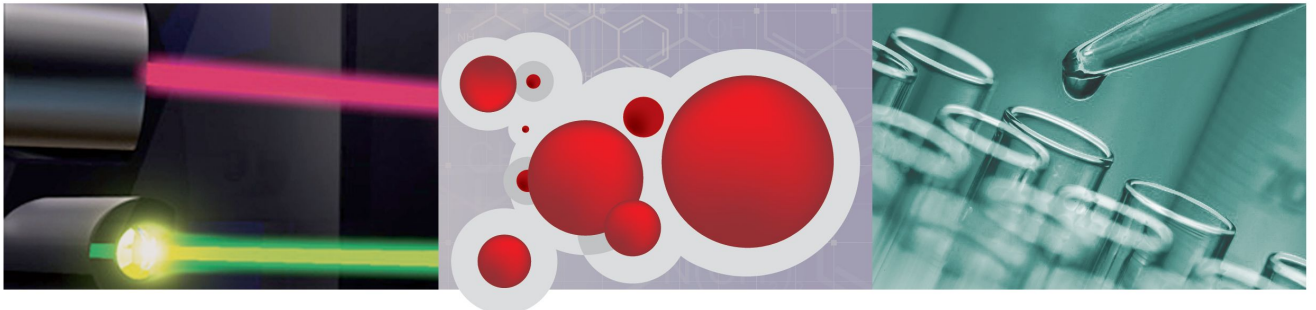


Luminex[®]


xTAG[®] CYP2C19 Kit v3

IVD

Para uso en diagnóstico in vitro
Para el uso con los sistemas Luminex[®] 100/200[™] y MAGPIX[®]



Consulte la sección [Reactivos del equipo y condiciones de almacenamiento](#) para obtener información acerca de las condiciones de almacenamiento de los reactivos.

Componentes del equipo	REF
 xTAG [®] CYP2C19 Kit v3 48	I046B0428
xTAG [®] CYP2C19 Kit v3 CD (contiene el software xTAG [®] Data Analysis Software CYP2C19 y etiquetas del producto relacionadas)	S046-0276

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, US 7,718,262 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, en calidad de cliente, no podrá descifrar ni descompilar 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 y 5,912,120, incluidas las aplicaciones relacionadas y sus homólogos extranjeros.

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. N.º 5,741,676 y 5,756,285, y patentes relacionadas. Las partes de este equipo se fabrican y venden al amparo de la licencia concedida con la patente de EE. UU. n.º 5,338,671 y 5,587,287 y sus homólogos extranjeros. Al comprar este producto se otorga al comprador los derechos bajo determinadas patentes de Roche de uso exclusivo para proporcionar servicios diagnósticos in vitro para humanos. No se otorga otro derecho ni licencia de ningún tipo que no sea el derecho específico de uso adquirido con la compra.

Información sobre marcas comerciales

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




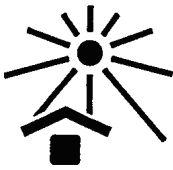




El resto de las marcas comerciales, incluidas Costar[®], Thermowell[®], EasyMag[™], Falcon[®], Galaxy[™], Cole-Parmer[®], Microseal[®], QIAGEN[®], Vista[®], Microsoft[®] Windows[®], Pentium[®] y Dell[®] son marcas comerciales de sus respectivas empresas.



Para uso en diagnóstico *in vitro*

Previa solicitud, hay disponible una copia en papel.

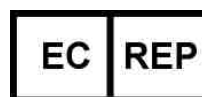
Interpretación de símbolos

	Código del lote		Dispositivo médico para diagnóstico in vitro
	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		Usar antes de AAAA-MM-DD o AAAA-MM
	Representante autorizado en la Comunidad Europea		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

MLD-046-KPI-006 Rev A

Fecha de entrada en vigor: Septiembre 2013

Índice de contenidos

Uso previsto/Instrucciones de uso	1
Explicación de la prueba	1
Entorno	4
Reactivos	6
Reactivos del equipo y condiciones de almacenamiento	6
Equipo y consumibles requeridos pero no incluidos	8
Equipo	8
Consumibles	8
Software para análisis de datos	9
Archivos incluidos en el CD xTAG CYP2C19 Kit v3	9
Sistema operativo	9
Advertencias y precauciones	9
Limitaciones de los análisis	10
Configuración del instrumento	11
Limpieza de la sonda para el sistema MAGPIX	11
Ajuste de la altura de la sonda de muestreo en el sistema MAGPIX	12
Instrucciones de instalación de protocolos de adquisición de datos	14
Procedimientos recomendados de control de calidad	14
Preparación de muestras	15
Procedimiento de análisis	15
Procedimientos recomendados para prevenir la contaminación	16
PCR multiplex	17
Tratamiento de amplicones	19
ASPE multiplex	20
Hibridación de microesferas	21
Adquisición de datos y análisis	24
Preparación del instrumento y adquisición de datos	24
Instrucciones para la instalación del TDAS CYP2C19	24
Análisis de datos con TDAS CYP2C19	25
Interpretación de resultados	25
Características de funcionamiento	29
Resultado analítico	29
Funcionamiento clínico	38
Referencias	42
Sitios Web	43

Uso previsto/Instrucciones de uso

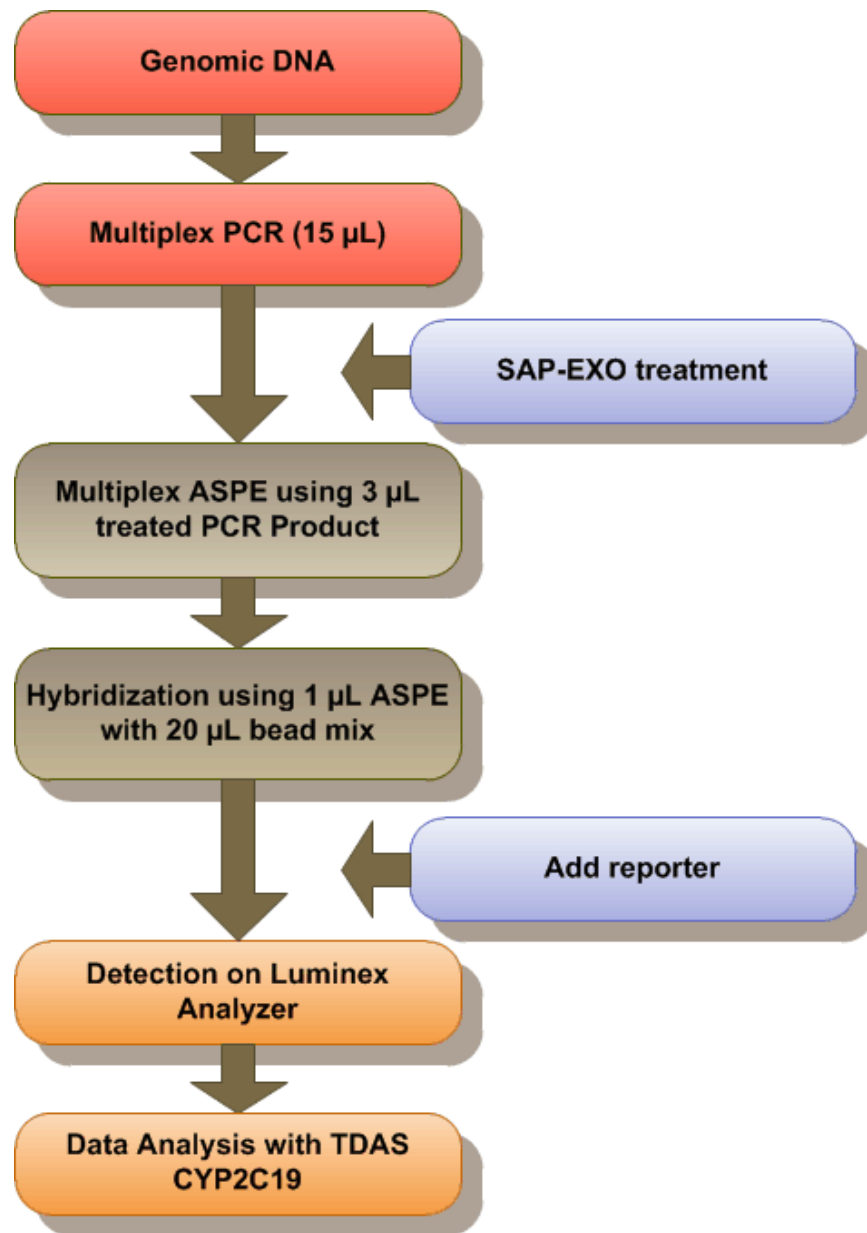
xTAG® CYP2C19 Kit v3 es una prueba de diagnóstico *in vitro* utilizada para detectar e identificar simultáneamente un grupo de variantes de nucleótidos presentes en el gen CYP450 2C19 altamente polimórfico localizado en el cromosoma 10q24 a partir de ADN genómico extraído de una muestra de sangre con EDTA o de una muestra de sangre entera anticoagulada con citrato. xTAG® CYP2C19 Kit v3 es un análisis de genotipado cualitativo que los médicos pueden utilizar como recurso para determinar la estrategia terapéutica para las terapéuticas que se metabolizan por el producto génico CYP2C19, en particular *1, *2, *3, *4, *5, *6, *7, *8, *9, *10 y *17.

xTAG CYP2C19 Kit v3 no está indicado para utilizarse como método de diagnóstico aislado. El médico puede utilizar la información obtenida de esta prueba para apoyar las decisiones que deba tomar y solo deberá servirse de ella para complementar los controles rutinarios. Habida cuenta del amplio espectro de conocimientos sobre utilidad clínica con medicamentos específicos metabolizados por CYP2C19, los médicos deberán recurrir a su criterio profesional para interpretar los resultados de esta prueba. Asimismo, los resultados de este tipo de análisis no deben utilizarse para prever la respuesta de un paciente a un medicamento para el que no se han definido la actividad de la enzima metabolizante del alelo ni la vía metabólica del medicamento.

Explicación de la prueba

xTAG CYP2C19 Kit v3 incorpora la Polymerase Chain Reaction (reacción en cadena de la polimerasa) (PCR) multiplex y la reacción de Allele Specific Primer Extension (elongación alelo específica del iniciador) (ASPE) multiplex junto con el sistema de clasificación de matriz universal propiedad de LMD en las plataformas Luminex® (Figura 1).

Figura 1. Información general acerca del análisis xTAG CYP2C19 Kit v3



Para cada muestra, el ADN genómico se amplifica en una PCR multiplex. Para permitir la incorporación eficaz de dCTP etiquetada con biotina durante la reacción de ASPE, cada producto de PCR se trata con xTAG[®] Shrimp Alkaline Phosphatase (SAP) (fosfatasa alcalina de gamba (SAP) xTAG[®]) para desactivar los nucleótidos residuales (especialmente dCTP) y con xTAG[®] Exonuclease I (EXO) (exonucleasa I (EXO) xTAG[®]) para degradar cualquier iniciador remanente de la reacción PCR. A continuación se lleva a cabo el proceso ASPE usando iniciadores universalmente etiquetados suministrados en la mezcla de iniciadores ASPE. Se hibrida una parte alícuota de 1 µL de la reacción ASPE con la matriz universal (mezcla de microesferas) en presencia del tampón de hibridación y se incuba con Streptavidin, R-Phycoerythrin (estreptavidina, R-ficoeritrina) (solución informante). Las muestras se leen en el instrumento Luminex[®] 100/200[™] o MAGPIX[®], y se genera un valor de intensidad de fluorescencia media (MFI) para cada una de las variantes. A continuación, se

analizan los valores de MFI para determinar si las muestras son de tipo silvestre, heterocigóticas o mutantes para cada una de las variantes. Los resultados de las variantes se utilizan para determinar un genotipo para cada muestra. Las variantes detectadas en el análisis xTAG CYP2C19 Kit v3 se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1. **Polimorfismos de nucleótido único (SNP) detectados por xTAG CYP2C19 Kit v3**

Alelos ¹	SNP detectados ¹	Exón	Actividad enzimática prevista ²	Referencias
*1	Ninguna	---	Normal	Romkes et al, 1991; Richardson et al, 1995; Blaisdell et al, 2002
*2	19154G>A	Exón 5	Ninguna	De Morais et al, 1994a; Ibeanu et al, 1998b; Fukushima-Uesaka et al, 2005
*3	17948G>A	Exón 4	Ninguna	De Morais et al, 1994b;
*4	1A>G	Exón 1	Ninguna	Ferguson et al, 1998
*5	90033C>T	Exón 9	Ninguna	Ibeanu et al, 1998a; Xiao et al, 1997
*6	12748G>A	Exón 3	Ninguna	Ibeanu et al, 1998b
*7	19294T>A	Exón 5	Ninguna	Ibeanu et al, 1999
*8	12711T>C	Exón 3	Reducida	Ibeanu et al, 1999
*9	12784G>A	Exón 3	Reducida	Blaisdell et al, 2002
*10	19153C>T	Exón 5	Reducida	Blaisdell et al, 2002
*17	-806C>T	Promotor	Incrementada	Sim et al, 2006; Rudberg et al, 2008

¹ Los alelos P450 -2C19 constan de una o más variantes de nucleótidos. En cada caso, los haplotipos se pueden representar por una variante única en dicho alelo y responsable del fenotipo detectado.

