



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

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

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

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

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

© 2018 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati.

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

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

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

- 1 La redistribuzione del codice sorgente deve contenere le informazioni sul copyright riportate sopra, il presente elenco di condizioni e le limitazioni di responsabilità riportate di seguito.
- 2 La redistribuzione in formato binario deve contenere le informazioni sul copyright riportate sopra, il presente elenco di condizioni e le limitazioni di responsabilità riportate di seguito nella documentazione e/o in altro materiale fornito con la distribuzione.
- 3 I nomi "FU Berlin" e "Knut Reinert" non devono essere utilizzati per appoggiare o promuovere prodotti derivati da questo software senza previa ed esplicita autorizzazione scritta.

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

# Cronologia revisioni

Documento n.	Data	Descrizione della modifica
1000000003311 v01	marzo 2018	Sono state aggiunte informazioni sul servizio di monitoraggio Illumina Proactive nella nuova sezione Impostazione dell'opzione Send Instrument Health (Invia stato di integrità dello strumento).
1000000003311 v00	Novembre 2015	Versione iniziale.

[Diese Seite wurde absichtlich leer gelassen.]

# Sommario

Cronologia revisioni .....	iii
Sommario .....	v
<b>Capitolo 1 Descrizione generale .....</b>	<b>1</b>
Componenti del sistema .....	2
Software MiSeqDx .....	5
Software Local Run Manager .....	7
Spazio su disco necessario .....	8
Software antivirus .....	9
Modalità di ricerca .....	10
<b>Capitolo 2 Informazioni preliminari .....</b>	<b>11</b>
Avvio di MiSeqDx .....	12
Impostazione dell'opzione per il lavaggio post-corsa .....	13
Impostazione dell'opzione di avvio automatico .....	14
Impostazione dell'opzione Send Instrument Health (Invia stato di integrità dello strumento) .....	15
Impostazione delle preferenze per le notifiche via e-mail .....	16
Impostazione della posizione predefinita di Output Folder (Cartella di output) .....	17
Materiali di consumo richiesti .....	18
Conservazione e manipolazione .....	18
<b>Capitolo 3 Sequenziamento .....</b>	<b>19</b>
Introduzione .....	20
Durata della corsa .....	21
Flusso di lavoro di MiSeqDx .....	22
Preparazione della cartuccia di reagenti .....	23
Accesso e suggerimenti del computer per il sequenziamento .....	25
Pulizia della cella a flusso .....	26
Caricamento della cella a flusso .....	28
Caricamento reagenti .....	30
Monitoraggio della corsa .....	33
Esecuzione di un lavaggio post-corsa .....	35
<b>Capitolo 4 Procedure di manutenzione .....</b>	<b>39</b>
Frequenza di manutenzione .....	40
Manutenzione preventiva .....	41
Esecuzione di un lavaggio di manutenzione .....	42
Esecuzione di un lavaggio di standby .....	45
Spegnimento dello strumento .....	48
<b>Appendice A Risoluzione dei problemi .....</b>	<b>49</b>
Introduzione .....	50
Bundle Logs (Raggruppa file di registro) per la risoluzione dei problemi .....	51
Esecuzione della verifica del sistema .....	52
Sospensione o arresto di una corsa .....	53
Sollevamento manuale dei pescanti della cartuccia di reagenti .....	54
Risoluzione degli errori d'impostazione corsa .....	55
Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID .....	56
Prevenzione del riavvio durante una corsa .....	58
Risoluzione degli errori per la portata .....	59

Esecuzione di Volume Test (Test volume) .....	60
Risoluzione degli errori di temperatura del vano refrigerato per i reagenti .....	62
Risoluzione degli errori di analisi di Local Run Manager .....	63
Configurazione delle impostazioni del sistema .....	64
<b>Appendice B Cartelle di output .....</b>	<b>67</b>
Cartelle delle corse .....	68
<b>Indice .....</b>	<b>69</b>
<b>Assistenza tecnica .....</b>	<b>71</b>

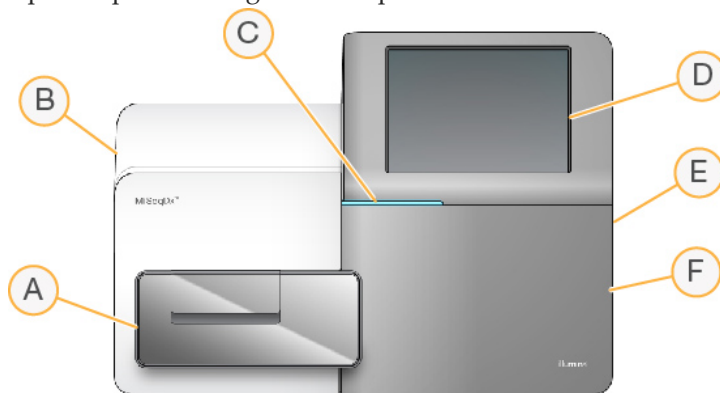
# Descrizione generale

Componenti del sistema .....	2
Software MiSeqDx .....	5
Software Local Run Manager .....	7
Spazio su disco necessario .....	8
Software antivirus .....	9
Modalità di ricerca .....	10



## Componenti del sistema

MiSeqDx dispone dei seguenti componenti:

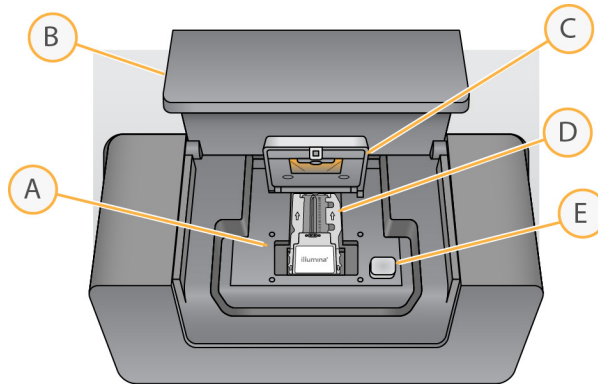


- A **Scomparto della cella a flusso:** contiene il piano portacelle che ospita la cella a flusso durante l'esecuzione della corsa. I motori del piano portacelle fanno fuoriuscire il piano dal modulo ottica incorporato per permettere il caricamento della cella a flusso e il successivo riposizionamento in sede all'avvio della corsa.
- B **Modulo ottica incorporato:** contiene i componenti ottici che consentono l'imaging della cella a flusso.
- C **Barra di stato:** utilizza tre colori per indicare lo stato dello strumento. Il blu indica che lo strumento è in funzione, l'arancione indica la necessità di un intervento da parte dell'utente e il verde indica che lo strumento è pronto a iniziare la corsa successiva.
- D **Monitor touch screen:** permette la configurazione integrata sullo strumento e l'impostazione della corsa utilizzando l'interfaccia software.
- E **Porta USB esterna:** facilita il trasferimento dei file e dei dati al computer dello strumento attraverso il monitor touch screen.
- F **Scomparto reagenti:** contiene i reagenti mantenendoli alle temperature corrette, le soluzioni di lavaggio e il flacone degli scarti. Il dispositivo magnetico chiude lo sportello dello scomparto reagenti.

L'interfaccia di MiSeqDx guida gli utenti durante tutta la procedura d'impostazione della corsa mediante il monitor touch screen.



## Scomparto della cella a flusso

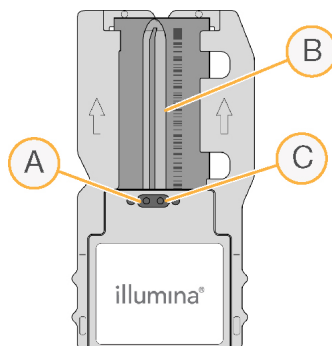


- A Piano portacelle
- B Sportello dello scomparto della cella a flusso
- C Coperchio a scatto della cella a flusso
- D Cella a flusso
- E Pulsante di sblocco del coperchio a scatto della cella a flusso

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

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

## Cella a flusso



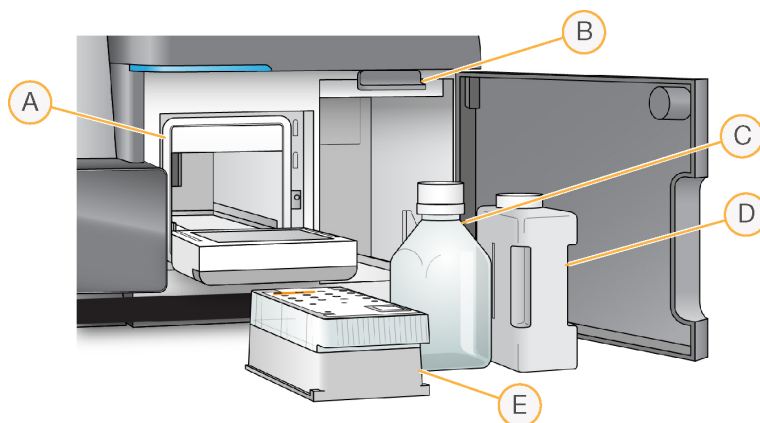
- A Porta di uscita
- B Area di imaging
- C Porta di ingresso

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

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

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

## Scomparto reagenti



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

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

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

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

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

## Software MiSeqDx

Il software descritto in questo capitolo viene utilizzato per configurare, eseguire e analizzare i dati ottenuti da MiSeqDx.

