

Instrumento MiSeqDx

Guia de referência para o MOS v4

Este documento e respetivo conteúdo são propriedade da Illumina, Inc. e das suas filiais ("Illumina") e destinam-se unicamente a utilização contratual por parte dos clientes, relativamente à utilização do(s) produto(s) descrito(s) no presente documento e para nenhum outro fim. Este documento e respetivo conteúdo não podem ser utilizados ou distribuídos para qualquer outro fim e/ou de outra forma transmitidos, divulgados ou reproduzidos por qualquer via, seja de que natureza for, sem a autorização prévia por escrito da Illumina. A Illumina não concede qualquer licença ao abrigo da sua patente, marca comercial, direito de autor ou direitos de jurisprudência nem direitos semelhantes de quaisquer terceiros por via deste documento.

O software é-lhe fornecido no âmbito de uma licença ao abrigo dos termos e condições do Acordo de Licença de Software de Sequenciação da Illumina num documento separado. Se não concordar com os termos e condições apresentados, a Illumina não lhe concede a licença do software e não deve utilizar ou instalar o software.

As instruções contidas neste documento têm de ser estrita e explicitamente seguidas por pessoal qualificado e com a devida formação para garantir a utilização adequada e segura dos produtos aqui descritos. Todo o conteúdo deste documento tem de ser integralmente lido e compreendido antes da utilização dos referidos produto(s).

A NÃO OBSERVÂNCIA DA RECOMENDAÇÃO PARA LER INTEGRALMENTE E SEGUIR EXPLICITAMENTE TODAS AS INSTRUÇÕES AQUI CONTIDAS PODE RESULTAR EM DANOS NO(S) PRODUTO(S), EM LESÕES EM PESSOAS, INCLUINDO NOS UTILIZADORES OU NOUTROS, E EM DANOS MATERIAIS.

A ILLUMINA NÃO ASSUME QUALQUER RESPONSABILIDADE RESULTANTE DA UTILIZAÇÃO INADEQUADA DO(S) PRODUTO(S) AQUI DESCRITO(S) (INCLUINDO PARTES DO(S) MESMO(S) OU DO SOFTWARE) OU QUALQUER UTILIZAÇÃO DESSE(S) PRODUTO(S) FORA DO ÂMBITO DAS LICENÇAS EXPRESSAS POR ESCRITO OU PERMISSÕES CONCEDIDAS PELA ILLUMINA EM ASSOCIAÇÃO À AQUISIÇÃO DESSE(S) PRODUTO(S) PELO CLIENTE.

© 2023 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados.

Todas as marcas comerciais são propriedade da Illumina, Inc. ou dos respetivos proprietários. Para obter informações específicas sobre marcas comerciais, consulte www.illumina.com/company/legal.html.

Este software contém a SeqAn Library, que é concedida à Illumina por licença e distribuída ao abrigo da seguinte licença:

Copyright © 2010, Knut Reinert, FU Berlin, Todos os direitos reservados. A redistribuição e a utilização no formato original ou binário, com ou sem modificação, são permitidas desde que se cumpram as seguintes condições:

As redistribuições de código fonte têm de manter o aviso de direitos de autor acima, a lista de condições e o aviso de limitação de responsabilidade que se segue.

As redistribuições no formato binário têm de reproduzir o aviso de direitos de autor acima, esta lista de condições e o seguinte aviso de limitação de responsabilidade na documentação e/ou noutros materiais fornecidos com a distribuição.

O nome da FU Berlin ou Knut Reinert e os nomes dos seus colaboradores não podem ser utilizados para apoiar ou promover produtos derivados deste software sem a permissão prévia por escrito específica.

ESTE SOFTWARE É FORNECIDO PELOS TITULARES DE DIREITOS DE AUTOR E COLABORADORES "CONFORME SE ENCONTRA" E QUAISQUER GARANTIAS EXPRESSAS OU IMPLÍCITAS, INCLUINDO, MAS SEM LIMITAÇÃO, AS GARANTIAS IMPLÍCITAS DE COMERCIALIZAÇÃO E ADEQUAÇÃO A UM FIM PARTICULAR SÃO RENUNCIADAS. EM NENHUMA CIRCUNSTÂNCIA O TITULAR DOS DIREITOS DE AUTOR OU OS COLABORADORES SERÃO RESPONSÁVEIS POR QUAISQUER PERDAS DIRETAS, INDIRETAS, INCIDENTAIS, ESPECIAIS, EXEMPLARES OU CONSEQUENCIAIS (INCLUINDO, MAS SEM LIMITAÇÃO, A AQUISIÇÃO DE BENS OU SERVIÇOS SUBSTITUTOS; PERDA DE UTILIDADE, DADOS OU LUCROS; OU INTERRUPÇÃO DOS NEGÓCIOS) INDEPENDENTEMENTE DA CAUSA E DE QUALQUER TEORIA DE RESPONSABILIZAÇÃO, QUER CONTRATUAL, POR RESPONSABILIDADE OBJETIVA OU INFRAÇÃO (INCLUINDO NEGLIGÊNCIA OU DE OUTRA FORMA) RESULTANTES DE QUALQUER FORMA ASSOCIADA À UTILIZAÇÃO DESTES SOFTWARE, MESMO SE A POSSIBILIDADE DESSES DANOS FOR INFORMADA.

Histórico de revisões

Documento n.º	Data	Descrição da alteração
Documento n.º 200010452 v01	Outubro de 2023	<ul style="list-style-type: none"> • Referências atualizadas à Configuração de Ensaio Local • Atualização da secção do serviço de monitorização Illumina Proactive para incluir a funcionalidade de Enviar Estado do Instrumento, para manutenção e resolução de problemas. • Atualização do procedimento de lavagem da linha do modelo. • Adicionada uma nota às preferências de e-mail que definem os parâmetros de falha de leitura RFID.
Documento n.º 200010452 v00	Novembro de 2021	Edição inicial para suportar o MOS v4.0 e o Local Run Manager v3.0.

Índice

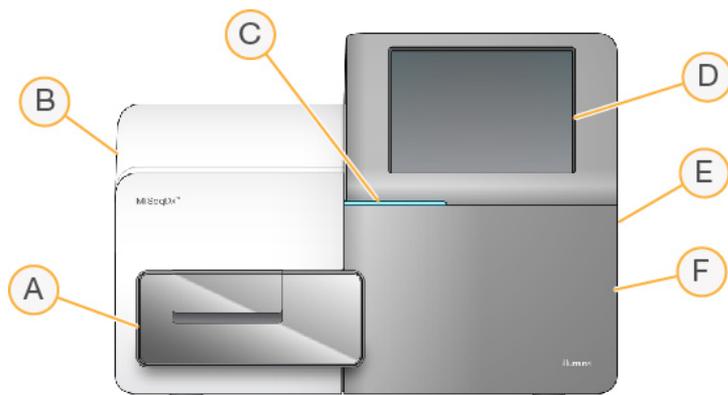
Histórico de revisões	iii
Descrição geral	1
Componentes	1
Software MiSeqDx	4
Software Local Run Manager	5
Espaço em disco necessário	6
Políticas de restrição de software	6
Software antivírus	7
Modo de sequenciação	7
Introdução	9
Iniciar o MiSeqDx	9
Definir a opção de lavagem pós-ensaio	9
Definir a opção de início automático de ensaio	10
Ativar o suporte proativo da Illumina	10
Definir preferências de e-mail	11
Definir a localização da pasta de saída predefinida	12
Consumíveis necessários	12
Armazenamento e manuseamento	13
Sequenciação	14
Introdução	14
Duração do ensaio	14
Geração de clusters	14
Sequenciação	14
Análise	14
Preparar o cartucho de reagentes	15
Iniciar sessão e seguir as indicações de sequenciação	17
Limpar a célula de fluxo	17
Carregar a célula de fluxo	19
Carregar reagentes	20
Monitorizar o ensaio	23
Realizar uma lavagem pós-ensaio	25
Manutenção	31
Frequência de manutenção	31

Manutenção preventiva	31
Realizar uma lavagem de manutenção	31
Efetuar uma lavagem para suspensão	34
Encerrar o instrumento	37
Resolução de problemas	38
Introdução	38
Agrupar registos para a resolução de problemas	38
Executar a verificação do sistema	39
Interromper ou parar um ensaio	39
Levantar manualmente as unidades de aspiração do cartucho de reagentes	41
Resolver erros de configuração do ensaio	41
Resolver falhas na leitura da RFID	42
Impedir a reinicialização durante um ensaio	44
Resolução de problemas de erros associados à taxa de fluxo	44
Efetuar um teste do volume	44
Resolver erros de temperatura na unidade de refrigeração de reagentes	45
Resolver erros de análise do Local Run Manager	46
Configurar as definições do sistema	46
Pastas de saída	49
Pastas do ensaio	49
Assistência Técnica	50

Descrição geral

Componentes

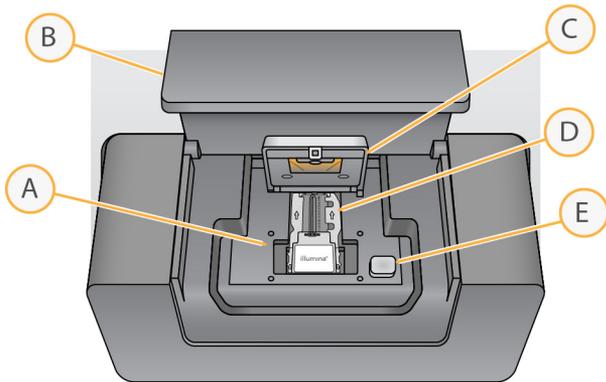
O MiSeqDx tem os seguintes componentes exteriores:



- A. **Compartimento da célula de fluxo** — Contém o estrado da célula de fluxo que aloja a célula de fluxo ao longo do ensaio. Os motores do estrado da célula de fluxo movem o estrado para fora do módulo óptico incluído para o carregamento da célula de fluxo e voltam a colocar o estrado quando o ensaio inicia.
- B. **Módulo óptico incluído** — Contém componentes óticos que permitem a aquisição de imagens da célula de fluxo.
- C. **Barra de estado** — Indica quando a célula de fluxo está pronta para sequenciação (verde), em processamento (azul) ou quando precisa de atenção (laranja).
- D. **Monitor com ecrã tátil** — Apresenta a interface do software de controlo para a configuração do sistema e a configuração do ensaio.
- E. **Porta USB externa** — Facilita a transferência dos ficheiros e dados para o computador do instrumento a partir do monitor do ecrã tátil.
- F. **Compartimento de reagentes** — Contém os reagentes às temperaturas corretas, as soluções de lavagem e um frasco para os reagentes usados. Um trinco magnético fixa a porta do compartimento de reagentes.

A interface MiSeqDx guia o utilizador pelos passos de configuração do ensaio utilizando o monitor do ecrã tátil. O carregamento dos componentes do ensaio requer o acesso ao compartimento dos reagentes e ao compartimento da célula de fluxo.

Compartimento da célula de fluxo

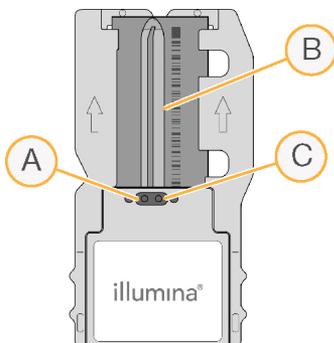


- A. Estrado da célula de fluxo
- B. Porta do compartimento da célula de fluxo
- C. Trinco da célula de fluxo
- D. Célula de fluxo
- E. Botão de libertação do trinco da célula de fluxo

O compartimento da célula de fluxo aloja o estrado da célula de fluxo, a estação térmica e as ligações de fluídicos para a célula de fluxo. O estrado da célula de fluxo aloja a célula de fluxo e o trinco da célula de fluxo fixa e posiciona a célula de fluxo. Quando o trinco da célula de fluxo se fecha, dois pinos próximo da dobradiça do trinco posicionam automaticamente a célula de fluxo.

A estação térmica, localizada atrás da plataforma da célula de fluxo, controla as mudanças na temperatura da célula de fluxo necessárias para a geração de clusters e a sequenciação.

Célula de fluxo



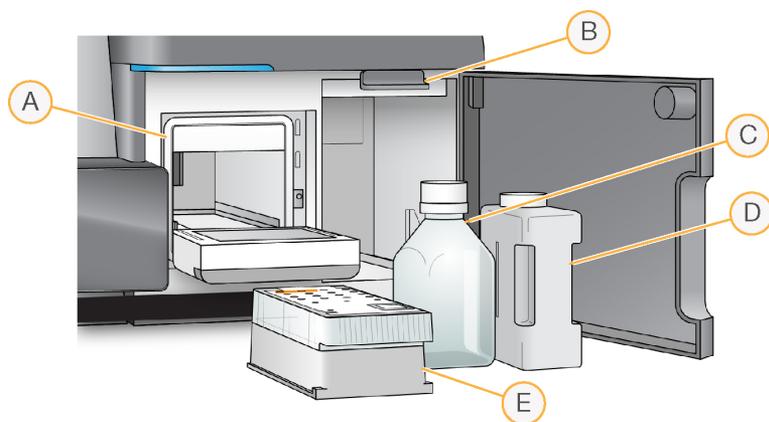
- A. Porta de saída
- B. Área de imagem
- C. Porta de entrada

A célula de fluxo MiSeqDx é um substrato à base de vidro de utilização única no qual os clusters são gerados e a reação de sequenciação é realizada.

Os reagentes entram na célula de fluxo através da porta de entrada, passam pela área de imagem de faixa única e, em seguida, saem da célula de fluxo através da porta de saída. Os resíduos que saem da célula de fluxo são distribuídos no frasco de resíduos.