² En esta columna se muestra el resultado descrito en las pruebas enzimáticas *in vivo* e *in vitro* de las referencias mencionadas.

Entorno

El citocromo P450C19 (CYP2C19) es un miembro de la superfamilia del citocromo P450. CYP2C19 participa en el metabolismo de fármacos como clopidogrel, anticonvulsivantes, diazepam, omeprazol, antidepresivos tricíclicos e inhibidores de la bomba de protones. El gen CYP2C19 humano (entrada de Genbank NT_030059) se compone de nueve exones y reside en el cromosoma 10q24. El gen CYP2C19 es altamente polimórfico con 28 alelos variantes (<http://www.cypalleles.ki.se/>). Muchos alelos de CYP2C19 codifican enzimas con una actividad nula, reducida o incrementada en comparación con la enzima de tipo silvestre. Dependiendo de la combinación de alelos en un individuo, los fenotipos metabolizantes de fármacos asociados con la enzima CYP2C19 pueden variar.

Los fenotipos metabolizantes de fármacos se pueden clasificar según el nivel del metabolismo: metabolizadores pobres (PM), metabolizadores intermedios (IM), metabolizadores extensivos (EM) y metabolizadores ultrarrápidos (UM). El fenotipo de un individuo depende de la combinación de alelos que tenga. Los metabolizadores PM tienen poca (reducida) o ninguna (no funcional) actividad enzimática de CYP2C19 y tienen dos alelos no funcionales. Los EM extensivos están definidos por su actividad enzimática normal, y son homocigotos, de tipo silvestre con respecto al alelo funcional *1. Los UM tienen una mayor actividad enzimática, como resultado de dos alelos de ganancia de función o un alelo funcional y un alelo de ganancia de función (Hicks, et al. 2013). El alelo *17 es el único alelo UM identificado hasta el momento para CYP2C19 (Sim, et al. 2006). Los IM tienen una actividad enzimática intermedia, como resultado de un alelo funcional y un alelo de pérdida de función (Hicks, et al. 2013). Los fenotipos anticipados para las diversas combinaciones de alelos CYP2C19 detectados por el xTAG CYP2C19 Kit v3 se muestran en la Tabla 2. Sin embargo, la consecuencia de un alelo *17 con un alelo de pérdida de función puede estar en entre los fenotipos EM e IM y es posible que dependa del sustrato (Scott, et al. 2012).

Tabla 2. **Fenotipos metabolizantes de fármacos de varias combinaciones de alelos CYP2C19 detectados por xTAG CYP2C19 Kit v3**

	*1	*2	*3	*4	*5	*6	*7	*8	*9	*10	*17
*1	EM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	IM	UM
*2	IM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	IM-EM
*3	IM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	IM-EM
*4	IM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	IM-EM
*5	IM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	IM-EM
*6	IM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	IM-EM
*7	IM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	IM-EM
*8	IM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	IM-EM
*9	IM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	IM-EM
*10	IM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	PM	IM-EM
*17	UM	IM-EM	IM-EM	IM-EM	IM-EM	IM-EM	IM-EM	IM-EM	IM-EM	IM-EM	UM

Nota: En la tabla anterior, el fenotipo se basa en los datos *in vitro* y, en algunos casos, en un volumen limitado de datos *in vivo*.

Las variaciones de la actividad enzimática de CYP2C19 pueden tener diferentes implicaciones clínicas. Los PM presentan una actividad enzimática reducida y pueden requerir tratamiento terapéutico alternativo o un ajuste de la dosis estándar a fin de reducir el riesgo de efectos adversos a causa de la concentración, toxicidad por sobredosis de fármaco o efectos terapéuticos prolongados debido a una depuración deficiente del fármaco. Si se administra un fármaco como un profármaco que requiere activación por la enzima CYP2C19, los PM pueden experimentar un efecto terapéutico inadecuado en el caso de que el fármaco no alcance la dosis terapéutica. Los EM en general tienen una actividad enzimática normal y pueden administrar fármacos metabolizados por CYP2C19 con una dosis estándar. Los EM heterocigóticos para un alelo variante con un alelo no funcional pueden experimentar una ligera reducción en la actividad enzimática. En cuanto a los UM, el rápido metabolismo del fármaco puede dar lugar a una falta de eficacia del fármaco y a un fracaso terapéutico, ya que el medicamento puede no alcanzar la concentración de suero terapéutico. En caso de profármacos como clopidogrel, los UM pueden tener el riesgo de estar muy expuestos a metabolitos de fármacos activos, lo que puede generar reacciones adversas a los fármacos (Xie, et al. 2011).

El efecto fisiológico del fenotipo CYP2C19 depende el perfil clínico individual. La coadministración de fármacos metabolizados por la CYP2C19, u otros fármacos que pueden actuar como inductores o inhibidores de CYP2C19, también afecta al fenotipo metabolizador de fármacos. Otros factores incluyen la edad del individuo, el peso, el sexo, la función renal y hepática, el estado de la enfermedad y factores de estilo de vida como el tabaquismo, la dieta y el consumo de alcohol (Meyer 2000). Es importante interpretar los resultados de las pruebas de genotipado teniendo en cuenta el perfil de la persona de que se trate.

La frecuencia de variantes de CYP2C19 revela importantes diferencias étnicas. El alelo de tipo silvestre (WT), CYP2C19*1, es la variante más común. El alelo CYP2C19*2 es común en la población asiática con una frecuencia alélica del 30% (Xie, et al. 2001). CYP2C19*2 también se encuentra con una frecuencia importante en las poblaciones caucásica y africana, con una frecuencia de 14,7% y 17,3%, respectivamente (Xie, et al. 2001). El alelo CYP2C19*3 se identifica raramente en la población caucásica. En comparación con los alelos CYP2C19*2 y CYP2C19*3, el alelo CYP2C19*17 es más común en la población caucásica, con una frecuencia alélica del 18% en la población sueca, y del 25% en las poblaciones alemana o polaca (Sim, et al. 2006; Kurzawsku, et al. 2006; Justenhoven, et al. 2009). La frecuencia alélica del alelo CYP2C19*17 es solo del 4% en la población china, mientras que en la población japonesa se registra una frecuencia del 1,8% (Sim, et al. 2006; Sugimoto, et al. 2008). Aunque se han identificado los alelos CYP2C19*4 a *10 y se han estudiado con bastante exhaustividad, hay escasos datos acerca de su frecuencia alélica en comparación con los alelos CYP2C19*2, *3 y *17. Las frecuencias alélicas de cada uno de los genes CYP2C19 detectados por xTAG CYP2C19 Kit v3 se muestran en la Tabla 3.

Tabla 3. **Frecuencias de los alelos CYP2C19*2, *3,*4, *5, *6, *7, *8, *9, *10 y *17 en diferentes grupos étnicos**

Alelo	Frecuencia alélica (%) ¹				
	Pob. caucásica	Pob. africana	Pob. asiática	Pob. china	Pob. japonesa
CYP2C19*2	14.7	17.3	~30.0	30	34.5
CYP2C19*3	0.04	0.4	5.1	5	9
CYP2C19*4	0.6	N/A ²	N/A ²	N/A ²	N/A ²
CYP2C19*5	N/A ²	N/A ²	0.2	N/A ²	N/A ²
CYP2C19*6	N/A ²	N/A ²	N/A ²	N/A ²	N/A ²
CYP2C19*7	N/A ²	N/A ²	N/A ²	N/A ²	N/A ²
CYP2C19*8	0.3	N/A ²	N/A ²	N/A ²	N/A ²
CYP2C19*9	N/A ²	17	N/A ²	N/A ²	N/A ²
CYP2C19*10	N/A ²	N/A ²	N/A ²	N/A ²	N/A ²
CYP2C19*17	18 - 25	18	1.3 - 4	N/A ²	N/A ²

¹ Datos extraídos de Xie, et al. 2001, Sim, et al. 2006, Ragia, et al. 2009, Kurzawski, et al. 2006, Justenhoven, et al. 2009, Sugimoto, et al. 2008.

² La frecuencia alélica no se ha analizado ni informado íntegramente.

La frecuencia del fenotipo PM CYP2C19 se ha estudiado en varios grupos étnicos diferentes. La población asiática registra la máxima frecuencia de PM, que oscila entre el 12% y el 23%. La frecuencia de los PM es similar en las poblaciones caucásica y africana, que oscila entre el 1% y el 6%, y el 1% y el 7,5%, respectivamente (Bertilsson, et al. 1995; Goldstein, et al. 1999; Xie, et al. 1999b; Xie, et al. 1999a). Los alelos CYP2C19*2 y CYP2C19*3 representan en conjunto en torno al 99% y el 87% de los PM de las poblaciones asiática y caucásica, respectivamente.

Reactivos

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

Reactivos del equipo y condiciones de almacenamiento

Tabla 4. **Reactivos del equipo y condiciones de almacenamiento**

Reactivos	Volumen para 48 pruebas	Condiciones de almacenamiento
xTAG [®] CYP2C19 Kit v3 PCR Primer Mix (Mezcla de iniciadores PCR xTAG [®] CYP2C19 Kit v3)	144 µl x 1 ampolla	Entre -25°C y -15°C tras la recepción.
xTAG [®] CYP2C19 Kit v3 ASPE Primer Mix (Mezcla de iniciadores ASPE xTAG [®] CYP2C19 Kit v3)	204 µl x 1 ampolla	
xTAG [®] Shrimp Alkaline Phosphatase (Fosfatasa alcalina de gamba xTAG [®])	68 µl x 1 ampolla	
xTAG [®] Exonuclease I (Exonucleasa I xTAG [®])	28 µl x 1 ampolla	
xTAG [®] Hot Start Taq (Taq de arranque en caliente xTAG [®])	50 µl x 2 ampollas	
xTAG [®] CYP2C19 Kit v3 Bead Mix (Mezcla de microesferas xTAG [®] CYP2C19 Kit v3)	960 µl x 1 ampolla	Entre -25°C y -15°C protegida de la luz tras la recepción. Entre 2°C y 8°C protegida de la luz tras el primer uso.
xTAG [®] 10x HS Taq Polymerase Buffer (Tampón de polimerasa HS Taq xTAG [®] 10x)	300 µl x 2 ampollas	Entre -25°C y -15°C tras la recepción. Entre 2°C y 8°C tras el primer uso.
xTAG [®] Reporter Buffer (Tampón informante para xTAG [®])	12,0 ml x 1 ampolla	Entre -25°C y -15°C tras la recepción. Entre 2°C y 8°C tras el primer uso.
xTAG [®] Streptavidin, R-Phycoerythrin Conjugate G75 (Estreptavidina, conjugado de R-ficoeritrina G75 xTAGxTAG [®])	188 µl x 1 ampolla	Entre 2°C y 8°C protegida de la luz. No congelar.

Para obtener una copia de la Ficha técnica de seguridad (SDS) póngase en contacto con el Soporte Técnico de Luminex.

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 lotes de equipo se indican en la etiqueta del equipo.

Nota: La repetición de ciclos de congelación (hasta 6) no pondrá en peligro la integridad del equipo de análisis xTAG CYP2C19 Kit v3.

Equipo y consumibles requeridos pero no incluidos

La lista siguiente enumera los equipos y los consumibles que se requieren para realizar una prueba con el equipo de análisis xTAG CYP2C19 Kit v3.

Equipo

- Sistemas Luminex[®] 100/200[™] o MAGPIX[®] (con software xPONENT[®], calibradores, verificadores y controles incluidos)
- Minicentrífuga (InterScience, n.º de cat. C-1301) o equivalente
- Pipeta multicanal (1-10 µl, 5-50 µl, 50-200 µl)
- Pipetas (1-10 µL, 20-200 µL, 100-1000 µL)
- Soportes para tubos de minicentrífuga de 1,5 ml y 0,5 ml
- Soportes para tubos de pared delgada de 0,2 ml para PCR
- Baño de ultrasonidos (tina de ultrasonidos, Cole-Parmer[®] n.º de cat. A-08859-00) o equivalente
- Termociclador para tubos de pared delgada de 0,2 ml para PCR y placas de 96 pozos (velocidad de aceleración mínima de 1,5 °C/seg)
- Marcos de congelamiento para tubos de microcentrifuga de 1,5 ml
- Vórtice

Consumibles

- Tubos de polipropileno de pared delgada de 0,2 ml para PCR (adecuados para termociclador)
- Tubos de minicentrífuga de polipropileno (0,5 o 1,5 ml)
- Placas de paredes delgadas de policarbonato de 96 pozos Costar[®] Thermowell[®] (n.º de catálogo de Corning 6509) o equivalente
- Tubos de vidrio borosilicato o de polipropileno (5 o 10 ml)
- Tubos de polipropileno Falcon[®] de 50 ml o equivalentes
- Microseal[®] para tapar la placa de 96 pozos
- Parafilm[®] M
- Aerosol resistente o pipetas de desplazamiento positivo desechables
- Cubetas de depósito
- Guantes sin talco desechables
- Agua destilada sin DNasa ni RNasa

Software para análisis de datos

El software para análisis de datos xTAG CYP2C19 (TDAS CYP2C19) aplica algoritmos a valores de intensidad de fluorescencia media (MFI) capturados en el archivo de salida Luminex para generar dianas de genotipado para cada análisis de muestra durante el ensayo.

