



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 alcuna licenza sui propri diritti su brevetti, marchi di fabbrica, copyright, o diritti secondo il diritto consuetudinario, né alcun diritto simile di alcun terzo.

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 VI CONTENUTE POSSONO CAUSARE DANNI AL/I PRODOTTO/I, LESIONI PERSONALI A UTENTI E TERZI E DANNI MATERIALI E RENDERANNO NULLA QUALSIASI GARANZIA APPLICABILE AL/I PRODOTTO/I.

ILLUMINA NON SI ASSUME ALCUNA RESPONSABILITÀ DERIVANTE DALL'USO IMPROPRIO DEL/DEI PRODOTTO/I QUI DESCRITTI (INCLUSI SOFTWARE O PARTI DI ESSO).

© 2021 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati.

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

## Descrizione generale

Il modulo di analisi Local Run Manager CF Clinical Seq 2.0 è previsto per l'uso con il saggio TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing. Il saggio rileva le mutazioni nelle regioni codificanti la proteina e i limiti introne/esone del gene regolatore della conduttanza transmembrana (Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator, *CFTR*), incluse due ampie delezioni e due mutazioni introniche profonde. Il modulo di analisi esegue l'analisi secondaria e genera report con i dati ottenuti dalle corse di sequenziamento utilizzando TruSight Cystic Fibrosis. Vedere l'insero della confezione per *TruSight Cystic Fibrosis* (documento n. 1000000097720).

Il modulo di analisi esamina regioni brevi di DNA amplificato, o ampliconi, rilevandone le varianti. Il sequenziamento mirato degli ampliconi consente l'elevata copertura di determinate regioni su un ampio numero di campioni.

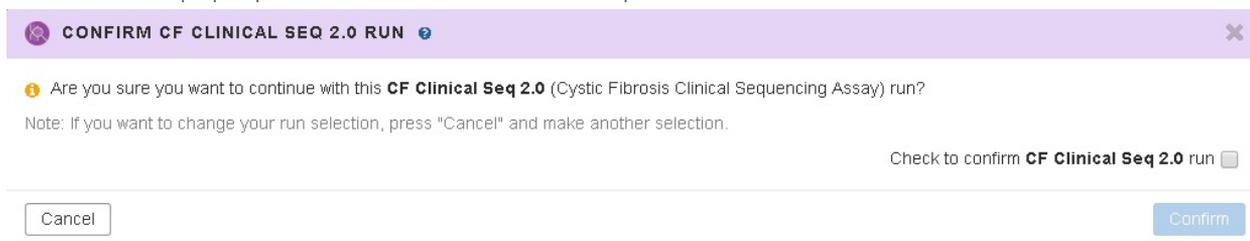
## Informazioni sulla guida

La presente guida fornisce istruzioni per l'impostazione dei parametri di una corsa per il sequenziamento e l'analisi sul modulo di analisi CF Clinical Seq 2.0. L'utilizzo del software richiede nozioni di base dell'attuale sistema operativo Windows e dell'interfaccia utente basata su browser Web. Per informazioni sul pannello di controllo e sulle impostazioni di sistema di Local Run Manager, vedere la *Guida di consultazione del software Local Run Manager per MiSeqDx* (documento n. 1000000011880).

## Immissione delle informazioni per la corsa

### Impostazione dei parametri

- 1 Accedere a Local Run Manager.
- 2 Selezionare **Create Run** (Crea corsa), quindi selezionare **CF Clinical Seq 2.0**. Una finestra di pop-up conferma che CF Clinical Seq 2.0 è la selezione scelta.