Durante o ensaio de sequenciação, são adquiridas imagens da faixa única em pequenas áreas de imagem designadas blocos.

Compartimento de reagentes



- A. Unidade de refrigeração de reagentes
- B. Pega da unidade de aspiração (mostrada na posição elevada)
- C. Frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2)
- D. Frasco de resíduos
- E. Cartucho de reagentes

O compartimento de reagentes contém a unidade de refrigeração de reagentes e as posições para o frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2) e o frasco de resíduos.

Durante o ensaio, a unidade de refrigeração de reagentes inclui um cartucho de reagentes de utilização única. Durante a lavagem do instrumento, a unidade de refrigeração de reagentes inclui o tabuleiro de lavagem. O software baixa automaticamente as unidades de aspiração em cada reservatório do cartucho de reagentes na altura apropriada durante um ensaio, dependendo do processo que está a ser realizado.

Do lado direito da unidade de refrigeração de reagentes encontram-se duas ranhuras de encaixe justo, uma para o frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2) e uma para o frasco de resíduos. A pega da unidade de aspiração bloqueia os frascos no devido lugar e baixa a unidade de aspiração apropriada em cada frasco.

Os reagentes são bombeados através das unidades de aspiração e linhas de fluídicos e, em seguida, para a célula de fluxo. Os resíduos de reagentes são distribuídos no frasco de resíduos ao longo do processo.

Software MiSeqDx

O conjunto do software do instrumento inclui aplicações integradas que executam ensaios de sequenciação, análise no instrumento e funções relacionadas.

- **MiSeq Operating Software (MOS)** — Controla o funcionamento do instrumento. A interface do MiSeq Operating Software (MOS) orienta-o ao longo dos passos para carregar a célula de fluxo e os reagentes antes de iniciar o ensaio. À medida que o ensaio evolui, é apresentada uma descrição geral das estatísticas de qualidade. O software é instalado e executado no instrumento.
- Durante o ensaio, o MOS opera a plataforma da célula de fluxo, dispensa os reagentes, controla as temperaturas da célula de fluxo e capta imagens dos clusters na célula de fluxo. O MOS executa o ensaio de acordo com os parâmetros especificados no software Local Run Manager.
- **Software Real-Time Analysis (RTA)** — Executa uma análise da imagem e uma identificação de bases, e atribui um índice de qualidade a cada base de cada ciclo. As imagens são armazenadas temporariamente na pasta do ensaio para processamento pelo RTA e, em seguida, são eliminadas automaticamente quando a análise RTA estiver concluída.
- **Local Run Manager Software** — Uma solução integrada no instrumento utilizada para criar um ensaio, monitorizar o estado, analisar dados de sequenciação e ver resultados. O Local Run Manager também monitoriza informações da amostra e controla as permissões do utilizador. O software é executado no computador do instrumento e é visualizado através de um navegador da Internet. Consulte [Software Local Run Manager na página 5](#).

Ícones de estado

Sempre que o instrumento é inicializado ou ativado, um ícone de estado na interface do software de controlo indica uma mudança nas condições. Um número no ícone indica o número de condições para um estado.

Quando um estado do ensaio muda, o ícone pisca para o alertar. Selecione o ícone para ver uma descrição da condição. Selecione **Acknowledge** (Confirmar) para apagar a mensagem e **Close** (Fechar) para fechar a caixa de diálogo.

Filtre os tipos de mensagens que aparecem na janela de estado ao selecionar os ícones ao longo da margem superior da janela. Selecionar um ícone alterna a condição para mostrar ou ocultar.

Ícone de estado	Nome do estado	Descrição
	Estado OK	Nenhuma alteração. O sistema está normal.
	Aviso	Os avisos não param um ensaio. No entanto, alguns avisos exigem ações antes de continuar.
	Erro	Os erros normalmente param um ensaio e exigem uma ação antes de prosseguirem o ensaio.

Indicadores com sensores

Três indicadores com sensores na base de cada ecrã de interface representam o estado de um componente do instrumento.

Figura 1 Indicadores com sensores



Da esquerda para a direita, os indicadores com sensores representam os seguintes componentes:

- Temperatura da unidade de refrigeração de reagentes em °C
- Temperatura da célula de fluxo em °C

Software Local Run Manager

O software Local Run Manager é uma solução integrada no instrumento para gravar amostras para um ensaio, especificar os parâmetros do ensaio, monitorizar o estado, analisar os dados de sequenciação e ver os resultados.

Além disso, o Local Run Manager controla a autenticação do utilizador, concedendo várias permissões de nível de acesso aos utilizadores. As permissões são guardadas num ficheiro de base de dados, a que o MiSeqDx faz referência. O Local Run Manager também pode monitorizar a execução de sequenciação. Para obter mais informações, consulte *Guia do software Local Run Manager v4 para o MiSeqDx (documento n.º 200046657)*.

Sequenciação durante a análise

Os recursos de computação do instrumento MiSeqDx dedicam-se à sequenciação ou análise.

Com o Local Run Manager, caso se inicie um novo ensaio de sequenciação no MiSeqDx antes da conclusão da análise secundária de um ensaio anterior, é apresentada uma caixa de diálogo de confirmação. Após confirmar que quer que se inicie um novo ensaio de sequenciação, a análise secundária do ensaio anterior é interrompida até à conclusão da sequenciação do novo ensaio.

Após a conclusão da sequenciação do novo ensaio, a análise secundária do ensaio anterior inicia-se automaticamente de novo do início.

Espaço em disco necessário

O computador do instrumento integrado tem aproximadamente 650 GB de capacidade de armazenamento.

Antes de iniciar um ensaio, o software verifica o espaço em disco disponível. Se não existir espaço em disco suficiente para o ensaio, é apresentada uma mensagem do software. A mensagem indica a quantidade de espaço em disco necessária para o ensaio e a quantidade de espaço em disco que deve ser libertada antes de poder prosseguir com o ensaio.

Se for indicado que deve libertar espaço em disco, transfira ou elimine pastas de ensaios antigos, conforme apropriado.

Políticas de restrição de software

As políticas de restrição de software (SRP) do Windows utilizam regras para permitir apenas a execução de um software específico. Para o MiSeqDx, as regras de SRP são baseadas em certificados, extensões e nomes de ficheiros ou diretórios.

Por predefinição, as SRP estão ativadas para evitar que software não desejável seja executado no computador de controlo. Apenas o utilizador sbsadmin pode desativar as SRP.

Um representante de TI ou um administrador do sistema pode adicionar e remover regras para personalizar o nível de segurança. Se o sistema for adicionado a um domínio, o Objeto de Política de Grupo local (GPO) pode modificar automaticamente as regras e desativar as SRP.

Para mais informações sobre a configuração das SRP, consulte [Segurança e redes do computador de controlo do instrumento da Illumina](#).



ATENÇÃO

A desativação das SRP impede-as de fornecer a devida proteção. A mudança das regras faz com que as proteções predefinidas sejam substituídas.

Software antivírus

Recomendamos vivamente um software antivírus à sua escolha para proteger o computador de controlo do instrumento contra vírus. Tem de desligar temporariamente as Políticas de restrição de software (SRP) do Windows durante a instalação do software antivírus.

Para mais informações sobre a configuração de software antivírus e das SRP, consulte [Segurança e redes do computador de controlo do instrumento da Illumina](#).

Modo de sequenciação

Quando inicializa o instrumento, é apresentado o ecrã **Choose an operating system** (Escolher um sistema operativo) do Windows. Este ecrã permite-lhe seleccionar o sistema operativo para inicializar o modo de sequenciação — Research (Investigação) (RUO) ou Diagnostic (Diagnóstico) (Dx). Se aguardar 10 segundos, é seleccionado automaticamente o modo predefinido. Pode alterar o modo predefinido e o temporizador do modo de inicialização predefinido em qualquer altura.

- Depois de seleccionar um modo, tem de reinicializar o sistema para mudar o modo. Consulte [Reinicializar o software do sistema na página 8](#).
- Quando muda entre o modo RUO e o modo Dx, é-lhe pedido que realize uma lavagem pós-ensaio. O estado de lavagem não é retido entre modos.

Para utilizar a função de reinicialização, é necessário o acesso de nível de Administrador do Windows ou permissão para reinicializar para o modo de investigação para um utilizador normal.



ATENÇÃO

Restore Factory OS (Restaurar o sistema operativo para as predefinições de fábrica) (RUO/Dx) destina-se apenas à utilização pelos técnicos de assistência da Illumina. Esta opção elimina permanentemente todas as informações na unidade C e restaura o sistema operativo para o seu estado original. Seleccionar esta opção exige que um técnico de assistência da Illumina restaure o sistema. Depois de iniciar esta operação, não é possível cancelar o processo de restauro. Selecione esta opção apenas se recomendado pelos técnicos de assistência da Illumina.

Para mudar o modo de inicialização predefinido:

1. Selecione **Change defaults or choose other options** (Alterar predefinições ou escolher outras opções).
2. No ecrã Options (Opções), selecione **Choose a default operating system** (Escolher um sistema operativo predefinido).

3. Selecione a opção de inicialização que prefere.
4. Selecione a seta preta para voltar ao ecrã **Options** (Opções).

Para alterar o temporizador do modo de inicialização predefinido:

1. Selecione **Change defaults or choose other options** (Alterar predefinições ou escolher outras opções).
2. No ecrã Options (Opções), selecione **Change the timer** (Alterar o temporizador).
3. No ecrã Change the timer (Alterar o temporizador), selecione o temporizador desejado.
4. Selecione a seta preta para voltar ao ecrã **Options** (Opções).



AVISO

No Windows 10, se um utilizador reinicializar o sistema, apenas esse utilizador poderá iniciar sessão no sistema depois do arranque.

Reinicializar o software do sistema

Utilize o comando Reboot (Reinicializar) para reinicializar software do sistema. Não é necessário reinicializar o software como parte da manutenção regular.

- No menu principal, selecione **Reboot** (Reinicializar).

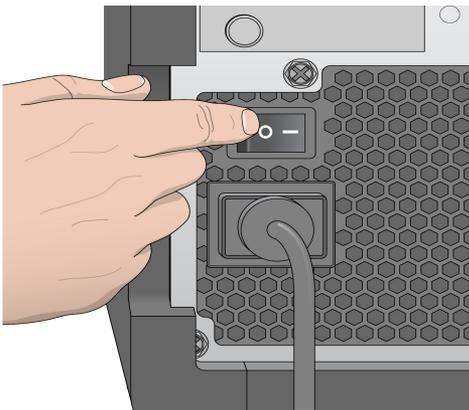
Introdução

Iniciar o MiSeqDx

1. Ligue o interruptor da parte de trás do instrumento, colocando-o na posição | (on) (ligado).

NOTA Para um melhor desempenho, deixe o instrumento ligado continuamente. No entanto, se for necessário desligar o instrumento, consulte [Encerrar o instrumento na página 37](#).
Aguarde no *mínimo* 60 segundos antes de colocar o interruptor de alimentação novamente na posição ON (Ligado).

Figura 2 Localização do interruptor de alimentação



2. Aguarde o carregamento do sistema e, em seguida, selecione o sistema operativo e inicie sessão. Se necessário, consulte o administrador da instalação para obter o nome de utilizador e palavra-passe.
Para mais informações sobre o sistema operativo e as opções do modo de sequenciação, consulte [Modo de sequenciação na página 7](#).
Quando o sistema operativo for carregado, o MiSeq Operating Software (MOS) inicia e inicializa automaticamente o sistema. Observe que se o modo RUO estiver selecionado, o MiSeq Control Software (MCS) é iniciado automaticamente.
3. Para o Local Run Manager, se a gestão de utilizadores estiver ativada, inicie sessão utilizando o nome de utilizador e a palavra-passe do Local Run Manager e selecione **Next** (Seguinte).

Definir a opção de lavagem pós-ensaio

Após cada ensaio, é necessária uma lavagem do instrumento. O software exige a realização de uma lavagem antes de configurar um ensaio subsequente. A opção de lavagem pós-ensaio especifica que tipo de lavagem é realizada por predefinição. Uma lavagem pós-ensaio demora cerca de 30 minutos.

Uma lavagem de manutenção demora cerca de 90 minutos

1. No menu principal, selecione **System Settings** (Definições do sistema).
2. Selecione o separador **Run Settings** (Definições do ensaio).
3. Selecione **Post Run Wash** (Lavagem pós-ensaio) ou **Maintenance Wash** (Lavagem de manutenção).

Definir a opção de início automático de ensaio

O MiSeqDx pode ser configurado para iniciar o ensaio de sequenciação automaticamente após uma verificação automática bem-sucedida. Para configurar esta funcionalidade, é necessário nível de acesso de Administrador do Local Run Manager.

1. No menu principal, selecione **System Settings** (Definições do sistema).
2. Selecione o separador Run Settings (Definições do ensaio).
3. Selecione a caixa de verificação **Start run after pre-run check. Do not prompt for confirmation.** (Iniciar ensaio após verificação pré-ensaio. Não solicitar confirmação.).
Se esta definição estiver desativada, inicie o ensaio manualmente após a verificação pré-ensaio.

