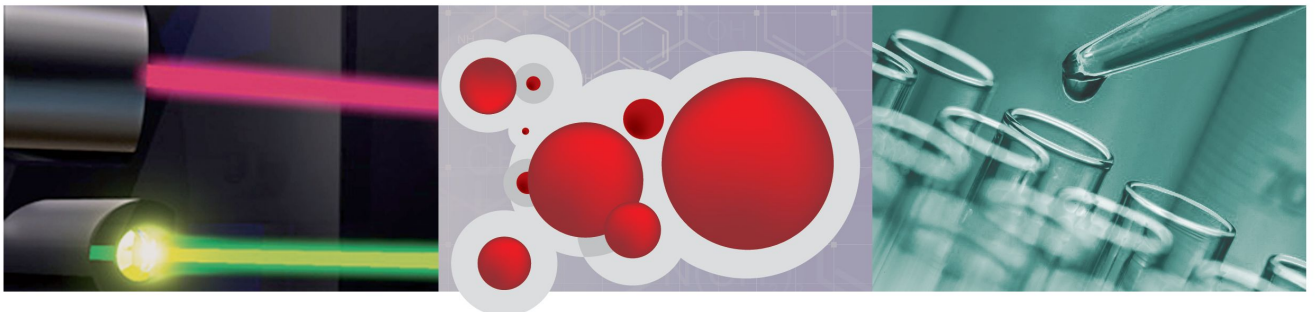



Luminex[®]

Equipo de análisis xTAG[®] Cystic Fibrosis Kit (EU)

CE IVD Para utilizar con los sistemas Luminex[®] 100/200[™]



Componentes del equipo	REF
Equipo de análisis xTAG [®] Cystic Fibrosis Kit (EU)  96	I048C0435
CD del equipo de análisis xTAG [®] Cystic Fibrosis Kit (EU) (contiene software de análisis de datos xTAG y etiquetado de productos relacionado)	S048-0279

Aviso a los destinatarios acerca de las licencias

Al abrir el paquete que contiene los reactivos xTAG o al utilizar este equipo de cualquier manera, usted consiente y acepta respetar los siguientes términos y condiciones. También acepta que los siguientes términos y condiciones constituyen un contrato legalmente válido y vinculante que está obligado a cumplir. Si no está de acuerdo con todos los términos y las condiciones que se exponen a continuación, debe devolver este equipo de inmediato antes de utilizarlo para que se le devuelva el dinero.

Este producto está cubierto, en su totalidad o en parte, o fabricado por procesos cubiertos por una o más de las siguientes patentes: US 6,514,295, US 6,599,331, US 6,632,526, US 6,929,859, US 7,445, 844 y US 7,645,868 y sus homólogos extranjeros. Usted, el cliente, adquiere el derecho bajo los derechos de patente de Luminex Corporation de utilizar este equipo o cualquier parte de este, inclusive y en forma ilimitada, las microesferas contenidas en él, solo con los instrumentos fluorescentes para ensayos analíticos de Luminex. Usted, el cliente, no deberá descifrar, descompilar, desmontar ni modificar el equipo.

Luminex Molecular Diagnostics, Inc. ha licenciado los derechos para vender los productos para análisis de ácidos nucleicos en la patente de EE. UU. N.º 5,582,989, incluidas las aplicaciones relacionadas y sus homólogos extranjeros. Luminex Molecular Diagnostics, Inc. ha licenciado los derechos de venta de productos para el análisis de variantes genéticas de los genes CFTR del Hospital for Sick Children (Hospital de niños enfermos, Toronto) y la Universidad de Michigan. Se otorga al comprador de este equipo los derechos bajo esta licencia para utilizar el contenido de este equipo con el fin de realizar análisis de ácido nucleico y de vender los resultados de este análisis, en caso de querer hacerlo. No se otorga al comprador de este equipo derechos ni licencias para llevar a cabo análisis o acciones distintas de las permitidas en este documento.

Partes de este equipo se fabrican y venden al amparo de la licencia de GE Healthcare Bio-Sciences Corp., bajo las patentes de EE. UU. números 5,741,676 y 5,756,285, y patentes relacionadas.

La exo(-) ADN polimerasa Platinum[®] *Tfi* incluida en este equipo se fabrica y suministra al amparo de la licencia de Invitrogen Corporation, cuya licencia incluye sólo el derecho de uso de la exo(-)ADN polimerasa Platinum *Tfi* para fines de diagnóstico in vitro en humanos.

Información sobre marcas comerciales

Las siguientes marcas registradas pertenecen a Luminex Corporation: Luminex[®], xMAP[®], xTAG[®], xPONENT[®] y Luminex[®] 100/200[™].

El resto de las marcas comerciales, incluidas Costar[®], Thermowell[®], EasyMag[™], Falcon[®], Cole-Parmer[®], Microseal[®], QIAGEN[®], Microsoft[®] Windows[®], Pentium[®] y Platinum[®] son marcas comerciales de sus respectivas empresas.

Luminex Corporation, 2012. Todos los derechos reservados. Ninguna parte de esta publicación se puede reproducir, transmitir, transcribir o traducir a cualquier idioma o lenguaje informático, en forma alguna o por medio alguno sin el previo consentimiento expreso y por escrito de Luminex Corporation.



Para uso en diagnóstico *in vitro*



Consulte [Reactivos suministrados con el equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit \(EU\)](#) para leer las condiciones de almacenamiento de reactivos.


Previa solicitud, hay disponible una copia en papel.

MLD-048-KPI-006 Rev. A

Fecha de entrada en vigor: Diciembre de 2012

Interpretación de símbolos

	Código del lote		Dispositivo médico para diagnóstico <i>in vitro</i>
	Número de catálogo		Mantener alejado de la luz solar. Proteger de la luz
	Fabricante		Precaución. Consulte los documentos adjuntos. Este dispositivo tiene asociadas advertencias y precauciones específicas.

	Consulte las instrucciones de uso		Contenido suficiente para <n> pruebas
	Limitación de la temperatura		Representante autorizado en la Comunidad Europea
	Usar antes de AAAA-MM-DD o AAAA-MM		Marca de conformidad de la Unión Europea



Luminex Molecular Diagnostics, Inc.

439 University Ave.
 Toronto, ON, Canadá
 M5G 1Y8



WMDE
 Bergerweg 18
 6085 AT Horn
 Países Bajos

Soporte técnico

Teléfono directo: +1 512-381-4397
 Llamadas internacionales sin cargo:
 +800-2939-4959

Correo electrónico:
support@luminexcorp.com
www.luminexcorp.com

Índice de contenidos

Uso previsto/instrucciones de uso	1
Resumen y explicación de la prueba	2
Resumen del análisis	2
Reactivos	5
Equipo y consumibles requeridos	7
Equipo	7
Consumibles	8
Software para análisis de datos	8
Archivos incluidos en el CD del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU)	8
Sistema operativo	9
Advertencias y precauciones	9
Limitaciones de los análisis	10
Sistema Luminex 100/200	11
Instrucciones de instalación de protocolos de adquisición de datos	11
Controles de los análisis	12
Controles negativos	12
Controles positivos	12
Preparación de muestras	12
Procedimiento de análisis	12
PCR multiplex	13
Tratamiento de amplicones	15
Reacciones ASPE multiplex	16
Preparación del instrumental	19
Hibridación de microesferas	19
Preparación de la solución de informante	21
Adquisición de datos	23
Creación de nuevo lote	23
Instrucciones de instalación del TDAS CFTR (EU)	24
Análisis de datos con TDAS CFTR (EU)	25
Interpretación de resultados	28
Recomendaciones para nueva prueba	31
Características de funcionamiento	33
Precisión/Comparación de métodos	33
Precisión/Reproducibilidad	42
Efecto de muestras excesivas o limitadas	57
Sustancias interferentes	57
Estabilidad	57
Garantía limitada del producto	57
Contrato de licencia de usuario para el TDAS CFTR (EU)	58
Aviso a los destinatarios acerca de las licencias	58
Condiciones de uso y restricciones legales	58
Uso del TDAS	58
Restricciones de uso	59
Reserva de derechos	59
Información de propiedad exclusiva	59
Renuncia de responsabilidad	60
Limitación de responsabilidad	60

Indemnización	60
Leyes de control de acceso y exportación	60
Leyes aplicables	61
Divisibilidad	61
Acuerdo completo	61
Asignación	61
Rescisión	61
Idioma	61

Uso previsto/instrucciones de uso

El equipo de análisis xTAG® Cystic Fibrosis Kit (EU) es un dispositivo que se emplea para detectar e identificar simultáneamente un panel de mutaciones y variantes en el gen regulador de la conductancia transmembrana (CFTR) de la fibrosis quística en muestras y puntos de sangre humana. El equipo incluye las mutaciones y variantes que actualmente recomiendan el ACMG (Colegio Estadounidense de Genética Médica) y el ACOG (Colegio Norteamericano de Obstetras y Ginecólogos), más algunas de las mutaciones más comunes en el mundo (Tablas 1, 2 y 3). El equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) es una prueba cualitativa de genotipado que proporciona información destinada a ser utilizada en pruebas de adultos portadores en edad reproductiva, así como ayuda en el diagnóstico de neonatos y en prueba de confirmación de diagnóstico de neonatos y niños.

El equipo no está indicado para su uso en diagnósticos fetales o en pruebas de pre-implantación. Este equipo tampoco está indicado para ser utilizado como método de diagnóstico aislado.

Nota: Las variantes (polimorfismos) aparecen en cursiva en las listas de las siguientes tablas.

Tabla 1. **Mutaciones y variantes incluidas en la reacción A del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU)**

dF508*	1717-1G>A*	W1282X*	2307insA
dI507*	R560T*	N1303K*	Y1092X
G542X*	R553X*	394delTT	M1101K
G85E*	G551D*	Y122X	S1255X
R117H*	1898+1G>A*	R347H	3876delA
621+1G>T*	2184delA*	V520F	3905insT
711+1G>T*	2789+5G>A*	A559T	<i>5/7/9T</i>
1078delT	3120+1G>A*	S549N	<i>F508C</i>
R334W*	R1162X*	S549R (T>G)	<i>I507V</i>
R347P*	3659delC*	1898+5G>T	<i>I506V</i>
A455E*	3849+10kbC>T*	2183AA>G	

* Recomendado por ACMG

Tabla 2. **Mutaciones incluidas en la reacción B del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU)**

E60X	935delA	1812-1G>A	3199del6
R75X	dF311	G622D	R1066C
405+3A>C	G330X	2055del9>A	W1089X
406-1G>A	R352Q	2143delT	D1152H
444delA	S364P	K710X	R1158X
R117C	G480C	Q890X	3791delC
G178R	Q493X	2869insG	S1196X
L206W	1677delTA	3120G>A	CFTR dele2,3

Tabla 3. **Mutaciones y variante incluidas en la reacción C del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU)**

P67L	711+5G>A	712-1G>T	T338I
Q552X	D579G	E585X	1898+3A>G
2184insA	L1065P	R1066H	L1077P
G1244E	S1251N	4016insT	<i>I148T</i>

Resumen y explicación de la prueba

Resumen del análisis

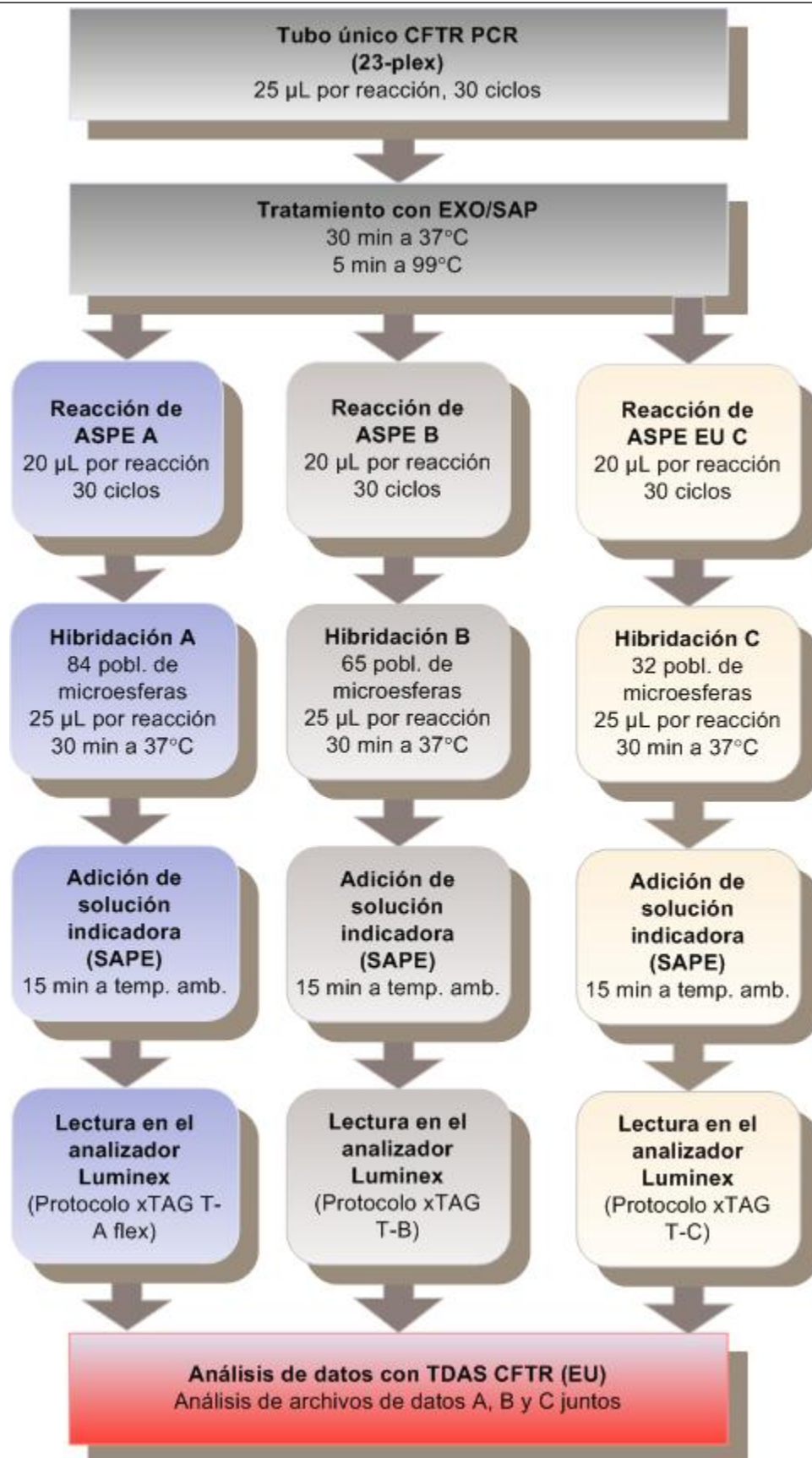
El equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) consiste en una sola prueba multiplex de reacción en cadena de la polimerasa que posteriormente se utiliza en tres reacciones aleloespecíficas de elongación del iniciador (A, B y C) independientes. Los productos de estas tres reacciones ASPE (siglas en inglés de reacción aleloespecífica de elongación del iniciador) se analizan posteriormente en tres reacciones de hibridación de microesferas (A, B y C) independientes que se llevan a cabo en la plataforma xMAP Luminex® 100 o 200™. Las muestras de ADN se pueden investigar para las 5 variantes y para un máximo de 75 mutaciones en el gen CFTR (definidas por el usuario) de un total de 85 mutaciones disponibles.

La reacción "A" del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) analiza simultáneamente las 23 mutaciones que actualmente recomiendan el ACMG (Colegio Estadounidense de Genética Médica) y el ACOG (Colegio Norteamericano de Obstetras y Ginecólogos). Investiga, además, 4 variantes, más la mutación 1078delT y 15 de las mutaciones más comunes del mundo y prevalentes en Norteamérica, tal y como queda recogido en la Tabla 1. La reacción "B" del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) analiza simultáneamente 32 mutaciones del gen regulador de la conductancia transmembrana (CFTR) de la fibrosis quística, tal y como se recoge en la Tabla 2. Y la reacción "C" del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) estudia simultáneamente

15 mutaciones del gen CFTR, así como la variante I148T, tal y como se muestra en la Tabla 3.

El análisis del equipo xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) requiere someter cada muestra a las reacciones "A", "B" y "C" del equipo, tal y como se observa en la Figura 1.

Figura 1. Diagrama del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU)



El tamaño de los amplímeros obtenidos por PCR oscila entre 179 bp y 465 bp. Para permitir la incorporación eficaz de dCTP etiquetada con biotina durante la reacción de elongación aleloespecífica del iniciador (ASPE), el producto obtenido por PCR se trata con fosfatasa alcalina de gamba (SAP) para desactivar los nucleótidos residuales (especialmente dCTP) y con exonucleasa I (EXO) para degradar cualquier iniciador remanente de la reacción PCR. A continuación del tratamiento EXO/SAP, se utiliza una parte alícuota de 5 µL del producto obtenido por PCR en cada una de las reacciones ASPE "A", "B" y "C".

La mezcla obtenida en la reacción ASPE "A" contiene 84 iniciadores universales, la obtenida en ASPE "B" 65 y la obtenida en ASPE "C" 33 iniciadores universales. Cada uno de los productos que se obtienen de una reacción ASPE se separa por hibridación en la matriz universal (mezcla de microesferas xTAG A, B y C) en presencia del tampón de hibridación y a continuación se incuba con estreptavidina conjugada con R-ficoeritrina (solución de informante). Las muestras se leen en el analizador Luminex® 100 o 200™ y los valores de fluorescencia captados en los archivos de salida se examinan con el software de análisis de datos xTAG (TDAS CFTR (EU)).

Desde el paso de reacción ASPE al de adquisición de datos, cada muestra se procesa en tres pozos de reacción. El usuario puede seleccionar hasta 75 mutaciones para analizar en cada muestra, además de las cinco variantes que incluye el ensayo. A fin de obtener un resultado final, TDAS CFTR (EU) combina los resultados de los tres productos obtenidos en la reacción ASPE basándose en el único identificador de muestra introducido, independientemente del orden o la ubicación de la muestra en la placa, y analiza los archivos de datos utilizando los paneles de mutación definidos por el usuario.

