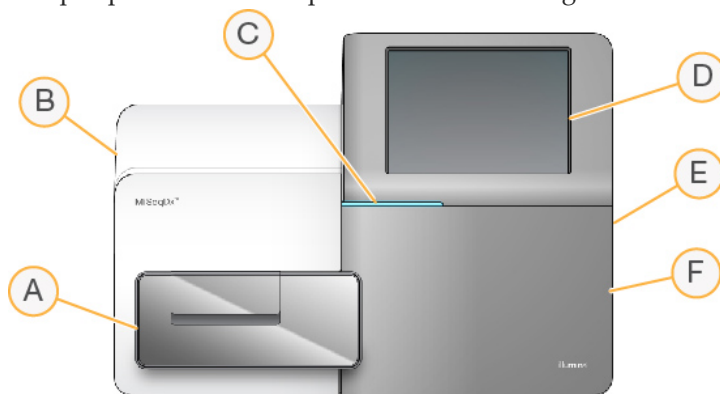


Uso previsto

El Illumina MiSeqDx es un instrumento de secuenciación que mide las señales de fluorescencia de nucleótidos marcados mediante el uso de reactivos específicos para el instrumento y las celdas de flujo (kit MiSeqDx universal 1.0), hardware de adquisición de imágenes y software de análisis de datos. La plataforma MiSeqDx está indicada para la secuenciación selectiva de ADN genómico humano de muestras de sangre periférica humana total. La plataforma MiSeqDx no está indicada para la secuenciación de genoma completo o de novo.

Componentes

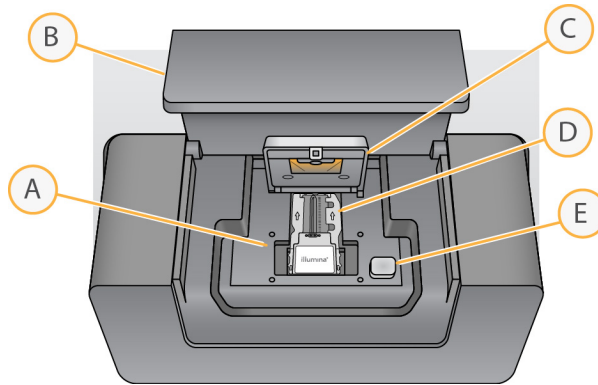
El MiSeqDx presenta los componentes exteriores siguientes:



- A Compartimento de la celda de flujo:** Contiene la platina de la celda de flujo que alberga la celda de flujo durante el experimento. Los motores de la platina de la celda de flujo sacan la platina del módulo óptico cerrado para la carga de celdas de flujo y la devuelven a su sitio cuando empieza el experimento.
- B Módulo óptico cerrado:** Contiene componentes ópticos que permiten la adquisición de imágenes de la celda de flujo.
- C Barra de estado:** Utiliza tres colores para indicar el estado del instrumento. El azul indica que el instrumento está en funcionamiento, el naranja indica que el instrumento necesita atención y el verde indica que el instrumento está listo para empezar el siguiente experimento.
- D Monitor de pantalla táctil:** Permite configurar el experimento y los parámetros integrados en el instrumento mediante la interfaz del software.
- E Puerto USB externo:** Facilita la transferencia de los archivos y los datos al ordenador del instrumento desde el monitor de pantalla táctil.
- F Compartimento de reactivos:** Mantiene los reactivos a las temperaturas adecuadas, las soluciones de lavado y la botella de residuos. La puerta del compartimento de reactivos se asegura mediante un cierre magnético.

La interfaz del MiSeqDx guía a los usuarios a través de los pasos de configuración del experimento mediante el monitor de pantalla táctil.

Compartimento de la celda de flujo

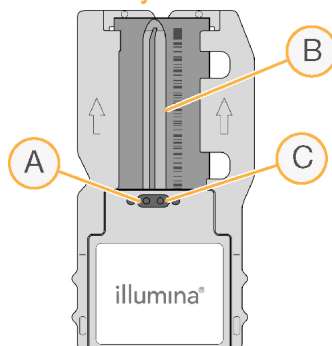


- A Platina de la celda de flujo
- B Puerta del compartimento de la celda de flujo
- C Cierre de la celda de flujo
- D Celda de flujo
- E Botón de apertura del cierre de la celda de flujo

El compartimento de la celda de flujo contiene la platina de la celda de flujo, la estación térmica y las conexiones de fluídica para la celda de flujo. La platina de la celda de flujo sostiene la celda de flujo, y el cierre la fija y la posiciona. Una vez pasado el cierre de la celda de flujo, dos pasadores situados cerca de la bisagra del cierre posicionan automáticamente la celda de flujo.

La estación térmica, situada bajo la platina de la celda de flujo, controla los cambios de temperatura de la celda de flujo necesarios para generar y secuenciar grupos.

Celda de flujo



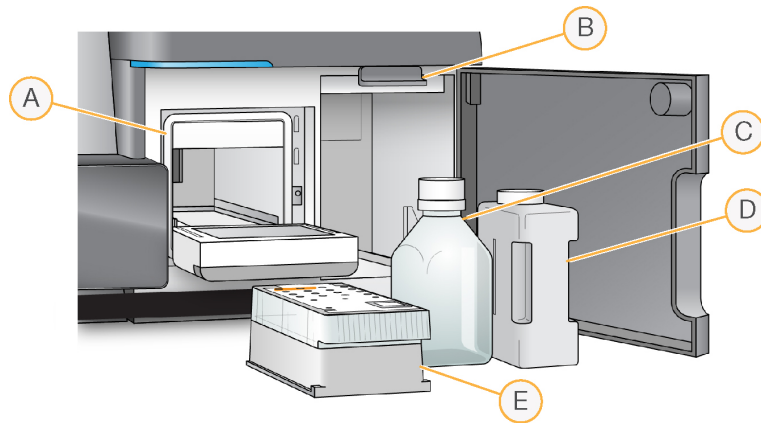
- A Puerto de salida
- B Área de adquisición de imágenes
- C Puerto de entrada

La celda de flujo del MiSeqDx es un sustrato de un solo uso elaborado con cristal en el que se generan grupos y se lleva a cabo la reacción de secuenciación.

Los reactivos entran en la celda de flujo a través del puerto de entrada, pasan por el área de adquisición de imágenes de carril único y salen de la celda de flujo por el puerto de salida. Los residuos que salen de la celda de flujo se depositan en la botella de residuos.

Durante el experimento de secuenciación, el carril único se digitaliza en pequeñas áreas de adquisición de imágenes llamadas "placas".

Compartimento de reactivos



- A Refrigerador de reactivos
- B Mango del dispensador (se muestra en posición elevada)
- C Botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2)
- D Botella de residuos
- E Cartucho de reactivo

El compartimento de reactivos contiene el refrigerador de reactivos, así como las posiciones para la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2) y la botella de residuos.

El refrigerador de reactivos sujeta un cartucho de reactivo de un solo uso durante el experimento. Durante el lavado del instrumento, el refrigerador de reactivos sujeta la bandeja de lavado. El software baja automáticamente los dispensadores al interior del depósito del cartucho de reactivo en el momento adecuado del experimento, en función del proceso que se esté realizando.

A la derecha del refrigerador de reactivos hay dos ranuras que se adaptan a la forma de las botellas de solución SBS de MiSeqDx (PR2) y de residuos, respectivamente. El mango del dispensador fija las botellas en su sitio y baja el dispensador adecuado al interior de cada botella.

Los reactivos se bombearán por los dispensadores, los conductos de fluidica y, a continuación, la celda de flujo. El residuo de reactivo se enviará a la botella de residuos durante el proceso.

Inicio del MiSeqDx

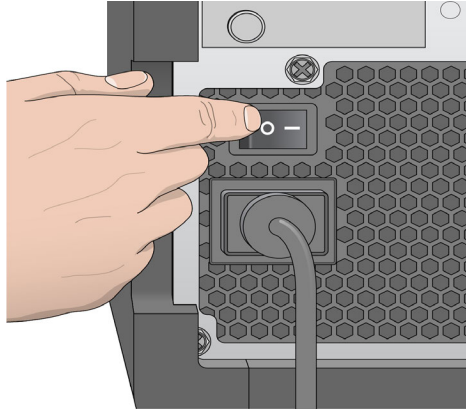


NOTA

Illumina recomienda dejar siempre encendido el instrumento. Sin embargo, si es preciso apagar el instrumento, siga el procedimiento de apagado descrito en *Apagado del instrumento* en la página 65. Espere como **mínimo** 60 segundos antes de volver a poner el interruptor de alimentación en la posición ON (Encendido).

- 1 Si el MiSeqDx todavía no está encendido, busque en el lado derecho del instrumento el interruptor de alimentación del panel trasero. Está situado en la esquina inferior, encima del cable de alimentación.

Figura 1 Ubicación del interruptor de alimentación



- 2 Ponga el interruptor de alimentación en la posición **ON** (Encendido). El ordenador integrado del instrumento se iniciará.
- 3 Inicie sesión en el sistema operativo. Espere hasta que el sistema operativo se haya cargado completamente. El MiSeq Operating Software (MOS) se inicia e inicializa el instrumento automáticamente. Una vez finalizado el paso de inicialización, aparecerá la pantalla Home (Inicio).

Figura 2 Pantalla Home (Inicio)



Consumibles necesarios

Consumibles de secuenciación

Los consumibles de secuenciación necesarios para ejecutar el MiSeqDx se proporcionan por separado como parte de un kit de diagnóstico *in vitro*.

Consumibles proporcionados por el usuario

Antes de iniciar un experimento, asegúrese de que estén disponibles los siguientes consumibles proporcionados por el usuario.

Consumible	Finalidad
Paño humedecido en alcohol isopropílico al 70 % o en etanol al 70 %	Limpieza del soporte de la celda de flujo
Toallita de laboratorio sin pelusa	Limpieza de la platina de la celda de flujo
Papel para lentes (10 × 15 cm [4 × 6 in])	Limpieza de la celda de flujo
Tween 20	Limpieza del instrumento
Pinzas de plástico de punta cuadrada (opcionales)	Extracción de la celda de flujo del contenedor de transporte de celdas de flujo
Agua de laboratorio	Limpieza del instrumento

Directrices para el agua de laboratorio

Utilice siempre agua de laboratorio para los procedimientos del instrumento. No utilice nunca agua corriente. Cualquiera de los siguientes son ejemplos aceptables:

- ▶ Illumina PW1
- ▶ Agua de 18 megaohmios (MΩ)
- ▶ Agua Milli-Q
- ▶ Agua Super-Q
- ▶ Agua de biología molecular

Almacenamiento y manipulación

Elemento	Especificación
Temperatura	Transporte y almacenamiento: De -10 a 40 °C (de 14 a 104 °F) Condiciones de funcionamiento: De 19 °C a 25 °C (de 66 °F a 77 °F)
Humedad	Transporte y almacenamiento: Humedad sin condensación Condiciones de funcionamiento: Humedad relativa del 30 al 75 % (sin condensación)

Software antivirus

Ilumina recomienda encarecidamente instalar un software antivirus facilitado por el usuario para proteger el ordenador de los virus informáticos.

Para evitar interferencias en el funcionamiento del MiSeqDx o pérdidas de datos, configure las actualizaciones del software antivirus de la siguiente manera:

- ▶ Establezca análisis manuales en lugar de análisis automáticos.
- ▶ Lleve a cabo análisis solamente cuando el instrumento no esté en uso.
- ▶ Establezca la descarga de actualizaciones, pero no las instale sin la autorización del usuario.
- ▶ No reinicie de forma automática el ordenador tras la actualización.
- ▶ Excluya la unidad de datos y el directorio de la aplicación de cualquier protección del sistema de archivos en tiempo real.

Software MiSeqDx

Introducción	10
Illumina User Management Software	11
Illumina Worklist Manager Software	15
MiSeq Operating Software (MOS)	16
Análisis en tiempo real (RTA)	36
MiSeq Reporter	37



Introducción

El software que se describe en este capítulo se utiliza para configurar, procesar y analizar datos del MiSeqDx.

Figura 3 Interacción entre los componentes del software MiSeqDx.



- ▶ **Illumina Worklist Manager (IWM):** Se utiliza para crear una hoja de muestras durante la preparación de bibliotecas. La hoja de muestras garantiza un seguimiento de la muestra positiva durante todo el proceso. Este software se ejecuta fuera del instrumento y la hoja de muestras se asocia con el experimento durante la configuración de este en el instrumento MiSeqDx. Consulte la guía de referencia específica del kit para obtener información sobre la generación de una hoja de muestras. Consulte la sección *Illumina Worklist Manager Software* en la página 15.
- ▶ **Illumina User Management Software:** Se utiliza para conceder diversos permisos de nivel de acceso a los usuarios, según proceda. Este software se ejecuta fuera del instrumento y los permisos se guardan en un archivo de base de datos, al que el MiSeqDx debe hacer referencia según su configuración. Consulte *Illumina User Management Software* en la página 11.
- ▶ **MiSeq Operating Software (MOS):** Controla el funcionamiento del instrumento, incluidos los diferentes ajustes de configuración. Este software se instala y se ejecuta en el instrumento. Consulte *MiSeq Operating Software (MOS)* en la página 16.
- ▶ **Análisis en tiempo real (RTA):** Realiza el procesamiento de las imágenes y las llamadas de las bases (de aquí en adelante, “análisis principal”). Este software se instala y se ejecuta en el instrumento. Consulte *Análisis en tiempo real (RTA)* en la página 36.
- ▶ **MiSeq Reporter:** Realiza análisis secundarios tales como el demultiplexado, la alineación, las llamadas de variantes y la generación de informes. Las funciones específicas compatibles varían en función del kit. Este software se puede instalar dentro o fuera del instrumento. El resultado se ve a través de un explorador web. Consulte la información específica de los flujos de trabajo en la *Guía de referencia del software MiSeq Reporter (n.º de documento: 15038356)* para el análisis de datos.

Illumina User Management Software

Los nombres de usuario, las contraseñas y los niveles de acceso se administran con Illumina User Management Software, que crea un archivo de base de datos que activa los permisos de inicio de sesión de los usuarios autorizados. User Management Software no está instalado en el ordenador del instrumento y está diseñado para su uso en un ordenador fuera del instrumento.

Es necesario un archivo de base de datos de usuario antes de ejecutar el MiSeq Operating Software (MOS). Para obtener información sobre la vinculación entre el instrumento MiSeqDx y el archivo de base de datos de usuarios, consulte *Pantalla Run Options (Opciones de experimento)* en la página 21.

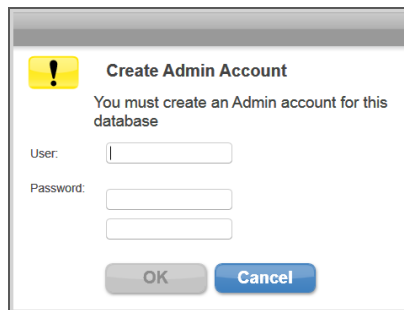
Inicio de User Management Software

Las instrucciones siguientes describen cómo descargar, instalar e iniciar Illumina User Management Software y cómo crear un archivo de base de datos de usuarios.

- ▶ **Descarga del software:** El Illumina User Management Software se puede descargar del sitio web de Illumina en <http://www.illumina.com>. Vaya a la página de asistencia de MiSeqDx y haga clic en **Downloads** (Descargas). Es necesario disponer de una cuenta de MyIllumina.
- ▶ **Instalación del software:** El Illumina User Management Software puede ejecutarse en cualquier plataforma de Windows. Para iniciar la instalación, haga doble clic en el archivo Setup.exe. Se abrirá el asistente de instalación.
- ▶ **Inicio del software:** Para iniciar el software, vaya a **Inicio | Todos los programas | Illumina | Illumina User Management Software** o haga clic en el icono del escritorio.

El Illumina User Management Software se utiliza fuera del instrumento. Al abrir la aplicación por primera vez, cree una cuenta Admin (Administrador) y asígnele una contraseña.

Figura 4 Creación de una cuenta Admin (Administrador)



Solo los usuarios asignados al nivel de acceso de Admin (Administrador) pueden añadir nuevos usuarios, cambiar tipos de usuario, cambiar contraseñas de usuario o crear una base de datos nueva.

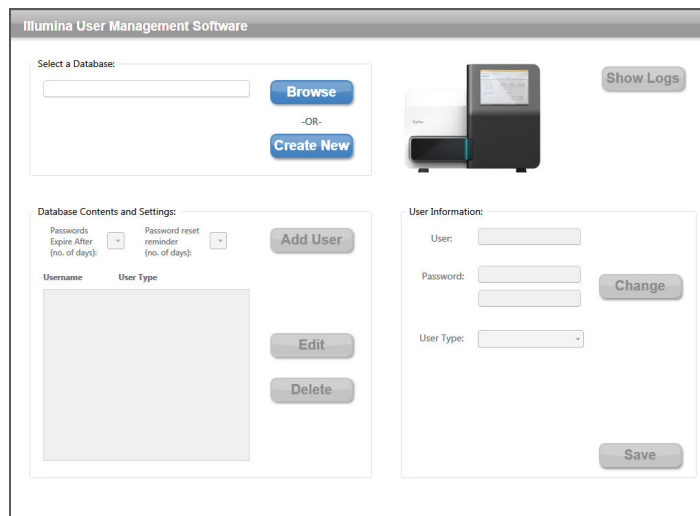
Cuando inicie sesión, se abrirá la interfaz de Illumina User Management Software.

Uso de Illumina User Management Software

Utilice el Illumina User Management Software para abrir un archivo de base de datos existente, crear un nuevo archivo de base de datos, para añadir o eliminar usuarios, así como para asignar contraseñas y tipos de usuario a los usuarios autorizados.

- ▶ **Abrir un archivo de base de datos existente:** Seleccione **Browse** (Examinar) y vaya a la ubicación donde se encuentra almacenado el archivo de la base de datos. La ubicación del archivo de base de datos se define en la ficha **Folders Settings** (Configuración de carpeta) de la pantalla **Run Options** (Opciones de experimento). Para obtener más información, consulte *Pantalla Run Options (Opciones de experimento)* en la página 21. Cuando se abra el archivo de base de datos, aparecerán los nombres de usuario que contiene dicho archivo en la sección **Database Contents and Settings** (Configuración y contenido de la base de datos).
- ▶ **Crear un archivo de base de datos nuevo:** Seleccione **Create New** (Crear nuevo) y asigne un nombre al archivo de base de datos. El formato de archivo predeterminado es *.db.

