Spartan Cube CYP2C19 System

Instructions For Use

For *In Vitro* Diagnostic Use

SPARTAN BIOSCIENCE INC.
2934 Baseline Road
Suite 500
Ottawa, Ontario K2H 1B2

TABLE OF CONTENTS

LIMITATIONS ON WARRANTY 3
TABLE OF SYMBOLS 4
INTENDED USE 5
INDICATIONS FOR USE 5
SPARTAN CUBE CYP2C19 ASSAY PARTS 5
BACKGROUND INFORMATION 5
TEST PRINCIPLE / ASSAY OVERVIEW 7
DEVICE DESCRIPTION 7
WARNINGS AND PRECAUTIONS 8
STORAGE / STABILITY 9
MATERIALS PROVIDED WITH SPARTAN CUBE CYP2C19 ASSAY 10
MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED BY SPARTAN BIOSCIENCE 10
EQUIPMENT 11
TRAINING 11
ASSAY PROCEDURE 11
EXTERNAL CONTROL PROCEDURE 17
QUALITY CONTROL 19
INTERPRETATION OF RESULTS 21
RESIDUAL RISKS AND LIMITATIONS 22
PERFORMANCE CHARACTERISTICS 22
LICENSES AND PATENTS 22
TRADEMARKS 33
REFERENCES 34

LIMITATIONS ON WARRANTY

SPARTAN BIOSCIENCE INC. DISCLAIMS ALL WARRANTIES WITH RESPECT TO THIS DOCUMENT, EXPRESSED OR IMPLIED, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO THOSE OF MERCHANTABILITY OR FITNESS FOR A PARTICULAR PURPOSE. IN NO EVENT SHALL SPARTAN BIOSCIENCE INC. BE LIABLE, WHETHER IN CONTRACT, TORT, WARRANTY, OR UNDER ANY STATUTE OR ON ANY OTHER BASIS FOR SPECIAL, INCIDENTAL, INDIRECT, PUNITIVE, MULTIPLE OR CONSEQUENTIAL DAMAGES IN CONNECTION WITH OR ARISING FROM THIS DOCUMENT, INCLUDING BUT NOT LIMITED TO THE USE THEREOF.

TABLE OF SYMBOLS

Symbols are used throughout this document or on the product. The table below lists the symbols and a brief description of their meanings.

Table 1 - Symbols

	Warning, Risk of Danger – This symbol is used to indicate that non-compliance with the instructions or procedures may lead to physical injury, or even death, or could damage the instrument.
	Important Note – This symbol is used to bring the user's attention to an important annotation.
	Biohazard – This symbol is used to indicate that certain precautions must be taken when working with potentially infectious material.
	This symbol indicates the manufacturer of the device or system component.
	Date of manufacture.
	Do not reuse a product containing this symbol (use the product only once).
	Use until (indicates the expiry date of the product).
	Read the documentation before proceeding.
−80°C ⅄ −15°C	The product must be maintained between -80°C and -15°C for shipping and storage.
REF	Part number or catalogue number.
LOT	Lot number of product.
Σ	Sufficient material for N tests.
IVD	In Vitro Diagnostic (indicates the material is an In Vitro Diagnostic or part of an In Vitro Diagnostic Device).
Rx	For prescription use only.

INTENDED USE

The Spartan Cube CYP2C19 System is a qualitative *in vitro* diagnostic test for the identification of a patient's CYP2C19 *2, *3, and *17 genotypes determined from genomic DNA obtained from a buccal swab sample.

℞ For prescription use only.

INDICATIONS FOR USE

Spartan Cube CYP2C19 Assay - The Spartan Cube CYP2C19 System is indicated for use as an aid to clinicians in determining therapeutic strategies for therapeutics that are metabolized by the Cytochrome P450 2C19 gene product, and that are specifically affected by the *2, *3, and *17 alleles. The Spartan Cube CYP2C19 Assay will be run on the Spartan Cube CYP2C19 Platform from the buccal sample collected with a Spartan swab. The Spartan Cube CYP2C19 Assay is not indicated to be used to predict drug response or non-response.

Spartan Cube CYP2C19 Platform - The Spartan Cube CYP2C19 System is indicated for use as an aid to clinicians in determining therapeutic strategies for therapeutics that are metabolized by the Cytochrome P450 2C19 gene product, and that are specifically affected by the *2, *3, and *17 alleles. The Spartan Cube CYP2C19 Platform will be used to run the Spartan Cube CYP2C19 Assay.

SPARTAN CUBE CYP2C19 ASSAY PARTS

REF Spartan Cube CYP2C19 System comprises the Spartan Cube CYP2C19 Assay and the Spartan Cube CYP2C19 Platform. The Spartan Cube CYP2C19 Assay is performed from a Spartan swab on the Spartan Cube CYP2C19 Platform. These instructions for use are for the Spartan Cube CYP2C19 Assay.

	Part number
Spartan Cube CYP2C19 Assay	ASM-00095
Test Kit	ASM-00101
Swab Kit	ASM-00103
External Control Kit	ASM-00099

BACKGROUND INFORMATION

There is individual variability in the activity of drug-metabolizing enzymes. This variability is one of the main reasons that individuals sometimes respond differently to the same drug. CYP450 2C19 (CYP2C19) is a drug-metabolizing enzyme in the liver that is involved in the metabolism and breakdown of many commonly prescribed drugs, including antidepressants, antiepileptics, barbiturates, proton pump inhibitors, and antiplatelet medications.

Genetic polymorphisms in CYP2C19 are common and can result in variable levels of enzymatic activity ranging from poor metabolism to ultra-rapid metabolism. Individuals who possess poor or intermediate metabolizer genotypes may experience different drug levels than normal individuals. Therefore, these individuals may require alternative therapeutic strategies for medications that are metabolized by CYP2C19.

The CYP2C19*1 allele has fully functional enzyme activity. The CYP2C19*2 and *3 loss-of-function alleles encode non-functional proteins with no functional enzyme activity. An individual with two loss-of-function alleles is classified as a poor metabolizer. An individual with one loss-of-function allele is classified as an intermediate metabolizer. CYP2C19*2 and *3 alleles are responsible for the vast majority of poor metabolizer phenotypes. The allele frequency of these mutations varies significantly between different ethnic groups, ranging from 2% - 5% in Caucasian and African populations to 13% - 23% in Asian populations.[1]

The CYP2C19*17 allele is associated with ultra-rapid CYP2C19 enzyme activity. It is located within the upstream regulatory region of the CYP2C19 gene and enhances transcription of the gene product.[2, 3] The allele frequency is reported to be 18% in Swedish and Ethiopian populations, 27% in a Polish population, and 4% in Chinese subjects.[3]

The Spartan Cube CYP2C19 identifies the **CYP2C19*2**, **CYP2C19*3**, and **CYP2C19*17** alleles. The following table lists the alleles recognized by the Spartan Cube CYP2C19 Assay; the polymorphism for each allele; enzyme activity; and references.[4]

Table 2 – Alleles recognized by the Spartan Cube CYP2C19 Assay

CYP2C19 Allele	Polymorphism Recognized by Spartan Cube CYP2C19 Assay	Enzyme Activity	References
*1[a]	None[a]	Normal	Romkes (1991), Richardson (1995), Blaisdell (2002)
*2	19154G>A	None	de Morais (1994), Ibeanu (1998), Fukushima-Uesaka (2005), Lee (2009)
*3	17948G>A	None	de Morais (1994), Fukushima-Uesaka (2005)
*17	-806C>T	Increased	Sim (2006), Rudberg (2008)

a. *1 genotype for the Spartan Cube CYP2C19 Assay indicates only the absence of *2, *3, and *17 alleles.

Other alleles may be associated with absent or reduced enzyme activity, but are significantly less frequent than the CYP2C19*2 and *3 alleles. The Spartan Cube CYP2C19 Assay provides no information for alleles other than *2, *3, and *17.

Samples with the CYP2C19*10 genotype may yield an incorrect call by the Spartan Cube CYP2C19 Assay, calling the result a *2. Both CYP2C19*2 and CYP2C19*10 are loss-of-function alleles.

TEST PRINCIPLE / ASSAY OVERVIEW

The Spartan Cube CYP2C19 System comprises:

- Spartan Cube CYP2C19 Assay
- Spartan Cube CYP2C19 Platform

The Spartan Cube CYP2C19 Assay is a rapid, automated *in vitro* diagnostic test for identifying the CYP2C19 *2, *3, and *17 alleles. The assay is performed on the Spartan Cube CYP2C19 Platform.

The assay protocol is based on the following major processes:

a. Collection of human genomic DNA via swab
b. DNA extraction
c. PCR amplification of extracted DNA
d. Detection of amplified PCR products via fluorescent oligonucleotide probes
e. Fluorescent signal detection and analysis (determination of CYP2C19 *2, *3, and *17 genotypes)
f. Print out of results

Steps (b) through (e) are automated by the Spartan Cube CYP2C19 System.

DEVICE DESCRIPTION

The Spartan Cube CYP2C19 Assay is performed on the Spartan Cube CYP2C19 Platform.

The Spartan Cube CYP2C19 Test comprises a **SWAB KIT** and a **TEST KIT** for identifying the CYP2C19 *2, *3, and *17 alleles.

Each Swab Kit consists of a **POUCH** containing three swabs. On the pouch is a label on which patient information, sample collection time, and other information may be recorded.

The **SWAB** is used to collect a buccal sample from the inside of a patient's cheek and transfer it to the Test Cartridge.

Each Test kit contains a **TEST CARTRIDGE** with substances for DNA extraction, PCR amplification, and fluorescent detection of the CYP2C19 alleles, in three separate tubes. The mixture in each individual tube is for the specific detection of one of the three loci. The chemicals comprise four (4) synthetic oligonucleotides (1 set per locus), Taq DNA polymerase (1 reaction's worth per tube), and DNA extraction and PCR-enabling liquid (1 reaction's worth per tube).

The **SPARTAN CUBE CYP2C19 PLATFORM** comprises the following:

- Spartan Cube
- Computer
- Printer
- Barcode scanner

Instructions on how to use the Spartan Cube CYP2C19 Platform are provided in the Spartan Cube CYP2C19 Platform Operator's Manual (Document Number CUS-00045).

The **SPARTAN CUBE** is an instrument that automates the Spartan Cube CYP2C19 Assay and integrates the following steps:

- Extraction of human genomic DNA from a buccal sample inside the reagent tube
- PCR thermal cycling
- Optical detection of fluorescent signals from oligonucleotide probes that bind to PCR amplicons
- Automated analysis of fluorescent signals and genotype calling

The **COMPUTER** serves as the user interface for logging in to the Spartan Cube CYP2C19 Platform, inputting patient information and other information associated with the test, automatically inputting Test Kit lot numbers, and the instructions for starting a test.

The **PRINTER** can be used to print the genotype results after the Spartan Cube CYP2C19 Platform finishes performing the Spartan Cube CYP2C19 Assay.

EXTERNAL CONTROL kits are designed to determine if the Spartan Cube CYP2C19 Platform is performing correctly.

Each External Control Kit consists of a **CONTROL CARTRIDGE** with substances for DNA extraction, PCR amplification, and fluorescent detection of the CYP2C19 alleles, in three separate tubes. The mixture in each individual tube is for the specific detection of one of the three loci. The chemicals comprise four (4) synthetic oligonucleotides (1 set per locus), Taq DNA polymerase (1 reaction's worth per tube), DNA extraction and PCR-enabling liquid (1 reaction's worth per tube), and a synthetic DNA template. The cartridge is removed from the packaging and placed directly into the Spartan Cube according to the External Control procedure (see below). The External Control kit cartridge is never opened.

All quality control requirements and testing should be performed in conformance with local, state, and federal regulations, as well as accreditation requirements.

WARNINGS AND PRECAUTIONS

Handling Requirements

- For *in vitro* diagnostic use.
- To be used by qualified personnel.
- The Spartan Cube CYP2C19 Assay is to only be used with buccal samples collected by the Spartan swab in the Swab Kit.
- Buccal samples must be collected and tested within the time constraints described in the Assay Procedure.
- All patient specimens are potentially hazardous. Care should be taken when handling materials of human origin.
- Do not use the swab in the Swab Kit if there is visible sign of damage.
- Do not use the cartridge in the Test Kit if there is visible sign of damage.
- Do not use Test Kits or External Control Kits past their expiration date.

- Store Test Kits and External Control Kits at -15°C to -80°C in the original box. Spartan Bioscience recommends storing the kits at the back of the freezer. This avoids exposure to room temperature when the freezer door opens.
- Test Kits and External Control Kits are single-use only.

⚠ Contamination Control

- **Always** wear disposable gloves when handling swabs or cartridges. This prevents contamination of the assay with your DNA.
- **Never** open a cartridge after the test is started in the Spartan Cube. Opening a cartridge after the test is finished could contaminate the environment with amplified DNA. This could lead to inaccurate results for future tests.
- After a test is finished, the cartridge should be discarded in a sealed bag or glove. In the unlikely event that a cartridge lid opens, **immediately** close the lid and discard the cartridge in a sealed bag or glove.
- **Never** attempt to open an External Control Kit cartridge at any time. The External Control Kit contains a synthetic DNA template. Opening an External Control Kit cartridge could contaminate the environment with this synthetic template. This could lead to inaccurate results for future tests.

Laboratory Procedures

- Follow normal precautions for handling laboratory reagents.
- Follow safe laboratory procedures: wear protective clothing (e.g., disposable gloves); do not eat, drink, or smoke in the laboratory or test setup areas; wash hands thoroughly after handling buccal samples and reagent tubes.

☣ Waste Handling

- All used components of the assay, including swabs, reagent tubes, buccal samples and waste, should be discarded as biohazardous waste in accordance with local, state and federal regulations.
- Safety Data Sheets (SDSs) are available upon request from Spartan Bioscience.

⚠ Spartan Cube CYP2C19 Platform

- Read the Spartan Cube CYP2C19 Platform Operator's Manual (CUS-00045) before operating the Spartan Cube CYP2C19 Platform.
- Follow the Warnings and Precautions section in the Operator's Manual.
- Refer to the Operating Requirements section when installing the Spartan Cube CYP2C19 Platform.
- Refer to the Troubleshooting section when problems are encountered.

STORAGE / STABILITY

⚠ The Test Kits and External Control Kits are shipped frozen and may be shipped on dry ice. Dry ice can cause severe frostbite within seconds of contact. Avoid contact with skin and eyes. Always wear gloves. Never handle with bare hands. Do not ingest. Do not use in confined areas. Dry ice releases carbon dioxide vapors that can cause suffocation. For disposal, allow dry ice to sublimate in a well-ventilated area.

Upon receipt of Test Kits and/or External Control Kits, inspect the package contents to verify that the reagents remained frozen and below -15°C during shipping. If you believe your test kits may be thermally compromised, contact your distributor.

−80°C −15°C Test Kits and External Control Kits must be stored in a manual defrost freezer (one that **does not** say "frost-free") at a temperature between -15°C and -80°C. Spartan Bioscience recommends storing the kits at the back of the freezer in the original box. This avoids exposure to room temperature when the freezer door opens.

When stored under these conditions, Test Kits and External Control Kits are stable until the expiry date marked on the product label.

Do not take Test Kits or External Control Kits out of the freezer until you are ready to perform a test.

MATERIALS PROVIDED WITH SPARTAN CUBE CYP2C19 ASSAY

REF Spartan Cube CYP2C19 Assay (ASM-00095)

Each Spartan Cube CYP2C19 Test comprises two components:

- Spartan Cube CYP2C19 Swab Kit (contains three buccal swabs; ASM-00104)
- Spartan Cube CYP2C19 Test Kit (contains one Test Cartridge; ASM-00092)

Each External Control Kit (ASM-00093) contains:

- External Control Cartridge

Spartan Bioscience sells the External Control Kits, which can only be used with the Spartan Cube CYP2C19 Assay.

MATERIALS REQUIRED BUT NOT PROVIDED BY SPARTAN BIOSCIENCE

- Disposable gloves
- Standard printer paper (8.5" x 11")

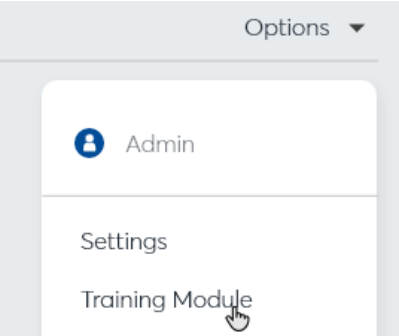
EQUIPMENT

REF The Spartan Cube CYP2C19 Platform (ASM-00096) is required for performing the Spartan Cube CYP2C19 Assay.