- ▶ **MiSeq Operating Software (MOS):** controlla il funzionamento dello strumento. L'interfaccia di MiSeq Operating Software (MOS) guida l'utente nella procedura di caricamento della cella a flusso e dei reagenti prima dell'avvio di una corsa. Una panoramica delle statistiche qualitative viene visualizzata man mano che la corsa procede. Il software è installato e viene eseguito sullo strumento.
- ▶ Durante la corsa, MOS aziona il piano portacelle, eroga i reagenti, controlla le temperature della cella a flusso e cattura le immagini dei cluster sulla cella a flusso. MOS esegue la corsa in base ai parametri specificati nel software Local Run Manager.
- ▶ **Real-Time Analysis (RTA):** Real Time Analysis (RTA) è un software integrato che esegue l'analisi delle immagini e l'identificazione delle basi e assegna un punteggio qualitativo a ciascuna base per ciascun ciclo. Le immagini vengono temporaneamente archiviate nella cartella della corsa per essere analizzate da RTA, quindi vengono automaticamente eliminate al termine dell'analisi RTA.
- ▶ **Software Local Run Manager:** Local Run Manager è una soluzione integrata sullo strumento per creare una corsa, monitorare lo stato della corsa, analizzare i dati del sequenziamento e visualizzare i risultati. Local Run Manager monitora inoltre le informazioni dei campione e controlla i permessi utente. Il software viene eseguito sul computer dello strumento e viene visualizzato mediante un browser Web. Vedere *Software Local Run Manager* a pagina 7.
- ▶ Per le corse RUO **MiSeq Reporter** viene utilizzato per eseguire analisi aggiuntive.

### Indicatori di attività

Nell'angolo inferiore destro di ciascuna schermata dell'interfaccia è presente una serie di icone. Ogni icona è un indicatore che segnala all'utente quale attività sta eseguendo lo strumento.

Figura 1 Indicatori di attività







Da sinistra a destra, gli indicatori segnalano le seguenti attività:

- ▶ Spostamento del piano Y
- ▶ Spostamento del piano Z
- ▶ Attivazione dell'elettronica
- ▶ Uso della videocamera
- ▶ Pompaggio nel sistema di fluidica

## Icone di stato

Nell'angolo superiore destro della schermata Home (Inizio) è visualizzata un'icona di stato che segnala eventuali cambiamenti delle condizioni operative durante l'impostazione o l'esecuzione della corsa.

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

Quando si verifica un cambiamento nelle condizioni operative, l'icona cambia per mostrare l'immagine associata e lampeggia per avvertire l'utente. In tal caso, selezionare l'icona per aprire la finestra di stato contenente una descrizione generale della condizione segnalata.

- ▶ Selezionare le voci elencate nella finestra per visualizzare una descrizione dettagliata delle condizioni operative ed eventualmente le istruzioni per risolvere il problema.
- ▶ Selezionare **Acknowledge** (Conferma) per confermare di aver letto il messaggio e **Close** (Chiudi) per chiudere la finestra di dialogo.

I messaggi nella finestra di stato possono essere filtrati selezionando le icone lungo il margine superiore della finestra. Selezionare un'icona per mostrare/nascondere la condizione operativa associata.

## Indicatori di rilevamento

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

Figura 2 Indicatori di rilevamento



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

- ▶ Sportello dello scomparto della cella a flusso in posizione chiusa o aperta
- ▶ Temperatura del vano refrigerato per i reagenti in °C
- ▶ Temperatura della cella a flusso in °C

## Software Local Run Manager

Il software Local Run Manager è una soluzione integrata sullo strumento per creare una corsa, monitorare lo stato della corsa, analizzare i dati e visualizzare i risultati. Il software si integra con MOS ed elabora le identificazioni delle basi generate durante l'analisi iniziale. Local Run Manager esegue automaticamente l'analisi secondaria al completamento di una corsa di sequenziamento.

Local Run Manager viene utilizzato per registrare le informazioni sui campioni durante la preparazione dei campioni e per assicurare il monitoraggio corretto dei campioni per tutto il processo, generando informazioni per ogni campione.

Inoltre, Local Run Manager controlla l'autenticazione degli utenti, fornendo diversi permessi di accesso agli utenti. I permessi sono salvati in un file database, a cui fa riferimento MiSeqDx. Local Run Manager può inoltre monitorare la corsa di sequenziamento. Per maggiori informazioni, vedere la *Guida del software Local Run Manager per MiSeqDx (documento n. 1000000011880)*.

### Sequenziamento durante l'analisi

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

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

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

## Spazio su disco necessario

Il computer integrato allo strumento dispone di una capacità di memoria di circa 550 GB.

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

Se richiesto rendere disponibile spazio su disco, spostare o eliminare le cartelle delle corse in base alle necessità.

## Software antivirus

Illumina consiglia vivamente l'installazione di un software antivirus, fornito dall'utente, per proteggere il computer dai virus.

Al fine di evitare interferenze con il funzionamento di MiSeqDx o perdite di dati, configurare gli aggiornamenti del software antivirus nel modo seguente:

- ▶ Impostare le scansioni antivirus manuali, non automatiche.
- ▶ Eseguire le scansioni antivirus solo quando lo strumento non è in uso.
- ▶ Impostare gli aggiornamenti affinché vengano scaricati ma non installati previa autorizzazione dell'utente.
- ▶ Non riavviare automaticamente il computer dopo l'aggiornamento.
- ▶ Escludere l'unità contenente i dati e la directory dell'applicazione da qualsiasi protezione del file system in tempo reale.

## Modalità di ricerca

Utilizzare il comando Reboot to Research Mode (Riavvia in modalità di ricerca) per passare il software di sistema alla modalità di ricerca (RUO). Per utilizzare questa funzione, un utente deve disporre dei privilegi di Admin (Amministratore) o dei permessi per il riavvio in modalità di ricerca.

Quando in modalità di ricerca, utilizzare il comando Reboot (Riavvia) per tornare alla modalità diagnostica. Quando si torna alla modalità di ricerca, il software suggerisce di eseguire un lavaggio post-corsa.

### Comando Reboot to Research Mode (Riavvia in modalità di ricerca)

- 1 Nella schermata Home (Inizio), selezionare **Manage Instrument** (Gestione strumento).
- 2 Selezionare **Reboot to Research Mode** (Riavvia in modalità di ricerca).

### Riavvio del software di sistema

Utilizzare il comando Reboot (Riavvia) consente di riavviare il software di sistema. Non è richiesto di riavviare il software come parte della regolare manutenzione.

- 1 Nella schermata Home (Inizio), selezionare **Manage Instrument** (Gestione strumento).
- 2 Selezionare **Reboot** (Riavvia).



# Informazioni preliminari

Avvio di MiSeqDx .....	12
Impostazione dell'opzione per il lavaggio post-corsa .....	13
Impostazione dell'opzione di avvio automatico .....	14
Impostazione dell'opzione Send Instrument Health (Invia stato di integrità dello strumento) .	15
Impostazione delle preferenze per le notifiche via e-mail .....	16
Impostazione della posizione predefinita di Output Folder (Cartella di output) .....	17
Materiali di consumo richiesti .....	18
Conservazione e manipolazione .....	18



## Avvio di MiSeqDx

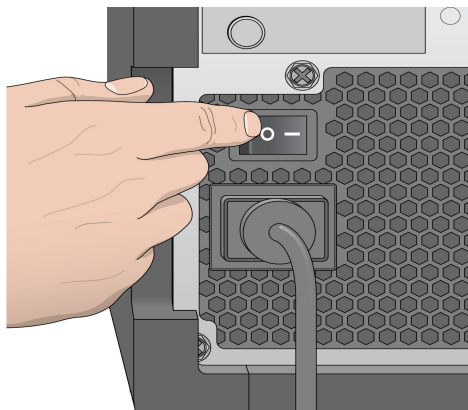


### NOTA

Illumina raccomanda di lasciare lo strumento sempre acceso. Tuttavia, se lo strumento deve essere spento, attenersi alla procedura descritta in *Spegnimento dello strumento* a pagina 48. Attendere **almeno** 60 secondi prima di riaccenderlo portando l'interruttore di alimentazione su ON.

- 1 Se MiSeqDx non è già acceso, portarsi sul lato destro dello strumento per individuare l'interruttore di alimentazione sul pannello posteriore. L'interruttore è situato nell'angolo in basso al di sopra del cavo di alimentazione.

Figura 3 Posizione dell'interruttore di alimentazione



- 2 Portare l'interruttore di alimentazione in posizione **ON** (Acceso). Il computer integrato allo strumento si avvia.
- 3 Accedere al sistema operativo.  
Attendere che il sistema operativo completi il caricamento. MiSeq Operating Software (MOS) lancia e inzializza lo strumento automaticamente.
- 4 Al completamento della fase di inzializzazione, eseguire l'accesso con il nome utente e la password di Local Run Manager.
- 5 Fare clic su **Next** (Successivo). Viene visualizzata la schermata Home (Inizio).

