

Fevereiro 2017

# Guia de instalação rápida do GST RapidScreen Pyro<sup>®</sup> Plug-in

Para instalação e utilização com instrumentos  
PyroMark<sup>®</sup> Q24 e o software PyroMark Q24,  
versão 2.0

# Sobre o GIST RapidScreen Pyro Plug-in

A embalagem do GIST RapidScreen Pyro Plug-in contém o seguinte:

- *Guia de instalação rápida do GIST RapidScreen Pyro*
- Dois ficheiros de instalação
- Relatório de referência para verificação da funcionalidade do GIST RapidScreen Pyro Plug-in

**Nota:** O GIST RapidScreen Pyro Plug-in destina-se a ser utilizado apenas em combinação com o kit *therascreen*® GIST RapidScreen Pyro (ref.º 971510) dedicado e indicado para as aplicações descritas no *Manual do kit thetascreen GIST RapidScreen Pyro (therascreen GIST RapidScreen Pyro Kit Handbook)*.

## Instalação do GIST RapidScreen Pyro Plug-in

**Importante:** O GIST RapidScreen Pyro Plug-in deve ser instalado no **instrumento PyroMark Q24 com o software PyroMark Q24, versão 2.0**, ou no **instrumento PyroMark Q24 MDx com o software PyroMark Q24 MDx, versão 2.0**.

Feche o software PyroMark Q24 2.0 se estiver aberto.

1. Abra o ficheiro de instalação \*.zip e extraia os ficheiros.
2. Clique duas vezes no ficheiro setup.exe.
3. Siga as instruções nas caixas de diálogo apresentadas.
4. Inicie o software PyroMark Q24 2.0. O GIST RapidScreen Pyro Plug-in Report é agora apresentado em "AQ Add On Reports/GIST" (Adição de AQ em relatórios/GIST) no menu "Reports" (Relatórios) no modo AQ.

5. Verifique a funcionalidade do GIST RapidScreen Plug-in (consulte "Verificação da funcionalidade do GIST RapidScreen Plug-in" abaixo).

## Verificação da funcionalidade do GIST RapidScreen Pyro Plug-in

**Importante:** A verificação deve ser realizada sempre que um novo software é instalado ou atualizado no computador.

As etapas seguintes descrevem como verificar se o software está a funcionar corretamente e não foi afetado por quaisquer alterações ao computador.

6. Abra o ficheiro de execução de "GIST Example" (GIST de exemplo) em "Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/GIST" (Atalhos/Ficheiros de exemplo/Execuções PyroMark/GIST) no browser de atalhos.
7. Realize uma análise de "GIST" para todos os poços, conforme descrito em "Análise de uma execução PyroMark Q24" abaixo.
8. Compare os resultados com o relatório de referência. Se os resultados forem idênticos, está confirmado que o Plug-in funciona corretamente.

## Análise de uma execução PyroMark Q24

As etapas seguintes descrevem a análise de mutação de uma execução de GIST concluída utilizando o GIST RapidScreen Pyro Plug-in.

1. Conecte o dispositivo de armazenamento de dados USB, o qual contém o ficheiro da execução processada, na porta USB do computador.

2. Utilizando o Windows® Explorer, copie o ficheiro de execução do dispositivo de armazenamento de dados USB para a localização pretendida no computador.
3. Abra o ficheiro de execução no modo AQ do software PyroMark Q24, seleccionando "Open" (Abrir) no menu "File" (Ficheiro) ou fazendo duplo clique no ficheiro (📁) no browser de atalhos.
4. Selecione "AQ Add On Reports/GIST" a partir de "Reports" no menu (Figura 1).