Ativar o suporte proativo da Illumina

1. No menu principal, selecione **System Settings** (Definições do sistema).
 2. Selecione o separador Proactive (Proativo).
- Selecione **Send Instrument Health** (Enviar estado do instrumento) para ativar o serviço de monitorização Illumina Proactive. O nome da definição na interface do software pode ser diferente do nome neste manual, dependendo da versão do MOS utilizada.
Com esta definição ativada, os dados de desempenho do instrumento são enviados para a Illumina. Estes dados ajudam a Illumina a resolver problemas mais facilmente e a detetar potenciais falhas, permitindo uma manutenção proativa e maximizando o tempo de atividade do instrumento. Para mais informações sobre os benefícios deste serviço, consulte a *Nota técnica do Illumina Proactive (documento n.º 1000000052503)*.
Este serviço:
 - Não envia dados de sequenciação.
 - Requer que o instrumento esteja ligado a uma rede com acesso à Internet.
 - Está desativado por predefinição. Para ativar este serviço, ative a definição **Send Instrument Health** (Enviar estado do instrumento).
 - Selecione **Send instrument health information to Illumina to aid technical support** (Enviar dados do estado do instrumento para a Illumina para ajudar o suporte técnico) para ativar o serviço de monitorização Illumina Proactive. O nome da definição na interface do software pode ser diferente do nome neste manual, dependendo da versão do MOS utilizada.

Com esta definição ativada, os dados de desempenho do instrumento são enviados para a Illumina. Estes dados ajudam a Illumina a resolver problemas mais facilmente e a detetar potenciais falhas, permitindo uma manutenção proativa e maximizando o tempo de atividade do instrumento. Para mais informações sobre os benefícios deste serviço, consulte a *Nota técnica do Illumina Proactive (documento n.º 1000000052503)*.

Este serviço:

- Não envia dados de sequenciação.
- Requer que o instrumento esteja ligado a uma rede com acesso à Internet.
- Está desativado por predefinição. Para ativar este serviço, ative a definição **Send instrument health information to Illumina to aid technical support** (Enviar dados do estado do instrumento para a Illumina para ajudar o suporte técnico).

3. Na lista pendente, selecione a região da localização à qual o instrumento deve ser ligado.

Definir preferências de e-mail

O MiSeqDx pode ser configurado para enviar uma notificação por e-mail quando a análise RTA estiver concluída, quando a análise secundária no instrumento estiver concluída ou se ocorrer um erro crítico com o software MiSeqDx. Normalmente, esta configuração é realizada durante a instalação do MiSeqDx. Local Run Manager Para utilizar esta funcionalidade, é necessário nível de acesso de utilizador Administrador.

1. No menu principal, selecione **System Settings** (Definições do sistema).
2. Selecione o separador **Email Notifications** (Notificações por e-mail).
3. Introduza as seguintes informações:
 - **Local SMTP email server address** (Endereço do servidor de e-mail SMTP local) — Utilize o teclado no ecrã para introduzir o endereço do servidor de e-mail SMTP local. Se necessário, contacte o administrador da instalação para obter estas informações.
 - **Sender address** (Endereço do remetente) — Utilize o teclado no ecrã para introduzir o endereço de e-mail do remetente. Este endereço pode ser o seu endereço de e-mail ou um endereço diferente especificado para enviar notificações por e-mail. O endereço de e-mail do remetente deve ter o mesmo nome de domínio que o endereço do servidor de e-mail.
 - **Recipient addresses** (Endereços dos destinatários) — Utilize o teclado no ecrã para introduzir os endereços de e-mail de cada destinatário para receber notificações. Separe cada endereço de e-mail com uma vírgula. Selecione **Test** (Testar) para enviar um e-mail de teste para os destinatários de notificação.
 - **Notify via email when** (Notificar-me por e-mail quando) — Selecione a caixa de verificação para cada um dos eventos do ensaio que gerarem uma notificação.

NOTA É permitida uma análise de diagnóstico para a falha na leitura de uma RFID. Se não for possível efetuar a leitura da RFID de dois consumíveis, o software não pode prosseguir para o passo de configuração de ensaio seguinte. Se este erro ocorrer, contacte o Suporte Técnico da Illumina. Se selecionar a opção **Notify via email when** (Notificar por e-mail quando) e a caixa de verificação **On-Instrument analysis is complete** (A análise no instrumento estiver concluída), as notificações por e-mail só são enviadas se o ensaio não estiver configurado para enviar dados de sequenciação para BaseSpace Sequence Hub.

Definir a localização da pasta de saída predefinida

A pasta de saída do MiSeqDx define a localização predefinida para os ficheiros de saída da análise. As pastas podem encontrar-se numa rede local ou no computador do instrumento. Mude a pasta de saída predefinida para uma localização na rede para partilhar ou para o armazenamento de longa duração.

Para configurar esta funcionalidade, é necessário nível de acesso de utilizador Admin do Local Run Manager.

1. No menu principal, selecione **System Settings** (Definições do sistema).
2. Selecione o separador Run Settings (Definições do ensaio).
3. No campo Output Folder (Pasta de saída), introduza o caminho para a localização da pasta. Certifique-se de que introduz o caminho UNC, tal como `\\YourServer\Path\OutputFolder`.



AVISO

Se utilizar uma unidade mapeada, como `Z:\OutputFolder`, a análise do ensaio de sequenciação não é concluída.

Consumíveis necessários

Consumíveis de sequenciação

Os consumíveis de sequenciação necessários para executar o MiSeqDx são fornecidos separadamente como parte do kit de diagnóstico *in vitro*.

Consumíveis fornecidos pelo utilizador

Certifique-se de que estão disponíveis os seguintes consumíveis fornecidos pelo utilizador antes do início de um ensaio.

Consumível	Finalidade
Toalhitas com álcool isopropílico a 70% ou Etanol a 70%	Limpar a plataforma e o vidro da célula de fluxo
Pano de laboratório, libertação reduzida de pelo	Limpar a plataforma da célula de fluxo
Papel para lentes, 4 x 6 pol.	Limpar a célula de fluxo
Tubos do MiSeq	Lavar a linha do modelo (opcional)
NaOCl, 5%	Lavar a linha do modelo (opcional)
Tween 20	Lavar o instrumento
Pinças de ponta quadrada de plástico (opcional)	Remover a célula de fluxo do contentor de transporte da célula de fluxo
Água, grau laboratorial	Lavar o instrumento

Diretrizes para água laboratorial

Utilize água laboratorial ou desionizada para realizar procedimentos no instrumento. Nunca utilize água da torneira.

Utilize apenas água dos seguintes graus ou equivalente:

- Água desionizada
- Illumina PW1
- Água de 18 Megaohms (MΩ)
- Água Milli-Q
- Água Super-Q
- Água para biologia molecular

Armazenamento e manuseamento

Elemento	Especificação
Temperatura	Transporte e armazenamento: -10 °C a 40 °C (14 °F a 104 °F) Condições de funcionamento: 19 °C a 25 °C (66 °F a 77 °F)
Humidade	Transporte e armazenamento: Humidade sem condensação Condições de funcionamento: 30–75% de humidade relativa (sem condensação)

Sequenciação

Introdução

Para realizar um ensaio no MiSeqDx, siga os passos de configuração descritos neste capítulo. Após o início do ensaio, não é necessária qualquer outra intervenção do utilizador.

Após a conclusão do ensaio de sequenciação, realize uma lavagem do instrumento.

Duração do ensaio

A duração do ensaio tem por base o número de ciclos realizados. Dependendo da versão dos reagentes MiSeqDx, o MiSeqDx pode efetuar um ensaio de sequenciação de extremidades emparelhadas até 2 x 301 ciclos de sequenciação.

Número de ciclos numa leitura

O número de ciclos realizados numa leitura é um ciclo adicional ao número de ciclos analisados. O ciclo extra é necessário para os cálculos de fase e pré-fase.

Por exemplo, um ensaio de 150 ciclos de extremidade emparelhada executa duas leituras de 151 ciclos (2 x 151) para um total de 302 ciclos, mais quaisquer ciclos para as leituras indexadas. No final do ensaio, são analisados 2 x 150 ciclos.

Geração de clusters

Durante a geração de clusters, as moléculas de ADN individuais estão vinculadas à superfície da célula de fluxo e, em seguida, são amplificadas em ponte para formar clusters.

Sequenciação

Após a geração de clusters, são adquiridas imagens dos clusters utilizando combinações de filtros e LED específicos a cada um dos quatro dideoxynucleotídeos com identificação fluorescente. Após a conclusão da aquisição de imagens de um bloco da célula de fluxo, a célula de fluxo é posicionada para expor o bloco seguinte. O processo é repetido até serem adquiridas as imagens de todos os blocos. Após a análise das imagens, o software executa a análise primária, que inclui a identificação de bases, a filtragem e o índice de qualidade.

Análise

Quando o ensaio está concluído, o software de análise Local Run Manager inicia automaticamente para executar a análise secundária.

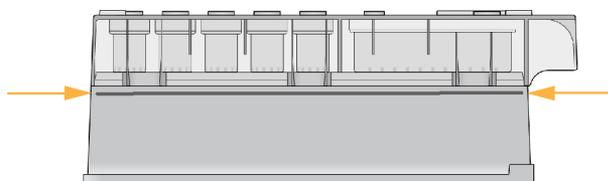
A análise secundária pode ser monitorizada utilizando uma ligação à Internet de outro computador, desde que o computador se encontre na mesma ligação de rede que o MiSeqDx. Consulte o *Guia do software Local Run Manager v4 para o MiSeqDx (documento n.º 200046657)*.

Preparar o cartucho de reagentes

As instruções que se seguem descrevem como descongelar o cartucho de reagentes utilizando um banho com água à temperatura ambiente.

1. Descongele o cartucho de reagentes num banho com água que contenha água desionizada à temperatura ambiente suficiente para mergulhar a base no cartucho de reagentes até à linha de água impressa no cartucho de reagentes. Não permita que a água exceda a linha de água máxima.
2. Retire o cartucho de reagentes do armazenamento de -25 °C a -15 °C.
3. Coloque o cartucho de reagentes num banho com água que contenha água desionizada à temperatura ambiente suficiente para mergulhar a base do cartucho de reagentes. Não permita que a água exceda a linha de água máxima impressa no cartucho de reagentes.

Figura 3 Linha de água máxima



4. Deixe o cartucho de reagentes descongelar no banho com água à temperatura ambiente até estar completamente descongelado.
Os tempos de descongelamento variam entre aproximadamente 60 a 90 minutos, dependendo do tipo de cartucho de reagentes. Consulte o folheto informativo do ensaio para obter mais informações.
5. Remova o cartucho do banho com água e bata-o delicadamente na bancada para deslocar a água da base do cartucho. Seque a base do cartucho. Certifique-se de que não foi salpicada nenhuma água para a parte superior do cartucho de reagentes.

Inspeccionar o cartucho de reagentes

1. Inverta o cartucho de reagentes dez vezes para misturar os reagentes descongelados e, em seguida, verifique se todas as posições estão descongeladas.
2. Inspeccione os reagentes nas posições 1, 2 e 4 para garantir que estão completamente misturados e sem precipitados.

NOTA É essencial que os reagentes no cartucho estejam completamente descongelados e misturados para garantir a sequenciação correta.

3. Bata levemente o cartucho na bancada para reduzir as bolhas de ar nos reagentes.

NOTA Os tubos da unidade de aspiração do MiSeqDx vão para o fundo de cada reservatório para aspirar os reagentes, por isso, é importante que os reservatórios estejam isentos de bolhas de ar.

4. Coloque o cartucho de reagentes em gelo ou coloque de lado a uma temperatura entre 2 °C e 8 °C (até seis horas) até estar pronto para preparar o ensaio. Para obter os melhores resultados, avance diretamente para o carregamento de amostras e configuração do ensaio.

Carregar bibliotecas de amostras para o cartucho

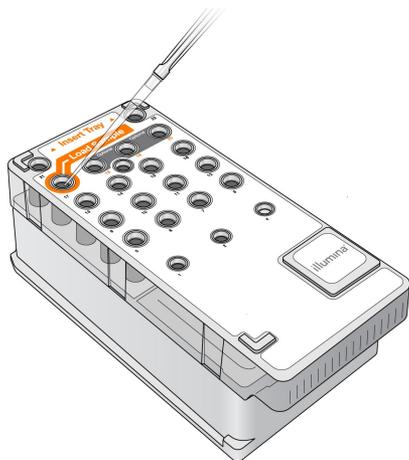
Quando o cartucho de reagentes está totalmente descongelado e pronto para utilizar, o operador pode carregar amostras no cartucho.

1. Utilize uma ponta de pipeta de 1 ml separada, limpa e vazia para perfurar o selo de alumínio sobre o reservatório no cartucho de reagentes identificado com **Load Samples** (Carregar amostras).

NOTA Não perfure qualquer outras posições de reagentes. As outras posições de reagentes são perfuradas automaticamente durante o ensaio.

2. Efetue a pipetagem de 600 µl de amostra preparada da biblioteca de amplicões diluídos (DAL) no reservatório **Load Samples** (Carregar amostras). Evite tocar no selo de alumínio.
3. Verifique se estão visíveis bolhas de ar no reservatório depois de carregar a amostra. Se estiverem presentes bolhas de ar, bata delicadamente no cartucho no banco para soltar as bolhas.

Figura 4 Carregar bibliotecas



4. Prossiga diretamente com os passos de configuração do ensaio utilizando a interface do MiSeq Operating Software (MOS).

Iniciar sessão e seguir as indicações de sequenciação

1. No ecrã Home (Início), selecione **Sequence** (Sequência).
2. Se o ecrã de início de sessão abrir, introduza as credenciais do utilizador corretas e, em seguida, selecione **Next** (Seguinte). Depois de iniciar sessão, selecione **Sequence** (Sequência) de novo.
3. Selecione um ensaio na lista.
4. [Opcional] Selecione **Preview Samples** (Pré-visualizar amostras) para ver uma lista de amostras no ensaio.
5. Selecione **Next** (Seguinte).
6. Siga as indicações para carregar a célula de fluxo e os reagentes e configurar o ensaio (descrito nas secções seguintes).