TRAINING

⚠ Spartan recommends all users complete the Training Module before performing any tests or controls on the Spartan Cube CYP2C19 System. The training module comprises a video, a practical walkthrough of the procedure, and a quiz. Upon completion of the Training Module, the user is provided with a certificate of training that may be printed or accessed later on the computer by an administrator.

To access the Training Module, select **Options** on the upper right of the main screen and then select **Training Module**. The software will direct you through the various components of the training.



ASSAY PROCEDURE

There are **8 steps** in performing the Spartan Cube CYP2C19 Assay:

- **Steps 1–4:**
  1. Obtain Swab Kit.
  2. Remove cover from swab.
  3. Collect buccal sample.
  4. Replace swab cover.
- **Steps 5–8:**
  5. Place Test Cartridge in Spartan Cube.
  6. Insert swab tip into Test Cartridge.
  7. Tap Test Cartridge to mix samples.
  8. Start test.

N.B.: Steps 2-4 and 5-6 are performed for each of three swabs in the Swab Kit.

IMPORTANT:

It is important to conform to the following time constraints:

- After removing the Test Kit from the freezer, start the test within **15 minutes**.
- After collecting the buccal sample, start the test within **20 hours.**

IMPORTANT: Wear disposable gloves for performing Steps 1–8. Use a new pair of disposable gloves for each patient that you swab.

STEP 1: Obtain Swab Kit

i) The Swab Kit is stored at room temperature.	
ii) Open Swab Kit pouch and remove all three swabs. **IMPORTANT:** • **Wear gloves when handling swabs.** • **Do not discard Swab Kit pouch. After sample collection, you will need to place the swabs back into the pouch.** • **Tear open the Swab Kit pouch slowly. This will prevent you from inadvertently dislodging a swab tip from a swab.**	

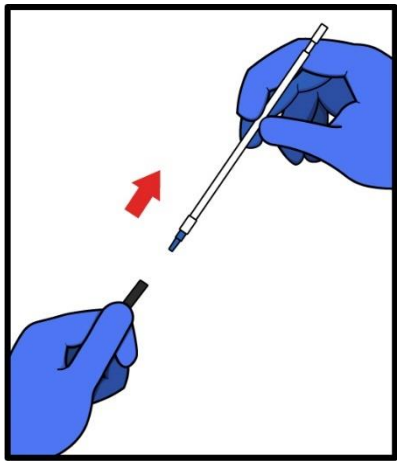
STEP 2: Remove Swab Cover

i) Pick up a swab in one hand and hold the white shaft like a pencil. The ideal position is halfway to three-quarters of the way away from the swab cover.

ii) With your other hand, remove the swab cover.

iii) Do not discard the swab cover. You will need to put it back on to the swab.

IMPORTANT: After removing cover from swab, ensure that blue swab tip does not accidentally contact any surface.*

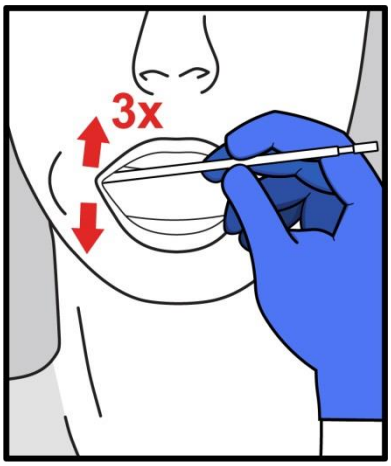


STEP 3: Collect Buccal Sample

i) Scrape the inside of the patient's cheek with the blue swab tip. Use three (3) up-and-down strokes (6 strokes in total). Apply equal pressure for up and down strokes.

IMPORTANT:

- **Apply the blue swab tip at a right angle to the inside of the cheek as though drawing vertical lines on the cheek with the swab tip.**
- **Use firm pressure to scrape inside of patient's cheek.**
- **The patient's cheek should be visibly pressed outwards to form a bulge.**

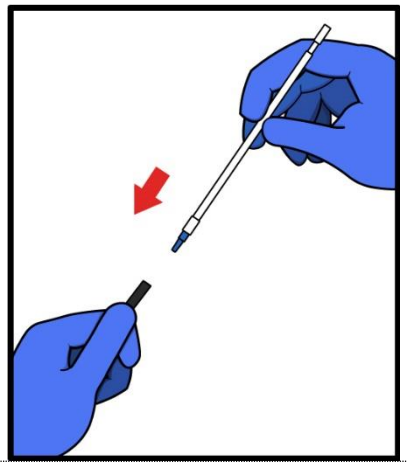


STEP 4: Replace swab cover

i) Put the cover back over the swab tip.

IMPORTANT: Ensure that the swab tip does not accidentally contact any surface, including your gloved hand.*

ii) Repeat Steps 2 through 4 (i) with the remaining two swabs.



iii) Record or affix the patient information on the Swab Kit pouch and return the swabs to the pouch.

STEP 5: Place Test Cartridge into Spartan Cube

i) The Test Kits contain a Test Cartridge inside a pouch with a barcode. Remove a Test Kit from your freezer.

ii) Log in to the Spartan Cube CYP2C19 user interface with your username and password.

iii) Select **Run a test** and proceed through the screens of the user interface.

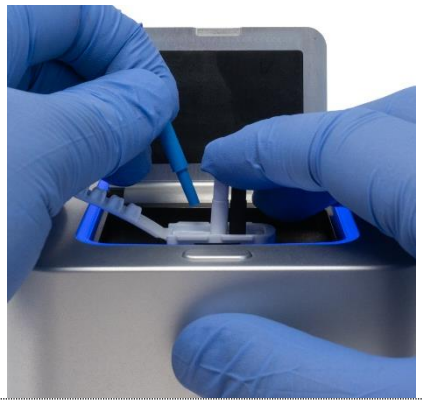
iv) Enter patient information into the appropriate fields.

v) Scan the barcode from the Test Kit pouch using the barcode scanner.

vi) Open the lid of the Spartan Cube.

vii) Place the Test Cartridge into the Spartan Cube.	

STEP 6: Insert Swab tip into Test Cartridge

i) Hold the Test Cartridge down with one hand and remove a stopper from the cartridge with the other hand. **IMPORTANT: Ensure nothing falls into the uncapped cartridge tube.***	
ii) Remove the swab cover from one of the buccal swabs used to swab the patient.	
iii) Insert the blue tip of the swab into the open cartridge tube. **IMPORTANT: To avoid loss of buccal material, avoid touching the swab tip to the sides of the cartridge.** **iv)** Grip swab shaft tightly with fingers. Place thumb on top of swab. Push down on the top of the swab with your thumb. The blue swab tip will be ejected into the cartridge tube. **v)** Repeat Steps 6(i) through 6(iv) for the remaining samples.	

vi) Close the Test Cartridge lid by sliding a finger or thumb across it.

STEP 7: Tap Test Cartridge to Mix Samples

i) Grasp the closed Test Cartridge between your thumb and forefinger and lift the cartridge from the Spartan Cube.

ii) Tap the tubes of the cartridge three times using a sweeping motion with the index finger of your free hand.

iii) Return the cartridge to the Cube and close the lid.

IMPORTANT: Tapping the cartridge facilitates contact between the liquid and the buccal material on the blue cap.

STEP 8: Start Test

iv) Select **Start** to begin the analysis.

IMPORTANT: Do not open lid of Spartan Cube during the test. Keep lid closed at all times unless loading or un-loading cartridges.

v) The test will finish in about an hour, at which time the results are displayed on the screen and can be exported and/or printed.	
vi) After the test is finished, open the Spartan Cube lid and slowly remove the Test Cartridge.	
vii) Discard the Test Cartridge in a sealed bag or tied off gloves. **IMPORTANT: <u>Never</u> open the Test Cartridge after it has been closed.** **IMPORTANT: Test Cartridges cannot be re-run.**	

***If you have accidentally touched the swab tip to an unintended object or believe for any other reason that the reaction has been contaminated with unintended material, discard the Swab Kit and/or Test Kit and recollect the buccal samples.**

EXTERNAL CONTROL PROCEDURE

Before beginning the External Control procedure, retrieve the External Control Kit from your freezer and bring it to the Spartan Cube.

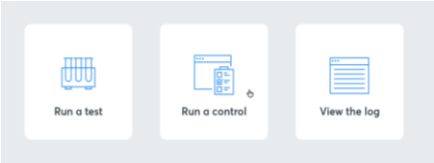
There are **3 steps** in performing the External Control procedure:

1. Prepare External Control Cartridge
2. Insert cartridge into Spartan Cube
3. Start run

IMPORTANT: Steps 1–3 for the External Control procedure must be performed within <u>15 minutes after removal from the freezer.</u>

IMPORTANT: Wear disposable gloves for performing Steps 1–3. Always wear a new pair of gloves when running External Control Kits. Do not use the same pair of gloves for running patient tests.

STEP 1: Prepare External Control

i) The External Control Kits contain a Control Cartridge inside a pouch with a barcode. Remove an External Control Kit from your freezer. **IMPORTANT: <u>Never</u> open External Control Cartridges at any time.**	
ii) Log in to Spartan Cube CYP2C19 user interface using your username and password.	
iii) Select **Run a Control** and proceed through the screens of the user interface.	
iv) Scan the barcodes on the External Control Kit pouch.	
v) Remove the External Control Cartridge from the pouch and allow it to thaw for about 2-3 minutes.	
vi) Tap the tubes of the cartridge three times using a sweeping motion with the index finger of your free hand.	

STEP 2: Place Control Cartridge into Spartan Cube	
i) Open the lid of the Spartan Cube.	
ii) Place the Control Cartridge into the Spartan Cube.	
iii) Close the lid of the Spartan Cube.	

STEP 3: Start Run	
i) Select **Start**.	
ii) The test will finish in about an hour, at which time the results are displayed on the screen and can be exported and/or printed.	
iii) After the test is finished, open the Spartan Cube lid and remove the Control Cartridge.	
iv) Discard the Control Cartridge in a sealed bag or tied off gloves.	

QUALITY CONTROL

All quality control requirements and testing should be performed in conformance with local, state, and/or federal regulations or accreditation requirements. Spartan recommends performing external controls based on test frequency. If testing daily, it is recommended to perform weekly external controls. If testing infrequently, it is recommended to perform external controls on the day of testing.

Internal Controls

The Spartan Cube CYP2C19 Assay has two internal controls that run automatically during each test:

- Internal Positive Control (IPC)
- Positive System Control (PSC)

The IPC measures fluorescence signals at the end of the run. It ensures that sufficient buccal sample was added to the reagent tube, and that the sample was correctly processed. If the IPC is triggered, the result will read INCONCLUSIVE. Please re-run the test using a new Swab Kit and Test Kit if this occurs.

The PSC assesses system performance at intermediate stages in the run and at the end of the run. It ensures that the Spartan Cube is working correctly and that the system and test are within acceptable performance limits. If the PSC is triggered at any time during the run, the test will abort and the screen will provide a warning message containing information about the status of the platform and how to proceed. If the PSC is triggered repeatedly, contact your distributor.

External Controls

The **EXTERNAL CONTROL KITS** are designed by Spartan Bioscience to determine if the Spartan Cube CYP2C19 Platform is performing correctly.

Each External Control Kit contains substances for DNA extraction, PCR amplification, and fluorescent detection of the CYP2C19 alleles, in three separate tubes. The mixture in each individual tube is for the specific detection of one of the three loci. The chemicals comprise four (4) synthetic oligonucleotides (1 set per locus), Taq DNA polymerase (1 reaction's worth per tube), DNA extraction and PCR-enabling liquid (1 reaction's worth per tube), and a synthetic DNA template. <u>It does not require anything to be added to it.</u>

It takes about 1 hour to run External Control Kits on the Spartan Cube CYP2C19 Platform. After a successful External Control test is finished, the External Control results will indicate a "PASS". If the External Control does not pass, the screen will indicate an External Control fail. Please run a new External Control if this occurs.

Spartan Bioscience recommends running External Control Kits under any of the following conditions:

- The IPC consistently generates inconclusive results.
- The PSC consistently generates warning messages.
- You are required to run External Controls in conformance with local, state, and/or federal regulations and/or accreditation requirements.

INTERPRETATION OF RESULTS

Spartan Cube CYP2C19 Assay

The Spartan Cube CYP2C19 Assay is designed to detect and genotype the CYP2C19*2, *3, and *17 alleles. At the end of a test, the assay report is presented on the screen and may be printed. It indicates which genotypes were detected in the buccal sample.

There are four possible outcomes detected for each CYP2C19 allele:

- CYP2C19*2
  - *1/*1 – Patient is not a carrier of *2 allele (wild-type)
  - *1/*2 – Patient carries one copy of *2 allele (heterozygous)
  - *2/*2 – Patient carries two copies of *2 allele (homozygous)
  - INCONCLUSIVE – System is unable to detect the *2 genotype

- CYP2C19*3
  - *1/*1 – Patient is not a carrier of *3 allele (wild-type)
  - *1/*3 – Patient carries one copy of *3 allele (heterozygous)
  - *3/*3 – Patient carries two copies of *3 allele (homozygous)
  - INCONCLUSIVE – System is unable to detect the *3 genotype

- CYP2C19*17
  - *1/*1 – Patient is not a carrier of *17 allele (wild-type)
  - *1/*17 – Patient carries one copy of *17 allele (heterozygous)
  - *17/*17 – Patient carries two copies of *17 allele (homozygous)
  - INCONCLUSIVE – System is unable to detect the *17 genotype

The above test outcomes are combined to produce a combined patient genotype call, which is indicated in the test results as detailed in the table below:

Table 3 – Test outcomes and combined patient genotype call

*2	*3	*17	Combined Genotype
*1/*1	*1/*1	*1/*1	***1/*1**
*1/*2	*1/*1	*1/*1	***1/*2**
*1/*1	*1/*3	*1/*1	***1/*3**
*1/*1	*1/*1	*1/*17	***1/*17**
*2/*2	*1/*1	*1/*1	***2/*2**
*1/*1	*3/*3	*1/*1	***3/*3**
*1/*1	*1/*1	*17/*17	***17/*17**
*1/*2	*1/*3	*1/*1	***2/*3**
*1/*2	*1/*1	*1/*17	***2/*17**
*1/*1	*1/*3	*1/*17	***3/*17**

Note that a *1/*1 genotype indicates only the absence of *2, *3, and *17 alleles. The Spartan Cube CYP2C19 Assay only genotypes CYP2C19 *2, *3, and *17, and no information is provided for other CYP2C19 alleles. Mutations in these undetected alleles may or may not be present in the buccal sample.

When the test result is INCONCLUSIVE, the test must be repeated with a new Swab Kit and Test Kit.

RESIDUAL RISKS AND LIMITATIONS

The Spartan Cube CYP2C19 Assay identifies only the CYP2C19 *2, *3, and *17 alleles and the corresponding polymorphisms. The Assay reports only the genotypes for these alleles. When the report lists the combined genotype as wild-type (*1/*1), only these alleles are wild-type.

The Spartan Cube CYP2C19 Assay provides no results for CYP2C19*4, *5, *6, *7, *8, and other alleles. Mutations in these alleles may or may not be present in the buccal sample.

The presence of the CYP2C19*10 allele can interfere with the test of the CYP2C19*2 allele; samples with the CYP2C19*10 genotype may yield an incorrect call by the Spartan Cube CYP2C19 Test, calling the result a *2. Both CYP2C19*2 and CYP2C19*10 are loss-of-function alleles.

There is a risk that the swab tip may fall off in the patient's mouth. If this occurs, immediately instruct the patient to remove the tip from their mouth and obtain a new swab kit to collect the sample.