Reactivos

Reactivos suministrados con el equipo de análisis xTAG® Cystic Fibrosis Kit (EU)

En la siguiente tabla se detallan los reactivos que se suministran con el equipo y sus condiciones de almacenamiento.

Tabla 4. **Reactivos suministrados con el equipo xTAG® Cystic Fibrosis Kit (EU)**

Reactivo	Volumen para 96 pruebas	Condiciones de almacenamiento	Reactivos localizados en:
xTAG® CFTR PCR Primer Mix v2 (xTAG® Mezcla principal CFTR PCR v2) (incluye dNTP)	240 µl	Almacenar a una temperatura de entre -25 °C y -15 °C tras la recepción en un congelador <i>antiescarcha</i> .	Caja 1 de 2 (cartón grande)
xTAG® CFTR ASPE Primer Mix A v2 (xTAG® Mezcla principal CFTR ASPE A v2) (incluye dNTP)	192 µl		

Tabla 4. **Reactivos suministrados con el equipo xTAG® Cystic Fibrosis Kit (EU) continuación**

Reactivo	Volumen para 96 pruebas	Condiciones de almacenamiento	Reactivos localizados en:
xTAG® CFTR ASPE Primer Mix B v2 (xTAG® Mezcla principal CFTR ASPE B v2) (incluye dNTP)	192 µl		
xTAG® CFTR EU ASPE Primer Mix C (xTAG® Mezcla principal ASPE CFTR EU C) (incluye dNTP)	192 µl		
Platinum Tfi Exo(-) DNA Polymerase 5 units/uL (5 unidades/ul de exo(-) ADN polimerasa Platinum Tfi)	115 µl x 4 ampollas		
Platinum Tfi Reaction Buffer (Tampón de reacción Platinum Tfi), 5x	1,3 ml x 4 ampollas		
Tfi 50 mM MgCl ₂	1,0 ml x 3 ampollas		
xTAG® Exonuclease (xTAG® Exonucleasa) I 10 unidades/µl	48 µl x 2 ampollas		
xTAG® Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) (1 unidad/µl de xTAG® Fosfatasa alcalina de gamba (SAP))	120 µl x 2 ampollas		
xTAG® CFTR Bead Mix A v2 (xTAG® Mezcla de microesferas CFTR A v2)	2,16 ml	Almacenar a una temperatura de entre -25 y -15 °C <i>protegida de la luz</i> tras la recepción.	
xTAG® CFTR Bead Mix B v2 (xTAG® Mezcla de microesferas CFTR B v2)	2,16 ml	Almacenar a una temperatura de entre 2 y 8 °C <i>protegida de la luz</i> tras el primer uso.	

Tabla 4. **Reactivos suministrados con el equipo xTAG® Cystic Fibrosis Kit (EU) continuación**

Reactivo	Volumen para 96 pruebas	Condiciones de almacenamiento	Reactivos localizados en:
xTAG® CFTR EU Bead Mix C (xTAG® Mezcla de microesferas CFTR EU C)	2,16 ml		
xTAG® Reporter Buffer (Tampón informante para xTAG®)	12 ml x 3 ampollas	Almacenar a una temperatura de entre -25 y -15 °C tras la recepción. Almacenar a una temperatura de entre 2 °C y 8 °C tras el primer uso.	
xTAG® Streptavidin, R-Phycoerythrin Conjugate (1 mg/ml de conjugado de xTAG® estreptavidina/R-ficoeritrina) (en 0,1 M NaP, 0,1 M NaCl, pH 7,5, 2 mM azida)	120 µl x 3 ampollas	Almacenar a una temperatura de entre 2 y 6 °C protegida de la luz tras la recepción. <i>No congelar.</i>	Caja 2 de 2 (cartón pequeño)

Nota: Para obtener una copia de la ficha técnica de seguridad (SDS), póngase en contacto con el servicio de soporte técnico de Luminex.

Nota: Se ha calculado suficiente exceso de volúmenes de reactivo para soportar 4 ciclos de congelación de los reactivos del análisis y 96 reacciones por análisis en total. Al calcular los volúmenes de la mezcla principal para múltiples reacciones, adhiérase a la norma de exceso del 10 por ciento.

Nota: No utilice el equipo ni ningún componente del mismo después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de cartón del equipo. No intercambie componentes de equipo entre distintos lotes de equipo. Los grupos de equipo se indican en la etiqueta del equipo.

Reactivos auxiliares requeridos pero no suministrados con el equipo

- Equipos de extracción de ADN
- Agua destilada libre de RNasa y DNasa (Invitrogen, N.º cat. 10977-015) o equivalente

Equipo y consumibles requeridos

En la siguiente lista encontrará una descripción de los equipos y consumibles requeridos.

Equipo

- Sistema Luminex® (100 o 200 con software, calibres y controles xPONENT 3.1)
- Minicentrífuga (InterScience, n.º de cat. C-1301) o equivalente

- Pipetas multicanal (1-10 µl, 5-50 µl, 50-200 µl)
- Pipetas (10 µl, 100 µl, 200 µl, 1.000 µl)
- Soportes para tubos de minicentrífuga de 0,5 ml y 1,5 ml
- Soportes para tubos de pared delgada de 0,2 ml para PCR
- Baño de ultrasonidos (tina de ultrasonido, Cole-Parmer[®], n.º de cat. A-08849-00) o equivalente
- Termociclador para tubos de pared delgada de 0,2 ml para PCR y placas de 96 pozos
- Vórtice
- Bloque calentador
- Bloque frío (opcional)

Consumibles

- Tubos de polipropileno de pared delgada de 0,2 ml para PCR (adecuados para termociclador)
- Tubos de microcentrífuga estériles de polipropileno de 1,5 ml
- Tubos estériles de polipropileno de 15 ml o equivalentes
- Placas de paredes delgadas de policarbonato de 96 pozos Costar[®] Thermowell[®] (n.º de catálogo de Corning 6509) o equivalente
- Tubos de vidrio borosilicato (5 o 15 ml)
- Microseal[®] para tapar la placa de 96 pozos (n.º de catálogo de Bio-Rad MSA5001)
- Parafilm[®] M (American Can Company)
- Tubos de polipropileno de 50 ml (por ejemplo, marca Falcon[®])
- Puntas resistentes a los aerosoles para pipetas
- Cubetas de depósito

Software para análisis de datos

Los datos que genera el análisis quedan recogidos en un archivo de salida, uno por reacción, que se puede analizar con el software de análisis de datos, TDAS CFTR (EU). TDAS CFTR (EU) aplica algoritmos a los valores de MFI que produce cada muestra para generar dianas de genotipado.

TDAS CFTR (EU) viene incluido en el CD del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) junto con la lista de archivos que se enumeran a continuación. Consulte las [Instrucciones de instalación del TDAS CFTR \(EU\)](#) para leer las instrucciones de instalación y uso del TDAS CFTR (EU). Asegúrese de que la versión del TDAS CFTR (EU) especificada en la caja que contiene los reactivos del equipo sea la versión utilizada para analizar los datos generados con los reactivos, a menos que se notifique lo contrario.

Archivos incluidos en el CD del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU)

- Prospecto del equipo de análisis xTAG[®] Cystic Fibrosis Kit (EU) (este documento)

- Archivo ejecutable de instalación del software xTAG Data Analysis Software (TDAS CFTR (EU))
- Protocolos de adquisición de datos del software xPONENT 3.1
- Archivos de salida de ejemplo
- Historial de versiones del TDAS CFTR (EU)
- Manual del usuario del *TDAS CFTR (EU)*

Sistema operativo

- Sistema operativo: Microsoft® Windows® XP o Windows® 7
- CPU: Pentium® 4 - 1 GHz o más avanzado
- Memoria: 512 MB o más de memoria RAM
- Espacio en disco: como mínimo 1 gigabyte (GB) de espacio libre
- CD-ROM: unidad de CD/DVD 24x o más rápida
- Monitor: monitor CRT o LCD con una resolución de 1024 x 768 o superior

Advertencias y precauciones

1. Sólo para uso profesional en diagnóstico in vitro. Para uso exclusivo de profesionales instruidos en el equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU). Para uso exclusivo de laboratorios clínicos.
2. En el caso de que el embalaje esté dañado, póngase en contacto con el servicio de soporte técnico. Para obtener más información sobre eliminación de residuos, manipulación medidas de vertidos accidentales, consulte las instrucciones de la Hoja de Datos de Seguridad (SDS).
3. Tenga cuidado al manipular, almacenar y eliminar materiales potencialmente infecciosos. Se recomienda el uso de protección de barrera adecuada contra posibles patógenos durante todas las etapas del procedimiento. Se deben llevar guantes y protección para los ojos en todo momento. Se recomienda seguir las directivas y normas locales de seguridad biológica y riesgo biológico al trabajar con sangre humana, líquidos corporales, tejidos o líneas celulares primarias humanas donde se pueda desconocer la presencia de un agente infeccioso. Elimine los residuos de conformidad con las directrices médicas aceptadas y los reglamentos aplicables.
4. La manipulación, uso, almacenamiento y eliminación de materiales de origen humano y de componentes analíticos deberán realizarse de conformidad con los procedimientos definidos en las directivas y normas regionales de seguridad biológica.
5. Asigne áreas separadas para las actividades previas y posteriores al PCR como medida de precaución contra la contaminación por traspaso. En cada una de esas áreas es obligatorio llevar guantes nuevos y limpios que se deben cambiar antes de salir del área.
6. Realice el procedimiento descrito en este prospecto. Cualquier desviación de los protocolos descritos puede ocasionar el fallo del análisis o dar lugar a resultados erróneos.
7. No utilice el equipo ni ningún componente del mismo después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de cartón del equipo. No intercambie componentes de equipo entre distintos lotes de equipo. Tenga en cuenta que los lotes de equipo se indican en la etiqueta del equipo.

8. Se ha demostrado que la heparina inhibe el PCR. No heparinice, por tanto, tubos de recogida de sangre con este equipo.
9. Los valores de MFI se suministran sólo para facilitar la identificación y solución de problemas, y no deben utilizarse para anular las dianas finales del TDAS CFTR (EU).
10. El usuario debe identificar las muestras de control negativas y seleccionar paneles de mutaciones para cada muestra antes de analizar los datos del lote. Los paneles de mutaciones debe definirlos el usuario y deben ser creados antes de asignarlos a las muestras. En el caso del equipo de análisis xTAG Fibrosis Quística (EU), el recuento de mutaciones de cada panel no deberá exceder de 75 más las 5 variantes incluidas en el ensayo. Una vez analizados los datos, todos los análisis posteriores que se lleven a cabo con TDAS CFTR (EU) para el lote en cuestión deberán utilizar los mismos paneles de mutaciones y controles negativos seleccionados para el primer análisis; es decir, NO está permitido mostrar datos ocultos u ocultar datos visibles.
11. Cometer errores a la hora de manipular muestras puede generar dianas incorrectas. Si comete una equivocación a la hora de manipular el ensayo, repítalo desde el paso de extracción de ADN. Se trata de un ensayo de 1 pozo hasta e incluido el tratamiento EXO/SAP y un análisis de tres pozos para los pasos posteriores. Extreme las precauciones para garantizar la correcta realización de los pasos de seguimiento y manipulación de datos de las muestras.

Limitaciones de los análisis

1. Los resultados obtenidos con el equipo de análisis xTAG[®] Cystic Fibrosis Kit (EU) deben ser utilizados e interpretados en el contexto de una evaluación clínica completa. Luminex Molecular Diagnostics, Inc. no se hace responsable de las decisiones clínicas que se adopten.
2. El equipo investiga un subconjunto de mutaciones/variaciones conocidas del gen regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística (>1.300). En este sentido, un resultado global "tipo silvestre" no excluye de forma garantizada la presencia de otras mutaciones/variaciones conocidas del gen regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística en las muestras analizadas.
3. Como con cualquier análisis basado en la hibridación, los polimorfismos o mutaciones subyacentes en regiones de unión de iniciadores pueden afectar a los alelos que están siendo analizados y, por consiguiente, a las dianas realizadas. Todas las dianas de mutación D deberán confirmarse mediante secuenciación excepto dI507 y dF508. En el caso concreto de las dianas de mutación D dI507 dF508, sólo se aplicará secuenciación si está presente una variante I506V, I507V o F508C. Consulte la sección [Interpretación de resultados](#) para obtener información más detallada sobre la interpretación de las dianas de mutación D.
4. El análisis de los resultados de las mutaciones 2183AA>G y 2184delA pertenecientes a la Reacción A no se puede combinar con el análisis de los resultados de las mutaciones 2184insA pertenecientes a la Reacción C. Consulte la sección [Análisis de datos con TDAS CFTR \(EU\)](#).
5. Cuando el equipo se emplee para diagnosticar portadores, los resultados negativos se deberán contemplar en el contexto de los riesgos residuales de ser un portador de fibrosis quística.
6. Cuando el equipo se emplee para diagnosticar a neonatos y como ayuda en la detección de la fibrosis quística, los resultados se deberán contemplar en el contexto del algoritmo de prueba global.

Nota: El usuario deberá poner de relieve estas limitaciones a la hora de comunicar resultados al profesional médico y/o asesor genético que esté llevando a cabo el estudio de diagnóstico.

Sistema Luminex 100/200

Antes de utilizar el sistema Luminex para el paso de adquisición de datos, siga los procedimientos de preparación y calibración que se describen en el manual del usuario Luminex correspondiente o en el Manual del software *xPONENT 3.1*.

Instrucciones de instalación de protocolos de adquisición de datos

Asegúrese de tener instalados los siguientes protocolos en el ordenador, que son los que gestionan el sistema Luminex. Estos protocolos son necesarios para poder realizar adquisiciones de datos correctas. Vienen incluidos en el CD del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU):

- xTAG Cystic Fibrosis (EU) T-A flex (requerido para la adquisición de los datos de la reacción "A")
- xTAG Cystic Fibrosis (EU) T-B (requerido para la adquisición de los datos de la reacción "B")
- xTAG Cystic Fibrosis (EU) T-C (requerido para la adquisición de los datos de la reacción "C")

Siga las instrucciones que se detallan a continuación para instalar los protocolos de este análisis. Si los protocolos ya están instalados en el ordenador que controla el sistema Luminex donde se realiza el análisis, sáltese los pasos siguientes.

1. Acceda al ordenador que controla el sistema Luminex en el cual se realizará el análisis.
2. Inserte el CD de xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) en la unidad de CD del ordenador.
3. Inicie el software xPONENT.
4. Desde el software xPONENT, seleccione el menú **Protocols (Protocolos)**.
5. Abra la página **Protocols (Protocolos)**, abra la pestaña **Protocols (Protocolos)** y, a continuación, seleccione la opción **Import (Importar)**. Esto abre el cuadro de diálogo **Open (Abrir)**.
6. En el cuadro de diálogo **Open (Abrir)**, navegue hasta la carpeta **Protocols for Luminex xPONENT (Protocolos para Luminex xPONENT)** en el CD. Hay tres archivos de protocolo de adquisición de datos para este análisis.
 - a. Para los productos de la reacción "A", seleccione el archivo de protocolo **xTAG Cystic Fibrosis (EU) T-A flex[1].lxt** y haga clic en **Open (Abrir)**.
 - b. Para los productos de la reacción "B", seleccione el archivo de protocolo **xTAG Cystic Fibrosis (EU) T-B[1].lxt** y haga clic en **Open (Abrir)**.
 - c. Para los productos de la reacción "C", seleccione el archivo de protocolo **xTAG Cystic Fibrosis (EU) T-C[1].lxt** y haga clic en **Open (Abrir)**.
7. Extraiga el CD.

Controles de los análisis

Utilice los controles positivos y negativos para asegurar la funcionalidad de los reactivos y el funcionamiento correcto del análisis.

Controles negativos

Luminex recomienda utilizar como mínimo dos controles de agua libre de DNasa y RNasa en cada análisis. Identifique qué pozos son controles negativos cuando tenga que analizar los datos con el TDAS CFTR (EU) (consulte [Análisis de los datos con TDAS CFTR \(EU\)](#)).

Controles positivos

Luminex recomienda incluir rutinariamente en cada ensayo un lote de controles positivos rotatorio para las mutaciones del gen regulador de conductancia transmembrana de la fibrosis quística analizados por el equipo. Teniendo en cuenta que la mutación más común es el alelo dF508, responsables de entre el 30 y el 88 por ciento de todas las mutaciones de fibrosis quística dependiendo del grupo étnico, Luminex recomienda incluir una muestra de control con esta mutación en cada análisis. Luminex recomienda el uso de controles de ADN genómico similares al tipo de espécimen siempre que sea posible, si bien es posible utilizar controles fortalecidos (con ADN sintético) cuando no haya muestras auténticas disponibles.

Preparación de muestras

El ADN genómico purificado extraído de sangre entera (EDTA o citrato) debe producir las siguientes relaciones UV 260/280: >1,5 para ADN extraído con el método automatizado EasyMag™ Nuclisens® y >1,7 para todos los demás métodos. Para ADN extraído de tarjetas de puntos de sangre, es aceptable un índice de >1,3.

Hay muchos equipos de extracción de ADN en el mercado con un ADN genómico de alta calidad de compatibilidad con el equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU). Los métodos de extracción que producen ADN de baja calidad pueden ofrecer resultados poco óptimos.

Se ha establecido para el equipo un rango de ADN genómico de entrada (entrada total en el PCR) (10 ng a 1,5 µg). Si bien es posible obtener resultados consistentes y fiables dentro de este rango, el análisis está optimizado para su uso con una entrada total de ADN de 50 ng.

Es preferible que el ADN genómico extraído esté diluido en agua destilada libre de DNasa y RNasa, y que se almacene a una temperatura de entre 2 y 8°C hasta el momento de usarlo.