Figura 5 Interfaz de Illumina User Management Software



Los cambios que se realicen en el archivo de base de datos se guardan de manera automática, excepto los cambios en los atributos de la sección **User Information** (Información de usuario). Tras realizar cambios en la información del usuario, seleccione **Save** (Guardar) antes de cerrar el Illumina User Management Software.

Para asociar el archivo de base de datos con el MiSeqDx, vaya a la pantalla **Run Options** (Opciones de experimento) y luego a la ficha **Folder Settings** (Configuración de carpeta) del MiSeq Operating Software (MOS).

Adición o eliminación de usuarios

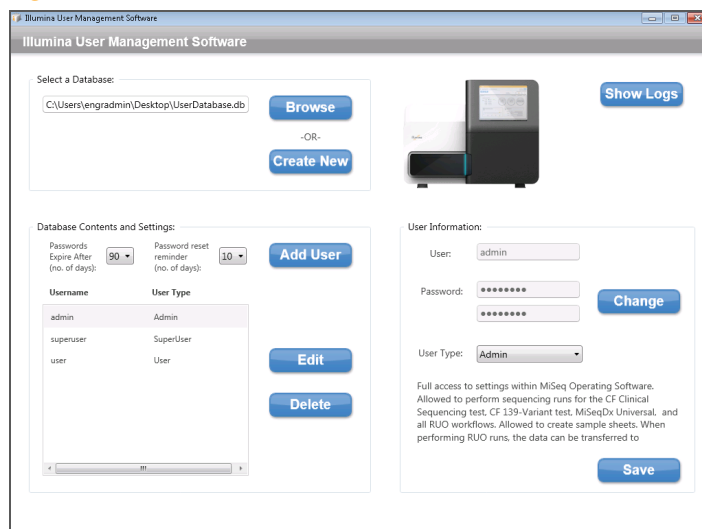
Cada usuario autorizado dispone de cuatro atributos que se asignan en el archivo de base de datos: La contraseña, el tipo de usuario, la duración de la contraseña y el número de días de antelación con que se recordará al usuario que debe modificar la contraseña antes de que esta caduque. Para obtener información sobre las funciones específicas que se permiten a cada tipo de usuario, consulte *Niveles de acceso del usuario* en la página 14.

- ▶ **Añadir un nuevo usuario:** Seleccione **Add User** (Añadir usuario). En la sección **User Information** (Información del usuario), añada un nombre de usuario, asigne una contraseña y seleccione un tipo de usuario de la lista desplegable **User Type** (Tipo de usuario): **Admin** (Administrador), **SuperUser** (Superusuario) o **User** (Usuario). Haga clic en **Save** (Guardar) para crear el nuevo usuario. El nombre y el tipo de usuario del nuevo usuario aparecen en la sección **Database Contents and Settings** (Configuración y contenido de la base de datos).
- ▶ **Editar información del usuario:** En la sección **Database Contents and Settings** (Configuración y contenido de la base de datos), seleccione el usuario que desea editar.

Seleccione **Edit** (Editar). La sección User Information (Información del usuario) se activa.

- ▶ **Eliminar usuario:** En la sección Database Contents and Settings (Configuración y contenido de la base de datos), seleccione el usuario que desea eliminar. Seleccione **Delete** (Eliminar). El usuario se elimina del archivo de base de datos de autenticación de usuarios.

Figura 6 Adición de un nuevo usuario



Configuración de la información de un usuario

En la sección Database Contents and Settings (Configuración y contenido de la base de datos), seleccione un usuario y, a continuación, seleccione **Edit** (Editar). Realice cualquiera de los pasos siguientes y, a continuación, haga clic en **Save** (Guardar).

- ▶ **Cambiar una contraseña:** En la sección User Information (Información del usuario), introduzca una nueva contraseña en el campo Password (Contraseña) y, a continuación, vuelva a introducir la nueva contraseña en el segundo campo de contraseña. Cualquier nivel de usuario puede cambiar su propia contraseña.
- ▶ **Cambiar un tipo de usuario:** En la sección User Information (Información de usuario), seleccione un tipo de usuario de la lista desplegable User Type (Tipo de usuario): **Admin** (Administrador), **SuperUser** (Superusuario) o **User** (Usuario). Solo un usuario de nivel de administrador puede cambiar un tipo de usuario.
- ▶ **Configurar la duración de la contraseña:** En la sección Database Contents and Settings (Configuración y contenido de la base de datos), utilice la lista desplegable para especificar el número de días que permanecerá activa la contraseña actual.
- ▶ **Configurar un recordatorio de modificación de la contraseña:** En la sección Database Contents and Settings (Configuración y contenido de la base de datos), utilice la lista desplegable para especificar el número de días de antelación con que se recordará al usuario que debe modificar la contraseña antes de que esta caduque.

Visualización de registros

Haga clic en **Show Logs** (Mostrar registros) para abrir el registro de historial de todos los cambios realizados en un archivo de base de datos, así como la fecha y la hora en que se realizó dicho cambio. Los registros son exclusivos del archivo de base de datos, forman parte de él y no se almacenan como archivos separados. El registro que aparece es específico del archivo de base de datos abierto que figure en la sección Select a Database (Seleccione una base de datos).

Niveles de acceso del usuario

Los permisos de usuario se agrupan en los siguientes niveles de usuario y se asignan a cada usuario en el archivo de la base de datos de autenticación de usuarios. Es necesario disponer de un tipo de usuario de nivel administrador para modificar las asignaciones de tipo de usuario.

Level (Nivel)	Permisos
Admin (Administrador)	Permite el acceso a todas las funciones del software, el sistema operativo de Windows en el ordenador del instrumento, las actividades de gestión de usuarios y la funcionalidad de gestión de datos.
Super User (Superusuario)	Permite un acceso a nivel medio a las funciones del software, al sistema operativo Windows en el ordenador del instrumento y otras funciones.
User (Usuario)	Permite el acceso para iniciar, supervisar, pausar y detener experimentos de secuenciación de los kits de diagnóstico <i>in vitro</i> .

Illumina Worklist Manager Software

El IWM es una aplicación basada en asistente diseñada para crear y editar hojas de muestras para el instrumento MiSeqDx y el software de análisis de Illumina. Seleccione las opciones de hoja de muestras en función del kit que utilice. La creación de hojas de muestras se lleva a cabo durante la preparación de las bibliotecas y se describe en las guías de referencia del kit. Durante la configuración del experimento en el MiSeqDx, debe seleccionar una hoja de muestras creada con el software IWM para usarla con el experimento.

Inicio del Illumina Worklist Manager Software

Las instrucciones siguientes describen cómo descargar, instalar e iniciar el software IWM, que se utiliza fuera del instrumento.

- ▶ **Descarga del software:** Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina para obtener el paquete de instalación del software IWM.
- ▶ **Instalación del software:** El software IWM puede ejecutarse en una plataforma Windows 7. Para iniciar la instalación, descomprima el paquete de instalación del software IWM. Haga doble clic en el archivo Setup.exe. Haga clic en **Next** (Siguiente) en las indicaciones del asistente de instalación.
- ▶ **Inicio del software:** Para iniciar el software, vaya a **Inicio | Todos los programas | Illumina | Illumina Worklist Manager Software** o haga clic en el icono del escritorio.

MiSeq Operating Software (MOS)

La interfaz del MiSeq Operating Software (MOS) guía a los usuarios a través de los pasos para cargar la celda de flujo y los reactivos antes de iniciar el experimento y luego proporciona una descripción general de las estadísticas de calidad que se puede supervisar a medida que progresa el experimento.

Durante el experimento, el MOS activa la platina de la celda de flujo, dispensa reactivos, controla las temperaturas de la celda de flujo y captura imágenes de grupos en la celda de flujo. El MOS lleva a cabo el experimento según los parámetros especificados en la hoja de muestras.

Pantalla Home (Inicio)

La interfaz del MOS se abre en la pantalla Home (Inicio) cuando se inicia el software.

Figura 7 Pantalla Home (Inicio)



- ▶ **Sequence** (Secuenciar): Esta opción abre una serie de pantallas de configuración del experimento que guían a los usuarios por los pasos de la configuración. Consulte *Pantallas de configuración del experimento* en la página 27.
- ▶ **Perform Wash** (Realizar lavado): Permite iniciar los siguientes tipos de lavados del instrumento: Un lavado de mantenimiento, un lavado en modo en espera o un lavado posterior al experimento. Consulte *Pantalla Perform Wash (Realizar lavado)* en la página 18.
- ▶ **Manage Files** (Administrar archivos): Permite mover, eliminar y cargar archivos en el ordenador del instrumento. Consulte *Pantalla Manage Files (Administrar archivos)* en la página 19.
- ▶ **Run Options** (Opciones de experimento): Proporciona opciones para el lavado posterior al experimento, el cambio de las ubicaciones predeterminadas de las carpetas de datos y la especificación de las preferencias de notificaciones por correo electrónico. Consulte *Pantalla Run Options (Opciones de experimento)* en la página 21.
- ▶ **Manage Instrument** (Administrar instrumento): Proporciona opciones para ir a la configuración del sistema, realizar una comprobación del sistema, actualizar manualmente el software, reiniciar, reiniciar al modo de investigación o apagar el instrumento. Consulte *Pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento)* en la página 24.

Indicadores de actividad

Todas las pantallas de la interfaz presentan una serie de iconos en la esquina inferior derecha. Cada icono es un indicador de la actividad que muestra qué actividad está realizando el instrumento.

Figura 8 Indicadores de actividad



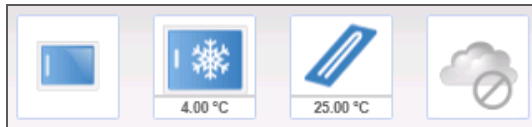
De izquierda a derecha, los indicadores de actividad representan las siguientes actividades:

- ▶ Movimiento de la platina Y
- ▶ Movimiento de la platina Z
- ▶ Activación de la función de los componentes electrónicos
- ▶ Uso de la cámara
- ▶ Bombeo por el sistema de fluídica

Indicadores del sensor

Existen cuatro indicadores del sensor en la base de cada pantalla de la interfaz y cada uno representa el estado de un componente del instrumento.

Figura 9 Indicadores del sensor







De izquierda a derecha, los indicadores del sensor representan los siguientes componentes:

- ▶ Puerta del compartimento de la celda de flujo en las posiciones abierta o cerrada
- ▶ Temperatura del refrigerador de reactivos en °C
- ▶ Temperatura de la celda de flujo en °C
- ▶ Estado de la conexión de BaseSpace® (esta opción no está disponible para kits de diagnóstico *in vitro*)

Iconos de estado

En la esquina superior derecha de la pantalla Home (Inicio) hay un icono de estado que indica los cambios de las condiciones durante la configuración del experimento o durante el experimento.

Icono de estado	Nombre de estado	Descripción
	Estado correcto	No hay cambios. El sistema está normal.
	Atención	Información importante. Se recomienda realizar una acción.
	Advertencia	Las advertencias no detienen un experimento. Sin embargo, algunas podrían requerir una acción antes de continuar.
	Error	Los errores normalmente detienen los experimentos y suelen requerir acciones antes de continuar con el experimento.

Cuando se produce un cambio de estado, el icono cambia a la imagen asociada y parpadea para llamar la atención. Si esto ocurre, seleccione el icono correspondiente para abrir la ventana de estado, que contiene una descripción general del estado.

- ▶ Seleccione cualquier elemento de la lista para ver una descripción detallada del estado, así como las instrucciones para resolver el problema, en su caso.
- ▶ Seleccione **Acknowledge** (Aceptar) para aceptar el mensaje y **Close** (Cerrar) para cerrar el cuadro de diálogo.

Los mensajes de la ventana de estado se pueden filtrar seleccionando los iconos situados sobre el margen superior de la ventana. Al seleccionar un icono se muestra o se oculta el estado.

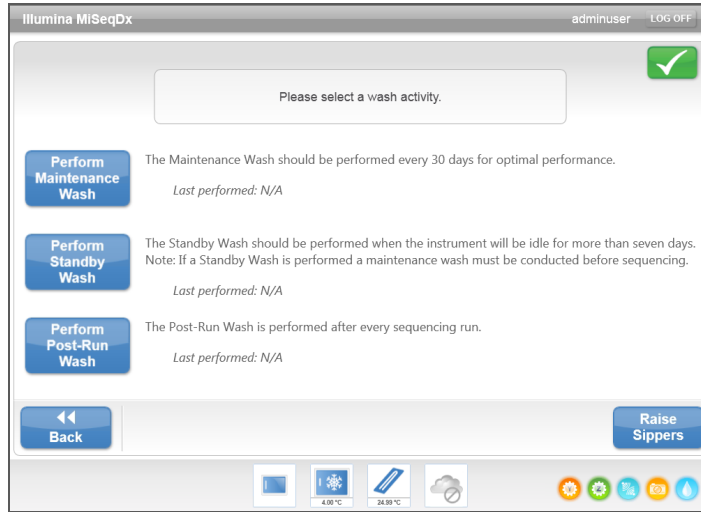
Pantalla Perform Wash (Realizar lavado)

La pantalla Perform Wash (Realizar lavado) permite que los usuarios ejecuten los siguientes tipos de lavado, así como que consulten la fecha en que se realizó el último lavado:

- ▶ **Maintenance Wash** (Lavado de mantenimiento): El lavado de mantenimiento consta de tres ciclos de lavado consecutivos que purgan en profundidad el sistema. Realice al menos un lavado de mantenimiento cada 30 días. Consulte *Procedimiento* en la página 59.
- ▶ **Standby Wash** (Lavado en modo en espera): El lavado en modo en espera prepara correctamente los conductos de fluidica para permanecer inactivos y consta de dos ciclos de lavado consecutivos. Realice un lavado en modo en espera si prevé que el instrumento permanecerá inactivo durante hasta 7 días. Consulte *Realización de un lavado en modo en espera* en la página 62.
Tras haber puesto el instrumento en el modo de inactividad, es preciso realizar un lavado de mantenimiento antes de iniciar un experimento de secuenciación.
- ▶ **Post-Run Wash** (Lavado posterior al experimento): El lavado posterior al experimento es el lavado estándar del instrumento que se efectúa entre los experimentos de secuenciación y consta de un solo ciclo de lavado. Para realizar un lavado posterior al experimento en otro momento que no sea justo después de un experimento, utilice el comando de la pantalla Perform Wash (Realizar lavado) para iniciar dicho lavado.

El MiSeqDx se puede configurar para realizar un lavado de mantenimiento entre experimentos, en lugar de un lavado posterior al experimento. Para obtener más información, consulte *Pantalla Run Options (Opciones de experimento)* en la página 21.

Figura 10 Pantalla Perform Wash (Realizar lavado)



La pantalla Perform Wash (Realizar lavado) también incluye un comando que permite levantar los dispensadores, de forma que se pueda extraer el cartucho de reactivo del instrumento en caso de error o de interrupción imprevista del experimento.



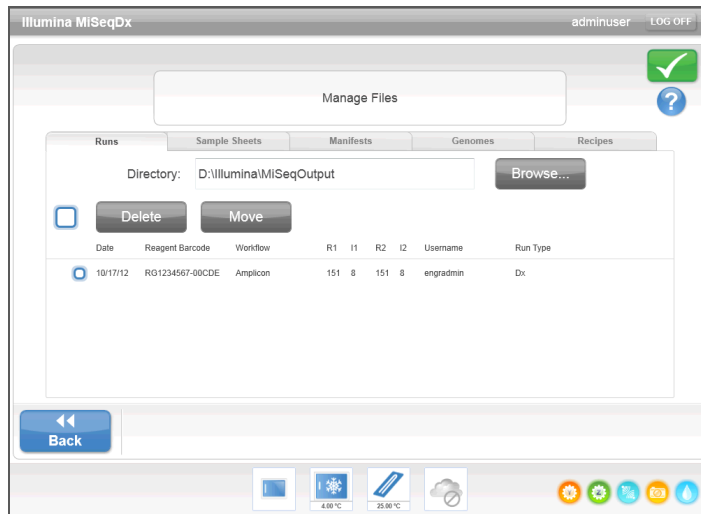
PRECAUCIÓN

Cierre siempre la puerta del refrigerador de reactivos después de cargar la bandeja de lavado y antes de iniciar un lavado. Esto evita las posibles lesiones que se podrían producir si sus manos se encontraran en el camino de los dispensadores cuando estos bajaran.

Pantalla Manage Files (Administrar archivos)

Utilice la función Manage Files (Administrar archivos) para mover, cargar o eliminar archivos en el ordenador del instrumento. La pantalla se divide en cinco fichas: Runs (Experimentos), Sample Sheets (Hojas de muestras), Manifests (Manifiestos), Genomes (Genomas) y Recipes (Fórmulas).

Figura 11 Pantalla Manage Files (Administrar archivos)



Opciones de Manage Files (Administrar archivos)

Desde cualquier ficha de la pantalla Manage Files (Administrar archivos), seleccione **Browse** (Examinar) para navegar hasta cualquier archivo accesible para el instrumento.

Ficha*	Funciones
Runs (Experimentos)	Delete (Eliminar) o Move (Mover)
Sample Sheets (Hojas de muestras)	Delete (Eliminar), Upload (Cargar) o Rename (Renombrar)
Manifests (Manifiestos)	Delete (Eliminar) o Upload (Cargar)

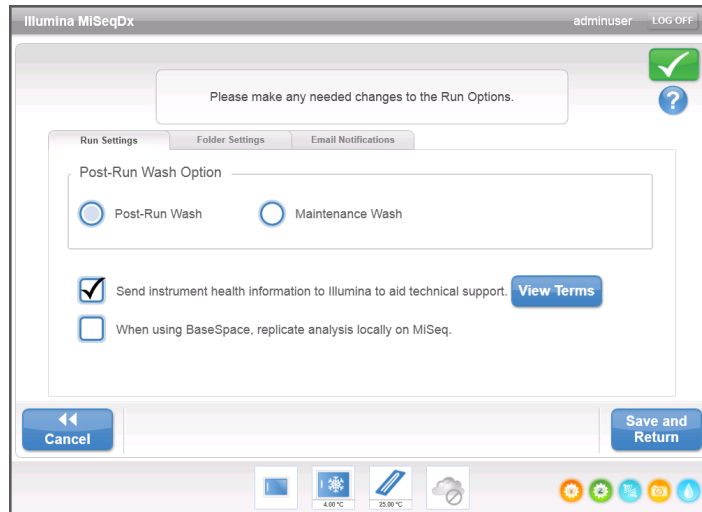
* Los archivos de fórmulas y genomas están precargados para kits de diagnóstico *in vitro* y no deben modificarse.