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

Un lavaggio dello strumento è richiesto dopo ogni corsa. Il software richiede un lavaggio prima di impostare una corsa successiva. L'opzione Post-Run Wash (Lavaggio post-corsa) indica quale tipo di lavaggio è eseguito per impostazione predefinita. Un lavaggio post-corsa dura circa 20 minuti. Un lavaggio di manutenzione dura circa 90 minuti.

- 1 Dalla schermata Home (Inizio), selezionare **Run Options** (Opzioni corsa).
- 2 Selezionare la scheda **Run Settings** (Impostazioni corsa).
- 3 Selezionare **Post Run Wash** (Lavaggio post-corsa) o **Maintenance Wash** (Lavaggio di manutenzione).

## Impostazione dell'opzione di avvio automatico

- 1 Dalla schermata Home (Inizio), selezionare **Run Options** (Opzioni corsa).
- 2 Selezionare la scheda **Run Settings** (Impostazioni corsa).
- 3 Selezionare la casella di controllo **Start run after pre-run check. Do not prompt for confirmation.** (Avvia la corsa dopo la verifica pre-corsa. Non richiedere conferma). Questa impostazione avvia automaticamente la corsa di sequenziamento dopo una verifica automatica completata correttamente. Se questa impostazione è disattivata, avviare la corsa manualmente dopo la verifica pre-corsa.

## Impostazione dell'opzione Send Instrument Health (Invia stato di integrità dello strumento)

- 1 Dalla schermata Home (Inizio), selezionare **Run Options** (Opzioni corsa).
- 2 Selezionare la scheda **Run Settings** (Impostazioni corsa).
- 3 Selezionare **Send instrument health information to Illumina to aid technical support** (Invia informazioni sullo stato di integrità dello strumento a Illumina per permettere la valutazione da parte dell'Assistenza Tecnica) per attivare il servizio di monitoraggio Illumina Proactive. In base alla versione di MOS in uso, il nome di questa impostazione nell'interfaccia del software potrebbe essere diverso dal nome presente in questa guida.

Se questa impostazione è attivata, i dati sulle prestazioni dello strumento vengono inviati a Illumina. Questi dati consentono a Illumina di risolvere facilmente eventuali problemi, di rilevare possibili malfunzionamenti, di eseguire una manutenzione proattiva e di massimizzare il tempo di funzionamento dello strumento. Per ulteriori informazioni sui vantaggi di questo servizio, vedere *Illumina Proactive Technical Note* (documento n. 1000000052503).

Questo servizio:

- ▶ Non invia i dati del sequenziamento
- ▶ Richiede che lo strumento sia connesso a una rete con accesso a Internet
- ▶ è disattivato per impostazione predefinita. Per utilizzare questo servizio, attivare l'opzione **Send instrument health information to Illumina to aid technical support** (Invia informazioni sullo stato di integrità dello strumento a Illumina per permettere la valutazione da parte dell'Assistenza Tecnica).

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

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

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

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

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

- 1 Dalla schermata Home (Inizio), selezionare **Run Options** (Opzioni corsa).
- 2 Selezionare la scheda **Run Settings** (Impostazioni corsa).
- 3 Immettere una posizione per Output Folder (Cartella di output). Assicurarsi di immettere il percorso completo di UNC, ad esempio  
\\ServerPersonale\Percorso\OutputFolder.



### AVVERTENZA

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

## Materiali di consumo richiesti

### Materiali di consumo per il sequenziamento

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

### Materiali di consumo forniti dall'utente

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

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

### Linee guide per l'acqua da laboratorio

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

Quanto segue sono esempi accettabili di acqua:

- ▶ PW1 Illumina
- ▶ Acqua pari a 18 Megaohm (MΩ)
- ▶ Acqua Milli-Q
- ▶ Acqua Super-Q
- ▶ Acqua sterile per biologia molecolare

## Conservazione e manipolazione

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



# Sequenziamento

Introduzione .....	20
Durata della corsa .....	21
Flusso di lavoro di MiSeqDx .....	22
Preparazione della cartuccia di reagenti .....	23
Accesso e suggerimenti del computer per il sequenziamento .....	25
Pulizia della cella a flusso .....	26
Caricamento della cella a flusso .....	28
Caricamento reagenti .....	30
Monitoraggio della corsa .....	33
Esecuzione di un lavaggio post-corsa .....	35



## Introduzione

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

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

## Durata della corsa

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

### Numero di cicli di sequenziamento di una lettura

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

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

## Flusso di lavoro di MiSeqDx

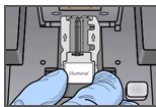
Assicurarsi che le librerie di campioni siano state caricate sulla cartuccia dei reagenti prima di impostare la corsa. Questa procedura si applica a qualsiasi protocollo del saggio.



Preparare la cartuccia dei reagenti, quindi caricare il pool di librerie nell'apposito serbatoio.



Dall'interfaccia software, selezionare **Sequence** (Sequenziamento) per avviare la procedura d'impostazione della corsa.



Lavare e asciugare accuratamente la cella a flusso. Seguire le istruzioni del software per caricare la cella a flusso.



Attenersi ai suggerimenti del software per caricare il flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2), assicurarsi che il flacone degli scarti sia vuoto e caricare la cartuccia di reagenti.



È possibile monitorare la corsa dalla schermata Sequencing (Sequenziamento).



Eseguire un lavaggio post-corsa utilizzando acqua da laboratorio.

### Generazione di cluster

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

### Sequenziamento

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

### Analisi

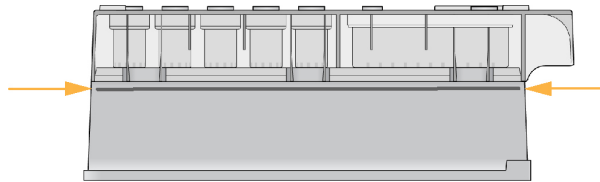
Al termine della corsa, il software di analisi Local Run Manager si avvia automaticamente ed esegue l'analisi secondaria. È possibile monitorare l'analisi secondaria da un altro computer via Internet. Vedere la *Guida del software Local Run Manager per MiSeqDx* (documento n. 1000000011880).

## Preparazione della cartuccia di reagenti

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

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

Figura 4 Linea di massimo livello acqua



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

## Ispezione della cartuccia di reagenti

- 1 Capovolgere la cartuccia di reagenti dieci volte per miscelare i reagenti scongelati, quindi ispezionare tutte le posizioni per accertarsi che siano scongelate.



NOTA

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

- 2 Ispezionare i reagenti nelle posizioni 1, 2 e 4 per accertarsi che siano ben miscelati e privi di precipitati.
- 3 Picchiettare delicatamente la cartuccia sul banco per ridurre le bolle d'aria nei reagenti.



NOTA

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

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

## Caricamento delle librerie di campioni sulla cartuccia

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

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

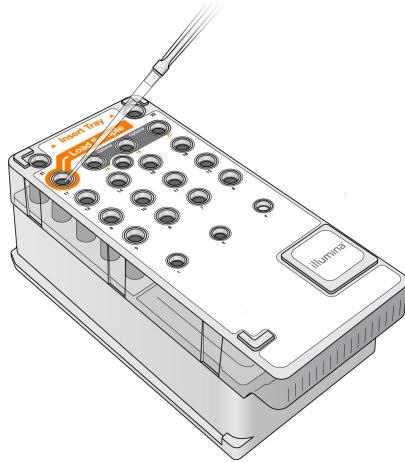


### NOTA

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

- 2 Pipettare 600  $\mu$ l di librerie di campioni **DAL** nel serbatoio contrassegnato con la dicitura **Load Samples** (Caricamento campioni). Evitare di toccare il sigillo in alluminio.
- 3 Una volta caricato il campione, verificare la presenza di bolle d'aria nel serbatoio. In caso di presenza di bolle d'aria, picchiettare delicatamente la cartuccia sul banco in modo da farle fuoriuscire.

Figura 5 Caricamento delle librerie



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

## Accesso e suggerimenti del computer per il sequenziamento

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

## Pulizia della cella a flusso

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

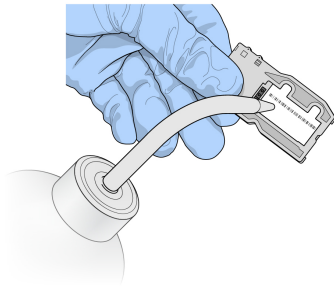
- 1 Indossare un nuovo paio di guanti privi di polvere.
- 2 Con una pinza di plastica, afferrare la cella a flusso dalla base della relativa cartuccia in plastica ed estrarla dal contenitore.

Figura 6 Rimozione della cella a flusso



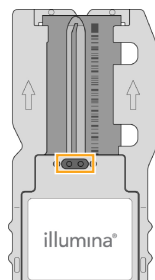
- 3 Sciacquare delicatamente la cella a flusso con acqua da laboratorio, assicurandosi di aver eliminato i sali in eccesso dal vetro e dalla cartuccia di plastica. I sali in eccesso possono impedire il corretto posizionamento della cella a flusso sullo strumento. Se i sali si asciugano nell'area di imaging, questi potrebbero incidere anche sull'imaging.

