

# Local Run Manager

## Modulo di analisi CF 139-Variant 2.0 Micro

### Guida al flusso di lavoro

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

<b>Descrizione generale</b>	<b>3</b>
<b>Immissione delle informazioni per la corsa</b>	<b>3</b>
<b>Metodi di analisi</b>	<b>5</b>
<b>Visualizzazione della corsa e dei risultati</b>	<b>5</b>
<b>File dei dati di monitoraggio dei lotti</b>	<b>6</b>
<b>Report dei risultati</b>	<b>6</b>
<b>Cronologia revisioni</b>	<b>8</b>
<b>Assistenza tecnica</b>	<b>9</b>



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

Al fine di garantire un uso sicuro e corretto dei prodotti qui descritti, le istruzioni riportate nel presente 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 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).

© 2022 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, visitate 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 139-Variant 2.0 Micro è previsto per l'uso con TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay durante l'elaborazione di 24-36 campioni. Il saggio rileva 139 mutazioni rilevanti che causano la fibrosi cistica e le varianti del gene regolatore della conduttanza transmembrana (Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator, CFTR) nel DNA genomico isolato da campioni di sangue intero periferico umano. Il modulo di analisi esegue l'analisi secondaria e genera report con i dati ottenuti dalle corse di sequenziamento utilizzando TruSight Cystic Fibrosis. Per ulteriori informazioni su TruSight Cystic Fibrosis, consultare *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 regioni target su un ampio numero di campioni.

## Informazioni sulla guida

La presente guida fornisce istruzioni per l'impostazione dei metriche di una corsa per il sequenziamento e l'analisi sul modulo di analisi CF 139-Variant 2.0 Micro. L'utilizzo del software richiede conoscenze di base dell'attuale sistema operativo Windows e dell'interfaccia utente basata sul browser Web. Per informazioni sul pannello di controllo e sulle impostazioni di sistema di Local Run Manager, consultare *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 139-Variant 2.0 Micro**.
- 3 Immettere un nome che identifichi la corsa dal sequenziamento fino all'analisi. Utilizzare caratteri alfanumerici, spazi, trattini bassi o trattini (massimo 40 caratteri).
- 4 **[Opzionale]** Immettere una descrizione della corsa. Utilizzare caratteri alfanumerici, spazi, trattini bassi o trattini (massimo 150 caratteri).
- 5 Immettere il numero di lotto e la data di scadenza per il kit di preparazione delle librerie.

### Specificare i campioni per la corsa

Specificare i campioni per la corsa utilizzando una delle seguenti opzioni:

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

### Immissione manuale dei campioni

- 1 Immettere un ID campione unico nel campo Sample Name (Nome campione).

Utilizzare caratteri alfanumerici, trattini o trattini bassi (massimo 40 caratteri).

- 2 Fare clic con il pulsante destro del mouse e selezionare i campioni di controllo positivi e negativi. Per salvare una corsa, deve essere presente almeno un controllo positivo e un controllo negativo.
- 3 **[Opzionale]** Immettere una descrizione del campione nella scheda Sample Description (Descrizione del campione).  
Utilizzare caratteri alfanumerici, trattini o trattini bassi (massimo 50 caratteri).
- 4 **[Opzionale]** Selezionare un adattatore Index 1 (Indice 1) dall'elenco a discesa Index 1 (i7) (Indice 1 - i7).  
Il layout predefinito compila automaticamente le combinazioni di indici i7 e i5.
- 5 **[Opzionale]** Selezionare un adattatore Index 2 (Indice 2) dall'elenco a discesa Index 2 (i5) (Indice 2 - i5).  
Il layout predefinito compila automaticamente le combinazioni di indici i7 e i5.
- 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 **[Opzionale]** Selezionare **Export** (Esporta) per esportare il file contenente le informazioni dei campioni.
- 9 Selezionare **Save Run** (Salva corsa).  
Se sono stati immessi 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.  
Se sono stati immessi più di 36 campioni, viene visualizzato un messaggio di errore e la corsa non viene salvata. Inserire un massimo di 36 campioni.



#### ATTENZIONE

Il sequenziamento con librerie raggruppate in pool contenenti meno di 24 campioni non è convalidato da Illumina. Per ulteriori informazioni, consultare l'inserto della confezione per TruSight Cystic Fibrosis (documento n. 1000000097720).

## Importazione dei campioni

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

- ▶ Un file di informazioni dei campioni precedentemente esportato dal modulo CF 139-Variant 2.0 Micro tramite la funzione Export (Esporta).
- ▶ Un file modello, che può essere creato selezionando **Template** (Modello) nella schermata Create Run (Crea corsa). Il file modello contiene le intestazioni di colonna corrette per eseguire l'importazione e include informazioni segnaposto in ogni colonna. Per personalizzare il file modello, utilizzare un editor esterno come segue:
  - 1 Aggiungere le informazioni relative ai campioni per ogni campione della corsa.
  - 2 Dopo aver aggiunto tutte le informazioni relative ai campioni, eliminare tutte le informazioni segnaposto rimanenti presenti nelle celle inutilizzate.
  - 3 Salvare il file modello.

Per importare le informazioni dei campioni:

- 1 Selezionare **Import Samples** (Importa campioni), quindi cercare 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 **[Opzionale]** Selezionare **Export** (Esporta) per esportare le informazioni dei campioni in un file esterno.
- 5 Selezionare **Save Run** (Salva corsa).  
Se sono stati immessi 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.  
Se sono stati immessi più di 36 campioni, viene visualizzato un messaggio di errore e la corsa non viene salvata. Inserire un massimo di 36 campioni.