- 3 Selezionare la casella di controllo e selezionare **Confirm** (Conferma) per proseguire (oppure selezionare **Cancel** (Annulla) per tornare alla schermata principale).
- 4 Immettere un nome che identifichi la corsa dal sequenziamento fino all'analisi. Utilizzare caratteri alfanumerici, spazi, trattini bassi o trattini (40 caratteri o un numero inferiore).
- 5 **[Facoltativo]** Immettere una descrizione della corsa. Utilizzare caratteri alfanumerici, spazi, trattini bassi o trattini (150 caratteri o un numero inferiore).
- 6 Immettere il numero di lotto e la data di scadenza per il kit di preparazione delle librerie.

## Impostazione dei campioni per la corsa

Specificare i campioni per la corsa mediante una delle seguenti opzioni.

- ▶ **Immissione manuale dei campioni:** utilizzare la tabella vuota che si trova nella schermata Create Run (Crea corsa).
- ▶ **Importazione dei campioni:** individuare un file esterno nel formato con valori separati da virgola (\*.csv). Dalla schermata Create Run (Crea corsa) è possibile scaricare un modello.

### Immissione manuale dei campioni

- 1 Immettere un nome campione univoco nel campo Sample Name (Nome campione). Utilizzare caratteri alfanumerici, trattini bassi o trattini (40 caratteri o un numero inferiore).
- 2 Fare clic con il pulsante destro del mouse e selezionare i campioni di controllo positivi e negativi. Per salvare una corsa questa deve avere almeno un controllo positivo e un controllo negativo.
- 3 **[Facoltativo]** Immettere una descrizione del campione nella scheda Sample Description (Descrizione del campione). Utilizzare caratteri alfanumerici, trattini bassi o trattini (50 caratteri o un numero inferiore).
- 4 **[Facoltativo]** Selezionare un adattatore indice 1 dall'elenco a discesa Index 1 (i7) (Indice 1 - i7). Questa fase è facoltativa perché, per impostazione predefinita, le combinazioni indici i7 e i5 vengono popolate automaticamente.
- 5 **[Facoltativo]** Selezionare un adattatore indice 2 dall'elenco a discesa Index 2 (i5) (Indice 2 - i5). Questa fase è facoltativa perché, per impostazione predefinita, le combinazioni indici i7 e i5 vengono popolate automaticamente.
- 6 Selezionare l'icona **Print** (Stampa) per visualizzare il layout della piastra.
- 7 Selezionare **Print** (Stampa) per stampare il layout della piastra da utilizzare come riferimento per la preparazione delle librerie.
- 8 **[Facoltativo]** Selezionare **Export** (Esporta) per esportare il file contenente le informazioni sui campioni.
- 9 Selezionare **Save Run** (Salva corsa).  
Se vengono inseriti meno di 24 campioni, viene visualizzata la finestra Insufficient Sample (Campione insufficiente). Selezionare **Proceed** (Prosegui) per continuare oppure selezionare **Cancel** (Annulla) per modificare i campioni.



#### ATTENZIONE

La prosecuzione con meno di 24 campioni non è convalidata da Illumina. Per maggiori informazioni, vedere l'Inserito della confezione per TruSight Cystic Fibrosis (documento n. 1000000097720).

### Importazione dei campioni

Le informazioni dei campioni possono essere importate da due tipi di file:

- ▶ Utilizzare un file contenente le informazioni sui campioni che era stato precedentemente esportato dal modulo CF Clinical Seq 2.0 mediante la funzione Export (Esporta).
- ▶ Un file con il modello, che può essere generato selezionando **Template** (Modello) nella schermata Create Run (Crea corsa). Il file con il modello contiene le intestazioni di colonna corrette per eseguire l'importazione, con informazioni sui segnaposti contenuti in ogni colonna. Utilizzare un editor esterno per personalizzare il file con il modello:

- 1 Aggiungere le informazioni sui campioni per ogni campione nella corsa.
- 2 Una volta aggiunte tutte le informazioni, eliminare qualsiasi informazione segnaposto nelle caselle non utilizzate.
- 3 Salvare il file con il modello.