Figura 7 Risciacquo della cella a flusso



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

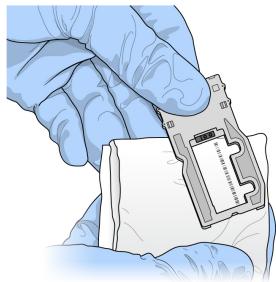
Figura 8 Porte e guarnizione della cella a flusso





- 5 Pulire il vetro della cella a flusso con una salvietta imbevuta di alcol. Assicurarsi di non lasciare striature e impronte sul vetro e che sia completamente privo di particelle estranee o fibre di tessuto. Evitare di passare la salvietta imbevuta di alcol sulla guarnizione della cella a flusso.

Figura 9 Asciugatura della cella a flusso

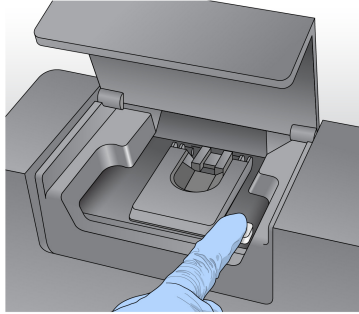


- 6 Asciugare l'eventuale alcol in eccesso con un panno pulente per lenti che non lascia residui.
- 7 Assicurarsi che le porte della cella a flusso non siano ostruite e che la guarnizione aderisca correttamente intorno alle porte della cella a flusso.  
Se la guarnizione sembra anche leggermente scostata,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

## Caricamento della cella a flusso

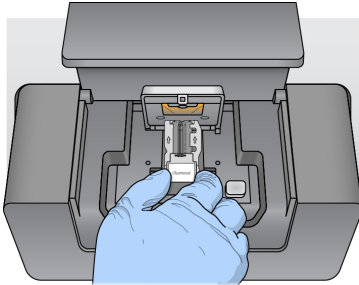
- 1 Sollevare lo sportello dello scomparto della cella a flusso, quindi premere il pulsante di sblocco a destra del coperchio a scatto della cella a flusso. Il coperchio a scatto della cella a flusso si apre.

Figura 10 Apertura del coperchio a scatto della cella a flusso



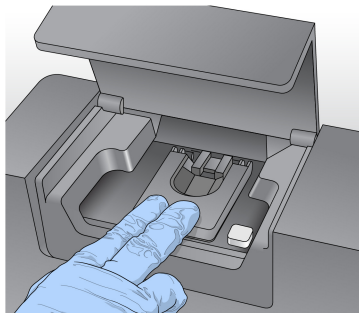
- 2 Assicurarsi che il piano portacelle sia privo di residui. Se si riscontra la presenza di fibre o altre particelle estranee, pulire il piano portacelle con una salvietta imbevuta di alcol o un panno che non lascia residui imbevuto di etanolo o isopropanolo. Strofinare delicatamente la superficie del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

Figura 11 Posizionamento della cella a flusso sul piano portacelle



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

Figura 12 Chiusura del coperchio a scatto della cella a flusso



- 5 Se il software non identifica l'etichetta RFID della cella a flusso, vedere *Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID* a pagina 56.



NOTA

Se l'etichetta RFID non può essere letta, le informazioni identificative possono essere inserite manualmente. Tuttavia, il software permette un solo errore sui tre componenti con etichetta RFID (cella a flusso, cartuccia di reagenti, MiSeqDx SBS Solution (PR2)) su una corsa diagnostica *in vitro*. Per maggiori informazioni, vedere *Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID* a pagina 56.

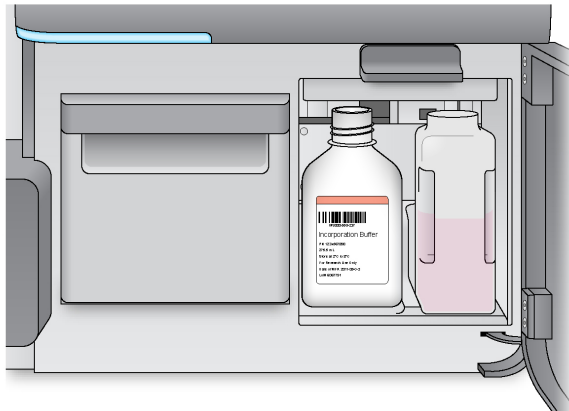
- 6 Chiudere lo sportello dello scomparto della cella a flusso.
- 7 Selezionare **Next** (Avanti).

## Caricamento reagenti

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

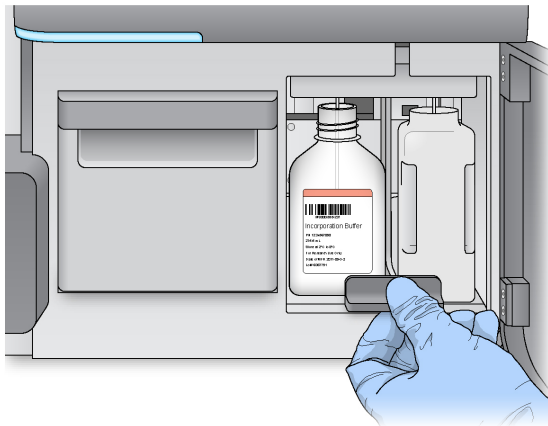
- 1 Rimuovere il flacone MiSeqDx SBS Solution (PR2) dalla temperatura di conservazione compresa tra 2 °C e 8 °C. Capovolgere per miscelare, quindi rimuovere il coperchio.
- 2 Aprire lo sportello dello scomparto reagenti.
- 3 Sollevare la maniglia del pettine di aspirazione finché non si blocca in sede.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

Figura 13 Caricamento del flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2)



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

Figura 14 Abbassamento della maniglia del pettine di aspirazione



- 7 Se il software non identifica l'etichetta RFID del flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2), vedere *Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID* a pagina 56.



## NOTA

Se l'etichetta RFID non può essere letta, le informazioni identificative possono essere inserite manualmente. Tuttavia, il software permette un solo errore sui tre componenti con etichetta RFID (cella a flusso, cartuccia di reagenti, MiSeqDx SBS Solution (PR2)) su una corsa diagnostica *in vitro*. Per maggiori informazioni, vedere *Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID* a pagina 56.

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

## Caricamento della cartuccia di reagenti

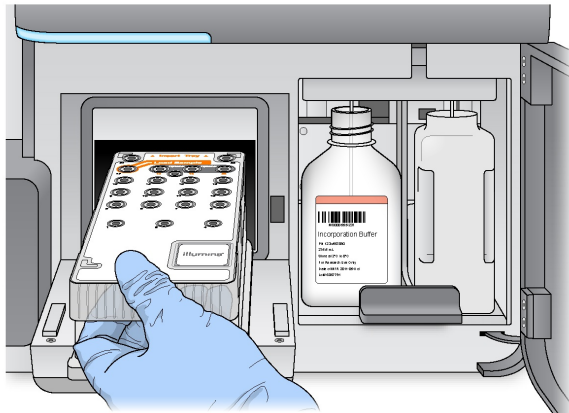


## NOTA

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

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

Figura 15 Caricamento della cartuccia di reagenti



- 3 Chiudere lo sportello del vano refrigerato per i reagenti.
- 4 Se il software non identifica l'etichetta RFID della cartuccia di reagenti, vedere *Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID* a pagina 56.



## NOTA

Se l'etichetta RFID non può essere letta, le informazioni identificative possono essere inserite manualmente. Tuttavia, il software permette un solo errore sui tre componenti con etichetta RFID (cella a flusso, cartuccia di reagenti, MiSeqDx SBS Solution (PR2)) su una corsa diagnostica *in vitro*. Per maggiori informazioni, vedere *Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID* a pagina 56.

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



## NOTA

Se la temperatura del vano refrigerato per i reagenti non rientra nell'intervallo, la corsa di sequenziamento potrebbe non essere avviata. Vedere *Risoluzione degli errori di temperatura del vano refrigerato per i reagenti* a pagina 62.

## Nota importante prima di avviare la corsa



### AVVERTENZA

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

Dopo aver caricato la cartuccia di reagenti e chiuso lo sportello dello scomparto reagenti, non aprire lo scomparto della cella a flusso o gli sportelli dello scomparto reagenti, oppure toccare il monitor dello strumento a meno che non sia necessario mettere in pausa la corsa. Per maggiori informazioni, vedere *Sospensione di una corsa* a pagina 53.

## Monitoraggio della corsa

- 1 Durante la corsa, monitorarne l'avanzamento, le intensità e i punteggi qualitativi sulla schermata Sequencing (Sequenziamento). La schermata Sequencing (Sequenziamento) è di sola visualizzazione.
  - ▶ **Run progress** (Avanzamento della corsa): mostra l'avanzamento della corsa in una barra di stato ed elenca il numero di cicli completati.
  - ▶ **Intensity** (Intensità): mostra il valore delle intensità dei cluster per il 90° percentile per ciascuna tile.  
Il grafico dell'area Intensity (Intensità) rappresenta il numero di tile sottoposte a imaging.
  - ▶ **Q-Score All Cycles** (Punteggi qualitativi per tutti i cicli): mostra la percentuale media di basi con punteggio qualitativo superiore a Q30. Un punteggio qualitativo è una predizione della probabilità di un'errata identificazione delle basi. I punteggi qualitativi (Q-score) sono calcolati dopo il ciclo 25.