Nota: El software TDAS CYP2C19 viene incluido en el CD del xTAG CYP2C19 Kit v3 junto con la lista de archivos que se enumeran a continuación. Asegúrese de que la versión del TDAS CYP2C19 especificada en la caja 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 xTAG CYP2C19 Kit v3

- Folleto del equipo xTAG CYP2C19 (este documento)
- Archivo ejecutable para la instalación del TDAS CYP2C19
- Protocolos de adquisición de datos del software xPONENT
- Archivos de salida de ejemplo
- Historial de versiones del TDAS CYP2C19
- *Manual del usuario del TDAS CYP2C19*

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. 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 y medidas de vertidos accidentales, consulte la Hoja de Datos de Seguridad (SDS).
2. Sólo para uso profesional en diagnóstico in vitro. Para uso exclusivo de profesionales instruidos en el proceso de análisis xTAG CYP2C19 Kit v3. Para uso exclusivo de laboratorios clínicos.
3. No heparinize, por tanto, tubos de recogida de sangre con este equipo. La heparina inhibe la PCR.

4. 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.
5. 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 del equipo entre distintos lotes del equipo. Los lotes del equipo se indican en la etiqueta del mismo. Deseche los reactivos sobrantes cuando se haya agotado el kit.
6. Tenga cuidado al manipular materiales de origen humano. Se recomienda el uso de protección de barrera adecuada contra los patógenos transmitidos por la sangre potencialmente asociados con el ADN purificado durante todas las etapas de este procedimiento. Se deben llevar guantes y protección para los ojos en todo momento. Según el manual "Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories" (Bioseguridad en laboratorios microbiológicos y biomédicos) (BMBL) 4ª edición (<http://www.cdc.gov/od/ohs/biosfty/biosfty.htm>): El nivel de bioseguridad 2 es apropiado al trabajar con sangre humana, líquidos corporales, tejidos o líneas celulares primarias humanas donde se pueda desconocer la presencia de un agente infeccioso. 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.
7. 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 CYP2C19.

Limitaciones de los análisis

1. Esta prueba ha sido validada para su uso exclusivamente con sangre recogida en anticoagulante EDTA y citrato. Los análisis de otros tipos de muestras pueden dar lugar a resultados incorrectos o a la ausencia de resultados.
2. La obtención de resultados fiables depende del uso de procedimientos adecuados de recogida, transporte, almacenamiento y procesamiento de muestras.
3. Este producto solo identificará los alelos listados en la tabla 1 de este folleto del xTAG CYP2C19 Kit v3. Los demás alelos CYP2C19, que sean raros o desconocidos en el momento del lanzamiento de este producto, no serán identificados por este producto. Estos otros alelos pueden generar un resultado de diana *1, un resultado "No Call" (Sin dianas) o una diana de un alelo genéticamente relacionado, incluido en este equipo. Una diana *1 o la diana de un alelo genéticamente relacionado puede resultar en una predicción de fenotipo diferente de la predicción de fenotipo que se realizaría si se conociera la presencia del alelo raro. Sin embargo, como con todas las predicciones de fenotipo para el análisis, la genética del locus 2C19 es solo una parte de la predicción de fenotipo. El fenotipo 2C19 también se ve afectado por los medicamentos concomitantes, la edad, el tamaño corporal, el sexo, la función renal y hepática, el estado de la enfermedad y factores de estilo de vida.
4. En raras ocasiones, una muestra única puede tener más de dos mutaciones CYP2C19 (por ejemplo, tri-alélico). En estos casos, TDAS CYP2C19 seleccionará por defecto el valor de "No Call" (Sin dianas) en la columna de genotipo, pero mostrará las dianas encontradas de cada variante.
5. 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 generadas.

6. Existen variantes adicionales en los genes analizados por este equipo. Así, la ausencia de variantes detectadas por este equipo no garantiza que no haya otras variantes de genes en las muestras analizadas.
7. El propósito de esta prueba no es predecir la respuesta o falta de respuesta al fármaco. Los resultados obtenidos con el ensayo xTAG CYP2C19 Kit v3 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.

Configuración del instrumento

Antes de utilizar los sistemas Luminex 100/200 o MAGPIX para el paso de adquisición de datos, siga los procedimientos de preparación y calibración descritos en el manual del usuario del sistema. Este manual también incluye procedimientos de instalación y requisitos especiales, principios de operación, características y especificaciones de funcionamiento, instrucciones de operación, procedimientos de calibración, incluyendo materiales y / o equipos para su uso, precauciones y limitaciones operativas, peligros e información de servicio y mantenimiento.

Limpeza de la sonda para el sistema MAGPIX

Luminex recomienda la limpieza de rutina de la sonda para evitar su obstrucción. Esta sección proporciona instrucciones paso a paso de dos rutinas de limpieza de la sonda. Para información de mantenimiento adicional, consulte el *Manual del usuario del software xPONENT 4.2 para MAGPIX*.

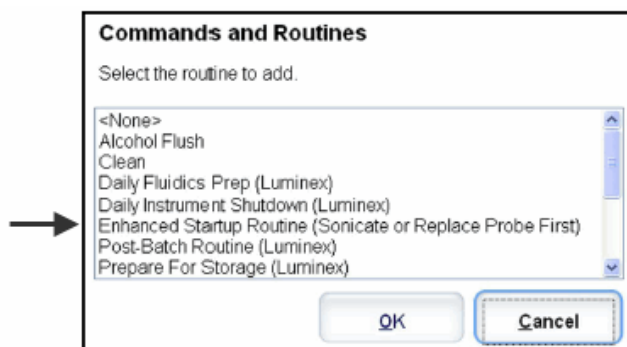
Rutina de inicio mejorada

Luminex recomienda ejecutar la rutina de inicio mejorada al encender el equipo y antes de adquirir los datos.

1. Abra el panel lateral y desenrosque los tubos conectados a la sonda.
2. Retire la sonda con precaución, de manera que no se doble.
3. Someta la sonda a ultrasonidos de 5 a 10 minutos.
4. Reemplace la sonda.
5. Ajuste la altura de la sonda para cada espacio de la plataforma XY (es decir, la zona de la base, la zona del calibrador y la zona del depósito).
6. En el depósito RA1, añada agua destilada sin DNasa ni RNasa.
7. En el depósito RB1, añada un 70% de etanol.
8. En el depósito RC1, añada un 0,1 N de hidróxido de sodio.
9. No añada ningún reactivo al depósito RD1.



10. Seleccione **Enhanced Startup Routine** (Rutina de inicio mejorada) en el menú desplegable de la pestaña **Commands & Routines** (Comandos y rutinas) y, a continuación, haga clic en **OK** (Aceptar).



11. Seleccione **Run** (Ejecutar) en la esquina inferior derecha.

Rutina posterior al lote

Luminex recomienda ejecutar la siguiente rutina después de la finalización de la adquisición de datos.

1. En el depósito RA1, añada agua destilada sin DNasa ni RNasa.
2. En el depósito RB1, añada un 70% de etanol.
3. En el depósito RC1, añada 0,1 N de hidróxido de sodio.
4. No añada ningún reactivo al depósito RD1.
5. En la pestaña **Maintenance** (Mantenimiento) seleccione **Post-Batch Routine** (Rutina posterior al lote) en el menú desplegable de la pestaña **Cmnds & Routines** (Comandos y rutinas) y, a continuación, haga clic en **OK** (Aceptar).
6. Seleccione **Run** (Ejecutar) en la esquina inferior derecha.

Ajuste de la altura de la sonda de muestreo en el sistema MAGPIX

Las siguientes instrucciones permitirán al usuario ajustar la altura de la sonda de muestreo para asegurarse de que gotee lo suficiente en el pozo como para adquirir una muestra. **Es fundamental ajustar y guardar los ajustes de altura de la sonda para una calibración y adquisición de muestra exitosa.** Los problemas con la sonda de muestreo pueden desembocar en fugas de fluido e inhibir la adquisición de muestras, conduciendo a un rendimiento del ensayo inferior al óptimo.

1. Controle que no haya líquido en los pozos ni depósitos antes de ajustar la altura de la sonda de muestreo.



- En la página **Home** (Inicio), haga clic en **Probe and Heater** (Sonda y calentador) bajo **Daily Activities** (Actividades diarias). Se abre la pestaña **Probe and Heater** (Sonda y calentador).

Figura 2. Pestaña **Probe and Heater** (Sonda y calentador)



- Utilice el pozo **D6** (es el centro de una placa estándar de 96 pozos) para las instrucciones de ajuste de la sonda de muestreo descritas a continuación.
- Seleccione "**Current 96-well plate** (Placa de 96 pozos actual)" en el menú desplegable **Plate Name** (Nombre de la placa). Para una placa de 96 pozos cónica, como la **Costar** o equivalente, utilice una esfera para alineamiento.
- Asegúrese de que en la imagen de la placa esté seleccionada la ubicación del pozo. Un punto verde marca el pozo seleccionado.
- Haga clic en **Eject** (Expulsar) para expulsar el soporte de la placa.
- Coloque el bloque reactivo de fuera de la placa en el soporte de la placa. Asegúrese de que esté bien fijo de modo que encaje en su sitio.
- Coloque un pozo de tiras (suministrado con el equipo de calibración y verificación de funcionamiento) en el bloque reactivo fuera de la placa.
- En la sección **Strip Wells** (Pozos de tiras), haga clic en **SD1**.
- Compruebe que el depósito esté vacío.
- En la sección **Reservoir** (Depósito), haga clic en el pozo **RD1**.



12. Verifique que la placa no esté curvada. Las placas deformadas pueden provocar un ajuste incorrecto de la altura de la sonda.
13. Coloque la placa en el soporte de la misma con el pozo A1 situado tal como se indica en dicho soporte.
14. Haga clic en **Retract** (Retraer) para retraer el soporte de la placa.
15. Introduzca un nombre para la placa en el cuadro **Plate Name** (Nombre de la placa).
16. Haga clic en **Auto Adjust Height** (Ajustar la altura automáticamente). La sonda se ajusta de manera automática a la ubicación que seleccionó.
17. Haga clic en **Eject** (Expulsar) para expulsar el soporte de la placa.

Instrucciones de instalación de protocolos de adquisición de datos

Asegúrese de tener instalados en el ordenador los protocolos adecuados que gestionan el sistema Luminex. Se requiere el protocolo específico de ensayo proporcionado en el CD xTAG CYP2C19 Kit v3 para una adquisición de datos adecuada.

Si el protocolo ya está instalado, salte los pasos siguientes.

1. Acceda al ordenador que controla el sistema Luminex en el cual se realizará el análisis.
2. Inserte el CD xTAG CYP2C19 Kit v3 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.
 - Para el sistema Luminex 100/200 con xPONENT version 3.1, seleccione el archivo de protocolo **xTAG CYP2C19 v3 (LX)[1].lxt** y, a continuación, haga clic en **Open** (Abrir).
 - Para el sistema MAGPIX con xPONENT version 4.2, seleccione el archivo de protocolo **xTAG CYP2C19 v3 (MP)[1].lxt** y, a continuación, haga clic en **Open** (Abrir).
7. Extraiga el CD.

Procedimientos recomendados de control de calidad

Controles negativos

Los controles negativos para el paso de amplificación/detección están compuestos de agua destilada sin DNasa ni RNasa y deben ser incluidos en cada análisis xTAG CYP2C19 Kit v3. En cada análisis, la última muestra **debe** ser un control negativo. Además, se pueden incluir más controles negativos. El software de análisis de datos considerará como control negativo cualquier ID de muestra que contenga la palabra "Negative" (Negativo) o "Blank" (En blanco). TDAS CYP2C19 analizará **todas** las muestras de control negativo incluidas en un análisis. Si **algún** control negativo no cumple las especificaciones del TDAS, entonces falla el bloque completo (véase [Recomendaciones de repetición de análisis posteriores a la](#)

adquisición de datos para consultar las recomendaciones para la repetición de análisis por errores en los controles negativos). De manera predeterminada, TDAS CYP2C19 utiliza el último control negativo del análisis como el control negativo principal para el análisis de los datos.

Nota: Al introducir los ID de muestra de los controles negativos (véase *Preparación del instrumento y adquisición de datos*), asegúrese de que los ID de **todas** las muestras de control negativo incluyan las palabras clave "Negative" (Negativo) o "Blank" (En blanco); por ejemplo, "Blank-1" (En blanco-1), "Blank-2" (En blanco-2), etc. TDAS CYP2C19 solo reconocerá como control negativo las muestras etiquetadas con estas palabras clave. Si ninguna de estas dos palabras aparece en ninguna muestra, TDAS CYP2C19 considerará automáticamente la última muestra como control negativo.