Based upon published information, the genotype information provided by the Spartan Cube CYP2C19 Assay may be used by the clinician to predict an individual's CYP2C19 enzymatic activity. Clinicians should use caution and professional judgment in predicting phenotype and adjusting treatment strategy for patients who express *2, *3, and/or *17 alleles. The information provided from this test may supplement decision making and should only be used in conjunction with routine monitoring by a physician. Because of the variability in the knowledge of clinical utility with specific drugs that are metabolized by CYP2C19, clinicians should use professional judgement in the interpretation of results from this test. Results from this type of assay should not be used in predicting a patient's response to drugs for which the drug-metabolizing enzyme activity of that allele, or drug metabolic pathway, has not been clearly established.

PERFORMANCE CHARACTERISTICS

Inter-laboratory reproducibility

The performance of the Spartan Cube CYP2C19 System was evaluated at three clinical sites across five non-consecutive days per site. There was a total of six operators who participated in the study (two operators per site).

The reproducibility study tested eight individuals with the following genotypes: *1/*1, *1/*2, *2/*2, *1/*3, *2/*3, *1/*17, *17/*17, and *2/*17. The genotypes of all individuals were confirmed by bi-directional sequencing.

The operators involved in the study were three laboratory technicians/technologists, two nurses and a research student, who all completed the Spartan Cube CYP2C19 product training and did not have extensive experience with buccal swab collection. The results were generated from two swabbing sessions

(morning and afternoon) with each session split into two sub-sessions. In each sub-session, each subject was tested by Operator 1 and Operator 2, at each site. If the result of the first test for a particular individual was an inconclusive result, the test was repeated (second pass).

Overall, a total of six hundred and forty (640) tests were performed. Six (6) second pass tests were performed due to inconclusive results on the respective first pass test. After the second pass (one allowable retest) the six samples were resolved . After the combined first and second pass testing the Spartan Cube CYP2C19 product produced a correct call rate of 100%, with a 95% two-sided lower confidence limit of 99.6%.

Table 4a – Inter-laboratory reproducibility – Combined First and Second Pass Results

Sample Type [a]	Second Pass (Combined final)					
	# samples tested	# correct calls [b]	# incorrect calls	# no calls	Correct call rate (%)	95% Confidence Lower Limit (two-sided)
*1/*1	120	120	0	0	100	96.9
*1/*2	120	120	0	0	100	96.9
*1/*3	120	120	0	0	100	96.9
*1/*17	120	120	0	0	100	96.9
*17/*17	120	120	0	0	100	96.9
*2/*17	120	120	0	0	100	96.9
*2/*2	120	120	0	0	100	96.9
*2/*3	120	120	0	0	100	96.9
Total Samples (all sites, all lots)	**960**	**960**	**0**	**0**	**100**	**99.6**

[a]Genotype by bi-directional sequencing; *1/*1 samples are wild-type for *2, *3, and *17.
[b]In order for a sample to be deemed a correct all, results of all three genotypes (*2,*3,*17) had to be correct.

Test kit lot-to-lot reproducibility

The Spartan Cube CYP2C19 System uses a single test kit for detection of three CYP2C19 mutations (*2, *3, *17).

Lot-to-lot reproducibility was assessed using the three independent lots of test kits present at Site 1, Site 2 and Site 3 as follows:

- Test kit Lot A: Site 1 and 3
- Test kit Lot B: Site 1 and Site 2
- Test kit Lot C: Site 2 and 3

On the first pass, 6 samples (Lot A Site 1 and 3 (2), Lot B Site 2 (3), Lot C Site 3 (1)) produced inconclusive results. After the second pass (one allowable retest) the six samples were resolved . Overall, the results indicate that different reagent lots perform equivalently.

Table 5a – Test kit Lot-to-Lot Reproducibility – Combined first and second pass

Test Kit Reagent Lots	Sample Type [a]	Laboratory site	# samples tested	# correct calls [b]	# incorrect calls	# no calls	Correct call rate (%)	95% Confidence Lower Limit (two-sided)
Lot A	*1/*1	1 and 3	40	40	0	0	100	91.2
	*1/*2	1 and 3	40	40	0	0	100	91.2
	*1/*3	1 and 3	40	40	0	0	100	91.2
	*1/*17	1 and 3	40	40	0	0	100	91.2
	*17/*17	1 and 3	40	40	0	0	100	91.2
	*2/*17	1 and 3	40	40	0	0	100	91.2
	*2/*2	1 and 3	40	40	0	0	100	91.2
	*2/*3	1 and 3	40	40	0	0	100	91.2
	Total		**320**	**320**	**0**	**0**	**100**	**98.8**
Lot B	*1/*1	1 and 2	40	40	0	0	100	91.2
	*1/*2	1 and 2	40	40	0	0	100	91.2
	*1/*3	1 and 2	40	40	0	0	100	91.2
	*1/*17	1 and 2	40	40	0	0	100	91.2
	*17/*17	1 and 2	40	40	0	0	100	91.2
	*2/*17	1 and 2	40	40	0	0	100	91.2
	*2/*2	1 and 2	40	40	0	0	100	91.2
	*2/*3	1 and 2	40	40	0	0	100	91.2
	Total		**320**	**320**	**0**	**0**	**100**	**98.8**
Lot C	*1/*1	2 and 3	40	40	0	0	100	91.2
	*1/*2	2 and 3	40	40	0	0	100	91.2
	*1/*3	2 and 3	40	40	0	0	100	91.2
	*1/*17	2 and 3	40	40	0	0	100	91.2
	*17/*17	2 and 3	40	40	0	0	100	91.2
	*2/*17	2 and 3	40	40	0	0	100	91.2
	*2/*2	2 and 3	40	40	0	0	100	91.2
	*2/*3	2 and 3	40	40	0	0	100	91.2
	Total		**320**	**320**	**0**	**0**	**100**	**98.8**

[a]Genotype by bi-directional sequencing; *1/*1 samples are wild-type for *2, *3, and *17.
[b]In order for a sample to be deemed a correct all, results of all three genotypes (*2,*3,*17) had to be correct.

Method Comparison

The percent agreement of results from the Spartan Cube CYP2C19 product with bi-directional sequencing was assessed in a method comparison study. This study comprised two parts (A and B). In Part A, a total of six hundred and five (605) samples were tested using the Spartan Cube CYP2C19 product. These results were generated from ten (10) individuals' buccal material (DNA sample) collected across three different lots, by 3 operators. All results were compared to bi-directional sequencing at a third party qualified testing facility, to determine percent agreement (gentwenty DNA samples were verified using next-generation sequencing). For bi-directional sequencing, genomic DNA was extracted from saliva samples. The accuracy of the Spartan Cube CYP2C19 is 99.3% after one allowable rerun for data collected on both methods.

Table 6a – Method Comparison – Combined first and second pass results

Sample type[a]	Combined First and Second Pass (Final Call)					
	# samples tested	# inconclusive calls	# incorrect calls	# correct calls[b]	% correct call rate	95% Confidence Lower Limit (two-sided)
*1/*1	203	0	0	203	100	98.1
*1/*2	171	0	1[c]	170	99.4	96.8
*2/*2	34	0	0	34	100	89.8
*1/*17	110	1	1[d]	108	98.2	93.6
*17/*17	21	0	0	21	100	84.5
*2/*17	38	0	0	38	100	90.8
*2/*3	9	1	0	8	88.9	56.5
*1/*3	16	0	0	16	100	80.6
*3/*17	2	0	0	2	100	34.2
*3/*3	1	0	0	1	100	20.7
Total	**605**	**2**	**2**	**601**	**99.3**	**98.3**

[a]Genotype by bi-directional sequencing; *1/*1 samples are wild-type for *2, *3, and *17.
[b]In order for a sample to be deemed a correct all, results of all three genotypes (*2,*3,*17) had to be correct.
[c] Sample 0109, was tested on the Spartan Cube producing genotype call of *1/*17, which was concordant with the bi-directional sequencing result. The sample tested at the holding time of greater that 20 hours resulted in a combined genotype call of *1/*1. The genotypes of the swabber and sample loader (captive cap addition) are unknown. It is possible that genomic DNA introduced by these individuals could result in a shift from a *1/*17 to *1/*1 call if their genotype for S17 was a *1/*1. Exogenous DNA from individuals who collected or ran the sample cannot be excluded as a possible cause of the discordant result.
[d]Sample 0310 was switched with sample 0311 (operator error). Sample 0311 was excluded from the population according to the Phred score acceptance criteria. The bi-directional sequencing results generated clear signal which supported the operator error root cause.

In Part B of the Method comparison study, a total of 480 samples were tested from 34 individuals using the Spartan Cube CYP2C19 product. Part B of the study includes two subsections, in which samples were analyzed immediately after collection (<1 hour) or after storage for at least 20 hours (at room temperature) up to 28 h (>20h sample holding time). All results were compared to bi-directional sequencing to determine the percent agreement. For bi-directional sequencing, genomic DNA was extracted from saliva samples.

The ethnicity of the patient population was approximately representative of the North American population. If the result of the first test was an inconclusive result, the test was repeated (second pass). In the group with a sample hold time of < 1 h, fifteen (15) of the samples produced an inconclusive result for the first test and was resolved in the second pass testing. Of the 397 samples that were analyzed with a sample holding time of < 1 hour, 394 samples generated a correct result after second pass testing.

In the group with a >20 hours sample holding time, 208 samples were tested. There was one inconclusive call generated which was resolved in the second pass testing. Overall, of the 240 samples that were tested after a > 20h sample holding time, 239 samples generated a correct result after second pass testing.

The overall correct call rate after the second pass was 99.2% for samples with a holding time of <1 h, with a 95% lower confidence limit of 97.8%, and 99.5% for samples that had a holding time of >20 hour, with a 95% lower confidence limit of 97.3%.

Table 5: Sample Holding Time <1hour (hr)

Sample type[a]	**First Pass** (<1hr)						**Combined Second Pass (Final Call)** (<1hr)					
	# samples tested	# inconclusive calls	# incorrect calls	# correct calls[b]	% correct call rate	95% Confidence limit	# samples tested	# inconclusive calls	# incorrect calls	# correct calls[b]	% correct call rate	95% Confidence Lower Limit (two-sided)
*1/*1	136	3	0	133	97.8	93.7	136	0	0	136	100	97.3
*1/*2	117	3	1	113	96.6	91.5	117	0	1[c]	116	99.1	95.8
*2/*2	21	1	0	20	95.2	77.3	21	0	0	21	100	84.5
*1/*17	70	3	0	67	95.7	88.1	70	1	0	69	98.6	92.3
*17/*17	12	0	0	12	100	75.7	12	0	0	12	100	75.7
*2/*17	22	2	0	20	90.9	72.2	22	0	0	22	100	85.1
*2/*3	6	2	0	4	66.7	30.0	6	1	0	5	83.3	43.6
*1/*3	12	1	0	11	91.7	64.6	12	0	0	12	100	75.7
*3/*17	1	0	0	1	100	20.7	1	0	0	1	100	20.7
*3/*3	0	0	0	0	N/A	N/A	0	0	0	0	N/A	N/A
Total	**397**	**15**	**1**	**381**	**96.0**	**93.6**	**397**	**2**	**1**	**394**	**99.2**	**97.8**

[a]Genotype by bi-directional sequencing; *1/*1 samples are wild-type for *2, *3, and *17.

[b]In order for a sample to be deemed a correct all, results of all three genotypes (*2,*3,*17) had to be correct.

[c] Sample 0109, was tested on the Spartan Cube producing genotype call of *1/*17, which was concordant with the bi-directional sequencing result. The sample tested at the holding time of greater that 20 hours resulted in a combined genotype call of *1/*1. The genotypes of the swabber and sample loader (captive cap addition) are unknown. It is possible that genomic DNA introduced by these individuals could result in a shift from a *1/*17 to *1/*1 call if their genotype for S17 was a *1/*1. Exogenous DNA from individuals who collected or ran the sample cannot be excluded as a possible cause of the discordant result.

Table 6: Sample Holding Time >20hours (hrs)

Sample type[a]	First Pass (>20hrs)						Combined Second Pass (Final Call) (>20hrs)					
	# samples tested	# inconclusive calls	# incorrect calls	# correct calls[b]	% correct call rate	95% Confidence limit	# samples tested	# inconclusive calls	# incorrect calls	# correct calls[b]	% correct call rate	95% Confidence Lower Limit (two-sided)
*1/*1	67	0	0	67	100	94.6	67	0	0	67	100	94.6
*1/*2	54	0	0	54	100	93.4	54	0	0	54	100	93.4
*2/*2	13	0	0	13	100	77.2	13	0	0	13	100	77.2
*1/*17	40	0	1	39	97.5	87.1	40	0	1[d]	39	97.5	87.1
*17/*17	9	0	0	9	100	70.1	9	0	0	9	100	70.1
*2/*17	16	0	0	16	100	80.6	16	0	0	16	100	80.6
*2/*3	3	0	0	3	100	43.8	3	0	0	3	100	43.8
*1/*3	4	0	0	4	100	51.0	4	0	0	4	100	51.0
*3/*17	1	0	0	1	100	20.7	1	0	0	1	100	20.7
*3/*3	1	0	0	1	100	20.7	1	0	0	1	100	20.7
Total	**208**	**0**	**1**	**207**	**99.5**	**97.3**	**208**	**0**	**1**	**207**	**99.5**	**97.3**

[a]Genotype by bi-directional sequencing; *1/*1 samples are wild-type for *2, *3, and *17.
[b]In order for a sample to be deemed a correct all, results of all three genotypes (*2,*3,*17) had to be correct.
[d]Sample 0310 was switched with sample 0311 (operator error). Sample 0311 was excluded from the population according to the Phred score acceptance criteria. The bi-directional sequencing results generated clear signal which supported the operator error root cause

Table 6b: Method Comparison – Part B –sample holding time- FIRST PASS RESULTS

Sample Holding[a,b]	# samples tested	# inconclusive calls	# incorrect calls	# correct calls[a]	% correct call rate	95% Confidence Lower Limit (two-sided)
<1 h	**397**	**2**	**1**[c]	**394**	99.2%	97.8%
>20 hrs	**208**	**0**	**1**[d]	**207**	99.5%	97.3%

[a]Genotype by bi-directional sequencing; *1/*1 samples are wild-type for *2, *3, and *17.
[b]In order for a sample to be deemed a correct all, results of all three genotypes (*2,*3,*17) had to be correct.
[c] Sample 0109, was tested on the Spartan Cube producing genotype call of *1/*17, which was concordant with the bi-directional sequencing result. The sample tested at the holding time of greater that 20 hours resulted in a combined genotype call of *1/*1. The genotypes of the swabber and sample loader (captive cap addition) are unknown. It is possible that genomic DNA introduced by these individuals could result in a shift from a *1/*17 to *1/*1 call if their genotype for S17 was a *1/*1. Exogenous DNA from individuals who collected or ran the sample cannot be excluded as a possible cause of the discordant result.
[d]Sample 0310 was switched with sample 0311 (operator error). Sample 0311 was excluded from the population according to the Phred score acceptance criteria. The bi-directional sequencing results generated clear signal which supported the operator error root cause.

Analytical Sensitivity (Limit of Detection)

The relative amounts of DNA present in 120 individual buccal swabs, collected from 40 different individuals by 10 different operators, were determined. The distribution of this data is outlined graphically below (Figure 1). The mean DNA amount was deemed to be equivalent to one "typical" swab and all measurements were normalized to this value and presented as the number of swab equivalents.

The upper and lower limits of detection of the Spartan Cube CYP2C19 Assay were assessed by analysis of buccal swab samples collected from *1/*1, *2/*17, *17/*17, *1/*3, and *2/*3 individuals. Genotypes of all individuals were confirmed by bi-directional sequencing prior to initiation of the study. Five DNA collection conditions were used: 5 pooled buccal swabs; 2 pooled buccal swabs; a normal buccal swab; a single downward stroke (1 half stroke); and a single touch of the swab to the inside of the mouth. In

parallel, the amount of DNA in the swabs was quantified using SYBR Green, and this value was translated to the corresponding number of swabs relative to the mean of the population. Across the individuals, the 5 pooled swabs collection method resulted in an mean of 5.24 swabs; the 2 pooled swabs collection method resulted in an mean of 1.98 swabs; the 1 half stroke collection method resulted in an mean of 0.6 swab; and the inside the mouth touch collection method resulted in an mean of 0.28 swab.

For each condition, 52 replicates were performed to determine the rate of inconclusive calls and correct calls.

