

# MiSeq™ Dx Instrument

Il primo strumento di NGS  
IVD regolamentato dalla FDA  
e dotato di marchio CE per  
uso diagnostico *in vitro*

- L'interfaccia intuitiva su touch screen e il flusso di lavoro automatizzato semplificano il funzionamento dello strumento
- Qualità dei dati eccezionale e affidabilità dimostrata mediante verifiche di sistema complete
- Ampio menu di saggi diagnostici molecolari pensato per l'ambiente di laboratorio clinico
- Piattaforma aperta per saggi IVD personalizzati e possibilità di eseguire altri saggi in modalità di ricerca

**illumina**®

## Introduzione

MiSeqDx Instrument è la prima piattaforma per diagnostica *in vitro* (IVD, *In Vitro* Diagnostics) regolamentata dalla Food and Drug Administration (FDA) e con marchio CE (Conformité Européenne) per il sequenziamento di nuova generazione (NGS, Next-Generation Sequencing) (Figura 1). Progettato specificatamente per l'ambiente di laboratorio clinico, MiSeqDx Instrument è caratterizzato da un piccolo ingombro (0,3 metri quadrati), un flusso di lavoro intuitivo e output di dati personalizzati in base alle variegate esigenze dei laboratori clinici. Il software integrato sullo strumento consente inoltre di impostare la corsa, monitorare i campioni, gestire gli utenti, generare audit trail e interpretare i risultati.\* Grazie alla sperimentata chimica di sequenziamento mediante sintesi (SBS, Sequencing By Synthesis) di Illumina, MiSeqDx Instrument esegue screening e test diagnostici affidabili e accurati.



Figura 1: MiSeqDx Instrument. MiSeqDx Instrument per IVD, regolamentato dalla FDA e con marchio CE, offre un flusso di lavoro semplice, un'interfaccia software di facile utilizzo e maggiori livelli di sicurezza per l'utente.

\* Report dettagliati sui risultati sono disponibili per i saggi specifici per il target, come TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay e TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay.

## Vantaggi della tecnologia NGS

Rispetto al sequenziamento Sanger basato sull'elettroforesi capillare, la tecnologia NGS è in grado di rilevare una più ampia gamma di varianti del DNA, incluse le varianti di bassa frequenza e le varianti adiacenti sottoposte a determinazione delle fasi, permettendo di ottenere risultati più veloci e minori fasi di interventi manuali.<sup>1,2</sup> La chimica SBS di Illumina utilizza la competizione naturale su tutti e quattro i nucleotidi marcati, il che riduce le distorsioni dovute all'incorporazione e consente un sequenziamento più efficace di regioni ripetitive e omopolimeri rispetto ad altri sistemi di sequenziamento.<sup>3</sup> I risultati completi si ottengono velocemente, eliminando la necessità di tediosi test reflex.

## Flusso di lavoro semplice in tre fasi

I saggi eseguiti su MiSeqDx Instrument seguono una semplice procedura in tre fasi (Figura 2) che inizia con il DNA genomico (gDNA, genomic DNA) estratto da campioni di sangue intero periferico umano o di tessuti fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE, Formalin-Fixed, Paraffin-Embedded). I campioni di DNA vengono preparati per il sequenziamento mediante l'aggiunta di primer, il che permette di generare librerie indicizzate per la cattura e l'amplificazione simultanee di centinaia di regioni target in diversi campioni.

Le librerie preparate vengono sequenziate con una cartuccia di reagenti MiSeqDx preriempita e pronta all'uso. È sufficiente scongelare la cartuccia, caricare la libreria, inserirla in MiSeqDx Instrument e avviare il sequenziamento premendo un pulsante.

La tecnologia NGS su MiSeqDx Instrument utilizza la chimica SBS di Illumina, dove avviene il sequenziamento massivo in parallelo di milioni di frammenti di DNA grazie a un metodo proprietario basato su terminatori reversibili. Le singole basi sono rilevate man mano che vengono incorporate in filamenti di DNA in estensione. Le identificazioni delle basi vengono eseguite direttamente dalle misurazioni dell'intensità del segnale in ciascun ciclo.

 Per maggiori informazioni sulla chimica SBS, è possibile visitare la pagina Web [illumina.com](http://illumina.com).