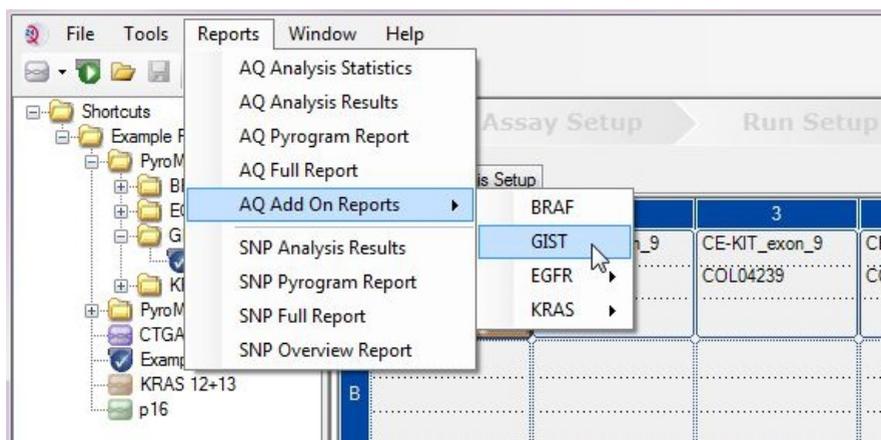


Figura 1. Análise de mutação de uma execução de GIST RapidScreen concluída utilizando o GIST RapidScreen Pyro Plug-in

5. Os poços serão analisados automaticamente em relação a todos os tipos de mutações listados na Tabela 1. Os resultados dos ensaios do exão 9 do gene KIT e do exão 18 do gene PDGFRA serão apresentados numa tabela de perspetiva geral (Figura 2), seguidos dos resultados detalhados que incluem Pyrograms® e a qualidade de análise.

**Importante:** O Plug-in reportará a mutação (Tabela 1) cujo sinal esperado melhor corresponde ao Pyrogram observado.

**Tabela 1. Mutações analisadas pelo GIST RapidScreen Pyro Plug-in**

Substituição de ácido nucleico	Substituição de aminoácido	LOB (unidades de %)	LOD (unidades de %)	ID COSMIC* (V70)
<b>Exão 9 de KIT</b>				
1509_1510insGCCTAT	Y503_F504insAY	1,9	4,9	1326
<b>Exão 18 de PDGFRA</b>				
2525A>T	D842V	0,6	3,6	736
2524G>T	D842Y <sup>§</sup>	0,6	3,6	12396
2524_2535 del12 ou <sup>†</sup> 2526_2537	del12 D842_H845del ou <sup>†</sup> I843_D846del <sup>§</sup>	2,2	5,2	737 ou <sup>†</sup> 96892
2527_2538 del12	I843_D846del <sup>§</sup>	3,0	6,0	12400
2528_2539 del12	I843_S847>T	4,2	7,2	12407
2530_2541 del12	M844_S847del	3,2	6,2	12402
2524_2532 del9	D842_M844del	1,5	4,5	12401
2524_2526 delGAC	D842del	0,9	3,9	12406
2526_2538 >G <sup>‡</sup>	D842_D846>E	0,3	3,3	12408
2524_2526 GAC>TAT	D842Y <sup>§</sup>	0,9	3,9	12397

\* Do Catalogue of Somatic Mutations in Cancer (Catálogo de Mutações Somáticas no Cancro), disponível online no Instituto Sanger, em [www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic](http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic).

<sup>†</sup> As mutações 2524\_2535del12 e 2526\_2537del12 resultam na mesma alteração de ácido nucleico.

<sup>‡</sup> As mutações 2526\_2538>G e 2524\_2526GAC>TAT não podem ser analisadas no modo AQ do software PyroMark Q24.

<sup>§</sup> As mutações 2524G>T e 2524\_2526 GAC>TAT, assim como 2526\_2537 del12 e 2527\_2538 del12, resultam na mesma alteração de aminoácido, respetivamente.