Figure 1 – Relationship between the normal swab population and the amount of material collected using the various swabbing techniques as outlined in the protocol. The corresponding average amount of genomic DNA (ng) collected using each swabbing technique is indicated on the right side of the graph. The amount of DNA in the swabs was quantified using SYBR Green, and this value was translated to the corresponding number of swabs relative to the mean of the population.

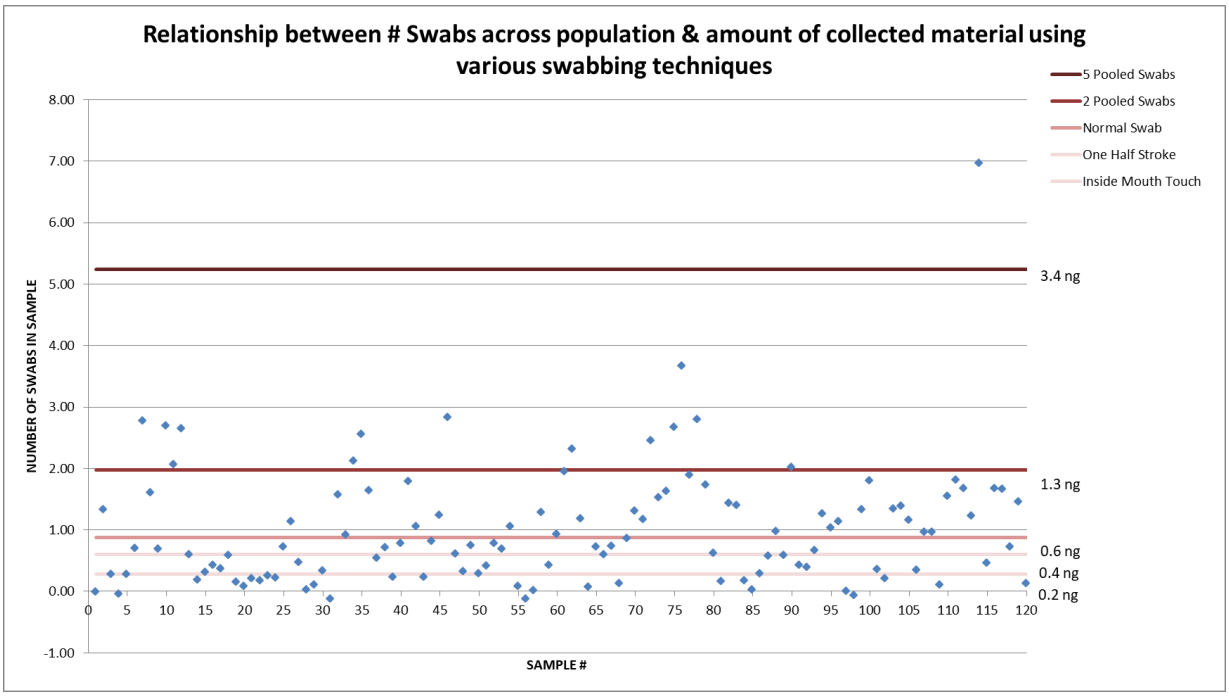


Table 7a – Limit of Detection – FIRST PASS RESULTS

Method	Genotype[a]	# Samples Tested	# Correct Calls[b]	# Incorrect Calls	# Inconclusive Calls	% Correct Calls	95% One-sided confidence lower limit
5 pooled swabs	*1/*1	13	11	0	2	84.6%	62.5%
	*2/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*17/*17	13	11	1	1	84.6%	62.5%
	*3-containing[#]	13	11	0	2	84.6%	62.5%
	Total	**52**	**46**	**1**	**5**	**88.4%**	**79.2%**
2 pooled swabs	*1/*1	13	12	0	1	92.3%	71.8%
	*2/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*17/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*3-containing[#]	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	Total	**52**	**51**	**0**	**1**	**98.1%**	**91.8%**
Normal Swab	*1/*1	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*2/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*17/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*3-containing[#]	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	Total	**52**	**52**	**0**	**0**	**100.0%**	**95.1%**
1 Half Stroke	*1/*1	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*2/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*17/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*3-containing[#]	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	Total	**52**	**52**	**0**	**0**	**100.0%**	**95.1%**
Inside Mouth Touch	*1/*1	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*2/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*17/*17	13	11	0	2	84.6%	62.5%
	*3-containing[#]	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	Total	**52**	**50**	**0**	**2**	**96.2%**	**89.0%**

[a]Genotype confirmed by bi-directional sequencing; *1/*1 samples are wild-type for *2, *3, and *17.
[b]In order for a sample to be deemed a correct call, results of all three genotypes (*2, *3, *17) had to be correct.
[#]Includes subjects with either *1/*3 or *2/*3 genotypes

Table 7b – Limit of Detection – SECOND PASS RESULTS

Method	Genotype[a]	# Samples Tested	# Correct Calls[b]	# Incorrect Calls	# Inconclusive Calls	% Correct Calls	95% One-sided confidence lower limit
5 pooled swabs	*1/*1	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*2/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*17/*17	13	12	1	0	92.3%	71.8%
	*3-containing[#]	13	12	0	1	92.3%	71.8%
	Total	**52**	**50**	**1**	**1**	**96.2%**	**89.0%**
2 pooled swabs	*1/*1	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*2/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*17/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*3-containing[#]	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	Total	**52**	**52**	**0**	**0**	**100.0%**	**95.1%**
Normal	*1/*1	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*2/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*17/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*3-containing[#]	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	Total	**52**	**52**	**0**	**0**	**100.0%**	**95.1%**
1 Half Stroke	*1/*1	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*2/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*17/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*3-containing[#]	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	Total	**52**	**52**	**0**	**0**	**100.0%**	**95.1%**
Inside Mouth Touch	*1/*1	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*2/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*17/*17	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	*3-containing[#]	13	13	0	0	100.0%	82.8%
	Total	**52**	**52**	**0**	**0**	**100.0%**	**95.1%**

[a]Genotype confirmed by bi-directional sequencing; *1/*1 samples are wild-type for *2, *3, and *17.
[b]In order for a sample to be deemed a correct call, results of all three genotypes (*2, *3, *17) had to be correct.
[#]Includes subjects with either *1/*3 or *2/*3 genotypes

The first pass correct call rate at input levels lower than 0.28 swab per test was 98.1%. Therefore, the lower limit of detection of the Spartan Cube CYP2C19 System is **0.28 swabs per test**. In the upper range of material being tested, the 2 pooled swabs condition produced all correct calls, therefore the system's upper limit of detection is **1.98 swabs per test**.

Interference

Interference from potential endogenous and exogenous interfering substances was evaluated using buccal swab samples collected from *1/*1, *2/*17, *17/*17, *1/*3, and *2/*3 individuals. Genotypes of all individuals were confirmed by bi-directional sequencing prior to initiation of the study. A total of 16 replicates were performed for each substance. To test the impact of exogenous substances, buccal swab samples were collected from individuals after exposure to the substance. If the result of the first test for a particular individual was inconclusive, the test was repeated (second pass). Results are reported based on the outcome of the first pass and second pass tests. The exogenous substances included in the study are detailed below. Buccal samples were collected from the individuals immediately after exposure to the substance.

- Antiseptic mouthwash - 20 ml – Rinse inside of mouth for 30 s
- Toothpaste - 1.9 cm Strip – Brush teeth for 2 min, spit
- Baking soda solution - 30 ml (0.1 g /ml) – Rinse inside of mouth for 10 s
- Cough syrup - 30 ml – Rinse inside of mouth for 10 s
- Cranberry juice - 30 ml – Rinse inside of mouth for 10 s
- Salt water - 30 ml (0.01 g/ml) – Rinse inside of mouth for 10 s
- Sugar water - 30 ml (0.01 g/ml) – Rinse inside of mouth for 10 s
- Meat - 15 g – Chew for 10 s
- Chewing gum - 1 typical piece – Chew for 1 min
- Hard candy - 1 typical piece – Suck until fully dissolved
- Tobacco smoking - 1 cigar – 5 puffs
- Denture paste - 3 strips – Apply strips to roof of mouth, leave for 5 min, remove

Direct exposure of individuals to endogenous substances was not possible. Approximately 9 x 10^4 cells of oral bacteria were added directly to the reagent tube immediately prior to insertion of the buccal swab sample. Blood was added to the assay by collecting the buccal swab sample and dipping it into a solution of blood in donor saliva (1.7% blood in donor saliva).

There was no interference detected from any of the exogenous or endogenous substances tested.

Table 8a – Exogenous and Endogenous Interfering Substances – FIRST PASS RESULTS

FIRST PASS						
Substance	**# Samples Tested**	**# Correct Calls**	**# Incorrect Calls**	**# Inconclusive Calls**	**% Correct Calls**	**95% one-sided confidence lower limit**
Mouthwash	16	16	0	0	100	85.5
Toothpaste	16	14	0	2	87.5	68.4
Baking Soda	16	16	0	0	100	85.5
Cough Syrup	16	16	0	0	100	85.5
Cranberry juice	16	16	0	0	100	85.5
Salt solution	16	16	0	0	100	85.5
Sugar solution	16	15	0	1	93.75	76.3
Horse meat	16	16	0	0	100	85.5
Chewing gum	16	16	0	0	100	85.5
Hard candy	16	16	0	0	100	85.5
Tobacco	16	15	0	1	93.75	76.3
Denture paste	16	16	0	0	100	85.5
Bacteria	16	15	0	1	93.75	76.3
Bacteria *(repeat 2020-06-25)*	16	16	0	0	100	85.5
Whole blood	16	16	0	0	100	85.5
Total	**240**	**235**	**0**	**5**	**97.9**	**95.8**

[a]In order for a sample to be deemed a correct call, results of all three genotypes (*2, *3, *17) had to be correct.

Table 8b - Exogenous and Endogenous Interfering Substances – SECOND PASS RESULTS

SECOND PASS						
Substance	**# Samples Tested**	**# Correct Calls**	**# Incorrect Calls**	**# Inconclusive Calls**	**% Correct Calls**	**95% one-sided confidence lower limit**
Mouthwash	16	16	0	0	100	85.5
Toothpaste	16	16	0	0	100	85.5
Baking Soda	16	16	0	0	100	85.5
Cough Syrup	16	16	0	0	100	85.5
Cranberry juice	16	16	0	0	100	85.5
Salt solution	16	16	0	0	100	85.5
Sugar solution	16	16	0	0	100	85.5
Horse meat	16	16	0	0	100	85.5
Chewing gum	16	16	0	0	100	85.5
Hard candy	16	16	0	0	100	85.5
Tobacco	16	16	0	0	100	85.5
Denture paste	16	16	0	0	100	85.5
Bacteria	16	16	0	0	100	85.5
Bacteria *(repeat 2020-06-25)*	16	16	0	0	100	85.5
Whole blood	16	16	0	0	100	85.5
Total	**240**	**240**	**0**	**0**	**100**	**98.9**

[a]In order for a sample to be deemed a correct call, results of all three genotypes (*2, *3, *17) had to be correct.

LICENSES AND PATENTS

Black Hole Quencher and CAL Fluor technologies are licensed pursuant to an agreement with Biosearch Technologies, Inc. (BTI). This product is sold under license from BTI.

Molecular Beacon technology is licensed pursuant to an agreement with the Public Health Research Institute (PHRI). This product is sold under license from PHRI.

This product is covered by US Patent Numbers 8,528,777; 8,735,104; 9,593,369 and other patents issued and pending by Spartan Bioscience worldwide.

TRADEMARKS

Spartan Bioscience Inc. is a registered trademark of Spartan Bioscience Inc. Microsoft Windows is a registered trademark of Microsoft Corporation in the United States and other countries. All other trademarks are the sole property of their respective owners.

REFERENCES

1. Desta Z et al. (2002). Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet*. 41(12): 913–958.

2. Sim SC 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.

3. Rudberg I et al. (2008). Impact of the ultrarapid CYP2C19*17 allele on serum concentration of escitalopram in psychiatric patients. *Clin Pharmacol Ther*. 83(2): 322–327.

4. https://www.pharmvar.org/gene/CYP2C19

5. Romkes M et al. (1991). Cloning and expression of complementary DNAs for multiple members of the human cytochrome P450IIC subfamily. *Biochemistry*. 30(13): 3247–3255.

6. Richardson TH 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(1): 87–96.

7. Blaisdell J et al. (2002). Identification and functional characterization of new potentially defective alleles of human CYP2C19. *Pharmacogenetics*. 12(9): 703–711.

8. de Morais SM et al. (1994). The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem*. 269(22): 15419–15422.

9. Ibeanu GC et al. (1998). Identification of new human CYP2C19 alleles (CYP2C19*6 and CYP2C19*2B) in a Caucasian poor metabolizer of mephenytoin. *J Pharmacol Exp Ther*. 286(3): 1490–1495.

10. Fukushima-Uesaka H et al. (2005). Genetic variations and haplotypes of CYP2C19 in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokinet*. 20(4): 300–307.

11. Lee S et al. (2009). Identification of new CYP2C19 variants exhibiting decreased enzyme activity in the metabolism of S-mephenytoin and omeprazole. *Drug Metab Dispos*. 37(11): 2262–2269.

Spartan Cube CYP2C19 System

Instrukcja użycia

Do diagnostyki *in vitro*

SPARTAN BIOSCIENCE INC.

2934 Baseline Road
Suite 500
Ottawa, Ontario K2H 1B2

SPIS TREŚCI

OGRANICZENIA DOTYCZĄCE GWARANCJI 37
TABELA SYMBOLI 38
PRZEZNACZENIE 39
WSKAZANIA 39
CZĘŚCI WCHODZĄCE W SKŁAD OZNACZENIA SPARTAN CUBE CYP2C19 ASSAY 39
INFORMACJE OGÓLNE 39
ZASADA TESTU / PODSTAWOWE INFORMACJE O OZNACZENIU 41
OPIS WYROBU 41
OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI 42
PRZECHOWYWANIE / STABILNOŚĆ 44
MATERIAŁY DOSTARCZONE Z OZNACZENIEM SPARTAN CUBE CYP2C19 ASSAY 44
MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE PRZEZ FIRMĘ SPARTAN BIOSCIENCE 45
SPRZĘT 45
SZKOLENIE 45
PROCEDURA OZNACZENIA 45
PROCEDURA KONTROLI ZEWNĘTRZNEJ 51
KONTROLA JAKOŚCI 53
INTERPRETACJA WYNIKÓW 54
RYZYKO RESZTKOWE I OGRANICZENIA 55
PARAMETRY SKUTECZNOŚCI 56
LICENCJE I PATENTY 67
ZNAKI TOWAROWE 67
PIŚMIENNICTWO 68

OGRANICZENIA DOTYCZĄCE GWARANCJI

FIRMA SPARTAN BIOSCIENCE INC. ZRZEKA SIĘ ODPOWIEDZIALNOŚCI ZA WSZELKIE GWARANCJE, WYRAŻONE LUB DOROZUMIANE, W ODNIESIENIU DO TEGO DOKUMENTU, W TYM MIĘDZY INNYMI GWARANCJĘ PRZYDATNOŚCI HANDLOWEJ LUB PRZYDATNOŚCI DO OKREŚLONEGO CELU. W ŻADNYM WYPADKU FIRMA SPARTAN BIOSCIENCE INC. NIE PONOSI ODPOWIEDZIALNOŚCI, CZY TO W OPARCIU O UMOWĘ, DELIKT, GWARANCJĘ, CZY TEŻ NA MOCY JAKIEJKOLWIEK USTAWY LUB NA JAKIEJKOLWIEK INNEJ PODSTAWIE, ZA SPECJALNE, UBOCZNE, POŚREDNIE LUB WTÓRNE SZKODY ANI ODPOWIEDZIALNOŚCI Z TYTUŁU ODSZKODOWANIA RETORSYJNEGO LUB WIELOKROTNEGO WYNIKAJĄCEJ Z NINIEJSZEGO DOKUMENTU LUB POWSTAŁEJ W ZWIĄZKU Z NIM, W TYM MIĘDZY INNYMI ODPOWIEDZIALNOŚCI ZA JEGO WYKORZYSTANIE.

TABELA SYMBOLI

W tym dokumencie oraz na produkcie pojawiają się symbole. Poniższa tabela przedstawia te symbole oraz krótki opis znaczenia każdego z nich.