Figura 2: procedura in tre fasi del saggio MiSeqDx. MiSeqDx Instrument fa parte di una soluzione integrata che comprende la preparazione delle librerie e l'analisi dei dati per i saggi di diagnostica molecolare. I report dettagliati sui risultati sono disponibili soltanto per i saggi specifici per il target, come TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay e TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay.

## Software di sistema integrato

MiSeqDx Instrument offre un software completamente integrato sullo strumento al quale si accede mediante un'interfaccia touch screen di facile utilizzo. Le corse di sequenziamento possono essere pianificate e monitorate con audit trail utilizzando il software Local Run Manager, che supporta il monitoraggio delle librerie e la scelta dei parametri della corsa di sequenziamento. Il software Local Run Manager viene eseguito sul computer dello strumento, il che permette agli utenti di monitorare il progredire della corsa e di visualizzare i risultati dell'analisi da altri computer collegati alla medesima rete. Al termine del sequenziamento, Local Run Manager avvia automaticamente l'analisi dei dati utilizzando uno dei diversi moduli di analisi disponibili. I moduli di analisi specifici per il saggio consentono l'allineamento e l'identificazione di determinate varianti o l'identificazione su regioni target definite dall'utente.

## Software di gestione degli utenti

Per assicurare il corretto utilizzo del sistema, MiSeqDx Instrument è dotato di un sistema integrato di gestione degli utenti. Questo permette ai laboratori di controllare e monitorare l'accesso al sistema, assicurando che le analisi vengano eseguite solo dal personale autorizzato.

## Saggi e reagenti disponibili

Diversi saggi e reagenti per diagnostica *in vitro* (IVD) sono attualmente disponibili per l'uso su MiSeqDx Instrument:<sup>†</sup>

- **TruSight™ Cystic Fibrosis 139-Variant Assay** rileva 139 varianti importanti dal punto di vista clinico e verificate dal punto di vista funzionale nel gene regolatore della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica (*CFTR*, Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator), come definito dal database CFTR2.<sup>4</sup>
- **TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay** rileva le mutazioni nelle regioni codificanti la proteina e ai confini introne/esone del gene *CFTR*.
- **Illumina DNA Prep with Enrichment Dx** è una soluzione di sequenziamento basata sull'arricchimento che consente ai laboratori clinici di aggiungere alle applicazioni diagnostiche pannelli di arricchimento per il sequenziamento mirato.

Per usufruire di funzionalità aggiuntive, si consiglia di usare i saggi di preparazione delle librerie di Illumina progettati per l'uso con MiSeq System su MiSeqDx Instrument in modalità di ricerca.

<sup>†</sup> Report dettagliati sui risultati sono disponibili per i saggi specifici per il target, come TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay e TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay.

## Specifiche di MiSeqDx Instrument

### Configurazione dello strumento

Monitoraggio RFID dei materiali di consumo  
MiSeq Operating Software  
Software Local Run Manager

### Computer di controllo dello strumento (interno)

Unità base: Intel Core i7-7700 con CPU da 2,9 GHz  
Memoria: 2 × 8 GB DDR4 SO-DIMM  
Disco rigido: nessuno  
Dischi allo stato solido: 2 × 1 TB SATA  
Sistema operativo: Windows 10

### Diodo a emissione luminosa (LED)

520 nm, 660 nm

### Dimensioni

L × P × H: 68,6 cm × 56,5 cm × 52,3 cm  
Peso: 54,5 kg  
Peso imballato: 90,9 kg

### Requisiti di alimentazione

90-264 V c.a. a 50/60 Hz, 10 A, 400 W

### Identificazione a radio frequenza (RFID, Radio Frequency Identifier)

Frequenza: 13,56 MHz  
Potenza: 100 mW

### Processività

1-96 campioni per corsa, in base al saggio

### Parametri delle prestazioni

Lunghezza massima della lettura: fino a 2 × 300 bp (per le specifiche relative al saggio, vedere l'insero della confezione)  
Output (2 × 150 bp per corsa): ≥ 5 Gb  
Letture che attraversano i filtri: ≥ 15 milioni  
Punteggio Q30 (a lunghezza di lettura di 2 × 150 bp): ≥ 80%  
Accuratezza, linea germinale:<sup>a</sup> > 99,9% OPA<sup>b</sup> rispetto ai dati di riferimento  
Accuratezza, somatica:<sup>c</sup> 100% OPA rispetto ai dati di riferimento  
Riproducibilità, linea germinale:<sup>c</sup> 99,88% OPA rispetto ai dati di riferimento  
Riproducibilità, somatica:<sup>d</sup> 99,6% delle identificazioni previste per i campioni mutanti

- Risultati basati su un saggio rappresentativo TruSeq a base di ampliconi progettato per interrogare diversi geni con copertura di 12.588 basi su 23 cromosomi diversi utilizzando 150 ampliconi.
- OPA: percentuale di concordanza complessiva.
- Risultati basati sul Cystic Fibrosis (CF-139) Assay.
- Risultati ricavati da un saggio rappresentativo TruSeq a due geni a base di ampliconi.