Nota: Evalúe minuciosamente los métodos de extracción que desee utilizar con el equipo xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) antes de aplicar los resultados con fines de diagnóstico.

Procedimiento de análisis

Siga detenidamente las instrucciones de abajo para obtener un rendimiento óptimo del análisis. Utilice las áreas separadas de las actividades anteriores y posteriores al análisis PCR para evitar el traspaso de contaminación. Incluya controles negativos y positivos en cada análisis, tal y como recomienda la sección "Controles de los análisis".

Nota: La duración total del análisis desde la configuración de PCR hasta la adquisición de datos no debe superar las 48 horas.

PCR multiplex

Nota: Realice la configuración de la PCR en un área previa a la PCR.

El siguiente procedimiento es para una única reacción PCR. Puede modificarse para analizar un mayor número de muestras multiplicando los volúmenes por el número de muestras que se están analizando.

Al calcular los volúmenes de la mezcla principal (MM) para múltiples reacciones, incluya un 10% más por la variabilidad de pipeteado. Incluya al menos dos controles negativos en cada configuración de PCR.

Nota: Luminex recomienda designar un lote de viales de exo(-) ADN polimerasa Platinum® *Tfi*, tampón de reacción Platinum® *Tfi*, 5x, *Tfi* 50 mM MgCl₂ y agua para PCR, y un lote aparte de estos reactivos para ASPE.

1. Congele y ponga a temperatura ambiente la xTAG Mezcla principal CFTR PCR v2. Caliente el tampón de reacción Platinum® *Tfi*, 5x y *Tfi* 50mM MgCl₂ a 37°C (± 1,5°C) durante 30 minutos.

Nota: El tampón de reacción Platinum *Tfi*, 5x es una solución viscosa. En ocasiones, presenta un precipitado blanco. Para asegurar la completa re-suspensión del tampón, es necesario calentar el tampón de reacción, junto con *Tfi* 50 mM MgCl₂, a 37°C (± 1,5°C) durante 30 minutos. Tras el periodo de incubación de 30 minutos, mezcle el tampón calentado invirtiendo y agitando un poco la mezcla hasta que se disuelva todo el precipitado. No agite demasiado el tampón para evitar la formación de espuma. Si se forma espuma, caliente la mezcla a 37°C (± 1,5°C) en un bloque calentador hasta que se disperse.

2. Agite el tampón de reacción y el MgCl₂ durante 2-3 segundos y caliente los tubos a 37°C (± 1,5°C) durante 10 minutos más.
3. Etiquete el número adecuado de tubos de pared delgada de PCR de 0,2 ml.
4. Antes de preparar la mezcla maestra, agite los tubos durante 2-5 segundos para mezclar los reactivos y centrifúgelos durante 2-5 segundos para que los reactivos se asienten en el fondo.



- Etiquete un tubo de minicentrífuga de 1,5 ml (o un tubo de polipropileno de 15 ml si el volumen de la mezcla maestra es superior a 1.200 µl) para designar la mezcla maestra de PCR (por ejemplo, "MM"). Agregue los reactivos en el orden que se indica en la siguiente lista para preparar la mezcla maestra de PCR. El volumen de una reacción es el que se indica a continuación:

Nota: El último reactivo que se añade para preparar la mezcla maestra es la exo(-) ADN polimerasa Platinum *Tfi*. Retire este reactivo del congelador en el que está a -20°C justo antes de usarlo y vuélvalo a introducir en el congelador inmediatamente después. Como alternativa, colóquelo en un bloque frío al extraerlo del congelador. **No agite** la enzima madre. Mézclelo invirtiendo y agitando el tubo. Centrifugue de 2 a 5 segundos para que los reactivos se depositen en el fondo del tubo. Pipetee poco a poco la enzima, intentando reducir al mínimo la cantidad de enzima que se pueda quedar pegada por fuera en la punta de la pipeta.

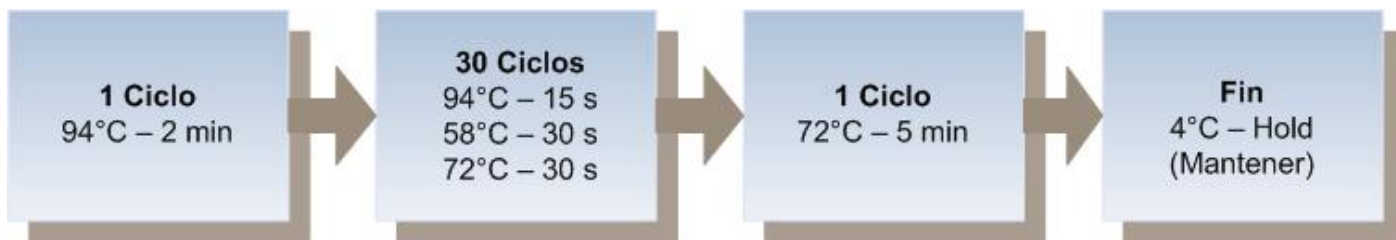
Reactivo	Volumen para 1 reacción
Agua destilada libre de DNasa y RNasa	9,75 µl
Platinum <i>Tfi</i> Reaction Buffer (Tampón de reacción Platinum <i>Tfi</i>), 5x	5,00 µl
<i>Tfi</i> 50mM MgCl ₂	1,75 µl
xTAG CFTR PCR Primer Mix v2 (xTAG Mezcla principal CFTR PCR v2)	2,50 µl
Platinum <i>Tfi</i> Exo(-) DNA Polymerase (Exo(-) ADN polimerasa Platinum <i>Tfi</i>)	1,00 µl
Volumen total	20,00 µl

- Agite la mezcla principal de PCR de 2 a 5 segundos para mezclar los reactivos. Centrifugue de 2 a 5 segundos para que los reactivos se depositen en el fondo del tubo.
- Añada una parte alícuota de 20 µl de la mezcla maestra de PCR a los tubos de PCR de 0,2 ml etiquetados.
- Añada 5,0 µl de la muestra de ADN adecuada al tubo correspondiente. Tape el tubo inmediatamente después de añadir la muestra.
- Para el control negativo de PCR, añada 5,0 µl de agua libre de DNasa y RNasa al tubo o tubos de control negativo designados.
- Deje que el contenido de los tubos de PCR de 0,2 ml se asiente en el fondo centrifugándolo durante 2-3 segundos. Agite los tubos durante 2-5 segundos para mezclar los reactivos y luego centrifúgelos durante 2-5 segundos para que se asienten en el fondo.



11. Coloque los tubos en un termociclador y realice ciclos utilizando una de las siguientes condiciones:

Nota: Establezca la temperatura del termociclador como temperatura BLOCK (de bloque) con tapa térmica activada. Utilice el ajuste de velocidad de rampa máximo del termociclador.



12. Almacene los tubos de PCR a 2-8°C hasta que estén listos para usar (24 horas máximo).

Tratamiento de amplicones

Nota: Lleve a cabo esta acción solo cuando las reacciones ASPE se puedan realizar el mismo día.

Nota: Realice el tratamiento de amplicones en un área posterior a la PCR.

El siguiente procedimiento es para una única reacción. Puede modificarse para analizar un mayor número de muestras multiplicando los volúmenes por el número de muestras que se están analizando.

Al calcular los volúmenes de la mezcla principal para múltiples reacciones, Luminex recomienda incluir un 10% más por la variabilidad de pipeteado.

1. Agite los tubos de PCR durante 2-5 segundos para mezclar los reactivos y centrifúguelos durante 2-5 segundos para que las muestras se asienten en el fondo.

Nota: A la hora de abrir el tubo de enzima exonucleasa I xTAG por primera vez, Luminex recomienda dejarlo abierto durante unos 5 minutos aproximadamente para dejar que se evapore el β -mercaptoetanol residual presente en el tampón de almacenamiento de la enzima. No agite la enzima madre. Mézclelo invirtiendo y agitando el tubo. Centrifugue de 2 a 5 segundos para que los reactivos se depositen en el fondo del tubo.

2. En un tubo de minicentrífuga de 1,5 ml, prepare la mezcla adecuada de enzimas EXO/SAP para el número de muestras que vaya a analizar. El volumen de una reacción es el que se indica a continuación:

Reactivos	Volumen para 1 reacción
xTAG [®] Exonuclease I (Exonucleasa I xTAG [®])	1,0 μ l
xTAG [®] Shrimp Alkaline Phosphatase (Fosfatasa alcalina de gamba xTAG [®])	2,5 μ l
Volumen total	3,5 μl



3. Agite la mezcla de enzimas EXO/SAP durante 2-5 segundos para mezclar los reactivos y centrifúguelos durante 2-5 segundos para que se asienten en el fondo del tubo.
4. Añada 3,5 µl de la mezcla de enzimas en cada uno de los tubos de PCR que contiene 25 µl de reacción de PCR.
5. Deje que el contenido de los tubos de PCR de 0,2 ml se asiente en el fondo centrifugándolo durante 2-3 segundos. Agite los tubos durante 2-5 segundos cada vez y centrifúguelos (durante 2-5 segundos) para que las reactivos se asienten en el fondo.

Nota: Agitar adecuadamente en este paso es fundamental para el éxito del análisis. Extremar las precauciones para asegurarse de que los pasos de centrifugación no duren más de los 2-5 segundos recomendados anteriormente.

6. Incube los tubos en un termociclador programado de la siguiente forma:

Nota: Establezca la temperatura del termociclador como temperatura BLOCK (de bloque) con tapa térmica activada. Utilice el ajuste de velocidad de rampa máximo del termociclador.



7. Almacene los tubos de PCR tratados a 2-8°C durante un tiempo máximo de 4 horas.

Reacciones ASPE multiplex

El paso ASPE multiplex consiste en tres pasos distintos: 1) la reacción ASPE "A", 2) la reacción ASPE "B" y 3) la reacción ASPE "C". Después del tratamiento EXO/SAP, el producto de PCR se transfiere a tres mezclas de reacción ASPE (Mezcla A, Mezcla B y Mezcla C), en las que la reacción "A" sondea las mutaciones y variantes de la Tabla 1, la reacción "B" sondea las mutaciones de la Tabla 2 y, por último, la reacción "C" sondea las mutaciones y variantes de la Tabla 3.

Luminex recomienda incluir un 10% más para tener en cuenta la variabilidad de pipeteado a la hora de calcular los volúmenes de la mezcla principal de las reacciones múltiples.

Se utiliza el mismo programa de termociclador en las tres reacciones ASPE. Las reacciones se pueden ejecutar simultáneamente en un termociclador o secuencialmente.

Nota: La configuración de ASPE multiplex debe llevarse a cabo posteriormente al PCR.

Nota: Distinga claramente entre las reacciones ASPE "A", "B" y "C" a la hora de etiquetar los tubos. Asegúrese de transferir el producto de PCR tratado con EXO/SAP a las tres reacciones ASPE.

1. Congele y ponga a temperatura ambiente los tubos de mezcla principal ASPE (xTAG Mezcla principal ASPE CFTR "A" v2, xTAG Mezcla principal ASPE CFTR "B" v2 y xTAG Mezcla principal CFTR CFTR EU "C") que se suministran. Coloque los tubos de tampón de reacción Platinum *Tfi*, 5x y *Tfi* mM y $MgCl_2$ en el bloque calentador a $37^\circ C (\pm 1,5^\circ C)$ durante 30 minutos.

Nota: El tampón de reacción Platinum *Tfi*, 5x es una solución viscosa. En ocasiones, presenta un precipitado blanco. Para asegurar la completa re-suspensión del tampón, es necesario calentar el tampón de reacción, junto con *Tfi* 50 mM $MgCl_2$, a $37^\circ C (\pm 1,5^\circ C)$ durante 30 minutos. Tras el periodo de incubación de 30 minutos, mezcle el tampón calentado invirtiendo y agitando un poco la mezcla hasta que se disuelva todo el precipitado. No agite demasiado el tampón para evitar la formación de espuma. Si se forma espuma, caliente la mezcla a $37^\circ C (\pm 1,5^\circ C)$ en un bloque calentador hasta que se disperse.

2. Agite el tampón de reacción y el $MgCl_2$ durante 2-3 segundos y caliente los tubos a $37^\circ C (\pm 1,5^\circ C)$ durante 10 minutos más.
3. Etiquete el número adecuado de tubos de pared delgada de 0,2 ml antes de preparar las mezclas ASPE maestra.
4. Agite los tubos durante 2-5 segundos cada vez y centrifúgelos otros 2-5 segundos para que los reactivos se asienten en el fondo.



5. Etiquete un tubo de minicentrífuga de 1,5 ml (o un tubo de polipropileno de 15 ml si el volumen de la mezcla maestra es superior a 1.200 µl) de mezcla maestra para utilizarlo en la reacción ASPE "A" (escriba, por ejemplo, "AMM"), así como los tubos correspondientes de mezclas madre para la reacción ASPE "B" (por ejemplo, "BMM") y ASPE "C" por ejemplo, "CMM"). Cada mezcla maestra debe prepararse agregando los reactivos en el orden que se indica en la siguiente lista. El volumen de una reacción es el que se indica a continuación:

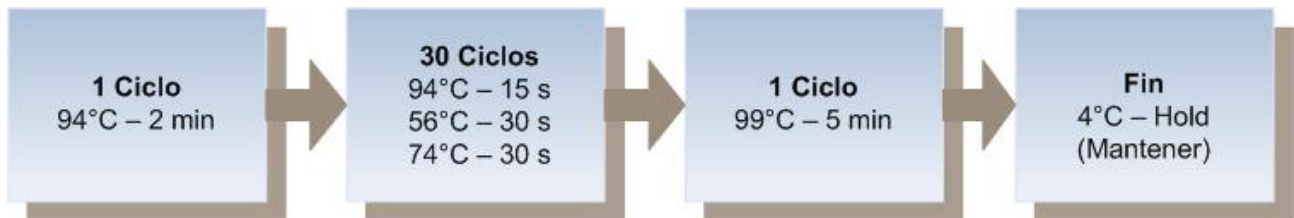
Nota: El último reactivo que se añade a la mezcla maestra es la exo(-) ADN polimerasa Platinum *Tfi*. Retire este reactivo del congelador en el que está a -20°C justo antes de usarlo y vuélvalo a introducir en el congelador inmediatamente después. Como alternativa, colóquelo en un bloque frío al extraerlo del congelador. **No agite** la enzima madre. Mézclelo invirtiendo y agitando el tubo. Centrifugue de 2 a 5 segundos para que los reactivos se depositen en el fondo del tubo. Pipetee poco a poco la enzima, intentando reducir al mínimo la cantidad de enzima que se pueda quedar pegada por fuera en la punta de la pipeta.

Reactivo	Volumen de una reacción "A"	Volumen de una reacción "B"	Volumen de una reacción "C"
Agua destilada libre de DNasa y RNasa	6,80 µl	6,80 µl	7,30 µl
Platinum <i>Tfi</i> Reaction Buffer (Tampón de reacción Platinum <i>Tfi</i>), 5x	4,00 µl	4,00 µl	4,00 µl
<i>Tfi</i> 50mM MgCl ₂	1,20 µl	1,20 µl	1,20 µl
xTAG® CFTR ASPE Primer Mix A v2 (xTAG® Mezcla principal ASPE CFTR A v2)	2,00 µl	No aplicable	No aplicable
xTAG® CFTR ASPE Primer Mix B v2 (xTAG® Mezcla principal ASPE CFTR B v2)	No aplicable	2,00 µl	No aplicable
xTAG® CFTR EU ASPE Primer Mix C (xTAG® Mezcla principal ASPE CFTR EU C)	No aplicable	No aplicable	2,00 µl
Platinum <i>Tfi</i> Exo(-) DNA Polymerase (Exo(-) ADN polimerasa Platinum <i>Tfi</i>)	1,00 µl	1,00 µl	0,50 µl
Volumen total	15,0 µl	15,0 µl	15,0 µl



6. Agite la mezcla de enzimas ASPE maestra durante 2-5 segundos para mezclar los reactivos y centrifúguela durante 2-5 segundos para que los reactivos se asienten en el fondo del tubo.
7. Añada una parte alícuota de 15 µl de la mezcla ASPE maestra a los tubos ASPE de 0,2 ml etiquetados.
8. Agite los tubos de amplicones de PCR tratados durante 2-5 segundos. Centrifugue de 2 a 5 segundos para que los reactivos se depositen en el fondo del tubo.
9. Añada 5 µl de producto de PCR tratado al tubo ASPE de 0,2 ml etiquetado correspondiente que contiene los 15 µl de mezcla ASPE maestra. Tape el tubo inmediatamente después de añadir la muestra.
10. Agite los tubos durante 2-5 segundos para mezclar los reactivos. Centrifugue de 2 a 5 segundos para que los reactivos se depositen en el fondo del tubo.
11. Coloque los tubos en un termociclador y realice ciclos en las siguientes condiciones:

Nota: Establezca la temperatura del termociclador como temperatura BLOCK (de bloque) con tapa térmica activada. Utilice el ajuste de velocidad de rampa máximo del termociclador.



12. Almacene los tubos de reacción ASPE a 2-8°C hasta que estén listos para usar (24 horas máximo).

Preparación del instrumental

El paso de configuración del instrumental debe ser anterior al paso de hibridación. Encienda el analizador Luminex, ajuste la altura de la sonda de acuerdo con el tipo de placa que vaya a utilizar en la hibridación de las microesferas, calibre el sistema (si es necesario) y prepárese para leer las muestras de acuerdo con los procedimientos que se describen en el Manual del software *xPONENT*.

Hibridación de microesferas

Este procedimiento consiste en tres pasos diferentes: 1) la reacción "A" de hibridación de microesferas, 2) la reacción "B" de hibridación de microesferas y 3) la reacción "C" de hibridación de microesferas. Los productos obtenidos por ASPE de la reacción ASPE "A" se someten a la reacción "A" de hibridación de microesferas. Del mismo modo, la reacción ASPE "B" y la reacción ASPE "C" se someten cada una a su respectiva reacción de hibridación de microesferas. Sigas las instrucciones que se detallan más abajo para cada una de estas reacciones. Cada muestra necesitará tener preparados tres productos de hibridación para la adquisición de datos en el analizador Luminex.