Tabela 1 — symbole

	Ostrzeżenie, niebezpieczeństwo — ten symbol wskazuje, że nieprzestrzeganie instrukcji lub procedur może prowadzić do obrażeń fizycznych, a nawet zgonu, lub może uszkodzić urządzenie.
	Ważna uwaga — ten symbol służy do zwrócenia uwagi użytkownika na ważną informację.
	Zagrożenie biologiczne — ten symbol wskazuje, że podczas pracy z materiałem potencjalnie zakaźnym należy podjąć szczególne środki ostrożności.
	Ten symbol wskazuje producenta wyrobu lub elementu systemu.
	Data produkcji.
	Produktów oznaczonych tym symbolem nie należy używać ponownie (produktu można używać tylko jeden raz).
	Użyć do (wskazuje datę ważności produktu).
	Przed kontynuowaniem czynności zapoznać się z dokumentacją.
−80°C ⅊ −15°C	Produkt należy transportować i przechowywać w temperaturze od -80°C do -15°C.
REF	Numer części lub numer katalogowy.
LOT	Numer serii produktu.
Σ	Materiał wystarcza do wykonania N testów.
IVD	Diagnostyka in vitro (wskazuje, że materiał jest wyrobem przeznaczonym do diagnostyki in vitro lub częścią wyrobu przeznaczonego do diagnostyki in vitro).
℞	Wyłącznie na receptę.

PRZEZNACZENIE

System Spartan Cube CYP2C19 System to jakościowy test diagnostyczny *in vitro* przeznaczony do identyfikacji genotypów CYP2C19*2, *3 i *17 u pacjenta na podstawie genomowego DNA uzyskanego z próbki wymazu policzkowego.

℞ Wyłącznie na receptę.

WSKAZANIA

Oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay — system Spartan Cube CYP2C19 System jest wskazany do stosowania pomocniczo przez lekarzy ustalających strategię terapeutyczną w przypadku leków metabolizowanych przez produkt genu kodującego cytochrom P450 2C19 i leków, na których metabolizm szczególnie wpływają allele *2, *3 i *17. Oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay będzie wykonywane na platformie Spartan Cube CYP2C19 Platform przy użyciu wymazu policzkowego pobranego za pomocą wymazówki Spartan. Oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay nie jest przeznaczone do przewidywania odpowiedzi na lek lub jej braku.

Platforma Spartan Cube CYP2C19 Platform — system Spartan Cube CYP2C19 System jest wskazany do stosowania pomocniczo przez lekarzy ustalających strategię terapeutyczną w przypadku leków metabolizowanych przez produkt genu kodującego cytochrom P450 2C19 i leków, na których metabolizm szczególnie wpływają allele *2, *3 i *17. Platforma Spartan Cube CYP2C19 Platform będzie używana do wykonywania oznaczenia Spartan Cube CYP2C19 Assay.

CZĘŚCI WCHODZĄCE W SKŁAD OZNACZENIA SPARTAN CUBE CYP2C19 ASSAY

REF W skład systemu Spartan Cube CYP2C19 System wchodzi oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay i platforma Spartan Cube CYP2C19 Platform. Oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay jest wykonywane przy użyciu wymazówki Spartan na platformie Spartan Cube CYP2C19 Platform. Ta instrukcja użycia dotyczy oznaczenia Spartan Cube CYP2C19 Assay.

	Numer części
Oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay	ASM-00095
Zestaw testowy Test Kit	ASM-00101
Zestaw wymazówek Swab Kit	ASM-00103
Zestaw kontroli zewnętrznej External Control Kit	ASM-00099

INFORMACJE OGÓLNE

Aktywność enzymów metabolizujących leki różni się międzyosobniczo. Ta zmienność jest jednym z głównych powodów zróżnicowanej odpowiedzi na ten sam lek u poszczególnych osób. Cytochrom CYP450 2C19 (CYP2C19) to enzym metabolizujący leki w wątrobie, który bierze udział w metabolizmie i rozkładzie wielu powszechnie przepisywanych leków, w tym antydepresantów, leków przeciwpadaczkowych, barbituranów, inhibitorów pompy protonowej i leków przeciwpłytkowych.

Polimorfizmy genu CYP2C19 są powszechne i mogą skutkować występowaniem różnego poziomu aktywności enzymatycznej — od wolnego do ultraszybkiego metabolizmu. U osób z genotypem prowadzącym do wolnego lub zmniejszonego metabolizmu leków mogą być obserwowane inne stężenia leków niż u osób z metabolizmem prawidłowym. W związku z tym u takich osób konieczne może być zastosowanie alternatywnych strategii terapeutycznych w przypadku leków metabolizowanych przez cytochrom CYP2C19.

Allel CYP2C19*1 warunkuje w pełni funkcjonalną aktywność enzymatyczną. Allele CYP2C19*2 i *3 warunkujące utratę funkcji kodują niefunkcjonalne białka, które nie mają aktywności enzymatycznej. Osoba z dwoma allelami warunkującymi utratę funkcji jest klasyfikowana jako osoba wolno metabolizująca leki. Osoba z jednym allelem warunkującym utratę funkcji jest klasyfikowana jako osoba ze zmniejszonym metabolizmem leków. Allele CYP2C19*2 i *3 odpowiadają za zdecydowaną większość fenotypów osób wolno metabolizujących leki. Częstość występowania poszczególnych alleli warunkujących te mutacje jest bardzo zróżnicowana między różnymi grupami etnicznymi, od 2%–5% w populacjach kaukaskich i afrykańskich do 13%–23% w populacjach azjatyckich[1].

Allel CYP2C19*17 powiązano z ultraszybką aktywnością enzymu CYP2C19. Leży on w regionie regulatorowym URR genu CYP2C19 i wzmaga transkrypcję produktu genowego[2, 3]. Allel występuje z częstością 18% w populacji szwedzkiej i etiopskiej, 27% w populacji polskiej i 4% w populacji chińskiej[3].

Oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 identyfikuje allele **CYP2C19*2**, **CYP2C19*3** i **CYP2C19*17**. W poniższej tabeli wymieniono allele rozpoznawane przez oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay, polimorfizm dla każdego allelu, aktywność enzymatyczną oraz publikacje źródłowe[4].

Tabela 2 — allele rozpoznawane przez oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay

Allel CYP2C19	Polimorfizm rozpoznawany przez oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay	Aktywność enzymatyczna	Piśmiennictwo
*1[a]	Brak[a]	Prawidłowa	Romkes (1991), Richardson (1995), Blaisdell (2002)
*2	19154G>A	Brak	de Morais (1994), Ibeanu (1998), Fukushima-Uesaka (2005), Lee (2009)
*3	17948G>A	Brak	de Morais (1994), Fukushima-Uesaka (2005)
*17	-806C>T	Zwiększona	Sim (2006), Rudberg (2008)

a. Genotyp *1 wykryty przez oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay wskazuje tylko brak obecności alleli *2, *3 i *17.

Z brakiem aktywności enzymatycznej lub zmniejszoną aktywnością enzymatyczną mogą wiązać się także inne allele, ale występują one znacznie rzadziej niż allele CYP2C19*2 i *3. Oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay udostępnia informacje wyłącznie o allelach *2, *3 i *17.

W przypadku próbek pobranych od osób z genotypem CYP2C19*10 oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay może wygenerować nieprawidłowy wynik, wskazując na obecność allelu *2. Oba te allele, CYP2C19*2 i CYP2C19*10, to allele warunkujące utratę funkcji.

ZASADA TESTU / PODSTAWOWE INFORMACJE O OZNACZENIU

W skład systemu Spartan Cube CYP2C19 System wchodzą:

- oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay;
- platforma Spartan Cube CYP2C19 Platform.

Oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay to szybki, zautomatyzowany, diagnostyczny test *in vitro* przeznaczony do identyfikacji alleli CYP2C19*2, *3 i *17. Oznaczenie jest wykonywane na platformie Spartan Cube CYP2C19 Platform.

Protokół oznaczenia składa się z następujących procesów głównych:

a. pobranie ludzkiego DNA genomowego za pomocą wymazówki;
b. izolacja DNA;
c. amplifikacja wyizolowanego DNA w reakcji PCR;
d. wykrywanie produktów amplifikacji otrzymanych w reakcji PCR przy użyciu fluorescencyjnych sond oligonukleotydowych;
e. wykrywanie i analiza sygnałów fluorescencyjnych (określenie obecności genotypów CYP2C19*2, *3 i *17 lub ich braku);
f. drukowanie wyników.

Kroki od (b) do (e) są wykonywane automatycznie przez system Spartan Cube CYP2C19 System.

OPIS WYROBU

Oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay jest wykonywane na platformie Spartan Cube CYP2C19 Platform.

Test Spartan Cube CYP2C19 Test składa się z **ZESTAWU WYMAZÓWEK** i **ZESTAWU TESTOWEGO** przeznaczonego do identyfikacji alleli CYP2C19*2, *3 i *17.

Każdy zestaw wymazówek zawiera **TOREBKĘ**, w której znajdują się trzy wymazówki. Na torebce naklejona jest etykieta, na której można zapisać informacje, takie jak dane pacjenta, data pobrania próbki itd.

WYMAZÓWKA służy do pobrania wymazu policzkowego z wewnętrznej części policzka pacjenta i przeniesienia go do kasety testowej.

Każdy zestaw testowy zawiera **KASETĘ TESTOWĄ** z substancjami przeznaczonymi do izolacji DNA, amplifikacji podczas reakcji PCR i wykrywania sygnałów fluorescencyjnych odpowiadających allelom CYP2C19 (w trzech różnych probówkach). Każda probówka zawiera mieszaninę umożliwiającą wykrycie jednego z trzech loci. Substancje chemiczne to cztery (4) syntetyczne oligonukleotydy (1 zestaw na locus), polimeraza DNA Taq (ilość przeznaczona dla 1 reakcji na probówkę) oraz roztwór przeznaczony do izolacji DNA i umożliwiający zajście reakcji PCR (ilość przeznaczona dla 1 reakcji na probówkę).

W skład platformy **SPARTAN CUBE CYP2C19 PLATFORM** wchodzą:

- urządzenie Spartan Cube;
- komputer;
- drukarka;
- skaner kodów kreskowych.

Instrukcję obsługi platformy Spartan Cube CYP2C19 Platform zawiera dokument Spartan Cube CYP2C19 Platform — podręcznik operatora (numer dokumentu CUS-00045).

SPARTAN CUBE to urządzenie, które umożliwia wykonanie oznaczenia Spartan Cube CYP2C19 Assay w sposób zautomatyzowany. W urządzeniu wykonywane są następujące kroki:

- izolacja ludzkiego DNA genomowego z próbki wymazu policzkowego wewnątrz probówki z odczynnikami;
- wykonywanie cykli termicznych podczas reakcji PCR;
- optyczne wykrywanie sygnałów fluorescencyjnych generowanych przez sondy oligonukleotydowe, które przyłączają się do amplikonów PCR;
- zautomatyzowana analiza sygnałów fluorescencyjnych i generowanie wyniku genotypu.

KOMPUTER służy jako interfejs użytkownika do logowania się do platformy Spartan Cube CYP2C19 Platform, wprowadzania danych pacjenta i innych informacji związanych z testem, automatycznego wprowadzania numerów serii zestawów testowych oraz rozpoczynania testu.

DRUKARKI można użyć do wydrukowania wyników genotypu po wykonaniu oznaczenia Spartan Cube CYP2C19 Assay na platformie Spartan Cube CYP2C19 Platform.

Zestawy **KONTROLI ZEWNĘTRZNEJ** są przeznaczone do kontroli prawidłowego działania platformy Spartan Cube CYP2C19 Platform.

Każdy zestaw kontroli zewnętrznej zawiera **KASETĘ KONTROLNĄ** z substancjami przeznaczonymi do izolacji DNA, amplifikacji podczas reakcji PCR i wykrywania sygnałów fluorescencyjnych odpowiadających allelom CYP2C19 (w trzech różnych probówkach). Każda probówka zawiera mieszaninę umożliwiającą wykrycie jednego z trzech loci. Substancje chemiczne to cztery (4) syntetyczne oligonukleotydy (1 zestaw na locus), polimeraza DNA Taq (ilość przeznaczona dla 1 reakcji na probówkę), roztwór przeznaczony do izolacji DNA i umożliwiający zajście reakcji PCR (ilość przeznaczona dla 1 reakcji na probówkę) oraz syntetyczna matryca DNA. Kaseta jest wyjmowana z opakowania i wkładana bezpośrednio do urządzenia Spartan Cube zgodnie z procedurą dotyczącą kontroli zewnętrznej (patrz niżej). Kaseta zestawu kontroli zewnętrznej nigdy nie jest otwierana.

Wszystkie wymagania dotyczące kontroli jakości i procedury testowe powinny być zgodne z przepisami lokalnymi, regionalnymi i krajowymi, jak również z wymogami akredytacji.

OSTRZEŻENIA I ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

Wymogi dotyczące postępowania z produktem

- Do diagnostyki *in vitro*.
- Produkt jest przeznaczony do użytku przez wykwalifikowany personel.
- Oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay jest przeznaczone do wykonywania wyłącznie z wymazami policzkowymi pobranymi przy użyciu wymazówki Spartan dostarczonej w zestawie wymazówek.
- Wymazy policzkowe należy pobrać i przetestować przed upływem czasu określonego w procedurze oznaczenia.
- Wszystkie próbki pacjentów potencjalnie stwarzają zagrożenie. Podczas postępowania z materiałami pochodzenia ludzkiego należy zachować ostrożność.

- Nie używać wymazówki z zestawu wymazówek w przypadku oznak uszkodzenia.
- Nie używać kasety z zestawu testowego w przypadku oznak uszkodzenia.
- Nie używać przeterminowanych zestawów testowych ani zestawów kontroli zewnętrznej.
- Przechowywać zestawy testowe i zestawy kontroli zewnętrznej w temperaturze od -15°C do -80°C w oryginalnym opakowaniu. Firma Spartan Bioscience zaleca przechowywanie zestawów w tylnej części zamrażarki. Zapobiega to narażeniu zestawów na temperaturę pokojową podczas otwierania drzwi zamrażarki.
- Zestawy testowe i zestawy kontroli zewnętrznej są przeznaczone do jednorazowego użytku.

⚠ Środki kontroli zanieczyszczeń

- Podczas pracy z wymazówkami lub kasetami należy **zawsze** nosić rękawiczki jednorazowe. Zapobiega to zanieczyszczeniu oznaczenia materiałem DNA użytkownika.
- **Nigdy** nie należy otwierać kasety po rozpoczęciu testu w urządzeniu Spartan Cube. Otwarcie kasety po ukończeniu testu może spowodować zanieczyszczenie środowiska zamplifikowanym DNA. Może to doprowadzić do uzyskania nieprawidłowych wyników kolejnych testów.
- Po ukończeniu testu należy wyrzucić kasetę w zamkniętym worku lub rękawiczce. W rzadkich przypadkach może dojść do otwarcia pokrywy kasety. Należy wtedy **niezwłocznie** zamknąć pokrywę i wyrzucić kasetę w zamkniętym worku lub rękawiczce.
- **Nigdy** nie należy otwierać kasety z zestawu kontroli zewnętrznej. Zestaw kontroli zewnętrznej zawiera syntetyczną matrycę DNA. Otwarcie kasety z zestawu kontroli zewnętrznej może spowodować zanieczyszczenie środowiska tą syntetyczną matrycą. Może to doprowadzić do uzyskania nieprawidłowych wyników kolejnych testów.

Procedury laboratoryjne

- Przestrzegać standardowych środków ostrożności obowiązujących podczas pracy z odczynnikami laboratoryjnymi.
- Przestrzegać procedur laboratoryjnych w zakresie bezpieczeństwa: nosić odzież ochronną (tj. rękawiczki jednorazowe), nie jeść, nie pić ani nie palić w laboratorium ani w miejscach, w których przygotowywany jest test; dokładnie umyć ręce po wykonaniu czynności związanych z wymazami policzkowymi i probówkami z odczynnikami.

☣ Postępowanie z odpadami

- Wszystkie zużyte elementy oznaczenia, w tym wymazówki, probówki z odczynnikami, wymazy policzkowe oraz odpady, należy wyrzucić jako odpady stwarzające zagrożenie biologiczne zgodnie z przepisami lokalnymi, regionalnymi i krajowymi.
- Firma Spartan Bioscience udostępnia karty charakterystyk (Safety Data Sheet, SDS) na życzenie.