- ▶ **Delete** (Eliminar): Seleccione la casilla de verificación situada junto al archivo o la carpeta mostrados y, a continuación, seleccione **Delete** (Eliminar). La función Delete (Eliminar) está disponible en todas las fichas. Para eliminar archivos de experimentos es necesario disponer del nivel de acceso de usuario Admin (Administrador).
- ▶ **Move** (Mover): Solo está disponible para las carpetas del experimento. Seleccione la casilla de verificación situada junto al nombre de la carpeta, seleccione **Move** (Mover) y, a continuación, navegue hasta una ubicación adecuada. **Move** (Mover) *copia* la carpeta del experimento en la nueva ubicación y, a continuación, *elimina* la carpeta de su ubicación anterior.
- ▶ **Select All Files** (Seleccionar todos los archivos): Seleccione la casilla de verificación situada a la izquierda del botón Delete (Eliminar) y, a continuación, escoja una acción: Delete (Eliminar) o Move (Mover). La acción se aplicará a todos los archivos o carpetas.
- ▶ **Upload Files** (Cargar archivos): Si el MiSeqDx no está conectado a una red, utilice esta función para cargar archivos de hojas de muestras o archivos de manifiesto al ordenador del instrumento desde una unidad USB. Seleccione **Upload** (Cargar) y navegue hasta la ubicación de la unidad USB donde esté alojada la hoja de muestras. El archivo se cargará en la carpeta indicada en el campo Directory (Directorio).
- ▶ **Rename** (Renombrar): Seleccione la casilla de verificación junto al archivo de hoja de muestras y, a continuación, seleccione **Rename** (Renombrar). Utilice el teclado en pantalla para cambiar el nombre de la hoja de muestras.

Pantalla Run Options (Opciones de experimento)

La pantalla Run Options (Opciones de experimento) tiene tres fichas para especificar la configuración predeterminada de un experimento: Run Settings (Configuración de experimento), Folder Settings (Configuración de carpeta) e Email Notifications (Notificaciones por correo electrónico).

Figura 12 Ficha Run Settings (Configuración de experimento) en la pantalla Run Options (Opciones de experimento)



Ficha Run Settings (Configuración de experimento)

- ▶ **Post-Run Wash Option** (Opción de lavado posterior al experimento): Se debe realizar un lavado del instrumento después de cada experimento. El software no continuará con los pasos de configuración del siguiente experimento si no se ha realizado un lavado. Este ajuste determina qué tipo de lavado se realizará de forma predeterminada después de configurar un experimento aquí. Un lavado posterior al experimento lleva unos 20 minutos y un lavado de mantenimiento lleva aproximadamente 1 hora.
- ▶ Seleccione **Send Instrument Health** (Enviar estado del instrumento) para habilitar el servicio de supervisión proactiva de Illumina. El nombre del ajuste en la interfaz del software puede ser diferente al que se indica en esta guía, en función de la versión de MOS en uso.

Con este ajuste activado, los datos del rendimiento del instrumento se envían a Illumina. Estos datos ayudan a Illumina a solucionar problemas de forma más sencilla y a detectar posibles fallos, lo que permite llevar a cabo tareas de mantenimiento proactivo y maximizar el tiempo de actividad del instrumento. Para obtener más información sobre las ventajas de este servicio, consulte la *nota técnica proactiva de Illumina* (n.º de documento 1000000052503).

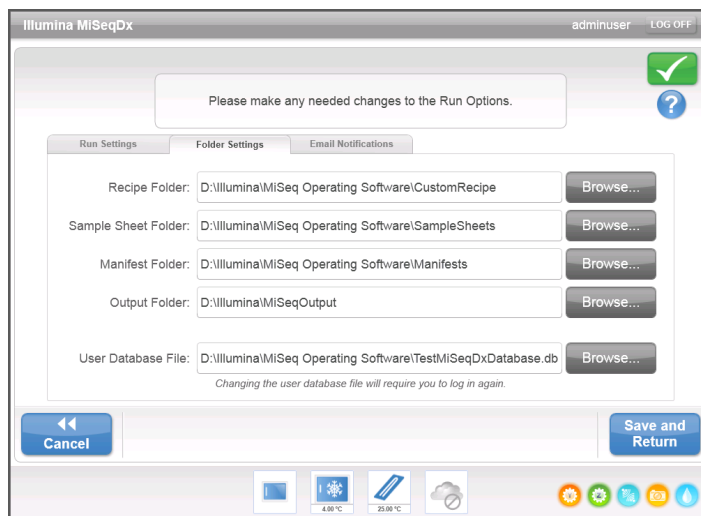
Este servicio:

- ▶ No envía datos de secuenciación.
- ▶ Es necesario que el instrumento esté conectado a una red con acceso a Internet.
- ▶ Está desactivado de forma predeterminada. Para usar este servicio, habilite el ajuste **Send Instrument Health** (Enviar estado del instrumento).
- ▶ **Replicate Analysis Locally** (Replicar análisis de forma local): Esta configuración no se aplica a los kits de diagnóstico *in vitro*.

Ficha Folder Settings (Configuración de carpeta)

Con MiSeqDx es necesario disponer de acceso a varios tipos de archivos almacenados en carpetas situadas en una red local o en el ordenador del instrumento. Las opciones de la ficha Folder Settings (Configuración de carpeta) le indican al MiSeqDx dónde se encuentran situadas esas carpetas.

Figura 13 Ficha Folder Settings (Configuración de carpeta)



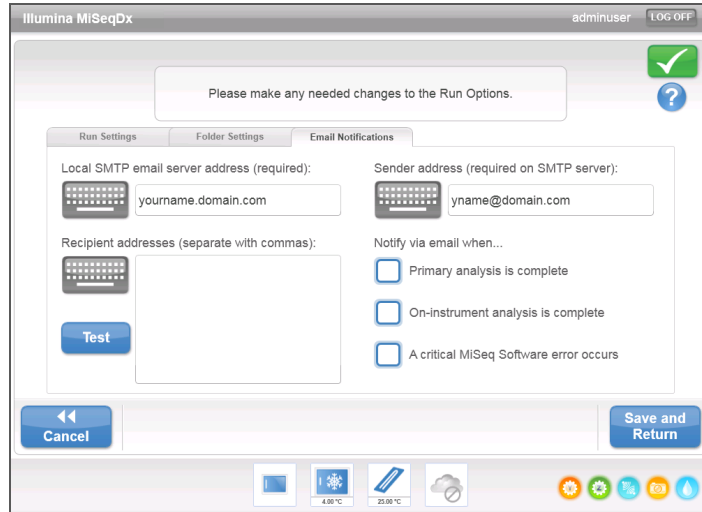
- ▶ **Recipes (Fórmulas):** Las fórmulas personalizadas no son compatibles con los kits de diagnóstico *in vitro*.
- ▶ **Sample Sheets (Hojas de muestras):** Define la ubicación predeterminada de las hojas de muestras. Las hojas de muestras se crean antes de la preparación de las bibliotecas y contienen los parámetros del experimento.
- ▶ **Manifests (Manifiestos):** La mayoría de los kits de diagnóstico *in vitro* utilizan los archivos de manifiesto precargados. En el caso de los kits que precisan el uso de un grupo de oligonucleótidos personalizados, guarde el archivo de manifiesto asociado en la carpeta especificada aquí.
- ▶ **MiSeqOutput:** Define la ubicación predeterminada de los archivos de resultados de análisis. Illumina recomienda cambiar la ubicación predeterminada de la carpeta de resultados a una ubicación de red para compartir los archivos, almacenarlos a largo plazo y, de manera opcional, usar MiSeq Reporter sin conexión.
- ▶ **User Database File (Archivo de base de datos de usuarios):** Define el archivo de base de datos de autenticación de usuarios, que contiene la lista de usuarios autorizados, las contraseñas de usuario y el nivel de acceso asignado a cada usuario. Para cambiar la ubicación de la carpeta del archivo de base de datos es necesario disponer del nivel de acceso de usuario Admin (Administrador). Para obtener más información, consulte *Inicio de User Management Software* en la página 11.

Ficha Email Notifications (Notificaciones por correo electrónico)

El MiSeqDx se puede configurar para que envíe una notificación por correo electrónico cuando haya finalizado el análisis principal, cuando haya finalizado el análisis secundario integrado en el instrumento o si se produce un error grave del software MiSeqDx.

Para modificar la configuración de Email Notifications (Notificaciones por correo electrónico), es necesario disponer del nivel de acceso de usuario Admin (Administrador).

Figura 14 Ficha Email Notifications (Notificaciones por correo electrónico)

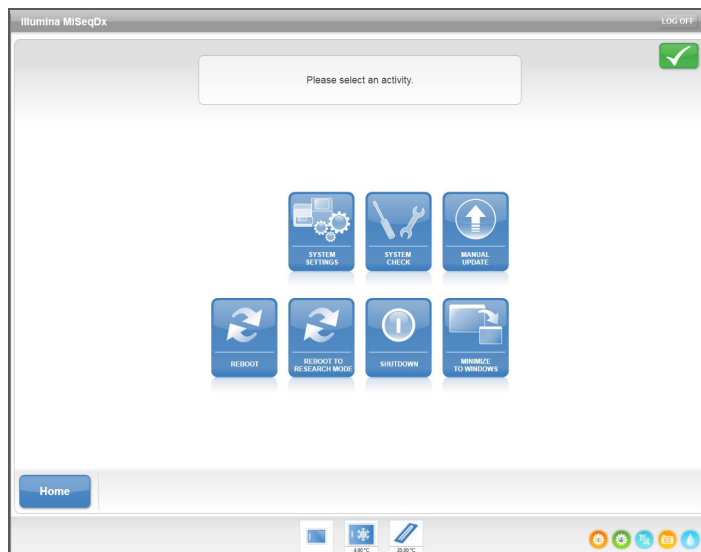


- ▶ **Local SMTP email server address** (Dirección de servidor de correo electrónico SMTP local): Utilice el teclado en pantalla para introducir la dirección del servidor de correo electrónico de SMTP local. En caso necesario, póngase en contacto con el administrador de las instalaciones para obtener esta información.
- ▶ **Sender email address** (Dirección de correo electrónico del remitente): Utilice el teclado en pantalla para introducir la dirección del correo electrónico del remitente. Esta dirección puede ser la dirección de correo electrónico de un usuario (Admin) (Administrador) o una dirección diferente especificada para el envío de notificaciones por correo electrónico. La dirección de correo electrónico del remitente debe tener el mismo nombre de dominio que la dirección del servidor de correo electrónico.
- ▶ **Recipient addresses** (Direcciones de destinatarios): Utilice el teclado en pantalla para introducir las direcciones de correo electrónico de todos los destinatarios de las notificaciones. Separe cada dirección de correo electrónico con una coma. Seleccione **Test** (Verificar) para enviar un mensaje de correo electrónico de prueba a los destinatarios de las notificaciones.
- ▶ **Notify via email when** (Notificar por correo electrónico cuando): Seleccione la casilla de verificación de cada uno de los eventos del experimento que desee que active una notificación.

Pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento)

La pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento) contiene los controles para la configuración del sistema, la solución de problemas, la actualización manual del software, el reinicio, el reinicio al modo de investigación o el apagado del software del instrumento.

Figura 15 Pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento)



- ▶ **System Settings** (Configuración del sistema): Permite cambiar la configuración de la IP, el nombre de la máquina o el dominio. Consulte *Pantalla System Settings (Configuración del sistema)* en la página 25.
- ▶ **System Check** (Comprobación del sistema): Permite solucionar problemas para comprobar el estado operativo de los componentes del instrumento. Consulte *Pantalla System Check (Comprobación del sistema)* en la página 26.
- ▶ **Manual Update** (Actualización manual): Permite actualizar manualmente el software del ordenador del instrumento. Consulte *Pantalla Manual Update (Actualización manual)* en la página 27.
- ▶ **Reboot** (Reiniciar): Utilice el comando Reboot (Reiniciar) para reiniciar el software del sistema. No hay ningún requisito para reiniciar el software como parte del mantenimiento regular.
- ▶ **Reboot to Research Mode** (Reiniciar al modo de investigación): Utilice este comando para cambiar el software del sistema al modo de investigación (uso exclusivo en investigación). Si se encuentra en el modo de investigación, deberá utilizar el comando Reboot (Reiniciar) para pasar al modo de diagnóstico. Para utilizar esta función es necesario disponer del nivel de acceso de usuario Admin (Administrador) o SuperUser (Superusuario).



NOTA

Si utiliza MiSeqDx en modo de investigación, al volver al modo de diagnóstico se le solicita realizar un lavado posterior al experimento.

- ▶ **Shut Down** (Apagar): Utilice el comando Shut Down (Apagar) para apagar el software de control y Windows en el ordenador del instrumento. Consulte *Apagado del instrumento* en la página 65.
- ▶ **Minimize to Windows** (Minimizar a Windows): Proporciona un acceso rápido al sistema operativo del instrumento y a cualquier carpeta que se encuentre en el

ordenador del instrumento cuando se ejecute el MOS en modo de pantalla completa en lugar de en modo Windows.

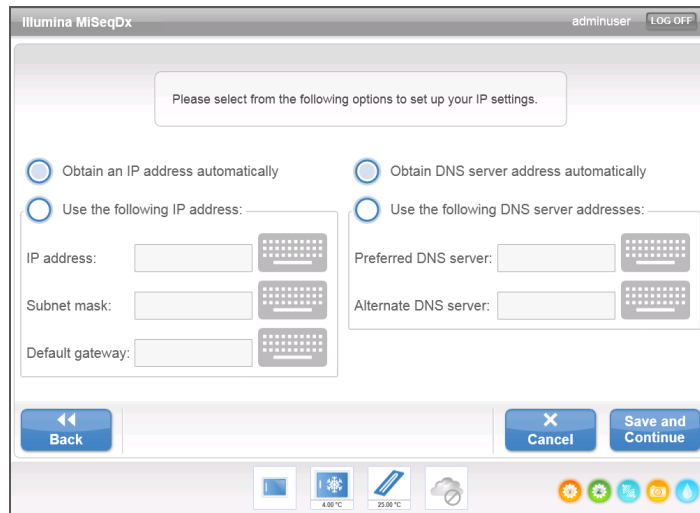
Para utilizar esta función es necesario disponer del nivel de acceso de usuario Admin (Administrador) o SuperUser (Superusuario).

Pantalla System Settings (Configuración del sistema)

La configuración del sistema suele definirse cuando el instrumento se instala y se inicia por primera vez. Si hay que modificar algún parámetro de la configuración debido a un cambio de red o de centro, utilice la función System Settings (Configuración del sistema).

Para utilizar esta función es necesario disponer del nivel de acceso de usuario Admin (Administrador).

Figura 16 Configuración del sistema



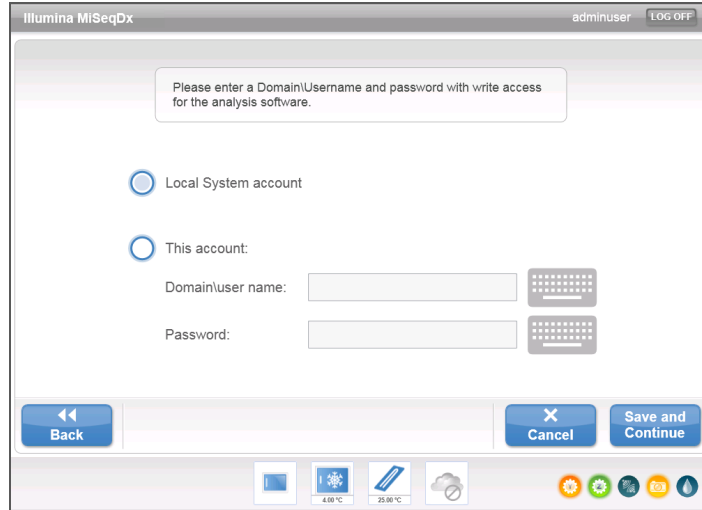
Póngase en contacto con el administrador de la instalación para informarse acerca de qué configuración de red debe especificar.

Cambio de las credenciales del sistema

Modifique el nombre de usuario y la contraseña del sistema en la pantalla System Settings (Configuración del sistema). Seleccione **System Settings** (Configuración del sistema) en la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento) y, a continuación, seleccione **Save and Continue** (Guardar y continuar) para pasar a la tercera pantalla de la serie de pantallas.

Seleccione **This account** (Esta cuenta). Introduzca el nombre de dominio (Domain\MiSeq1, por ejemplo) y la contraseña. Seleccione **Save and Continue** (Guardar y continuar). Las credenciales de MiSeq Reporter y de BaseSpace también se actualizarán.

Figura 17 Configuración del sistema



Pantalla System Check (Comprobación del sistema)

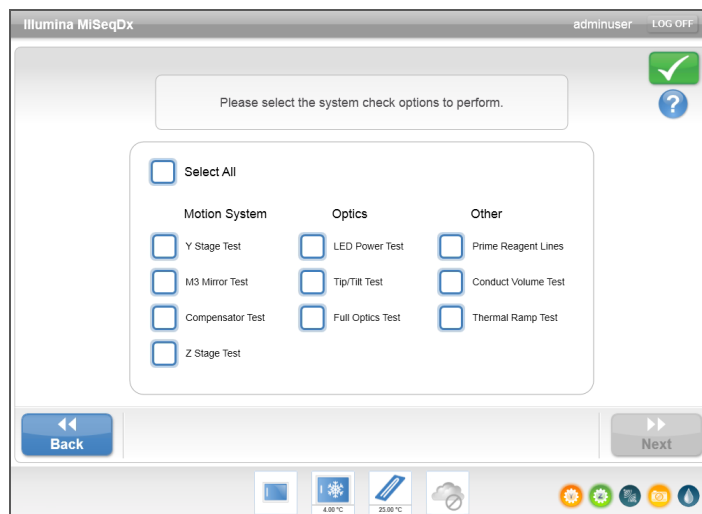
System Check (Comprobación del sistema) es una pantalla que, normalmente, se utiliza para ponerse en contacto con un representante del servicio de asistencia técnica de Illumina durante una sesión de Live Help (Ayuda en directo). No es necesario utilizar esta función durante el funcionamiento normal ni para el mantenimiento del instrumento.

Algunas comprobaciones del sistema pueden realizarse antes de ponerse en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina, como la prueba de volumen. Una prueba de volumen comprueba el estado del sistema de fluidica calculando el volumen de flujo a medida que las burbujas pasan por los sensores. Para obtener más información, consulte *Realización de una prueba de volumen* en la página 74.

Una vez finalizada la comprobación del sistema, los resultados de la prueba aparecerán en la pantalla:

- ▶ Seleccione **Show Details** (Mostrar detalles) para ver un resumen de los resultados en la interfaz del software.
- ▶ Seleccione **Export Results** (Exportar resultados) para exportar los resultados a un formato *.csv en una unidad USB.

