

Febrero 2017

# Guía de inicio rápido del complemento GIST RapidScreen Pyro<sup>®</sup>

Para su instalación y uso con instrumentos  
PyroMark<sup>®</sup> Q24 y con el software PyroMark  
Q24 versión 2.0

# Acerca del complemento GIST RapidScreen Pyro

El paquete del complemento GIST RapidScreen Pyro contiene lo siguiente:

- *Guía de inicio rápido del complemento GIST RapidScreen Pyro*
- Dos archivos de instalación
- Informe de referencia para la verificación funcional del complemento GIST RapidScreen Pyro

**Nota:** El complemento GIST RapidScreen Pyro debe utilizarse únicamente con el kit *therascreen*® GIST RapidScreen Pyro específico (ref. 971510), indicado para aplicaciones descritas en el *manual* del kit *GIST RapidScreen Pyro therascreen (therascreen GIST RapidScreen Pyro Kit Handbook)*.

## Instalación del complemento GIST RapidScreen Pyro

**Importante:** El complemento GIST RapidScreen Pyro debe instalarse en el **instrumento PyroMark Q24 con el software PyroMark Q24 versión 2.0** o en el **instrumento PyroMark Q24 MDx con el software PyroMark Q24 MDx versión 2.0**.

Cierre el software PyroMark Q24 2.0 si está abierto.

1. Abra el archivo \*.zip de la instalación y extraiga los archivos.
2. Haga doble clic en el archivo setup.exe.
3. Siga las instrucciones en los cuadros de diálogo que aparecen.

4. Inicie el software PyroMark Q24 2.0. A continuación, aparecerá el informe del complemento GIST RapidScreen Pyro debajo de "AQ Add On Reports/GIST" (Informes del complemento AQ/GIST) en el menú "Reports" (Informes) en modo AQ.
5. Verifique el funcionamiento del complemento GIST RapidScreen (consulte "Verificación del funcionamiento del complemento GIST RapidScreen" más abajo).

## Verificación del funcionamiento del complemento GIST RapidScreen

**Importante:** La verificación deberá llevarse a cabo cada vez que se instale nuevo software o se actualice en el ordenador.

En los pasos siguientes se describe cómo verificar que el software funciona correctamente y no se ha visto afectado por los cambios realizados en el ordenador.

6. Abra la serie analítica "GIST Example" (ejemplo de GIST) debajo de "Shortcuts/Example Files/PyroMark Runs/GIST" (Accesos directos/Archivos de ejemplo/Análisis PyroMark/GIST) en el navegador de accesos directos.
7. Realice un análisis "GIST" para todos los pocillos, como se describe en "Revisión de una serie analítica PyroMark Q24" a continuación.
8. Compare los resultados con el informe de referencia. Si los resultados son idénticos, queda confirmado el correcto funcionamiento del complemento.

## Revisión de una serie analítica PyroMark Q24

En los siguientes pasos se describe el análisis de mutaciones de una serie analítica GIST finalizada utilizando el complemento GIST RapidScreen Pyro.

1. Introduzca la unidad USB donde haya guardado el archivo de la serie analítica procesado en el puerto USB del ordenador.
2. Copie el archivo de la serie analítica de la unidad USB a la ubicación deseada del ordenador mediante el Explorador de Windows®.
3. Abra el archivo de la serie analítica en el modo AQ del software PyroMark Q24. Para hacerlo, seleccione "Open" (abrir) en el menú "File" (archivo) o haga doble clic en el archivo (📁) desde el navegador de accesos directos.
4. Seleccione "AQ Add On Reports/GIST" en el menú "Reports" (Figura 1).

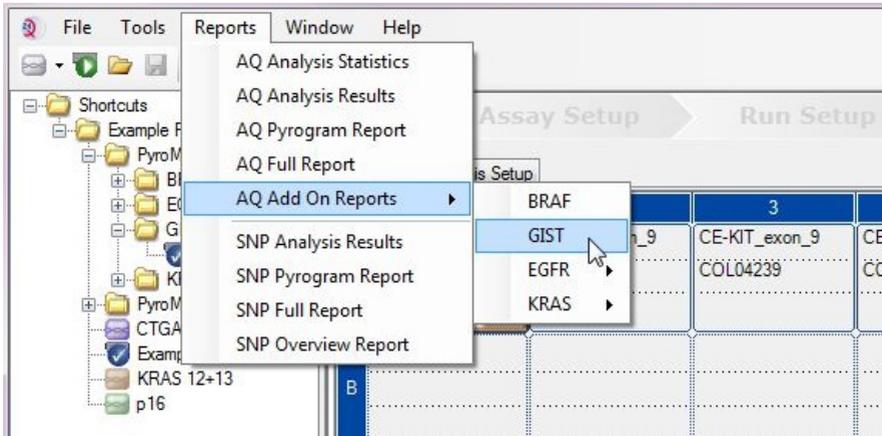


Figura 1. Análisis de mutaciones de una serie analítica GIST RapidScreen finalizada utilizando el complemento GIST RapidScreen Pyro.