Nota: Las microesferas son sensibles a la luz. Limite la exposición a la luz de las microesferas en todo momento durante la configuración de la reacción de hibridación.

Nota: Realice la hibridación de microesferas en el área posterior a la PCR.

Nota: Espere a que la solución diluida de informante alcance la temperatura ambiente antes de agregársela a las muestras. Proteja tanto la solución madre como la solución diluida de informante de la luz.

Nota: A la hora de etiquetar los tubos, distinga claramente entre las reacciones "A", "B" y "C" de hibridación de microesferas. Compruebe que el número total de muestras de las reacciones "A", "B" y "C" sea el mismo.

Nota: Una vez congeladas, el tampón informante xTAG® y las mezclas de microesferas se pueden almacenar a 2-8°C. En el caso de las mezclas de microesferas, éstas deben protegerse de la luz.

Nota: Si tiene que ejecutar un número considerable de muestras y no dispone de dos analizadores Luminex para la adquisición de datos, reajuste la configuración de cada hibridación de microesferas para tener en cuenta los tiempos de lectura de cada instrumento y así evitar que se alarguen los plazos de incubación del tampón informante antes de la adquisición de datos.

1. Congele y/o ponga a temperatura ambiente las mezclas de microesferas (xTAG Mezcla de microesferas CFTR A v2, xTAG Mezcla de microesferas CFTR B v2 y xTAG Mezcla de microesferas CFTR EU C) y el tampón informante xTAG que se suministra.
2. Etiquete el número adecuado de pozos de una placa Costar de 96 pozos en función de las muestras que vaya a analizar con el método de reacción de hibridación.
3. Agite los tubos con la mezcla de microesferas durante 10 segundos y luego sométalos a ultrasonidos durante 10 segundos para dispersar las microesferas.
4. Repita el paso 3 una vez.
5. Pipetee una parte alícuota de **22,5 µl** de la mezcla de microesferas adecuada en cada pozo etiquetado (por ejemplo, xTAG Mezcla de microesferas CFTR A v2 en la placa correspondiente a las reacciones "A", xTAG Mezcla de microesferas CFTR B v2 en la placa de las reacciones "B" y xTAG Mezcla de microesferas CFTR EU C en la placa de las reacciones "C").
6. Agite los tubos de productos de reacción ASPE durante 2-5 segundos y centrifúguelos durante 2-5 segundos para que los reactivos se asienten en el fondo. Los productos de la reacción ASPE "A" son la muestra de entrada de la reacción "A" de hibridación de microesferas, los productos de la reacción ASPE "B" son la muestra de entrada de la reacción "B" de hibridación de microesferas y los productos de la reacción ASPE "C" son la muestra de entrada de la reacción "C" de hibridación de microesferas.
7. Pipetee una parte alícuota de **2,5 µl** de la reacción ASPE en el pozo etiquetado correspondiente. Pipetee arriba y abajo el líquido de 2 a 3 veces para mezclar la muestra, teniendo cuidado de que no haya contaminación cruzada entre los pozos. No la agite.



8. Tape los pozos con producto Microseal "A", con cuidado de que todos queden bien tapados.
9. Coloque los tubos en un termociclador programado de la siguiente forma:

Nota: Establezca la temperatura del termociclador como temperatura BLOCK (de bloque) con tapa térmica activada. Utilice el ajuste de velocidad de rampa máximo del termociclador.



Nota: En torno a 5 minutos antes de que termine el periodo de incubación descrito en el paso 9, prepare la solución de informante.

Preparación de la solución de informante

1. Agite el tubo de conjugado informante con estreptavidina/R-ficoeritrina (SAPE) para xTAG durante 2-5 segundos.



- Diluya SAPE 100 veces junto con el tampón informante para xTAG en un tubo de vidrio borosilicato o de polipropileno. Prepare un volumen suficiente de SA-PE para las muestras que vaya a someter a la hibridación de microesferas (100 µl de SA-PE diluido por reacción). Los cálculos de volúmenes por reacción (incluidos los excesos) se proporcionan a continuación. Al preparar la dilución, mida los volúmenes con precisión.

Volúmenes para la preparación de SA-PE diluido en cantidad suficiente para las muestras que se van a someter a la reacción "A" de hibridación (incluidos los excesos)		
Número total de reacciones "A" de hibridación	Volumen de xTAG Reporter Buffer	Volumen de xTAG Streptavidin, R-Phycoerythrin no diluida
24	2,970 ml	30 µl
48	5,940 ml	60 µl
96	11,880 ml	120 µl

Volúmenes para la preparación de SA-PE diluido en cantidad suficiente para las muestras que se van a someter a la reacción "B" de hibridación (incluidos los excesos)		
Número total de reacciones "B" de hibridación	Volumen de xTAG Reporter Buffer	Volumen de xTAG Streptavidin, R-Phycoerythrin no diluida
24	2,970 ml	30 µl
48	5,940 ml	60 µl
96	11,880 ml	120 µl

Volúmenes para la preparación de SA-PE diluido en cantidad suficiente para las muestras que se van a someter a la reacción "C" de hibridación (incluidos los excesos)		
Número total de reacciones "C" de hibridación	Volumen de xTAG Reporter Buffer	Volumen de xTAG Streptavidin, R-Phycoerythrin no diluida
24	2,970 ml	30 µl
48	5,940 ml	60 µl
96	11,880 ml	120 µl

- Tape el tubo con Parafilm y agítelo durante 2-5 segundos para mezclarlo. Protéjalo de la luz hasta que esté listo para usarlo.
- Transfiera la solución informante (preparada en el paso 2) a la cubeta de depósito y con una pipeta adecuada añada 100 µl de la solución informante a cada pozo.
- Pipetee arriba y abajo una vez para asegurarse de que las muestras se mezclen bien (minimice la producción de burbujas de aire y adopte todas las medidas que sean necesarias para evitar la contaminación entre pozos).
- Incube la placa a temperatura ambiente durante 15 minutos.

Nota: La incubación debe llevarse a cabo en un lugar oscuro, ya que las microesferas y la solución informante son sensibles a la luz.

Adquisición de datos

Para garantizar la adquisición de datos precisos, tenga cuidado al introducir la información de las muestras en el analizador Luminex. El ID de cada lote de muestras que introduzca en el analizador Luminex debe ser único. Si los productos de la reacción de hibridación "A", "B" y "C" se encuentran en la misma placa de 96 pozos, asegúrese de introducir en el lote "A" sólo los pozos con producto de reacción "A", en el lote "B" sólo los productos de reacción "B" y en el lote "C" sólo los productos de reacción "C".

Al margen de si los productos de las reacciones "A", "B" y "C" se hallan o no en la misma placa de 96 pozos, **el ID de los productos de reacción que introduzca en el analizador Luminex debe ser idéntico para todos los productos de una misma muestra.**

Creación de nuevo lote

Nota: Antes de proceder, asegúrese de tener instalados los protocolos correctos en el sistema Luminex con el que vaya a ejecutar el análisis. Consulte los pasos de instalación en la sección [Instrucciones de instalación de protocolos de adquisición de datos](#).

Para crear un nuevo lote para los análisis de reacción A, B o C utilizando el software xPONENT:

1. Haga clic en la pestaña **Batches (Lotes)**.
2. Haga clic en **Create a New Batch from an existing Protocol (Crear un nuevo lote a partir de un protocolo existente)**.
3. Introduzca la información del lote con un nombre de lote único y una descripción opcional.
4. Acceda al protocolo correcto (mire más abajo) y haga clic en **Next (Siguiente)**:
 - **xTAG Cystic Fibrosis (EU) T-A flex**: para los productos de la reacción "A" del análisis
 - **xTAG Cystic Fibrosis (EU) T-B**: para los productos de la reacción "B" del análisis
 - **xTAG Cystic Fibrosis (EU) T-C**: para los productos de la reacción "C" del análisis
5. Seleccione los pozos de muestra adecuados en la pantalla del diagrama de placas en función del protocolo correcto en cada caso. Así, por ejemplo, seleccione los productos de la reacción "A" sólo si ha elegido **xTAG Cystic Fibrosis (EU) T-A flex** como protocolo. Si la primera muestra no está en el pozo A1, seleccione el pozo inicial correcto (según se describe en el manual del software xPONENT). Haga clic en **Unknown (Desconocido)** como tipo de muestra.



6. Escriba el ID de cada muestra que haya decidido incluir en el lote o importe una lista de muestras.

Nota: Asegúrese de que los ID de muestra que emplee en la adquisición de datos de los productos de la reacción "A" sean los mismos que los que utilice en las partes alícuotas correspondientes que someta a las reacciones "B" y "C". TDAS CFTR (EU) combina los datos de las muestras de las reacciones "A", "B" y "C" teniendo en cuenta estos ID únicos. TDAS CFTR (EU) no combina los archivos de salida a menos que haya una correspondencia de 1:1 entre los ID de las muestras.

Si el periodo de incubación de 15 minutos se interrumpe antes de tiempo, guarde el lote haciendo clic en **Save (Guardar)**. De lo contrario, continúe con el paso 7.

7. Cuando termine el periodo de incubación de 15 minutos de las muestras, expulse el bloque calentador XY, coloque los pozos/placas en él y haga clic en **Retract (Retraer)**.
8. Para empezar a leer las muestras, haga clic en **Run Batch (Ejecutar lote)**.
9. Después de que se haya analizado la última muestra, asegúrese de exportar los datos del lote.
10. Retire las muestras de la plataforma XY.
11. Si tiene que crear un lote múltiple, consulte el Manual del software de Luminex.

Instrucciones de instalación del TDAS CFTR (EU)

Para realizar un análisis de datos correcto, es necesario observar los siguientes protocolos para la adquisición de datos del sistema Luminex:

- **xTAG Cystic Fibrosis (EU) T-A flex:** para los archivos de salida de las muestras de la reacción "A" en TDAS CFTR (EU).
- **xTAG Cystic Fibrosis (EU) T-B:** para los archivos de salida de las muestras de la reacción "B" en TDAS CFTR (EU).
- **xTAG Cystic Fibrosis (EU) T-C:** para los archivos de salida de las muestras de la reacción "C" en TDAS CFTR (EU).

Nota: Asegúrese de que la versión de TDAS CFTR (EU) que aparece en el cartón que contiene los reactivos coincida con la de los análisis de datos, a menos que se indique de otro modo de forma expresa. Si ya tiene instalada la versión adecuada de TDAS CFTR (EU) en el ordenador, pase a la siguiente sección.

Instalación del software

1. Asegúrese de tener suficientes privilegios administrativos de Windows para poder instalar el software en el ordenador.
2. Inserte el CD del equipo de análisis xTAG[®] Cystic Fibrosis Kit (EU).
3. Abra **My Computer (Mi PC)**.
4. Vaya a la unidad de CD/DVD y haga doble clic en **TDAS CFTR (EU) set-up (Configuración de TDAS CFTR)**.
5. Siga las instrucciones en pantalla para completar la instalación.
6. Extraiga el CD.

Verifique la instalación

1. Haga doble clic en el icono TDAS CFTR (EU). Se abre el cuadro de diálogo **Log-on TDAS CFTR (EU) (Inicio de sesión en TDAS CFTR (EU))**. Asegúrese de que la versión de TDAS del cuadro de diálogo coincide con la versión de software de la etiqueta del cartón de reactivo.
2. Inicie sesión en TDAS CFTR (EU). Utilice una contraseña si se ha activado la protección con contraseña durante la instalación.
3. En el menú **Help (Ayuda)**, haga clic en **About TDAS... (Acerca de TDAS...)**. Compruebe que en el cuadro de diálogo **About TDAS CFTR (EU) (Acerca de CFTR (EU))** aparece la versión de software correcta. Compruebe que el nombre del análisis instalado sea **xTAG® Cystic Fibrosis (EU)**.
4. Haga clic en **Close (Cerrar)** en el cuadro de diálogo **About TDAS CFTR (EU) (Acerca de TDAS CFTR (EU))**.
5. Si alguno de los pasos anteriores fallan, desinstale el software. Para realizar la desinstalación, siga los pasos a y b que se describen a continuación.
 - a. En el menú **Start (Inicio)**, haga clic en **All Programs (Todos los programas)**. Seleccione **xTAG Data Analysis CFTR (EU)...** y, a continuación, **Uninstall TDAS CFTR (EU) (Desinstalar TDAS CFTR (EU))**.
 - b. Siga los pasos del procedimiento [Instalación del software](#) descritos anteriormente para volver a instalar el software.

Análisis de datos con TDAS CFTR (EU)

Antes de proceder con el análisis de los datos, tenga en cuenta lo siguiente: los archivos de salida de las reacciones "A", "B" y "C" deben analizarse todos juntos si fueran un solo conjunto de datos a fin de que el ensayo pueda llevarse a cabo para todos los alelos estudiados por el equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) .

El usuario debe identificar las muestras de control negativas y seleccionar paneles de mutaciones para cada muestra antes de analizar los datos del lote. Los paneles de mutaciones debe definirlos el usuario y deben ser creados antes de asignarlos a las muestras. En el caso del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU), el recuento de mutaciones de cada panel no deberá exceder de 75 más las 5 variantes incluidas en el ensayo. Una vez analizados los datos, todos los análisis posteriores que se lleven a cabo con TDAS CFTR (EU) para el lote en cuestión deberán utilizar los mismos paneles de mutaciones y controles negativos seleccionados para el primer análisis; es decir, NO está permitido mostrar datos ocultos u ocultar datos visibles.

Para realizar el análisis de datos:

1. Asegúrese de que los archivos de salida sean accesibles desde el ordenador en el que esté instalado TDAS CFTR (EU).
2. Inicie el ensayo TDAS CFTR (EU) en el ordenador a través del menú **Start (Inicio) | All Programs (Todos los programas)** o haciendo doble clic en el icono del escritorio.
3. En el menú **File (Archivo)**, haga clic en **Open (Abrir)**.
4. Busque y seleccione los archivos de salida de las reacciones "A", "B" y "C" del mismo análisis, y haga doble clic uno por uno en cada archivo para agregarlos al cuadro de la lista **File names (Nombres de archivo)**. Asegúrese de que TDAS CFTR (EU) haya reconocido los archivos seleccionados y que vaya a analizarlos con el equipo de análisis **xTAG® Cystic Fibrosis (EU)**. Haga clic en **Open (Abrir)**.




5. En el cuadro de diálogo **Identify Samples (Identificar muestras)**, marque los controles negativos del análisis haciendo clic en el botón de radio **Identify Negative Controls (Identificar controles negativos)** que está debajo de **Sample options (Opciones de muestras)** y, a continuación, seleccione la fila aplicable de la lista de muestras para marcarla como muestra de control negativa. Las muestras que contienen el texto "negative" (negativo) o "blank" (en blanco) (sin distinción de mayúsculas y minúsculas) se marcan automáticamente como muestras de control negativas. Para desea corregir algún ajuste, vuelva a hacer clic en la fila de muestras. Es necesario marcar al menos una muestra como control negativo.
6. Asigne los paneles de mutaciones a las muestras que no estén en blanco y que no sean controles negativos. Si en algún momento debe crear o modificar un panel de mutaciones, hágalo antes de utilizarlo. Para crear o modificar paneles de mutaciones, vaya al cuadro de diálogo **Mutation Panels (Paneles de mutaciones)** de una de las siguientes formas:
 - Haga clic en el botón **Define Mutation Panels (Definir paneles de mutaciones)** del cuadro de diálogo **Identify Samples (Identificar muestras)**.
 - Seleccione **Variation | Mutation Panels... (Variación | Paneles de mutaciones...)** en el menú principal.

En el cuadro de diálogo **Mutation Panels (Paneles de mutaciones)**:

- Haga clic en el botón **Create Mutation Panel (Crear panel de mutaciones)** para crear un nuevo panel en la columna **Mutation Panels (Paneles de mutaciones)**. Escriba un nuevo nombre para el panel mientras está seleccionado o hágalo más adelante haciendo doble clic en él.
- Para ver el contenido de un panel de mutaciones, selecciónelo en la columna **Mutation Panels (Paneles de mutaciones)**. Las mutaciones ya asignadas al panel seleccionado aparecen enumeradas en una lista debajo de la columna **Display Mutations (Mostrar mutaciones)**.
- Para agregar mutaciones a un panel seleccionado:




Nota: Debido a una limitación del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU), el análisis de los resultados de las mutaciones 2183AA>G y 2184delA pertenecientes a la reacción A no se puede combinar con el análisis de los resultados de las mutaciones 2184insA pertenecientes a la reacción C. Es decir, seleccionar 2183AA>G y/o 2184delA como parte de un panel hace que no se pueda agregar la mutación 2184insA a dicho panel. Por el contrario, seleccionar 2184insA para un panel hace que no se pueda agregar 2183AA>G o 2184delA a ese mismo panel. En TDAS CFTR (EU) aparece un mensaje de error cuando se selecciona 2184insA con 2183AA>G y/o 2184delA en el cuadro de diálogo **Mutation Panels (Paneles de mutaciones)**.

1. Asegúrese de que el recuento de mutaciones del panel sea inferior al límite establecido. En el caso del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU), el recuento de mutaciones de cada panel no deberá exceder de 75 más las 5 variantes incluidas en el ensayo.
2. Seleccione las mutaciones en la columna **CFTR Mutations (Mutaciones del gen CFTR)**. Para seleccionar más de una mutación al mismo tiempo, pulse la tecla *Shift (Mayús)* o *Ctrl (Control)* y, sin soltar, haga clic en las mutaciones que desee añadir a la selección.
3. Haga clic en  para añadir las mutaciones seleccionadas a la columna **Display Mutations (Mostrar mutaciones)**. Un mensaje de error aparece cuando el



recuento de mutaciones supera el límite del ensayo después de añadir las mutaciones seleccionadas.