Controles positivos

A efectos de pruebas de control de calidad se recomiendan las muestras clínicas caracterizadas anteriormente o los controles 2C19 disponibles comercialmente que se hayan preparado, extraído y analizado de la misma forma como muestras desconocidas, que además se pueden incluir como controles positivos.

Todos los requisitos y pruebas de control de calidad deben realizarse en conformidad con las regulaciones o requisitos locales, estatales y/o federales.

Preparación de muestras

El ADN genómico purificado extraído de sangre entera (EDTA o citrato) debe producir las siguientes relaciones UV 260/280: $\geq 1,3$.

Existen multitud de equipos de extracción de ADN disponibles comercialmente que proporcionan un ADN genómico de alta calidad compatible con el equipo de análisis xTAG CYP2C19 Kit v3. 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) (6,0 ng a 900 ng). 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 15 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°C y 8°C hasta el momento de usarlo (hasta 2 semanas). Para el almacenamiento a largo plazo, se recomienda almacenar el ADN extraído a -80°C.

Nota: Evalúe minuciosamente los métodos de extracción que desee utilizar con el equipo xTAG CYP2C19 Kit v3 antes de utilizar los resultados con fines de diagnóstico.

Procedimiento de análisis

Para garantizar un rendimiento óptimo del análisis, siga detenidamente las instrucciones de abajo. Cualquier desviación de los ensayos descritos puede ocasionar el fallo del ensayo o dar lugar a resultados erróneos.

Procedimientos recomendados para prevenir la contaminación

Los ensayos de genotipado basados en la PCR pueden amplificar incluso cantidades infinitesimales de ADN, por lo tanto las prácticas de laboratorio adecuadas son fundamentales para evitar las amplificaciones positivas falsas debido a la presencia de contaminantes. La principal fuente de contaminación es la respuesta de amplicones generados durante las reacciones de la PCR anteriores; sin embargo, los contaminantes también pueden incluir, aunque no taxativamente, materiales del medio ambiente (por ejemplo, aerosoles del pipeteado), y ADN genómico humano (por ejemplo, de la piel). La presencia de los contaminantes en el equipo del laboratorio, en reactivos y muestras de prueba puede dar lugar a resultados inexactos y fallo del análisis. Para un rendimiento óptimo del análisis, Luminex recomienda las siguientes buenas prácticas de laboratorio.

Áreas designadas, equipo, consumibles y suministros

Los procesos de la PCR anteriores se refieren a los pasos del análisis/equipo (que incluye la preparación de muestras) la cual se produce antes de la generación de los amplicones de la PCR. No se deben permitir los productos de la PCR en esta área. Los procesos posteriores de la PCR incluyen aquellos implicados en la generación y análisis de los productos de la PCR (es decir, amplificación y detección).

- Asigne áreas separadas físicamente para las actividades de extracción de la muestra, la PCR anterior y PCR posterior.
- Dedique los conjuntos de equipo (por ejemplo, pipetas, vórtice, ultrasonidos, centrífuga), consumibles (por ejemplo, tubos de PCR, puntas para pipetas resistentes a los aerosoles, bloques de refrigeración) y suministros (por ejemplo, agua sin DNasa ni RNasa) para los procesos de extracción de muestra, PCR anteriores y posteriores. No comparta el equipo, consumibles y suministros entre estos procesos.
- Separe el almacenamiento de los consumibles y reactivos de la PCR anteriores y posteriores.

Limpie el equipo de protección personal

- Se deben usar guantes limpios y sin polvo durante la preparación de muestra, actividades de la PCR anterior y posterior.
- Cambie los guantes tantas veces como sea necesario, especialmente si se sospecha la presencia de contaminación.
- Use una bata de laboratorio limpia (que no se haya usado anteriormente mientras se manipulan las muestras de la PCR amplificadas u otros procesos de preparación de muestra).

Rutina de descontaminación

- Las superficies de trabajo como las áreas de la PCR anteriores y posteriores, bancos de laboratorio, equipo y cualquier otra área de alto riesgo se deben limpiar periódicamente y antes de cada configuración de la PCR. **Es importante usar al menos uno de los siguientes métodos de descontaminación:**
 - 30 minutos de irradiación UV (en 254 nm) o,
 - Dejar reposar la solución de lejía al 10% recién diluido sobre las superficies durante al menos 15 minutos. Enjuague con agua y luego séquelas.

- Las áreas de alto riesgo que no suelen estar libres de ADN incluyen, aunque no taxativamente, manillas de las puertas del congelador/refrigerador, sillas, termocicladores, espacio del banco utilizado para procesar el ADN amplificado y el piso.
- La temperatura, luz y oxígeno catalizan la descomposición de la lejía, reduciendo su potencia. Almacene la solución de lejía diluida en un recipiente plástico opaco, limpio y lejos de la luz. Realice diluciones nuevas periódicamente (~ cada 1 a 2 semanas).
- Si se sospecha de contaminación, vuelva a limpiar las áreas de trabajo y el equipo, y utilice reactivos nuevos.

Precauciones recomendadas

- Conserve los reactivos y componentes tapados siempre que sea posible.
- Sea precavido cuando abra y cierre todos los tubos de muestra y las placas de reacción para evitar la salpicadura de los reactivos y muestras.
- Use desplazamiento positivo o puntas para pipetas resistentes a los aerosoles para evitar la formación de aerosol.
- Agite y centrifugue los tubos brevemente (de 2 a 5 segundos) antes de abrir para asegurarse de la homogeneidad y para que los reactivos se asienten en el fondo.
- Minimice el tráfico entre las áreas de la PCR anteriores y posteriores. Tenga todos los reactivos necesarios preparados en un área de trabajo descontaminada antes de la configuración de análisis. Los reactivos como Taq de arranque en caliente xTAG se pueden mantener en un bloque de refrigeración durante la preparación del análisis.

PCR multiplex

El siguiente procedimiento es para una única reacción. Puede modificarse para analizar hasta 48 muestras multiplicando los volúmenes por el número de muestras analizadas. Al calcular los volúmenes de la mezcla principal para múltiples reacciones, se recomienda incluir como mínimo un 10 % más de muestra para compensar la variabilidad de pipeteado.

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

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

1. Siga las indicaciones descritas en el apartado Rutina de descontaminación de la sección [Procedimientos recomendados para prevenir la contaminación](#) para limpiar el área previa a la PCR.
2. En el área limpia previa a la PCR debe tener a mano lo siguiente: agua sin DNasa ni RNasa, la xTAG CYP2C19 Kit v3 PCR Primer Mix (mezcla de iniciadores PCR xTAG CYP2C19 Kit v3), el xTAG 10x HS Taq Polymerase Buffer (tampón de polimerasa HS Taq xTAG 10x) y el xTAG Hot Start Taq (Taq de arranque en caliente xTAG) (en un bloque de refrigeración limpio). **Dedique un vial de xTAG 10x HS Taq Polymerase Buffer (tampón de polimerasa HS Taq xTAG 10x) y de xTAG Hot Start Taq (Taq de arranque en caliente xTAG) para la configuración de PCR multiplex.**



- Descongele y ponga a temperatura ambiente los tubos de xTAG CYP2C19 Kit v3 PCR Primer Mix (mezcla de iniciadores PCR xTAG CYP2C19 Kit v3) y el xTAG 10x HS Taq Polymerase Buffer (tampón de polimerasa HS Taq xTAG 10x). Agite los tubos durante 2-5 segundos para garantizar la homogeneidad. Centrifugue de 2 a 5 segundos para que los reactivos se depositen en el fondo de los tubos.

Nota: 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.

- Etiquete un número adecuado de tubos de pared delgada de PCR de 0,2 ml. Tape los tubos hasta que esté listo para añadir la mezcla maestra de PCR.
- Etiquete un tubo de microcentrifuga de 1,5 ml "MM" y prepare una mezcla maestra como se describe en la tabla siguiente: Abra los tubos con cuidado para no salpicar.

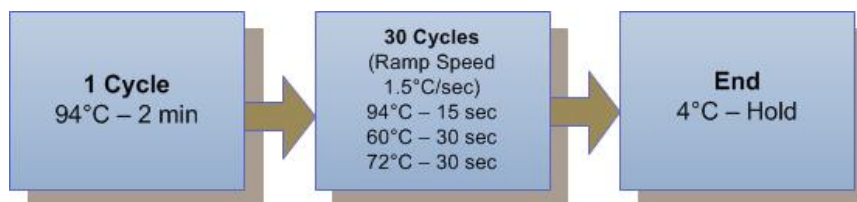
PCR Master Mix Reagent (Reactivo de mezcla maestra de PCR)	1 reacción
DNase- and RNase-free water (Agua sin DNasa ni RNasa)	5,75 µl
xTAG [®] 10x HS Taq Polymerase Buffer (Tampón de polimerasa HS Taq xTAG [®] 10x)	3,00 µl
xTAG CYP2C19 Kit v3 PCR Primer Mix (mezcla de iniciadores PCR xTAG CYP2C19 Kit v3)	3,00 µl
xTAG [®] Hot Start Taq (Taq de arranque en caliente xTAG [®])	0,25 µl
Volumen total	12,0 µl

- Agite la PCR Master Mix (mezcla maestra de PCR) de 2 a 5 segundos para garantizar la homogeneidad. Centrifugue de 2 a 5 segundos para que los reactivos se depositen en el fondo del tubo.
- Añada una parte alícuota de 12 µl de la PCR Master Mix (mezcla maestra de PCR) a cada tubo de PCR de pared delgada de 0,2 ml etiquetados previamente. Tape los tubos inmediatamente hasta que esté listo para añadir la muestra.
- Para controles negativos de PCR, añada a los tubos de PCR 3 µl de agua sin DNasa ni RNasa. Tape los tubos inmediatamente.
- Para cada muestra, añada 3 µL de plantilla de ADN a los tubos de PCR. Tape los tubos inmediatamente.
- Agite los tubos durante 2-5 segundos para garantizar la homogeneidad. Centrifugue de 2 a 5 segundos para que los reactivos se depositen en el fondo de los tubos.



11. Transfiera los tubos al termociclador y realice ciclos bajo las siguientes condiciones:

Nota: La temperatura del termociclador se debe establecer como temperatura del BLOQUE con la tapa térmica activada para evitar la evaporación (cambios de volumen) en el paso de PCR.



12. Almacene los tubos de PCR a una temperatura comprendida entre 2°C y 8°C hasta que estén listos para usarlos (24 horas máximo).

Tratamiento de amplicones

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

1. Siga las indicaciones descritas en el apartado Rutina de descontaminación de la sección [Procedimientos recomendados para prevenir la contaminación](#) para limpiar el área posterior a la PCR.
2. En el área limpia posterior a la PCR debe tener a mano lo siguiente: xTAG Shrimp Alkaline Phosphatase (Fosfatasa alcalina de gamba xTAG) y xTAG Exonuclease I (exonucleasa I xTAG). Agite los tubos de PCR de 2 a 5 segundos para garantizar la homogeneidad. Centrifugue de 2 a 5 segundos para que los reactivos se depositen en el fondo de los tubos.

Nota: No agite la enzima madre. Mézclela invirtiendo y agitando el tubo. Centrifugue de 2 a 5 segundos para que los reactivos se depositen en el fondo del tubo.

3. En un tubo de microcentrifuga de 1,5 ml, realice la mezcla de enzimas como se describe en la siguiente tabla: Abra los tubos con cuidado para no salpicar.

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

4. Agite la mezcla de enzimas durante 2-5 segundos para garantizar la homogeneidad. Centrifugue de 2 a 5 segundos para que los reactivos se depositen en el fondo del tubo.
5. Agite los tubos de PCR preparados durante la etapa PCR Multiplex de 2 a 5 segundos para garantizar la homogeneidad. Centrifugue de 2 a 5 segundos para que los reactivos se depositen en el fondo de los tubos.
6. Añada 1,5 µl de la mezcla de enzimas en cada uno de los tubos de PCR que contienen 15 µl de reacción de PCR. Tape los tubos inmediatamente después de añadir la mezcla de enzimas.



7. Agite los tubos durante 2-5 segundos para garantizar la homogeneidad. **Agitar adecuadamente en este paso es fundamental para el éxito del análisis.**
8. Centrifugue de 2 a 5 segundos para que los reactivos se depositen en el fondo de los tubos. **Extreme las precauciones para asegurarse de que los pasos de centrifugación NO duren más de los 2-5 segundos recomendados anteriormente.**
9. Transfiera los tubos al termociclador bajo las siguientes condiciones:

Nota: La temperatura del termociclador se debe establecer a temperatura del BLOQUE con la tapa térmica activada para evitar la evaporación (cambios de volumen).

Nota: Asegúrese de que el termociclador esté ajustado a la velocidad de aceleración máxima.



10. Almacene los tubos de PCR a 2°C - 8°C hasta que estén listos para usar (4 horas máximo).

ASPE multiplex

Nota: Realice el análisis ASPE multiplex en un área posterior a la PCR.

