

Février 2017

Guide de démarrage rapide du plug-in EGFR Pyro[®]

Conçu pour être installé et utilisé avec les
instruments PyroMark[®] Q24 et le logiciel
PyroMark Q24 version 2.0

À propos du plug-in EGFR Pyro

Le paquet du plug-in EGFR Pyro contient les éléments suivants :

- *Guide de démarrage rapide du plug-in EGFR Pyro*
- Deux fichiers d'installation
- Rapport de référence pour la vérification de la fonctionnalité du plug-in EGFR Pyro

Remarque : le plug-in EGFR Pyro est destiné à être utilisé uniquement en combinaison avec les kits dédiés EGFR Pyro indiqués pour les applications décrites dans les manuels respectifs du kit EGFR Pyro.

Installation du plug-in EGFR Pyro

Important : le plug-in EGFR Pyro doit être installé sur les **instruments PyroMark Q24 avec le logiciel PyroMark Q24 version 2.0.**

1. Fermer le logiciel PyroMark Q24 2.0 s'il est en cours d'utilisation.
2. Ouvrir le fichier d'installation *.zip et extraire les fichiers.
3. Double-cliquer sur le fichier setup.exe.
4. Suivre les instructions indiquées dans les boîtes de dialogue qui apparaissent.
5. Démarrer le logiciel PyroMark Q24 2.0. EGFR Pyro Plug-in Report apparaît maintenant sous « AQ Add On Reports/EGFR » (rapports de l'option quantification des allèles/EGFR) depuis le menu « Reports » (rapports) en mode AQ.
6. Vérifier la fonctionnalité du plug-in (consulter la section « Vérification de la fonctionnalité du plug-in EGFR Pyro » ci-dessous).

Vérification de la fonctionnalité du plug-in EGFR Pyro

Important : cette vérification doit être effectuée chaque fois qu'un nouveau logiciel est installé ou mis à niveau sur l'ordinateur.

Les étapes suivantes décrivent comment vérifier que le logiciel fonctionne correctement et n'a pas été affecté par d'éventuelles modifications de l'ordinateur.

1. Ouvrir le test « EGFR Example » (exemple pour le gène EGFR) sous « Shortcuts/ Example Files/PyroMark Runs/EGFR » (raccourcis/fichiers d'exemples/tests PyroMark/EGFR) dans le raccourci du navigateur.
2. Effectuer une analyse « EGFR Deletions Exon 19 » (délétions dans l'exon 19 du gène EGFR) pour tous les puits comme expliqué dans « Analyse d'un test PyroMark Q24 » ci-dessous.
3. Comparer les résultats avec le rapport de référence. Si les résultats sont identiques, la fonctionnalité correcte du plug-in EGFR est confirmée.

Analyse d'un test PyroMark Q24

Les étapes suivantes décrivent l'analyse des mutations d'un test EGFR terminé à l'aide de l'EGFR Plug-In Report.

1. Insérer la clé USB contenant le fichier de l'analyse effectuée dans le port USB de l'ordinateur.
2. Déplacer le fichier de l'analyse depuis la clé USB vers l'emplacement désiré de l'ordinateur à l'aide de Windows® Explorer.
3. Ouvrez le fichier d'analyse en mode quantification des allèles sur le logiciel PyroMark Q24 soit en sélectionnant « Open » (ouvrir) dans le menu « File » (fichier), soit en double-cliquant sur le fichier (👉) dans le raccourci du navigateur.

- Sélectionnez « AQ Add On Reports/EGFR » et « Exon 18 Codon 719 », « Exon 20 Codon 768 », « Exon 20 Codon 790 », « Exon 21 Codons 858 to 861 » (exon 21 codons 858 à 861) ou « Exon 19 Deletions » (délétions au niveau de l'exon 19) depuis « Reports » dans le menu (figure 1).

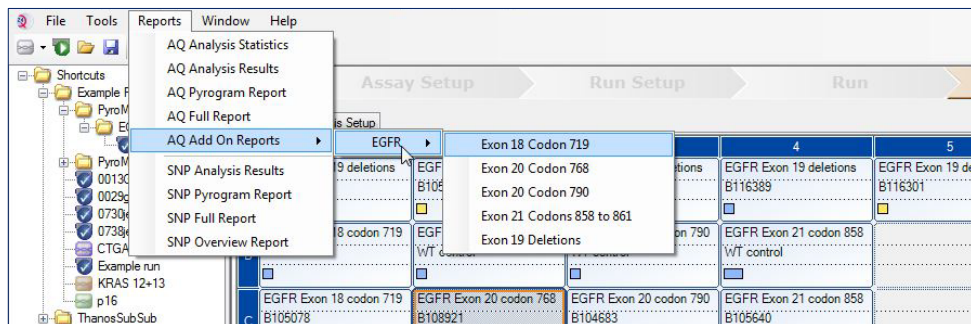


Figure 1. Analyse des mutations d'un test EGFR terminé à l'aide du plug-in EGFR Pyro.

- Les puits seront automatiquement analysés afin de détecter toutes les mutations pour lesquelles la LoD est fournie dans le tableau 1. Les résultats seront présentés dans un tableau récapitulatif (voir l'exemple dans la figure 2 ci-dessous), suivi des résultats détaillés, qui incluent les Pyrograms® (pyrogrammes) et la qualité de l'analyse.

