

Strumento MiSeq™ Dx

Il primo strumento di sequenziamento di nuova generazione, regolamentato dall'FDA e dotato di marcatura CE-IVD, per uso diagnostico *in vitro*.

Punti principali

- Strumento di facile utilizzo**
 Un'interfaccia intuitiva su touch screen e un flusso di lavoro automatizzato semplificano il funzionamento dello strumento
- Qualità dei dati eccellente**
 Affidabilità dimostrata mediante verifiche di sistema complete
- Ampia gamma di applicazioni**
 Progettato per l'utilizzo con diversi saggi per diagnostica *in vitro* (In-Vitro Diagnostics, IVD) e come piattaforma aperta per lo sviluppo di kit e saggi IVD personalizzati
- Opzioni flessibili per ambienti di laboratori clinici**
 Offerto con una gamma di saggi diagnostici molecolari e con la capacità di eseguire un set di saggi in modalità di ricerca

I risultati completi si ottengono velocemente, eliminando la necessità di tediose analisi reflex.



Descrizione generale

Lo strumento MiSeq Dx è la prima piattaforma per il sequenziamento di nuova generazione (Next-Generation Sequencing, NGS) regolamentato dalla Food and Drug Administration (FDA) e marcato Conformité Européenne per diagnostica *in vitro* (CE-IVD) (Figura 1). Progettato specificatamente per l'ambiente di laboratorio clinico, lo strumento MiSeq Dx offre un piccolo ingombro (0,3 metri quadrati), un flusso di lavoro facile da seguire e output di dati personalizzati in base alle esigenze dei laboratori clinici. Inoltre, il software integrato sullo strumento consente l'impostazione della corsa, il monitoraggio dei campioni, la gestione degli utenti, gli audit trail e l'interpretazione dei risultati.* Grazie alla comprovata tecnologia di sequenziamento mediante sintesi (Sequencing By Synthesis, SBS) Illumina, lo strumento MiSeq Dx fornisce screening e analisi diagnostiche affidabili e accurate.

Vantaggi del sequenziamento NGS

Rispetto al sequenziamento Sanger basato sull'elettroforesi capillare, la tecnologia NGS è in grado di rilevare un'ampia gamma di varianti del DNA, incluse le varianti di bassa frequenza e le varianti adiacenti sottoposte a determinazione delle fasi (phasing), che permette di ottenere risultati più veloci e minori fasi di interventi manuali.^{1,2} La chimica SBS Illumina utilizza la competizione naturale su tutti i quattro 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.³

Figura 1: Strumento MiSeq Dx. Lo strumento MiSeq Dx, regolamentato dall'FDA e dotato della marcatura CE-IVD, offre un flusso di lavoro semplice, un'interfaccia software di facile utilizzo e una maggiore sicurezza dell'utente.

Semplice flusso di lavoro in tre fasi

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

Le librerie vengono sequenziate con una cartuccia di reagenti MiSeq Dx preriempita e pronta all'uso. È sufficiente scongelare la cartuccia, caricare la libreria, inserirla nello strumento MiSeq Dx e avviare il sequenziamento premendo un pulsante.

La tecnologia NGS sulla piattaforma MiSeq Dx utilizza la chimica SBS 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 crescenti. Le identificazioni delle basi vengono eseguite direttamente dalle misurazioni dell'intensità del segnale in ciascun ciclo. Per maggiori informazioni sulla chimica SBS, visitate la pagina Web www.illumina.com.

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



Figura 2: Procedura in tre fasi del saggio MiSeqDx: lo strumento MiSeqDx fa parte di una procedura integrata in tre fasi. I report dettagliati sui risultati sono disponibili solo per i saggi specifici per i target, come pannello Extended RAS, saggio TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant e il saggio TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing.

Sistema software integrato

La piattaforma MiSeqDx 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 progresso 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. I moduli di analisi specifici per il saggio sono disponibili per l'allineamento e l'identificazione di determinate varianti o su regioni target definite dall'utente.

User Management Software

Per assicurare il corretto utilizzo del sistema, lo strumento MiSeqDx è dotato di un sistema di gestione degli utenti integrato tra Local Run Manager e MiSeq Operating Software. Questo permette ai laboratori di controllare e tenere traccia dell'accesso al sistema, assicurando che le analisi vengano eseguite solo dal personale autorizzato.

Saggi e reagenti disponibili

Diversi saggi e reagenti IVD sono attualmente disponibili per l'uso sullo strumento MiSeqDx:[†]

- **Il saggio TruSight™ Cystic Fibrosis 139-Variant** 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 (Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator, *CFTR*), come definito dal database CFTR2.⁴
- **Il saggio TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing** rileva le mutazioni nelle regioni codificanti la proteina e nei limiti introne/esone del gene *CFTR*.
- **TruSeq Custom Amplicon Kit Dx** è una soluzione di sequenziamento a base di ampliconi che permette agli utenti di sviluppare i saggi che mirano alle varianti genetiche che ritengono più importanti. Gli utenti progettano le proprie sonde per la cattura di oligonucleotidi specifiche per le regioni di interesse e utilizzano i reagenti convalidati MiSeqDx per preparare le librerie ed eseguire il sequenziamento.
- **Pannello Extended RAS** è il primo saggio IVD basato sulla tecnologia NGS e approvato dall'FDA che contribuisce all'identificazione di pazienti affetti da cancro al colon-retto per il trattamento con Vectibix® valutando simultaneamente 56 mutazioni nei geni *RAS* controindicati per la terapia con Vectibix. Il software integrato sullo strumento fornisce report di facile interpretazione. Attualmente disponibile solo negli Stati Uniti.