⚠ Platforma Spartan Cube CYP2C19 Platform

- Przed rozpoczęciem obsługi platformy Spartan Cube CYP2C19 Platform należy zapoznać się z dokumentem Spartan Cube CYP2C19 Platform — podręcznik operatora (CUS-00045).
- Przestrzegać informacji podanych w części „Ostrzeżenia i środki ostrożności” podręcznika operatora.
- Przed instalacją platformy Spartan Cube CYP2C19 Platform należy zapoznać się z częścią „Wymagania dotyczące obsługi”.
- W przypadku napotkania problemów należy zapoznać się z częścią „Rozwiązywanie problemów”.

PRZECHOWYWANIE / STABILNOŚĆ

⚠ Zestawy testowe i zestawy kontroli zewnętrznej są transportowane w stanie zamrożonym i mogą być transportowane na suchym lodzie. Suchy lód może spowodować poważne odmrożenia nawet przy kilkusekundowym kontakcie. Unikać kontaktu ze skórą i oczami. Zawsze nosić rękawiczki. Nigdy nie pracować gołymi rękami. Nie spożywać. Nie używać w obszarach zamkniętych. Suchy lód uwalnia opary dwutlenku węgla, które mogą doprowadzić do uduszenia. Aby usunąć suchy lód, należy pozostawić go w dobrze wentylowanym miejscu w celu sublimacji.

Po otrzymaniu zestawów testowych i/lub zestawów kontroli zewnętrznej należy sprawdzić zawartość opakowania i upewnić się, że odczynniki pozostawały zamrożone i miały temperaturę poniżej -15°C podczas transportu. W przypadku podejrzenia narażenia zestawów testowych na nieprawidłową temperaturę należy skontaktować się z dystrybutorem.

−80°C ⁄ −15°C Zestawy testowe i zestawy kontroli zewnętrznej należy przechowywać w zamrażarce z funkcją rozmrażania ręcznego (czyli takiej, która **nie jest** wyposażona w technologię Frost Free) w temperaturze od -15°C do -80°C. Firma Spartan Bioscience zaleca przechowywanie zestawów w tylnej części zamrażarki w oryginalnym opakowaniu. Zapobiega to narażeniu zestawów na temperaturę pokojową podczas otwierania drzwi zamrażarki.

Zestawy testowe i zestawy kontroli zewnętrznej przechowywane w takich warunkach zachowują stabilność do daty ważności określonej na etykiecie produktu.

Nie wyciągać zestawów testowych i zestawów kontroli zewnętrznej z zamrażarki do czasu wykonania testu.

MATERIAŁY DOSTARCZONE Z OZNACZENIEM SPARTAN CUBE CYP2C19 ASSAY

REF Oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay (ASM-00095)

Każdy test Spartan Cube CYP2C19 Test składa się z dwóch elementów:

- zestaw wymazówek Spartan Cube CYP2C19 Swab Kit (zawiera trzy wymazówki do wymazów policzkowych; ASM-00104);
- zestaw testowy Spartan Cube CYP2C19 Test Kit (zawiera jedną kasetę testową; ASM-00092).

Każdy zestaw kontroli zewnętrznej External Control Kit (ASM-00093) zawiera:

- kasetę kontroli zewnętrznej.

Firma Spartan Bioscience sprzedaje zestawy kontroli zewnętrznej, które mogą być używane wyłącznie z oznaczeniem Spartan Cube CYP2C19 Assay.

MATERIAŁY WYMAGANE, ALE NIEDOSTARCZANE PRZEZ FIRMĘ SPARTAN BIOSCIENCE

- Rękawiczki jednorazowe
- Standardowy papier do drukarki (8,5 cala x 11 cali)

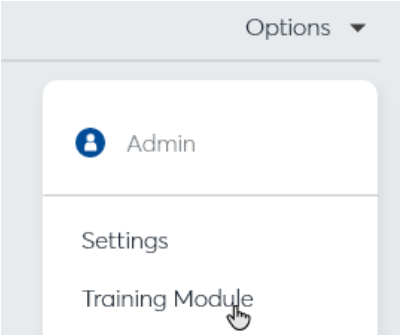
SPRZĘT

REF Do wykonania oznaczenia Spartan Cube CYP2C19 Assay wymagana jest platforma Spartan Cube CYP2C19 Platform (ASM-00096).

SZKOLENIE

⚠ Firma Spartan zaleca ukończenie modułu szkoleniowego przez wszystkich użytkowników przed wykonaniem jakichkolwiek testów lub kontroli w systemie Spartan Cube CYP2C19 System. Moduł szkoleniowy składa się z filmu wideo, praktycznego omówienia procedury oraz testu wiedzy. Po ukończeniu modułu szkoleniowego użytkownik otrzymuje certyfikat ukończenia szkolenia, który można wydrukować. Administrator może również uzyskać do niego później dostęp na komputerze.

Aby uzyskać dostęp do modułu szkoleniowego, należy wybrać opcję **Options** (Opcje) w prawym górnym narożniku ekranu głównego, a następnie wybrać opcję **Training Module** (Moduł szkoleniowy). Oprogramowanie poprowadzi użytkownika przez różne elementy szkolenia.



PROCEDURA OZNACZENIA

Wykonanie oznaczenia Spartan Cube CYP2C19 Assay przebiega w **8 krokach**:

- **Kroki 1–4:**
  1. Odszukanie zestawu wymazówek.
  2. Zdjęcie osłony z wymazówki.
  3. Pobranie wymazu policzkowego.
  4. Założenie osłony na wymazówkę.
- **Kroki 5–8:**
  5. Włożenie kasety testowej do urządzenia Spartan Cube.
  6. Włożenie końcówki wymazówki do kasety testowej.
  7. Ostukanie kasety testowej w celu wymieszania próbek.
  8. Uruchomienie testu.

Uwaga: Kroki 2–4 i 5–6 należy wykonać dla wszystkich trzech wymazówek dostarczonych w zestawie wymazówek.

WAŻNE:
Ważne jest, aby przestrzegać następujących ograniczeń czasowych:

- Po wyjęciu zestawu testowego z zamrażarki należy rozpocząć test w ciągu **15 minut**.
- Po pobraniu wymazu policzkowego należy rozpocząć test w ciągu **20 godzin.**

WAŻNE: Podczas wykonywania czynności opisanych w krokach 1–8 należy nosić rękawiczki jednorazowe. W przypadku każdego pacjenta, od którego pobierany jest wymaz, należy użyć nowej pary rękawiczek jednorazowych.

KROK 1: Odszukanie zestawu wymazówek

i) Zestaw wymazówek jest przechowywany w temperaturze pokojowej.	
ii) Otworzyć torebkę zestawu wymazówek i wyjąć wszystkie trzy wymazówki. **WAŻNE:** • **Podczas pracy z wymazówkami należy nosić rękawiczki.** • **Nie wyrzucać torebki zestawu wymazówek. Po pobraniu próbek należy włożyć wymazówki z powrotem do torebki.** • **Torebkę zestawu wymazówek należy rozrywać powoli. Zapobiega to przypadkowemu odłączeniu końcówki wymazówki od wymazówki.**	

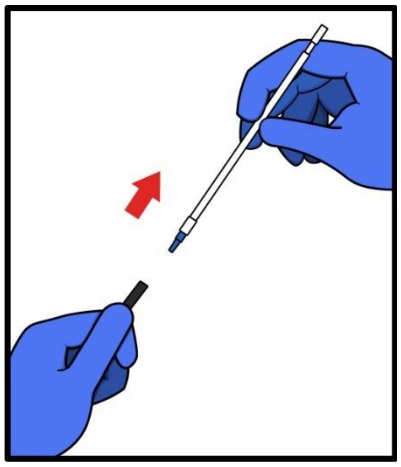
KROK 2: Zdjęcie osłony z wymazówki

i) Unieść wymazówkę jedną ręką i chwycić biały trzonek jak ołówek. Idealna pozycja to od połowy do trzech czwartych odległości od osłony wymazówki.

ii) Zdjąć osłonę wymazówki drugą ręką.

iii) Nie wyrzucać osłony wymazówki. Konieczne będzie założenie jej z powrotem na wymazówkę.

WAŻNE: Po zdjęciu osłony z wymazówki należy uważać, aby nie dotknąć niebieską końcówką wymazówki żadnej powierzchni*.

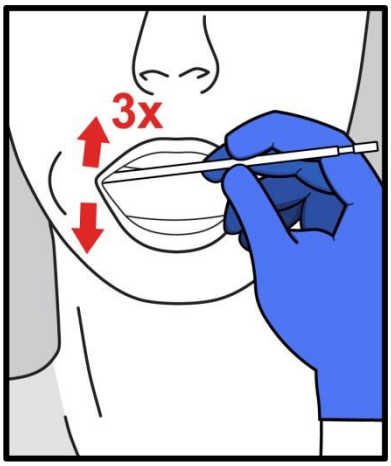


KROK 3: Pobranie wymazu policzkowego

i) Potrzeć wewnętrzną stronę policzka pacjenta niebieską końcówką wymazówki. Poruszać wymazówką trzy (3) razy w górę i w dół (łącznie 6 ruchów). Przykładać równomierny nacisk podczas ruchów w górę i w dół.

WAŻNE:

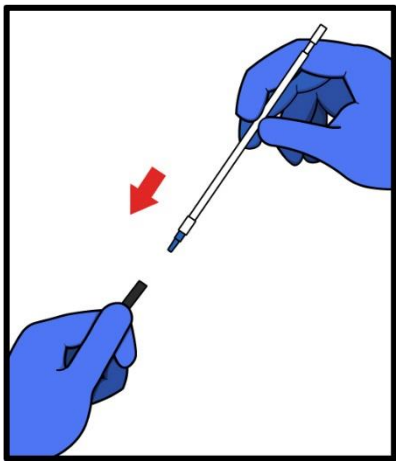
- **Niebieską końcówkę wymazówki należy przyłożyć pod kątem prostym do wewnętrznej strony policzka, tak aby móc „rysować" pionowe linie na policzku za pomocą końcówki wymazówki.**
- **Pewnie dociskać końcówkę wymazówki podczas pocierania wewnętrznej strony policzka.**
- **Podczas pocierania policzek pacjenta powinien być wyraźnie uwydatniony na zewnątrz, tworząc wypukłość.**



KROK 4: Założenie osłony na wymazówkę

i) Założyć osłonę z powrotem na wymazówkę.

WAŻNE: Należy uważać, aby nie dotknąć końcówką wymazówki żadnej powierzchni, w tym rękawiczki*.



ii) Powtórzyć kroki od 2 do 4 (i) dla pozostałych dwóch wymazówek.

iii) Zapisać dane pacjenta lub przykleić etykietę z danymi pacjenta na torebce zestawu wymazówek i włożyć wymazówki do torebki.

KROK 5: Włożenie kasety testowej do urządzenia Spartan Cube

i) W skład zestawów testowych wchodzi kaseta testowa umieszczona wewnątrz torebki z kodem kreskowym. Wyjąć zestaw testowy z zamrażarki.

ii) Zalogować się do interfejsu użytkownika urządzenia Spartan Cube CYP2C19, używając nazwy użytkownika i hasła.

iii) Wybrać opcję **Run a test** (Rozpocznij test) i przejść przez kolejne ekrany wyświetlane w interfejsie użytkownika.

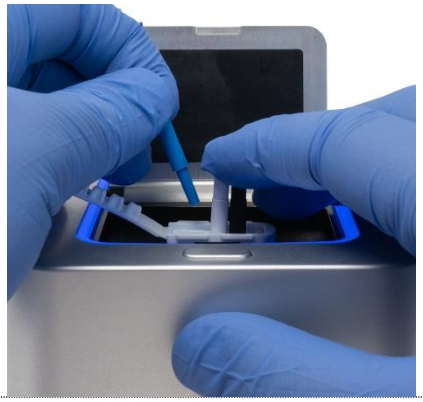
iv) Wprowadzić dane pacjenta w odpowiednich polach.

v) Zeskanować kod kreskowy z torebki zestawu testowego za pomocą skanera kodów kreskowych.

vi) Otworzyć pokrywę urządzenia Spartan Cube.

vii) Włożyć kasetę testową do urządzenia Spartan Cube.	

KROK 6: Włożenie końcówki wymazówki do kasety testowej

i) Przytrzymać kasetę testową, przyciskając ją jedną ręką w dół, i wyjąć zatyczkę z kasety drugą ręką. **WAŻNE: Uważać, aby nic nie dostało się do wnętrza probówki kasety, z której zdjęto zatyczkę*.**	
ii) Zdjąć osłonę wymazówki z jednej z wymazówek użytej do pobrania wymazu policzkowego od pacjenta.	
iii) Włożyć niebieską końcówkę wymazówki do otwartej probówki kasety. **WAŻNE: Aby zapobiec utracie materiału policzkowego, należy unikać dotykania bocznych ścianek kasety końcówką wymazówki.** **iv)** Dobrze chwycić trzonek wymazówki palcami. Położyć kciuk na górnej części wymazówki. Nacisnąć kciukiem górną część wymazówki. Niebieska końcówka wymazówki zostanie wyrzucona do probówki kasety. **v)** Powtórzyć kroki od 6(i) do 6(iv) dla pozostałych próbek.	

vi) Zamknąć pokrywę kasety testowej, przesuwając po niej palcem lub kciukiem.

KROK 7: Ostukanie kasety testowej w celu wymieszania próbek

i) Chwycić zamkniętą kasetę testową między kciuk a palec wskazujący i wyjąć kasetę z urządzenia Spartan Cube.

ii) Ostukać probówki kasety trzy razy, wykonując ruch wymiatający palcem wskazującym wolnej ręki.

iii) Włożyć kasetę z powrotem do urządzenia Cube i zamknąć pokrywę.

WAŻNE: Ostukiwanie kasety ułatwia kontakt płynu i materiału wymazu policzkowego na niebieskiej końcówce.

KROK 8: Uruchomienie testu

iv) Wybrać opcję **Start** (Uruchom), aby rozpocząć analizę.

WAŻNE: Nie otwierać pokrywy urządzenia Spartan Cube podczas testu. Pokrywa urządzenia powinna być zawsze zamknięta z wyjątkiem momentów, w których kasety są załadowywane lub wyładowywane.

v) Test potrwa około godzinę. Po tym czasie wyniki zostaną wyświetlone na ekranie i będzie można je wyeksportować i/lub wydrukować.	
vi) Po ukończeniu testu należy otworzyć pokrywę urządzenia Spartan Cube i powoli wyjąć kasetę testową.	
vii) Wyrzucić kasetę testową w zamkniętym worku lub zawiązanej rękawiczce. **WAŻNE: Nigdy nie należy otwierać kasety testowej po jej zamknięciu.** **WAŻNE: Kaset testowych nie można użyć do kolejnego testu.**	

***Jeśli doszło do przypadkowego dotknięcia niezamierzonego przedmiotu końcówką wymazówki lub użytkownik podejrzewa, że reakcja została zanieczyszczona niepożądanym materiałem z jakiegokolwiek innego powodu, należy wyrzucić zestaw wymazówek i/lub zestaw testowy i ponownie pobrać wymazy policzkowe.**

PROCEDURA KONTROLI ZEWNĘTRZNEJ

Przed rozpoczęciem procedury kontroli zewnętrznej należy wyjąć zestaw kontroli zewnętrznej z zamrażarki i przenieść go do urządzenia Spartan Cube.

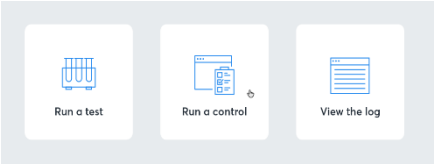
Wykonanie procedury kontroli zewnętrznej przebiega w **3 krokach**:

1. Przygotowanie kasety kontroli zewnętrznej
2. Włożenie kasety do urządzenia Spartan Cube
3. Uruchomienie analizy

WAŻNE: Kroki 1–3 procedury kontroli zewnętrznej należy wykonać w ciągu 15 minut od wyjęcia kasety z zamrażarki.