Figura 18 Opciones de System Check (Comprobación del sistema)



Pantalla Manual Update (Actualización manual)

La función Manual Update (Actualización manual) se utiliza para actualizar el software de control del instrumento y el software de análisis. Esta función no está disponible en el MiSeqDx. Todas las actualizaciones de software las realiza el personal de Illumina para garantizar una configuración adecuada del sistema.

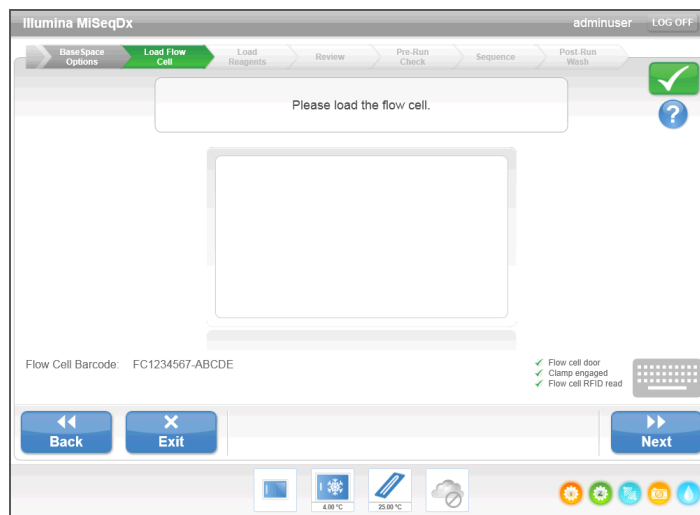
Pantallas de configuración del experimento

Tras seleccionar **Sequence** (Secuenciar) en la pantalla Home (Inicio), se abrirá un conjunto de pantallas de configuración del experimento en el siguiente orden: Load Flow Cell (Cargar celda de flujo), Load Reagents (Cargar reactivos), Review (Revisar) y Pre-Run Check (Comprobación previa al experimento).

Pantalla Load Flow Cell (Cargar celda de flujo)

La pantalla Load Flow Cell (Cargar celda de flujo) aparece en el momento de cargar la celda de flujo. Una vez cargada la celda de flujo, deje el cierre de la celda de flujo y la puerta del compartimento correspondiente cerrados. Tanto el cierre como la puerta del compartimento deben estar cerrados antes de iniciar el experimento.

Figura 19 Pantalla Load Flow Cell (Cargar celda de flujo)



Cuando la celda de flujo está cargada, el software lee y registra la identificación de radiofrecuencia (RFID). Aparecerá una confirmación de que la RFID se ha leído correctamente en la esquina inferior derecha de la pantalla.

Si no se puede leer la RFID, se puede introducir manualmente la información de identificación. Sin embargo, el software solo permite el fallo de uno de los tres componentes con etiqueta de RFID (celda de flujo, cartucho de reactivo o solución SBS de MiSeqDx [PR2]) por cada experimento. Para obtener información adicional, consulte *Resolución del error de lectura de RFID* en la página 70.

Seleccione el icono de ayuda de la esquina superior derecha de la pantalla. El archivo de ayuda contiene un vídeo que ilustra los pasos de carga de la celda de flujo.

Pantalla Load Reagents (Cargar reactivos)

La pantalla Load Reagents (Cargar reactivos) consta de dos pasos: En primer lugar, cargue la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2) y la botella de residuos vacía y, a continuación, cargue el cartucho de reactivo. Cuando la botella de solución SBS de

MiSeqDx (PR2) y el cartucho de reactivo están cargados, el software lee y registra la RFID. Aparecerá una confirmación de que la RFID se ha leído correctamente en la esquina inferior derecha de la pantalla.

Figura 20 Carga de la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2) y de la botella de residuos

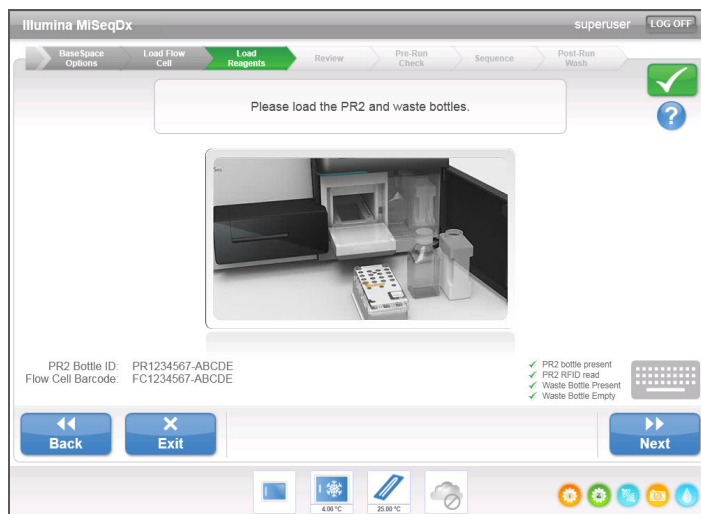
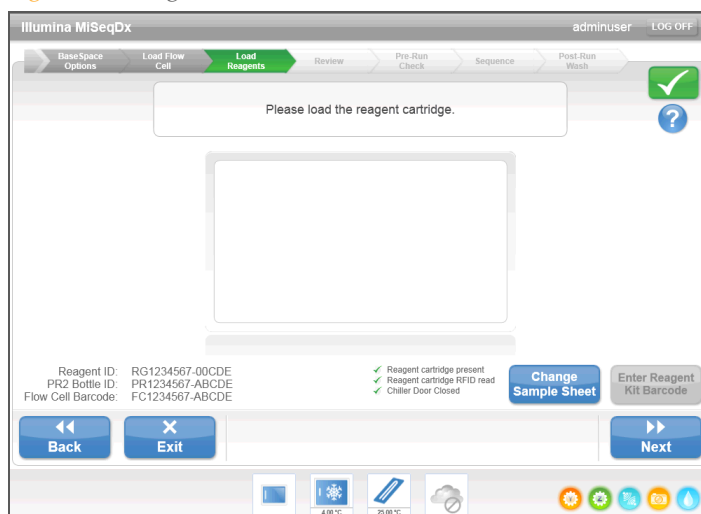


Figura 21 Carga del cartucho de reactivo



Si no se puede leer la RFID, se puede introducir manualmente la información de identificación. Sin embargo, el software solamente permite que uno de los tres componentes con etiqueta de RFID (celda de flujo, cartucho de reactivo y solución SBS de MiSeqDx [PR2]) dé error en un experimento de diagnóstico *in vitro*. Para obtener información adicional, consulte *Resolución del error de lectura de RFID* en la página 70.



NOTA

Cuando realice un experimento de diagnóstico *in vitro*, utilice solamente componentes del kit de reactivos para diagnóstico.

Seleccione el icono de ayuda de la esquina superior derecha de la pantalla. El archivo de ayuda contiene un vídeo que ilustra los pasos para cargar el cartucho de reactivo y la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2).

Cambio de la hoja de muestras

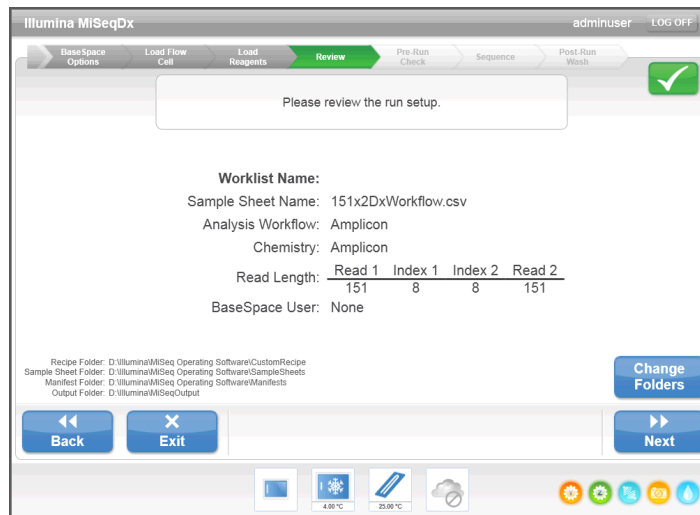
Todos los experimentos deben tener una hoja de muestras. El software buscará de forma predeterminada un archivo de hoja de muestras cuyo nombre coincida con el número del código de barras del cartucho de reactivo cargado en el instrumento. Si no es posible encontrar una hoja de muestras, se abre una ventana para buscar la hoja de muestras.

Para evitar que el software realice búsquedas sin resultados, utilice el comando **Change Sample Sheet** (Cambiar hoja de muestras) de la pantalla Load Reagents (Cargar reactivos) para dirigir el software hasta la hoja de muestras apropiada.

Pantalla Review (Revisar)

La pantalla Review (Revisar) confirma que el software ha encontrado la hoja de muestras para el experimento y muestra su nombre y los parámetros que aparecen en la hoja de muestras.

Figura 22 Pantalla Review (Revisar)



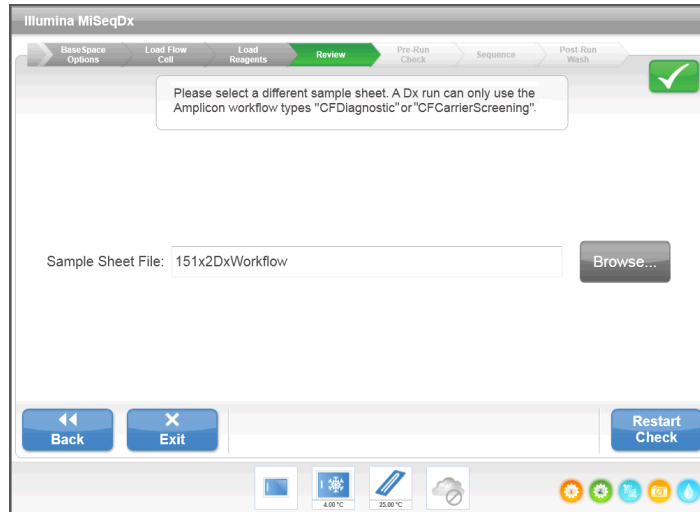
Cambio de carpetas

En la esquina inferior izquierda de la pantalla Review (Revisar), se enumeran las ubicaciones actuales de las carpetas que contienen las fórmulas, las hojas de muestras, los manifiestos y los resultados. Para cambiar la ubicación de las carpetas, seleccione **Change Folders** (Cambiar carpetas) y navegue a la ubicación deseada. Si utiliza esta opción de la pantalla Review (Revisar), se cambiarán solo las ubicaciones de las carpetas del experimento actual.

No se encuentra la hoja de muestras

Si no se especificó una hoja de muestras en la pantalla Load Reagents (Cargar reactivos) y el software no puede encontrar una hoja de muestras, navegue hasta la hoja de muestras asociada al experimento. Después de navegar a la hoja de muestras, seleccione **Restart Check** (Reiniciar comprobación).

Figura 23 No se encuentra la hoja de muestras

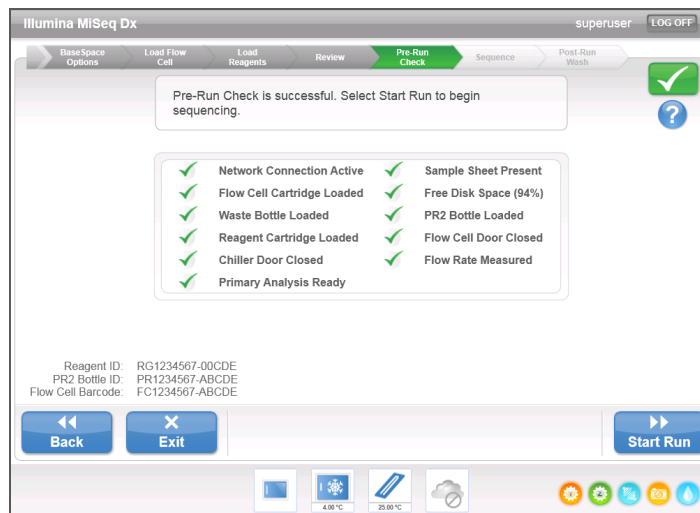


Pantalla Pre-Run Check (Comprobación previa al experimento)

El software realiza automáticamente una comprobación previa al experimento de las condiciones y los componentes necesarios del experimento antes de comenzar. Si se produce algún error durante esta comprobación, aparecerá un mensaje en la pantalla en el que se describirá el error y qué medida hay que adoptar para corregirlo.

Para obtener más información, consulte *Resolución de errores de configuración del experimento* en la página 69.

Figura 24 Pantalla Pre-Run Check (Comprobación previa al experimento)

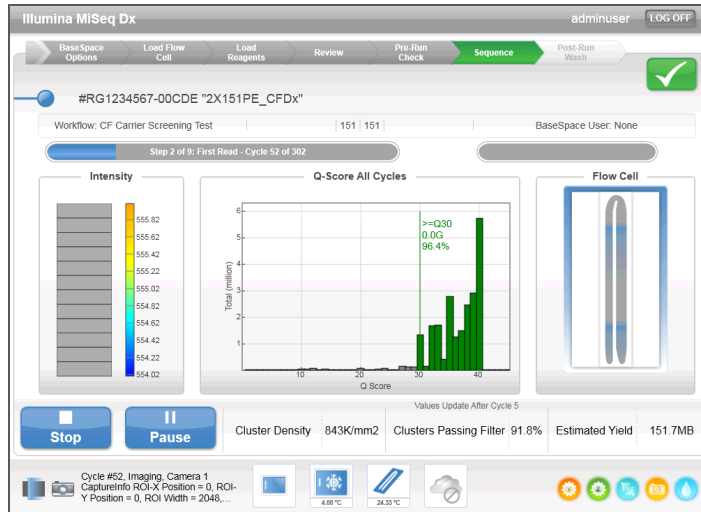


Cuando la comprobación previa al experimento se realice correctamente, el botón **Start Run** (Iniciar experimento) se activará.

Pantalla Sequencing (Secuenciación)

La pantalla Sequencing (Secuenciación) se abre cuando empieza el experimento. Esta pantalla proporciona una representación visual del experimento en curso, incluidas las intensidades y las puntuaciones de calidad (puntuaciones Q).

Figura 25 Pantalla Sequencing (Secuenciación)



- ▶ **Run progress** (Progreso del experimento): Muestra el progreso del experimento en una barra de estado y enumera el número de ciclos finalizados.
- ▶ **Intensity** (Intensidad): Muestra el valor de las intensidades de grupos del percentil 90 para cada placa.
El gráfico del área de Intensity (Intensidad) representa el número de placas que se digitalizan.
- ▶ **Q-Score All Cycles** (Puntuaciones Q de todos los ciclos): Muestra el porcentaje medio de bases superiores a Q30, que se trata de una puntuación de calidad (puntuación Q). La puntuación Q es una predicción de la probabilidad de que se realice una llamada de bases incorrecta. Las puntuaciones Q se calculan tras el ciclo 25.

Puntuación Q	Probabilidad de llamada de bases incorrecta
Q40	Una entre 10 000
Q30	Una entre 1000
Q20	Una entre 100
Q10	Una entre 10

- ▶ **Cluster Density (K/mm²)** (Densidad de grupos [K/mm²]): Muestra el número de grupos por milímetro cuadrado en el experimento. Lo idóneo sería esperar una densidad de grupos de 800 K/mm².
- ▶ **Clusters Passing Filter (%)** (Grupos que superan el filtro [%]): Muestra el porcentaje de grupos que superan el filtro en función del filtro de castidad de Illumina, que mide la calidad. Este dato aparece solo tras el ciclo 25.

**NOTA**

La castidad de una llamada de bases es la proporción de la intensidad de la señal más alta dividida entre la suma de las dos señales más altas. Si existe más de una llamada de bases con un valor de castidad inferior a 0,6 en los primeros 25 ciclos, las lecturas no superan el filtro de calidad.

- ▶ **Estimated Yield (Mb)** (Rendimiento estimado [Mb]): Muestra el número de bases previsto para el experimento, medido en megabases. Este dato aparece solo tras el ciclo 25.

Generación de plantillas

El análisis en tiempo real (RTA) utiliza los cuatro primeros ciclos del experimento de secuenciación para la generación de plantillas. La generación de plantillas es el proceso por el que se definen las posiciones de los grupos de toda la superficie de la celda de flujo de acuerdo con las coordenadas X e Y.

Una vez generada la plantilla de las posiciones de los grupos, las imágenes producidas de cada ciclo de adquisición de imágenes posterior se alinearán con la plantilla. Se extraen las intensidades de grupos individuales de los cuatro canales de color de nucleótidos y se producen llamadas de bases desde las intensidades de grupos normalizadas.

Carpetas del experimento

Cada experimento del MiSeqDx genera tres carpetas del experimento, cada una con una finalidad concreta:

- ▶ **D:\Illumina\MiSeqTemp**: Cuando el experimento comienza, la carpeta temporal del experimento se copia en la unidad local del ordenador del instrumento y se utiliza como área de trabajo para MOS y RTA. No es preciso acceder a la carpeta temporal. El contenido de esta carpeta se elimina al cabo de 7 días.
- ▶ **D:\Illumina\MiSeqOutput**: El RTA copia los archivos de la carpeta temporal a la carpeta de resultados. A medida que se generan los archivos del análisis principal, el RTA vuelve a copiar los archivos en la carpeta temporal y llena la carpeta de análisis. Las imágenes de enfoque y en miniatura no se copian en la carpeta de análisis. Se puede cambiar la ubicación de la carpeta de resultados en el campo Output Folder (Carpeta de resultados) de la pantalla Run Options (Opciones de experimento). Para obtener más información, consulte *Pantalla Run Options (Opciones de experimento)* en la página 21.
- ▶ **D:\Illumina\MiSeqAnalysis**: Cuando haya finalizado el análisis principal, MiSeq Reporter accederá a la carpeta de análisis de la unidad local del instrumento para iniciar el análisis secundario. Todos los archivos generados en la carpeta Analysis (Análisis) se copian en la carpeta Output (Resultados).

Asignación de nombres a la carpeta raíz

El nombre de la carpeta raíz del experimento identifica la fecha del experimento, el número del instrumento y la celda de flujo utilizada para el experimento. Las carpetas de experimento tienen el mismo nombre de carpeta raíz en todos los experimentos.

De forma predeterminada, el nombre de la carpeta utiliza este formato:

AAMMDD_<número_instrumento>_<número_experimento>_A<códigobarras_célula_flujo>

El número del experimento aumenta en incrementos de uno cada vez que se realiza un experimento en un instrumento determinado.