Limpar a célula de fluxo

A célula de fluxo está submersa num tampão de armazenamento num recipiente da célula de fluxo.

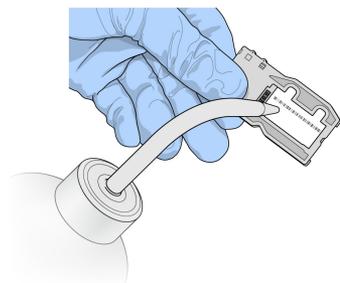
1. Calce um novo par de luvas sem pó.
2. Utilizando uma pinça de plástico, agarre na célula de fluxo pela base do cartucho de plástico e retire-a do recipiente da célula de fluxo.

Figura 5 Remover a célula de fluxo



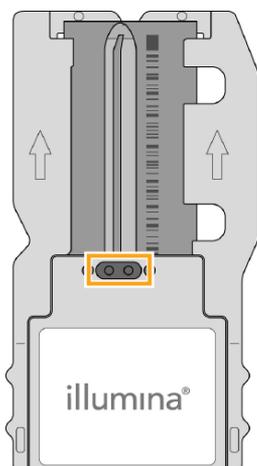
3. Enxague ligeiramente a célula de fluxo com água de grau laboratorial, garantindo que elimina os sais em excesso quer do vidro quer do cartucho de plástico.
Os sais em excesso podem afetar a instalação da célula de fluxo no instrumento. Se os sais secarem na área de aquisição de imagens, a aquisição de imagens também pode ser afetada.

Figura 6 Enxaguar a célula de fluxo



4. Tendo cuidado em redor da junta da porta da célula de fluxo (realçada na ilustração seguinte), seque bem a célula de fluxo e o cartucho utilizando um pano de limpeza de lentes que não largue fiapos. Seque delicadamente a área da junta e do vidro adjacente.

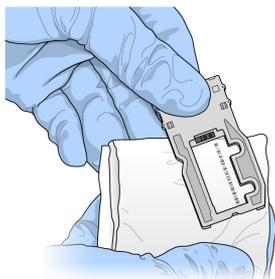
Figura 7 Portas e juntas da célula de fluxo



5. Limpe o vidro da célula de fluxo com um toalhete com álcool. Certifique-se de que o vidro não apresenta traços, impressões digitais nem fiapos ou fibras de tecido.

NOTA Não utilize o toalhete com álcool na junta da porta da célula de fluxo.

Figura 8 Secar a célula de fluxo



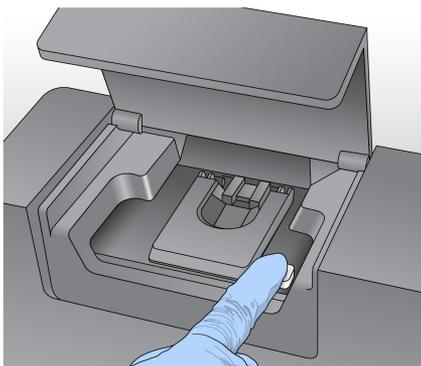
6. Seque o álcool em excesso com um pano de limpeza de lentes que não largue fiapos.

7. Certifique-se de que as portas da célula de fluxo estão isentas de obstruções e que a junta está bem instalada em redor das portas da célula de fluxo.
Se a junta parecer deslocada, pressione delicadamente na mesma ao colocá-la no sítio até encaixar fixamente em redor das portas da célula de fluxo.

Carregar a célula de fluxo

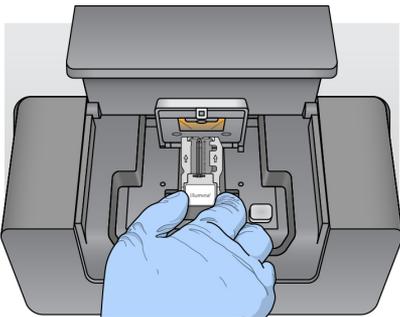
1. Levante a porta do compartimento da célula de fluxo e, em seguida, prima o botão de libertação do lado direito do trinco da célula de fluxo. O trinco da célula de fluxo abre-se.

Figura 9 Abrir o trinco da célula de fluxo



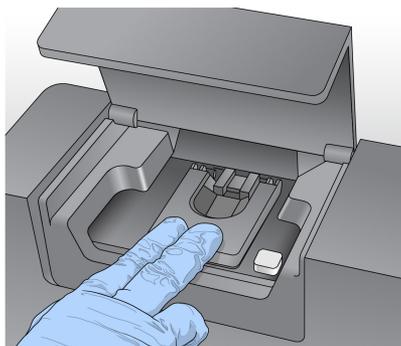
2. Certifique-se de que o estrado da célula de fluxo não contém fiapos. Se estiverem presentes fiapos ou outros detritos, limpe o estrado da célula de fluxo utilizando um toalhete com álcool ou um pano que não largue fiapos humedecido com etanol ou isopropanol. Limpe cuidadosamente a superfície do estrado da célula de fluxo até estar limpa e seca.
3. Ao segurar na célula de fluxo pelas extremidades do cartucho da célula de fluxo, coloque-a no estrado da célula de fluxo.

Figura 10 Colocar a célula de fluxo no estrado



4. Prima delicadamente o trinco da célula de fluxo para baixo para o fechar sobre a célula de fluxo. À medida que o trinco da célula de fluxo fecha, os pinos de alinhamento posicionam a célula de fluxo. Um clique audível indica que o trinco da célula de fluxo está encaixado.

Figura 11 Fechar o trinco da célula de fluxo



5. Se o software não identificar a RFID da célula de fluxo, consulte [Resolver falhas na leitura da RFID na página 42](#).

NOTA Se não for possível ler a RFID, as informações de identificação podem ser introduzidas manualmente. No entanto, o software permite a falha de apenas um dos três componentes com etiqueta RFID (célula de fluxo, cartucho de reagentes, MiSeqDx SBS Solution (PR2)) num ensaio de diagnóstico in vitro. Para mais informações, consulte [Resolver falhas na leitura da RFID na página 42](#).

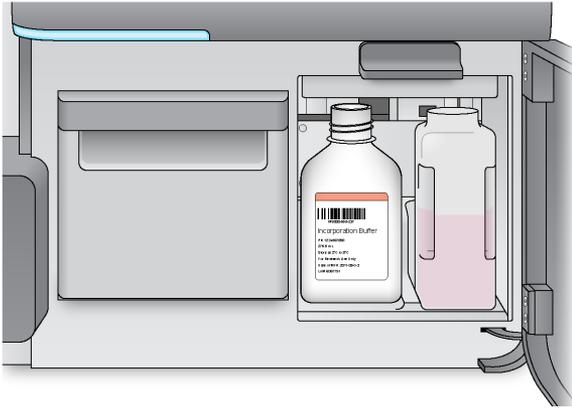
6. Feche a porta do compartimento da célula de fluxo.
7. Selecione **Next** (Seguinte).

Carregar reagentes

Carregar MiSeqDx SBS Solution (PR2) e verificar a garrafa de resíduos

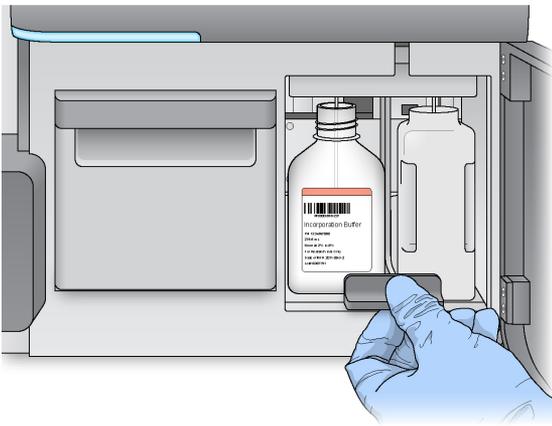
1. Retire o frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2) do armazenamento entre 2 °C e 8 °C. Inverta para misturar e, em seguida, remova a tampa.
2. Abra a porta do compartimento de reagentes.
3. Levante a pega da unidade de aspiração até ficar bloqueada no sítio.
4. Retire o frasco de lavagem e carregue o frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2).

Figura 12 Carregue o frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2).



5. Esvazie o conteúdo do frasco de resíduos no recipiente apropriado.
6. Baixe lentamente a pega da unidade de aspiração. Certifique-se de que as unidades de aspiração baixam nos frascos de MiSeqDx SBS Solution (PR2) e frascos de resíduos.

Figura 13 Baixar a pega da unidade de aspiração



7. Se o software não identificar a RFID do frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2), consulte [Resolver falhas na leitura da RFID na página 42](#).

NOTA Se não for possível ler a RFID, as informações de identificação podem ser introduzidas manualmente. No entanto, o software permite a falha de apenas um dos três componentes com etiqueta RFID (célula de fluxo, cartucho de reagentes, MiSeqDx SBS Solution (PR2)) num ensaio de diagnóstico in vitro. Para mais informações, consulte [Resolver falhas na leitura da RFID na página 42](#).

8. Selecione **Next** (Seguinte).

Carregar o cartucho de reagentes

1. Abra a porta da unidade de refrigeração de reagentes.

NOTA Não deixe a porta da unidade de refrigeração de reagentes aberta durante períodos prolongados.

2. Mantenha o cartucho de reagentes na extremidade com a etiqueta da Illumina e deslize o cartucho de reagentes na unidade de refrigeração de reagentes até o cartucho parar.

Figura 14 Carregar cartucho de reagentes



3. Feche a porta da unidade de refrigeração de reagentes.
4. Se o software não identificar a RFID do cartucho de reagentes, consulte [Resolver falhas na leitura da RFID na página 42](#).

NOTA Se não for possível ler a RFID, as informações de identificação podem ser introduzidas manualmente. No entanto, o software permite a falha de apenas um dos três componentes com etiqueta RFID (célula de fluxo, cartucho de reagentes, MiSeqDx SBS Solution (PR2)) num ensaio de diagnóstico in vitro. Para mais informações, consulte [Resolver falhas na leitura da RFID na página 42](#).

5. Para iniciar o ensaio, selecione uma das seguintes opções.
 - Se o sistema não estiver configurado para iniciar automaticamente após uma verificação bem-sucedida, selecione **Start Run** (Iniciar ensaio).
 - Se o sistema estiver configurado para iniciar automaticamente após uma verificação bem-sucedida, o ensaio de sequenciação inicia automaticamente. O operador não tem de estar presente. No entanto, se ocorrer algum erro durante a verificação, o ensaio não inicia automaticamente.

NOTA Se a temperatura da unidade de refrigeração de reagentes estiver fora do intervalo, poderá impedir o início do ensaio de sequenciação. Consulte [Resolver erros de temperatura na unidade de refrigeração de reagentes na página 45](#).

Nota importante antes de iniciar o ensaio



AVISO

O MiSeqDx é sensível à vibração. Tocar no instrumento depois de iniciar um ensaio pode afetar adversamente os resultados de sequenciação.

Depois de carregar o cartucho de reagente e fechar a porta do compartimento de reagentes, não abra o compartimento da célula de fluxo ou as portas do compartimento de reagentes. Não toque no monitor do instrumento, exceto para interromper o ensaio. Para mais informações, consulte [Interromper um ensaio na página 39](#).



AVISO

Certifique-se de que fecha todos os ficheiros no MiSeqDx antes de iniciar um ensaio e não abra os ficheiros durante um ensaio.

Monitorizar o ensaio

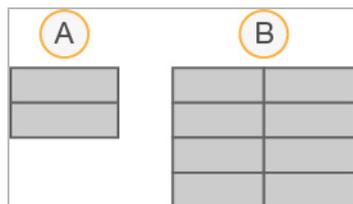
Durante um ensaio, monitorize o detalhe do ensaio utilizando o ecrã Sequencing (Sequenciação) no instrumento. O ecrã Sequencing (Sequenciação) é apenas de visualização.

Também pode utilizar o Local Run Manager para monitorizar um ensaio remotamente se o instrumento estiver ligado à mesma rede.

O Local Run Manager mostra o progresso do ensaio e as informações de sequenciação (total de clusters, % de clusters PF, leitura 1 e leitura 2 %>= Q30 e último ciclo com pontuação). Para obter mais informações, consulte o Software [Software Local Run Manager na página 5](#).

1. No ecrã Sequencing (Sequenciação) do instrumento, monitorize o progresso do ensaio, as intensidades e os índices de qualidade que são apresentados.
 - **Run Progress** (Progresso do ensaio) — Apresenta o progresso do ensaio numa barra de estado e enumera o número de ciclos concluídos.
 - **Intensity** (Intensidade) — Apresenta o valor das intensidades dos clusters do 90º percentil para cada bloco.
O gráfico na área de intensidade representa o número de blocos cuja aquisição de imagens está a ser realizada.
 - Se for adquirida a imagem da célula de fluxo apenas na superfície superior, é apresentado um gráfico de uma única coluna.

- Se for adquirida a imagem da célula de fluxo na superfície superior e superfície inferior, é apresentado um gráfico de duas colunas.



- A. Indica dois blocos, apenas na superfície superior
 - B. Indica quatro blocos, superfície superior e inferior
- Q-Score All Cycles** (Índice de qualidade de todos os ciclos) — Apresenta a percentagem média de bases superior a Q30, que é uma medição do índice de qualidade. Um índice de qualidade é uma previsão da probabilidade de uma identificação de bases incorreta. Os índices de qualidade são calculados após o ciclo 25.

Índice de qualidade	Probabilidade de identificação de bases incorreta
Q40	1 em 10 000
Q30	1 em 1000
Q20	1 em 100
Q10	1 em 10

- Cluster Density (K/mm²)** (Densidade dos clusters [K/mm²]) — Apresenta o número de clusters por milímetro quadrado para o ensaio. Idealmente, espere uma densidade dos clusters de 800 K/mm².