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

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



#### NOTA

Il valore Chastity di una identificazione delle basi è dato dal rapporto di intensità tra il segnale maggiore diviso per la somma dei due segnali maggiori. Le letture non attraversano il filtro qualitativo se è presente più di una identificazione delle basi con valore Chastity inferiore a 0,6 durante i primi 25 cicli.

- ▶ **Estimated Yield (Mb)** (Resa prevista - Mb): mostra il numero previsto di basi identificate per la corsa, misurato in megabasi. Questi dati appaiono solo dopo il ciclo 25.

- 2 Al termine della corsa, compare il pulsante Next (Avanti). Prima di procedere, esaminare i risultati sulla schermata Sequencing (Sequenziamento).



#### NOTA

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

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

Figura 16 Schermata Sequencing (Sequenziamento)



## Generazione della griglia per l'identificazione dei cluster

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

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

## Metriche della corsa

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

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

Metrica	Ciclo
Intensity (Intensità)	Ciclo 1-4 o Ciclo 1-7 in base al kit.
Intensity (Intensità) e Cluster Density (Densità cluster)	Ciclo 5-25 o Ciclo 8-25 in base al kit.
Intensity (Intensità) e Cluster Density (Densità cluster), % PF (% che attraversano il filtro), Yield (Resa) e Q-scores (Punteggi qualitativi)	Ciclo 26 fino al completamento della corsa per tutti i kit.



## Esecuzione di un lavaggio post-corsa

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

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

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

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

È possibile scegliere l'opzione per eseguire un lavaggio post-corsa che includa un lavaggio della linea del template con una soluzione di ipoclorito di sodio (NaOCl). Il lavaggio impiega circa 30 minuti. Vedere *Procedura per il lavaggio della linea del template* a pagina 36.



### NOTA

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

### Materiali di consumo forniti dall'utente

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

## Procedura

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

- 3 Dalla schermata del lavaggio post-corsa, selezionare **Start Wash** (Avvia lavaggio). Il software solleva automaticamente i pescanti nel vano refrigerato per i reagenti. Prima di proseguire, attendere diversi secondi per permettere ai pescanti di sollevarsi completamente.  
*Non selezionare **Perform optional template line wash** (Esegui un lavaggio facoltativo della linea del templat) sulla schermata Post-Run wash (Lavaggio post-corsa). Il lavaggio della linea del templat richiede una procedura diversa. Vedere *Procedura per il lavaggio della linea del templat* a pagina 36.*
- 4 Aprire lo sportello dello scomparto reagenti e lo sportello del vano refrigerato per i reagenti e far scorrere la cartuccia di reagenti usata dal vano refrigerato.
- 5 Far scorrere il vassoio di lavaggio all'interno del vano refrigerato per i reagenti finché non si arresta poi chiudere lo sportello del vano refrigerato.
- 6 Sollevare la maniglia del pettine di aspirazione di fronte al flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) e al flacone degli scarti finché non si blocca in posizione.
- 7 Rimuovere il flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) e sostituirlo con un flacone di lavaggio.

**NOTA**

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

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

**AVVERTENZA**

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

- 9 Abbassare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione, accertandosi che i pescanti vengano abbassati nei flaconi di lavaggio e degli scarti.
- 10 Chiudere lo sportello dello scomparto reagenti.
- 11 Selezionare **Next** (Avanti). Il lavaggio post-corsa ha inizio.  
Dopo il completamento del lavaggio, lasciare sullo strumento la cella a flusso usata, il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio contenente la soluzione di lavaggio residua.

**NOTA**

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

## Procedura per il lavaggio della linea del templat

- 1 Preparare al momento una soluzione di lavaggio con Tween 20 e acqua da laboratorio nel seguente modo.

- a Dispensare 5 ml di Tween 20 al 100% a 45 ml di acqua da laboratorio. Con questi volumi si otterrà Tween 20 al 10%.
  - b Dispensare 25 ml di Tween 20 al 10% a 475 ml di acqua da laboratorio. Con questi volumi si otterrà una soluzione di lavaggio Tween 20 allo 0,5%.
  - c Capovolgere cinque volte per miscelare.
- 2 Preparare al momento una soluzione di lavaggio di NaOCl con acqua da laboratorio nel modo seguente.
    - a Dispensare 36  $\mu$ l di NaOCl al 5% a 864  $\mu$ l di acqua da laboratorio. Questi volumi forniscono una diluizione di NaOCl 1:25.
    - b Dispensare 50  $\mu$ l di NaOCl 1:25 a 950  $\mu$ l di acqua da laboratorio in una provetta MiSeq (n. codice MS-102-9999).

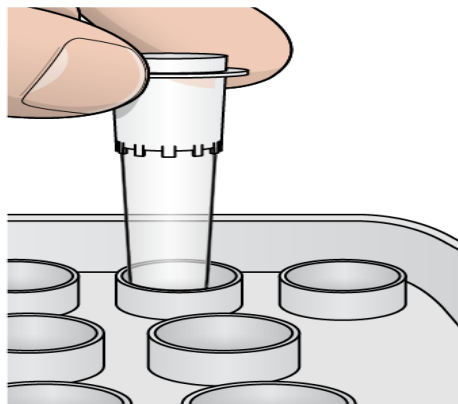


**NOTA**

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

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

**Figura 17** Provetta MiSeq nella posizione 17 del vassoio di lavaggio



**NOTA**

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

- 5 Al termine della corsa, selezionare **Start Wash** (Avvia lavaggio). Il software solleva automaticamente i pescanti nel vano refrigerato per i reagenti.
- 6 Selezionare **Perform optional template line wash** (Esegui un lavaggio facoltativo della linea del template) sulla schermata Post-Run Wash (Lavaggio post-corsa).

- 7 Aprire lo sportello dello scomparto reagenti e lo sportello del vano refrigerato per i reagenti e far scorrere la cartuccia di reagenti usata dal vano refrigerato.
- 8 Far scorrere il vassoio di lavaggio all'interno del vano refrigerato per i reagenti finché non si arresta in posizione, quindi chiudere lo sportello del vano refrigerato.
- 9 Sollevare la maniglia del pettine di aspirazione di fronte ai flaconi di PR2 e degli scarti finché non si blocca in sede.
- 10 Rimuovere il flacone di PR2 e sostituirlo con un flacone di lavaggio.
- 11 Rimuovere il flacone degli scarti ed eliminarne il contenuto seguendo le opportune procedure di smaltimento. Riposizionare il flacone degli scarti nello scomparto reagenti.

**AVVERTENZA**

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

- 12 Abbassare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione, accertandosi che i pescanti vengano abbassati nei flaconi di lavaggio e degli scarti.
- 13 Chiudere lo sportello dello scomparto reagenti.
- 14 Selezionare **Next** (Avanti). Il lavaggio post-corsa ha inizio.  
Dopo il completamento del lavaggio, lasciare sullo strumento la cella a flusso usata, il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio contenente la soluzione di lavaggio residua.

**NOTA**

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

# Procedure di manutenzione

Frequenza di manutenzione .....	40
Manutenzione preventiva .....	41
Esecuzione di un lavaggio di manutenzione .....	42
Esecuzione di un lavaggio di standby .....	45
Spegnimento dello strumento .....	48



## Frequenza di manutenzione

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

**Tabella 1** Manutenzione durante il normale funzionamento

Attività	Ogni giorno	Mensilmente	Secondo necessità
Lavaggio di manutenzione		X	
Lavaggio di standby			Per preparare all'inattività (≥ 7 giorni di non utilizzo)
Spegnimento dello strumento			X

**Tabella 2** Manutenzione durante il periodo di inattività (≥ 7 giorni di non utilizzo)

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

## Manutenzione preventiva

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

## Esecuzione di un lavaggio di manutenzione

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

MiSeqDx può essere configurato per eseguire un lavaggio di manutenzione, piuttosto che un lavaggio post-corsa, tra le corse. Vedere *Impostazione dell'opzione per il lavaggio post-corsa* a pagina 13.

### Materiali di consumo forniti dall'utente

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



#### ATTENZIONE

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

## Procedura

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




#### NOTA

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

## Esecuzione del primo lavaggio

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



- 3 Caricare sullo strumento il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio:
    - a Aprire lo sportello dello scomparto reagenti e lo sportello del vano refrigerato per i reagenti e far scorrere la cartuccia di reagenti usata o il vassoio di lavaggio dal vano refrigerato per i reagenti.
    - b Far scorrere il vassoio di lavaggio all'interno del vano refrigerato per i reagenti finché non si arresta. Chiudere lo sportello del vano refrigerato per i reagenti.
    - c Sollevare la maniglia del pettine di aspirazione di fronte al flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) e al flacone degli scarti finché non si blocca in sede, quindi sostituire il flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) con il flacone di lavaggio.
-  **NOTA**  
Smaltire il flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) dopo ogni corsa. Non riutilizzare alcuna soluzione residua di MiSeqDx SBS Solution (PR2).
- d Rimuovere il flacone degli scarti ed eliminarne il contenuto seguendo le opportune procedure di smaltimento. Riposizionare il flacone degli scarti nello scomparto reagenti.
  - e Abbassare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione, accertandosi che i pescanti vengano abbassati nei flaconi di lavaggio e degli scarti.
  - f Chiudere lo sportello dello scomparto reagenti.
- 4 Selezionare **Next** (Avanti). Il primo lavaggio ha inizio.