## Informazioni per gli ordini

Prodotto	N. di catalogo
MiSeqDx Instrument	DX-410-1001
MiSeqDx Reagent Kit v3	20037124
Illumina DNA Prep with Enrichment Dx with UD Indexes Set A (16 samples)	20051354
Illumina DNA Prep with Enrichment Dx with UD Indexes Set A (96 samples)	20051352
Illumina DNA Prep with Enrichment Dx with UD Indexes Set B (16 samples)	20051355
Illumina DNA Prep with Enrichment Dx with UD Indexes Set B (96 samples)	20051353

## Maggiori informazioni

[MiSeqDx Instrument](#)

[Diagnostica molecolare](#)

[Applicazioni di MiSeqDx](#)

[Illumina DNA Prep with Enrichment Dx](#)

## Bibliografia

- Shokralla S, Porter TM, Gibson JF, et al. [Massively parallel multiplex DNA sequencing for specimen identification using an Illumina MiSeq platform](#). *Sci Rep*. 2015;5:9687. Pubblicato il 17 aprile 2015. doi:10.1038/srep09687
- Precone V, Monaco VD, Esposito MV, et al. [Cracking the Code of Human Diseases Using Next-Generation Sequencing: Applications, Challenges, and Perspectives](#). *Biomed Res Int*. 2015;161648. doi:10.1155/2015/161648
- Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate Whole Human Genome Sequencing using Reversible Terminator Chemistry](#). *Nature*. 2008;456(7218):53–59. doi:10.1038/nature07517
- Clinical and Functional Translation of CFTR (CTFR2). [cfr2.org](#). Consultato il 23 febbraio 2021.

## Dichiarazioni d'uso previsto

### Uso previsto di MiSeqDx Instrument (Stati Uniti)

MiSeqDx Instrument, quando utilizzato con i saggi per diagnostica *in vitro* (IVD) eseguiti sullo strumento, è destinato al sequenziamento mirato di librerie di DNA ottenute da DNA genomico umano estratto da sangue intero periferico, da tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE) o da tessuto embrionale. MiSeqDx Instrument non è destinato al sequenziamento dell'intero genoma o al sequenziamento *de novo*. MiSeqDx Instrument va utilizzato con software analitici e reagenti per IVD registrati e certificati, autorizzati o approvati.

### Uso previsto di MiSeqDx Instrument (Unione europea/altro)

MiSeqDx Instrument, quando utilizzato con i saggi per diagnostica *in vitro* (IVD) eseguiti sullo strumento, è destinato al sequenziamento mirato di librerie di DNA ottenute da DNA genomico umano estratto da sangue intero periferico, da tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE) o da tessuto embrionale. MiSeqDx Instrument non è destinato al sequenziamento dell'intero genoma o al sequenziamento *de novo*. MiSeqDx Instrument va utilizzato con software analitici e reagenti per IVD registrati e certificati, autorizzati o approvati.

### Uso previsto di MiSeqDx Reagent Kit v3

MiSeqDx Reagent Kit v3 di Illumina è un set di reagenti e materiali di consumo destinato al sequenziamento di librerie di campioni da utilizzare con saggi convalidati. MiSeqDx Reagent Kit v3 è destinato all'uso con MiSeqDx Instrument e relativo software analitico.

### Uso previsto di TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay

TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay (precedentemente chiamato Illumina MiSeqDx Cystic Fibrosis 139-Variant Assay) è un sistema diagnostico *in vitro* qualitativo usato per rilevare contemporaneamente nel DNA genomico isolato da campioni di sangue intero periferico umano 139 mutazioni e varianti clinicamente rilevanti del gene regolatore della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica (*CFTR*, Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator) che causano la fibrosi cistica.