- Para eliminar una mutación de un panel seleccionado, selecciónela en la columna **Display Mutations (Mostrar mutaciones)** y haga clic en . Para seleccionar más de una mutación al mismo tiempo, pulse la tecla *Shift (Mayús)* o *Ctrl (Control)* y, sin soltar, haga clic en las mutaciones que desee añadir a la selección.
- Para eliminar un panel de mutaciones existente, seleccione el panel en la columna **Mutation Panels (Paneles de mutaciones)** y haga clic en el botón **Delete Mutation Panel (Eliminar panel de mutaciones)**.
- Es posible configurar un panel de mutaciones de uso frecuente para que sea el panel predeterminado. De este modo, todas las muestras (salvo las vacías y los controles negativos) del archivo o archivos de datos que se abran en el futuro acabarán asignadas automáticamente a este panel de mutaciones. Para configurar un panel de mutaciones como predeterminado, selecciónelo en la columna **Mutation Panels (Paneles de mutaciones)** y haga clic en el botón **Set Default Panel (Establecer panel predeterminado)**. El panel predeterminado se reconoce porque lleva una marca de verificación.
- Una vez completadas todas las modificaciones, haga clic en **Save (Guardar)** para guardar todos los cambios y cerrar el cuadro de diálogo. Para descartar todos los cambios, haga clic en **Cancel (Cancelar)** para cerrar el cuadro de diálogo sin guardar ningún cambio.

Para asignar una panel de mutaciones a una muestra, junto al botón de radio **Select Mutation Panel (Seleccionar panel de mutaciones)**, elija primero el panel en la lista desplegable y luego la fila aplicable de la lista de muestras para asignar el panel seleccionado a la muestra. Para asignar el panel seleccionado a todas las muestras que no sean controles negativos o muestras vacías, haga clic en el nombre de la columna **Selected Mutation Panel (Panel de mutaciones seleccionado)**. Para corregir un panel asignado, seleccione primero el panel de mutaciones correcto en la lista desplegable y luego la fila aplicable para actualizar la asignación.

7. Haga clic en **Next (Siguiete)**.
8. En el cuadro de diálogo **Sample Confirmation (Confirmación de muestra)**, asegúrese de que cada muestra tenga asignado el panel de mutaciones correcto. Para realizar correcciones, haga clic en **Back (Atrás)**.
9. Si todos los paneles de mutaciones están bien asignados, haga clic en la casilla de verificación que está al lado del nombre de la columna **Selected Mutation Panel (Panel de mutaciones seleccionado)**.

Nota: Una vez ejecutado el siguiente paso, comienza el análisis de los datos. Todos los análisis posteriores de estos archivos que lleve a cabo el TDAS CFTR (EU) estarán basados en los ajustes de visualización de mutaciones configurados en el primero. Todas las muestras designadas como controles negativos en el primer análisis serán tratadas como controles negativos en todos los análisis posteriores; en todas las demás muestras, los paneles de mutaciones seleccionados en el primer análisis se utilizarán en todos los análisis posteriores.



10. Haga clic en **Apply (Aplicar)** para generar los resultados del análisis.
11. Para modificar la muestra de control negativo primario tras visualizar los resultados del análisis o la de análisis posteriores, haga una de las siguientes cosas:
 - Haga clic con el botón derecho del ratón en la muestra de control negativo que desee en la vista de resumen y, a continuación, haga clic en **Mark as Primary Negative Control (Marcar como control negativo primario)**.
 - Haga clic en la muestra de control negativo que desee en la vista de resumen. En el menú **Sample (Muestra)**, haga clic en **Mark as Primary Negative Control (Marcar como control negativo primario)**.

Interpretación de resultados

A la hora de analizar los resultados, las pantallas del TDAS CFTR (EU) las dianas de los alelos seleccionados. Las dianas posibles que muestra el TDAS dependen de si el locus es dialélico o trialélico.

Hay casos en los que el uso de una sola sonda de tipo silvestre (wt) y una sola sonda de tipo mutante (mut) para genotipificar tiene la consideración de dialélico. Incluyen todos los alelos enumerados en las Tablas 1, 2 y 3 con las siguientes excepciones:

- Loci trialélicos (genotipificados con 1 sonda wt y 2 sondas mut):
 - R347H/R347P (3 sondas: wt, R347H mut, R347P mut)
 - dI507/dF508 (3 sondas: wt, dI507 mut, dF508 mut)
 - 2183AA>G/2184delA (3 sondas: wt, 2183AA>G mut, 2184delA mut)
 - Y1092X-C>G / Y1092X-C>A (3 sondas: wt, Y1092X-C>G mut, Y1092X-C>A mut)
- Polimorfismos benignos:
 - Polimorfismos 5T/7T/9T (una sonda por polimorfismo)
 - Variantes I506V/I507V/F508C (una sonda por variante)

Dianas de genotipado diseñadas por TDAS CFTR (EU)

TDAS CFTR (EU) utiliza los mensajes del sistema que contiene el archivo de salida de Luminex para determinar si ha habido problemas durante la lectura de los pozos. NO MODIFIQUE los archivos de salida de Luminex antes, durante o después del paso de lectura de datos. Si lo hace, es posible que el TDAS CFTR (EU) los interprete mal.

Dianas posibles para loci dialélicos:

- WT: solo se ha detectado el alelo de tipo silvestre
- HET: se han detectado los alelos tanto de tipo silvestre como mutante
- Mu D: se ha detectado el alelo mutante
- No Call (Sin dianas): no se pudo crear una diana
- NS: sin señal debido a una posible supresión homocigótica del amplímero correspondiente
- -: diana enmascarada por el usuario

Dianas posibles para loci trialélicos:

- WT: solo se ha detectado el alelo de tipo silvestre
- Wt D: solo se ha detectado el alelo de tipo silvestre correspondiente
- HET: se han detectado los alelos tanto de tipo silvestre como mutante

- Mu D: se ha detectado el alelo mutante correspondiente
- No Call (Sin dianas): no se pudo crear una diana
- NS: no se ha detectado ninguna señal para este alelo mutante
- -: diana enmascarada por el usuario

Dianas posibles para polimorfismos 5T/7T/9T (prueba de reflejos: consulte la siguiente sección para más detalle):

- 5T D: se ha detectado el alelo 5T
- 7T D: se ha detectado el alelo 7T
- 9T D: se ha detectado el alelo 9T
- 5T/7T D: se han detectado los alelos 5T y 7T
- 5T/9T D: se han detectado los alelos 5T y 9T
- 7T/9T D: se han detectado los alelos 7T y 9T
- CH: diana oculta (cuando la diana R117H no es HET ni Mu D)
- No Call: no se pudo crear una diana
- UnCalled: no se ha podido obtener una diana (los criterios empleados para este ajuste son los mismos que para No call (Sin diana), pero UnCalled (Diana no determinada) se utiliza para mostrar dianas que al principio aparecen como CH (diana oculta) pero que más adelante se cambian manualmente para hacerlas visibles)
- -: diana enmascarada por el usuario

Dianas posibles para las variantes I506V, I507V, F508C (prueba de reflejos: consulte la siguiente sección para más detalle):

- I506V D: se ha detectado el alelo I506V
- I507V D: se ha detectado el alelo I507V
- F508C D: se ha detectado el alelo F508C
- I506V, I507V D: se han detectado los alelos I506V e I507V
- I506V, F508C D: se han detectado los alelos I506V y F508C
- I507V, F508C D: se han detectado los alelos I507V y F508C
- I506V, I507V, F508C D: se han detectado los alelos I506V, I507V y F508C
- ND: no se han detectado los alelos I506V / I507V / F508C
- CH: diana oculta debido a que las dianas de dI507 y dF508 no son Mu D
- No Call (Sin dianas): no se pudo crear una diana
- -: diana enmascarada por el usuario

Prueba de reflejos del equipo de análisis xTAG[®] Cystic Fibrosis Kit (EU)

Hay dos tipos de pruebas de reflejo incluidos en el equipo:

- para variantes dI507 / dF508 y I506V, I507V, F508C
- para polimorfismos R117H y 5T/ 7T/ 9T

para variantes dI507 / dF508 y I506V, I507V, F508C

Cuando el resultado de dI507 y/o dF508 es Mu D, TDAS CFTR (EU) muestra los resultados de la prueba de reflejos de las variantes I506V, I507V y F508C

A continuación se enumeran algunas de las combinaciones posibles de dianas para estas mutaciones y polimorfismos, junto con datos de interpretaciones y recomendaciones.

Tabla 5. **dF508 Mu D + condiciones de variante**

Dianas TDAS*	Interpretación	Recomendación
dF508 Mu D/ F508C	Heterocigoto de dF508 en presencia de la variante F508C	Secuencia pendiente de confirmación
dF508 Mu D/ I506V	Heterocigoto de dF508 en presencia de la variante I506V	Secuencia pendiente de confirmación
dF508 Mu D/ I507V	Heterocigoto de dF508 en presencia de la variante I507V	Secuencia pendiente de confirmación
dF508 Mu D/ Variante no detectada	Homocigoto de dF508 con variante no detectada	Resultado del informe

Tabla 6. **dI507 Mu D + condiciones de variante**

Dianas TDA*	Interpretación	Recomendación
dI507 Mu D/ F508C	Heterocigoto de dI507 en presencia de la variante F508C	Secuencia pendiente de confirmación
dI507 Mu D/ I506V	Heterocigoto de dI507 en presencia de la variante I506V	Secuencia pendiente de confirmación
dI507 Mu D/ I507V	Heterocigoto de dI507 en presencia de la variante I507V	Secuencia pendiente de confirmación
dI507 Mu D/ Variante no detectada	Homocigoto de dI507 con variante no detectada	Resultado del informe

* cualquier otra combinación de Mu D / dianas de variante del dF508 y/o alelos debe ser confirmada mediante secuenciación.

Polimorfismos R117H y 5T/ 7T/ 9T

Cuando el resultado de R117H es HET o Mu D, TDAS CFTR (EU) muestra los resultados de la prueba de reflejos de los polimorfismos 5T / 7T / 9T. En estos casos, el informe final de la muestra debe incluir los resultados de la prueba de reflejos.

Recomendaciones para nueva prueba

Nota: El TDAS CFTR (EU) está diseñado para llevar a cabo la interpretación de los datos generados mediante el equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU). Utilice los protocolos de Luminex establecidos para las reacciones "A", "B" y "C", de acuerdo con lo especificado en la sección de [Adquisición de datos](#). No seleccionar los protocolos de Luminex correctos para la adquisición de datos hará que el TDAS CFTR (EU) no pueda analizar los datos. No interrumpa la lectura de la placa hasta que no se hayan leído todos los pozos de un lote y no modifique el archivo de salida que cree el software de Luminex.

Hay varios casos que pueden dar como resultado una salida 'No Call' (Sin diana) y son, de forma resumida, los que se enumeran en la siguiente tabla.

Caso resultante en una salida "No Call" (Sin diana) de TDAS	Mensaje(s) de aviso del TDAS en vista abreviada	Recomendaciones para nueva prueba
Las relaciones alélicas de una variación caen dentro de la zona equívoca	"Variation(s) failed: allelic ratio(s) not within predefined ranges" (Fallo de la(s) variación(es): relación(es) alélica(s) fuera de los intervalos predefinidos)	Repetición de la prueba a partir del paso de PCR
La(s) señal(es) de Exon 3 es/son inconsistentes con la diana de "del e2e3"	"Variation(s) failed: signal(s) inconsistent with local deletion" (Fallo de la(s) variación(es): señal(es) inconsistente(s) con la eliminación local)	Repetición de la prueba a partir del paso de PCR
Las señales Intron son inconsistentes para "del e2e3"	"Variation failed: raw signal(s) not within predefined ranges" (Fallo de la variación: señal(es) no procesada(s) fuera de los intervalos predefinidos)	Repetición de la prueba a partir del paso de PCR
Un subconjunto de variaciones de una muestra concreta genera un resultado "No Call" (Sin diana) debido a que la señal es inadecuada	"Variation(s) failed: signal(s) inadequate" (Fallo de la(s) variación(es): señal(es) inadecuada(s))	Repetición de la prueba a partir del paso de PCR
Un subconjunto de variaciones de una muestra concreta genera un resultado "No Call" (Sin diana) debido a que el recuento de microesferas es bajo	"Variation(s) failed: low bead count(s)" (Fallo del (los) objetivo(s): recuentos de microesferas bajos)	Repita la prueba a partir del paso de hibridación de microesferas (en las tres reacciones)
Un subconjunto de variaciones arroja un valor de señal inesperado (por ejemplo, la señal no es un valor numérico o es menor que cero)	"Variation(s) failed: unexpected value(s) encountered" (Fallo del (los) objetivo(s): se han encontrado valores inesperados)	Repetición de la prueba a partir del paso de PCR

Tabla . **continuación**

Caso resultante en una salida "No Call" (Sin diana) de TDAS	Mensaje(s) de aviso del TDAS en vista abreviada	Recomendaciones para nueva prueba
<p>Todas las variaciones de una muestra concreta generan un resultado "No Call" (Sin diana) debido a que el recuento de microesferas es bajo, o a que la señal es inadecuada o inesperada</p>	<p>"Sample failed: low bead counts, unexpected values, or inadequate signals for all variations (Fallo de la muestra: recuentos de microesferas bajos, valores inesperados o señales inadecuadas para todas las variaciones)</p>	<p>Repetición de la prueba a partir del paso de extracción</p>
<p>Se ha producido un problema durante la lectura de los pozos</p>	<p>"Sample failed: 'User cancel' message from the Luminex machine for this well" (Fallo de la muestra: mensaje 'Cancelación del usuario' de la máquina Luminex para este pozo) o "Sample failed: 'Sample Empty' message from the Luminex machine for this well" (Fallo de la muestra: mensaje 'Muestra vacía' de la máquina Luminex para este pozo) o "Sample failed: '< instrument error message >'. Check the Luminex instrument for details" (Fallo del análisis: '<mensaje de error del instrumento >'. Compruebe el instrumento Luminex para obtener detalles)</p>	<p>Repita la prueba a partir del paso de hibridación de microesferas (en las tres reacciones)</p>
<p>Una o más variaciones con bajo recuento de microesferas en el control negativo primario</p>	<p>"Assay failed: low bead count(s) for the primary negative control sample" (Fallo del análisis: recuentos de microesferas bajos para la muestra de control negativo primario)</p>	<p>Asigne a la placa otro control negativo "primario" y repita el análisis con el TDAS. Si todos los controles negativos generan este mensaje de error, repita la prueba a partir del paso de hibridación de microesferas (en las tres reacciones)</p>

Tabla . **continuación**

Caso resultante en una salida "No Call" (Sin diana) de TDAS	Mensaje(s) de aviso del TDAS en vista abreviada	Recomendaciones para nueva prueba
Un subconjunto de variaciones con señales inesperadas o elevadas en el control negativo primario	<p>"Assay failed: a primary negative control signal exceeds acceptable value" (Fallo del análisis: una señal de control negativo primario supera los valores aceptables)</p> <p>o</p> <p>"Assay failed: unexpected value(s) encountered for the primary negative control sample" (Fallo del análisis: se han encontrado valores inesperados para la muestra de control negativo primario)</p>	Asigne a la placa otro control negativo "primario" y repita el análisis con el TDAS. Si todos los controles negativos generan este mensaje de error, repita la prueba a partir del paso de PCR
Se ha producido un problema durante la lectura del pozo de control negativo primario	<p>"Assay failed: 'User cancel' message from the Luminex machine for the primary negative control sample" (Fallo del análisis: mensaje 'Cancelación del usuario' de la máquina Luminex para la muestra de control negativo primario)</p>	Repita la prueba a partir del paso de hibridación de microesferas (en las tres reacciones)
Se ha producido un problema durante la lectura del pozo de control negativo primario	<p>"Assay failed: 'Sample Empty' message from the Luminex machine for the primary negative control sample" (Fallo del análisis: mensaje 'Muestra vacía' de la máquina Luminex para la muestra de control negativo primario)</p> <p>o</p> <p>"Assay failed: '< instrument error message >'. Check the Luminex instrument for details" (Fallo del análisis: '<mensaje de error del instrumento >'. Compruebe el instrumento Luminex para obtener detalles)</p>	Asigne a la placa otro control negativo "primario" y repita el análisis con el TDAS. Si los dos controles negativos generan el mismo mensaje de error, repita la prueba a partir del paso de hibridación de microesferas (en las tres reacciones)

Características de funcionamiento

Las características de funcionamiento del sistema que se describen en este paquete son, de forma resumida, las que se indican a continuación.

Precisión/Comparación de métodos

Se ha determinado el grado de precisión del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) mediante la evaluación de muestras representativas de todos los alelos (mutaciones,

polimorfismos y variantes) investigados por el análisis. La mayoría eran muestras sobrantes y archivadas de ADN genómico, recolectadas de forma anónima y extraídas de muestras de sangre entera, así como muestras de sangre seca. Las muestras se complementaron con ADN genómico extraído de líneas de células linfoides transformadas por VEB (Coriell) y con varios plásmidos diseñados de forma personalizada para contener cada uno una o más mutaciones del gen regulador de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística.

Se recogieron y procesaron muestras de sangre entera en varios laboratorios externos con el fin de obtener ADN genómico purificado. Del total de puntos de sangre seca, un primer subconjunto se recogió utilizando tarjetas neonatales de varios componentes Whatman Grade 903 (n.º de catálogo Whatman 10537279) y se procesó en el Departamento de Salud Pública del Estado de Oklahoma (EE. UU.). La purificación del ADN de estas muestras se llevó a cabo mediante un equipo Gentra Generation Capture Card Kit. Un segundo subconjunto de puntos de sangre seca lo recogió Luminex en Austin, Texas (EE. UU.), y se procesó en Luminex Molecular Diagnostics (LMD) utilizando el protocolo de purificación de ADN GENERATION Capture de Qiagen. Los ADN genómicos extraídos de líneas de células linfoides transformadas por VEB se obtuvieron en forma purificada de Coriell Cell Repositories Inc. Un subconjunto de plásmidos se cultivó y purificó en Bio-Basic Inc. o IDT y se envió a LMD en estado liofilizado y a temperatura ambiente. Estos plásmidos se reconstituyeron y almacenaron a -80 °C hasta el momento de usarlos.¹ Los plásmidos restantes se cultivaron, purificaron y fabricaron en Maine Molecular Quality Control Inc. y se mantuvieron congelados a -20 °C en LMD hasta el momento de usarlos.²

El equipo de detección de mutaciones de la fibrosis quística xTAG fue el método empleado para comparar las mutaciones del panel A, mientras que la dideoxisecuenciación (llevada a cabo por Cogenics Inc., Houston, TX, EE. UU.) fue el método utilizado para comparar las mutaciones del panel B. En el caso de las mutaciones del panel C, el método de comparación utilizado fue la secuenciación bidireccional (llevada a cabo en las instalaciones de The Centre for Applied Genomics, Toronto, Ontario, Canadá).