#### ATTENZIONE

Il sequenziamento con librerie raggruppate in pool contenenti meno di 24 non è convalidato da Illumina. Consultare Inserto della confezione per TruSight Cystic Fibrosis (documento n. 1000000097720) per maggiori informazioni.

## Modifica di una corsa

Per istruzioni su come modificare le informazioni della corsa prima del sequenziamento, consultare 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, consultare *Inserto della confezione per TruSight Cystic Fibrosis (documento n. 1000000097720)*.

## Visualizzazione della corsa e dei risultati

- 1 Dalla schermata principale di Local Run Manager, selezionare il nome della corsa.
- 2 Nella scheda Run Overview (Panoramica corsa), rivedere le metriche della corsa di sequenziamento.
- 3 **[Opzionale]** 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 e le informazioni sui campioni di controllo.
  - ▶ Se l'analisi è stata ripetuta, espandere l'elenco a discesa Select Analysis (Seleziona analisi).
  - ▶ Selezionare l'analisi appropriata.
- 6 **[Opzionale]** Fare doppio clic nel campo Comment (Commento) per immettere un commento su un campione contenuto nell'elenco. Selezionare **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.

#### 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 l'analisi, consultare *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), selezionare **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).
  - ▶ **[Opzionale]** 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\<Nome cartella corsa>\Alignment\_N\AAMMDD\_HHMMSS**. N è un numero sequenziale che aumenta quando l'analisi viene rimessa in coda. **AAMMGG\_HHMMSS** è il timestamp della corsa.

## 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 di output dei risultati dell'analisi che riepiloga i risultati in un file di testo delimitato da tabulazioni chiamato **TruSightCF139VariantAssay.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 **TruSightCF139VariantAssay.txt**:

- ▶ Dalla scheda Samples and Results (Campioni e risultati), selezionare **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).
- ▶ Selezionare l'icona **Copy to Clipboard** (Copia negli appunti) per copiare il percorso della cartella Analysis (Analisi).

I file di analisi per ciascuna corsa di sequenziamento sono memorizzati sullo strumento. I file vengono salvati in **MiSeqAnalysis\<Nome cartella corsa>\Data\Intensities\BaseCalls** e **MiSeqAnalysis\<Nome cartella corsa>\Alignment\_N\AAMMDD\_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 TruSightCF139VariantAssay.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. Vi è una sola intestazione del file per corsa. Le informazioni sui campioni e le informazioni sulle varianti dei campioni sono 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 della corsa)	L'ID della corsa generato da MCS all'inizio della corsa di sequenziamento.
Run Date (Data della 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 dell'ID del 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 opzionale per i commenti. I commenti della corsa di un'analisi precedente non vengono riportati nella corsa dell'analisi successiva.
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
Mutations (Common Name) (Mutazione - Nome comune)	Nome comune della variante della fibrosi cistica descritta nel database CFTR2. Il nome del campo è Mutations (Common Name) (Mutazione - Nome comune) nel file *.txt.
Mutation Type (Tipo di mutazione)	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>
dbSNP rsID (ID dbSNP rs)	ID dbSNP rs della variante, se applicabile.
CFTR Gene Region (Regione gene CFTR)	Regione del gene CFTR (n. esone o n. introne) in cui è presente la variante.
Genomic Location (Posizione genomica)	Posizione genomica della variante nel cromosoma 7.
cDNA Name (HGVS) (Nome cDNA - HGVS)	Descrizione della variante a livello di DNA mediante la nomenclatura della sequenza di DNA codificante (cDNA) raccomandata dalla Human Genome Variation Society (HGVS). Il nome del campo è cDNA Name (HGVS) (Nome cDNA - HGVS) nel file *.txt.
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). Il nome del campo è Protein Name (HGVS) (Nome proteina - HGVS) nel file *.txt.
Result (Risultato)	Il genotipo della variante. Per le varianti SNV, DIV e DEL: <ul style="list-style-type: none"> <li>• HET: eterozigosi</li> <li>• HOM: omozigosi</li> </ul> Per le varianti PolyTG/PolyT, viene riportato il genotipo effettivo. PolyTGPolyT è riportato solo quando viene rilevata la variante R117H.
Interpretation (Interpretazione)	Questo campo viene sempre lasciato vuoto.

## Cronologia revisioni

Documento	Data	Descrizione della modifica
Documento n. 200017946 v00	Maggio 2022	Versione iniziale.

## 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	Gratuito	Regionale
Nord America	+1 8008094566	
Australia	+1 800775688	
Austria	+43 800006249	+43 19286540
Belgio	+32 80077160	+32 34002973
Cina	4000665835	
Danimarca	+45 80820183	+45 89871156
Finlandia	+358 800918363	+358 974790110
Francia	+33 805102193	+33 170770446
Germania	+49 8001014940	+49 8938035677
Hong Kong, Cina	800960230	
Irlanda	+353 1800936608	+353 016950506
Italia	+39 800985513	+39 236003759
Giappone	08001115011	
Paesi Bassi	+31 8000222493	+31 207132960
Nuova Zelanda	0800451650	
Norvegia	+47 800 16836	+47 21939693
Singapore	+1.800.579.2745	
Corea del Sud	+82 802345300	
Spagna	+34 911899417	+34 800300143
Svezia	+46 850619671	+46 200883979
Svizzera	+41 565800000	+41 800200442
Taiwan, Cina	00806651752	
Regno Unito	+44 8000126019	+44 2073057197
Altri Paesi	+44.1799.534000	

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

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



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

CE



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

**Sponsor australiano**

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

PER USO DIAGNOSTICO IN VITRO

© 2022 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati.

**illumina**<sup>®</sup>