1. Siga las indicaciones descritas en el apartado Rutina de descontaminación de la sección [Procedimientos recomendados para prevenir la contaminación](#) para limpiar el área posterior a la PCR.
2. En el área limpia posterior a la PCR debe tener a mano lo siguiente: agua sin DNasa ni RNasa, la xTAG CYP2C19 Kit v3 ASPE Primer Mix (mezcla de iniciadores ASPE xTAG CYP2C19 Kit v3), el xTAG 10x HS Taq Polymerase Buffer (tampón de polimerasa HS Taq xTAG 10x) y el xTAG Hot Start Taq (Taq de arranque en caliente xTAG) (en un recipiente congelador limpio). **Dedique un vial de xTAG 10x HS Taq Polymerase Buffer (tampón de polimerasa HS Taq xTAG 10x) y de xTAG Hot Start Taq (Taq de arranque en caliente xTAG) para la configuración de ASPE multiplex.**
3. Agite los tubos durante 2-5 segundos para garantizar la homogeneidad. Centrifugue un poco la solución para que los reactivos se depositen en el fondo de los tubos.

Nota: 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.
4. Etiquete un número apropiado de tubos de pared delgada de 0,2 ml de manera que se correspondan con las etiquetas de los tupos de amplicones de PCR tratados.

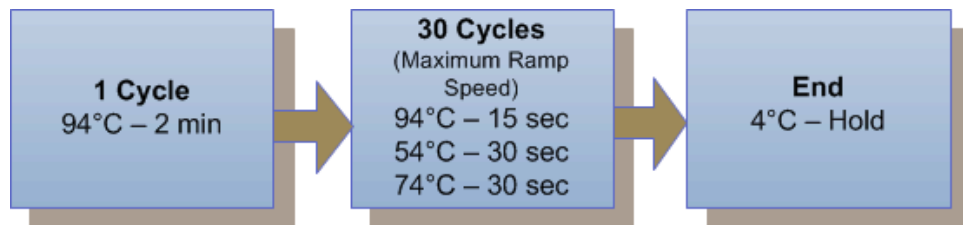


- Etiquete un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml como “AMM”. Prepare la mezcla ASPE maestra (AMM) como se describe en la tabla siguiente. Abra los tubos de los reactivos con cuidado para no salpicar.

ASPE Master Mix Reagent (Reactivo de mezcla ASPE maestra)	1 reacción
DNase- and RNase-free distilled water (Agua destilada sin DNasa ni RNasa)	7,40 µl
xTAG® 10x HS Taq Polymerase Buffer (Tampón de polimerasa HS Taq xTAG® 10x)	5,00 µl
xTAG CYP2C19 Kit v3 ASPE Primer Mix (Mezcla de iniciadores ASPE xTAG CYP2C19 Kit v3)	4,25 µl
xTAG® Hot Start Taq (Taq de arranque en caliente xTAG®)	0,35 µl
Volumen total	17,0 µl

- Agite la ASPE Master Mix (mezcla ASPE maestra) de dos a cinco segundos para garantizar la homogeneidad. Centrifugue de dos a cinco segundos para que los reactivos se depositen en el fondo del tubo.
- Añada una parte alícuota de 17 µl de la ASPE Master Mix (mezcla ASPE maestra) a los tubos de PCR de 0,2 ml etiquetados previamente. Tape los tubos de inmediato después de añadir la muestra ASPE maestra.
- Agite los tubos de amplicones de PCR tratados durante 2-5 segundos para garantizar la homogeneidad. Centrifugue de 2 a 5 segundos para que los reactivos se depositen en el fondo de los tubos.
- Añada 3 µL de amplicones de PCR tratados al tubo con la etiqueta correspondiente que contiene 17 µL de la mezcla ASPE maestra. Tape los tubos inmediatamente después de añadir la muestra.
- Agite los tubos durante 2-5 segundos para garantizar la homogeneidad. Centrifugue de 2 a 5 segundos para que los reactivos se depositen en el fondo de los tubos.
- Coloque los tubos en el termociclador y realice ciclos bajo las siguientes condiciones:

Nota: La temperatura del termociclador se debe establecer como temperatura del BLOQUE con la tapa térmica activada para evitar la evaporación (cambios de volumen).



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

Hibridación de microesferas

Nota: Antes de la reacción de hibridación, encienda el sistema Luminex y prepare el instrumento para leer las muestras siguiendo los

procedimientos descritos en [la configuración del instrumento](#) o en el Manual del usuario de Luminex adecuado.

Nota: xTAG CYP2C19 Kit v3 Bead Mix (La mezcla de microesferas xTAG CYP2C19 Kit v3) y xTAG[®] Streptavidin, R-Phycoerythrin Conjugate G75 (Estreptavidina xTAG[®], conjugado de R-ficoeritrina G75) son sensibles a la luz. Limite la exposición de estos reactivos a la luz en todo momento durante la configuración de la reacción de hibridación.

Nota: No congele la xTAG[®] Streptavidin, R-Phycoerythrin Conjugate G75 (Estreptavidina xTAG[®], conjugado de R-ficoeritrina G75).

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

1. Siga las indicaciones descritas en el apartado Rutina de descontaminación de la sección [Procedimientos recomendados para prevenir la contaminación](#) para limpiar el área posterior a la PCR.
2. Congele y ponga a temperatura ambiente en el área limpia posterior a la PCR: xTAG CYP2C19 Kit v3 Bead Mix (La mezcla de microesferas xTAG CYP2C19 Kit v3) y xTAG Reporter Buffer (tampón informante xTAG).
3. Corte el número apropiado de pozos de una placa de microtitulación de 96 pozos Costar (o en una placa equivalente) para la reacción de hibridación y etiquete los pozos de manera que se correspondan con las reacciones ASPE.
4. Agite el tubo de xTAG CYP2C19 Kit v3 Bead Mix (La mezcla de microesferas xTAG CYP2C19 Kit v3) durante 10 segundos y luego sométalo a ultrasonidos durante 10 segundos para dispersar las microesferas.
5. Repita el paso 4 una vez.
6. Con una pipeta añada 20 µl de la xTAG CYP2C19 Kit v3 Bead Mix (La mezcla de microesferas xTAG CYP2C19 Kit v3) en los pozos etiquetados.
7. Agite los tubos de las reacciones ASPE completadas y centrifugue brevemente para que los reactivos se depositen en el fondo del tubo.
8. Pipetee una parte alícuota de 1 µl de la reacción ASPE en el pozo correspondiente. **Suavemente pipetee hacia arriba y abajo al menos 5 veces para mezclar bien la muestra con la mezcla de microesferas.** Abra los tubos con cuidado para no salpicar los reactivos.
9. Tape los pozos correspondientes con microseal.



10. Coloque los tubos en un termociclador programado de la siguiente forma:

Nota: Asegúrese de que el termociclador esté ajustado a la velocidad de aceleración máxima.



Nota: Comience el paso 11 dentro de los 10 minutos siguientes a la finalización de la incubación de 30 minutos a 37°C descrita en el paso 10.

11. Antes de proceder al paso siguiente (alrededor de 10 minutos antes de la finalización de la incubación), prepare la xTAG[®] Streptavidin, R-Phycoerythrin Conjugate G75 (Estreptavidina xTAG[®], conjugado de R-ficoeritrina G75). Agite el tubo de xTAG[®] Streptavidin, R-Phycoerythrin Conjugate G75 (Estreptavidina xTAG[®], conjugado de R-ficoeritrina G75) y xTAG Reporter Buffer (tampón informante xTAG). Diluya la xTAG[®] Streptavidin, R-Phycoerythrin Conjugate G75 (Estreptavidina xTAG[®], conjugado de R-ficoeritrina G75) 75 veces con xTAG Reporter Buffer (tampón informante xTAG) en un tubo de vidrio borosilicato o tubo de polipropileno. Esto crea la solución informante. En la tabla siguiente se enumeran los volúmenes recomendados, con excedentes incluidos, para compensar el pipeteado de canales múltiples:

Número de reacciones	Volumen de tampón informante	Volumen de xTAG [®] Streptavidin, R-Phycoerythrin Conjugate G75 (Estreptavidina xTAG [®] , conjugado de R-ficoeritrina G75)
8	740 µl	10 µl
24	2220 µl	30 µl
48	4440 µl	60 µl

12. Cubra el tubo de la solución informante con Parafilm[®] M y agite durante 10 segundos para mezclar. **Protéjalo de la luz hasta que esté listo para usarlo.**

13. Transfiera la solución informante (preparada en el paso 12) a la cubeta de depósito y con una pipeta adecuada añada 75 µl de la solución informante a cada pozo.

Suavemente añada con una pipeta arriba y abajo al menos 2 veces para mezclar la solución informante con la muestra. Procure evitar la espuma o las salpicaduras a fin de prevenir la contaminación cruzada entre los pozos.

14. Incube la placa a temperatura ambiente durante 15 minutos. Para proteger la reacción de la luz, la incubación se puede realizar en el instrumento de Luminex.

Adquisición de datos y análisis

Nota: Para el sistema MAGPIX, Luminex recomienda ejecutar la *rutina de inicio mejorada* antes de adquirir los datos.

Preparación del instrumento y adquisición de datos

Para crear un nuevo lote utilizando el software Luminex xPONENT:

1. Haga clic en **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. Busque para seleccionar el protocolo **xTAG CYP2C19 v3 (LX)** para el sistema Luminex 100/200 o el protocolo **xTAG CYP2C19 v3 (MP)** para el sistema MAGPIX. Haga clic en **Next** (Siguiendo).
5. Seleccione pozos a los que añadir muestras en el diseño de placa. Si la primera muestra no está en el pozo A1, seleccione el pozo inicial correcto (consulte el manual de usuario del software xPONENT). Haga clic en **Unknown** (Desconocido).
6. Introduzca o importe los ID de muestras para cada parte alícuota de muestra incluida en el lote. **Para garantizar una adquisición de datos precisa, introduzca con cuidado la información de la muestra en el instrumento Luminex.**

Nota: NO UTILICE COMILLAS DOBLES. Consulte el Manual del usuario del software Luminex.

7. Asegúrese de que la temperatura de la plataforma XY (de lote de procesamiento) esté desactivada para que las lecturas se lleven a cabo a temperatura ambiente.
8. Tras 15 minutos de incubación, coloque las muestra en el soporte de la placa XY.
9. Haga clic en **Retract** (Retraer).
10. Haga clic en **Run Batch** (Ejecutar lote).
11. Una vez finalizada la lectura, asegúrese de que se han exportado los datos del lote.
12. Limpie el instrumento Luminex según el procedimiento indicado en el manual de usuario correspondiente. Para el sistema MAGPIX aplique el procedimiento descrito en *Post-Batch Routine (Rutina posterior al lote)* cuando se ha completado la adquisición de los datos.

Instrucciones para la instalación del TDAS CYP2C19

Una vez adquiridos los datos de los pasos anteriores, se crea un archivo de salida en la carpeta de lotes Luminex. Utilice TDAS CYP2C19 para analizar este archivo.

Nota: Asegúrese de que la versión de TDAS CYP2C19 especificada en la caja del equipo es la versión utilizada para el análisis de datos. Si ya tiene instalada la versión adecuada del TDAS CYP2C19 en el ordenador, pase a la siguiente sección.

Instalación del TDAS CYP2C19

1. Asegúrese de tener suficientes privilegios de Windows para poder instalar el software en su ordenador.
2. Inserte el CD xTAG CYP2C19 Kit v3.
3. Haga clic en **My Computer** (Mi PC).
4. Vaya a la unidad de CD y haga doble clic en **TDAS CYP2C19 setup** (Configuración de TDAS CYP2C19).
5. Siga las instrucciones en pantalla para completar la instalación.

Comprobación de la versión del TDAS CYP2C19

1. Haga doble clic en el icono del escritorio del **TDAS CYP2C19**. Se abrirá el cuadro de diálogo **Log-on TDAS CYP2C19** (Inicio de sesión). Asegúrese de que la versión del TDA especificada en el cuadro de diálogo sea la versión adecuada.
2. Inicie sesión en TDAS CYP2C19. 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).
4. Compruebe que en el cuadro de diálogo **About TDAS CYP2C19** (Acerca de TDAS CYP2C19) aparezca la versión correcta del software.
5. Compruebe que el nombre del análisis instalado sea **xTAG® CYP2C19 v3**.

Nota: Este paso es fundamental para un análisis adecuado.

6. Haga clic en el botón **Close** (Cerrar) del cuadro de diálogo **About TDAS CYP2C19** (Acerca de TDAS CYP2C19).
7. Si alguno de los pasos anteriores falla, desinstale el software:
 - a. En el menú **Start** (Inicio), haga clic en **All Programs** (Todos los programas). Seleccione **xTAG Data Analysis CYP2C19...** y, a continuación, **Uninstall TDAS CYP2C19** (Desinstalar TDAS CYP2C19).
 - b. Siga los pasos de la sección [Installing TDAS CYP2C19 \(Instalación del TDAS CYP2C19\)](#) descritos anteriormente para volver a instalar el software.