5. Se analizan automáticamente los pocillos para detectar todas las mutaciones que se indican en la tabla 1. Los resultados para el ensayo tanto del exón 9 de KIT como del exón 18 de PDGFRA se presentarán en una tabla general (Figura 2), seguido de los resultados detallados que incluyen los Pyrograms® y la calidad del análisis.

**Importante:** El complemento informará de la mutación (tabla 1) cuya señal esperada mejor se ajuste al pirograma observado.

**Tabla 1. Mutaciones analizadas por el complemento GIST RapidScreen Pyro**

Sustitución de ácidos nucleicos	Sustitución de aminoácidos	LOB (unidades de %)	LOD (unidades de %)	COSMIC ID* (V70)
<b>Exón 9 de KIT</b>				
1509_1510insGCCTAT	Y503_F504insAY	1,9	4,9	1326
<b>Exón 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 o <sup>†</sup> 2526_2537	del12 D842_H845del o <sup>†</sup> I843_D846del <sup>§</sup>	2,2	5,2	737 o <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

\* Del catálogo de mutaciones somáticas del cáncer (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer) del Instituto Sanger [www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic](http://www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic).

<sup>†</sup> Las mutaciones 2524\_2535del12 y 2526\_2537del12 generan el mismo cambio de ácidos nucleicos.

<sup>‡</sup> Las mutaciones 2526\_2538>G y 2524\_2526GAC>TAT no se pueden analizar en el modo AQ del software PyroMark Q24.

<sup>§</sup> Las mutaciones 2524G>T y 2524\_2526 GAC>TAT, y 2526\_2537 del12 y 2527\_2538 del12 generan el mismo cambio de aminoácidos, respectivamente.

## 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. Ejemplo de resumen de resultados a partir de un análisis de complemento GIST RapidScreen Pyro.**

## Interpretación de los resultados y detección de mutaciones de bajo nivel

Se recomienda incluir una muestra nativa en cada serie analítica para realizar la comparación y como control para los niveles de referencia.

**Importante:** Un valor “Check” (Revisar) o “Failed” (Errónea) para la valoración de la calidad puede ser debido a un patrón de picos no esperado. Esta situación podría indicar una mutación no esperada y que, por lo tanto, no se analiza en el informe de complemento. Estas muestras deberían analizarse manualmente con el software PyroMark Q24 con la consideración de que podrían contener mutaciones no previstas. Consulte el manual del kit *GIST RapidScreen Pyro theascreen* adecuado para obtener más información.

**Importante:** El pirograma debe compararse siempre con el histograma, que se muestra en los resultados detallados del informe de complemento y puede visualizarse en el software PyroMark Q24 haciendo clic con el botón derecho en la ventana del pirograma. Es necesario revisar el pirograma para detectar la aparición de picos imprevistos. Si los picos medidos no coinciden con la altura de las barras del histograma y dicha diferencia no se debe a mutaciones raras o imprevistas, el resultado no puede considerarse válido para determinar el estado de la mutación. Se recomienda volver a analizar la muestra.

**Importante:** Las muestras cuyos resultados indican la posible presencia de una mutación de bajo nivel (frecuencia en el intervalo de unidades de LOD a LOD + 3%) se deben analizar por duplicado con una muestra que contenga ADN de control no metilado. En este caso, aparecerá un aviso. La muestra solo se debe considerar positiva para la mutación si ambos duplicados confirman el resultado del análisis original y son claramente distintos del control normal. De lo contrario, la muestra se considera nativa.

**Importante:** Para realizar un examen más detenido de las muestras con posibles mutaciones de bajo nivel se recomienda analizar también la muestra manualmente en el software PyroMark Q24, p. ej., para comparar la frecuencia mutacional de la muestra de control (consulte el protocolo correspondiente para obtener más instrucciones). Una frecuencia medida superior al LOB en la muestra de control indica un nivel de fondo superior al habitual en la serie analítica correspondiente, lo que puede afectar la cuantificación de los alelos, especialmente en el caso de niveles mutacionales bajos. En este caso, las posibles mutaciones de bajo nivel notificadas no permiten juzgar el estado mutacional y se recomienda volver a analizar las muestras con una posible mutación de bajo nivel.

Si desea obtener información actualizada sobre la licencia y las exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el manual o la guía del usuario del kit de QIAGEN® correspondiente. Los manuales y las guías del usuario de los kits de QIAGEN están disponibles en [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) o pueden solicitarse a los servicios técnicos de QIAGEN o a su distribuidor local.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark®, iTherascreeen® (QIAGEN Group); Windows® (Microsoft Corporation). 1106190 02/2017 © 2017 QIAGEN. Reservados todos los derechos. PROM-8092.002

Pedidos [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) | Asistencia técnica [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Sitio web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)