NOTA A pureza de uma identificação de bases é o rácio da intensidade do sinal mais elevado dividido pela soma dos dois sinais mais elevados. Se mais de uma identificação de bases apresentar um valor de pureza inferior a 0,6 nos primeiros 25 ciclos, as leituras não passam no filtro de qualidade.

- Estimated Yield (Mb)** (Rendimento estimado [Mb]) — Apresenta o número projetado de bases identificadas para o ensaio, medido em megabases. Estes dados são apresentados apenas após o ciclo 25.
- Quando o ensaio estiver concluído, é apresentado o botão Next (Seguinte). Reveja os resultados no ecrã Sequencing (Sequenciação) antes de continuar.

NOTA O ecrã Sequencing (Sequenciação) continua visível até selecionar Next (Seguinte). Depois de selecionar Next (Seguinte), não é possível regressar ao ecrã Sequencing (Sequenciação).

3. Selecione **Next** (Seguinte) para sair do ecrã Sequencing (Sequenciação) e prosseguir para uma lavagem pós-ensaio.

Geração de modelos

O Real-Time Analysis (RTA) utiliza os primeiros quatro ciclos do ensaio de sequenciação para a geração de modelos. A geração de modelos é o processo através do qual são definidas as posições dos clusters ao longo da superfície completa da célula de fluxo de acordo com a posição das coordenadas X e Y.

Após a geração do modelo das posições dos clusters, as imagens produzidas em cada ciclo subsequente de aquisição de imagens são alinhadas em relação ao modelo. As intensidades dos clusters individuais nos quatro canais de cores de nucleótidos são extraídas e as identificações de base são produzidas a partir das intensidades normalizadas dos clusters.

Métricas do ensaio

As métricas do ensaio são apresentadas no ecrã Sequencing (Sequenciação) em diferentes pontos num ensaio. Durante os passos de geração de clusters, não são apresentadas quaisquer métricas.

Após o início da sequenciação, são apresentadas as seguintes métricas nos ciclos indicados:

Ciclo	Indicador
Ciclo 1–4	Intensidade
Ciclo 4–25	Intensidade e densidade do cluster
Ciclo 25 até à conclusão do ensaio	Intensidade, Densidade do cluster, % PF, Rendimento e Índices de qualidade

Realizar uma lavagem pós-ensaio

A lavagem pós-ensaio é a lavagem padrão do instrumento realizada entre ensaios de sequenciação. Após a conclusão de um ensaio de sequenciação, realize sempre uma lavagem do instrumento. Siga as indicações do software para carregar os componentes de lavagem e realizar a lavagem. A lavagem pós-ensaio demora aproximadamente 20 minutos.

Inicie a lavagem diretamente após o ensaio. É necessária uma lavagem do instrumento antes de poder configurar um ensaio subsequente. Para realizar uma lavagem pós-ensaio noutra altura que não seja diretamente após um ensaio, utilize o comando no ecrã Perform Wash (Realizar lavagem) para iniciar a lavagem.

As lavagens regulares do instrumento garantem o desempenho contínuo nas seguintes formas:

- Eliminam quaisquer reagentes residuais das linhas de fluídicos e unidades de aspiração
- Impedem a acumulação de sais e a cristalização nas linhas de fluídicos e unidades de aspiração
- Impedem a contaminação cruzada do ensaio anterior

Tem a opção de realizar uma lavagem pós-ensaio que inclui uma lavagem da linha do modelo com uma solução de hipoclorito de sódio (NaOCl). A lavagem demora aproximadamente 30 minutos. Consulte [Procedimento com a lavagem da linha do modelo na página 27](#).

NOTA Deixe a célula de fluxo usada no instrumento. É necessário carregar uma célula de fluxo no instrumento para realizar uma lavagem do instrumento.

Consumíveis fornecidos pelo utilizador

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, catálogo n.º P7949)
- Água laboratorial
- NaOCl (utilizar com uma lavagem pós-ensaio que inclui uma lavagem da linha do modelo)
- Tubo do MiSeq (ref.ª MS-102-9999) (para lavagens pós-ensaio que incluem uma lavagem da linha do modelo)

Procedimento

1. Prepare uma solução de lavagem nova com Tween 20 e água de grau laboratorial conforme se segue:
 - a. Adicione 5 ml de 100% Tween 20 a 45 ml de água de grau laboratorial. Estes volumes resultam em 10% Tween 20.
 - b. Adicione 25 ml 10% Tween 20 a 475 ml de água de grau laboratorial. Estes volumes resultam numa solução de lavagem de 0,5% Tween 20.
 - c. Inverta várias vezes para misturar.
2. Prepare os componentes de lavagem com uma solução de lavagem de 0,5% Tween 20 nova, conforme se segue:
 - a. Adicione 6 ml de solução de lavagem a cada reservatório do tabuleiro de lavagem.
 - b. Adicione 350 ml de solução de lavagem ao frasco de lavagem de 500 ml.
3. No ecrã de lavagem pós-ensaio, selecione **Start Wash** (Iniciar lavagem). O software levanta automaticamente as unidades de aspiração na unidade de refrigeração de reagentes. Aguarde vários segundos para garantir que as unidades de aspiração são totalmente elevadas antes de continuar.

Não selecione **Perform optional template line wash** (Realizar a lavagem da linha do modelo opcional) no ecrã de lavagem pós-ensaio. A lavagem da linha do modelo exige um procedimento diferente. Consulte [Procedimento com a lavagem da linha do modelo na página 27](#).
4. Abra a porta do compartimento de reagentes e a porta da unidade de refrigeração de reagentes, e deslize o cartucho de reagente da unidade de refrigeração de reagentes.

5. Deslize o tabuleiro de lavagem na unidade de refrigeração de reagentes até parar e, em seguida, feche a porta da unidade de refrigeração de reagentes.
6. Levante a pega da unidade de aspiração na parte frontal do frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2) e frasco de resíduos até ficar bloqueada no sítio.
7. Remova o frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2) e substitua-o pelo frasco de lavagem.

NOTA Elimine o frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2) após cada ensaio. Não reutilize qualquer MiSeqDx SBS Solution (PR2) restante.

8. Remova o frasco de resíduos e elimine o conteúdo corretamente. Volte a colocar o frasco de resíduos no compartimento de reagentes.



WARNING (AVISO)

Este conjunto de reagentes contém químicos potencialmente perigosos. Podem ocorrer danos corporais por inalação, ingestão, contacto com a pele e contacto ocular. A ventilação deve ser adequada para o manuseamento de materiais perigosos em reagentes. Use equipamento de proteção, incluindo proteção ocular, luvas e bata de laboratório adequados para o risco de exposição. Manuseie os reagentes usados como resíduos químicos e elimine-os de acordo com a legislação e os regulamentos locais, regionais e nacionais aplicáveis. Para informações adicionais relativas ao ambiente, saúde e segurança, consulte as fichas SDS em support.illumina.com/sds.html.

9. Baixe lentamente a pega da unidade de aspiração, garantindo que as unidades de aspiração baixam na direção do frasco de lavagem e frasco de resíduos.
10. Feche a porta do compartimento de reagentes.
11. Selecione **Next** (Seguinte). A lavagem pós-ensaio é iniciada.

Quando a lavagem estiver concluída, deixe a célula de fluxo usada, o tabuleiro de lavagem e o frasco de lavagem com a solução de lavagem residual no instrumento.

NOTA As unidades de aspiração permanecem na posição inferior, o que é normal. Deixe a solução de lavagem não usada no tabuleiro de lavagem e frasco de lavagem para impedir que as unidades de aspiração fiquem ressequidas e impedir a entrada de ar no sistema.

Procedimento com a lavagem da linha do modelo

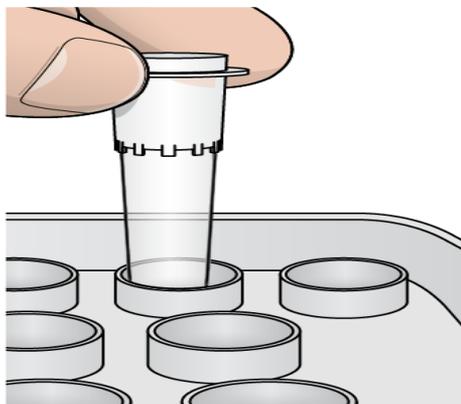
1. Prepare uma solução de lavagem nova com Tween 20 e água de grau laboratorial conforme se segue.
 - a. Adicione 5 ml de 100% Tween 20 a 45 ml de água de grau laboratorial. Estes volumes resultam em 10% Tween 20.
 - b. Adicione 25 ml 10% Tween 20 a 475 ml de água de grau laboratorial. Estes volumes resultam numa solução de lavagem de 0,5% Tween 20.

- c. Inverta cinco vezes para misturar.
2. Prepare uma solução de lavagem nova com NaOCl e água de grau laboratorial conforme se segue.
 - a. Adicione 36 µl de NaOCl 5% a 864 µl de água de grau laboratorial. Estes volumes resultam numa diluição de 1:25 NaOCl.
 - b. Adicione 50 µl da diluição a 1:25 de NaOCl a 950 µl da água de grau laboratorial num tubo do MiSeq (ref.^a MS-102-9999).

NOTA É importante utilizar a concentração correta de NaOCl. Certifique-se de que verifica a percentagem de NaOCl na etiqueta do produto. Se a concentração for demasiado alta, poderá provocar a falha da geração de clusters nos ensaios subsequentes. Se não estiver disponível 5% NaOCl, crie uma solução de 1 ml de 0,01% NaOCl em água de grau laboratorial. Não utilize NaOCl com uma lavagem de manutenção ou uma lavagem para suspensão.

3. Prepare os componentes de lavagem com uma solução de lavagem nova, conforme se segue.
 - a. Adicione 6 ml de solução de lavagem a cada reservatório do tabuleiro de lavagem, exceto ao reservatório número 17.
 - b. Adicione 350 ml de solução de lavagem ao frasco de lavagem de 500 ml.
4. Insira o tubo MiSeq que contém a solução de lavagem de NaOCl a 0,01% no reservatório 17 do tabuleiro de lavagem até que o gargalo do tubo fique nivelado com o tabuleiro.

Figura 15 Tubo do MiSeq na posição 17 do tabuleiro de lavagem



NOTA Certifique-se de que introduz o tubo do MiSeq com NaOCl apenas na posição 17. Introduzir o tubo noutra posição pode provocar a falha da geração de clusters nos ensaios subsequentes e danificar o sistema de fluidos do instrumento MiSeqDx.

5. Quando o ensaio estiver concluído, selecione **Start Wash** (Iniciar lavagem). O software levanta automaticamente as unidades de aspiração na unidade de refrigeração de reagentes.

6. Selecione **Perform optional template line wash** (Realizar a lavagem da linha do modelo opcional) no ecrã Post-Run Wash (Lavagem pós-ensaio).
Ao utilizar o fluxo de trabalho VeriSeq PGS, a opção **Perform option at template line wash** (Executar opção na lavagem da linha do modelo) está pré-selecionada. O MCS monitoriza o tipo de lavagem pós-ensaio realizada após cada ensaio. Se a opção **Perform optional template line wash** (Executar lavagem opcional de linha de modelo) não estiver selecionada para a lavagem pós-ensaio, uma mensagem no ecrã Run Review (Revisão do ensaio) lembra-o da próxima vez que iniciar a sequenciação do ensaio.
7. Abra a porta do compartimento de reagentes e a porta da unidade de refrigeração de reagentes, e deslize o cartucho de reagente da unidade de refrigeração de reagentes.
8. Deslize o tabuleiro de lavagem na unidade de refrigeração de reagentes até parar e, em seguida, feche a porta da unidade de refrigeração de reagentes.
9. Levante a pega da unidade de aspiração na parte frontal do frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2) e frasco de resíduos até ficar bloqueada no sítio.
10. Remova o frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2) e substitua-o pelo frasco de lavagem.

NOTA Elimine o frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2) após cada ensaio. Não reutilize qualquer MiSeqDx SBS Solution (PR2) restante.

11. Remova o frasco de resíduos e elimine o conteúdo corretamente. Volte a colocar o frasco de resíduos no compartimento de reagentes.



AVISO

Este conjunto de reagentes contém químicos potencialmente perigosos. Podem ocorrer danos corporais por inalação, ingestão, contacto com a pele e contacto ocular. Use equipamento de proteção, incluindo proteção ocular, luvas e bata de laboratório adequados para o risco de exposição. Manuseie os reagentes usados como resíduos químicos e elimine-os de acordo com a legislação e os regulamentos locais, regionais e nacionais aplicáveis. Para obter informações adicionais ambientais, de segurança e de saúde, consulte a ficha de dados de segurança (SDS) em support.illumina.com/sds.html.

12. Baixe lentamente a pega da unidade de aspiração, garantindo que as unidades de aspiração baixam na direção do frasco de lavagem e frasco de resíduos.
13. Feche a porta do compartimento de reagentes.
14. Selecione **Next** (Seguinte). A lavagem pós-ensaio é iniciada.
Quando a lavagem estiver concluída, deixe a célula de fluxo usada, o tabuleiro de lavagem e o frasco de lavagem com a solução de lavagem residual no instrumento.

NOTA As unidades de aspiração permanecem na posição inferior, o que é normal. Deixe a solução de lavagem não usada no tabuleiro de lavagem e no frasco de lavagem para impedir que as unidades de aspiração fiquem ressequidas e impedir a entrada de ar no sistema.

Manutenção

Frequência de manutenção

Efetue as atividades de manutenção descritas neste capítulo nos intervalos apresentados nas tabelas que se seguem.