### Esecuzione del secondo lavaggio

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

## Esecuzione del lavaggio finale

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

## Dopo il lavaggio

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



### NOTA

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

## Esecuzione di un lavaggio di standby

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

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



### NOTA

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

### Materiali di consumo forniti dall'utente

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

## Procedura

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




### NOTA

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

## Esecuzione del primo lavaggio

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

- 3 Caricare sullo strumento il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio:
    - a Aprire lo sportello dello scomparto reagenti e lo sportello del vano refrigerato per i reagenti e far scorrere la cartuccia di reagenti usata o il vassoio di lavaggio dal vano refrigerato per i reagenti.
    - b Far scorrere il vassoio di lavaggio all'interno del vano refrigerato per i reagenti finché non si arresta. Chiudere lo sportello del vano refrigerato per i reagenti.
    - c Sollevare la maniglia del pettine di aspirazione di fronte al flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) e al flacone degli scarti finché non si blocca in sede, quindi sostituire il flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) con il flacone di lavaggio.
-  **NOTA**  
Smaltire il flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) dopo ogni corsa. Non riutilizzare alcuna soluzione residua di MiSeqDx SBS Solution (PR2).
- d Rimuovere il flacone degli scarti ed eliminarne il contenuto seguendo le opportune procedure di smaltimento. Riposizionare il flacone degli scarti nello scomparto reagenti.
  - e Abbassare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione, accertandosi che i pescanti vengano abbassati nei flaconi di lavaggio e degli scarti.
  - f Chiudere lo sportello dello scomparto reagenti.
- 4 Selezionare **Next** (Avanti). Il primo lavaggio ha inizio.

### Esecuzione del secondo lavaggio

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

## Dopo il lavaggio

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



### NOTA

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

## Spegnimento dello strumento

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

- 1 Eseguire un lavaggio di manutenzione. Per maggiori informazioni, vedere *Procedura* a pagina 42.
- 2 Rimuovere il flacone degli scarti ed eliminarne il contenuto seguendo le opportune procedure di smaltimento. Riposizionare il flacone degli scarti nello scomparto reagenti.
- 3 Chiudere lo sportello dello scomparto reagenti.
- 4 Dalla schermata Manage Instrument (Gestione strumento), selezionare **Shut Down** (Spegni). Questo comando spegne il software.
- 5 Portare l'interruttore di alimentazione nella posizione OFF.



### NOTA

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

# Risoluzione dei problemi

Introduzione .....	50
Bundle Logs (Raggruppa file di registro) per la risoluzione dei problemi .....	51
Esecuzione della verifica del sistema .....	52
Sospensione o arresto di una corsa .....	53
Sollevamento manuale dei pescanti della cartuccia di reagenti .....	54
Risoluzione degli errori d'impostazione corsa .....	55
Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID .....	56
Prevenzione del riavvio durante una corsa .....	58
Risoluzione degli errori per la portata .....	59
Esecuzione di Volume Test (Test volume) .....	60
Risoluzione degli errori di temperatura del vano refrigerato per i reagenti .....	62
Risoluzione degli errori di analisi di Local Run Manager .....	63
Configurazione delle impostazioni del sistema .....	64



## Introduzione

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

Per eventuali domande tecniche, visitare le pagine di supporto di MiSeqDx sul sito Web Illumina per accedere alle domande frequenti, oppure eseguire il log in al proprio account MyIllumina per prendere visione dei bollettini di assistenza.

Per problemi relativi alla qualità della corsa o alle prestazioni, rivolgersi all'Assistenza tecnica Illumina. Per maggiori informazioni, vedere *Assistenza tecnica* a pagina 71.

Un addetto dell'Assistenza tecnica Illumina di solito richiede le copie di file specifici della corsa, al fine di risolvere il problema. È possibile usare la funzione Bundle Logs (Raggruppa file di registro) sulla schermata Manage Files (Gestione file) per raggruppare e comprimere in formato zip i file richiesti per la risoluzione dei problemi. Vedere *Bundle Logs (Raggruppa file di registro) per la risoluzione dei problemi* a pagina 51.



## Bundle Logs (Raggruppa file di registro) per la risoluzione dei problemi

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

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

- 1 Sulla schermata Manage Files (Gestione file), selezionare la scheda **Bundle Logs** (Raggruppa file di registro).
- 2 Selezionare **Browse** (Sfoglia) per andare alla cartella MiSeqOutput (Output di MiSeq).
- 3 Fare clic sulla casella blu accanto alla corsa e sul cerchio blu accanto al tipo di raggruppamento richiesto dall'Assistenza Tecnica Illumina.
- 4 Selezionare **Bundle Logs** (Raggruppa file di registro).  
Viene visualizzata una schermata Bundle Files (Raggruppa file di registro) con le informazioni relative al raggruppamento, incluso un elenco di singoli file contenuti nel raggruppamento.  
Per maggiori informazioni sui singoli file e cartelle della funzione Bundle Logs (Raggruppa file di registro), vedere *MiSeq Output and Analysis Folders Quick Reference Card* (documento n. 15034791) (Scheda di consultazione rapida per le cartelle di output e di analisi di MiSeq).
- 5 Selezionare **Next** (Avanti).
- 6 Andare alla posizione in cui si desidera salvare i file raggruppati compressi in formato zip.
- 7 Selezionare **Save** (Salva).  
Quando i file sono stati raggruppati, si apre nuovamente la scheda Bundle Logs (Raggruppa file di registro).
- 8 Inviare il raggruppamento compresso all'Assistenza tecnica Illumina.

## Esecuzione della verifica del sistema

Alcuni controlli di sistema possono essere eseguiti prima di rivolgersi all'Assistenza Tecnica Illumina, ad esempio il Volume Test (Test volume). Il test volume verifica il corretto stato del sistema di fluidica stimando il volume del flusso al passaggio delle bolle tra i sensori. Per maggiori informazioni, vedere *Esecuzione di Volume Test (Test volume)* a pagina 60.

- 1 Nella schermata Home (Inizio), selezionare **Manage Instrument** (Gestione strumento).
- 2 Selezionare **System Check** (Verifica sistema).
- 3 Selezionare i test da eseguire.
- 4 Selezionare **Next** (Avanti).  
Una volta completati i test, i risultati sono visualizzati sulla schermata.
- 5 [Facoltativo] Selezionare **Show Details** (Mostra dettagli) per visualizzare un riepilogo dei risultati sull'interfaccia software.
- 6 [Facoltativo] Selezionare **Export Results** (Esporta risultati) per esportare i risultati in formato \*.csv su un dispositivo USB.
- 7 Selezionare **Done** (Fatto).

## Sospensione o arresto di una corsa

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

### Sospensione di una corsa

Se necessario, una corsa può essere sospesa durante il sequenziamento (ad esempio, per svuotare il flacone degli scarti o per controllare il volume rimanente nel flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2)), quindi ripresa per continuare il sequenziamento.



#### ATTENZIONE

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

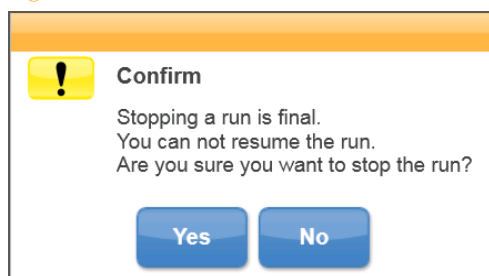
Per sospendere la corsa dalla schermata Sequencing (Sequenziamento), selezionare **Pause** (Pausa). L'esecuzione del comando corrente viene portata a termine, poi la corsa viene sospesa, la cella a flusso viene posta in uno stato sicuro e il pulsante passa a **Resume** (Riprendi). A questo punto è possibile, ad esempio, vuotare il flacone degli scarti. Selezionare **Resume** (Riprendi) per continuare con la corsa.

### Arresto di una corsa

Se necessario, è possibile arrestare una corsa durante il sequenziamento (ad esempio, se la corsa non è stata impostata correttamente, se la qualità dei dati è insoddisfacente o se si verifica un errore hardware).