1 Muestras para el estudio de precisión de los paneles A y B.

2 Muestras para el estudio de precisión del panel C.

Tabla 7. **Precisión total del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU)**

Exón o Intrón	xTAG Cystic Fibrosis (EU)	Mutaciones	Número de muestras clínicas independientes analizadas, por mutación*		Número de líneas de células de Coriell analizadas, por mutación	Antes de las repeticiones permitidas					Tras las repeticiones permitidas				
			Sangre entera	Punto de sangre		Número de plásmidos analizados, por mutación	Número total de repeticiones debido a errores de diana	Número total de repeticiones debido a ausencia de dianas	% de precisión antes de las repeticiones	LB de IC del 95% ** †	UB de IC del 95% ** †	% de precisión final tras las repeticiones	LB de IC del 95% ** †	UB de IC del 95% ** †	
EXÓN 3	C	P67L	1	0	0	2	0	0	100,00	29,24	100,00	100,00	29,24	100,00	
	B	dele2,3	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
	B	E60X	5	1	0	0	0	0	100,00	54,07	100,00	100,00	54,07	100,00	
	B	R75X	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
	B	405+3A>C	5	0	0	1	0	0	100,00	54,07	100,00	100,00	54,07	100,00	
	A	G85E ‡	2	0	0	0	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00	
	A	394delTT	2	0	0	0	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00	
EXÓN 4	C	I148T	0	0	0	2	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00	
	B	406-1G>A	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
	B	444delA	3	0	1	1	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
	B	R117C	7	0	0	0	0	1 §	85,71	42,13	99,64	100,00	59,04	100,00	
	A	R117H ‡	13	24	0	0	0	0	100,00	90,51	100,00	100,00	90,51	100,00	
	A	Y122X	1	0	1	0	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00	
	A	621+1G>T ‡	5	1	0	0	0	0	100,00	54,07	100,00	100,00	54,07	100,00	
EXÓN 5	C	711+5G>A	3	0	0	1	0	0	100,00	39,76	100,00	100,00	39,76	100,00	
	B	G178R	5	0	0	0	0	3 §,#	40,00	5,27	85,34	100,00	47,82	100,00	
	A	711+1G>T ‡	3	0	0	0	0	0	100,00	29,24	100,00	100,00	29,24	100,00	

Tabla 7. Precisión total del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) *continuación*

Exón o Intrón	xTAG Cystic Fibrosis (EU)	Mutaciones	Número de muestras clínicas independientes analizadas, por mutación*		Número de líneas de células de Coriell analizadas, por mutación	Antes de las repeticiones permitidas					Tras las repeticiones permitidas			
			Sangre entera	Punto de sangre		Número de plásmidos analizados, por mutación	Número total de repeticiones debido a errores de diana	Número total de repeticiones debido a ausencia de dianas	% de precisión antes de las repeticiones	LB de IC del 95% ** †	UB de IC del 95% ** †	% de precisión final tras las repeticiones	LB de IC del 95% ** †	UB de IC del 95% ** †
EXÓN 6a	C	712-1G>T	0	0	0	2	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00
	B	L206W	7	0	0	0	0	0	100,00	59,04	100,00	100,00	59,04	100,00
EXÓN 6b	B	935delA	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00
EXÓN 7	C	T338I	2	0	0	2	0	0	100,00	39,76	100,00	100,00	39,76	100,00
	B	dF311	5	0	0	0	2 §	2 §	20,00	5,05	71,64	100,00	47,82	100,00
	B	G330X	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00
	B	R352Q	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00
	B	S364P	2	0	0	1	0	0	100,00	29,24	100,00	100,00	29,24	100,00
	A	1078delT	3	0	0	0	0	0	100,00	29,24	100,00	100,00	29,24	100,00
	A	R334W ‡	3	0	0	0	0	0	100,00	29,24	100,00	100,00	29,24	100,00
	A	R347Pmut ‡	5	1	0	0	0	0	100,00	54,07	100,00	100,00	54,07	100,00
EXÓN 9	A	R347Hmut	2	1	1	0	0	0	100,00	39,76	100,00	100,00	39,76	100,00
	A	A455E ‡	3	0	0	0	0	0	100,00	29,24	100,00	100,00	29,24	100,00
EXÓN 10	B	G480C	4	0	0	1	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00
	B	Q493X	2	0	0	0	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00
	B	1677delTA	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00
	A	dI507mut ‡	4	5	0	0	0	0	100,00	66,37	100,00	100,00	66,37	100,00
	A	dF508mut ‡	51	119	0	0	0	0	100,00	97,87	100,00	100,00	97,87	100,00

Tabla 7. Precisión total del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) *continuación*

Exón o Intrón	xTAG Cystic Fibrosis (EU)	Mutaciones	Número de muestras clínicas independientes analizadas, por mutación*		Número de líneas de células de Coriell analizadas, por mutación	Antes de las repeticiones permitidas					Tras las repeticiones permitidas				
			Sangre entera	Punto de sangre		Número de plásmidos analizados, por mutación	Número total de repeticiones debido a errores de diana	Número total de repeticiones debido a ausencia de dianas	% de precisión antes de las repeticiones	LB de IC del 95% ** †	UB de IC del 95% ** †	% de precisión final tras las repeticiones	LB de IC del 95% ** †	UB de IC del 95% ** †	
	A	V520F	2	0	0	0	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00	
EXÓN 11	C	Q552X	2	0	0	2	0	0	100,00	39,76	100,00	100,00	39,76	100,00	
	A	1717-1G>A ‡	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
	A	G542X ‡	7	6	0	0	0	0	100,00	75,30	100,00	100,00	75,30	100,00	
	A	S549N	1	0	1	0	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00	
	A	S549R	4	0	1	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
	A	G551D ‡	7	5	0	0	0	0	100,00	73,54	100,00	100,00	73,54	100,00	
	A	R553X ‡	4	3	0	0	0	0	100,00	59,04	100,00	100,00	59,04	100,00	
	A	A559T	3	0	0	0	0	0	100,00	29,24	100,00	100,00	29,24	100,00	
	A	R560T ‡	4	0	0	0	0	0	100,00	39,76	100,00	100,00	39,76	100,00	
EXÓN 12	C	D579G	1	0	0	2	0	0	100,00	29,24	100,00	100,00	29,24	100,00	
	C	E585X	4	0	0	1	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
	C	1898+3A>G	1	0	0	2	0	0	100,00	29,24	100,00	100,00	29,24	100,00	
	B	1812-1G>A	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
	A	1898+1G>A ‡	2	0	0	0	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00	
	A	1898+5G>T	2	0	0	0	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00	
EXÓN 13	C	2184insA	3	0	0	2	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
	B	G622D	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	

Tabla 7. Precisión total del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) *continuación*

Exón o Intrón	xTAG Cystic Fibrosis (EU)	Mutaciones	Número de muestras clínicas independientes analizadas, por mutación*		Número de líneas de células de Coriell analizadas, por mutación	Antes de las repeticiones permitidas					Tras las repeticiones permitidas				
			Sangre entera	Punto de sangre		Número de plásmidos analizados, por mutación	Número total de repeticiones debido a errores de diana	Número total de repeticiones debido a ausencia de dianas	% de precisión antes de las repeticiones	LB de IC del 95% ** †	UB de IC del 95% ** †	% de precisión final tras las repeticiones	LB de IC del 95% ** †	UB de IC del 95% ** †	
	B	2055del9>A	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
	B	2143delT	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
	B	K710X	6	0	0	0	0	0	100,00	54,07	100,00	100,00	54,07	100,00	
	A	2183AA>G	2	0	0	0	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00	
	A	2184delA ‡	1	0	0	0	0	0	100,00	2,50	100,00	100,00	2,50	100,00	
	A	2307insA	2	1	0	0	0	0	100,00	29,24	100,00	100,00	29,24	100,00	
EXÓN 14b	A	2789+5G>A ‡	4	1	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
EXÓN 15	B	Q890X	5	0	0	1	0	0	100,00	54,07	100,00	100,00	54,07	100,00	
	B	2869insG	1	0	0	1	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00	
EXÓN 16	B	3120G>A ‡	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
	A	3120+1G>A	3	4	0	0	0	0	100,00	59,04	100,00	100,00	59,04	100,00	
EXÓN 17a	B	3199del6	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
EXÓN 17b	C	L1065P	0	0	0	2	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00	
	C	R1066H	4	0	0	1	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
	C	L1077P	2	0	0	2	0	0	100,00	39,76	100,00	100,00	39,76	100,00	
	B	R1066C	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
	B	W1089X	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	

Tabla 7. Precisión total del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) *continuación*

Exón o Intrón	xTAG Cystic Fibrosis (EU)	Mutaciones	Número de muestras clínicas independientes analizadas, por mutación*		Número de líneas de células de Coriell analizadas, por mutación	Antes de las repeticiones permitidas					Tras las repeticiones permitidas				
			Sangre entera	Punto de sangre		Número de plásmidos analizados, por mutación	Número total de repeticiones debido a errores de diana	Número total de repeticiones debido a ausencia de dianas	% de precisión antes de las repeticiones	LB de IC del 95% ** †	UB de IC del 95% ** †	% de precisión final tras las repeticiones	LB de IC del 95% ** †	UB de IC del 95% ** †	
	A	Y1092X-C>G	0	0	0	2	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00	
	A	Y1092X-C>A	2	0	0	0	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00	
	A	M1101K	0	0	2	0	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00	
EXÓN 18	B	D1152H	5	1	0	0	0	0	100,00	54,07	100,00	100,00	54,07	100,00	
EXÓN 19	B	R1158X	5	1	1	0	0	0	100,00	59,04	100,00	100,00	59,04	100,00	
	B	S1196X	6	0	0	1	0	2 #	71,43	29,04	96,33	100,00	59,04	100,00	
	B	3791delC	5	0	0	0	0	1 #	80,00	28,36	99,50	100,00	47,82	100,00	
	A	R1162X ‡	4	1	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
	A	3659delC ‡	4	0	0	0	0	0	100,00	39,76	100,00	100,00	39,76	100,00	
	A	S1255X(19)	4	0	0	0	0	0	100,00	39,76	100,00	100,00	39,76	100,00	
INTRÓN 19	A	3849+10kb ‡	8	5	0	0	0	0	100,00	75,30	100,00	100,00	75,30	100,00	
EXÓN 20	C	G1244E	3	0	0	2	0	0	100	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00	
	C	S1251N	1	0	0	2	0	0	100	29,24	100,00	100,00	29,24	100,00	
	A	S1255X(20)	4	0	0	0	0	0	100,00	39,76	100,00	100,00	39,76	100,00	
	A	3876delA	2	0	1	0	0	0	100,00	29,24	100,00	100,00	29,24	100,00	
	A	3905insT	2	0	0	0	0	0	100,00	15,81	100,00	100,00	15,81	100,00	
	A	W1282X ‡	6	2	0	0	0	0	100,00	63,06	100,00	100,00	63,06	100,00	

Tabla 7. **Precisión total del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) continuación**

Exón o Intrón	xTAG Cystic Fibrosis (EU)	Mutaciones	Número de muestras clínicas independientes analizadas, por mutación*		Número de líneas de células de Coriell analizadas, por mutación	Antes de las repeticiones permitidas					Tras las repeticiones permitidas			
			Sangre entera	Punto de sangre		Número de plásmidos analizados, por mutación	Número total de repeticiones debido a errores de diana	Número total de repeticiones debido a ausencia de dianas	% de precisión antes de las repeticiones	LB de IC del 95% ** †	UB de IC del 95% ** †	% de precisión final tras las repeticiones	LB de IC del 95% ** †	UB de IC del 95% ** †
EXÓN 21	C	4016insT	3	0	0	2	0	0	100	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00
	A	N1303K ‡	5	1	0	0	0	0	100,00	54,07	100,00	100,00	54,07	100,00
EXÓN 10	A	I506V-var tg	5	0	0	0	0	0	100,00	47,82	100,00	100,00	47,82	100,00

* (wb) = sangre entera; (bs) = puntos de sangre. Tenga en cuenta que se analizan un total de 594 alelos mutantes procedentes de más de 482 muestras clínicas. Algunas de las muestras clínicas incluyen mutantes heterocigóticos u homocigóticos.

** N para cálculo de IC = número total de muestras independientes analizadas

† UB = Límite superior, LB = Límite inferior, IC = Intervalo de confianza. Método de cálculo de IC de Clopper-Pearson proporcionado por John C. Pezzullo (Kissimmee, Florida, EE. UU.) y disponible en <http://statpages.org/confint.html>

‡ Mutaciones recomendadas por ACMG

§ La muestra arrojó un resultado de "No Calls" (Sin dianas) en múltiples alelos analizados debido a una incorrecta dilución de la misma. La concentración de ADN de entrada no era óptima

La muestra arrojó un resultado de "No Call" (Sin diana) en múltiples alelos analizados debido a un error de pipeteo

Exón o intrón	Base para el cálculo de la precisión total	Número de muestras clínicas independientes analizadas*	Número de líneas de células de Coriell analizadas	Número de plásmidos analizados	Número de muestras repetidas	Precisión total (antes de las repeticiones)	LB de IC del 95% (antes de las repeticiones)	UB de IC del 95% (antes de las repeticiones)	Precisión total (tras las repeticiones)	LB de IC del 95% (tras las repeticiones)	UB de IC del 95% (tras las repeticiones)
Todos los exones	Precisión total por muestra	321 (wb) + 161 (bs) = 482	9	No usado en el cálculo	11	480/491 = 97,8%	96,03%	98,88%	491/491 = 100%	99,25%	100%

* (wb) = sangre entera; (bs) = puntos de sangre. Tenga en cuenta que se analizan un total de 594 alelos mutantes procedentes de más de 482 muestras clínicas. Algunas de las muestras clínicas incluyen mutantes heterocigóticos u homocigóticos.

Precisión/Reproducibilidad

Se llevó a cabo un estudio ciego multicentro, multioperador y multilote para evaluar la variabilidad total de las mutaciones de los paneles A y B en el equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU).

El brazo A del estudio evaluó la reproducibilidad del paso de preanálisis (extracción de muestras) en un solo centro utilizando 18 muestras clínicas únicas (sangre entera) representantes de genotipos silvestres y 3 genotipos mutantes (10 muestras presuntamente silvestres extraídas de personas sanas y asintomáticas y 8 muestras extraídas de portadores de fibrosis quística, heterocigóticos, representantes de los siguientes genotipos: seis dF508, un N1303K y un V520F). Estas muestras clínicas (sangre entera) se extrajeron empleando 3 métodos de extracción distintos y se comprobaron utilizando el mismo lote de análisis con 2 operadores a lo largo de 9 días no consecutivos. Cada operador llevó a cabo 3 análisis por método de extracción y cada punto de análisis se ejecutó por duplicado. Se realizó una extracción para cada ensayo ejecutado por cada operador.

En el brazo A el número de réplicas por muestra fue: (3 métodos de extracción) x (2 operadores / método de extracción) x (3 análisis / operador) x (2 réplicas / análisis) = 36 réplicas.

Los resultados del brazo A son, de forma resumida, los siguientes:

Tabla 8. **Resumen de los resultados del brazo A de estudio de reproducibilidad**

Método de extracción	Número de muestras	Número total de análisis	Resultados
Biomerieux Easy Mag	18	18 x 12 = 216	Todos los análisis correctos (dianas correctas)
Qiagen Blood Mini	18	18 x 12 = 216	Todos los análisis correctos (dianas correctas)
Gentra Puregene	18	18 x 12 = 216	Todos los análisis correctos (dianas correctas)

El equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) tiene una reproducibilidad del 100 por ciento en todos los métodos de extracción.

El brazo B evaluó la reproducibilidad de los pasos analíticos (posteriores a la extracción) del análisis en tres centros independientes, utilizando por orden de preferencia y disponibilidad ADN genómicos purificados extraídos de muestras clínicas (sangre entera), ADN genómico purificado extraído de líneas de células linfoides y/o plásmidos. Cada lote de muestras contenía especímenes representantes de todas las mutaciones y variantes analizadas por los paneles A y B del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU). En cada centro el número de operadores fue de dos, y cada uno ejecutó 1 análisis / día a lo largo de 3 días no consecutivos (3 análisis por operador o 6 análisis por centro). En cada análisis, cada punto de análisis se ejecutó por duplicado. Se analizaron un total de tres (3) lotes de análisis (1 lote / centro).

El brazo B evaluó la reproducibilidad de los pasos analíticos (posteriores a la extracción) del análisis en tres centros externos (Hospital de Hartford, Connecticut, EE. UU. = centro 1,

Luminex Molecular Diagnostics Inc., Toronto, Canadá = centro 2, Hospital for Sick Kids, Toronto, Canadá = centro 3), utilizando por orden de preferencia y disponibilidad ADN genómicos purificados extraídos de muestras clínicas (sangre entera), ADN genómico purificado extraído de líneas de células linfoides y/o plásmidos. Cada lote de muestras contenía especímenes representantes de todas las mutaciones y variantes analizadas por el equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU). En cada centro el número de operadores fue de 2, y cada uno ejecutó 1 análisis / día a lo largo de 3 días no consecutivos (3 análisis por operador o 6 análisis por centro). En cada análisis, cada punto de análisis se ejecutó por duplicado. Se analizaron un total de tres (3) lotes de análisis (1 lote / centro).