Per importare le informazioni sui campioni:

- 1 Selezionare **Import Samples** (Importa campioni), quindi individuare il file e selezionarlo.
- 2 Selezionare l'icona **Print** (Stampa) per visualizzare il layout della piastra.
- 3 Selezionare **Print** (Stampa) per stampare il layout della piastra da utilizzare come riferimento per la preparazione delle librerie.
- 4 **[Facoltativo]** Selezionare **Export** (Esporta) per esportare le informazioni sui campioni in un file esterno.
- 5 Selezionare **Save Run** (Salva corsa).  
Se vengono inseriti meno di 24 campioni, viene visualizzata la finestra Insufficient Sample (Campione insufficiente). Selezionare **Proceed** (Prosegui) per continuare oppure selezionare **Cancel** (Annulla) per modificare i campioni.



#### ATTENZIONE

La prosecuzione con meno di 24 campioni non è convalidata da Illumina. Per maggiori informazioni, vedere l'Insero della confezione per TruSight Cystic Fibrosis (documento n. 1000000097720).

## Modifica di una corsa

Per istruzioni su come modificare le informazioni della corsa prima del sequenziamento, vedere la *Guida di consultazione del software Local Run Manager per MiSeqDx* (documento n. 1000000011880).

## Metodi di analisi

Per una descrizione dei metodi di analisi per TruSight Cystic Fibrosis, vedere l'insero della confezione di *TruSight Cystic Fibrosis* (documento n. 1000000097720).

## Visualizzazione della corsa e dei risultati

- 1 Dalla schermata principale di Local Run Manager, fare clic sul nome della corsa.
- 2 Dalla scheda Run Overview (Panoramica corsa), rivedere le metriche della corsa di sequenziamento.
- 3 **[Facoltativo]** Selezionare l'icona **Copy to Clipboard** (Copia negli appunti) per copiare il percorso della cartella contenente gli output della corsa.
- 4 Selezionare la scheda Sequencing Information (Informazioni sequenziamento) per rivedere i parametri della corsa e le informazioni relative ai materiali di consumo.
- 5 Selezionare la scheda Samples and Results (Campioni e risultati) per visualizzare la posizione del file dei risultati dell'analisi.  
La scheda fornisce un elenco dei campioni che riepiloga la percentuale di identificazione, le prestazioni, le coordinate non identificate e le informazioni sui campioni di controllo.
  - ▶ Se l'analisi è stata ripetuta, espandere l'elenco a discesa Select Analysis (Seleziona analisi) e selezionare l'analisi appropriata.

- 6 **[Facoltativo]** Fare doppio clic nel campo Comment (Commento) per immettere un commento su un campione contenuto nell'elenco. Fare clic su **Save Changes** (Salva modifiche).
- 7 Selezionare i campioni nell'elenco per visualizzare le informazioni dettagliate sulle varianti. Le informazioni sulle varianti dei campioni vengono visualizzate sotto l'elenco dei campioni.
- 8 **[Facoltativo]** Fare doppio clic nel campo della colonna Interpretation (Interpretazione) per selezionare una delle opzioni seguenti:
  - ▶ CF (Cystic fibrosis): che causa la fibrosi cistica
  - ▶ MVCC (Mutation of Varying Clinical Consequence): mutazione di varie conseguenze cliniche
  - ▶ MOUS (Mutation of Unknown Significance): mutazione con significato sconosciuto
  - ▶ NCFM (Non CF Causing Mutation): mutazione che non causa la fibrosi cistica
  - ▶ Unknown (Sconosciuto)Fare clic su **Save Changes** (Salva modifiche).



#### NOTA

Ogni volta che vengono salvate le modifiche, viene generato un file dei risultati dell'analisi nella cartella Alignment (Allineamento). Questo file include il timestamp aggiunto al nome del file nel formato AAMMGG\_HHMMSS.