Tabela 1 Manutenção durante o funcionamento normal

Atividade	Mensalmente	Conforme necessário
Lavagem de manutenção	X	
Lavagem para suspensão		Para preparar para inatividade (≥ 7 dias sem utilização)
Encerramento do instrumento		X

Tabela 2 Manutenção durante a inatividade (≥ 7 dias de inutilização)

Atividade	Mensalmente	Conforme necessário
Lavagem para suspensão	X	
Encerramento do instrumento		X

Manutenção preventiva

A Illumina recomenda realizar uma manutenção preventiva por ano civil. Se não tiver um contrato de assistência em vigor, contacte o seu Gestor de Conta Territorial ou o Suporte Técnico da Illumina para organizar um serviço de manutenção preventiva cobrável.

Realizar uma lavagem de manutenção

Para garantir um ótimo desempenho, realize uma lavagem de manutenção a cada 30 dias. A lavagem de manutenção demora cerca de 90 minutos a concluir. A lavagem inclui uma série de três passos de lavagem que lavam completamente o sistema utilizando uma solução de lavagem de água de grau laboratorial misturada com Tween 20.

Pode configurar o seu instrumento para realizar uma lavagem de manutenção, em vez de uma lavagem pós-ensaio, entre ensaios. Consulte [Definir a opção de lavagem pós-ensaio na página 9](#).

Consumíveis fornecidos pelo utilizador

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, catálogo n.º P7949)
- Água laboratorial



ATENÇÃO

Feche sempre a porta da unidade de refrigeração de reagentes depois de carregar o tabuleiro de lavagem e antes de iniciar uma lavagem. Este passo impede potenciais ferimentos que podem ocorrer se as suas mãos se encontrarem no percurso das unidades de aspiração quando estas são baixadas.

Procedimento

1. Certifique-se de que uma célula de fluxo usada está carregada no instrumento.
2. No ecrã Home (Início), selecione **Perform Wash** (Realizar lavagem).
3. No ecrã Perform Wash (Realizar lavagem), selecione **Maintenance Wash** (Lavagem de manutenção). O software levanta automaticamente as unidades de aspiração na unidade de refrigeração de reagentes.

NOTA Utilize sempre uma solução de lavagem nova para cada passo de lavagem. Reutilizar a solução de lavagem da lavagem anterior pode voltar a colocar resíduos nas linhas de fluídicos.

Realizar a primeira lavagem

1. Prepare uma solução de lavagem nova com Tween 20 e água de grau laboratorial conforme se segue:
 - a. Adicione 5 ml de 100% Tween 20 a 45 ml de água de grau laboratorial. Estes volumes resultam em 10% Tween 20.
 - b. Adicione 25 ml 10% Tween 20 a 475 ml de água de grau laboratorial. Estes volumes resultam numa solução de lavagem de 0,5% Tween 20.
 - c. Inverta várias vezes para misturar.
2. Prepare os componentes de lavagem com uma solução de lavagem de 0,5% Tween 20 nova, conforme se segue:
 - a. Adicione 6 ml de solução de lavagem a cada reservatório do tabuleiro de lavagem.
 - b. Adicione 350 ml de solução de lavagem ao frasco de lavagem de 500 ml.
3. Coloque o tabuleiro de lavagem e o frasco de lavagem no instrumento:
 - a. Abra a porta do compartimento de reagentes e a porta da unidade de refrigeração de reagentes, e deslize o cartucho de reagente ou o tabuleiro de lavagem na unidade de refrigeração de reagentes.
 - b. Deslize o tabuleiro de lavagem na unidade de refrigeração de reagentes até parar. Feche a porta da unidade de refrigeração de reagentes.

- c. Levante a pega da unidade de aspiração na parte frontal do frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2) e frasco de resíduos até ficar bloqueado no sítio, e volte a colocar o frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2) com o frasco de lavagem.

NOTA Elimine o frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2) após cada ensaio. Não reutilize qualquer MiSeqDx SBS Solution (PR2) restante.

- d. Remova o frasco de resíduos e elimine o conteúdo corretamente. Volte a colocar o frasco de resíduos no compartimento de reagentes.
 - e. Baixe lentamente a pega da unidade de aspiração, garantindo que as unidades de aspiração baixam na direção do frasco de lavagem e frasco de resíduos.
 - f. Feche a porta do compartimento de reagentes.
4. Selecione **Next** (Seguinte). A primeira lavagem é iniciada.

Realizar a segunda lavagem

1. Prepare uma solução de lavagem nova com Tween 20 e água de grau laboratorial conforme se segue:
 - a. Adicione 5 ml de 100% Tween 20 a 45 ml de água de grau laboratorial. Estes volumes resultam em 10% Tween 20.
 - b. Adicione 25 ml 10% Tween 20 a 475 ml de água de grau laboratorial. Estes volumes resultam numa solução de lavagem de 0,5% Tween 20.
 - c. Inverta várias vezes para misturar.
2. Quando a primeira lavagem estiver concluída, remova o tabuleiro de lavagem e o frasco de lavagem, e elimine a solução de lavagem residual.
3. Volte a encher os componentes de lavagem com uma solução de lavagem de 0,5% Tween 20 nova, conforme se segue:
 - a. Adicione 6 ml de solução de lavagem a cada reservatório do tabuleiro de lavagem.
 - b. Adicione 350 ml de solução de lavagem ao frasco de lavagem de 500 ml.
4. Coloque o tabuleiro de lavagem e o frasco de lavagem, conforme se segue:
 - a. Deslize o tabuleiro de lavagem na unidade de refrigeração de reagentes até parar. Feche a porta da unidade de refrigeração de reagentes.
 - b. Coloque o frasco de lavagem e baixe lentamente a pega da unidade de aspiração, garantindo que as unidades de aspiração baixam na direção do frasco de lavagem e frasco de resíduos.
 - c. Feche a porta do compartimento de reagentes.
5. Selecione **Next** (Seguinte). A segunda lavagem é iniciada.

Realizar a lavagem final

1. Prepare uma solução de lavagem nova com Tween 20 e água de grau laboratorial conforme se segue:
 - a. Adicione 5 ml de 100% Tween 20 a 45 ml de água de grau laboratorial. Estes volumes resultam em 10% Tween 20.
 - b. Adicione 25 ml 10% Tween 20 a 475 ml de água de grau laboratorial. Estes volumes resultam numa solução de lavagem de 0,5% Tween 20.
 - c. Inverta várias vezes para misturar.
2. Quando a segunda lavagem estiver concluída, remova o tabuleiro de lavagem e o frasco de lavagem, e elimine a solução de lavagem residual.
3. Volte a encher os componentes de lavagem com uma solução de lavagem de 0,5% Tween 20 nova, conforme se segue:
 - a. Adicione 6 ml de solução de lavagem a cada reservatório do tabuleiro de lavagem.
 - b. Adicione 350 ml de solução de lavagem ao frasco de lavagem de 500 ml.
4. Coloque o tabuleiro de lavagem e o frasco de lavagem, conforme se segue:
 - a. Deslize o tabuleiro de lavagem na unidade de refrigeração de reagentes até parar. Feche a porta da unidade de refrigeração de reagentes.
 - b. Coloque o frasco de lavagem e baixe lentamente a pega da unidade de aspiração, garantindo que as unidades de aspiração baixam na direção do frasco de lavagem e frasco de resíduos.
 - c. Feche a porta do compartimento de reagentes.
5. Selecione **Next** (Seguinte). A lavagem final é iniciada.

Após a lavagem

Quando a lavagem estiver concluída, deixe a célula de fluxo usada, o tabuleiro de lavagem e o frasco de lavagem com a solução de lavagem residual no instrumento.

NOTA As unidades de aspiração permanecem na posição inferior, o que é normal. Deixe a solução de lavagem não usada no tabuleiro de lavagem e frasco de lavagem para impedir que as unidades de aspiração fiquem ressequidas e impedir a entrada de ar no sistema.

Efetuar uma lavagem para suspensão

Se não existirem planos para utilizar o instrumento nos próximos 7 dias, prepare o instrumento para a inatividade ao efetuar uma lavagem para suspensão. A lavagem para suspensão prepara as linhas de fluidos para a inatividade e efetua duas lavagens consecutivas que eliminam qualquer acumulação de sais ou reagentes residuais. Cada lavagem demora aproximadamente 60 minutos. Permita cerca de duas horas para concluir a lavagem para suspensão.

Quando a lavagem para suspensão estiver concluída, o instrumento encontra-se no modo de suspensão e é apresentada uma mensagem no ecrã Home (Início) indicando o estado do instrumento. Quando o instrumento se encontra no modo de suspensão, deve realizar a lavagem de manutenção antes de poder iniciar um ensaio de sequenciação.

NOTA A Illumina recomenda repetir a lavagem para suspensão *a cada 30 dias* em que o instrumento permanece inativo.

Consumíveis fornecidos pelo utilizador

- Tween 20 (Sigma-Aldrich, catálogo n.º P7949)
- Água laboratorial ou água desionizada (para as diretrizes sobre água laboratorial, consulte o *Guia de preparação no local de instalação do MiSeqDx (documento n.º 15070066)*)

Procedimento

1. Certifique-se de que uma célula de fluxo usada está carregada no instrumento.
2. No ecrã Home (Início), selecione **Perform Wash** (Realizar lavagem).
3. No ecrã Wash Options (Opções de lavagem), selecione **Standby Wash** (Lavagem para suspensão). O software levanta automaticamente as unidades de aspiração na unidade de refrigeração de reagentes.

NOTA Utilize sempre uma solução de lavagem nova para cada passo de lavagem. Reutilizar a solução de lavagem da lavagem anterior pode voltar a colocar resíduos nas linhas de fluídicos.

Realizar a primeira lavagem

1. Prepare uma solução de lavagem nova com Tween 20 e água de grau laboratorial conforme se segue:
 - a. Adicione 5 ml de 100% Tween 20 a 45 ml de água de grau laboratorial. Estes volumes resultam em 10% Tween 20.
 - b. Adicione 25 ml 10% Tween 20 a 475 ml de água de grau laboratorial. Estes volumes resultam numa solução de lavagem de 0,5% Tween 20.
 - c. Inverta várias vezes para misturar.
2. Prepare os componentes de lavagem com uma solução de lavagem de 0,5% Tween 20 nova, conforme se segue:
 - a. Adicione 6 ml de solução de lavagem a cada reservatório do tabuleiro de lavagem.
 - b. Adicione 350 ml de solução de lavagem ao frasco de lavagem de 500 ml.
3. Coloque o tabuleiro de lavagem e o frasco de lavagem no instrumento:

- a. Abra a porta do compartimento de reagentes e a porta da unidade de refrigeração de reagentes, e deslize o cartucho de reagente ou o tabuleiro de lavagem na unidade de refrigeração de reagentes.
- b. Deslize o tabuleiro de lavagem na unidade de refrigeração de reagentes até parar. Feche a porta da unidade de refrigeração de reagentes.
- c. Levante a pega da unidade de aspiração na parte frontal do frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2) e frasco de resíduos até ficar bloqueado no sítio, e volte a colocar o frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2) com o frasco de lavagem.

NOTA Elimine o frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2) após cada ensaio. Não reutilize qualquer MiSeqDx SBS Solution (PR2) restante.

- d. Remova o frasco de resíduos e elimine o conteúdo corretamente. Volte a colocar o frasco de resíduos no compartimento de reagentes.
 - e. Baixe lentamente a pega da unidade de aspiração, garantindo que as unidades de aspiração baixam na direção do frasco de lavagem e frasco de resíduos.
 - f. Feche a porta do compartimento de reagentes.
4. Selecione **Next** (Seguinte). A primeira lavagem é iniciada.

Realizar a segunda lavagem

1. Prepare uma solução de lavagem nova com Tween 20 e água de grau laboratorial conforme se segue:
 - a. Adicione 5 ml de 100% Tween 20 a 45 ml de água de grau laboratorial. Estes volumes resultam em 10% Tween 20.
 - b. Adicione 25 ml 10% Tween 20 a 475 ml de água de grau laboratorial. Estes volumes resultam numa solução de lavagem de 0,5% Tween 20.
 - c. Inverta várias vezes para misturar.
2. Quando a primeira lavagem estiver concluída, remova o tabuleiro de lavagem e o frasco de lavagem, e elimine a solução de lavagem residual.
3. Volte a encher os componentes de lavagem com uma solução de lavagem de 0,5% Tween 20 nova, conforme se segue:
 - a. Adicione 6 ml de solução de lavagem a cada reservatório do tabuleiro de lavagem.
 - b. Adicione 350 ml de solução de lavagem ao frasco de lavagem de 500 ml.
4. Coloque o tabuleiro de lavagem e o frasco de lavagem, conforme se segue:
 - a. Deslize o tabuleiro de lavagem na unidade de refrigeração de reagentes até parar. Feche a porta da unidade de refrigeração de reagentes.
 - b. Coloque o frasco de lavagem e baixe lentamente a pega da unidade de aspiração, garantindo que as unidades de aspiração baixam na direção do frasco de lavagem e frasco de resíduos.

- c. Feche a porta do compartimento de reagentes.
5. Selecione **Next** (Seguinte). A segunda lavagem é iniciada.

Após a lavagem

Quando a lavagem estiver concluída, deixe a célula de fluxo usada, o tabuleiro de lavagem e o frasco de lavagem com a solução de lavagem residual no instrumento.

NOTA As unidades de aspiração permanecem na posição inferior, o que é normal. Deixe a solução de lavagem não usada no tabuleiro de lavagem e frasco de lavagem para impedir que as unidades de aspiração fiquem ressequidas e impedir a entrada de ar no sistema.