Duración del experimento

La duración del experimento depende del número de ciclos realizados. El MiSeqDx puede llevar a cabo un experimento de secuenciación “paired-end” de hasta 2×151 ciclos.

Número de ciclos de una lectura

El número de ciclos realizados en una lectura es de un ciclo más que el número de ciclos analizados. El ciclo adicional es necesario para los cálculos de hebra retrasada y hebra adelantada.

Por ejemplo, un experimento de 150 ciclos de “paired-end” realiza dos lecturas de 151 ciclos (2×151) para un total de 302 ciclos. Al final del experimento, se habrán analizado 2×150 ciclos.

Espacio necesario en disco

El ordenador integrado del instrumento tiene una capacidad de almacenamiento aproximada de 550 GB.

Antes de iniciar un experimento, el software comprueba el espacio disponible en el disco. Si no hay suficiente espacio libre en el disco para el experimento, aparecerá un mensaje del software. Dicho mensaje informará de cuánto espacio en disco es necesario para el experimento y cuánto espacio en disco es preciso liberar para poder continuar con el experimento.

Si se le indica que libere espacio en disco, vaya a la pantalla Home (Inicio) y seleccione **Manage Files** (Administrar archivos). En la pantalla Manage Files (Administrar archivos), seleccione la ficha **Runs** (Experimentos). Mueva o elimine las carpetas de experimentos anteriores como proceda. Para obtener más información, consulte *Pantalla Manage Files (Administrar archivos)* en la página 19. Después de liberar el espacio en disco necesario, seleccione **Restart Check** (Reiniciar comprobación).

Pausa o detención de un experimento

El sistema MiSeqDx está diseñado para finalizar un experimento de principio a fin sin necesidad de que intervenga el usuario. No obstante, se puede pausar o detener un experimento en la pantalla Sequencing (Secuenciación).

Pausa de un experimento

Se puede pausar un experimento durante la secuenciación si es necesario (por ejemplo, para vaciar la botella de residuos o comprobar qué volumen permanece en la botella de solución SBS de MiSeqDx [PR2]) y reanudarlo posteriormente para continuar la secuenciación.

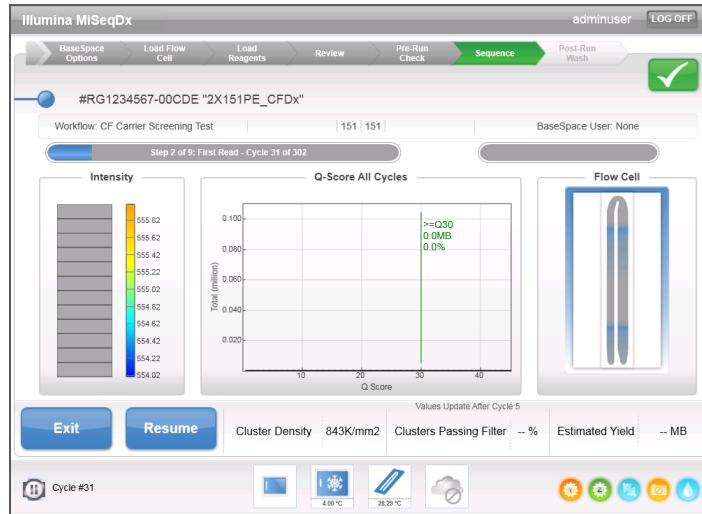


PRECAUCIÓN

No ponga en pausa un experimento durante la generación de grupos o en los primeros cinco ciclos de la secuenciación. No es posible reanudar un experimento puesto en pausa en ese momento.

Para pausar un experimento en la pantalla Sequencing (Secuenciación), seleccione **Pause** (Pausar). El comando actual ha finalizado, tras lo cual se pausa el experimento, la celda de flujo se pone en un estado seguro y el botón cambia a **Resume** (Reanudar). En este momento puede vaciar la botella de residuos, por ejemplo. Seleccione **Resume** (Reanudar) para continuar con el experimento.

Figura 26 Pantalla Sequence (Secuenciar) de un experimento pausado

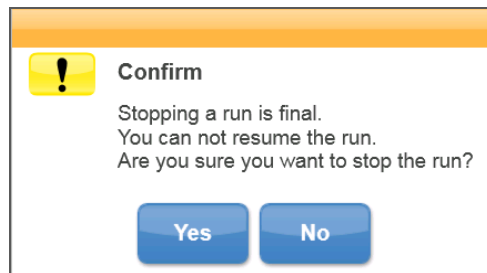


Detención de un experimento

Si es necesario, un experimento se puede detener durante la secuenciación (por ejemplo, si la secuenciación se configuró incorrectamente, si la calidad de los datos es deficiente o si se produce un error en el hardware).

Para detener un experimento en la pantalla Sequencing (Secuenciación), seleccione **Stop** (Detener). Cuando se detiene un experimento, el comando actual no se realiza y la platina de la celda de flujo se mueve hacia delante. El análisis principal continúa en el último ciclo finalizado.

Figura 27 Detención de un experimento



La detención de un experimento es definitiva. No es posible reanudar un experimento tras detenerlo. La única opción disponible es pasar a realizar un lavado del instrumento.

Live Help (Ayuda en directo)

El MiSeqDx debe estar conectado a una red con acceso a Internet para que se active la opción Live Help (Ayuda en directo). La función Live Help (Ayuda en directo) es una herramienta de asistencia en línea que permite a un representante del servicio de asistencia técnica de Illumina visualizar la pantalla del MiSeqDx con su permiso y compartir el control del instrumento. Usted tendrá el control principal y podrá cerrar la sesión de uso compartido de la pantalla en cualquier momento.

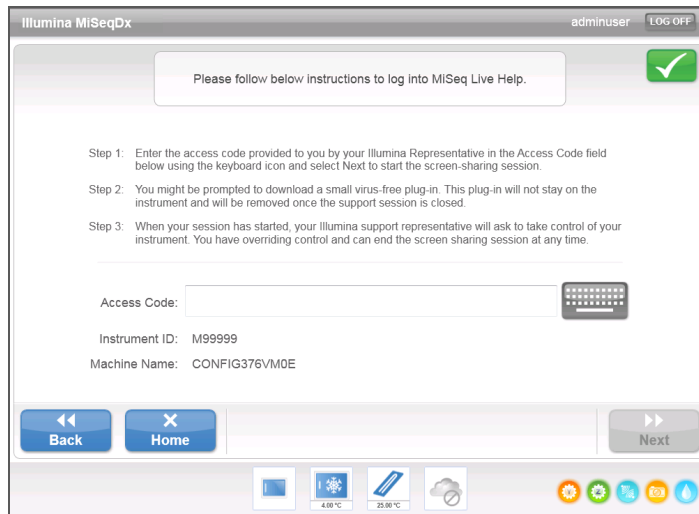
Puede acceder a Live Help (Ayuda en directo) desde el icono de ayuda de la pantalla Home (Inicio).

Figura 28 Menú Help (Ayuda)



Para activar una conexión, solicite un código único de acceso al servicio de asistencia técnica de Illumina, introduzca dicho código en la pantalla de Live Help (Ayuda en directo) y, a continuación, seleccione **Next** (Siguiete).

Figura 29 Pantalla Live Help (Ayuda en directo)



Análisis en tiempo real (RTA)

El software de análisis principal integrado, el análisis en tiempo real (RTA), realiza análisis de imágenes y llamadas de base, y asigna una puntuación de calidad a cada base de cada ciclo. Las imágenes se almacenan temporalmente en la carpeta del experimento para su procesamiento con el RTA y, a continuación, se eliminan automáticamente cuando este finaliza.

MiSeq Reporter

El MiSeq Reporter es el software de análisis secundario del MiSeqDx que procesa las llamadas de bases generadas durante el análisis principal y proporciona información sobre cada muestra en función de la información especificada en la hoja de muestras. Si desea obtener más información, consulte la *Guía de referencia del software MiSeq Reporter* (n.º de documento: 15038356).

Secuenciación durante el análisis

Los recursos informáticos del instrumento MiSeqDx se han concebido para secuenciar o analizar. Si se inicia un nuevo experimento de secuenciación en MiSeqDx antes de que finalice el análisis secundario de un experimento anterior, aparece un cuadro de diálogo de confirmación. Tras confirmar el experimento de secuenciación, se detiene el análisis secundario.

Para reiniciar el análisis, utilice la función **Requeue** (Reposicionar en la cola) en la interfaz de MiSeq Reporter después de finalizar el nuevo experimento de secuenciación. En ese punto, el análisis secundario comenzará desde el principio.

[Página en blanco intencionada]

Realización de un experimento

Introducción	40
Flujo de trabajo de MiSeqDx	41
Preparación del cartucho de reactivo	43
Inicio de sesión y seguimiento de las indicaciones de secuenciación	45
Limpieza de la celda de flujo	46
Carga de la celda de flujo	48
Carga de reactivos	50
Inicio del experimento	52
Supervisión del experimento	53



Introducción

Para realizar un experimento en el MiSeqDx, siga los pasos de configuración descritos en este capítulo. Una vez iniciado el experimento, el usuario no tendrá que intervenir más.

Cuando haya finalizado el experimento de secuenciación, no olvide lavar el instrumento.

Flujo de trabajo de MiSeqDx

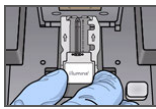
Asegúrese de que las bibliotecas de muestras ya se encuentran cargadas en el cartucho de reactivos antes de configurar el experimento. Se deben seguir estos pasos con todos los protocolos de ensayos.



Prepare el cartucho de reactivos y, a continuación, cargue la biblioteca agrupada en el depósito designado.



En la interfaz de software, seleccione **Sequence** (Secuenciar) para iniciar los pasos de configuración del experimento.



Lave y seque bien la celda de flujo.
Siga las indicaciones del software para cargar la celda de flujo.



Siga las indicaciones del software para cargar la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2). Asegúrese de que la botella de residuos esté vacía, cargue el cartucho de reactivo y seleccione una hoja de muestras.



Revise los parámetros del experimento y los resultados de comprobación anteriores al experimento.
Seleccione **Start Run** (Iniciar experimento).



Si lo desea, supervise el experimento en la pantalla Sequencing (Secuenciación).

Generación de grupos

Durante la generación de grupos, las moléculas únicas de ADN se unen a la superficie de la celda de flujo y, a continuación, se amplifican en puente para formar grupos.

Secuenciación

Después de la generación de grupos, estos se digitalizan utilizando combinaciones de LED y filtros específicos de cada uno de los cuatro didesoxinucleótidos marcados con tinta fluorescente. Después de finalizar la adquisición de imágenes de una de las placas de la celda de flujo, esta se mueve a su sitio para exponer la siguiente placa. El proceso se repite hasta que se digitalizan todas las placas. Después del análisis de imágenes, el software realiza un análisis principal, que incluye las llamadas de base, el filtrado y la puntuación de calidad.

Análisis

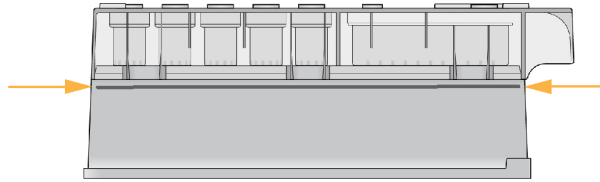
Una vez finalizado el experimento, se inicia automáticamente el software de análisis MiSeq Reporter para llevar a cabo el análisis secundario. Puede supervisar el análisis secundario con una conexión a Internet desde otro ordenador. Consulte la *Guía de referencia del software MiSeq Reporter* (n.º de documento: 15038356).

Preparación del cartucho de reactivo

Las instrucciones siguientes describen cómo descongelar el cartucho de reactivo con un baño de agua a temperatura ambiente. Este método lleva aproximadamente una hora.

- 1 Extraiga el cartucho de reactivo almacenado a una temperatura de entre $-25\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $-15\text{ }^{\circ}\text{C}$.
- 2 Coloque el cartucho de reactivo en un baño de agua con la cantidad suficiente de agua de laboratorio a temperatura ambiente como para sumergir la base del cartucho de reactivo hasta la línea de agua impresa en este. Tenga en cuenta que el agua no debe sobrepasar la línea de nivel máximo de agua.

Figura 30 Línea de agua máxima



- 3 Descongele el cartucho de reactivo en el baño de agua a temperatura ambiente durante aproximadamente una hora o hasta que esté completamente descongelado.
- 4 Saque el cartucho del baño de agua y dé unos suaves toques en la mesa para que el agua salga de la base del cartucho. Seque la base del cartucho. Asegúrese de que no haya salpicaduras de agua en la parte superior del cartucho de reactivo.

Inspección del cartucho de reactivo

- 1 Invierta el cartucho de reactivo diez veces para mezclar los reactivos descongelados y compruebe que todas las posiciones estén descongeladas.



NOTA

Es esencial que los reactivos del cartucho estén completamente descongelados y mezclados para garantizar una correcta secuenciación.

- 2 Inspeccione los reactivos de las posiciones 1, 2 y 4 para asegurarse de que se hayan mezclado completamente y no presenten precipitados.
- 3 Golpee suavemente el cartucho en la mesa para reducir las burbujas de aire en los reactivos.



NOTA

Los tubos del dispensador del MiSeqDx acceden al fondo de cada depósito para aspirar los reactivos, de modo que es importante que estos no presenten burbujas de aire.

- 4 Coloque el cartucho de reactivo en hielo o almacénelo a una temperatura de entre $2\text{ }^{\circ}\text{C}$ y $8\text{ }^{\circ}\text{C}$ (hasta seis horas) hasta que esté listo para configurar el experimento. Para obtener unos resultados óptimos, proceda directamente con la carga de la muestra y la configuración del experimento.

Carga de bibliotecas de muestras en cartuchos

Cuando el cartucho de reactivo esté completamente descongelado y listo para usar, estará dispuesto para cargar muestras en el cartucho.

- 1 Utilice una punta de pipeta de 1 ml independiente, limpia y vacía para perforar el cierre metálico situado por encima del depósito del cartucho de reactivo etiquetado como **Load Samples** (Carga de muestras).

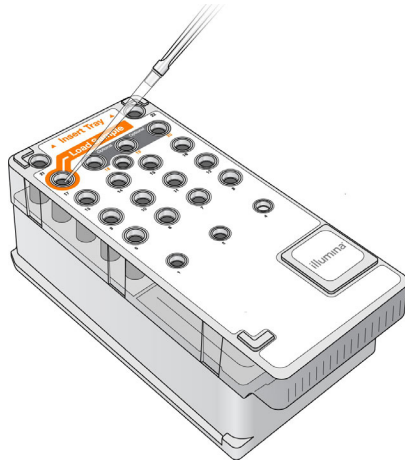


NOTA

No perforo ninguna otra posición de los reactivos. Las demás posiciones de los reactivos se perforan automáticamente durante el experimento.

- 2 Pipetee 600 μ l de las bibliotecas de muestras **DAL** al depósito **Load Samples** (Carga de muestras). Evite tocar el cierre metálico.
- 3 Compruebe la presencia de burbujas de aire en el depósito tras la carga de muestras. En caso de que haya burbujas de aire, golpee suavemente el cartucho sobre la mesa para eliminar las burbujas.

Figura 31 Carga de bibliotecas



- 4 Continúe directamente con los pasos de configuración del experimento mediante la interfaz del MiSeq Operating Software (MOS).

Inicio de sesión y seguimiento de las indicaciones de secuenciación

- 1 En la pantalla Home (Inicio), seleccione **Sequence** (Secuenciar).
- 2 Si se abre la pantalla de inicio de sesión, introduzca las credenciales de usuario adecuadas y, a continuación, seleccione **Next** (Siguiendo). Vuelva a seleccionar **Sequence** (Secuenciar) después de iniciar sesión.
- 3 Siga las indicaciones para cargar la celda de flujo y los reactivos, y configurar el experimento (se describe en las siguientes secciones).

Limpieza de la celda de flujo

La celda de flujo está sumergida en tampón de almacenamiento, dentro de un contenedor de celdas de flujo.

- 1 Utilice un nuevo par de guantes sin polvo.
- 2 Utilice unas pinzas de plástico para agarrar la celda de flujo por la base del cartucho de plástico y sáquela del contenedor de celdas de flujo.

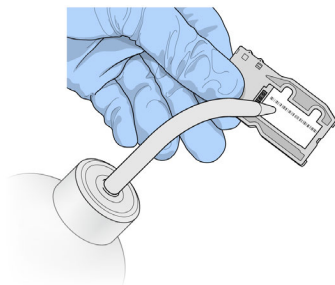
Figura 32 Retirada de la celda de flujo



- 3 Enjuague ligeramente la celda de flujo con agua de laboratorio y asegúrese de que tanto el cartucho de plástico como el cristal se enjuagan bien para eliminar el exceso de sales.

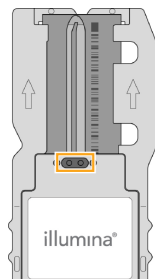
El exceso de sales puede afectar a la colocación de la celda de flujo en el instrumento. Si las sales se secan en el área de adquisición de imágenes, esta también se verá afectada.

Figura 33 Enjuague de la celda de flujo



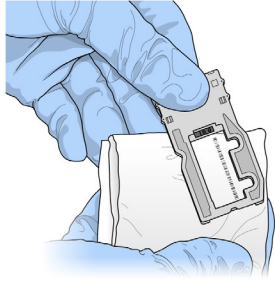
- 4 Seque bien la celda de flujo y el cartucho con una toallita para limpiar lentes sin pelusa, y tenga especial cuidado alrededor de la junta del puerto de la celda de flujo negra (marcada en naranja en la ilustración siguiente). Seque con suaves golpecitos la zona de las juntas y el cristal adyacente.

Figura 34 Puertos de celdas de flujo y juntas



- 5 Limpie el vidrio de la celda de flujo con un paño humedecido en alcohol. Asegúrese de que en el cristal no haya pelusas ni fibras de tejido, huellas u otras marcas. Evite usar el paño humedecido en alcohol en las juntas del puerto de la celda de flujo.

Figura 35 Secado de la celda de flujo

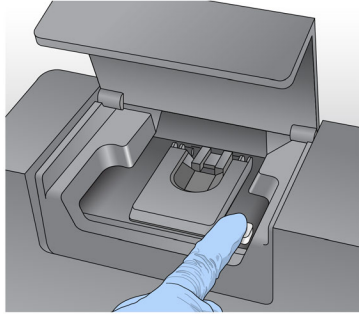


- 6 Seque el exceso de alcohol con una toallita para limpiar lentes sin pelusa.
- 7 Asegúrese de que los puertos de las celdas de flujo no están obstruidos y de que las juntas están bien asentadas alrededor de los puertos de las celdas de flujo. Si las juntas parecen estar desplazadas, vuelva a presionar con cuidado hasta que queden perfectamente colocadas en su posición alrededor de los puertos de las celdas de flujo.