Tabla 9. **Reproducibilidad de los paneles A y B del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) (entre centros y entre operadores)**

Muestra	Genotipo		Operador-operador											
			Centro 1 ¹				Centro 2 ²				Centro 3 ³			
			Op ⁴ N ⁵	Op 1 % corr ⁶	Op 2 N	Op 2 % corr	Op 1 N	Op 1 % corr	Op 2 N	Op 2 % corr	Op 1 N	Op 1 % corr	Op 2 N	Op 2 % corr
1	711+1G>T	dF508	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
2	1717-1G>A	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
3	G542X	R117H	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
4	A455E	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
5	3659delC	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
6	R1162X	dF508	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
7	3849+10kbC>T	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
8	W1282X	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
9	1078delT	dF508	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
10	A559T	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
11	S549N	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
12	R75X	dF508	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
13	G551D	R347P	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
14	R1066C	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
15	R117C	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
16	3905insT	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
17	R560T	dF508	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
18	394delTT	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
19	L206W	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100

Tabla 9. Reproducibilidad de los paneles A y B del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) (entre centros y entre operadores) *continuación*

Muestra	Genotipo		Operador-operador											
			Centro 1 ¹				Centro 2 ²				Centro 3 ³			
			Op ⁴ N ⁵	Op 1 % corr ⁶	Op 2 N	Op 2 % corr	Op 1 N	Op 1 % corr	Op 2 N	Op 2 % corr	Op 1 N	Op 1 % corr	Op 2 N	Op 2 % corr
20	R553X	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
21	2184delA	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
22	1898+1G>A	dF508	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
23	Y1092X-C>A	dF508	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
24	D1152H	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
25	Q493X	dF508	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
26	2183AA>G	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
27	V520F	3120+1G>A	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
28	I148T	3199del6	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
29	G622D	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
30	R334W	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
31	1812-1G>A	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
32	2789+5G>A	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
33	612+1 G>A	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
34	dF311	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
35	dI507	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
36	dF508 (+ variante F508C)	-	439*	100	442**	100	438***	100	438***	100	438***	100	439*	100
37	E60X	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
38	G330X	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
39	G85E	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
40	K710X	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100

Tabla 9. Reproducibilidad de los paneles A y B del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) (entre centros y entre operadores) *continuación*

Muestra	Genotipo		Operador-operador											
			Centro 1 ¹				Centro 2 ²				Centro 3 ³			
			Op ⁴ N ⁵	Op 1 % corr ⁶	Op 2 N	Op 2 % corr	Op 1 N	Op 1 % corr	Op 2 N	Op 2 % corr	Op 1 N	Op 1 % corr	Op 2 N	Op 2 % corr
41	N1303K	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
42	R1158X	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
43	3849+10kbC>T	2143delT	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
44	S1196X	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
45	dele2,3	dF508	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
46	444delA	1812-1G>A	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
47	M1101K	M1101K	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
48	G178R	dF508	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	437	99,77
49	Y122X	R1158X	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
50	R347H	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
51	3876delA	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
52	S549R	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100
53	dF508	-	438	100	438	100	438	100	438	100	438	100	437	99,77
54	E60X	405+3A>C	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100
55	406-1G>A	-	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100
56	935delA	-	6	100	6	100	6	100	6	100	6	100	6	100
57	dF311	R352Q	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100
58	G330X	S364P	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100
59	dF508 (+ variante I506V)	V520F	18	100	18	100	18	100	18	100	18	100	18	100
60	G480C	Q493X	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100
61	1677delTA	-	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100

Tabla 9. **Reproducibilidad de los paneles A y B del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) (entre centros y entre operadores) *continuación***

Muestra	Genotipo		Operador-operador											
			Centro 1 ¹				Centro 2 ²				Centro 3 ³			
			Op ⁴ N ⁵	Op 1 % corr ⁶	Op 2 N	Op 2 % corr	Op 1 N	Op 1 % corr	Op 2 N	Op 2 % corr	Op 1 N	Op 1 % corr	Op 2 N	Op 2 % corr
62	1898+5G>T	-	6	100	6	100	6	100	6	100	6	100	6	100
63	2307insA	2055del9>A	12	91,67	12	83,33	12	100	12	100	12	100	12	100
64	Q890X	2869insG	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100
65	3120G>A	-	6	100	6	100	6	100	6	100	6	100	6	100
66	3791delC	-	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100
67	Y1092X-C>G	-	6	100	6	100	6	100	6	100	6	100	6	100
68	R1066C	W1089X	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100
69	S1255X (ex.19)	-	6	100	6	100	6	100	6	100	6	100	6	100
70	S1255X (ex.20)	W1282X	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100	12	100

¹ Centro 1 = Hospital de Hartford, Connecticut. EE. UU.

² Centro 2 = Luminex Molecular Diagnostics

³ Centro 3 = Hospital for Sick Children, Toronto, Canadá

⁴ Op = operador (1 de 2)

⁵ N = número de dianas

⁶ % corr = porcentaje de resultados correctos

* Número total de dianas 438 + 1 = 439, debido a que el TDAS realizó una diana dF508 Mu D (variante F508C desenmascarada)

** Número total de dianas 438 + 4 = 442, debido a que el TDAS realizó 4 dianas dF508 Mu D (variante F508C desenmascarada)

*** Número total de dianas = 438, debido a que el TDAS realizó todas las dianas dF508 HET (variante F508C enmascarada)

En la siguiente tabla se observa que el equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) detectó todas las mutaciones de los paneles A y B, así como alelos normales (silvestres), con una precisión de > 99,57% en 3 centros, entre 6 operadores (2 por centro) y entre lotes de reactivos (un total de 3 lotes, 1 lote por centro). Las muestras n.º 48 y n.º 53 (ADN genómico de Coriell) arrojaron un resultado "No Call" (Sin diana) tras la repetición permitida del análisis en el Centro 3 (operador 1), mientras que la muestra n.º 63 (plásmido) arrojó 3 errores de diana en el Centro 1 entre 2 operadores.

En este estudio se caracterizó también la reproducibilidad de la detección de un heterocigoto compuesto dF508 / F508C. De las 36 réplicas de la muestra número 36 analizada, 30 generaron una diana dF508 HET y 6 generaron una diana dF508 Mu D. Ambos resultados demuestran ser precisos cuando se tiene en cuenta la definición de diana Mu D (es decir, sólo se detecta el alelo mutante). Encontrará una recomendación sobre este caso en la sección [Limitaciones de los análisis](#).

Tabla 10. **Reproducibilidad de los paneles A y B del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) (por alelo)**

Reacción	Genotipo	N.º total de dianas (todos los centros)	Antes de las repeticiones permitidas						Tras las repeticiones permitidas					
			N.º total de dianas omitidas	N.º total de sin dianas	N.º total de dianas correctas	% de coincidencia con el comparador	UB de IC del 95% *	UB de IC del 95% *	N.º total de dianas omitidas	N.º total de sin dianas	N.º total de dianas correctas	% de coincidencia con el comparador	LB de IC del 95% *	UB de IC del 95% *
A	G85E	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	394delTT	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	R117H	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	Y122X	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	621+1G>T	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	711+1G>T	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	1078delT	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	R334W	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	R347P	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	R347H	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	A455E	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	dI507	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	dF508	468	0	15	453	96,58	94,51	98,03	0	2	466	99,57	98,46	99,95
A	V520F	72	0	0	72	100,00	95,01	100,00	0	0	72	100,00	95,01	100,00
A	1717-1G>A	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	G542X	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	S549N	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	S549R	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	G551D	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	R553X	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00

Tabla 10. **Reproducibilidad de los paneles A y B del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) (por alelo)**
continuación

Reacción	Genotipo	N.º total de dianas (todos los centros)	Antes de las repeticiones permitidas						Tras las repeticiones permitidas					
			N.º total de dianas omitidas	N.º total de sin dianas	N.º total de dianas correctas	% de coincidencia con el comparador	UB de IC del 95% *	UB de IC del 95% *	N.º total de dianas omitidas	N.º total de sin dianas	N.º total de dianas correctas	% de coincidencia con el comparador	LB de IC del 95% *	UB de IC del 95% *
A	A559T	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	R560T	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	1898+1G>A	36	0	1	35	97,22	85,47	99,93	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	1898+5G>T	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	2183AA>G	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	2184delA	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	2307insA	36	3	0	33	91,67	77,53	98,25	3	0	33	91,67	77,53	98,25
A	2789+5G>A	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	3120+1G>A	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	Y1092X-C>G	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	Y1092X-C>A	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	M1101K	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	R1162X	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	3659delC	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	S1255X(19)	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	S1255X(20)	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	3849+10kb	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	3876delA	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	3905insT	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A	W1282X	72	0	0	72	100,00	95,01	100,00	0	0	72	100,00	95,01	100,00

Tabla 10. **Reproducibilidad de los paneles A y B del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) (por alelo)**
continuación

Reacción	Genotipo	N.º total de dianas (todos los centros)	Antes de las repeticiones permitidas						Tras las repeticiones permitidas					
			N.º total de dianas omitidas	N.º total de sin dianas	N.º total de dianas correctas	% de coincidencia con el comparador	UB de IC del 95% *	UB de IC del 95% *	N.º total de dianas omitidas	N.º total de sin dianas	N.º total de dianas correctas	% de coincidencia con el comparador	LB de IC del 95% *	UB de IC del 95% *
A	N1303K	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	dele2,3	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	E60X	72	0	0	72	100,00	95,01	100,00	0	0	72	100,00	95,01	100,00
B	R75X	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	405+3A>C	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	406-1G>A	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	444delA	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	R117C	72	0	0	72	100,00	95,01	100,00	0	0	72	100,00	95,01	100,00
B	G178R	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	L206W	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	935delA	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	dF311	72	0	0	72	100,00	95,01	100,00	0	0	72	100,00	95,01	100,00
B	G330X	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	R352Q	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	S364P	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	G480C	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	Q493X	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	1677delTA	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	1812-1G>A	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	G622D	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	2055del9>A	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00

Tabla 10. **Reproducibilidad de los paneles A y B del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) (por alelo)**
continuación

Reacción	Genotipo	N.º total de dianas (todos los centros)	Antes de las repeticiones permitidas						Tras las repeticiones permitidas					
			N.º total de dianas omitidas	N.º total de sin dianas	N.º total de dianas correctas	% de coincidencia con el comparador	UB de IC del 95% *	UB de IC del 95% *	N.º total de dianas omitidas	N.º total de sin dianas	N.º total de dianas correctas	% de coincidencia con el comparador	LB de IC del 95% *	UB de IC del 95% *
B	2143delT	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	K710X	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	Q890X	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	2869insG	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	3120G>A	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	3199del6	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	R1066C	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	W1089X	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	D1152H	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	R1158X	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	S1196X	36	0	1	35	97,22	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
B	3791delC	36	0	0	36	100,00	90,26	100,00	0	0	36	100,00	90,26	100,00
A+B	Total dianas WT**	136.836	0	208	136.626	99,847	99,824	99,867	0	2	136.834	99,999	99,995	100,000

* UB = Límite superior, LB = Límite inferior, IC = Intervalo de confianza. Cálculo exacto (Clopper & Pearson (1934) *Biometrika* 26, 404-143.)
Macro de Excel de <http://statpages.org/confint.html>

** El total de dianas WT no incluye los resultados del tracto de poli(T)

Se evaluó la reproducibilidad lote-lote del panel C de mutaciones del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) en Luminex Molecular Diagnostics Inc., (Toronto). El análisis se llevó a cabo sobre la base de dianas de genotipado fabricadas para cada una de las mutaciones/variantes utilizando 3 lotes de producción diferentes de xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU), y estudiadas por 3 operadores distintos con 3 lotes de equipo también distintos. Las muestras de análisis incluían controles fabricados por Maine Molecular que representaban a todas las mutaciones y variantes analizadas por el panel C del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU), y muestras de ADN genómico silvestres. En cada muestra se analizaron 30 réplicas por lote (es decir, 10 réplicas/análisis x 3 análisis/operador x 1 operador/lote x 3 lotes = 90 puntos de datos por muestra).

En la tabla que sigue encontrará un resumen de la reproducibilidad lote-lote por mutación/variante. Los datos proceden de tres lotes, antes y después de llevar a cabo repeticiones permitidas. Se calculó el porcentaje de coincidencia entre lotes para cada genotipo utilizando el número de dianas correctas dividido por el número de dianas previstas de cada genotipo. La coincidencia lote-lote del panel C oscilaba entre el 97,8% y el 100% en todos los genotipos de los análisis originales. De 2.880 dianas MUT/HET previstas de tres lotes, 2.852 fueron dianas correctas y 28 fueron No Calls (Sin diana). No hubo ninguna diana incorrecta. El porcentaje total de coincidencia comparador-genotipo fue del 99,0%. Todos los resultados No Calls (Sin diana) se resolvieron tras llevar a cabo repeticiones permitidas. Tras las repeticiones permitidas, todos los genotipos exhibieron un porcentaje de coincidencia lote-lote del 100% y una reproducibilidad total del 100%.

Tabla 11. **Reproducibilidad lote-lote del panel C del xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) por mutación/variante antes y después de las repeticiones**

Muestra de análisis	Mutación	Diana prevista	Réplicas por lote	Análisis originales							Tras las repeticiones permitidas			
				Número de dianas correctas			N.º de resultados sin diana en todos los lotes	N.º de dianas incorrectas en todos los lotes	Límite inferior de intervalo de confianza del 95%	% de coincidencia entre lotes	N.º de resultados sin diana en todos los lotes	N.º de dianas incorrectas en todos los lotes	Método de cálculo del límite inferior del intervalo de confianza ¹	% de coincidencia entre lotes
				Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3								
Botella B	I148T	HET	30	30	30	29	1*	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
Botella G	I148T	MUT D	30	30	30	30	0	0	96,0	100,0	0	0	96,0	100,0
Tubo 1	711+5G>A	HET	30	30	30	30	0	0	96,0	100,0	0	0	96,0	100,0
	E585X	HET	30	30	30	30	0	0	96,0	100,0	0	0	96,0	100,0
	R1066H	HET	30	30	30	30	0	0	96,0	100,0	0	0	96,0	100,0
Tubo 2	P67L	HET	30	29	30	30	1**	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
	712-1G>T	HET	30	29	30	30	1**	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
	T338I	HET	30	29	30	30	1**	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
	Q552X	HET	30	29	30	30	1**	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
	D579G	HET	30	29	30	30	1**	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
	1898+3A>G	HET	30	29	30	30	1**	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
	2184insA	HET	30	29	30	30	1**	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
	L1065P	HET	30	29	30	30	1**	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
	L1077P	HET	30	29	30	30	1**	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
	G1244E	HET	30	29	30	30	1**	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
S1251N	HET	30	29	30	30	1**	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0	

Tabla 11. Reproducibilidad lote-lote del panel C del xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) por mutación/variante antes y después de las repeticiones *continuación*

Muestra de análisis	Mutación	Diana prevista	Réplicas por lote	Análisis originales							Tras las repeticiones permitidas			
				Número de dianas correctas			N.º de resultados sin diana en todos los lotes	N.º de dianas incorrectas en todos los lotes	Límite inferior de intervalo de confianza del 95%	% de coincidencia entre lotes	N.º de resultados sin diana en todos los lotes	N.º de dianas incorrectas en todos los lotes	Método de cálculo del límite inferior del intervalo de confianza ¹	% de coincidencia entre lotes
				Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3								
	4016insT	HET	30	29	30	30	1 **	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
Tubo 3	711+5G>A	MUT D	30	30	30	30	0	0	96,0	100,0	0	0	96,0	100,0
	E585X	MUT D	30	30	29	30	1 *	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
	R1066H	MUT D	30	30	30	30	0	0	96,0	100,0	0	0	96,0	100,0
Tubo 4	P67L	MUT D	30	30	29	30	1 ***	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
	712-1G>T	MUT D	30	30	30	30	0	0	96,0	100,0	0	0	96,0	100,0
	T338I	MUT D	30	30	29	29	2 ***	0	92,2	97,8	0	0	96,0	100,0
	Q552X	MUT D	30	30	30	30	0	0	96,0	100,0	0	0	96,0	100,0
	D579G	MUT D	30	30	30	29	1 ***	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
	1898+3A>G	MUT D	30	30	29	29	2 ***	0	92,2	97,8	0	0	96,0	100,0
	2184insA	MUT D	30	30	29	30	1 ***	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
	L1065P	MUT D	30	30	29	29	2 ***	0	92,2	97,8	0	0	96,0	100,0
	L1077P	MUT D	30	30	29	29	2 ***	0	92,2	97,8	0	0	96,0	100,0
	G1244E	MUT D	30	30	30	30	0	0	96,0	100,0	0	0	96,0	100,0
	S1251N	MUT D	30	30	30	29	1 ***	0	94,0	98,9	0	0	96,0	100,0
4016insT	MUT D	30	30	29	29	2 ***	0	92,2	97,8	0	0	96,0	100,0	

Tabla 11. **Reproducibilidad lote-lote del panel C del xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU) por mutación/variante antes y después de las repeticiones *continuación***

Muestra de análisis	Mutación	Diana prevista	Réplicas por lote	Análisis originales					Tras las repeticiones permitidas					
				Número de dianas correctas			N.º de resultados sin diana en todos los lotes	N.º de dianas incorrectas en todos los lotes	Límite inferior de intervalo de confianza del 95%	% de coincidencia entre lotes	N.º de resultados sin diana en todos los lotes	N.º de dianas incorrectas en todos los lotes	Método de cálculo del límite inferior del intervalo de confianza ¹	% de coincidencia entre lotes
				Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3								
Total de réplicas en todos los centros			2.880						Total de dianas correctas en todos los lotes	Total de sin dianas en todos los lotes	Total de dianas incorrectas en todos los lotes	LB de intervalo de confianza del 95%	% de coincidencia	
				Reproducibilidad total tras análisis originales					2.852	28	0	98,6	99,0	
				Reproducibilidad total tras repeticiones					2.880	0	0	99,9	100,0	

¹ Clopper-Pearson del 95% proporcionado por John C. Pezzullo (Kissimmee, Florida, EE. UU.) y disponible en <http://statpages.org/confint.html>

* Lote de muestras 2-5-19 - Sin diana debido a IFM bajo

** Lote de muestras 1-4-03 - Sin diana por no haber añadido muestra

*** Lotes de muestras 2-6-27 y 3-6-08 - Sin diana debido a error de pipeteo

Efecto de muestras excesivas o limitadas

El análisis que se describe en este prospecto está optimizado para su uso con 50 ng de ADN extraído (entrada total en la reacción de PCR). Los datos empíricos constatan que, cuando el análisis se ejecuta de acuerdo con los métodos que se describen arriba, las muestras con valores de entrada entre 10 y 1,5 µg generan dianas de genotipado correctas.