Per maggiori informazioni sulle schede Run Overview (Panoramica corsa) e Sequencing Information (Informazioni sequenziamento) e su come rimettere in coda un'analisi, vedere la *Guida di consultazione del software Local Run Manager per MiSeqDx (documento n. 1000000011880)*.

## File dei dati di monitoraggio dei lotti

Al completamento dell'analisi, scegliere una delle opzioni seguenti per visualizzare il file LotTracking.txt .

- ▶ Dalla scheda Samples and Results (Campioni e risultati), fare clic su **Export Lot Tracking Data** (Esporta dati di monitoraggio del lotto).
- ▶ Aprire il file contenuto nella cartella Alignment (Allineamento).  
Il percorso per la cartella Alignment (Allineamento) viene visualizzato nella scheda Samples and Results (Campioni e risultati) nel campo Analysis Folder (Cartella analisi).
  - ▶ **[Facoltativo]** Selezionare l'icona **Copy to Clipboard** (Copia negli appunti) per copiare il percorso della cartella Analysis (Analisi).

Una volta completata l'analisi, il file dei dati di monitoraggio del lotto viene scritto nella cartella Alignment (Allineamento) relativa alla corsa. Ad esempio: MiSeqAnalysis\

## Report dei risultati

Al termine dell'analisi secondaria, i risultati dell'analisi vengono riepilogati sulla scheda Samples and Results (Campioni e risultati). Per il saggio viene creato anche un file dei risultati dell'analisi (output) che riepiloga i risultati in un file di testo delimitato da tabulazioni chiamato TruSightCFClinicalSequencingAssay.txt.

Il file dei risultati dell'analisi include le informazioni della scheda Samples and Results (Campioni e risultati). Scegliere una delle seguenti opzioni per visualizzare il file dei risultati dell'analisi TruSightCFClinicalSequencingAssay.txt:

- ▶ Dalla scheda Samples and Results (Campioni e risultati), fare clic su **Export Data** (Esporta dati).
- ▶ Aprire il file contenuto nella cartella Alignment (Allineamento).

Il percorso per la cartella **Alignment** (Allineamento) viene visualizzato nella scheda **Samples and Results** (Campioni e risultati) nel campo **Analysis Folder** (Cartella analisi).



#### NOTA

Selezionare l'icona **Copy to Clipboard** (Copia negli appunti) per copiare il percorso della cartella **Analysis** (Analisi).

I file dell'analisi per ogni corsa di sequenziamento vengono archiviati sullo strumento e salvati in **MiSeqAnalysis\<Nome cartella corsa>\Data\Intensities\BaseCalls** e **MiSeqAnalysis\<Nome cartella corsa>\Alignment\\_N\AAMMGG\_HHMMSS**. N è un numero sequenziale che aumenta quando l'analisi viene rimessa in coda. AAMMGG\_HHMMSS è il timestamp della corsa.

## Informazioni sul file dei risultati dell'analisi

Il file dei risultati dell'analisi **TruSightClinicalSequencingAssay.txt** include tre sezioni: l'intestazione del file, le informazioni sui campioni e le informazioni sulle varianti dei campioni. L'intestazione del file viene elencata per prima e include informazioni generali sulla corsa. Prestare attenzione che vi è una sola intestazione del file per corsa. Le informazioni sui campioni e le informazioni sulle varianti dei campioni sono invece incluse per ogni campione utilizzato nell'analisi. Queste sezioni vengono accoppiate per ogni campione.

La tabella seguente fornisce una descrizione di ogni riga nell'intestazione del file, che include informazioni sulla corsa:

**Tabella 1 Intestazione file (informazioni corsa)**

Intestazione riga	Descrizione
Test	Descrive il test eseguito.
Run ID (ID corsa)	L'ID della corsa generato da MiSeq Operating Software (MOS) all'avvio della corsa di sequenziamento.
Run Date (Data corsa)	Data (AAMMGG) in cui la corsa di sequenziamento ha avuto inizio in MOS.
Analysis Version (Versione analisi)	La versione del software utilizzato per l'analisi.