Encerrar o instrumento

É recomendável deixar sempre o instrumento ligado. No entanto, se for necessário desligar o instrumento, utilize o procedimento seguinte para encerrar o Windows e preparar as linhas de fluídicos.

1. Realize uma lavagem de manutenção. Para mais informações, consulte [Procedimento na página 32](#).
2. Remova o frasco de resíduos e elimine o conteúdo corretamente. Volte a colocar o frasco de resíduos no compartimento de reagentes.
3. Feche a porta do compartimento de reagentes.
4. No menu principal, selecione **Shut Down Instrument** (Encerrar instrumento). Este comando encerra o software do instrumento.
5. Coloque o interruptor de alimentação na posição OFF (Desligado).

NOTA Se o instrumento for desligado, aguarde no *mínimo* 60 segundos antes de colocar o interruptor de alimentação novamente na posição ON (Ligado).

Resolução de problemas

Introdução

Esta secção descreve os passos de resolução de problemas comuns que devem ser implementados antes de contactar o Suporte Técnico da Illumina. Para a maioria dos erros, é apresentada uma mensagem no ecrã com instruções para corrigir o erro.

Para questões técnicas, visite as páginas de assistência do MiSeqDx no sítio Web da Illumina. As páginas de assistência fornecem o acesso a documentação, transferências e perguntas mais frequentes. Para o acesso a boletins de assistência, inicie sessão na sua conta MyIllumina.

Para problemas com a qualidade do ensaio ou desempenho, contacte o Suporte Técnico da Illumina. Para mais informações, consulte [Assistência Técnica na página 50](#).

Os representantes do Suporte Técnico da Illumina normalmente solicitam cópias de ficheiros específicos do ensaio para resolver problemas. Pode utilizar a funcionalidade Bundle Logs (Agrupar registos) no ecrã Manage Files (Gerir ficheiros) para combinar e comprimir os ficheiros necessários para a resolução de problemas.

Agrupar registos para a resolução de problemas

Bundle Logs (Agrupar registos) é uma funcionalidade que agrupa ficheiros para enviar para o Suporte Técnico da Illumina para fins de resolução de problemas. Utilize o separador Bundle Logs (Agrupar registos) no ecrã Manage files (Gerir ficheiros) para seleccionar um grupo de ficheiros, designado um *conjunto*. O conjunto é comprimido automaticamente.

A funcionalidade Bundle Logs (Agrupar registos) agrupa os ficheiros de um ensaio num tipo de conjunto de cada vez. Repita o procedimento de Bundle Logs (Agrupar registos) para cada ensaio e tipo de conjunto solicitado pelo Suporte Técnico da Illumina.

1. No ecrã Manage Files (Gerir ficheiros), seleccione o separador **Bundle Logs** (Agrupar registos).
2. Seleccione **Browse** (Procurar) para aceder à localização da pasta MiSeqOutput.
3. Seleccione a caixa junto ao ensaio.
4. Seleccione **Bundle Logs** (Agrupar registos).

Abre-se um ecrã Bundle Files (Agrupar ficheiros) com informações sobre o conjunto, incluindo uma lista de ficheiros individuais que o conjunto contém.

Para mais informações sobre as pastas e os ficheiros individuais da funcionalidade Bundle Logs (Agrupar registos), consulte a *Ficha de referência rápida das pastas de análise e do MiSeq Output* (documento n.º 15034791).

5. Seleccione **Next** (Seguinte).
6. Aceda à localização onde pretende guardar os ficheiros do conjunto comprimidos.

7. Selecione **Save** (Guardar).

Quando o agrupamento de ficheiros terminar, reabre-se o separador Bundle Logs (Agrupar registos).

8. Envie o conjunto comprimido para o Suporte Técnico da Illumina.

Executar a verificação do sistema

É possível executar algumas verificações do sistema antes de contactar o Suporte Técnico da Illumina, tal como o teste do volume. Um teste do volume verifica o estado do sistema de fluídicos ao estimar o volume do fluxo à medida que as bolhas passam pelos sensores. Para mais informações, consulte [Efetuar um teste do volume na página 44](#).



ATENÇÃO

Os testes de Tip/Tilt (Ponta/inclinação) e Full Optics (Óptica total) exigem uma célula de fluxo especial e devem ser realizados apenas por um técnico da Illumina.

1. No menu principal, selecione **System Check** (Verificação do sistema).
2. Proceda a uma das seguintes ações:
 - Selecione os testes individuais que pretende executar.
 - Escolha **Select All** (Selecionar tudo) para realizar todos os testes.
3. Selecione **Next** (Seguinte).
Quando estiver concluído, os resultados do teste são apresentados no ecrã.
4. [Opcional] Selecione **Show Details** (Mostrar detalhes) para ver um resumo dos resultados na interface do software.
5. [Opcional] Selecione **Export Results** (Exportar resultados) para exportar os resultados num formato de ficheiro *.csv para uma unidade USB.
6. Selecione **Done** (Concluído).

Interromper ou parar um ensaio

O MiSeqDx foi concebido para realizar um ensaio do início ao fim sem a intervenção do utilizador. No entanto, é possível interromper um ensaio ou parar um ensaio no ecrã Sequencing (Sequenciação).

Interromper um ensaio

Pode interromper temporariamente um ensaio antes de estar concluído. Por exemplo, é possível interromper um ensaio se suspeitar que o frasco de resíduos está cheio. É possível retomar os ensaios interrompidos.

Quando seleciona **Pause** (Pausa), o comando atual é concluído antes de interromper o ensaio e colocar a célula de fluxo num estado seguro.



ATENÇÃO

Não interrompa um ensaio durante a geração de clusters ou nos primeiros cinco ciclos de sequenciação. Não é possível retomar um ensaio que tenha sido interrompido durante este período.

Para interromper um ensaio a partir do ecrã Sequencing (Sequenciação), selecione **Pause** (Pausa). O botão muda para **Resume** (Retomar). Quando estiver pronto para retomar o ensaio, selecione **Resume** (Retomar).

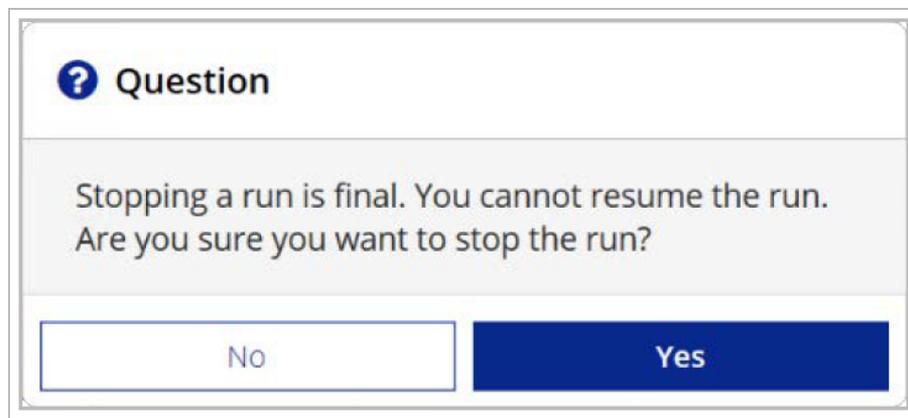
Parar um ensaio

Pode interromper um ensaio durante a sequenciação antes da conclusão do ensaio utilizando o botão **Stop** (Parar) no ecrã Sequencing (Sequenciação). Pode parar um ensaio se o ensaio tiver sido configurado incorretamente, se a qualidade dos dados for insuficiente ou se surgir um erro no hardware.

Quando um ensaio é parado, o comando atual não é concluído e o estrado da célula de fluxo move-se para a posição de avanço. A análise primária continua para o último ciclo concluído.

Para parar um ensaio a partir do ecrã Sequencing (Sequenciação), selecione **Stop** (Parar). Quando um ensaio é parado, o comando atual não é concluído e o estrado da célula de fluxo move-se para a posição de avanço. A análise primária continua para o último ciclo concluído.

Figura 16 Parar um ensaio



Parar um ensaio é uma ação final. Não é possível retomar um ensaio parado. A única opção é prosseguir para uma lavagem do instrumento.

Levantar manualmente as unidades de aspiração do cartucho de reagentes

As unidades de aspiração do cartucho de reagentes poderão não elevar-se automaticamente caso um ensaio tenha sido interrompido inesperadamente ou caso tenha ocorrido um erro durante o ensaio. Para remover o cartucho de reagentes, levante manualmente as unidades de aspiração do cartucho de reagentes.

1. No ecrã Home (Início), selecione **Perform Wash** (Realizar lavagem).
2. Selecione **Raise Sippers** (Levantar unidades de aspiração).
3. Remova o cartucho de reagentes.

Resolver erros de configuração do ensaio

Se qualquer verificação pré-ensaio falhar, é apresentado um ícone vermelho **X** junto ao item. É apresentada uma mensagem no ecrã que descreve o erro e como corrigi-lo.

Erro	Ação
X Flow Rate Measured (Taxa de fluxo medida)	<p>Abre-se o ecrã de verificação da taxa de fluxo. Utilize a lista pendente ou o teclado no ecrã para introduzir o seguinte:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Solução: PR2 • Volume: 250 • Taxa de aspiração: 2500 • Taxa de dispensação: 2500 <p>Selecione Pump (Bombear). Se o erro persistir, defina o volume para bombear 500 µl de MiSeqDx SBS Solution (PR2) e repita o processo. Quando os fluidos tiverem sido bombeados, selecione Restart Check (Reiniciar verificação).</p> <p>Quando a verificação pré-ensaio é bem-sucedida, o botão Start Run (Iniciar ensaio) fica ativo.</p> <p>Se a verificação do fluxo falhar novamente, volte a instalar a célula de fluxo para garantir que o fluxo não é interrompido devido a um desalinhamento. Inspeccione a junta da célula de fluxo para verificar se estão presentes fiapos ou alguma irregularidade.</p>
X Free Disk Space (Espaço em disco livre)	<p>Se o espaço em disco for pouco, é apresentada uma mensagem que indica a quantidade de espaço em disco necessária. Utilize a funcionalidade Manage Files (Gerir ficheiros) para libertar o espaço necessário do computador do instrumento.</p>

Erro	Ação
<p>X Network Connection Active (Ligação de rede ativa)</p>	<p>Certifique-se de que o cabo de rede está ligado ao instrumento.</p> <p>Se a ligação de rede não for restaurada, selecione Reboot (Reinicializar) no ecrã Manage Instrument (Gerir instrumento) para reinicializar o software.</p> <p>Se, mesmo assim, a ligação não for restaurada, selecione Shut Down (Encerrar) no ecrã Manage Instrument (Gerir instrumento) e, em seguida, desligue o instrumento utilizando o interruptor de alimentação. Aguarde pelo menos 60 segundos e, em seguida, ligue o instrumento e inicie o software.</p>
<p>X Primary Analysis Ready (Análise primária pronta)</p>	<p>A análise primária do ensaio anterior não foi concluída. O tempo predefinido para permitir a conclusão da análise primária é uma hora, sendo apresentada uma contagem decrescente no ecrã. As opções são aguardar uma hora ou selecionar Terminate Analysis (Terminar análise). As análises secundárias param para quaisquer ciclos incompletos.</p>

Resolver falhas na leitura da RFID

São acionadas falhas RFID se:

- O componente carregado não fizer parte de um kit de diagnóstico *in vitro*.
- O componente carregado não faz parte do kit identificado pelo módulo do Local Run Manager.
- Está presente uma falha técnica na leitura da etiqueta RFID no componente.

Poderão utilizar-se os passos seguintes para resolver falhas RFID resultantes de uma falha técnica.

NOTA É permitida uma análise de diagnóstico para a falha na leitura de uma RFID. Se não for possível efetuar a leitura da RFID de dois consumíveis, o software não pode prosseguir para o passo de configuração de ensaio seguinte. Se este erro ocorrer, contacte o Suporte Técnico da Illumina.

Célula de fluxo

1. Tente sempre efetuar a leitura da RFID antes de continuar. Para tal, abra e, em seguida, feche a porta do compartimento da célula de fluxo.
2. Se a RFID falhar uma segunda vez, selecione **Get Code** (Obter código). Contacte o Suporte Técnico da Illumina para obter um código de contorno temporário da RFID. Um código de contorno temporário expira em sete dias.
3. Introduza o código de contorno temporário utilizando o teclado no ecrã.
4. Selecione **Next** (Seguinte).
5. Introduza as seguintes informações:

- O número do código de barras da célula de fluxo, que se encontra na etiqueta do recipiente da célula de fluxo diretamente por baixo do código de barras
 - Referência da célula de fluxo
6. Selecione **Next** (Seguinte) para continuar para o ecrã Load Flow Cell (Carregar célula de fluxo).
 7. Selecione **Next** (Seguinte) para continuar para o próximo passo de configuração do ensaio.

Frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2)

1. Tente sempre efetuar a leitura da RFID antes de continuar. Para tal, levante e, em seguida, baixe a pega da unidade de aspiração de reagentes.
2. Se a RFID falhar uma segunda vez, selecione **Get Code** (Obter código).
Contacte o Suporte Técnico da Illumina para obter um código de contorno temporário da RFID. Um código de contorno temporário expira em sete dias.
3. Introduza o código de contorno temporário utilizando o teclado no ecrã.
4. Selecione **Next** (Seguinte).
5. Introduza as seguintes informações:
 - O número do código de barras do frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2), que está localizado na etiqueta do frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2) diretamente por baixo do código de barras
 - Número de peça do frasco de MiSeqDx SBS Solution (PR2)
6. Selecione **Next** (Seguinte) para continuar para o ecrã Load Reagents (Carregar reagentes).
7. Selecione **Next** (Seguinte) para continuar para o próximo passo de configuração do ensaio.