Carga de la celda de flujo

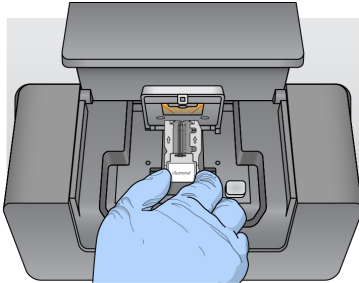
- 1 Levante la puerta del compartimento de la celda de flujo y, a continuación, pulse el botón de apertura situado a la derecha del cierre de la celda de flujo. Se abrirá el cierre de la celda de flujo.

Figura 36 Abra el cierre de la celda de flujo



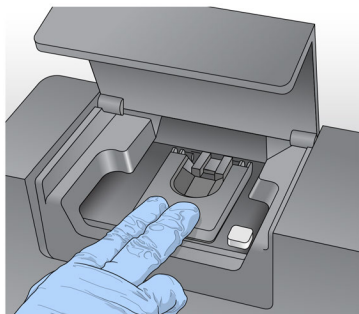
- 2 Asegúrese de que la platina de la celda de flujo no tiene pelusa. Si hubiera pelusa o cualquier otro desecho, limpie la platina de la celda de flujo con un paño humedecido en alcohol o una toallita sin pelusa humedecida en etanol o isopropanol. Limpie con cuidado la superficie de la platina de la celda de flujo hasta que esté totalmente limpia y seca.
- 3 Mientras sostiene la celda de flujo por los bordes del cartucho de la celda de flujo, colóquela en la platina.

Figura 37 Coloque la celda de flujo en la platina



- 4 Pulse suavemente el cierre de la celda de flujo para cerrarlo sobre la celda de flujo. Una vez activado el cierre de la celda de flujo, unos pasadores de alineación la posicionan. Sonará un chasquido que indica que el cierre de la celda de flujo está en posición segura.

Figura 38 Oclusión del cierre de la celda de flujo



- 5 Si el software no identifica la RFID de la celda de flujo, consulte *Resolución del error de lectura de RFID* en la página 70.

**NOTA**

Si no se puede leer la RFID, se puede introducir manualmente la información de identificación. Sin embargo, el software solamente permite que uno de los tres componentes con etiqueta de RFID (celda de flujo, cartucho de reactivo y solución SBS de MiSeqDx [PR2]) dé error en un experimento de diagnóstico *in vitro*. Para obtener información adicional, consulte *Resolución del error de lectura de RFID* en la página 70.

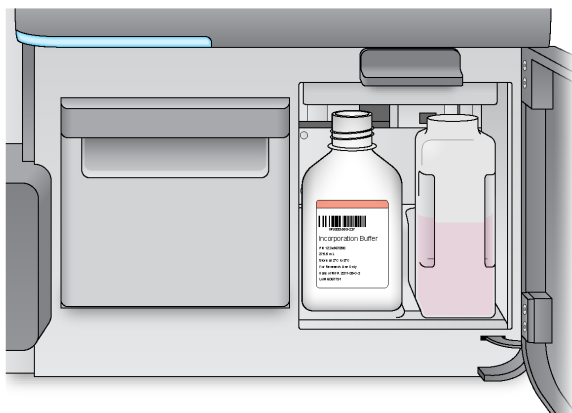
- 6 Cierre la puerta del compartimento de la celda de flujo.
- 7 Seleccione **Next** (Siguiente).

Carga de reactivos

Carga de la solución SBS de MiSeqDx (PR2) y comprobación de la botella de residuos

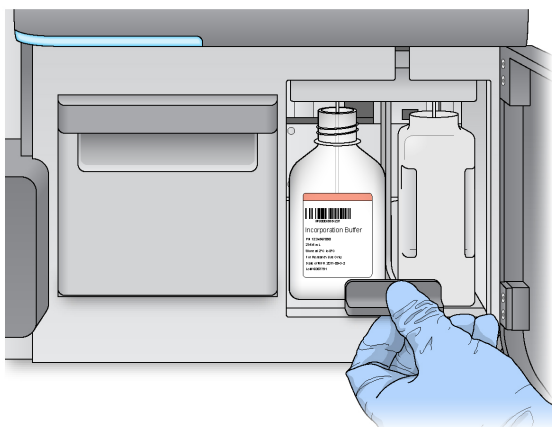
- 1 Retire la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2) del almacenamiento a entre 2 y 8 °C. Inviértala para mezclar el contenido y luego retire la tapa.
- 2 Abra la puerta del compartimento de reactivos.
- 3 Levante el mango del dispensador hasta que se quede fijo en su sitio.
- 4 Retire la botella de lavado y cargue la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2).

Figura 39 Carga de la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2)



- 5 Vacíe el contenido de la botella de residuos en el contenedor apropiado.
- 6 Baje lentamente el mango del dispensador. Asegúrese de que los dispensadores desciendan hasta introducirse en la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2) y en la de residuos.

Figura 40 Baje el mango del dispensador



- Si el software no identifica la RFID de la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2), consulte *Resolución del error de lectura de RFID* en la página 70.



NOTA

Si no se puede leer la RFID, se puede introducir manualmente la información de identificación. Sin embargo, el software solamente permite que uno de los tres componentes con etiqueta de RFID (celda de flujo, cartucho de reactivo y solución SBS de MiSeqDx [PR2]) dé error en un experimento de diagnóstico *in vitro*. Para obtener información adicional, consulte *Resolución del error de lectura de RFID* en la página 70.

- Seleccione **Next** (Siguiente).

Carga del cartucho de reactivo

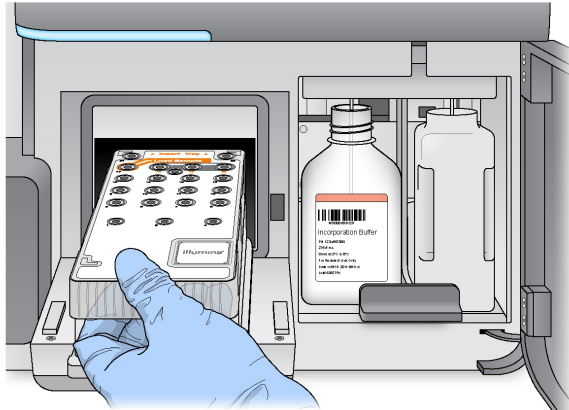


NOTA

No deje la puerta del refrigerador de reactivos abierta durante períodos prolongados.

- Abra la puerta del refrigerador de reactivos.
- Sujete el cartucho de reactivo por el extremo que tiene la etiqueta de Illumina e introdúzcalo en el refrigerador de reactivos hasta que el cartucho se detenga.

Figura 41 Carga del cartucho de reactivo



- Cierre la puerta del refrigerador de reactivos.
- Si el software no identifica la RFID del cartucho de reactivo, consulte *Resolución del error de lectura de RFID* en la página 70.



NOTA

Si no se puede leer la RFID, se puede introducir manualmente la información de identificación. Sin embargo, el software solamente permite que uno de los tres componentes con etiqueta de RFID (celda de flujo, cartucho de reactivo y solución SBS de MiSeqDx [PR2]) dé error en un experimento de diagnóstico *in vitro*. Para obtener información adicional, consulte *Resolución del error de lectura de RFID* en la página 70.

- Cierre la puerta del compartimento de reactivos.
- Seleccione **Next** (Siguiente).

Inicio del experimento

Tras cargar la celda de flujo y los reactivos, repase los parámetros del experimento y realice una prueba previa al experimento, antes de iniciarlo.

Revisión de parámetros del experimento

- 1 Revise Worklist Name (Nombre de la lista de trabajo), Analysis Workflow (Flujo de trabajo de análisis) y Read Length (Longitud de la lectura). Estos parámetros se especifican en la hoja de muestras.
- 2 Revise las ubicaciones de las carpetas en la esquina inferior izquierda. Si es necesario realizar algún cambio, seleccione **Change Folders** (Cambiar carpetas). Una vez realizados los cambios, seleccione **Save** (Guardar) y, a continuación, **Next** (Siguiente).
- 3 Seleccione **Next** (Siguiente). Se abrirá la pantalla Pre-Run Check (Comprobación previa al experimento).

Revisión de la comprobación previa al experimento

El sistema lleva a cabo una comprobación de todos los componentes del experimento, del espacio en el disco y de las conexiones de red antes de iniciar el experimento.

Si algún elemento no supera la comprobación previa al experimento, aparecerá un mensaje en pantalla con instrucciones para corregir el error. Para obtener más información, consulte *Resolución de errores de configuración del experimento* en la página 69.

Cuando todos los elementos hayan superado con éxito la comprobación previa al experimento, seleccione **Start Run** (Iniciar experimento).

Nota importante antes de iniciar el experimento



ADVERTENCIA

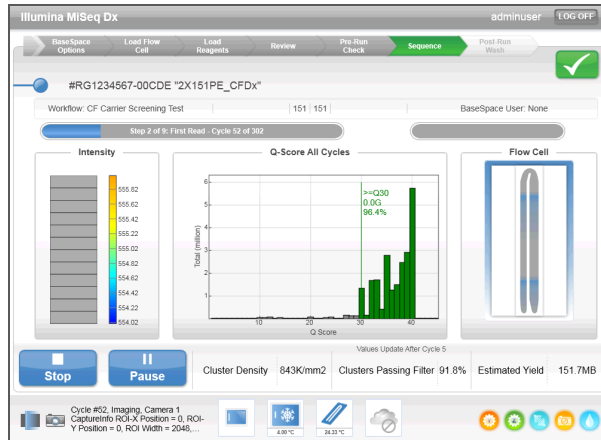
El sistema MiSeqDx es sensible a las vibraciones. Si toca el instrumento después de iniciar un experimento, el resultado de la secuenciación se puede ver perjudicado.

Después de seleccionar **Start Run** (Iniciar experimento), no abra la puerta del compartimento de la celda de flujo ni la del compartimento de reactivos, ni toque el monitor del instrumento, salvo si tiene intención de detener el experimento. Para obtener información adicional, consulte *Pausa de un experimento* en la página 33.

Supervisión del experimento

- 1 Durante el experimento, supervise el progreso, las intensidades y las puntuaciones de calidad que aparecen en la pantalla Sequencing (Secuenciación). La pantalla Sequencing (Secuenciación) solo puede visualizarse. Para obtener más información, consulte *Pantalla Sequencing (Secuenciación)* en la página 31.

Figura 42 Pantalla Sequencing (Secuenciación)



- 2 Cuando el experimento haya finalizado, aparecerá el botón Next (Siguiente). Revise los resultados en la pantalla Sequencing (Secuenciación) antes de continuar.



NOTA

La pantalla Sequencing (Secuenciación) permanecerá visible hasta que seleccione Next (Siguiente). Tras seleccionar Next (Siguiente), no es posible volver a la pantalla Sequencing (Secuenciación).

- 3 Seleccione **Next** (Siguiente) para salir de la pantalla Sequencing (Secuenciación) y proceder al lavado posterior al experimento. Consulte *Realización de un lavado posterior al experimento* en la página 57.

Datos de medición del experimento

Los datos de medición del experimento aparecen en la pantalla Sequencing (Secuenciación) en diferentes puntos de un experimento. Durante los pasos de generación de grupos, no se mostrarán las métricas.

Cuando empiece la secuenciación, las métricas siguientes aparecerán en los ciclos indicados:

Ciclo	Criterio de medición
Ciclo 1-4	Intensidad
Ciclo 4-25	Intensidad y densidad de grupos
Desde el ciclo 25 hasta que finalice el experimento	Intensidad, densidad de grupos, % PF, rendimiento y puntuaciones Q

[Página en blanco intencionada]

Procedimientos de mantenimiento

Introducción	56
Realización de un lavado posterior al experimento	57
Realización de un lavado de mantenimiento	59
Realización de un lavado en modo en espera	62
Apagado del instrumento	65



Introducción

Realice siempre un lavado del instrumento cuando finalice el experimento de secuenciación y asegúrese de seguir los requisitos de lavado del programa de mantenimiento.

Frecuencia del mantenimiento

Lleve a cabo las actividades de mantenimiento descritas en este capítulo en los intervalos que figuran en las siguientes tablas.

Tabla 1 Mantenimiento durante el funcionamiento normal

Actividad	Diaria	Mensual	Según resulte necesario
Lavado de mantenimiento		X	
Lavado en modo en espera			Para preparar para inactividad (intervalo de no utilización igual o superior a 7 días)
Apagado del instrumento			X

Tabla 2 Mantenimiento durante inactividad (≥ 7 días sin usar)

Actividad	Diaria	Mensual	Según resulte necesario
Lavado en modo en espera		X	
Apagado del instrumento			X

Mantenimiento preventivo

Illustra recomienda llevar a cabo un mantenimiento preventivo por año natural. Si no dispone de contrato de servicios, póngase en contacto con el comercial de su región o con el servicio de asistencia técnica de Illustra para acordar un servicio de mantenimiento preventivo facturable.

Realización de un lavado posterior al experimento

El lavado posterior al experimento es la forma de lavado estándar del instrumento que se lleva a cabo entre experimentos de secuenciación. Lleve a cabo siempre un lavado del instrumento después de terminar un experimento de secuenciación. Siga las indicaciones del software para cargar los componentes del lavado y realizar dicho lavado. El lavado posterior al experimento dura aproximadamente 20 minutos.

Inicie el lavado directamente tras el experimento. Debe lavar el instrumento antes de configurar el experimento siguiente. Para realizar un lavado posterior al experimento en otro momento que no sea justo después de un experimento, utilice el comando de la pantalla Perform Wash (Realizar lavado) para iniciar dicho lavado.

Unos lavados regulares del instrumento garantizan un rendimiento continuado de la siguiente manera:

- ▶ Se purga el reactivo restante de los dispensadores y los conductos de fluidica.
- ▶ Se evita la acumulación de sal y su cristalización en los dispensadores y los conductos de fluidica.
- ▶ Se evita la contaminación cruzada con el experimento anterior.



NOTA

Deje la celda de flujo usada en el instrumento. Debe haber una celda de flujo cargada en el instrumento para llevar a cabo un lavado del instrumento.

Consumibles proporcionados por el usuario

- ▶ Tween 20 (Sigma-Aldrich, n.º de catálogo P7949)
- ▶ Agua de laboratorio

Procedimiento

- 1 Prepare una solución de lavado nueva con Tween 20 y agua de laboratorio como se explica a continuación:
 - a Añada 5 ml de Tween 20 al 100 % a 45 ml de agua de laboratorio. Estos volúmenes proporcionan un resultado de Tween 20 al 10 %.
 - b Añada 25 ml de Tween 20 al 10 % a 475 ml de agua de laboratorio. Estos volúmenes proporcionan como resultado una solución de lavado de Tween 20 al 0,5 %.
 - c Invierta varias veces para mezclar.
- 2 Prepare los componentes de lavado con solución de lavado nueva de Tween 20 al 0,5 % de la siguiente forma:
 - a Añada 6 ml de solución de lavado a cada depósito de la bandeja de lavado.
 - b Añada 350 ml de solución de lavado a la botella de lavado de 500 ml.
- 3 En la pantalla de lavado posterior al experimento, seleccione **Start Wash** (Iniciar lavado). El software eleva automáticamente los dispensadores del refrigerador de reactivos. Espere varios segundos para asegurarse de que los dispensadores estén completamente elevados antes de continuar.
- 4 Abra la puerta del refrigerador de reactivos y del compartimento de reactivos, y extraiga el cartucho de reactivo utilizado del refrigerador.
- 5 Introduzca la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que llegue al tope y, a continuación, cierre la puerta del refrigerador de reactivos.

- 6 Levante el mango del dispensador que se encuentra delante de la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2) y de la botella de residuos hasta que se quede fijo en su sitio.
- 7 Retire la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2) y sustitúyala por la botella de lavado.



NOTA

Deseche la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2) después de cada experimento. En el caso de que sobre solución SBS de MiSeqDx (PR2), no la reutilice.

- 8 Quite la botella de residuos y deseche el contenido de manera adecuada. Devuelva la botella de residuos al compartimento de reactivos.



ADVERTENCIA

Este conjunto de reactivos contiene sustancias químicas potencialmente peligrosas. Evite su inhalación, ingestión y el contacto con la piel o los ojos, puesto que puede provocar lesiones. Utilice un equipo de protección, incluidos gafas, guantes y batas de laboratorio adecuados para el riesgo de exposición. Manipule los reactivos utilizados como residuos químicos y deséchelos de conformidad con las normativas y leyes regionales, nacionales y locales aplicables. Para obtener más información sobre seguridad, salud y medioambiente, consulte la hoja de datos de seguridad en support.illumina.com/sds.html.

- 9 Baje despacio el mango del dispensador y asegúrese de que los dispensadores descendan hasta introducirse en la botella de lavado y la de residuos.
- 10 Cierre la puerta del compartimento de reactivos.
- 11 Seleccione **Next** (Siguiente). Comenzará el lavado posterior al experimento. Cuando el lavado haya finalizado, deje en el instrumento la celda de flujo, la bandeja de lavado y la botella de lavado con la solución de lavado sobrante.



NOTA

Los dispensadores permanecen en posición bajada, que es lo normal. Deje la solución de lavado sin utilizar en la bandeja de lavado y en la botella de lavado para evitar que los dispensadores se sequen y que entre aire en el sistema.

Realización de un lavado de mantenimiento

Realice un lavado de mantenimiento cada 30 días para garantizar un rendimiento óptimo. El lavado de mantenimiento incluye una serie de tres pasos que purgan exhaustivamente el sistema con una solución de lavado de agua de laboratorio mezclada con Tween 20. Espere aproximadamente 90 minutos a que termine el lavado.

Consumibles proporcionados por el usuario

- ▶ Tween 20 (Sigma-Aldrich, n.º de catálogo P7949)
- ▶ Agua de laboratorio

Procedimiento

- 1 Asegúrese de cargar una celda de flujo usada en el instrumento.
- 2 En la pantalla Home (Inicio), seleccione **Perform Wash** (Realizar lavado).
- 3 En la pantalla Perform Wash (Realizar lavado), seleccione **Maintenance Wash** (Lavado de mantenimiento). El software eleva automáticamente los dispensadores del refrigerador de reactivos.




NOTA

Utilice siempre solución de lavado nueva para cada paso de lavado. La reutilización de la solución de lavado de un lavado anterior puede devolver residuos a los conductos de fluidica.