La tabella seguente fornisce una descrizione di tutte le righe contenute nelle sezioni delle informazioni sui campioni:

**Tabella 2 Informazioni sui campioni**

Intestazione riga	Descrizione
Sample ID (ID campione)	Il nome del campione fornito al momento della creazione della corsa, assieme all'ID dell'analisi assegnato dal software Local Run Manager. Se una corsa viene rimessa in coda, la parte contenente il nome del campione di Sample ID (ID campione) rimane invariata, mentre viene modificato l'ID dell'analisi. Questo campo si trova solo nel file *.txt.
Sample Name (Nome del campione)	Il nome del campione fornito al momento della creazione della corsa.
Control (Controllo)	Il tipo di campione di controllo fornito al momento della creazione della corsa. I valori sono positivi o negativi. Un campo vuoto indica solo campione.
Comment (Commento)	Campo di testo facoltativo per i commenti. I commenti della corsa di un'analisi precedente non vengono riportati nella corsa dell'analisi successiva.

Intestazione riga	Descrizione
Performance (Prestazioni)	Frequenza di Pass (Superato) o Fail (Non superato) in base alla percentuale di identificazione. Per un campione di controllo positivo: <ul style="list-style-type: none"> <li>• PASS (Superato): con una percentuale di identificazione <math>\geq 99\%</math></li> <li>• FAIL (Non superato): con una percentuale di identificazione <math>&lt; 99\%</math></li> </ul> Per un campione di controllo negativo: <ul style="list-style-type: none"> <li>• PASS (Superato): con una percentuale di identificazione <math>\leq 10\%</math></li> <li>• FAIL (Non superato): con una percentuale di identificazione <math>&gt; 10\%</math></li> </ul> Per un campione non indicato come controllo positivo o negativo: <ul style="list-style-type: none"> <li>• PASS (Superato): con una percentuale di identificazione <math>\geq 99\%</math></li> <li>• FAIL (Non superato): con una percentuale di identificazione <math>&lt; 99\%</math></li> </ul>
Sample Call Rate (Percentuale di identificazione dei campioni)	Il numero di posizioni delle varianti che soddisfano un valore di soglia di affidabilità predefinito diviso per il numero totale di posizioni delle varianti interrogate. La percentuale di identificazione viene descritta in base al singolo campione e riportata come una percentuale che viene calcolata come 1 meno [numero di posizioni delle varianti con identificazioni incomplete diviso per il numero totale di posizioni delle varianti sequenziate].

La tabella seguente fornisce una descrizione di ogni colonna nelle sezioni delle varianti dei campioni:

**Tabella 3 Informazioni sulle varianti dei campioni**

Intestazione colonna	Descrizione
Variant Type (Tipo di variante)	Il tipo di variante. <ul style="list-style-type: none"> <li>• SNV: variante di singolo nucleotide</li> <li>• DIV: variante inserzione delezione</li> <li>• DEL: ampia delezione</li> <li>• PolyTGPolyT: genotipo PolyTG/PolyT nel gene CF</li> </ul>
Coordinate (Coordinata)	La posizione genomica in cui si è stata trovata la variante. Nel file *.txt il nome del campo è Coordinate (Coordinata).
Chromosome (Cromosoma)	L'ID del cromosoma di riferimento. Nel file *.txt il nome del campo è Chromosome (Cromosoma).
Frequency (Frequenza)	La frazione di letture per il campione che include la variante. Per esempio, se la base di riferimento in una determinata posizione è A e il campione 1 ha 60 letture A e 40 letture T, allora la SNV ha una frequenza di variante pari a 0,4.
Depth (Profondità)	Il numero di letture per un campione che copre una determinata posizione.
cDNA Name (HGVS) (Nome cDNA - HGVS)	La descrizione di una variante a livello di DNA mediante la nomenclatura della sequenza di DNA codificante (cDNA) raccomandata dalla Human Genome Variation Society (HGVS).
Protein Name (HGVS) (Nome proteina - HGVS)	La descrizione di una variante a livello di proteina mediante la nomenclatura della sequenza proteica raccomandata dalla Human Genome Variation Society (HGVS).
dbSNP ID (ID dbSNP)	L'ID dbSNP della variante. Nel file *.txt il nome del campo è dbSNP ID (ID dbSNP).
Reference (Riferimento)	La base di riferimento alla coordinata genomica alla quale viene rilevata la variante. Nel file *.txt il nome del campo è Reference (Riferimento).