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

Figura 18 Arresto di una corsa



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

## Sollevamento manuale dei pescanti della cartuccia di reagenti

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

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

## Risoluzione degli errori d'impostazione corsa

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

Errore	Intervento
<b>X Flow Rate Measured (Portata misurata)</b>	<p>Si apre la schermata della portata. Utilizzare l'elenco a discesa o la tastiera sullo schermo per inserire quanto segue:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Solution (Soluzione): <b>PR2</b></li> <li>• Volume (Volume): <b>250</b></li> <li>• Aspirate Rate (Velocità di aspirazione): <b>2.500</b></li> <li>• Dispense Rate (Velocità di erogazione): <b>2.500</b></li> </ul> <p>Selezionare <b>Pump</b> (Pompa). Se l'errore persiste, impostare il volume per pompare 500 µl di MiSeqDx SBS Solution (PR2) e ripetere il processo. Dopo l'erogazione dei fluidi, selezionare <b>Restart Check</b> (Riavvia verifica).</p> <p>Se la verifica pre-corsa viene eseguita correttamente, il pulsante <b>Start Run</b> (Avvia corsa) diventa attivo.</p> <p>Se di nuovo la verifica del flusso non viene superata, risistemare nella sua sede la cella a flusso per assicurare che il flusso non si interrompa a causa di un allineamento scorretto. Ispezionare la guarnizione della cella a flusso controllando che non ci siano particelle estranee o irregolarità.</p>
<b>X Free Disk Space (Spazio libero su disco)</b>	<p>Se lo spazio su disco è insufficiente, viene visualizzato un messaggio indicante lo spazio necessario. Usare la funzione <b>Manage Files</b> (Gestione file) per liberare lo spazio necessario sul computer dello strumento.</p>
<b>X Network Connection Active (Connessione rete attiva)</b>	<p>Verificare che il cavo di rete sia ben collegato allo strumento.</p> <p>Se la connessione alla rete non è ripristinata, selezionare <b>Reboot</b> (Riavvia) sulla schermata Manage Instrument (Gestione strumento) per riavviare il software.</p> <p>Se la connessione continua a non essere ripristinata, selezionare <b>Shut Down</b> (Spegnimento) sulla schermata Manage Instrument (Gestione strumento), quindi spegnere lo strumento utilizzando l'interruttore di alimentazione. Attendere almeno 60 secondi, quindi accendere lo strumento e avviare il software.</p>
<b>X Primary Analysis Ready (Pronta l'analisi primaria)</b>	<p>L'analisi primaria della corsa precedente non è terminata. Il tempo preimpostato concesso per la conclusione dell'analisi primaria è un'ora e sullo schermo compare un conteggio alla rovescia. Le opzioni sono di attendere un'ora o di selezionare <b>Terminate Analysis</b> (Terminare analisi). L'analisi secondaria si interrompe per ciascun ciclo incompleto.</p>

## Risoluzione degli errori di lettura dell'etichetta RFID

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

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

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



### NOTA

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

### Cella a flusso

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

### Flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2)

- 1 Riprovare sempre una seconda volta l'operazione di lettura dell'etichetta RFID prima di continuare. A tale scopo, alzare e poi abbassare la maniglia del pettine di aspirazione.
- 2 Se l'errore di lettura dell'etichetta RFID si ripete, selezionare **Get Code** (Richiedi codice). Contattare l'Assistenza tecnica Illumina per ottenere un codice di bypass temporaneo dell'etichetta RFID. Un codice di bypass temporaneo scade dopo sette giorni.
- 3 Immettere il codice di bypass temporaneo utilizzando la tastiera sullo schermo.
- 4 Selezionare **Next** (Avanti).

- 5 Immettere le informazioni seguenti:
  - ▶ Il numero del codice a barre del flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2), che si trova sull'etichetta del flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2) direttamente sotto il codice a barre
  - ▶ Numero di codice del flacone di MiSeqDx SBS Solution (PR2)
- 6 Selezionare **Next** (Avanti) per passare alla schermata Load Reagents (Caricamento reagenti).
- 7 Selezionare **Next** (Avanti) per procedere con la fase d'impostazione della corsa successiva.

### Cartuccia di reagenti

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

## Prevenzione del riavvio durante una corsa

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



## Risoluzione degli errori per la portata

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

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

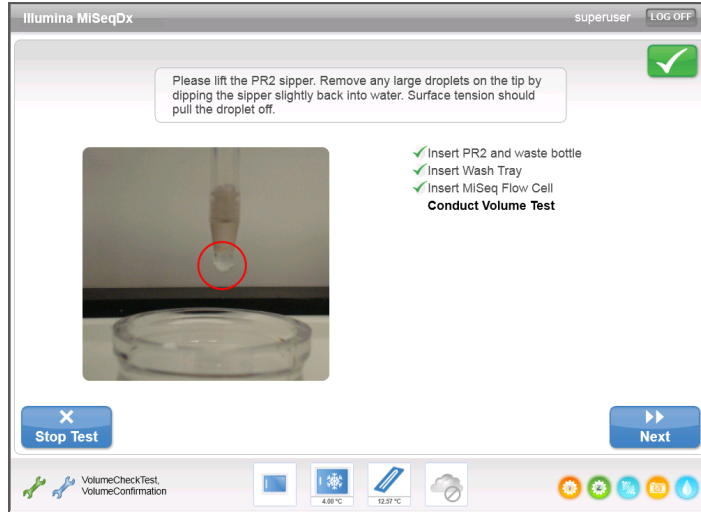
## Esecuzione di Volume Test (Test volume)

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

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

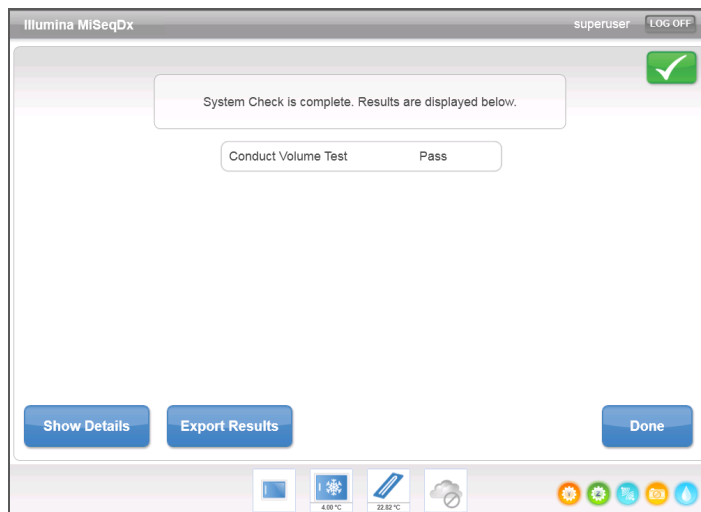
- 1 Accertarsi che una cella a flusso usata sia caricata sullo strumento.
- 2 Dalla schermata Manage Instrument (Gestione strumento), selezionare **System Check** (Verifica sistema).
- 3 Selezionare **Conduct Volume Test** (Esegui test volume), quindi selezionare **Next** (Avanti).
- 4 Riempire ciascun serbatoio del vassoio di lavaggio con 6 ml di acqua da laboratorio.
- 5 Riempire con 350 ml di acqua da laboratorio il flacone di lavaggio da 500 ml.
- 6 Caricare sullo strumento il vassoio di lavaggio e il flacone di lavaggio.
  - a Aprire lo sportello dello scomparto reagenti e lo sportello del vano refrigerato per i reagenti e fare scorrere il vassoio di lavaggio all'interno del vano refrigerato per i reagenti finché non si arresta. Chiudere lo sportello del vano refrigerato per i reagenti.
  - b Sollevare la maniglia del pettine di aspirazione finché non si blocca in sede e caricare il flacone di lavaggio.
  - c Rimuovere il flacone degli scarti ed eliminarne il contenuto seguendo le opportune procedure di smaltimento. Riposizionare il flacone degli scarti nello scomparto reagenti.
  - d Abbassare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione, accertandosi che i pescanti vengano abbassati nei flaconi di lavaggio e degli scarti.
- 7 Seguendo le istruzioni sullo schermo, rimuovere le eventuali goccioline dal pescante del flacone di lavaggio, nel modo seguente:
  - a Quando compare la corrispondente istruzione, sollevare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione e verificare se sul pescante del flacone di lavaggio sia presente una grossa gocciolina d'acqua.
  - b Quando compare la corrispondente istruzione, abbassare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione a sufficienza nell'acqua per consentire che la tensione superficiale rimuova la gocciolina.
  - c Quando compare la corrispondente istruzione, sollevare lentamente la maniglia del pettine di aspirazione e verificare se sul pescante del flacone di lavaggio sia presente una grossa gocciolina d'acqua.
  - d Quando compare la corrispondente istruzione, abbassare lentamente e completamente la maniglia del pettine di aspirazione, accertandosi che i pescanti vengano abbassati nei flaconi di lavaggio e degli scarti.

Figura 19 Rimozione di una gocciolina dal pescante



- 8 Selezionare **Next** (Avanti). Ha inizio il test volume.  
Una volta terminato il test volume, sullo schermo appaiono i risultati.

Figura 20 Risultati del test volume



Nel caso il test non sia stato superato con successo, eseguire un lavaggio di manutenzione. Vedere *Procedura* a pagina 42.

- 9 Al termine del lavaggio di manutenzione, ripetere il test volume.

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

L'intervallo di temperatura richiesto per il vano refrigerato per i reagenti è tra 2 °C e 11 °C. Un sensore indica la temperatura del vano refrigerato per i reagenti. Vedere *Indicatori di rilevamento* a pagina 6.

Se viene visualizzato un messaggio di errore indicante che la temperatura del vano refrigerato per i reagenti non rientra nell'intervallo di temperatura, contattare l'Assistenza tecnica Illumina.

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

Per maggiori informazioni sul vano refrigerato per i reagenti, vedere *Scomparto reagenti* a pagina 4.