Cartucho de reagentes

1. Tente sempre efetuar a leitura da RFID antes de continuar. Para tal, abra e, em seguida, feche a porta da unidade de refrigeração de reagentes.
2. Se a RFID falhar uma segunda vez, selecione **Get Code** (Obter código).
Contacte o Suporte Técnico da Illumina para obter um código de contorno temporário da RFID. Um código de contorno temporário expira em sete dias.
3. Introduza o código de contorno temporário utilizando o teclado no ecrã.
4. Selecione **Next** (Seguinte).
5. Introduza as seguintes informações:
 - O número do código de barras do kit de reagentes, que se encontra na etiqueta do kit diretamente por baixo do código de barras
 - Referência do kit de reagentes
6. Selecione **Next** (Seguinte) para voltar ao ecrã Load Reagents (Carregar reagentes).
7. Selecione **Next** (Seguinte) para continuar para o próximo passo de configuração do ensaio.

Impedir a reinicialização durante um ensaio

Se o MiSeqDx reiniciar durante um ensaio, poderá significar que o software Windows Update na rede está configurado para instalar automaticamente as atualizações de software. Esta definição deveria ter sido desativada durante a instalação. Contacte o departamento de TI local para ajudar a desativar as atualizações automáticas no sistema operativo Windows que é executado em segundo plano no MiSeqDx.

Resolução de problemas de erros associados à taxa de fluxo

A taxa de fluxo é a velocidade à qual os fluidos passam pelo sistema de fluídicos ($\mu\text{l}/\text{min}$). É medida antes de cada ensaio durante a verificação pré-ensaio. Se o sistema não conseguir medir a taxa de fluxo, bombeia um volume de reagente (MiSeqDx SBS Solution (PR2)) através do sistema antes de verificar novamente a taxa de fluxo.

1. Utilize a lista pendente ou o teclado no ecrã para introduzir as seguintes informações:
 - Solução: **PR2**
 - Volume: **250 μl**
 - Taxa de aspiração: **2500 $\mu\text{l}/\text{min}$**
 - Taxa de distribuição: **2500 $\mu\text{l}/\text{min}$**
2. Selecione **Pump** (Bombear).
3. Quando o passo de bombeamento estiver concluído, selecione **Restart Check** (Reiniciar verificação).
4. Se o erro persistir, defina o volume para bombear 500 μl de MiSeqDx SBS Solution (PR2) e repita o processo mais uma vez. Contacte o Suporte Técnico da Illumina se a segunda tentativa não resolver o erro.

Efetuar um teste do volume

Uma obstrução nas linhas de fluidos pode causar uma administração incorreta de reagentes e afetar os resultados da sequenciação. Caso se suspeite de uma obstrução das linhas de fluídicos, efetue um teste do volume.

Um teste do volume verifica o estado do sistema de fluídicos ao estimar o volume entre duas bolhas à medida que passam pelos sensores. Para efetuar um teste do volume, o tabuleiro de lavagem e o frasco de lavagem têm de estar carregados com água de grau laboratorial e uma célula de fluxo usada deverá estar no devido lugar. Para efetuar o teste, siga as indicações no ecrã.

1. Certifique-se de que uma célula de fluxo usada está carregada no instrumento.
2. No menu principal, selecione **System Check** (Verificação do sistema).

3. Selecione **Conduct Volume Test** (Realizar teste do volume) e, em seguida, selecione **Next** (Seguinte).
4. Encha cada reservatório do tabuleiro de lavagem com 6 ml de água de grau laboratorial.
5. Encha o frasco de lavagem de 500 ml com 350 ml água de grau laboratorial.
6. Coloque o tabuleiro de lavagem e o frasco de lavagem no instrumento.
 - a. Abra a porta do compartimento de reagentes e a porta da unidade de refrigeração de reagentes, e deslize o tabuleiro de lavagem na unidade de refrigeração de reagentes até parar. Feche a porta da unidade de refrigeração de reagentes.
 - b. Levante a pega da unidade de aspiração até ficar bloqueada e coloque o frasco de lavagem.
 - c. Remova o frasco de resíduos e elimine o conteúdo corretamente. Volte a colocar o frasco de resíduos no compartimento de reagentes.
 - d. Baixe lentamente a pega da unidade de aspiração, garantindo que as unidades de aspiração baixam na direção do frasco de lavagem e frasco de resíduos.
7. Seguindo as indicações no ecrã, remova quaisquer gotículas da unidade de aspiração do frasco de lavagem, conforme se segue:
 - a. Quando for indicado, levante lentamente a pega da unidade de aspiração e verifique se na unidade de aspiração do frasco de lavagem está presente uma grande gotícula de água.
 - b. Quando for indicado, baixe lentamente a pega da unidade de aspiração o suficiente na direção da água para permitir que a tensão superficial remova a gotícula.
 - c. Quando for indicado, levante lentamente a pega da unidade de aspiração e verifique se na unidade de aspiração do frasco de lavagem está presente uma grande gotícula de água.
 - d. Quando for indicado, baixe lentamente a pega da unidade de aspiração na totalidade, garantindo que as unidades de aspiração baixam na direção do frasco de lavagem e frasco de resíduos.
8. Selecione **Next** (Seguinte). O teste do volume inicia.

Quando o teste do volume estiver concluído, os resultados são apresentados no ecrã.

Se o teste não tiver sido bem-sucedido, efetue uma lavagem de manutenção. Consulte [Procedimento na página 32](#).

9. Quando a lavagem de manutenção estiver concluída, repita o teste do volume.

Resolver erros de temperatura na unidade de refrigeração de reagentes

O intervalo de temperatura necessário da unidade de refrigeração de reagentes é de 2 °C a 11 °C. Um indicador de sensor mostra a temperatura da unidade de refrigeração de reagentes. Consulte [Indicadores com sensores na página 5](#).

Se receber uma mensagem de erro que indique que a unidade de refrigeração não se encontra no intervalo de temperatura especificado, contacte o Suporte Técnico da Illumina.

Se a temperatura da unidade de refrigeração estiver fora do intervalo, poderá impedir o início do ensaio de sequenciação. Se receber a mensagem de erro durante um ensaio de sequenciação, deixe o ensaio terminar.

Para mais informações sobre a unidade de refrigeração de reagentes, consulte [Compartimento de reagentes na página 3](#).

Resolver erros de análise do Local Run Manager

Para obter informações sobre a resolução de problemas associados a erros de análise, contacte o Suporte Técnico da Illumina. O *Guia do software Local Run Manager v4 para o MiSeqDx (documento n.º 200046657)* inclui instruções sobre como voltar a colocar a análise em fila de espera.

Configurar as definições do sistema

O MOS inclui separadores que acedem a comandos para configurar o sistema.

- As definições de IP e DNS são configuradas no separador IP. Para utilizar esta funcionalidade, é necessário nível de acesso de utilizador Administrador do Windows.
- As definições da rede e de arranque são configuradas nos seguintes separadores:
 - Credenciais da rede — Para utilizar esta funcionalidade, é necessário nível de acesso de utilizador Administrador do Windows.
 - Opções de arranque — Para utilizar esta funcionalidade, é necessário o nível de acesso de utilizador Admin do Local Run Manager.

Normalmente, estas definições do sistema são configuradas durante a instalação do MiSeqDx.

Configurar as definições de IP e DNS

Configure o endereço IP e os endereços do servidor DNS, se necessário devido a uma mudança de rede ou instalações. Para utilizar esta funcionalidade, é necessário nível de acesso de utilizador Administrador do Windows.

1. No menu principal, selecione **System Settings** (Definições do sistema).
2. Selecione o separador IP e, em seguida, selecione uma das seguintes opções para configurar o endereço IP :
 - **Obtain an IP address automatically** (Obter um endereço IP automaticamente) — Selecione esta opção para obter o endereço IP utilizando o servidor do protocolo de configuração dinâmica de anfitrião (DHCP).

NOTA O protocolo de configuração dinâmica do anfitrião (DHCP) é um protocolo de rede padrão utilizado nas redes IP para distribuir os parâmetros de configuração da rede de forma dinâmica.

- **Use the following IP address** (Utilizar o seguinte endereço IP) — Selecione esta opção para ligar o instrumento a outro servidor manualmente conforme se segue. Contacte o seu administrador de rede para os endereços específicos à sua instituição.
 - Introduza o endereço IP. O endereço IP é uma série de quatro números separados por um ponto, semelhante a 168.62.20.37, por exemplo.
 - Introduza a máscara de sub-rede, que é uma subdivisão da rede IP.
 - Introduza o gateway predefinido, que é o router na rede que liga à Internet.
3. Selecione as seguintes opções para configurar o endereço DNS :
 - **Obtain a DNS address automatically** (Obter um endereço DNS automaticamente) — Lê o endereço DNS associado ao endereço IP.
 - **Use the following DNS addresses** (Utilizar os seguintes endereços DNS) — Liga o instrumento a um servidor que converte os nomes de domínio para endereços IP.
 - Introduza o endereço DNS preferido. O endereço DNS é o nome do servidor utilizado para traduzir os nomes de domínio para endereços IP.
 - Introduza o endereço DNS alternativo. O endereço alternativo é utilizado se o DNS preferido não conseguir traduzir um nome de domínio particular para um endereço IP.
 4. Selecione **Save** (Guardar).

Configurar definições de rede e de arranque

Configure as definições de rede e de arranque no separador Network Credentials (Credenciais da rede) (para utilizar esta funcionalidade, é necessário o nível de acesso de utilizador Administrador do Windows) e no separador Start-Up Options (Opções de arranque) (é necessário o nível de acesso de utilizador Admin do Local Run Manager).

1. No menu principal, selecione **System Settings** (Definições do sistema).
2. Selecione o separador Network Credentials (Credenciais da rede) e, em seguida, configure as definições de rede conforme se segue.
3. O nome da máquina é atribuído ao computador do instrumento aquando do fabrico. Normalmente, não é necessário alterar o nome da máquina. Quaisquer alterações no nome da máquina neste ecrã podem afetar a conectividade e exigem o nome de utilizador e a palavra-passe de um administrador de rede.
O nome da máquina é registado como o nome do instrumento na pasta de saída do software Local Run Manager.
4. Ligue o computador do instrumento a um domínio ou grupo de trabalho conforme se segue.
 - **Para os instrumentos ligados à Internet** — Selecione **Domain** (Domínio) e, em seguida, introduza o nome de domínio associado à ligação à Internet na sua instituição.
 - **Para os instrumentos não ligados à Internet** — Selecione **Workgroup** (Grupo de trabalho) e, em seguida, introduza um nome do grupo de trabalho.
5. Selecione o separador Start-Up Options (Opções de arranque) e, em seguida, selecione uma das seguintes opções:
 - **Kiosk Mode** (Modo de quiosque) (recomendado) — Mostra a interface do software de controlo no ecrã completo. O software foi concebido para ser utilizado no modo de quiosque.
 - **Windows Mode** (Modo Windows) — Permite o acesso ao Windows no computador do instrumento. A interação com a interface do software, como a localização dos botões, poderá ser alterada neste modo.
6. Selecione **Save** (Guardar).

Pastas de saída

Pastas do ensaio

Cada ensaio no MiSeqDx gera três pastas de ensaio, cada uma com uma finalidade específica:

- **D:\Illumina\MiSeqTemp** — Quando o ensaio inicia, é gravada uma pasta temporária do ensaio na unidade local do computador do instrumento e é utilizada como área de trabalho para o MOS e RTA. Não é necessário aceder à pasta temporária. O conteúdo desta pasta é eliminado após sete dias.
- **D:\Illumina\MiSeqOutput** — O RTA copia ficheiros da pasta temporária para a pasta de saída. Enquanto os ficheiros da análise primária são gerados, o RTA copia de novo os ficheiros na pasta temporária e preenche a pasta de análise. As imagens focadas e as imagens miniatura não são copiadas na pasta de análise.
- **D:\Illumina\MiSeqAnalysis** — Quando a análise primária está concluída, o Local Run Manager acede à pasta de análise na unidade local do instrumento para iniciar a análise secundária. Todos os ficheiros gravados na pasta de análise são copiados para a pasta de saída.

Nomenclatura da pasta raiz

O nome da pasta raiz do ensaio identifica a data do ensaio, o número do instrumento e a célula de fluxo utilizada para o ensaio. Para um determinado ensaio, cada pasta do ensaio tem o mesmo nome da pasta raiz.

Por predefinição, o nome da pasta utiliza o seguinte formato:

AAMMDD_<Número do instrumento>_<Número do ensaio>_A<Código de barras da célula de fluxo>

Sempre que é realizado um ensaio num determinado instrumento, é adicionado um ao número do ensaio.

Assistência Técnica

Para obter assistência técnica, contacte o Suporte Técnico da Illumina.

Website: www.illumina.com

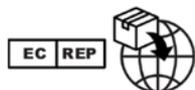
E-mail: techsupport@illumina.com

Fichas de dados de segurança (SDS) — Disponíveis no website da Illumina em support.illumina.com/sds.html.

Documentação do produto – Disponível para descarregamento em support.illumina.com.



Illumina, Inc.
5200 Illumina Way
San Diego, California 92122 EUA
+1 800 809 ILMN (4566)
+1 858 202 4566 (fora da América do Norte)
techsupport@illumina.com
www.illumina.com



Illumina Netherlands B.V.
Steenoven 19
5626 DK Eindhoven
The Netherlands

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

PARA UTILIZAÇÃO EM DIAGNÓSTICO IN VITRO.

© 2023 Illumina, Inc. Todos os direitos reservados.

illumina[®]