Intestazione colonna	Descrizione
Result (Risultato)	<p>Il genotipo della variante.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• SNV o DIV: la descrizione dei due alleli osservati. Ad esempio, A/T descrive una SNV dove sono stati osservati entrambi gli alleli A e T ed è Heterozygous (Eterozigote). L'allele wild type viene elencato per primo, seguito dall'allele della variante.</li> <li>• Small Deletions (Delezioni piccole): l'allele della variante descrive l'allele con la delezione. Ad esempio, ATCT/A.</li> <li>• Insertions (Inserzioni): l'allele della variante descrive l'allele con l'inserzione. Ad esempio, C/CT.</li> <li>• DEL (Delezione): il risultato viene riportato come Het Deletion (Delezione eterozigote) o Hom Deletion (Delezione eterozigote).</li> <li>• PolyTGPolyT: l'effettivo genotipo riportato.</li> </ul> <p>Nel file *.txt il nome del campo è Result (Risultato).</p>
Interpretation (Interpretazione)	<p>Questo campo consente al genetista di fornire un'interpretazione clinica della mutazione di ogni campione.</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• CF (Cystic fibrosis): che causa la fibrosi cistica</li> <li>• MVCC (Mutation of Varying Clinical Consequence): mutazione di varie conseguenze cliniche</li> <li>• MOUS (Mutation of Unknown Significance): mutazione con significato sconosciuto</li> <li>• NCFCM (Non CF Causing Mutation): mutazione che non causa la fibrosi cistica</li> <li>• Unknown (Sconosciuto)</li> </ul>

La sezione Sample Variants Information (Informazioni sulle varianti dei campioni) include anche la voce `Coordinates Not Called` (Coordinata non identificata), dove vengono elencate le coordinate genomiche nella regione di interesse nelle quali non viene riportata un'identificazione dovuta a bassi valori di affidabilità.

## Assistenza Tecnica

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

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

Numeri di telefono dell'Assistenza Clienti Illumina

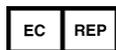
Area geografica	Numero verde	Locale
Nord America	+1.800.809.4566	
Australia	+1.800.775.688	
Austria	+43 800006249	+43 19286540
Belgio	+32 80077160	+32 34002973
Cina	400.066.5835	
Corea del Sud	+82 80 234 5300	
Danimarca	+45 80820183	+45 89871156
Finlandia	+358 800918363	+358 974790110
Francia	+33 805102193	+33 170770446
Germania	+49 8001014940	+49 8938035677
Giappone	0800.111.5011	
Hong Kong, Cina	800960230	
Irlanda	+353 1800936608	+353 016950506
Italia	+39 800985513	+39 236003759
Norvegia	+47 800 16836	+47 21939693
Nuova Zelanda	0800.451.650	
Paesi Bassi	+31 8000222493	+31 207132960
Regno Unito	+44 8000126019	+44 2073057197
Singapore	1.800.579.2745	
Spagna	+34 911899417	+34 800300143
Svezia	+46 850619671	+46 200883979
Svizzera	+41 565800000	+41 800200442
Taiwan, Cina	00806651752	
Altri paesi	+44.1799.534000	

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

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



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



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

**Sponsor Australiano**

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

**PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO**

© 2021 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati.

**illumina®**