Análisis de datos con TDAS CYP2C19

1. Compruebe que el archivo de salida Luminex sea accesible desde el ordenador en que esté instalado el ensayo TDAS CYP2C19.
2. Inicie TDAS CYP2C19 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), seleccione **Open** (Abrir).
4. Examine y seleccione el archivo de salida. Asegúrese de que TDAS CYP2C19 reconozca el archivo seleccionado y que lo analizará con el ensayo **xTAG® CYP2C19 v3**.
5. Haga clic en **Open** (Abrir) para ver los resultados.

Interpretación de resultados

Utilice la tabla siguiente para interpretar los resultados del equipo xTAG CYP2C19 Kit v3.

Tabla 5. **SNP detectados por el xTAG CYP2C19 Kit v3**

Archivo final del TDAS	SNP detectados
*1	Ninguna
*2	19154G>A
*3	17948G>A
*4	1A>G
*5	90033C>T
*6	12748G>A
*7	19294T>A
*8	12711T>C
*9	12784G>A
*10	19153C>T
*17	-806C>T

Nota: En el caso de los alelos raros para cuya detección no está diseñado el xTAG CYP2C19 Kit v3 el TDAS CYP2C19 seleccionará por defecto el valor de *1, "No Call" (Sin dianas) o un alelo de la máxima similitud genética.

Dianas de genotipado diseñadas por TDAS CYP2C19

Para cada muestra, TDAS CYP2C19 genera la diana de cada SNP y la muestra. Al analizar los resultados, TDAS CYP2C19 muestra las dianas de los loci detectados. Las dianas posibles para un locus dado son las siguientes:

- **WT:** presencia detectada de alelo de tipo silvestre solamente
- **MUT:** presencia detectada de alelo mutante solamente
- **HET:** presencia detectada de alelos de tipo silvestre y mutante
- **No Call (Sin dianas):** Un resultado "No Call" (Sin dianas) debido a que no se han cumplido criterios específicos del análisis

Nota: TDAS CYP2C19 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 TDAS CYP2C19 los interprete mal.

TDAS CYP2C19 también muestra una columna **Genotype** (Genotipo) y otra columna **Notes and explanations** (Notas y explicaciones) para cada muestra. Para obtener más información sobre distintas dianas y mensajes, consulte el *manual de usuario de TDAS CYP2C19* o la ayuda en línea.

Recomendaciones de repetición de análisis anteriores a la adquisición de datos

Error de la mezcla principal

Si se descubre un error en la preparación de la mezcla principal para PCR o ASPE después de iniciado ese paso, vuelva a realizar una comprobación a partir del paso afectado.

Error del termociclador

Si se descubre un error en el programa del termociclador después de iniciado ese paso, vuelva a realizar una comprobación a partir del paso afectado.

Repetir el análisis desde el paso PCR/ASPE

Vuelva a ejecutar el análisis en caso de que se observe y documente una desviación inadvertida o un error en el protocolo en estos pasos. Por ejemplo:

- un error de pipeteado
- Evaporación de muestra durante el paso PCR o ASPE

La reacción de PCR o ASPE debe ser descartada, respecto de la etapa en la que el error ocurrió. Repita el análisis de la muestra individual preparando una nueva reacción PCR o ASPE.

Repetir el análisis desde el paso de hibridación de esferas

Vuelva a ejecutar el análisis en caso de que se observe y documente una desviación inadvertida o un error en el protocolo en estos pasos. Por ejemplo:

- un error de pipeteado
- Evaporación de muestra durante el paso de hibridación de esferas

La reacción original para hibridación de esferas debe descartarse. Repita el análisis de la muestra individual realizando de nuevo el paso de hibridación de esferas.

Recomendaciones de repetición de análisis posteriores a la adquisición de datos

En determinadas circunstancias, TDAS generará un resultado "No Call" (Sin dianas) para una o varias muestras de un bloque y, además, se ofrece una breve explicación en la columna

Notes and explanations (Notas y explicaciones) de la vista abreviada. Estos escenarios aparecen resumidos, con recomendaciones de repetición de análisis, en la tabla siguiente.

Tabla 6. **Casos resultantes en salidas “No Call” (Sin dianas) y recomendaciones para la repetición de pruebas**

Caso resultante en una salida “No Call” (Sin dianas) de TDAS	Mensaje de aviso del TDAS en vista abreviada	Recomendaciones para la repetición de pruebas
Se ha producido un problema durante la lectura del pozo de control negativo primario	“Assay failed: ‘<instrument error message>’. Check the Luminex instrument for details” (Fallo del análisis: compruebe el instrumento Luminex para obtener detalles)	Vuelva a realizar el análisis desde el paso de hibridación
Uno o más loci con bajo recuento de microesferas en el control negativo primario	“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)	Vuelva a realizar el análisis desde el paso de hibridación
Un subconjunto de loci con señales inesperadas o elevadas en el control negativo primario	“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) o “Assay failed: a primary negative control signal exceeds acceptable value” (Fallo del análisis: una señal de control negativo primario supera los valores aceptables)	Si algún control negativo genera este mensaje de error, repita la prueba a partir del paso de PCR. Antes de repetir el análisis, revise y vuelva a aplicar los procedimientos recomendados para prevenir la contaminación descritos en la sección Procedimientos recomendados para prevenir la contaminación . Para repetir el análisis, utilice un tubo limpio de agua destilada sin DNasa y RNasa y reactivos
Se ha producido un problema durante la lectura de los pozos	“Sample failed: ‘<instrument error message>’. Check the Luminex instrument for details” (Fallo de la muestra: compruebe el instrumento Luminex para obtener detalles)	Vuelva a realizar el análisis desde el paso de hibridación
Todos los loci de una muestra concreta han generado un resultado “No Call” (Sin dianas) debido a recuentos de microesferas bajos, o bien a que la señal es inadecuada o inesperada	“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)	Vuelva a realizar el análisis a partir del paso de hibridación, el paso de PCR o el paso de extracción, según el criterio del laboratorio

Tabla 6. **Casos resultantes en salidas “No Call” (Sin dianas) y recomendaciones para la repetición de pruebas *continuación***

Caso resultante en una salida “No Call” (Sin dianas) de TDAS	Mensaje de aviso del TDAS en vista abreviada	Recomendaciones para la repetición de pruebas
Un subconjunto de loci de una muestra concreta ha generado un resultado “No Call” (Sin dianas) debido a que el recuento de microesferas es bajo	“Variation(s) failed: low bead count(s)” (Fallo de la(s) variación(es): recuentos de microesferas bajos)	Vuelva a realizar el análisis desde el paso de hibridación
Un subconjunto de loci 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 de la(s) variación(es): se han encontrado valores inesperados)	Repetición de la prueba a partir del paso de PCR
Un subconjunto de loci de una muestra concreta ha generado un resultado “No Call” (Sin dianas) debido a que las señales son inadecuadas	“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 loci no cumple los criterios de umbral para generar una diana y caen dentro de la zona equívoca, por lo que se genera un resultado “No Call” (Sin dianas)	“Variation(s) failed: value(s) not within predefined ranges” (Fallo de la(s) variación(es): valor(es) fuera de los intervalos predefinidos)	Repetición de la prueba a partir del paso de PCR
Genotipo de estrella (*) sin dianas	“Warning: Unable to determine sample's genotype. Refer to kit package insert for details” (Advertencia: no se puede determinar el genotipo de la muestra. Consulte el folleto del equipo para obtener detalles)	Consulte la sección Limitaciones de los análisis

Características de funcionamiento

Las características de funcionamiento del xTAG CYP2C19 Kit v3 con los sistemas Luminex 100/200 y MAGPIX descritas en el folleto del equipo se resumen a continuación.

Resultado analítico

Límite de detección y rango

El límite de detección (LoD) y el rango del análisis del xTAG CYP2C19 Kit v3 se determinaron en un análisis en dos partes. Este análisis se realizó en el instrumento Luminex 100/200 con el software xPONENT 3.1 y en el instrumento MAGPIX con el software xPONENT 4.2.

En la parte 1 del estudio, los límites superior e inferior del rango del análisis se establecieron en el análisis de cinco muestras de ADN genómico de Coriell (*1/*1, *17/*17, *2/*9, *2/*3, *8/*17) y una muestra de sangre entera (*2/*2). Las muestras se analizaron por triplicado en una serie de diluciones que oscilan desde 300 ng/μl para muestras de Coriell o 111 ng/μl

para sangre entera, hasta 0,01 ng/μl. No se observaron errores de análisis con la máxima concentración; por tanto, el límite superior del rango del análisis se estableció en 300,0 ng/μl. Tampoco se registraron dianas incorrectas con el límite inferior de la serie de dilución, pero se observaron las siguientes tasas de error, es decir, resultados “No Calls” (Sin dianas):

- Con 0,1 ng/μl (ADN de entrada de 0,3 ng), la tasa de error fue de 44,44% para los datos generados en ambos instrumentos.
- Con 0,01 ng/μl (ADN de entrada de 0,03 ng), la tasa de error fue de 100,00% para los datos generados en ambos instrumentos.

A partir de los datos generados en la parte 1 de este estudio, como límite inferior del rango del análisis (el límite de detección, o LoD) se propuso una concentración de 0,5 ng/μl (ADN de entrada de 1,5 ng). En la parte 2, se validó el LoD propuesto. Se analizaron 40 réplicas de cada una de las seis muestras de la parte 1 del estudio con cinco concentraciones. En ambos instrumentos se generaron 1200 puntos de datos con todas las muestras y concentraciones. Con una concentración de 0,5 ng/μl (ADN de entrada de 1,5 ng) o superior, se obtuvo más del 97,50% de coincidencia con las dianas de genotipado generadas mediante secuenciación (Tablas 10.7a y 10.7b). Si bien estos datos respaldan un LoD de 0,5 ng/μl (ADN de entrada de 1,5 ng), el LoD verificado es de 2,0 ng/μl (ADN de entrada de 6,0 ng). No se registraron dianas incorrectas con ninguno de los instrumentos. No obstante, se obtuvo un resultado “No Call” (Sin diana) para cada instrumento dentro del rango verificado del análisis.

Tabla 7. Límite de datos de detección para muestras analizadas en el instrumento Luminex 100/200 con el software xPONENT 3.1

Geno-tipo ¹	ADN de entrada total (ng)	Número de réplicas analizadas	Dianas correctas	Dianas incorrectas	Sin dianas	Concordancia positiva (porcentaje de dianas correctas)	Límite inferior de IC del 95% ²
*1/*1	150,00	40	39 ³	0	1	97,50%	86,84%
	15,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	6,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	1,50	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	0,15	40	14	0	26	35,00%	20,63%
*2/*9	150,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	15,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	6,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	1,50	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	0,15	40	4	0	36	10,00%	2,79%
*2/*2	150,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	15,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	6,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%

Tabla 7. **Límite de datos de detección para muestras analizadas en el instrumento Luminex 100/200 con el software xPONENT 3.1**
continuación

Genotipo ¹	ADN de entrada total (ng)	Número de réplicas analizadas	Dianas correctas	Dianas incorrectas	Sin dianas	Concordancia positiva (porcentaje de dianas correctas)	Límite inferior de IC del 95% ²
	1,50	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	0,15	40	0	0	40	0,00%	0,00%
*2/*3	150,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	15,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	6,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	1,50	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	0,15	40	30	0	10	75,00%	58,80%
*8/*17	150,00	40	39 ⁴	0	1	97,50%	86,84%
	15,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	6,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	1,50	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	0,15	40	0	0	40	0,00%	0,00%
*17/*17	150,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	15,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	6,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	1,50	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	0,15	40	0	0	40	0,00%	0,00%

¹ El genotipo se determinó mediante la secuenciación bidireccional de ADN.

² El cálculo del intervalo de confianza del 95,00% se realizó según el intervalo Clopper-Pearson (Biometrika 26:404-413, 1934) con la calculadora en línea que se encuentra disponible en <http://graphpad.com/quickcalcs/index.cfm>.

³ Una muestra tenía un genotipo con el resultado "No Call" (Sin diana) debido a un bajo recuento de microsferas en la adquisición de la muestra.

⁴ Una muestra tenía un genotipo con el resultado "No Call" (Sin diana) debido a una relación alélica errónea.

Tabla 8. **Límite de datos de detección para muestras analizadas en el instrumento MAGPIX con el software xPONENT 4.2**

Geno-tipo ¹	ADN de entrada total (ng)	Número de réplicas analizadas	Dianas correctas	Dianas incorrectas	Sin dianas	Concordancia positiva (porcentaje de dianas correctas)	Límite inferior de IC del 95% ²
*1/*1	150,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	15,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	6,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	1,50	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	0,15	40	16	0	24	40,00%	24,86%
*2/*9	150,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	15,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	6,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	1,50	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	0,15	40	11	0	29	27,50%	14,60%
*2/*2	150,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	15,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	6,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	1,50	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	0,15	40	0	0	40	0,00%	0,00%
*2/*3	150,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	15,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	6,00	40	39 ³	0	1	97,50%	86,84%
	1,50	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	0,15	40	4	0	36	10,00%	2,79%
*8/*17	150,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	15,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	6,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	1,50	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	0,15	40	0	0	40	0,00%	0,00%
*17/*17	150,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	15,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	6,00	40	40	0	0	100,00%	91,19%

Tabla 8. **Límite de datos de detección para muestras analizadas en el instrumento MAGPIX con el software xPONENT 4.2 continuación**

Geno-tipo ¹	ADN de entrada total (ng)	Número de réplicas analizadas	Dianas correctas	Dianas incorrectas	Sin dianas	Concordancia positiva (porcentaje de dianas correctas)	Límite inferior de IC del 95% ²
	1,50	40	40	0	0	100,00%	91,19%
	0,15	40	0	0	40	0,00%	0,00%

¹ El genotipo se determinó mediante la secuenciación bidireccional de ADN.