WAŻNE: Podczas wykonywania czynności opisanych w krokach 1–3 należy nosić rękawiczki jednorazowe. Przed analizą zestawów kontroli zewnętrznej należy zawsze założyć nową parę rękawiczek jednorazowych. Nie używać tej samej pary rękawiczek podczas wykonywania testów pacjentów.

KROK 1: Przygotowanie kontroli zewnętrznej

i) W skład zestawów kontroli zewnętrznej wchodzi kaseta kontrolna umieszczona wewnątrz torebki z kodem kreskowym. Wyjąć zestaw kontroli zewnętrznej z zamrażarki. **WAŻNE: <u>Nigdy</u> nie należy otwierać kaset kontroli zewnętrznej.**	
ii) Zalogować się do interfejsu użytkownika urządzenia Spartan Cube CYP2C19, używając nazwy użytkownika i hasła.	
iii) Wybrać opcję **Run a Control** (Rozpocznij kontrolę) i przejść przez kolejne ekrany wyświetlane w interfejsie użytkownika.	
iv) Zeskanować kody kreskowe z torebki zestawu kontroli zewnętrznej.	
v) Wyjąć kasetę kontroli zewnętrznej z torebki i pozostawić ją na 2–3 minuty do rozmrożenia.	
vi) Ostukać probówki kasety trzy razy, wykonując ruch wymiatający palcem wskazującym wolnej ręki.	

KROK 2: Włożenie kasety kontrolnej do urządzenia Spartan Cube	
i) Otworzyć pokrywę urządzenia Spartan Cube.	
ii) Włożyć kasetę kontrolną do urządzenia Spartan Cube.	
iii) Zamknąć pokrywę urządzenia Spartan Cube.	

KROK 3: Uruchomienie analizy	
i) Wybrać opcję **Start** (Uruchom).	
ii) Test potrwa około godzinę. Po tym czasie wyniki zostaną wyświetlone na ekranie i będzie można je wyeksportować i/lub wydrukować.	
iii) Po ukończeniu testu należy otworzyć pokrywę urządzenia Spartan Cube i wyjąć kasetę kontrolną.	
iv) Wyrzucić kasetę kontrolną w zamkniętym worku lub zawiązanej rękawiczce.	

KONTROLA JAKOŚCI

Wszystkie wymagania dotyczące kontroli jakości i procedury testowe powinny być zgodne z przepisami lokalnymi, regionalnymi i/lub krajowymi, jak również z wymogami akredytacji. Firma Spartan zaleca wykonywanie kontroli zewnętrznych odpowiednio do częstotliwości wykonywania testów. Jeśli testy są wykonywane codziennie, zaleca się cotygodniowe wykonywanie kontroli zewnętrznych. W przypadku sporadycznego wykonywania testów zalecane jest wykonanie kontroli zewnętrznej w dniu testowania.

Kontrole wewnętrzne
W oznaczeniu Spartan Cube CYP2C19 Assay zawarte są dwie kontrole wewnętrzne, które są automatycznie analizowane przy każdym teście:

- Wewnętrzna kontrola pozytywna (Internal Positive Control, IPC)
- Kontrola prawidłowego działania systemu (Positive System Control, PSC)

Kontrola IPC mierzy sygnały fluorescencyjne pod koniec reakcji. Służy ona do potwierdzenia, że do probówki z odczynnikami dodano wystarczającą ilość wymazu policzkowego, a próbka została prawidłowo przetworzona. Jeśli kontrola IPC zakończy się niepowodzeniem, zostanie wygenerowany wynik

INCONCLUSIVE (Niejednoznaczny). W takim przypadku należy powtórzyć test, używając nowego zestawu wymazówek i nowego zestawu testowego.

Kontrola PSC ocenia działanie systemu w pośrednich etapach analizy i pod koniec analizy. Służy ona do potwierdzenia, że urządzenie Spartan Cube działa prawidłowo, a system i test mieszczą się w akceptowalnych granicach wydajności. Jeśli kontrola PSC zakończy się niepowodzeniem w dowolnym momencie analizy, test zostanie przerwany, a na ekranie zostanie wyświetlony komunikat ostrzegawczy zawierający informacje o statusie platformy oraz czynnościach, które należy wykonać. Jeśli niepowodzenie kontroli PSC powtarza się, należy skontaktować się z dystrybutorem.

Kontrole zewnętrzne

ZESTAWY KONTROLI ZEWNĘTRZNEJ opracowane przez firmę Spartan Bioscience są przeznaczone do kontroli prawidłowego działania platformy Spartan Cube CYP2C19 Platform.

Każdy zestaw kontroli zewnętrznej zawiera substancje przeznaczone do izolacji DNA, amplifikacji podczas reakcji PCR i wykrywania sygnałów fluorescencyjnych odpowiadających allelom CYP2C19 (w trzech różnych probówkach). Każda probówka zawiera mieszaninę umożliwiającą wykrycie jednego z trzech loci. Substancje chemiczne to cztery (4) syntetyczne oligonukleotydy (1 zestaw na locus), polimeraza DNA Taq (ilość przeznaczona dla 1 reakcji na probówkę), roztwór przeznaczony do izolacji DNA i umożliwiający zajście reakcji PCR (ilość przeznaczona dla 1 reakcji na probówkę) oraz syntetyczna matryca DNA. Zestaw nie wymaga żadnych dodatkowych substancji.

Analiza zestawów kontroli zewnętrznej na platformie Spartan Cube CYP2C19 Platform zajmuje około 1 godzinę. Po pomyślnym ukończeniu testu kontroli zewnętrznej zostanie wygenerowany wynik kontroli zewnętrznej „PASS" (Powodzenie). Jeśli kontrola zewnętrzna nie powiedzie się, na ekranie zostanie wyświetlony komunikat informujący o niepowodzeniu kontroli zewnętrznej. W takim przypadku należy przeanalizować nową kontrolę zewnętrzną.

Firma Spartan Bioscience zaleca wykonywanie analizy zestawów kontroli zewnętrznej w każdym z następujących przypadków:

- Kontrola IPC stale daje niejednoznaczne wyniki.
- Kontrola PSC stale generuje komunikaty ostrzegawcze.
- Analizy kontroli zewnętrznej należy wykonywać zgodnie z przepisami lokalnymi, regionalnymi i/lub krajowymi i/lub wymogami akredytacji.

INTERPRETACJA WYNIKÓW

Oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay

Oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay jest przeznaczone do wykrywania i identyfikacji alleli CYP2C19*2, *3 i *17. Pod koniec testu na ekranie wyświetlany jest raport z oznaczenia, który można wydrukować. Wskazuje on genotypy, które wykryto w wymazie policzkowym.

Dla każdego allelu CYP2C19 może zostać wygenerowany jeden z czterech wyników:

- CYP2C19*2
  - *1/*1 — pacjent nie jest nosicielem allelu *2 (typu dzikiego)
  - *1/*2 — pacjent jest nosicielem jednej kopii allelu *2 (heterozygota)
  - *2/*2 — pacjent jest nosicielem dwóch kopii allelu *2 (homozygota)

- INCONCLUSIVE (Niejednoznaczny) — system nie mógł wykryć genotypu *2

- CYP2C19*3
  - *1/*1 — pacjent nie jest nosicielem allelu *3 (typu dzikiego)
  - *1/*3 — pacjent jest nosicielem jednej kopii allelu *3 (heterozygota)
  - *3/*3 — pacjent jest nosicielem dwóch kopii allelu *3 (homozygota)
  - INCONCLUSIVE (Niejednoznaczny) — system nie mógł wykryć genotypu *3

- CYP2C19*17
  - *1/*1 — pacjent nie jest nosicielem allelu *17 (typu dzikiego)
  - *1/*17 — pacjent jest nosicielem jednej kopii allelu *17 (heterozygota)
  - *17/*17 — pacjent jest nosicielem dwóch kopii allelu *17 (homozygota)
  - INCONCLUSIVE (Niejednoznaczny) — system nie mógł wykryć genotypu *17

Powyższe wyniki testu są łączone w celu wygenerowania wyniku kombinowanego genotypu pacjenta podawanego w wynikach testu, w sposób wyszczególniony w poniższej tabeli:

Tabela 3 — wyniki testu i wynik kombinowanego genotypu pacjenta

*2	*3	*17	Kombinowany genotyp
*1/*1	*1/*1	*1/*1	***1/*1**
*1/*2	*1/*1	*1/*1	***1/*2**
*1/*1	*1/*3	*1/*1	***1/*3**
*1/*1	*1/*1	*1/*17	***1/*17**
*2/*2	*1/*1	*1/*1	***2/*2**
*1/*1	*3/*3	*1/*1	***3/*3**
*1/*1	*1/*1	*17/*17	***17/*17**
*1/*2	*1/*3	*1/*1	***2/*3**
*1/*2	*1/*1	*1/*17	***2/*17**
*1/*1	*1/*3	*1/*17	***3/*17**

Należy zauważyć, że genotyp *1/*1 wskazuje wyłącznie brak obecności alleli *2, *3 i *17. Oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay umożliwia wykrycie wyłącznie genotypów CYP2C19*2, *3 i *17. Nie udostępnia ono informacji o innych allelach CYP2C19. W materiale wymazu policzkowego mogą być obecne mutacje w tych niewykrywanych allelach.

Jeśli wynik testu to INCONCLUSIVE (Niejednoznaczny) należy powtórzyć test, używając nowego zestawu wymazówek i zestawu testowego.

RYZYKO RESZTKOWE I OGRANICZENIA

Oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay identyfikuje wyłącznie allele CYP2C19*2, *3 i *17 oraz odpowiadające im polimorfizmy. Oznaczenie zgłasza genotypy wyłącznie dla tych alleli. Jeśli wynik

kombinowanego genotypu jest określony w raporcie jako typ dziki (*1/*1), tylko wskazane powyżej allele mają typ dziki.

Oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay nie udostępnia wyników dla alleli CYP2C19*4, *5, *6, *7, *8 ani innych alleli. W materiale wymazu policzkowego mogą być obecne mutacje w tych allelach.

Obecność allelu CYP2C19*10 może zakłócić działanie testu wykrywającego allel CYP2C19*2; próbki o genotypie CYP2C19*10 mogą dawać nieprawidłowy wynik w teście Spartan Cube CYP2C19 Test, wskazując na obecność allelu *2. Oba te allele, CYP2C19*2 i CYP2C19*10, to allele warunkujące utratę funkcji.

Istnieje ryzyko odłączenia końcówki wymazówki w jamie ustnej pacjenta. W takim przypadku należy bezzwłocznie poinstruować pacjenta, aby wyjął końcówkę z jamy ustnej. Następnie należy odszukać nowy zestaw wymazówek, aby pobrać próbkę.

Zgodnie z opublikowanymi informacjami dane o genotypie generowane przez oznaczenie Spartan Cube CYP2C19 Assay mogą być wykorzystane przez lekarza do przewidywania aktywności enzymatycznej CYP2C19 u danego pacjenta. Lekarze powinni zachować ostrożność i kierować się profesjonalnym osądem przy przewidywaniu fenotypu i dostosowywaniu strategii leczenia w przypadku pacjentów, u których stwierdzono obecność alleli *2, *3 i/lub *17. Informacje uzyskane na podstawie tego testu mogą być informacjami uzupełniającymi wykorzystywanymi podczas procesu podejmowania decyzji i należy z nich korzystać wyłącznie w połączeniu z danymi uzyskanymi w ramach rutynowego monitorowania stanu pacjenta przez lekarza. Ze względu na różne doniesienia na temat użyteczności klinicznej w odniesieniu do poszczególnych leków metabolizowanych przez cytochrom CYP2C19 lekarze powinni kierować się profesjonalnym osądem przy interpretacji wyników tego testu. Wyników z oznaczeń tego typu nie należy wykorzystywać do przewidywania odpowiedzi pacjenta na leki, dla których nie określono jednoznacznie wpływu aktywności enzymu metabolizującego leki warunkowanej przez ten allel (szlaku metabolicznego leku).

PARAMETRY SKUTECZNOŚCI

Odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna

Skuteczność systemu Spartan Cube CYP2C19 System oceniano w trzech ośrodkach klinicznych w ciągu pięciu nienastępujących po sobie dni. W badanie zaangażowanych było łącznie sześciu operatorów (po dwóch operatorów na ośrodek).

W badaniu odtwarzalności testowano próbki pobrane od ośmiu osób o następujących genotypach: *1/*1, *1/*2, *2/*2, *1/*3, *2/*3, *1/*17, *17/*17 oraz *2/*17. Genotypy wszystkich osób potwierdzono poprzez sekwencjonowanie dwukierunkowe.

W badaniu wzięło udział trzech techników/technologów laboratoryjnych, dwie pielęgniarki i jeden student, którzy odbyli szkolenie dotyczące produktu Spartan Cube CYP2C19 i nie mieli dużego doświadczenia w pobieraniu wymazów policzkowych. Wyniki uzyskano z dwóch sesji pobierania wymazów (rano i po południu), przy czym każda sesja została podzielona na dwie sesje podrzędne. W ramach każdej sesji podrzędnej w każdym ośrodku próbki pobrane od poszczególnych osób były testowane przez operatora 1 i operatora 2. Jeśli wynik otrzymany z pierwszego testu danej próbki był niejednoznaczny, test był wykonywany ponownie (drugi test).

Łącznie wykonano sześćset czterdzieści (640) testów. Wykonano sześć (6) powtórnych testów, ponieważ wynik dla danej próbki otrzymany z pierwszego testu był niejednoznaczny. Po drugim teście

(jedno dopuszczalne powtórzenie testu) ustalono ostateczny wynik dla tych sześciu próbek. Po uwzględnieniu pierwszego i drugiego testu odsetek prawidłowych wyników generowanych przez produkt Spartan Cube CYP2C19 wyniósł 100% przy dolnej dwustronnej granicy 95-procentowego przedziału ufności na poziomie 99,6%.

Tabela 4a — odtwarzalność wewnątrzlaboratoryjna — wyniki kombinowane z pierwszego i drugiego testu

Typ próbki[a]	Drugi test (kombinowany wynik końcowy)					
	L. przebadanych próbek	L. prawidłowych wyników[b]	L. nieprawidłowych wyników	L. braków wyników	Odsetek prawidłowych wyników (%)	Dolna granica (dwustronna) 95-procentowego przedziału ufności
*1/*1	120	120	0	0	100	96,9
*1/*2	120	120	0	0	100	96,9
*1/*3	120	120	0	0	100	96,9
*1/*17	120	120	0	0	100	96,9
*17/*17	120	120	0	0	100	96,9
*2/*17	120	120	0	0	100	96,9
*2/*2	120	120	0	0	100	96,9
*2/*3	120	120	0	0	100	96,9
Łączna liczba próbek (wszystkie ośrodki, wszystkie serie)	**960**	**960**	**0**	**0**	**100**	**99,6**

[a]Genotyp określony poprzez sekwencjonowanie dwukierunkowe; próbki *1/*1 zawierają allele *2, *3 i *17 typu dzikiego.
[b]Aby można było uznać wynik próbki za prawidłowy, wyniki uzyskane dla wszystkich trzech genotypów (*2, *3, *17) musiały być prawidłowe.

Odtwarzalność między seriami zestawu testowego

Do wykrycia trzech mutacji genu CYP2C19 (*2, *3, *17) w systemie Spartan Cube CYP2C19 System potrzebny jest jeden zestaw testowy.

Odtwarzalność między seriami zestawu oceniono przy użyciu trzech niezależnych serii zestawów testowych dostarczanych do ośrodka 1, 2 i 3:

- Seria A zestawu testowego: ośrodek 1 i 3
- Seria B zestawu testowego: ośrodek 1 i 2
- Seria C zestawu testowego: ośrodek 2 i 3

Podczas pierwszego testu dla 6 próbek (seria A w ośrodku 1 i 3 (2), seria B w ośrodku 2 (3) i seria C w ośrodku 3 (1)) uzyskano wyniki niejednoznaczne. Po drugim teście (jedno dopuszczalne powtórzenie testu) ustalono ostateczny wynik dla tych sześciu próbek. Ogólnie rzecz biorąc, wyniki wskazują, że różne serie zestawów mają równoważną skuteczność.