Realización del primer lavado

- 1 Prepare solución de lavado nueva con Tween 20 y agua de laboratorio, como se explica a continuación:
 - a Añada 5 ml de Tween 20 al 100 % a 45 ml de agua de laboratorio. Estos volúmenes proporcionan un resultado de Tween 20 al 10 %.
 - b Añada 25 ml de Tween 20 al 10 % a 475 ml de agua de laboratorio. Estos volúmenes proporcionan como resultado una solución de lavado de Tween 20 al 0,5 %.
 - c Invierta varias veces para mezclar.
- 2 Prepare los componentes de lavado con solución de lavado nueva de Tween 20 al 0,5 % de la siguiente forma:
 - a Añada 6 ml de solución de lavado a cada depósito de la bandeja de lavado.
 - b Añada 350 ml de solución de lavado a la botella de lavado de 500 ml.

- 3 Cargue la bandeja de lavado y la botella de lavado en el instrumento:
 - a Abra la puerta del compartimento de reactivos y la puerta del refrigerador de reactivos, y extraiga la bandeja de lavado o el cartucho de reactivo utilizados del refrigerador.
 - b Introduzca la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que llegue al tope. Cierre la puerta del refrigerador de reactivos.
 - c Levante el mango del dispensador situado frente a la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2) y la botella de residuos hasta que se quede fijo en su sitio y sustituya la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2) por la botella de lavado.
-  **NOTA**
Deseche la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2) después de cada experimento. En el caso de que sobre solución SBS de MiSeqDx (PR2), no la reutilice.
- d Quite la botella de residuos y deseche el contenido de manera adecuada. Devuelva la botella de residuos al compartimento de reactivos.
 - e Baje despacio el mango del dispensador y asegúrese de que los dispensadores desciendan hasta introducirse en la botella de lavado y la de residuos.
 - f Cierre la puerta del compartimento de reactivos.
- 4 Seleccione **Next** (Siguiente). Comenzará el primer lavado.

Realización del segundo lavado

- 1 Prepare una solución de lavado nueva con Tween 20 y agua de laboratorio como se explica a continuación:
 - a Añada 5 ml de Tween 20 al 100 % a 45 ml de agua de laboratorio. Estos volúmenes proporcionan un resultado de Tween 20 al 10 %.
 - b Añada 25 ml de Tween 20 al 10 % a 475 ml de agua de laboratorio. Estos volúmenes proporcionan como resultado una solución de lavado de Tween 20 al 0,5 %.
 - c Invierta varias veces para mezclar.
- 2 Cuando haya finalizado el primer lavado, retire la bandeja de lavado y la botella de lavado y deseche la solución de lavado restante.
- 3 Rellene los componentes de lavado con solución de lavado nueva de Tween 20 al 0,5 % de la siguiente forma:
 - a Añada 6 ml de solución de lavado a cada depósito de la bandeja de lavado.
 - b Añada 350 ml de solución de lavado a la botella de lavado de 500 ml.
- 4 Cargue la bandeja de lavado y la botella de lavado como se explica a continuación:
 - a Introduzca la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que llegue al tope. Cierre la puerta del refrigerador de reactivos.
 - b Cargue la botella de lavado y baje despacio el mango del dispensador; asegúrese de que los dispensadores desciendan hasta introducirse en la botella de lavado y la de residuos.
 - c Cierre la puerta del compartimento de reactivos.
- 5 Seleccione **Next** (Siguiente). Comenzará el segundo lavado.

Realización del lavado final

- 1 Prepare una solución de lavado nueva con Tween 20 y agua de laboratorio como se explica a continuación:
 - a Añada 5 ml de Tween 20 al 100 % a 45 ml de agua de laboratorio. Estos volúmenes proporcionan un resultado de Tween 20 al 10 %.
 - b Añada 25 ml de Tween 20 al 10 % a 475 ml de agua de laboratorio. Estos volúmenes proporcionan como resultado una solución de lavado de Tween 20 al 0,5 %.
 - c Invierta varias veces para mezclar.
- 2 Cuando haya finalizado el segundo lavado, retire la bandeja de lavado y la botella de lavado y deseche la solución de lavado restante.
- 3 Rellene los componentes de lavado con solución de lavado nueva de Tween 20 al 0,5 % de la siguiente forma:
 - a Añada 6 ml de solución de lavado a cada depósito de la bandeja de lavado.
 - b Añada 350 ml de solución de lavado a la botella de lavado de 500 ml.
- 4 Cargue la bandeja de lavado y la botella de lavado como se explica a continuación:
 - a Introduzca la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que llegue al tope. Cierre la puerta del refrigerador de reactivos.
 - b Cargue la botella de lavado y baje despacio el mango del dispensador; asegúrese de que los dispensadores desciendan hasta introducirse en la botella de lavado y la de residuos.
 - c Cierre la puerta del compartimento de reactivos.
- 5 Seleccione **Next** (Siguiente). Comenzará el lavado final.

Después del lavado

Cuando el lavado haya finalizado, deje en el instrumento la celda de flujo, la bandeja de lavado y la botella de lavado con la solución de lavado sobrante.



NOTA

Los dispensadores permanecen en posición bajada, que es lo normal. Deje la solución de lavado sin utilizar en la bandeja de lavado y en la botella de lavado para evitar que los dispensadores se sequen y que entre aire en el sistema.

Realización de un lavado en modo en espera

Si no tiene previsto utilizar el instrumento en los próximos 7 días, prepárelo para que permanezca inactivo realizando un lavado en modo en espera. El lavado en modo en espera prepara los conductos de fluídica para que permanezcan inactivos y realiza dos lavados consecutivos que purgan todas las posiciones de cualquier resto de reactivo o acumulación de sal. Cada lavado lleva unos 60 minutos. Espere unas 2 horas para que el lavado en modo en espera finalice.

Cuando el lavado en modo en espera haya finalizado, el instrumento estará en modo en espera y aparecerá un mensaje en la pantalla Home (Inicio) indicando el estado del instrumento. Cuando el instrumento está en el modo de espera, es preciso realizar un lavado de mantenimiento antes de iniciar un experimento de secuenciación.



NOTA

Ilumina recomienda repetir el lavado en modo en espera *cada 30 días* de inactividad del instrumento.

Consumibles proporcionados por el usuario

- ▶ Tween 20 (Sigma-Aldrich, n.º de catálogo P7949)
- ▶ Agua de laboratorio

Procedimiento

- 1 Asegúrese de cargar una celda de flujo usada en el instrumento.
- 2 En la pantalla Home (Inicio), seleccione **Perform Wash** (Realizar lavado).
- 3 En la pantalla Wash Options (Opciones de lavado), seleccione **Standby Wash** (Lavado en modo en espera). El software eleva automáticamente los dispensadores del refrigerador de reactivos.




NOTA

Utilice siempre solución de lavado nueva para cada paso de lavado. La reutilización de la solución de lavado de un lavado anterior puede devolver residuos a los conductos de fluídica.

Realización del primer lavado

- 1 Prepare solución de lavado nueva con Tween 20 y agua de laboratorio, como se explica a continuación:
 - a Añada 5 ml de Tween 20 al 100 % a 45 ml de agua de laboratorio. Estos volúmenes proporcionan un resultado de Tween 20 al 10 %.
 - b Añada 25 ml de Tween 20 al 10 % a 475 ml de agua de laboratorio. Estos volúmenes proporcionan como resultado una solución de lavado de Tween 20 al 0,5 %.
 - c Invierta varias veces para mezclar.
- 2 Prepare los componentes de lavado con solución de lavado nueva de Tween 20 al 0,5 % de la siguiente forma:
 - a Añada 6 ml de solución de lavado a cada depósito de la bandeja de lavado.
 - b Añada 350 ml de solución de lavado a la botella de lavado de 500 ml.

- 3 Cargue la bandeja de lavado y la botella de lavado en el instrumento:
 - a Abra la puerta del compartimento de reactivos y la puerta del refrigerador de reactivos, y extraiga la bandeja de lavado o el cartucho de reactivo utilizados del refrigerador.
 - b Introduzca la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que llegue al tope. Cierre la puerta del refrigerador de reactivos.
 - c Levante el mango del dispensador situado frente a la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2) y la botella de residuos hasta que se quede fijo en su sitio y sustituya la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2) por la botella de lavado.
-  **NOTA**
Deseche la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2) después de cada experimento. En el caso de que sobre solución SBS de MiSeqDx (PR2), no la reutilice.
- d Quite la botella de residuos y deseche el contenido de manera adecuada. Devuelva la botella de residuos al compartimento de reactivos.
 - e Baje despacio el mango del dispensador y asegúrese de que los dispensadores desciendan hasta introducirse en la botella de lavado y la de residuos.
 - f Cierre la puerta del compartimento de reactivos.
- 4 Seleccione **Next** (Siguiente). Comenzará el primer lavado.

Realización del segundo lavado

- 1 Prepare una solución de lavado nueva con Tween 20 y agua de laboratorio como se explica a continuación:
 - a Añada 5 ml de Tween 20 al 100 % a 45 ml de agua de laboratorio. Estos volúmenes proporcionan un resultado de Tween 20 al 10 %.
 - b Añada 25 ml de Tween 20 al 10 % a 475 ml de agua de laboratorio. Estos volúmenes proporcionan como resultado una solución de lavado de Tween 20 al 0,5 %.
 - c Invierta varias veces para mezclar.
- 2 Cuando haya finalizado el primer lavado, retire la bandeja de lavado y la botella de lavado y deseche la solución de lavado restante.
- 3 Rellene los componentes de lavado con solución de lavado nueva de Tween 20 al 0,5 % de la siguiente forma:
 - a Añada 6 ml de solución de lavado a cada depósito de la bandeja de lavado.
 - b Añada 350 ml de solución de lavado a la botella de lavado de 500 ml.
- 4 Cargue la bandeja de lavado y la botella de lavado como se explica a continuación:
 - a Introduzca la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que llegue al tope. Cierre la puerta del refrigerador de reactivos.
 - b Cargue la botella de lavado y baje despacio el mango del dispensador; asegúrese de que los dispensadores desciendan hasta introducirse en la botella de lavado y la de residuos.
 - c Cierre la puerta del compartimento de reactivos.
- 5 Seleccione **Next** (Siguiente). Comenzará el segundo lavado.

Después del lavado

Cuando el lavado haya finalizado, deje en el instrumento la celda de flujo, la bandeja de lavado y la botella de lavado con la solución de lavado sobrante.



NOTA

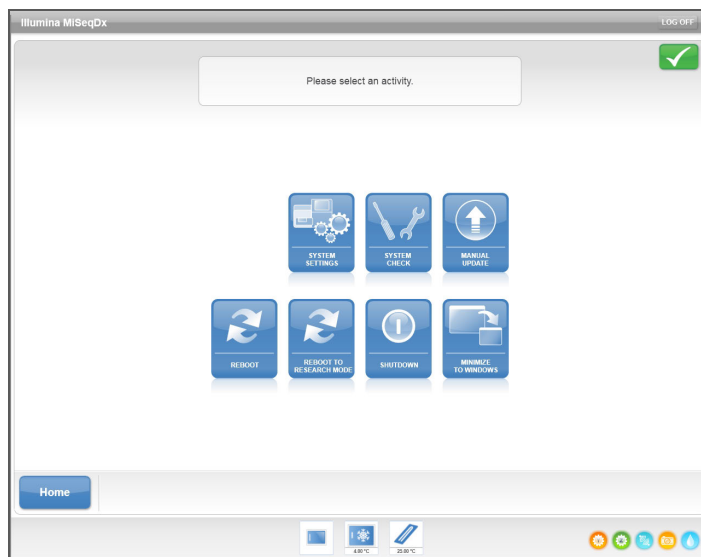
Los dispensadores permanecen en posición bajada, que es lo normal. Deje la solución de lavado sin utilizar en la bandeja de lavado y en la botella de lavado para evitar que los dispensadores se sequen y que entre aire en el sistema.

Apagado del instrumento

Se recomienda dejar siempre encendido el instrumento. Sin embargo, si es preciso apagar el instrumento, utilice el procedimiento siguiente para apagar Windows y preparar los conductos de fluídica.

- 1 Realice un lavado de mantenimiento. Para obtener más información, consulte *Procedimiento* en la página 59.
- 2 Quite la botella de residuos y deseche el contenido de manera adecuada. Devuelva la botella de residuos al compartimento de reactivos.
- 3 Cierre la puerta del compartimento de reactivos.
- 4 En la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento), seleccione **Shut Down** (Apagar). Este comando apaga el software.

Figura 43 Pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento)



- 5 Mueva el interruptor de alimentación a la posición OFF (Apagado).



NOTA

Cada vez que se apague el instrumento, espere como *mínimo* 60 segundos antes de volver a poner el interruptor de alimentación en la posición ON (Encendido).

[Página en blanco intencionada]

Solución de problemas

Introducción	68
Resolución de errores de configuración del experimento	69
Resolución del error de lectura de RFID	70
Prevención de reinicios durante un experimento	72
Solución de problemas de velocidad de flujo	73
Realización de una prueba de volumen	74
Resolución de errores de análisis de MiSeq Reporter	77



Introducción

Esta sección describe los pasos habituales de solución de problemas que puede seguir antes de ponerse en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina. En la mayoría de los errores, aparecerá un mensaje en pantalla con las instrucciones para corregir el error.

Para cuestiones técnicas, visite las páginas de asistencia de MiSeqDx en el sitio web de Illumina para acceder a las preguntas frecuentes. También puede iniciar sesión en su cuenta de MyIllumina con el fin de acceder a los boletines de asistencia.

Si tiene problemas con la calidad o el rendimiento de los experimentos, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina. Para obtener más información, consulte *Asistencia técnica* en la página 81.

Es posible que el representante del servicio de asistencia técnica de Illumina le solicite que proporcione copias de archivos específicos del experimento para solucionar problemas. Los archivos siguientes se encuentran en la raíz de la carpeta de resultados del experimento:

- ▶ SampleSheet.csv
- ▶ RunParameters.xml
- ▶ RunInfo.xml
- ▶ Carpeta Interop

Resolución de errores de configuración del experimento

Si alguna de las comprobaciones previas al experimento da error, aparecerá un icono rojo **X** junto al elemento. Aparecerá un mensaje en pantalla que describirá el error y la acción necesaria para corregirlo.

Error	Acción
X Flow Rate Measured (Velocidad de flujo medida)	<p>Se abre la pantalla de comprobación de la velocidad de flujo. Utilice la lista desplegable o el teclado en pantalla para introducir lo siguiente:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Solution (Solución): PR2 • Volume (Volumen): 250 • Aspirate Rate (Velocidad de aspiración): 2500 • Dispense Rate (Velocidad de dispensación): 2500 <p>Seleccione Pump (Dispensar). Si el error persiste, defina el volumen para que dispense 500 µl de solución SBS de MiSeqDx (PR2) y repita el proceso. Una vez bombeados los fluidos, seleccione Restart Check (Reiniciar comprobación).</p> <p>Cuando la comprobación previa al experimento se realice correctamente, el botón Start Run (Iniciar experimento) se activará.</p> <p>Si la comprobación del flujo vuelve a fallar, recolóque la celda de flujo para asegurarse de que el flujo no se interrumpa debido a una alineación incorrecta. Compruebe que no haya pelusas ni irregularidades en las juntas de la celda de flujo.</p>
X Free Disk Space (Liberar espacio en disco)	<p>Si queda poco espacio en el disco, aparecerá un mensaje que indicará la cantidad de espacio en el disco necesaria. Utilice la función Manage Files (Administrar archivos) para liberar el espacio necesario en el ordenador del instrumento.</p>
X Network Connection Active (Conexión de red activa)	<p>Asegúrese de que el cable de red está conectado al instrumento.</p> <p>Si la conexión de red no se restablece, seleccione Reboot (Reiniciar) en la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento) para reiniciar el software.</p> <p>Si la conexión de red sigue sin restablecerse, seleccione Shut Down (Apagar) en la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento) y, a continuación, apague el instrumento con el interruptor de alimentación. Espere al menos 60 segundos y, a continuación, encienda el instrumento e inicie el software.</p>
X Primary Analysis Ready (Análisis principal preparado)	<p>El análisis principal del experimento anterior no ha finalizado. El tiempo predeterminado para la finalización del análisis principal es 1 hora y aparece una cuenta atrás en la pantalla. Las opciones son esperar 1 hora o seleccionar la opción Terminate Analysis (Finalizar análisis). Los ciclos incompletos conllevan la detención de los análisis secundarios.</p>
X Sample Sheet Present (Hoja de muestras presente)	<p>Si no se le asigna a la hoja de muestras el ID del cartucho de reactivo como nombre para el experimento, el instrumento no podrá localizar automáticamente la hoja de muestras correspondiente. Navegue hasta la hoja de muestras del experimento.</p> <p>Si se le asigna a la hoja de muestras como nombre el ID del cartucho de reactivo del experimento, asegúrese de que la hoja de muestras se encuentre en la carpeta predeterminada de la hoja de muestras. Compruebe la ubicación de la carpeta predeterminada en Run Options (Opciones de experimento) de la pantalla Home (Inicio).</p> <p>Asegúrese de que la extensión del archivo de la hoja de muestras sea *.csv.</p> <p>Si falta la hoja de muestras, cree una y cópiela en las ubicaciones de las hojas de muestras especificadas en Run Options (Opciones de experimento).</p> <p>Después de localizar la hoja de muestras, seleccione Restart Check (Reiniciar comprobación).</p>

Resolución del error de lectura de RFID

En los siguientes casos se producen errores de RFID:

- ▶ El componente cargado no forma parte de ningún kit de diagnóstico *in vitro*.
- ▶ El componente cargado no forma parte del kit identificado por la hoja de muestras.
- ▶ Hay un fallo técnico con la lectura de la etiqueta de RFID del componente.

Los pasos indicados a continuación pueden servir para solucionar errores de la RFID que deriven de un fallo técnico.



NOTA

En un experimento de diagnóstico se permite un fallo de lectura de RFID. Si no se puede leer la RFID de dos consumibles, el software no puede continuar con el paso siguiente de la configuración del experimento. Si ocurre esto, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

Celda de flujo

- 1 Siempre debe volver a intentar la lectura de RFID antes de continuar. Para ello, abra y cierre la puerta del compartimento de la celda de flujo.
- 2 Si la RFID vuelve a fallar, seleccione **Get Code** (Obtener código). Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina para obtener un código de omisión de RFID temporal. Los códigos de omisión temporal caducan en 7 días.
- 3 Introduzca el código de omisión temporal con el teclado en pantalla.
- 4 Seleccione **Next** (Siguiente).
- 5 Introduzca la siguiente información:
 - ▶ Número del código de barras de la celda de flujo, que se encuentra en la etiqueta del contenedor de celdas de flujo justo debajo del código de barras
 - ▶ Número de referencia de la celda de flujo
- 6 Seleccione **Next** (Siguiente) para ir a la pantalla Load Flow Cell (Cargar celda de flujo).
- 7 Seleccione **Next** (Siguiente) para continuar con el paso siguiente de la configuración del experimento.

Botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2)

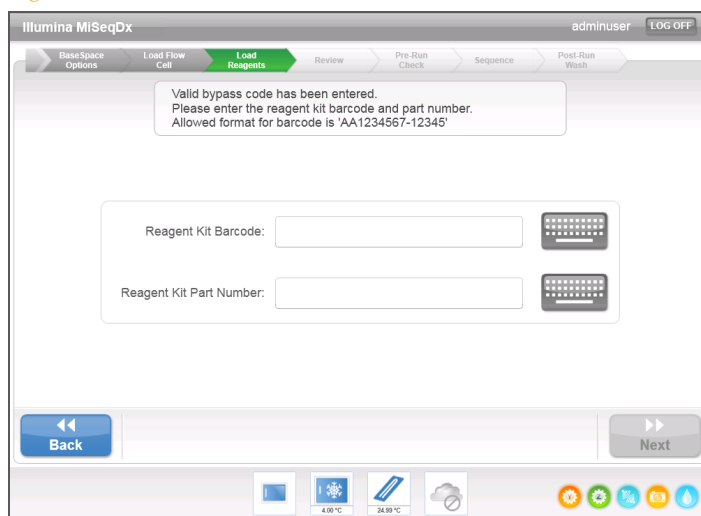
- 1 Siempre debe volver a intentar la lectura de RFID antes de continuar. Para ello, suba y baje el mango del dispensador de reactivo.
- 2 Si la RFID vuelve a fallar, seleccione **Get Code** (Obtener código). Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina para obtener un código de omisión de RFID temporal. Los códigos de omisión temporal caducan en 7 días.
- 3 Introduzca el código de omisión temporal con el teclado en pantalla.
- 4 Seleccione **Next** (Siguiente).
- 5 Introduzca la siguiente información:
 - ▶ Número de código de barras de la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2), que se encuentra en la etiqueta de dicha botella, justo debajo del código de barras
 - ▶ Número de referencia de la botella de solución SBS de MiSeqDx (PR2)

- 6 Seleccione **Next** (Siguiete) para ir a la pantalla Load Reagents (Cargar reactivos).
- 7 Seleccione **Next** (Siguiete) para continuar con el paso siguiente de la configuración del experimento.

Cartucho de reactivo

- 1 Siempre debe volver a intentar la lectura de RFID antes de continuar. Para ello, abra y cierre la puerta del refrigerador de reactivos.
- 2 Si la RFID vuelve a fallar, seleccione **Get Code** (Obtener código).
Póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina para obtener un código de omisión de RFID temporal. Los códigos de omisión temporal caducan en 7 días.
- 3 Introduzca el código de omisión temporal con el teclado en pantalla.
- 4 Seleccione **Next** (Siguiete).
- 5 Introduzca la siguiente información:
 - ▶ Número del código de barras del kit de reactivos, que se encuentra en la etiqueta del kit justo debajo del código de barras
 - ▶ Número de referencia del kit de reactivos

Figura 44 Introducción de la información sobre reactivos



- 6 Seleccione **Next** (Siguiete) para volver a la pantalla Load Reagents (Cargar reactivos).
- 7 Seleccione **Next** (Siguiete) para continuar con el paso siguiente de la configuración del experimento.

Prevención de reinicios durante un experimento

Si el MiSeqDx se reinicia a mitad de un experimento, puede deberse a que el software de Windows Update de la red se ha configurado para instalar automáticamente actualizaciones de software. (Este ajuste debe haberse desactivado durante la instalación). Póngase en contacto con el departamento informático local si desea obtener ayuda para inhabilitar las actualizaciones automáticas del sistema operativo Windows que se ejecuta en segundo plano en el MiSeqDx.

Solución de problemas de velocidad de flujo

La velocidad de flujo es la velocidad a la que los fluidos pasan por el sistema de fluídica ($\mu\text{l}/\text{min}$). Se mide antes de cada experimento, durante la comprobación previa. Si el sistema no puede medir la velocidad de flujo, bombee un volumen de reactivo (solución SBS de MiSeqDx [PR2]) a través del sistema antes de volver a comprobar la velocidad de flujo.

- Utilice la lista desplegable o el teclado en pantalla para introducir la información siguiente:
 - Solution (Solución): **PR2**
 - Volume (Volumen): **250 μl**
 - Aspirate Rate (Velocidad de aspiración): **2500 $\mu\text{l}/\text{min}$**
 - Dispense Rate (Velocidad de dispensación): **2500 $\mu\text{l}/\text{min}$**
- Seleccione **Pump** (Dispensar).

Figura 45 Medición de la velocidad de flujo



- Quando haya finalizado el paso de bombeo, seleccione **Restart Check** (Reiniciar comprobación).
- Si el error persiste, defina el volumen para que dispense 500 μl de solución SBS de MiSeqDx (PR2) y repita el proceso una vez más. Si el segundo intento no resuelve el error, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

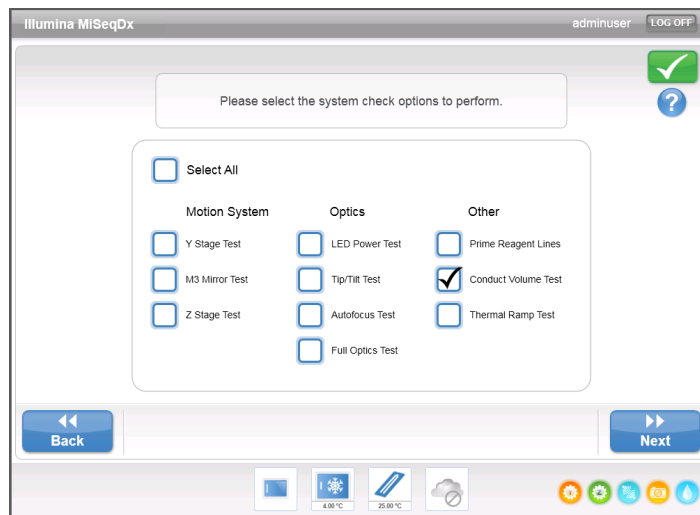
Realización de una prueba de volumen

Una obstrucción de los conductos de fluidica podría ser la causa de una administración de reactivos incorrecta y afectar a los resultados de secuenciación. Si sospecha que existe una obstrucción en los conductos de fluidica, realice una prueba de volumen.

Las pruebas de volumen comprueban el estado del sistema de fluidica mediante la estimación del volumen entre dos burbujas cuando pasan por los sensores. Para realizar una prueba de volumen, debe cargar la bandeja de lavado y la botella de lavado con agua de laboratorio y debe disponer de una celda de flujo usada, colocada en su sitio. Siga las indicaciones que aparezcan en pantalla para realizar la prueba.

- 1 Asegúrese de cargar una celda de flujo usada en el instrumento.
- 2 En la pantalla Manage Instrument (Administrar instrumento), seleccione **System Check** (Comprobación del sistema).
- 3 Seleccione **Conduct Volume Test** (Realizar prueba de volumen) y, a continuación, seleccione **Next** (Siguiente).

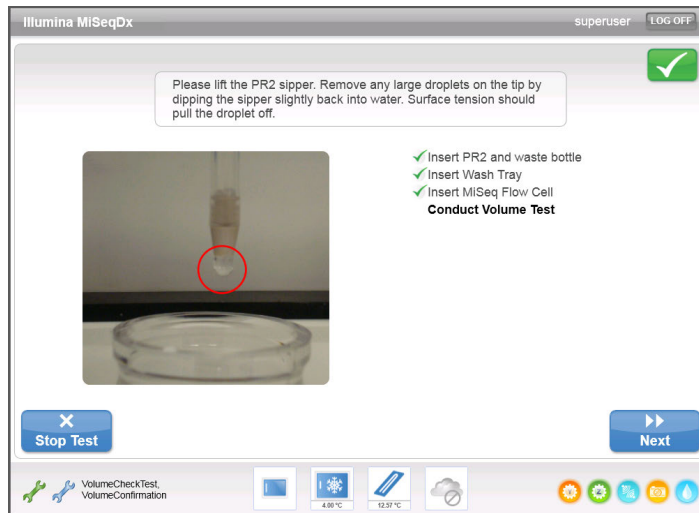
Figura 46 Pantalla System Check (Comprobación del sistema)



- 4 Llene cada depósito de la bandeja de lavado con 6 ml de agua de laboratorio.
- 5 Llene la botella de lavado de 500 ml con 350 ml de agua de laboratorio.
- 6 Cargue la bandeja de lavado y la botella de lavado en el instrumento.
 - a Abra la puerta del compartimento de reactivos y la puerta del refrigerador de reactivos, y deslice la bandeja de lavado en el refrigerador de reactivos hasta que se detenga. Cierre la puerta del refrigerador de reactivos.
 - b Levante el mango del dispensador hasta que se quede fijo en su sitio y cargue la botella de lavado.
 - c Quite la botella de residuos y deseche el contenido de manera adecuada. Devuelva la botella de residuos al compartimento de reactivos.
 - d Baje despacio el mango del dispensador y asegúrese de que los dispensadores descendan hasta introducirse en la botella de lavado y la de residuos.

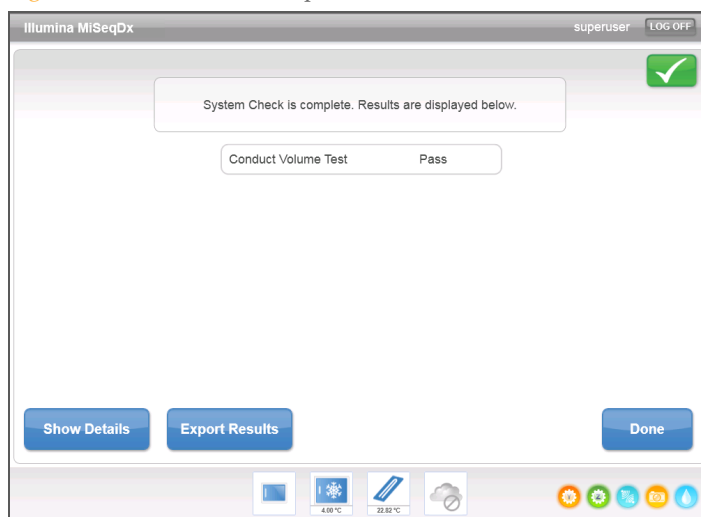
- 7 De acuerdo con las indicaciones en pantalla, elimine las gotas del dispensador de la botella de lavado, como sigue:
 - a Cuando se le indique, levante lentamente el mango del dispensador y compruebe que no haya una gota grande de agua en el dispensador de la botella de lavado.
 - b Cuando se le indique, baje lentamente el mango del dispensador hacia el agua lo suficiente como para permitir que la tensión superficial elimine la gota.
 - c Cuando se le indique, levante lentamente el mango del dispensador y compruebe que no haya una gota grande de agua en el dispensador de la botella de lavado.
 - d Cuando se le indique, baje lentamente el mango del dispensador hasta el punto máximo, asegurándose de que los dispensadores desciendan hasta introducirse en la botella de lavado y la de residuos.

Figura 47 Eliminación de la gota del dispensador



- 8 Seleccione **Next** (Siguiente). Se iniciará la prueba de volumen.
Cuando la prueba de volumen haya finalizado, los resultados aparecerán en la pantalla.

Figura 48 Resultados de la prueba de volumen



Si no se supera la prueba, realice un lavado de mantenimiento. Consulte *Procedimiento* en la página 59.

- 9 Cuando haya finalizado el lavado de mantenimiento, repita la prueba de volumen.

Resolución de errores de análisis de MiSeq Reporter

Para obtener información sobre la solución de problemas relacionados con los errores de análisis, consulte la *Guía de referencia del software MiSeq Reporter* (n.º de documento: 15038356). Incluye instrucciones sobre cómo volver a poner en cola el análisis si se ha utilizado la hoja de muestras incorrecta.

[Página en blanco intencionada]

A

alerta de estado, icono 18
 alertas de correo electrónico 21
 análisis
 durante secuenciación 37
 apagado del instrumento 24, 56, 65
 archivo de manifiesto
 copiar en instrumento 19
 archivos específicos del experimento
 para 68
 asistencia al cliente 81
 asistencia técnica 81
 autenticación de usuarios 11
 autenticación del usuario 11
 ayuda, Live Help 34
 ayuda, técnica 81

B

BaseSpace
 conexión 17
 credenciales 25
 botella de residuos 5

C

carga de reactivos 28
 cartucho 51
 Solución SBS 50
 cargar celda de flujo 27
 carpetas del experimento
 asignar nombres 32
 gestionar 19
 temp, resultados, análisis 32
 celda de flujo
 cargar 27, 48
 descripción general 4
 limpiar 46
 ciclos de secuenciación 53
 ciclos en una lectura 33
 cierre de la celda de flujo 4
 compartimento de la celda de flujo 3-4
 compartimento de reactivos 3, 5
 componentes
 celda de flujo 4
 compartimento de la celda de
 flujo 3-4
 compartimento de reactivos 3, 5
 módulo óptico 3
 conexión de red 69
 configuración de red 25
 configuración del instrumento 24
 configuración del sistema 25
 consumibles
 Ilumina, suministrado por 7
 proporcionados por el usuario 7
 consumibles proporcionados por el
 usuario 7
 contraseña 6

contraseña, cambiar 25
 contraseñas 11
 copiar archivos y carpetas 19

D

densidad de grupos 31
 detención de un experimento 34
 dirección IP 25
 documentación 81
 dominio, nombre 25
 duración del experimento 33

E

eliminar archivos y carpetas 19
 encender el instrumento 6
 espacio en disco
 comprobar 33
 poco espacio en disco 69

F

filtro de castidad 31
 fluídica
 lavar 59, 62
 solucionar problemas 73-74
 flujo de trabajo
 duración del experimento 33
 fórmulas, gestionar 19

G

generación de grupos 53
 generación de plantillas 32

H

hoja de muestras 69
 copiar en el instrumento 19
 software 15

I

iconos
 alerta de estado 18
 errores y advertencias 18
 indicadores de actividad 17
 sensores 17
 inactivar el instrumento 62
 indicadores de actividad 17
 indicadores del sensor 17
 intensidades 31, 53
 interruptor de alimentación 6

L

lavado de mantenimiento 18, 56, 59
 lavado en espera 18
 lavado en modo en espera 62
 lavado posterior al experimento 56-57

- lavados
 - configuración de lavado de las opciones de experimento 21
 - en espera 18
 - mantenimiento 18, 56, 59
 - modo en espera 56, 62
 - posterior al experimento 57
 - preparar para apagar 65
 - preparar para inactividad 62
 - ventajas de 56-57
- Live Help 34
- llamadas de bases 31
- longitud de lectura 33
- M**
- mango del dispensador 5
- MiSeq Reporter
 - credenciales 25
- modo de investigación 24
- módulo óptico 3
- mover archivos y carpetas 19
- N**
- nombre de cuenta del sistema 25
- nombre de dominio 25
- nombre de usuario 6
- P**
- Pantalla Home (Inicio) 16
- pantallas de configuración del experimento 27
- pausa de un experimento 33
- prueba de volumen 74
- puntuaciones Q 31, 53
- R**
- reactivos
 - cargar 28
 - en kit 7
- referencias del genoma 19
- refrigerador de reactivos, temperatura 17
- reiniciar software 24
- RFID
 - cartucho de reactivo 51
 - celda de flujo 48
 - Solución SBS 50
 - solucionar problemas 70
- run options (opciones de experimento) 21
- S**
- secuenciación, pantalla 31, 53
- sensor de puerta de la celda de flujo 17
- Sequencing Analysis Viewer 53
- servicio de supervisión proactiva de Illumina 21
- software
 - antivirus 8
 - comprobar espacio en disco 33
 - configuración del instrumento 24
 - duración del experimento 33
 - Illumina User Management Software 11
 - Illumina Worklist Manager Software 15
 - inicialización 6
 - User Management 11
 - Worklist Manager 15
- software antivirus 8
- software de análisis en tiempo real
 - carpeta del experimento 32
- Software de análisis en tiempo real
 - generación de plantillas 32
- Solución SBS, cargar 50
- solucionar problemas 68
 - errores de configuración de experimento 69
 - flúidica 74
 - RFID 70
 - velocidad de flujo 73
- superan el filtro (PF) 53
- supervisión del experimento 31, 53
- U**
- ubicaciones de carpetas
 - configuración predeterminada 21
- ubicaciones de las carpetas para el experimento actual 29
- User Management Software 11
- V**
- velocidad de flujo, solucionar problemas 73
- W**
- Windows, minimizar 24
- Worklist Manager Software 15

Asistencia técnica

Si necesita asistencia técnica, póngase en contacto con el servicio de asistencia técnica de Illumina.

Tabla 3 Información de contacto general de Illumina

Sitio web	www.illumina.com
Correo electrónico	techsupport@illumina.com

Tabla 4 Números del servicio de asistencia al cliente de Illumina

Zona	Número de contacto	Zona	Número de contacto
Norteamérica	18008094566	Irlanda	1800812949
Alemania	0800.180.8994	Italia	800874909
Australia	1.800.775.688	Noruega	80016836
Austria	0800296575	Nueva Zelanda	0800451650
Bélgica	080081102	Países Bajos	0800.0223859
Dinamarca	80882346	Reino Unido	0800.917.0041
España	900812168	Suecia	020790181
Finlandia	0800918363	Suiza	0800563118
Francia	0800.911850	Otros países	+44.1799.534000

Hojas de datos de seguridad

Las hojas de datos de seguridad (SDS) están disponibles en el sitio web de Illumina en support.illumina.com/sds.ilmn.

Documentación del producto

En el sitio web de Illumina es posible descargar documentos en PDF sobre el producto. Vaya a support.illumina.com, seleccione un producto y, a continuación, **Documentation & Literature** (Documentación y bibliografía).



Illumina
 5200 Illumina Way
 San Diego, California 92122 (EE. UU.)
 +1 800 809 ILMN (4566)
 +1 858 202 4566 (fuera de Norteamérica)
 techsupport@illumina.com
 www.illumina.com

Patrocinador australiano
 Illumina Australia
 1 International Court
 Scoresby, Victoria, 3179
 Australia



Illumina Cambridge Limited
 Chesterford Research Park, Little Chesterford
 Saffron Walden, CB10 1XL
 REINO UNIDO