## Risoluzione degli errori di analisi di Local Run Manager

Per informazioni sulla risoluzione dei problemi relativi agli errori di analisi, contattare l'Assistenza tecnica Illumina. La *Guida di consultazione del software Local Run Manager per MiSeqDx* (documento n. 1000000011880) include le istruzioni per rimettere in coda l'analisi.

## Configurazione delle impostazioni del sistema

MOS include due schermate che danno accesso ai comandi per configurare il sistema. Di solito le impostazioni software sono configurate durante l'installazione di MiSeqDx.

Per utilizzare questa funzione è necessario possedere il livello di accesso utente Admin (Amministratore).

### Configurazione delle impostazioni di IP e DNS

Se necessario, a causa di una modifica della rete o presso la sede, configurare l'indirizzo IP e gli indirizzi del server DNS.

- 1 Nella schermata Home (Inizio), selezionare **Manage Instrument** (Gestione strumento).
- 2 Selezionare **System Settings** (Impostazioni sistema).
- 3 Selezionare dalle seguenti opzioni per impostare l'indirizzo IP:
  - ▶ **Obtain an IP address automatically** (Ottieni un indirizzo IP automaticamente): selezionare questa opzione per ottenere l'indirizzo IP usando il server DHCP.



#### NOTA

Il protocollo di configurazione host dinamico (Dynamic Host Configuration Protocol, DHCP) è un protocollo di rete standard utilizzato sulle reti IP per distribuire dinamicamente i parametri di configurazione della rete.

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

## Configurazione dello strumento e impostazione della rete

- 1 Nella schermata Home (Inizio), selezionare **Manage Instrument** (Gestione strumento).
- 2 Selezionare **System Settings** (Impostazioni sistema).
- 3 Selezionare **Save and Continue** (Salva e continua) per passare alla seconda schermata nella serie di schermate.
- 4 **Machine Name** (Nome macchina): il nome della macchina assegnato al computer dello strumento al momento della fabbricazione. Di solito, non è necessario modificare il nome della macchina. Qualsiasi modifica effettuata al nome della macchina in questa schermata può incidere sulla connettività e richiede il nome utente e la password di un amministratore di rete.  
Il nome della macchina viene registrato come il nome dello strumento negli output del software Local Run Manager.
- 5 Collegare il computer dello strumento a un dominio o a un gruppo di lavoro nel modo seguente.
  - ▶ **Per gli strumenti collegati a Internet:** selezionare **Domain** (Dominio) e immettere il nome del dominio associato con la connessione Internet presso la sede.
  - ▶ **Per gli strumenti non collegati a Internet:** selezionare **Workgroup** (Gruppo di lavoro) e immettere il nome di un gruppo di lavoro.
- 6 Selezionare dalle opzioni di avvio seguenti **MiSeq Start-Up Options** (Opzioni di avvio di MiSeq).
  - ▶ **Kiosk Mode** (Modalità kiosk) raccomandata: mostra l'interfaccia del software di controllo a schermo intero. Il software è progettato per l'uso in modalità kiosk.
  - ▶ **Windows Mode** (Modalità Windows): consente l'accesso a Windows sul computer dello strumento. In questa modalità l'interazione con l'interfaccia software, come la posizione dei pulsanti, potrebbe essere alterata.

[Diese Seite wurde absichtlich leer gelassen.]



# Cartelle di output

Cartelle delle corse .....68



## Cartelle delle corse

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

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

## Denominazione della cartella della corsa

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

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

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

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

## A

accensione dello strumento 12  
 arresto di una corsa 53  
 assistenza clienti 71  
 assistenza tecnica 71  
 attraversamento del filtro (PF) 34  
 avvio corsa  
   opzioni corsa 14

## C

caricamento dei reagenti  
   cartuccia 31  
   soluzione SBS 30  
 cartelle corsa  
   temporanea, output, analisi 68  
 cartelle delle corse  
   denominazione 68  
 cella a flusso  
   caricamento 28  
   panoramica 3  
   pulizia 26  
 cicli di sequenziamento 34  
 cicli in una lettura 21  
 componenti  
   cella a flusso 3  
   modulo ottico 2  
   scomparto dei reagenti 2  
   scomparto della cella a flusso 2-3  
   scomparto reagenti 4  
 connessione rete 55  
 coperchio a scatto 3

## D

densità cluster 33  
 documentazione 71  
 durata della corsa 21

## F

flacone degli scarti 4  
 fluidica  
   lavaggio 42, 45  
   risoluzione dei problemi 59-60  
 flusso di lavoro  
   durata della corsa 21  
 foglio campioni 55

## G

generazione della griglia 34  
 generazione di cluster 34  
 gestione strumento  
   dominio 65  
   gruppo di lavoro 65  
   impostazioni sistema 64  
   indirizzi IP e DNS 64  
   nome dominio 64  
   nome macchina 65

  opzioni avvio 65  
 guida, tecnica 71

## I

icona di avviso di stato 6  
 icone 5  
   avviso di stato 6  
   errori e avvertenze 6  
   sensori 6  
 impostazioni di sistema 64  
 impostazioni rete 64  
 impostazioni sistema 64-65  
 indicatori di attività 5  
 indicatori di rilevamento 6  
 indirizzo DNS 64  
 indirizzo IP 64  
 intensità 34  
 interruttore di alimentazione 12

## L

lavaggi  
   benefici di 35, 40  
   impostazioni lavaggio post-corsa 13,  
     17  
   manutenzione 13, 17, 40, 42  
   post-corsa 35  
   preparazione allo spegnimento 48  
   preparazione allo stato inattivo  
     (idle) 45  
   standby 40, 45  
 lavaggio di manutenzione 40, 42  
 lavaggio di standby 45  
 lavaggio post-corsa 35, 40  
 linee guida acqua da laboratorio 18  
 lunghezza lettura 21

## M

maniglia del pettine di aspirazione 4  
 materiali di consumo  
   acqua da laboratorio 18  
   forniti da Illumina 18  
   forniti dall'utente 18  
 materiali di consumo forniti  
   dall'utente 18  
 modalità di ricerca 10  
 modalità kiosk 65  
 modalità Windows 65  
 modulo ottico 2  
 monitoraggio della corsa 33

## N

nome dominio 64-65  
 nome gruppo di lavoro 65  
 nome utente 12  
 notifiche e-mail 16

## O

opzioni corsa 13, 15-17

## P

password 12

porre lo strumento in stato inattivo  
(idle) 45

portata, risoluzione dei problemi 59

punteggi qualitativi 34

punteggio qualitativi 33

## R

raggruppamento file di registro 51

reagenti

in kit 18

RFID

cartuccia dei reagenti 31

cella a flusso 28

risoluzione dei problemi 56

soluzione SBS 30

riavvio 10

riavvio in modalità di ricerca 10

risoluzione dei problemi

errori impostazione corsa 55

file specifici per la corsa per 50

fluidica 60

portata 59

raggruppamento file di registro 51

RFID 56

## S

schermata Sequencing

(Sequenziamento) 33

scomparto dei reagenti 2

scomparto della cella a flusso 2-3

scomparto reagenti 4

sensore sportello cella a flusso 6

Sequencing Analysis Viewer 33

servizio di monitoraggio Illumina

Proactive 15

software

antivirus 9

durata della corsa 21

inizializzazione 12

Local Run Manager 5, 7

MiSeqDx Operating Software 5

Real-Time Analysis 5

sullo strumento 5

verifica dello spazio su disco 8

software antivirus 9

software Local Run Manager 5, 7

software MiSeq Operating System 5

software Real-Time Analysis 5

cartella corsa 68

software Real-Time Analysis (RTA)

generazione della griglia 34

soluzione SBS, caricamento 30

sospensione di una corsa 53

spazio su disco

spazio su disco insufficiente 55

verifica 8

spegnimento dello strumento 40, 48

stato di integrità dello strumento 15

## V

vano refrigerato dei reagenti,  
temperatura 6

Volume Test (Test volume) 60

## Assistenza tecnica

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

**Tabella 3** Informazioni di contatto generali Illumina

Sito Web	www.illumina.com
E-mail	techsupport@illumina.com

**Tabella 4** Numeri di telefono dell'Assistenza clienti Illumina

Area geografica	Numero di contatto	Area geografica	Numero di contatto
Nord America	1.800.809.4566	Italia	800.874909
Australia	1.800.775.688	Norvegia	800.16836
Austria	0800.296575	Nuova Zelanda	0800.451.650
Belgio	0800.81102	Paesi Bassi	0800.0223859
Danimarca	80882346	Regno Unito	0800.917.0041
Finlandia	0800.918363	Spagna	900.812168
Francia	0800.911850	Svezia	020790181
Germania	0800.180.8994	Svizzera	0800.563118
Irlanda	1.800.812949	Altri paesi	+44.1799.534000

### Schede di sicurezza (SDS)

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

### Documentazione dei prodotti

La documentazione dei prodotti in formato PDF può essere scaricata dal sito web Illumina. Andare alla pagina [support.illumina.com](http://support.illumina.com), selezionare un prodotto, quindi fare clic su **Documentation & Literature** (Documentazione e letteratura).