Per ulteriore funzionalità, utilizzare i saggi di preparazione delle librerie Illumina progettati per l'uso sul sistema MiSeq™ sullo strumento MiSeqDx quando utilizzato in modalità di ricerca.

[†]I report dettagliati sui risultati sono disponibili per i saggi specifici per i target, come il saggio TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant e il saggio TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing.

Specifiche dello strumento MiSeqDx

Specifiche dello strumento

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 i7-2710QE 2,10 GHz

Memoria: 2 × 8 GB DDR3 SO-DIMM

Disco rigido: nessuno

Dischi rigidi solidi: 2 × 1 TB SATA

Sistema operativo: Windows 7 Embedded Standard

Diode a emissione luminosa (LED)

530 nm e 660 nm

Dimensioni

L × P × A: 68,6 cm × 56,5 cm × 52,3 cm

Peso: 54,5 kg

Peso imballato: 90,9 kg

Requisiti di alimentazione

100-240 V c.a., 50/60 Hz, 10 A, 400 W

Identificazione a radio frequenza (RFID)

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

Lecture che attraversano i filtri > 15 milioni

Punteggio qualitativo di Q30 (a lunghezza di lettura di 2 × 150 bp) ≥ 80%

Accuratezza complessiva totale: ≥ 99,66%

Riproducibilità complessiva totale: ≥ 99,70%

Informazioni sugli ordini

Prodotto	N. di catalogo
Strumento MiSeqDx	DX-410-1001
MiSeqDx Reagent Kit v3 ^a	20012552
MiSeqDx Reagent Kit v3 ^a	20037124
TruSeq Custom Amplicon Kit Dx	20005718
TruSight Cystic Fibrosis Library Prep (supporta il saggio TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant e il saggio TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing, 96 test)	20036925
Pannello Extended RAS (configurato per 2 corse con un massimo di 10 campioni oltre a 2 campioni di controllo per corsa, o 20 campioni per kit)	20012431

a. I numeri di catalogo 20012552 e 20037124 forniscono gli stessi reagenti. Il numero di catalogo utilizzato dipende dal paese o dalla regione del cliente.

Maggiori informazioni

Per maggiori informazioni sullo strumento MiSeqDx, visitate la pagine Web www.illumina.com/miseqdx.

Bibliografia

1. 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.
2. Precone V, Monaco VD, Esposito MV, [Cracking the Code of Human Diseases Using Next-Generation Sequencing: Applications, Challenges, and Perspectives.](#) *Biomed Res Int.* 2015;161648.
3. Bentley DR, Balasubramanian S, Swerdlow HP, et al. [Accurate Whole Human Genome Sequencing using Reversible Terminator Chemistry.](#) *Nature.* 2008;456(7218):53-59.
4. Traduzione clinica e funzionale del gene CFTR. www.cftr2.org. Consultato il 15 agosto 2017.

Dichiarazione di uso previsto

Uso previsto dello strumento MiSeq™Dx

Lo strumento MiSeqDx è previsto per il sequenziamento mirato di librerie di DNA ottenute da DNA genomico umano estratto da sangue intero periferico o da tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE), quando utilizzato con i saggi per diagnostica *in vitro* (IVD) sullo strumento. Lo strumento MiSeqDx non è previsto per il sequenziamento dell'intero genoma o il sequenziamento *de novo*. Lo strumento MiSeqDx deve essere utilizzato con reagenti IVD e software analitici registrati ed elencati, autorizzati o approvati.

Uso previsto di MiSeq™Dx Reagent Kit v3

MiSeqDx Reagent Kit v3 Illumina è un set di reagenti e materiali di consumo previsto per il sequenziamento di librerie di campioni quando utilizzato con saggi convalidati. MiSeqDx Reagent Kit v3 è previsto per l'uso con lo strumento MiSeqDx e software analitici.

Uso previsto del saggio TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant

Il saggio TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant Illumina è un sistema diagnostico *in vitro* usato per rilevare simultaneamente 139 mutazioni e varianti clinicamente rilevanti che causano la fibrosi cistica del gene regolatore della conduttanza transmembrana della fibrosi cistica (CFTR) in DNA genomico isolato da campioni di sangue intero periferico umano. Le varianti comprendono quelle raccomandate nel 2004 dall'American College of Medical Genetics (ACMG) e nel 2011 dall'American College of Obstetricians and Gynecologists (ACOG). Il test è previsto per lo screening dei portatori negli adulti in età riproduttiva, in test diagnostici di conferma di neonati e bambini e come test iniziale per contribuire alla diagnosi in individui con sospetta fibrosi cistica. I risultati di questo test sono previsti per essere interpretati da un esperto certificato in genetica molecolare o equivalente e dovrebbero essere usati assieme ad altre informazioni di laboratorio e cliniche disponibili. Questo test non è indicato per l'uso nello screening neonatale, in test diagnostici prenatali, in test preimpianto o per fini diagnostici indipendenti. Il test è previsto per l'uso con lo strumento MiSeqDx Illumina.