## Summary

Well	Assay Name	Sample ID	Result	Frequency [% units]	Nucleotide Substitution	Amino Acid Substitution	Info
A1	cKIT Exon 9	COL04237	No mutation detected				
A2	cKIT Exon 9	COL04238	Mutation	51.6	1509_1510insGCCTAT	Y503_F504insAY	
A3	cKIT Exon 9	COL04239	Mutation	29.6	1509_1510insGCCTAT	Y503_F504insAY	
A4	cKIT Exon 9	COL04240	No mutation detected				
A5	cKIT Exon 9	wt control DNA	No mutation detected				
A8	cKIT Exon 9		Failed Analysis				⚠
C1	PDGFRA Exon 18	COL04237	No mutation detected				
C2	PDGFRA Exon 18	COL04238	Potential low level mutation	4.5	2525A>T	D842V	⚠
C3	PDGFRA Exon 18	COL04239	No mutation detected				
C4	PDGFRA Exon 18	COL04240	Mutation	52.2	2524_2535del12 or 2526_2537del12	D842_H845del or I843_D846del	
C5	PDGFRA Exon 18	wt control DNA	No mutation detected				
C8	PDGFRA Exon 18		Failed Analysis				⚠

⚠ See detailed results below.

NOTE: The result must be validated by comparing the observed peaks with the expected peak heights displayed as grey bars. For further information about data evaluation and result interpretation please refer to the handbook.

**Figura 2.** Exemplo de resumo de resultados de uma análise utilizando o GIST RapidScreen Pyro Plug-in.

## Interpretação de resultados e detecção de mutações de baixo nível

Recomenda-se vivamente a inclusão de uma amostra de tipo selvagem em todas as execuções, para efeitos de comparação e como controlo dos níveis de fundo.

**Importante:** Uma avaliação de qualidade "Check" (Verificada) ou "Failed" (Falhada) pode ser causada por um padrão inesperado de picos. Isto pode indicar uma mutação inesperada, a qual não é analisada pelo Plug-in Report. Estas amostras devem ser analisadas manualmente com o software PyroMark Q24 tendo em conta que podem conter mutações inesperadas. Consulte o *Manual do kit theascreen GIST RapidScreen Pyro* para obter mais detalhes.

**Importante:** O Pyrogram deve ser sempre comparado com o histograma, o qual é apresentado nos resultados detalhados do Plug-in Report e pode ser apresentado no software PyroMark Q24 clicando com o botão direito na janela do Pyrogram. O Pyrogram deve ser examinado em relação ao aparecimento de picos inesperados. Caso os picos medidos não correspondam às alturas das barras do histograma e não possam ser explicados por mutações raras ou inesperadas, o resultado não serve de base para uma decisão do estado de mutação. Recomenda-se uma nova execução da amostra.

**Importante:** As amostras com uma indicação de nível de mutação potencialmente baixo (frequência no intervalo de LOD a LOD + unidades de 3%) deverão ser novamente executadas em duplicado, juntamente com uma amostra com ADN de controlo não metilado. Será emitido um aviso neste caso. A mutação da amostra só deve ser considerada positiva se ambos os duplicados confirmarem o resultado da análise original e forem visivelmente diferentes do controlo normal. Caso contrário, a amostra deverá ser considerada de tipo selvagem.

**Importante:** Para um exame mais minucioso das amostras com um nível de mutação indicado como potencialmente baixo, recomenda-se que a amostra seja também analisada manualmente no software PyroMark Q24, por exemplo, para comparação com a frequência de mutação na amostra de controlo (consulte o protocolo correspondente para obter instruções detalhadas). Uma frequência medida acima do LOB na amostra de controlo indica um nível de fundo maior que o habitual na execução correspondente, o que poderá ter impacto na quantificação dos alelos, especialmente para níveis de mutação baixos. Neste caso, as mutações de nível potencialmente baixo reportadas não servem de base para uma decisão do estado de mutação e recomenda-se que as amostras sejam novamente executadas com uma mutação de nível potencialmente baixo.

Para informações atualizadas sobre licenciamento e limitações de responsabilidade específicas do produto, consultar o respetivo manual do kit QIAGEN® ou do utilizador. Os manuais do kit QIAGEN e do utilizador estão disponíveis em [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou podem ser pedidos aos Serviços Técnicos ou ao distribuidor local da QIAGEN.

Marcas comerciais: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark®, thetascreen® (Grupo QIAGEN); Windows® (Microsoft Corporation).  
1106190 02/2017 © 2017 QIAGEN, todos os direitos reservados. PROM-8092-002

Encomendas [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Assistência técnica [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Website [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)