² El cálculo del intervalo de confianza del 95,00% se realizó según el intervalo Clopper-Pearson (Biometrika 26:404-413, 1934) con la calculadora en línea que se encuentra disponible en <http://graphpad.com/quickcalcs/index.cfm>.

³ Una muestra tenía un genotipo con el resultado “No Call” (Sin diana) debido a una MFI baja.

Sustancias interferentes

Se analizaron seis muestras de sangre entera exclusivas con los genotipos *1/*1, *1/*2, *1/*3, *1/*17, *2/*2 y *17/*17 a efectos de evaluar el efecto de las posibles sustancias interferentes en la prueba xTAG CYP2C19 Kit v3. Estas sustancias se añadieron a las muestras de sangre entera antes de extraer el ADN y de realizar la analítica con xTAG CYP2C19 Kit v3. Los resultados de los genotipos obtenidos de las muestras enriquecidas con posibles interferentes se compararon con los resultados de los genotipos de muestras (controles) no enriquecidas. Los genotipos de muestra se verificaron mediante la secuenciación bidireccional de ADN. Los interferentes analizados fueron: hemoglobina (500 mg/dl), bilirrubina (60 mg/dl), albúmina (6000 mg/dl) y triglicéridos (3000 mg/dl). Con tales concentraciones, las sustancias no interfieren con el análisis: no se observaron diferencias entre las dianas de genotipado finales generadas con las muestras de control (no enriquecidas) y las generadas con muestras enriquecidas.

Tabla comparativa (EDTA vs. Citrato)

Se recogieron veinticinco muestras de sangre independientes de donantes anónimos en tubos de recogida de sangre con citrato y con EDTA para un estudio paralelo que pretende evaluar los resultados de ambas matrices. Estas muestras se extrajeron y analizaron con xTAG CYP2C19 Kit v3.

Se obtuvo el resultado “No Call” (Sin diana) para una muestra en EDTA (genotipo de *1/*1). Este resultado sin diana se resolvió después de realizar una repetición (el error en la extracción de la muestra no se debió al anticoagulante). No se observaron diferencias entre las dianas de genotipado finales, tras las repeticiones permitidas de una muestra, generadas por ninguna de las muestras al recogerse una misma muestra en anticoagulante de EDTA o en anticoagulante de citrato. Los anticoagulantes de EDTA y citrato son compatibles con xTAG CYP2C19 Kit v3.

Reproducibilidad

Este estudio fue diseñado para evaluar la reproducibilidad entre centros, entre lotes y entre operadores para xTAG CYP2C19 Kit v3.

En este estudio de reproducibilidad se utilizó un total de 24 muestras clínicas de sangre entera distintas. Seis (6) de las 24 muestras se recogieron en tubos de recogida de sangre

que contenían citrato y las 18 restantes se recogieron en tubos que contenían EDTA. Las muestras se extrajeron en cada centro con un método de extracción validado. En cada centro el número de operadores fue de dos, y cada uno realizó un análisis diario a lo largo de tres días no consecutivos (tres análisis por operador o seis análisis por centro). Cada día, se analizó un lote distinto del equipo; por tanto, cada operador analizó tres lotes del equipo. Los tres lotes del equipos eran coherentes entre todos los operadores. Cada operador de los tres centros independientes analizó copias idénticas del conjunto de muestras de reproducibilidad. Este estudio de reproducibilidad se realizó en el instrumento Luminex 100/200 con el software xPONENT 3.1 y en el instrumento MAGPIX con el software xPONENT 4.2.

Cada réplica de la muestra era una réplica de la extracción, lo que significa que cada muestra independiente se había extraído dos veces para cada análisis.

Los métodos de extracción se utilizaron como sigue:

- Centro 1: sistema de extracción Qiagen QIA-symphon
- Centro 2: sistema de extracción Biomerieux EasyMag
- Centro 3: sistema de extracción Qiagen EZ-1 BioRobot

Este estudio de reproducibilidad generó 864 resultados para cada plataforma Luminex (Luminex 100/200 y MAGPIX). En el caso de los datos recopilados con Luminex 100/200, no se obtuvo ninguna diana de genotipado incorrecta, ni tampoco ningún resultado “No Calls” (Sin dianas). En cambio, con los datos recopilados en MAGPIX, no se registró ninguna diana de genotipado incorrecta, pero sí dos resultados “No Calls” (Sin dianas) asociados con los análisis de reproducibilidad. Ambos resultados “No Calls” (Sin dianas) se resolvieron tras llevar a cabo una repetición permitida. Ambos resultados “No Calls” (Sin dianas) se produjeron en el mismo bloque a causa de un error en la relación alélica en un locus.

Tabla 9. **Resumen de resultados finales de reproducibilidad de xTAG CYP2C19 Kit v3 con datos generados en Luminex 100/200 con el software xPONENT 3.1**

ID de muestra	Genotipo CYP2C19 ¹	Répli- cas por muestra	Dianas de genotipado correctas	“No Calls” de genotipado	Dianas incorrectas de genotipado	Porcentaje de dianas correctas (%)	Límite inferior de confianza del 95% ²
BRH270582	*1/*1	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496553	*1/*1	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH260385	*1/*1	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496547	*1/*1	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH270583	*1/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH260388	*1/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH288023	*1/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496548	*1/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496549	*1/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH270581	*1/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%

Tabla 9. **Resumen de resultados finales de reproducibilidad de xTAG CYP2C19 Kit v3 con datos generados en Luminex 100/200 con el software xPONENT 3.1 continuación**

ID de muestra	Genotipo CYP2C19 ¹	Répli- cas por muestra	Dianas de genotipado correctas	“No Calls” de genotipado	Dianas incorrectas de genotipado	Porcentaje de dianas correctas (%)	Límite inferior de confianza del 95% ²
BRH260386	*1/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R181804	*2/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R183415	*2/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496554	*2/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH500076	*2/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R177778	*17/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH288022	*17/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R177771	*1/*9	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496557	*9/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH494197	*4/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R181802	*1/*3	36	36	0	0	100,00%	90,26%
6142B	*2/*3	36	36	0	0	100,00%	90,26%
6126B	*3/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R183362	*1/*10	36	36	0	0	100,00%	90,26%
Total		864	864	0	0	100,00%	99,57%

¹ Genotipo determinado por secuenciación bidireccional; las muestras *1/*1 son de tipo salvaje para todos los demás alelos analizados.

² El cálculo del intervalo de confianza del 95,00% se realizó según el intervalo Clopper-Pearson (Biometrika 26:404-413, 1934) con la calculadora en línea que se encuentra disponible en <http://graphpad.com/quickcalcs/index.cfm>.

Tabla 10. **Resumen de primeros resultados de reproducibilidad de xTAG CYP2C19 Kit v3 con datos generados en MAGPIX con el software xPONENT 4.2**

Sample ID (ID de muestra)	Genotipo CYP2C19 ¹	Répli- cas por muestra	Dianas de genotipado correctas	“No Calls” de genotipado	Dianas incorrectas de genotipado	Porcentaje de dianas correctas (%)	Límite inferior de confianza del 95% ²
BRH270582	*1/*1	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496553	*1/*1	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH260385	*1/*1	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496547	*1/*1	36	35	1	0	97,22%	85,47%

Tabla 10. **Resumen de primeros resultados de reproducibilidad de xTAG CYP2C19 Kit v3 con datos generados en MAGPIX con el software xPONENT 4.2 continuación**

Sample ID (ID de muestra)	Genotipo CYP2C19 ¹	Répli- cas por muestra	Dianas de genotipado correctas	“No Calls” de genotipado	Dianas incorrectas de genotipado	Porcentaje de dianas correctas (%)	Límite inferior de confianza del 95% ²
BRH270583	*1/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH260388	*1/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH288023	*1/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496548	*1/*2	36	35	1	0	97,22%	85,47%
BRH496549	*1/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH270581	*1/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH260386	*1/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R181804	*2/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R183415	*2/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496554	*2/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH500076	*2/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R177778	*17/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH288022	*17/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R177771	*1/*9	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496557	*9/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH494197	*4/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R181802	*1/*3	36	36	0	0	100,00%	90,26%
6142B	*2/*3	36	36	0	0	100,00%	90,26%
6126B	*3/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R183362	*1/*10	36	36	0	0	100,00%	90,26%
Total		864	862	2	0	99,77%	99,17%

¹ Genotipo determinado por secuenciación bidireccional; las muestras *1/*1 son de tipo salvaje para todos los demás alelos analizados.

² El cálculo del intervalo de confianza del 95,00% se realizó según el intervalo Clopper-Pearson (Biometrika 26:404-413, 1934) con la calculadora en línea que se encuentra disponible en <http://graphpad.com/quickcalcs/index.cfm>.

Tabla 11. **Resumen de resultados finales de reproducibilidad de xTAG CYP2C19 Kit v3 con datos generados en MAGPIX con el software xPONENT 4.2**

Sample ID (ID de muestra)	Genotipo CYP2C19 ¹	Répli- cas por muestra	Dianas de genotipado correctas	“No Calls” de genotipado	Dianas incorrectas de genotipado	Porcentaje de dianas correctas (%)	Límite inferior de confianza del 95% ²
BRH270582	*1/*1	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496553	*1/*1	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH260385	*1/*1	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496547	*1/*1	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH270583	*1/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH260388	*1/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH288023	*1/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496548	*1/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496549	*1/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH270581	*1/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH260386	*1/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R181804	*2/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R183415	*2/*2	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496554	*2/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH500076	*2/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R177778	*17/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH288022	*17/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R177771	*1/*9	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH496557	*9/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
BRH494197	*4/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R181802	*1/*3	36	36	0	0	100,00%	90,26%
6142B	*2/*3	36	36	0	0	100,00%	90,26%
6126B	*3/*17	36	36	0	0	100,00%	90,26%
R183362	*1/*10	36	36	0	0	100,00%	90,26%
Total		864	864	0	0	100,00%	99,57%

¹ Genotipo determinado por secuenciación bidireccional; las muestras *1/*1 son de tipo salvaje para todos los demás alelos analizados.

² El cálculo del intervalo de confianza del 95,00% se realizó según el intervalo Clopper-Pearson (Biometrika 26:404-413, 1934) con la calculadora en línea que se encuentra disponible en <http://graphpad.com/quickcalcs/index.cfm>.

Después de realizar una repetición permitida, el análisis de xTAG CYP2C19 Kit v3 tanto en el instrumento Luminex 100/200 con el software xPONENT 3.1 como en el instrumento MAGPIX con el software xPONENT 4.2 ofreció un nivel de reproducibilidad general del 100% en varios lotes, centros y operadores.

Contaminación cruzada

Se evaluó la contaminación cruzada del xTAG CYP2C19 Kit v3 (grupo estadounidense) mediante el análisis de cuatro muestras de ADN genómico de Coriell de diferentes genotipos (*17/*17, *8/*17, *1/*1, *2/*3) con concentraciones altas y bajas, junto con controles negativos de agua. Las muestras se analizaron conforme al siguiente patrón alterno: una muestra de concentración alta de ADN (300 ng), una muestra de concentración baja de ADN (7,5 ng) de un genotipo diferente, seguida de nuevo de una muestra de concentración alta de ADN y, a continuación, blanco de agua. Se analizaron 96 pocillos con xTAG CYP2C19 Kit v3, cada uno de ellos con esta configuración de muestras y controles negativos, tanto en el instrumento Luminex100/200 con el software xPONENT 3.1 como en el instrumento MAGPIX con el software xPONENT 4.2. Las 240 muestras de ADN elevado de entrada (300 ng) y 120 muestras de ADN bajo de entrada (7,5 ng) generaron las dianas correctas. Entre todas las muestras no se observaron cambios en la diana de genotipado. No se detectaron errores de control de agua negativo que demostraran la falta de arrastre de las muestras a partir de muestras positivas.

Funcionamiento clínico

Precisión diagnóstica

Luminex evaluó la precisión del xTAG CYP2C19 Kit v3 en sus instalaciones de Toronto, para lo que utilizó seiscientas treinta y una (631) muestras clínicas. Se realizó un análisis de la secuencia de ADN para la confirmación del genotipo para todas las 631 muestras clínicas analizadas por el equipo xTAG CYP2C19 Kit v3.