Bibliografia per il saggio TruSight Cystic Fibrosis 139-Variant

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 del saggio TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing

Il saggio TruSight Cystic Fibrosis Clinical Sequencing Illumina è un sistema diagnostico *in vitro* per il sequenziamento mirato che sottopone a risequenziamento le regioni codificanti la proteina e i limiti 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 K2EDTA. Il test rileva varianti di singolo nucleotide e piccole Indel nella regione sottoposta a sequenziamento e riporta inoltre due mutazioni introniche profonde e due ampie delezioni. Il test è previsto per l'uso con lo strumento MiSeqDx Illumina.

Questo test è previsto per contribuire alla diagnosi in individui con sospetta fibrosi cistica (CF). Questo saggio è più appropriato quando il paziente presenta una fibrosi cistica atipica o non classica o quando altri pannelli di mutazioni non sono riusciti a identificare entrambe le mutazioni causanti la malattia. I risultati del test devono essere interpretati da un gruppo di genetisti molecolari certificati o da un esperto equivalente e devono essere usati assieme ad altre informazioni inclusi sintomi clinici, altri test diagnostici e anamnesi familiare. Questo test non è indicato per l'uso per scopi diagnostici indipendenti, test diagnostici fetali, test preimpianto, screening del portatore, screening neonatale o screening della popolazione.

Uso previsto di TruSeq™ Custom Amplicon Kit Dx

TruSeq Custom Amplicon Kit Dx Illumina è un set di reagenti e materiali di consumo utilizzato per preparare le librerie di campioni ottenute da DNA estratto da sangue intero periferico e tessuto fissato in formalina e incluso in paraffina (FFPE). I reagenti specifici per l'analisi forniti dall'utente sono richiesti per la preparazione delle librerie mirate a determinate regioni di interesse genomico. Le librerie di campioni generate sono previste per l'uso sugli analizzatori per le sequenze di DNA a elevata processività Illumina.

Breve dichiarazione per il pannello Extended RAS**Uso previsto**

Il pannello Praxis™ Extended RAS è un test diagnostico *in vitro* qualitativo che utilizza il sequenziamento mirato in parallelo a elevata processività per il rilevamento di 56 mutazioni specifiche nei geni *RAS* [*KRAS* (esoni 2, 3 e 4) e *NRAS* (esoni 2, 3 e 4)] nel DNA estratto da campioni di tessuto di cancro del colon-retto (Colorectal Cancer, CRC) fissati in formalina e inclusi in paraffina (FFPE). Il pannello Praxis™ Extended RAS contribuisce a identificare i pazienti affetti da cancro al colon-retto da trattare con Vectibix® (panitumumab)¹ in base ai risultati del test che non evidenziano alcuna mutazione. Il test è previsto per l'uso con lo strumento MiSeqDx® Illumina.

Avvertenze e limitazioni rilevanti

- Solo su prescrizione medica.
- Per ottenere prestazioni ottimali del test i campioni devono essere manipolati in modo appropriato come descritto nelle istruzioni per l'uso.
- Il report del pannello Extended RAS determina solo la presenza o l'assenza delle mutazioni *KRAS* e *NRAS* elencate nell'insero della confezione.^{2,3}
- Per i campioni che superano la fase di qualificazione del DNA in base ai requisiti descritti nelle istruzioni per l'uso, il saggio presenta una percentuale stimata di campioni non validi di 6,9%-14,5% valutata in base agli studi clinici e di accuratezza retrospettivi, rispettivamente.
- I rischi del pannello Extended RAS sono associati a potenziale gestione errata dei pazienti in base a falsi risultati del test. Con un risultato del test falso positivo il trattamento con Vectibix potrebbe essere sospeso quando invece il paziente potrebbe averne beneficiato. Con un risultato del test falso negativo il trattamento con Vectibix potrebbe essere somministrato a un paziente per il quale non è previsto un beneficio, esponendolo quindi a eventuali effetti collaterali avversi associati a questa terapia e causando inoltre la mancata somministrazione di un altro farmaco che potrebbe essere più appropriato rispetto a Vectibix.
- I laboratori devono attenersi alle procedure di sicurezza, in quanto alcuni componenti contengono materiali chimici potenzialmente pericolosi e possono verificarsi lesioni personali a causa di inalazione, ingestione, contatto con la pelle e contatto con gli occhi.

Bibliografia per il pannello Extended RAS

1. [Informazioni sulla prescrizione](#) complete per Vectibix, incluse le avvertenze circondate con bordo nero in grassetto.
2. Insero della confezione del pannello [Extended RAS](#).
3. [Riepilogo dei dati sulla sicurezza e dell'efficacia](#).