Tableau 1. LoB et LoD déterminées pour des mutations spécifiques avec le plug-in EGFR Pyro



Mutation	Substitution d'un acide aminé	LoB (unités %)	LoD (unités %)	ID COSMIC* (V70)
Délétions au niveau de l'exon 19				
2233del15	K745_E749del	0,6	1,6	26038
2235_2248>AATTC	E746_A750>IP	0,8	1,6	13550
2235_2252>AAT	E746_T751>I	1,1	2,8	13551
2235del15	E746_A750del	0,9	1,8	6223
2236del15	E746_A750del	0,2	1,2	6225
2237_2252>T	E746_T751>V	0,8	2,4	12386
2237_2255>T	E746_S752>V	0,6	1,6	12384
2237del15	E746_T751>A	0,9	1,9	12678
2237del18	E746_S752>A	0,5	1,7	12367
2238_2248>GC	L747_A750>P	0,8	2,5	12422
2238_2252>GCA	L747_T751>Q	0,2	0,6	12419
2238del18	E746_S752>D	0,3	1,1	6220
2239_2248>C	L747_A750>P	1,8	2,4	12382
2239_2251>C	L747_T751>P	0,6	1,7	12383
2239_2258>CA	L747_P753>Q	1,3	3,9	12387
2239del18	L747_S752del	0,6	1,5	6255
2239del9	L747_E749del	2,0	3,7	6218
2240del12	L747_T751>S	0,4	1,5	6210
2240del15	L747_T751del	0,9	1,9	12369
2240del18	L747_P753>S	0,9	1,9	12370
Exon 18 codon 719 (GGC)				
AGC	G719S	0,9	1,5	6252
TGC	G719C	1,0	1,6	6253
GCC	G719A	4,7	9,1	6239
Exon 20 codon 768 (AGC)				
ATC	S768I	2,6	5,0	6241
Exon 20 codon 790 (ACG)				
ATG	T790M	7,0	10,7	6240


Exon 21 codon 858 (CTG)				
CGG	L858R	0,6	2,6 (5,5) [†]	6224
Exon 21 codon 861 (CTG)				
CAG	L861Q	3,2	4,3	6213
CGG	L861R	1,9	4,2	12374

* Catalogue des mutations somatiques associées au cancer (Catalogue of Somatic Mutations in Cancer), disponible en ligne sur le site du Sanger Institute à l'adresse www.sanger.ac.uk/genetics/CGP/cosmic/.

[†] Niveau de mutation le plus bas pour un échantillon donnant lieu à une fréquence mesurée \geq LoD.

Summary

Well	Sample ID	Result	Frequency [% units]	Nucleotide Substitution	Amino Acid Substitution	Info
A1	B104683	Mutation	34.0	2236del15	E746_A750del	
A2	B105072	Wildtype				
A3	B116390	Mutation	26.6	2240del18	L747_P753>S	
A4	B116389	Wildtype				
A5	B116301	Potential low level mutation	3.2	2233del15	K745_E749del	
A6	B116392	Mutation	15.4	2235del15	E746_A750del	
A7	WT control	Wildtype				
A8	NTC	Failed Analysis				

 See detailed results for further explanation.

NOTE: For further information about data evaluation please refer to the handbook.

Figure 2. Résumé des résultats de l'exemple d'une analyse du plug-in EGFR Pyro.

Interprétation des résultats et détection des mutations de faible niveau

Il est fortement recommandé d'inclure un échantillon de type sauvage dans chaque analyse à des fins de comparaison et en tant que contrôle pour le bruit de fond.

Important : une évaluation de la qualité marquée d'un « Check » (à vérifier) ou d'un « Failed » (échec) peut être provoquée par un modèle de pics inattendu. Cela peut indiquer une mutation inattendue qui n'est pas analysée par le Plug-in Report. Ces échantillons doivent être analysés

manuellement à l'aide du logiciel PyroMark Q24 en prenant les mutations inattendues en considération. Consulter le manuel approprié du kit EGFR Pyro pour plus d'informations.

Important : le pyrogramme doit toujours être comparé à l'histogramme, qui figure dans les résultats détaillés du Plug-in Report et peut être affiché dans le logiciel PyroMark Q24 en cliquant avec le bouton droit dans la fenêtre Pyrogram. La présence de pics inattendus dans les pyrogrammes doit être vérifiée. Si les pics mesurés ne concordent pas avec la hauteur des barres d'histogramme et qu'une mutation rare ou inattendue ne permet pas d'expliquer ce phénomène, le résultat ne doit pas être utilisé pour déterminer l'état mutationnel. Il est recommandé de réanalyser l'échantillon.

Important : les échantillons pour lesquels une mutation de faible niveau potentielle a été rapportée (fréquence comprise dans la plage allant de la LoD à la LoD + 3 unités %) doivent être réanalysés en duplicats avec un échantillon contenant de l'ADN de contrôle non méthylé. Un avertissement sera émis dans ce cas.

Pour obtenir une information actualisée sur la licence et les clauses de responsabilité spécifiques des produits, consulter le manuel du kit ou le manuel d'utilisation QIAGEN® approprié. Les manuels des kits et manuels d'utilisation QIAGEN sont disponibles à l'adresse www.qiagen.com ou peuvent être demandés auprès des Services techniques QIAGEN ou du distributeur local.

Marques déposées : QIAGEN®, Sample to Insight®, Pyro®, Pyrogram®, PyroMark® (groupe QIAGEN) ; Windows® (Microsoft Corporation).
1106189 02/2017 © 2017 QIAGEN, tous droits réservés. PROM-8091-003