De las 631 muestras, se obtuvieron cinco resultados “No Calls” (Sin dianas) con la analítica del instrumento Luminex 100/200 y el software xPONENT 3.1, mientras que se obtuvieron cuatro “No Calls” (Sin dianas) con el instrumento MAGPIX y el software xPONENT 4.2. No obstante, no se obtuvo ninguna diana incorrecta con ninguno de los instrumentos. Todos los resultados “No Calls” (Sin dianas) se resolvieron después de realizar una sola repetición de cada muestra. En las tablas siguientes se resumen los resultados del primer análisis. Después de realizar la repetición permitida, xTAG CYP2C19 Kit v3 ofreció una precisión del 100% en comparación con la secuenciación de los datos generados con el instrumento Luminex 100/200 y el software xPONENT 3.1 y el instrumento MAGPIX y el software xPONENT 4.2 (véase la tabla siguiente).

Tabla 12. **Precisión por genotipo según la secuenciación de didesoxi para el instrumento Luminex 100/200 con el software xPONENT 3.1**

Genotipo [†]	N.º de muestras analizadas	N.º de réplicas por muestra	Primeros resultados del instrumento Luminex 100/200 con xPONENT 3.1				
			N.º de dianas de genotipado correctas	N.º de dianas de genotipado incorrectas	N.º de resultados "No Calls" (Sin dianas)	% de coincidencia	Límite inferior de confianza del 95% [‡]
*1/*1	203	1	201	0	2	99,01%	96,49%
*1/*2	159	1	158	0	1	99,37%	96,55%
*1/*3	14	1	14	0	0	100,00%	76,84%
*1/*4	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*1/*6	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*1/*8	2	1	2	0	0	100,00%	15,81%
*1/*9	9	1	9	0	0	100,00%	66,37%
*1/*10	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*1/*17	121	1	121	0	0	100,00%	97,00%
*2/*2	32	1	31	0	1	96,88%	83,78%
*2/*3	7	1	7	0	0	100,00%	59,04%
*2/*4	2	1	2	0	0	100,00%	15,81%
*2/*6	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*2/*9	3	1	3	0	0	100,00%	29,24%
*2/*17	43	1	43	0	0	100,00%	91,78%
*3/*3	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*3/*17	2	1	2	0	0	100,00%	15,81%
*4/*17	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*9/*17	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*17/*17	27	1	26	0	1	96,30%	81,03%
Todos los genotipos	631	1	626	0	5	99,21%	98,16%

[†] Genotipo determinado por secuenciación de didesoxi bidireccional; las muestras *1/*1 son de tipo salvaje para *2, *3 y *17.

[‡]El cálculo del intervalo de confianza del 95,00% se realizó según el intervalo Clopper-Pearson (Biometrika 26:404-413, 1934) con la calculadora en línea que se encuentra disponible en <http://graphpad.com/quickcalcs/index.cfm>.

Tabla 13. **Precisión por genotipo según la secuenciación de didesoxi para el instrumento MAGPIX con el software xPONENT 4.2**

Genotipo [†]	N.º de muestras analizadas	N.º de réplicas por muestra	Primeros resultados del instrumento MAGPIX con xPONENT 4.2				
			N.º de dianas de genotipado correctas	N.º de dianas de genotipado incorrectas	N.º de resultados "No Calls" (Sin dianas)	% de coincidencia	Límite inferior de confianza del 95% [‡]
*1/*1	203	1	202	0	1	99,51%	97,29%
*1/*2	159	1	158	0	1	99,37%	96,55%
*1/*3	14	1	14	0	0	100,00%	76,84%
*1/*4	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*1/*6	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*1/*8	2	1	2	0	0	100,00%	15,81%
*1/*9	9	1	9	0	0	100,00%	66,37%
*1/*10	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*1/*17	121	1	121	0	0	100,00%	97,00%
*2/*2	32	1	31	0	1	96,88%	83,78%
*2/*3	7	1	7	0	0	100,00%	59,04%
*2/*4	2	1	2	0	0	100,00%	15,81%
*2/*6	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*2/*9	3	1	3	0	0	100,00%	29,24%
*2/*17	43	1	43	0	0	100,00%	91,78%
*3/*3	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*3/*17	2	1	2	0	0	100,00%	15,81%
*4/*17	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*9/*17	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*17/*17	27	1	26	0	1	96,30%	81,03%
Todos los genotipos	631	1	627	0	4	99,37%	98,38%

[†] Genotipo determinado por secuenciación de didesoxi bidireccional; las muestras *1/*1 son de tipo salvaje para *2, *3 y *17.

[‡]El cálculo del intervalo de confianza del 95,00% se realizó según el intervalo Clopper-Pearson (Biometrika 26:404-413, 1934) con la calculadora en línea que se encuentra disponible en <http://graphpad.com/quickcalcs/index.cfm>.

Tabla 14. **Precisión por genotipo según la secuenciación de didesoxi para el instrumento Luminex 100/200 con el software xPONENT 3.1 y para el instrumento MAGPIX con el software xPONENT 4.2 después una repetición de todas las muestras “No Calls” (Sin diana)**

Genotipo [†]	N.º de muestras analizadas	N.º de réplicas por muestra	Instrumentos Luminex 100/200 y MAGPIX (Resultados tras una repetición)				
			N.º de dianas de genotipado correctas	N.º de dianas de genotipado incorrectas	N.º de resultados “No Calls” (Sin dianas)	% de coincidencia	Límite inferior de confianza del 95% [‡]
*1/*1	203	1	203	0	0	100,00%	98,20%
*1/*2	159	1	159	0	0	100,00%	97,71%
*1/*3	14	1	14	0	0	100,00%	76,84%
*1/*4	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*1/*6	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*1/*8	2	1	2	0	0	100,00%	15,81%
*1/*9	9	1	9	0	0	100,00%	66,37%
*1/*10	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*1/*17	121	1	121	0	0	100,00%	97,00%
*2/*2	32	1	32	0	0	100,00%	89,11%
*2/*3	7	1	7	0	0	100,00%	59,04%
*2/*4	2	1	2	0	0	100,00%	15,81%
*2/*6	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*2/*9	3	1	3	0	0	100,00%	29,24%
*2/*17	43	1	43	0	0	100,00%	91,78%
*3/*3	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*3/*17	2	1	2	0	0	100,00%	15,81%
*4/*17	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%
*9/*17	1	1	1	0	0	100,00%	2,50%

Tabla 14. **Precisión por genotipo según la secuenciación de didesoxi para el instrumento Luminex 100/200 con el software xPONENT 3.1 y para el instrumento MAGPIX con el software xPONENT 4.2 después una repetición de todas las muestras "No Calls" (Sin diana) *continuación***

Genotipo [†]	N.º de muestras analizadas	N.º de réplicas por muestra	Instrumentos Luminex 100/200 y MAGPIX (Resultados tras una repetición)				
			N.º de dianas de genotipado correctas	N.º de dianas de genotipado incorrectas	N.º de resultados "No Calls" (Sin dianas)	% de coincidencia	Límite inferior de confianza del 95% [‡]
*17/*17	27	1	27	0	0	100,00%	87,23%
Todos los genotipos	631	1	631	0	0	100,00%	99,42%

[†] Genotipo determinado por secuenciación de didesoxi bidireccional; las muestras *1/*1 son de tipo salvaje para *2, *3 y *17.

[‡]El cálculo del intervalo de confianza del 95,00% se realizó según el intervalo Clopper-Pearson (Biometrika 26:404-413, 1934) con la calculadora en línea que se encuentra disponible en <http://graphpad.com/quickcalcs/index.cfm>.

References

- Bertilsson, et al. (1995). "Geographical/interracial differences in polymorphic drug oxidation. Current state of knowledge of cytochromes P450 (CYP) 2D6 and 2C19." Clin Pharmacokinet 29(3): 192-209.
- Blaisdell, et al. (2002). "Identification and functional characterization of new potentially defective alleles of human CYP2C19." Pharmacogenetics 12:703-711.
- De Morais, et al. (1994a). "The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans." J Biol Chem 269(22): 15419-22.
- De Morais, et al. (1994b). "Identification of a new genetic defect responsible for the polymorphism of (S)-mephenytoin metabolism in Japanese." Mol Pharmacol 46(4): 594-8.
- Ferguson, et al. (1998). "A new genetic defect in human CYP2C19: mutation of the initiation codon is responsible for poor metabolism of S-mephenytoin." J Pharmacol Exp Ther 284(1): 356-61.
- Fukushima-Uesaka, et al. (2005). "Genetic variations and haplotypes of CYP2C19 in a Japanese population." Drug Metab Pharmacokinet 20:300-307.
- Goldstein, et al. (1999). "Kinship networks that cross racial lines: the exception or the rule?" Demography 36(3): 399-407.
- Hicks, et al. (2013). "Clinical Pharmacogenetics Implementation Consortium guideline for CYP2D6 and CYP2C19 genotypes and dosing of tricyclic antidepressants." Clin Pharmacol Ther 93(5): 402-8.
- Ibeanu, et al. (1998a). "An additional defective allele, CYP2C19*5, contributes to the S-mephenytoin poor metabolizer phenotype in Caucasians." Pharmacogenetics 8(2): 129-35.
- Ibeanu, et al. (1998b). "Identification of New Human CYP2C19 Alleles (CYP2C19*6 and CYP2C19*2B) in a Caucasian Poor Metabolizer of Mephenytoin." J Pharmacol Exp Ther 286(3):1490-5.

- Ibeanu, et al. (1999). "A novel transversion in the intron 5 donor splice junction of CYP2C19 and a sequence polymorphism in exon 3 contribute to the poor metabolizer phenotype for the anticonvulsant drug S-mephenytoin." *J Pharmacol Exp Ther* 290(2): 635-40.
- Justenhoven, et al. (2009). "CYP2C19*17 is associated with decreased breast cancer risk." *Breast Cancer Res Treat* 115(2): 391-396.
- Kurzawski, et al. (2006). "Effect of CYP2C19*17 gene variant on Helicobacter pylori eradication in peptic ulcer patients." *Eur J Clin Pharmacol* 62(10): 877-880.
- Meyer, U.A. (2000). "Pharmacogenetics and adverse drug reactions." *Lancet* 356(9242): 1667-71.
- Ragia, et al. (2009). "Need for reassessment of reported CYP2C19 allele frequencies in various populations in view of CYP2C19*17 discovery: the case of Greece." *Pharmacogenomics* 10(1): 43-49.
- Richardson, et al. (1995). "A universal approach to the expression of human and rabbit cytochrome P450s of the 2C subfamily in Escherichia coli." *Arch Biochem Biophys* 323:87-96.
- Romkes, et al. (1991). "Cloning and expression of complementary DNAs for multiple members of the human cytochrome P450IIC subfamily." *Biochemistry* 30:3247-3255.
- Rudberg, et al. (2008). "Impact of the ultrarapid CYP2C19*17 allele on serum concentration of escitalopram in psychiatric patients." *Clin Pharmacol Ther* 83(2): 322-7.
- Scott, et al. (2012). "PharmGKB summary: very important pharmacogene information for cytochrome P450, family 2, subfamily C, polypeptide 19." *Pharmacogenet Genomics* 22(2): 159-65.
- Sim, et al. (2006). "A common novel CYP2C19 gene variant causes ultrarapid drug metabolism relevant for the drug response to proton pump inhibitors and antidepressants." *Clin Pharmacol Ther* 79(1):103-113.
- Sugimoto, et al. (2008). "Limited frequency of the CYP2C19*17 allele and its minor role in a Japanese population." *Br J Clin Pharmacol* 65(3): 437-439.
- Xiao, et al. (1997). "Differences in the incidence of the CYP2C19 polymorphism affecting the S-mephenytoin phenotype in Chinese Han and Bai populations and identification of a new rare CYP2C19 mutant allele." *J Pharmacol Exp Ther* 281(1): 604-9.
- Xie, et al. (1999a). "Allelic, genotypic and phenotypic distributions of S-mephenytoin 4'-hydroxylase (CYP2C19) in healthy Caucasian populations of European descent throughout the world." *Pharmacogenetics* 9(5): 539-49.
- Xie, et al. (1999b). "Genetic polymorphism of (S)-mephenytoin 4'-hydroxylation in populations of African descent." *Br J Clin Pharmacol* 48(3): 402-8.
- Xie, et al. (2001). "Molecular basis of ethnic differences in drug disposition and response." *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 41: 815-50.
- Xie, et al. (2011). "Individual variability in the disposition of and response to clopidogrel: pharmacogenomics and beyond." *Pharmacol Ther* 129(3): 267-89.

Sitios Web

Orientaciones de la FDA a la industria - Farmacogenómica clínica: Premarketing Evaluation⁴ in Early Phase Clinical Studies (publicado en febrero 2011).

<http://www.fda.gov/downloads/Drugs/GuidanceComplianceRegulatoryInformation/Guidances/UCM243702.pdf>

Comité de nomenclatura de alelos del citocromo P450 (CYP) humano.

<http://www.cypalleles.ki.se>

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.

Acuerdo de licencia de usuario final para xTAG Data Analysis Software CYP2C19 (TDAS CYP2C19)

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

EI 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 relacionadas 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, Canada
M5G 1Y8

Technical Support

Direct Phone: +1 512-381-4397
International Toll Free: +800-2939-4959
Email: support@luminexcorp.com
www.luminexcorp.com



WMDE
Bergerweg 18
6085 AT Horn
The Netherlands