Le varianti comprendono quelle raccomandate nel 2004 dall'American College of Medical Genetics (ACMG)<sup>1</sup> e nel 2011 dall'American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG).<sup>2</sup> Il test è destinato all'uso per lo screening del portatore in adulti in età riproduttiva, nell'ambito di test diagnostici di conferma in neonati e bambini e come test iniziale per contribuire alla diagnosi in individui con sospetta fibrosi cistica. I risultati di questo test devono essere interpretati da un esperto certificato in genetica molecolare e clinica o con qualifica equivalente e dovrebbero essere usati assieme alle altre informazioni cliniche e di laboratorio disponibili.

Questo test non è indicato per l'uso nello screening neonatale né come test diagnostico prenatale, test preimpianto o per fini diagnostici indipendenti.

Il test è destinato all'uso con MiSeqDx Instrument di Illumina.

### Bibliografia per TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Assay

1. Watson MS, Cutting GR, Desnick RJ, et al. [Cystic fibrosis population carrier screening: 2004 revision of American College of Medical Genetics mutation panel](#). *Genet Med* 2004;6(5):387–391.
2. American College of Obstetricians and Gynecologists Committee on Genetics. [ACOG Committee Opinion No. 486: Update on carrier screening for cystic fibrosis](#). *Obstet Gynecol.* 2011;117(4):1028–1031.

### Uso previsto di TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay

Il TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay (in precedenza chiamato Illumina MiSeqDx Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Assay) è un sistema diagnostico *in vitro* per il sequenziamento mirato che sottopone a rifequenziamento le regioni codificanti la proteina e i confini introne/esone del gene regolatore della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica (*CFTR*) nel DNA genomico isolato da campioni di sangue intero periferico umano raccolti in K<sub>2</sub>EDTA. Il test rileva varianti a singolo nucleotide e indel piccole nella regione sequenziata, riportando inoltre due mutazioni introniche profonde e due delezioni ampie. Il test è destinato all'uso con MiSeqDx Instrument di Illumina.

Questo test è previsto per contribuire alla diagnosi in individui con sospetta fibrosi cistica (FC). Questo saggio è più appropriato quando il paziente presenta una fibrosi cistica atipica o non classica o quando altri pannelli delle mutazioni non sono riusciti a identificare entrambe le mutazioni causative. I risultati del test devono essere interpretati da un esperto certificato in genetica molecolare e clinica o da un esperto equivalente e devono essere usati assieme ad altre informazioni disponibili, inclusi sintomi clinici, altri test diagnostici e anamnesi familiare.

Questo test non è indicato per fini diagnostici indipendenti né come test diagnostico prenatale o per analisi preimpianto, screening del portatore, screening neonatale o screening della popolazione.

#### Uso previsto di Illumina DNA Prep with Enrichment Dx (Stati Uniti)

Illumina DNA Prep with Enrichment Dx Kit è un set di reagenti e materiali di consumo per la preparazione delle librerie di campioni ottenute da DNA estratto da sangue intero periferico e tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE). Per la preparazione di librerie mirate a determinate regioni di interesse genomico è necessario l'uso di pannelli sonda forniti dall'utente. Le librerie di campioni ottenute sono destinate all'uso sui sistemi di sequenziamento di Illumina.

#### Uso previsto di Illumina DNA Prep with Enrichment Dx (Unione europea/altro)

Illumina DNA Prep with Enrichment Dx Kit è un set di reagenti e materiali di consumo per la preparazione delle librerie di campioni ottenute da DNA genomico proveniente da cellule e tessuti umani allo scopo di sviluppare saggi diagnostici *in vitro*. Per la preparazione delle librerie mirate a determinate regioni di interesse genomico è necessario l'uso di pannelli sonda forniti dall'utente. Le librerie di campioni ottenute sono destinate all'uso sui sistemi di sequenziamento di Illumina. Illumina DNA Prep with Enrichment Dx include un software per la configurazione, il monitoraggio e l'analisi della corsa di sequenziamento.



Numero verde 1.800.809.4566 (U.S.A.) | Tel. +1.858.202.4566  
techsupport@illumina.com | www.illumina.com

© 2024 Illumina, Inc. Tutti i diritti riservati. Tutti i marchi di fabbrica sono di proprietà di Illumina, Inc. o dei rispettivi proprietari. Per informazioni specifiche sui marchi di fabbrica, visitare la pagina Web [www.illumina.com/company/legal.html](http://www.illumina.com/company/legal.html).  
M-NA-00005 ITA v5.0