Sustancias interferentes

Se llevó a cabo un estudio de interferencias para evaluar los efectos de los interferentes potenciales que se pueden encontrar en las muestras de sangre entera (hemoglobina a una concentración final de 1.500 µg/ml, bilirrubina a una concentración final de 200 µg/ml y una mezcla de triglicéridos a una concentración final de 30 mg/ml). En total se emplearon ocho muestras de sangre entera (4 con mutaciones de fibrosis quística de tipo silvestre y 1 N1303K Het, 1 V520F Het y 2 ΔF508 Het). Cada muestra de sangre se dividió en 6 partes y se incubó en ausencia o en presencia de uno de los 3 interferentes potenciales. Las muestras se extrajeron y analizaron con el equipo. Se llevó a cabo la dideoxisequenciación de los exones reguladores de la conductancia transmembrana de la fibrosis quística con el fin de confirmar los genotipos de las 8 muestras de sangre. No se observó ninguna diferencia en las dianas cualitativas finales extraídas de las muestras no tratadas con respecto a las muestras tratadas. Por ello, este estudio revela que ninguno de los interferentes potenciales que se suelen encontrar en la sangre entera produce un efecto inhibitorio significativo.

Estabilidad

No utilice el equipo ni ningún componente del mismo después de la fecha de caducidad indicada en la etiqueta de cartón del equipo. No intercambie componentes de equipo entre distintos lotes de equipo. Los grupos de equipo se indican en la etiqueta del equipo.

La repetición de ciclos de congelación (hasta un máximo de 4) no pone en peligro la integridad del equipo de análisis xTAG Cystic Fibrosis Kit (EU).

Garantía limitada del producto

Luminex Molecular Diagnostics, Inc. garantiza que los materiales vendidos cumplen las especificaciones de Luminex Molecular Diagnostics desde el momento del envío hasta la fecha de caducidad si se almacenan según las condiciones recomendadas. LOS TÉRMINOS, DECLARACIONES, GARANTÍAS Y CONDICIONES QUE SE EXPONEN EN EL PRESENTE DOCUMENTO SUSTITUYEN TODOS LOS TÉRMINOS, DECLARACIONES, GARANTÍAS Y CONDICIONES EXPLÍCITAS, IMPLÍCITAS O ESTABLECIDAS POR LA LEY, INCLUIDOS, SIN LIMITARSE A ELLOS, LOS TÉRMINOS, DECLARACIONES, GARANTÍAS O CONDICIONES DE COMERCIABILIDAD, APTITUD PARA UN FIN DETERMINADO O NO INFRACCIÓN Y POR EL PRESENTE DOCUMENTO SE RENUNCIA EXPRESAMENTE A RESPONSABILIDAD ALGUNA POR TALES TÉRMINOS, DECLARACIONES, GARANTÍAS O CONDICIONES. LUMINEX MOLECULAR DIAGNOSTICS NO SERÁ RESPONSABLE BAJO NINGUNA CIRCUNSTANCIA DE LAS PÉRDIDAS, COSTES O GASTOS DE NINGÚN TIPO, INCLUIDOS LOS DAÑOS ESPECIALES, INDIRECTOS O INCIDENTALES, YA SEA O NO RESULTANTES DEL CONTRATO, ACUERDO EXTRA CONTRACTUAL O CUALQUIER OTRO, SUFRIDO POR CUALQUIER PERSONA, RESULTANTE, RELACIONADO O VINCULADO CON EL USO O

APLICACIÓN INDEBIDA DEL PRODUCTO, INCLUIDA, SIN PERJUICIO DE LA GENERALIDAD DE LO ANTERIOR, CUALQUIER PÉRDIDA, DAÑO, COSTE O GASTO DE NINGÚN TIPO RESULTANTE, RELACIONADO O VINCULADO A CUALQUIER PRUEBA O PRUEBAS REALIZADAS CON EL PRODUCTO, además Luminex Molecular Diagnostics puede, a su propio juicio y en cualquier caso no más tarde que un año después de la compra original del producto de Luminex Molecular Diagnostics, acordar con el comprador original del producto la entrega de un producto de sustitución si según Luminex Molecular Diagnostics el producto tiene defectos de material o mano de obra. Para ello, Luminex Molecular Diagnostics debe recibir un aviso a través de correo certificado de cualquier tipo de reclamación del defecto del producto en el plazo de 30 días a partir de la aparición de dicho defecto. Luminex Molecular Diagnostics ha basado el precio de su producto en esta garantía y responsabilidad limitadas y el precio sería más alto si fuera necesaria una cobertura de responsabilidad más amplia. Esta garantía y limitación de responsabilidad no se pueden modificar ni enmendar, excepto mediante una nota escrita emitida por Luminex Molecular Diagnostics.

Contrato de licencia de usuario para el TDAS CFTR (EU)

Aviso a los destinatarios acerca de las licencias

Al abrir el paquete que contiene el Software o al utilizar el Software de cualquier manera, consiente y acepta los términos y condiciones del acuerdo de licencia de usuario final siguiente. Acepta que los siguientes términos y condiciones constituyen un contrato legalmente válido y vinculante que está obligado a cumplir. Si no está de acuerdo con todos los términos y las condiciones que se exponen a continuación, debe devolver el Software de inmediato antes de utilizarlo para que se le devuelva el dinero.

No se otorgan al comprador de este Software derechos o licencias para usar el equipo independientemente de los derechos o licencias concedidos al comprador de los equipos.

Condiciones de uso y restricciones legales

EL xTAG® DATA ANALYSIS SOFTWARE QUE INCLUYE TODOS LOS ALGORITMOS ("TDAS") SE PROPORCIONA BAJO LOS SIGUIENTES TÉRMINOS Y CONDICIONES. EL USO, LA INSTALACIÓN O EL ACCESO A TDAS CONSTITUYE LA ACEPTACIÓN DE ESTOS TÉRMINOS Y CONDICIONES (COLECTIVAMENTE, ESTOS "TÉRMINOS"). SI NO ACEPTA ESTOS TÉRMINOS, NO ESTÁ AUTORIZADO A UTILIZAR, INSTALAR Y/O ACCEDER AL SOFTWARE TDAS Y PUEDE DEVOLVER EL TDAS PARA RECIBIR UN REEMBOLSO ÍNTEGRO. EXCEPTO LOS CASOS QUE SE DETERMINAN ANTERIORMENTE EN EL PRESENTE DOCUMENTO, SE SEGUIRÁN APLICANDO TODOS LOS TÉRMINOS Y CONDICIONES DE LOS TÉRMINOS Y CONDICIONES DE VENTA DE LMD.

Uso del TDAS

Luminex Molecular Diagnostics, Inc. ("LMD") concede una licencia limitada, personal, no transferible, no negociable (sin derecho a sublicenciar) y no exclusiva para utilizar la versión de código de objeto del TDAS en ordenadores dentro de la empresa, para el uso sólo en combinación con la aplicación de un equipo LMD xTAG® (el "equipo") a efectos de genotipificación.

Restricciones de uso

Excepto lo permitido por el presente documento, el usuario no (i) permitirá que ninguna tercera persona utilice TDAS, (ii) no venderá, alquilará, concederá licenciará, explotará comercialmente o de ninguna otra forma utilizará TDAS para el beneficio de terceros o en operaciones de una oficina de servicios con cualquier fin distinto al expresamente autorizado por estos Términos, (iii) no permitirá ni dará acceso a la información ni la hará disponible mediante el uso de TDAS, incluida la publicación, redistribución o retransmisión, sin limitarse a ello, de cualquier nucleótido detectado o no, para otro uso que no sea el suyo (o realizado en su nombre) para la detección de objetivos internos ni (iv) permitirá o causará que ningún dato extraído o derivado de los resultados calculados se publique, redistribuya, retransmita o use con otro fin distinto al de la notificación de resultados de la detección de objetivos internos.

No podrá ni deberá permitir que terceros modifiquen TDAS de alguna manera o que reproduzcan o muestren públicamente, que realicen o distribuyan, copien, transmitan, publiquen, licencien, creen a partir de él trabajos derivados de descifrado, asignación o que transfieran de alguna otra manera, vendan o utilicen TDAS para cualquier fin público o comercial.

Independientemente de las cláusulas anteriores, puede (i) proporcionar el soporte en el que se le ha entregado TDAS, a cualquier empresa de afiliación directa para que la utilice junto con el equipo y (ii) reproducir o mostrar públicamente, representar o publicar TDAS y los resultados de TDAS sólo en publicaciones científicas y presentaciones en conferencias científicas a condición de que haga mención de TDAS y que éste es propiedad de LMD.

Admite que su obligación es informar a sus empleados, asesores y empresas asociadas sobre quién va a utilizar TDAS, sobre la documentación de etiquetas de LMD, advertencias, instrucciones y otro material relacionado con el uso correcto que LMD debe o puede proporcionarle en el futuro. Debe cumplir con todas las leyes y normas aplicables, incluidos los requisitos aplicables de FDA y los requisitos del programa federal de asistencia sanitaria, al utilizar y/o anunciar TDAS y al solicitar cualquier reembolso del programa federal de asistencia sanitaria relacionado con el TDAS.

Reserva de derechos

LMD se reserva todos los derechos no concedidos expresamente en el presente documento. LMD y sus licenciadores son propietarios exclusivos de todos los títulos, derechos de propiedad y derechos de propiedad intelectual, incluidas, pero sin limitarse a ellas, las patentes, derechos de autor, marcas comerciales y secretos comerciales, de TDAS o relacionados con él.

Información de propiedad exclusiva

TDAS contiene información de propiedad exclusiva y confidencial sobre LMD y sus licenciadores. No debe modificar, vender ni distribuir trabajos basados en TDAS. Debe mantener la confidencialidad de TDAS y sólo proporcionar información relacionada con TDAS a aquellos directores, empleados o agentes que necesiten saber dicha información confidencial, que estén informados de la naturaleza confidencial de la información y que acepten estar vinculados por los términos de confidencialidad incluidos en estos Términos.

Renuncia de responsabilidad

EL TDAS SE PROPORCIONA “TAL CUAL” SIN GARANTÍA DE NINGÚN TIPO. EN LA MEDIDA EN QUE LA LEY APLICABLE LO PERMITA, LMD NIEGA TODAS LAS CONDICIONES, TÉRMINOS, DECLARACIONES Y GARANTÍAS, YA SEAN IMPLÍCITAS O EXPLÍCITAS, ESCRITAS U ORALES, ESTABLECIDAS POR LA LEY O DE ALGUNA OTRA FORMA, INCLUIDAS, SIN LIMITARSE A ELLAS, LAS GARANTÍAS DE COMERCIALIZACIÓN, CALIDAD, APTITUD PARA UN FIN O TÍTULO DETERMINADO, O NO CONTRAVENCIÓN DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL.

Limitación de responsabilidad

TDAS SE PROPORCIONA SIN NINGUNA GARANTÍA, CONDICIÓN, TÉRMINO, DECLARACIÓN NI OBLIGACIÓN POR PARTE DE LMD. EN NINGÚN CASO SE RESPONSABILIZARÁ A LMD, SUS PROVEEDORES, LICENCIADORES NI SOCIOS DE DAÑOS DE NINGÚN TIPO (INCLUIDOS, SIN LIMITARSE A ELLOS, LOS DAÑOS RESULTANTES DE LUCRO CESANTE, PÉRDIDA DE DATOS O INTERRUPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES COMERCIALES, DAÑOS ESPECIALES, ACCIDENTALES, INDIRECTOS, PUNITIVOS O CONSECUENTES, PÉRDIDA DE USO, DATOS O GANANCIAS, INTERRUPCIÓN DE LAS ACTIVIDADES COMERCIALES, PÉRDIDA DE INFORMACIÓN COMERCIAL O CUALQUIER OTRO PERJUICIO ECONÓMICO) QUE SE DERIVEN DEL USO, INCAPACIDAD DE USO O RESULTADOS DE USO DE TDAS BASADOS O NO EN LA GARANTÍA, CONTRATO, ACUERDO EXTRA CONTRACTUAL, (INCLUSO SI LOS DAÑOS SE DEBEN A LA VIOLACIÓN DEL CONTRATO, INCLUIDO EL INCUMPLIMIENTO ESENCIAL) O A CAUSA DE LA NEGLIGENCIA, NEGLIGENCIA GRAVE, DECLARACIÓN FALSA NEGLIGENTE U OTRO FALLO POR PARTE DE LMD, O CUALQUIER OTRA TEORÍA LEGAL INDEPENDIENTEMENTE DE QUE LMD HAYA SIDO AVISADO DE LA POSIBILIDAD DE TALES DAÑOS. SI A CAUSA DEL USO DE TDAS, EL EQUIPO O LOS DATOS NECESITAN SERVICIO DE MANTENIMIENTO, REPARACIÓN O CORRECCIÓN, EL USUARIO ASUMIRÁ TODOS LOS COSTES RELACIONADOS.

ACEPTA QUE LAS CLÁUSULAS DE “TAL CUAL” Y DE LIMITACIÓN DE RESPONSABILIDAD INCLUIDAS EN ESTE ACUERDO CONSTITUYEN TÉRMINOS MATERIALES, FRUTO DE NEGOCIACIONES CONTRACTUALES ENTRE LAS PARTES Y QUE NO SE PROPORCIONARÁ NINGUNA LICENCIA EN AUSENCIA DE ESAS CLÁUSULAS.

Indemnización

Acepta indemnizar y eximir de responsabilidad a LMD, sus empleados, directores, proveedores de servicio de terceros, licenciadores y entidades afiliadas contra cualquier pérdida, daño, reclamación, coste, gasto u otra responsabilidad (incluidos, sin limitarse a ellos, los honorarios legales y sumas pagadas incurridas en el acuerdo) sufrida o incurrida por LMD como resultado de cualquier reclamación o causa de acción de terceros resultante, basada en o relacionada con: (i) su uso de TDAS, (ii) su uso o dependencia de cualquier evaluación, resultado analítico u otros datos derivados de TDAS, (iii) cualquier violación de estos Términos por su parte o la de sus representantes.

Leyes de control de acceso y exportación

No podrá utilizar, exportar ni volver a exportar TDAS, ni la copia ni adaptación del mismo de ninguna forma que esté en conflicto con alguna ley o norma local, provincial, estatal,

nacional, internacional y extranjera que se le aplique. Sólo puede acceder y/o utilizar TDAS de conformidad con las leyes locales aplicables.

Leyes aplicables

Estos Términos se regirán y construirán de acuerdo con las leyes de la provincia de Ontario y con las leyes federales de Canadá aplicables en ese territorio, sin dar efecto a ningún principio de conflicto de leyes. Por el presente, acepta expresamente someterse a la jurisdicción y competencia exclusiva de los tribunales de Toronto, Ontario, Canadá, en el caso de cualquier proceso legal resultante de su uso de TDAS o de estos Términos.

Divisibilidad

En caso de que alguna de las cláusulas de estos Términos no fuese válida o aplicable bajo la ley aplicable, ésta se omitirá, mientras que las demás cláusulas conservarán plena vigencia y efecto.

Acuerdo completo

A menos que acuerde lo contrario con LMD, estos Términos constituyen el acuerdo completo entre usted y LMD en lo que se refiere al uso de TDAS. No existen declaraciones, garantías, condiciones ni otros acuerdos explícitos o implícitos, establecidos por la ley o de alguna otra manera, entre las partes en relación con el uso de TDAS, distintos a estos Términos.

Asignación

No podrá asignar ni transferir derechos ni obligaciones bajo estos Términos sin el consentimiento previo por escrito de LMD. LMD podrá, sin previo aviso, asignar o transferir sus derechos y/u obligaciones bajo estos Términos sin su consentimiento previo por escrito.

Rescisión

La autorización de acceso y uso de TDAS se rescindirá automáticamente si infringe alguna de las cláusulas incluidas en el contrato. LMD se reserva el derecho, a su propio juicio, de rescindir su acceso y uso de TDAS o de alguna de las partes del mismo en cualquier momento y sin previo aviso. Una vez rescindido su derecho de acceso o uso de TDAS, debe dejar de usar TDAS inmediatamente y eliminar todas las instalaciones de TDAS de los ordenadores de su empresa y cualquier otra empresa afiliada.

Idioma

Las partes confirman su deseo de expresar que este acuerdo, así como todos los demás documentos relacionados con él, incluidos los anuncios, se redactará en el idioma Inglés solamente y se declaran satisfechos con el mismo; les parties aux présentes confirment leur volonté que cette convention, de même que tous les documents qui s'y rattachent, y compris tout avis, soient rédigés en langue anglaise et s'en déclarent satisfaits.



Luminex Molecular Diagnostics, Inc.

439 University Ave.
Toronto, ON, Canadá
M5G 1Y8

Soporte técnico

Teléfono directo: +1 512-381-4397
Llamadas internacionales sin cargo:
+800-2939-4959
Correo electrónico:
support@luminexcorp.com
www.luminexcorp.com



WMDE
Bergerweg 18
6085 AT Horn
Países Bajos