Tabela 5a — odtwarzalność między seriami zestawu testowego — wyniki kombinowane z pierwszego i drugiego testu

Serie odczynników zestawów testowych	Typ próbki[a]	Ośrodek laboratoryjny	L. przebadanych próbek	L. prawidłowych wyników[b]	L. nieprawidłowych wyników	L. braków wyników	Odsetek prawidłowych wyników (%)	Dolna granica (dwustronna) 95-procentowego przedziału ufności
Seria A	*1/*1	1 i 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*2	1 i 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*3	1 i 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*17	1 i 3	40	40	0	0	100	91,2
	*17/*17	1 i 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*17	1 i 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*2	1 i 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*3	1 i 3	40	40	0	0	100	91,2
	Łącznie		**320**	**320**	**0**	**0**	**100**	**98,8**
Seria B	*1/*1	1 i 2	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*2	1 i 2	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*3	1 i 2	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*17	1 i 2	40	40	0	0	100	91,2
	*17/*17	1 i 2	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*17	1 i 2	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*2	1 i 2	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*3	1 i 2	40	40	0	0	100	91,2
	Łącznie		**320**	**320**	**0**	**0**	**100**	**98,8**
Seria C	*1/*1	2 i 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*2	2 i 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*3	2 i 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*17	2 i 3	40	40	0	0	100	91,2
	*17/*17	2 i 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*17	2 i 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*2	2 i 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*3	2 i 3	40	40	0	0	100	91,2
	Łącznie		**320**	**320**	**0**	**0**	**100**	**98,8**

[a]Genotyp określony poprzez sekwencjonowanie dwukierunkowe; próbki *1/*1 zawierają allele *2, *3 i *17 typu dzikiego.
[b]Aby można było uznać wynik próbki za prawidłowy, wyniki uzyskane dla wszystkich trzech genotypów (*2, *3, *17) musiały być prawidłowe.

Porównanie metod

W badaniu porównawczym metod oceniono procentową zgodność wyników uzyskanych za pomocą produktu Spartan Cube CYP2C19 z wynikami sekwencjonowania dwukierunkowego. Badanie składało się z dwóch części (A i B). W części A za pomocą produktu Spartan Cube CYP2C19 przetestowano łącznie sześćset pięć (605) próbek. Wyniki uzyskano dla próbek materiału policzkowego (próbka DNA) pobranych od dziesięciu (10) osób przy użyciu trzech różnych serii przez 3 operatorów. Wszystkie wyniki porównano z wynikami sekwencjonowania dwukierunkowego uzyskanymi w wykwalifikowanym ośrodku badawczym strony trzeciej, aby określić procentową zgodność (dwadzieścia próbek DNA zostało zweryfikowanych przy użyciu sekwencjonowania nowej generacji). W przypadku sekwencjonowania dwukierunkowego genomowe DNA wyizolowano z próbek śliny. Dokładność produktu Spartan Cube CYP2C19 wynosi 99,3% (przy założeniu, że dopuszczalny jest jeden powtórny test) dla danych uzyskanych przy użyciu obu metod.

Tabela 6a — porównanie metod — wyniki kombinowane z pierwszego i drugiego testu

Typ próbki[a]	Wynik kombinowany z pierwszego i drugiego testu (wynik końcowy)					
	L. przebadanych próbek	L. niejednoznacznych wyników	L. nieprawidłowych wyników	L. prawidłowych wyników[b]	Odsetek prawidłowych wyników (%)	Dolna granica (dwustronna) 95-procentowego przedziału ufności
*1/*1	203	0	0	203	100	98,1
*1/*2	171	0	1[c]	170	99,4	96,8
*2/*2	34	0	0	34	100	89,8
*1/*17	110	1	1[d]	108	98,2	93,6
*17/*17	21	0	0	21	100	84,5
*2/*17	38	0	0	38	100	90,8
*2/*3	9	1	0	8	88,9	56,5
*1/*3	16	0	0	16	100	80,6
*3/*17	2	0	0	2	100	34,2
*3/*3	1	0	0	1	100	20,7
Łącznie	**605**	**2**	**2**	**601**	**99,3**	**98,3**

[a]Genotyp określony poprzez sekwencjonowanie dwukierunkowe; próbki *1/*1 zawierają allele *2, *3 i *17 typu dzikiego.
[b]Aby można było uznać wynik próbki za prawidłowy, wyniki uzyskane dla wszystkich trzech genotypów (*2, *3, *17) musiały być prawidłowe.
[c]Próbka 0109 przetestowana przy użyciu produktu Spartan Cube dała wynik wskazujący na genotyp *1/*17, zgodny z wynikiem sekwencjonowania dwukierunkowego. Dla próbki przetestowanej po upłynięciu ponad 20 godzin wygenerowano kombinowany genotyp *1/*1. Nieznane są genotypy osoby wykonującej wymaz i osoby ładującej próbkę (zakładanie zatyczki wychwytującej próbkę). Istnieje prawdopodobieństwo, że genomowe DNA wprowadzone przez te osoby mogłoby spowodować zmianę wyniku z *1/*17 na *1/*1, gdyby genotyp tych osób dla S17 był *1/*1. Nie można wykluczyć obecności egzogennego DNA pochodzącego od osób, które pobrały lub przeprowadziły badanie próbki, jako możliwej przyczyny niezgodnego wyniku.
[d]Próbkę 0310 zamieniono z próbką 0311 (błąd operatora). Próbkę 0311 wykluczono z populacji zgodnie z kryteriami akceptacji Phred quality score (Q). W sekwencjonowaniu dwukierunkowym otrzymano wyraźny sygnał, co potwierdza pierwotną przyczynę błędu — błąd operatora.

W części B badania prowadzonego w celu porównania metod przy użyciu produktu Spartan Cube CYP2C19 przetestowano łącznie 480 próbek pobranych od 34 osób. Część B badania składała się z dwóch części podrzędnych. W jednej z nich próbki analizowano bezpośrednio po pobraniu (<1 godz.), a w drugiej po przechowywaniu przez co najmniej 20 godz. (w temperaturze pokojowej) i przez maksymalnie 28 godz. (czas do wykonania testu >20 godz.). Wszystkie wyniki przyrównano do wyników sekwencjonowania dwukierunkowego, aby określić zgodność procentową. W przypadku sekwencjonowania dwukierunkowego genomowe DNA wyizolowano z próbek śliny.

Przynależność etniczna populacji pacjentów była w przybliżeniu reprezentatywna dla populacji Ameryki Północnej. Jeśli wynik otrzymany z pierwszego testu był niejednoznaczny, test był wykonywany ponownie (drugi test). W grupie, dla której czas do wykonania testu był <1 godz., piętnaście (15) próbek dało wynik niejednoznaczny w pierwszym teście. Wyniki dla tych próbek ustalono w drugim teście. 394 spośród 397 próbek analizowanych w grupie, dla której czas do wykonania testu był <1 godz., dało prawidłowy wynik po drugim teście.

W grupie, dla której czas do wykonania testu był >20 godz., przetestowano 208 próbek. Jedna próbka dała wynik niejednoznaczny w pierwszym teście. Wynik dla tej próbki ustalono w drugim teście. 239 spośród 240 próbek analizowanych w grupie, dla której czas do wykonania testu był >20 godz., dało prawidłowy wynik po drugim teście.

Ogólny odsetek prawidłowych wyników po drugim teście wynosił 99,2% dla próbek, dla których czas do wykonania testu był <1 godz., przy dolnej granicy 95-procentowego przedziału ufności na poziomie 97,8%, oraz 99,5% dla próbek, dla których czas do wykonania testu był >20 godz., przy dolnej granicy 95-procentowego przedziału ufności na poziomie 97,3%.

Tabela 5 — czas do wykonania testu <1 godz.

Typ próbki[a]	**Pierwszy test** (<1 godz.)						**Wynik kombinowany z drugiego powtórzenia testu (wynik końcowy)** (<1 godz.)					
	L. przebadanych próbek	L. niejednoznacznych wyników	L. nieprawidłowych wyników	L. prawidłowych wyników[b]	Odsetek prawidłowych wyników (%)	Granica 95-procentowego przedziału ufności	L. przebadanych próbek	L. niejednoznacznych wyników	L. nieprawidłowych wyników	L. prawidłowych wyników[b]	Odsetek prawidłowych wyników (%)	Dolna granica (dwustronna) 95-procentowego przedziału ufności
*1/*1	136	3	0	133	97,8	93,7	136	0	0	136	100	97,3
*1/*2	117	3	1	113	96,6	91,5	117	0	1[c]	116	99,1	95,8
*2/*2	21	1	0	20	95,2	77,3	21	0	0	21	100	84,5
*1/*17	70	3	0	67	95,7	88,1	70	1	0	69	98,6	92,3
*17/*17	12	0	0	12	100	75,7	12	0	0	12	100	75,7
*2/*17	22	2	0	20	90,9	72,2	22	0	0	22	100	85,1
*2/*3	6	2	0	4	66,7	30,0	6	1	0	5	83,3	43,6
*1/*3	12	1	0	11	91,7	64,6	12	0	0	12	100	75,7
*3/*17	1	0	0	1	100	20,7	1	0	0	1	100	20,7
*3/*3	0	0	0	0	Nd.	Nd.	0	0	0	0	Nd.	Nd.
Łącznie	**397**	**15**	**1**	**381**	**96,0**	**93,6**	**397**	**2**	**1**	**394**	**99,2**	**97,8**

[a]Genotyp określony poprzez sekwencjonowanie dwukierunkowe; próbki *1/*1 zawierają allele *2, *3 i *17 typu dzikiego.

[b]Aby można było uznać wynik próbki za prawidłowy, wyniki uzyskane dla wszystkich trzech genotypów (*2, *3, *17) musiały być prawidłowe.

[c]Próbka 0109 przetestowana przy użyciu produktu Spartan Cube dała wynik wskazujący na genotyp *1/*17, zgodny z wynikiem sekwencjonowania dwukierunkowego. Dla próbki przetestowanej po upłynięciu ponad 20 godzin wygenerowano kombinowany genotyp *1/*1. Nieznane są genotypy osoby wykonującej wymaz i osoby ładującej próbkę (zakładanie zatyczki wychwytującej próbkę). Istnieje prawdopodobieństwo, że genomowe DNA wprowadzone przez te osoby mogłoby spowodować zmianę wyniku z *1/*17 na *1/*1, gdyby genotyp tych osób dla S17 był *1/*1. Nie można wykluczyć obecności egzogennego DNA pochodzącego od osób, które pobrały lub przeprowadziły badanie próbki, jako możliwej przyczyny niezgodnego wyniku.

Tabela 6 — czas do wykonania testu >20 godz.

Typ próbki[a]	Pierwszy test (>20 godz.)						Wynik kombinowany z drugiego powtórzenia testu (wynik końcowy) (>20 godz.)					
	L. przebadanych próbek	L. niejednoznacznych wyników	L. nieprawidłowych wyników	L. prawidłowych wyników[b]	Odsetek prawidłowych wyników (%)	Granica 95-procentowego przedziału ufności	L. przebadanych próbek	L. niejednoznacznych wyników	L. nieprawidłowych wyników	L. prawidłowych wyników[b]	Odsetek prawidłowych wyników (%)	Dolna granica (dwustronna) 95-procentowego przedziału ufności
*1/*1	67	0	0	67	100	94,6	67	0	0	67	100	94,6
*1/*2	54	0	0	54	100	93,4	54	0	0	54	100	93,4
*2/*2	13	0	0	13	100	77,2	13	0	0	13	100	77,2
*1/*17	40	0	1	39	97,5	87,1	40	0	1[d]	39	97,5	87,1
*17/*17	9	0	0	9	100	70,1	9	0	0	9	100	70,1
*2/*17	16	0	0	16	100	80,6	16	0	0	16	100	80,6
*2/*3	3	0	0	3	100	43,8	3	0	0	3	100	43,8
*1/*3	4	0	0	4	100	51,0	4	0	0	4	100	51,0
*3/*17	1	0	0	1	100	20,7	1	0	0	1	100	20,7
*3/*3	1	0	0	1	100	20,7	1	0	0	1	100	20,7
Łącznie	**208**	**0**	**1**	**207**	**99,5**	**97,3**	**208**	**0**	**1**	**207**	**99,5**	**97,3**

[a]Genotyp określony poprzez sekwencjonowanie dwukierunkowe; próbki *1/*1 zawierają allele *2, *3 i *17 typu dzikiego.
[b]Aby można było uznać wynik próbki za prawidłowy, wyniki uzyskane dla wszystkich trzech genotypów (*2, *3, *17) musiały być prawidłowe.
[d]Próbkę 0310 zamieniono z próbką 0311 (błąd operatora). Próbkę 0311 wykluczono z populacji zgodnie z kryteriami akceptacji Phred quality score (Q). W sekwencjonowaniu dwukierunkowym otrzymano wyraźny sygnał, co potwierdza pierwotną przyczynę błędu — błąd operatora.

Tabela 6b — porównanie metod — część B — czas do wykonania testu — WYNIKI PIERWSZEGO TESTU

Czas do wykonania testu[a,b]	L. przebadanych próbek	L. niejednoznacznych wyników	L. nieprawidłowych wyników	L. prawidłowych wyników[a]	Odsetek prawidłowych wyników (%)	Dolna granica (dwustronna) 95-procentowego przedziału ufności
<1 godz.	**397**	**2**	**1[c]**	**394**	99,2%	97,8%
>20 godz.	**208**	**0**	**1[d]**	**207**	99,5%	97,3%

[a]Genotyp określony poprzez sekwencjonowanie dwukierunkowe; próbki *1/*1 zawierają allele *2, *3 i *17 typu dzikiego.
[b]Aby można było uznać wynik próbki za prawidłowy, wyniki uzyskane dla wszystkich trzech genotypów (*2, *3, *17) musiały być prawidłowe.
[c]Próbka 0109 przetestowana przy użyciu produktu Spartan Cube dała wynik wskazujący na genotyp *1/*17, zgodny z wynikiem sekwencjonowania dwukierunkowego. Dla próbki przetestowanej po upłynięciu ponad 20 godzin wygenerowano kombinowany genotyp *1/*1. Nieznane są genotypy osoby wykonującej wymaz i osoby ładującej próbkę (zakładanie zatyczki wychwytującej próbkę). Istnieje prawdopodobieństwo, że genomowe DNA wprowadzone przez te osoby mogłoby spowodować zmianę wyniku z *1/*17 na *1/*1, gdyby genotyp tych osób dla S17 był *1/*1. Nie można wykluczyć obecności egzogennego DNA pochodzącego od osób, które pobrały lub przeprowadziły badanie próbki, jako możliwej przyczyny niezgodnego wyniku.
[d]Próbkę 0310 zamieniono z próbką 0311 (błąd operatora). Próbkę 0311 wykluczono z populacji zgodnie z kryteriami akceptacji Phred quality score (Q). W sekwencjonowaniu dwukierunkowym otrzymano wyraźny sygnał, co potwierdza pierwotną przyczynę błędu — błąd operatora.

Czułość analityczna (granica wykrywalności)

Określono względną ilość DNA obecnego w 120 pojedynczych wymazach policzkowych, pobranych od 40 różnych osób przez 10 różnych operatorów. Rozkład tych danych przedstawiono w formie graficznej poniżej (Ryc. 1). Średnią ilość DNA uznano za równoważną jednemu „typowemu” wymazowi, wszystkie pomiary znormalizowano do tej wartości i przedstawiono jako liczbę równoważnych wymazów.

Górną i dolną granicę wykrywalności oznaczenia Spartan Cube CYP2C19 Assay oceniono poprzez analizę wymazów policzkowych pobranych od osób o genotypach *1/*1, *2/*17, *17/*17, *1/*3 i *2/*3. Przed rozpoczęciem badania genotypy wszystkich osób potwierdzono poprzez sekwencjonowanie dwukierunkowe. DNA pobierano pięcioma różnymi metodami: 5 połączonych wymazów policzkowych; 2 połączone wymazy policzkowe; zwykły wymaz z policzków; pojedyncze przesunięcie po wnętrzu policzka

w dół (1 ruch); i jedno dotknięcie wymazówką wnętrza jamy ustnej. Jednocześnie ilość DNA w wymazach oznaczono ilościowo przy użyciu barwnika SYBR Green, a wartość tę przełożono na odpowiadającą jej liczbę wymazów w stosunku do średniej z populacji. W odniesieniu do poszczególnych osób pobieranie wymazów metodą 5 połączonych wymazów dało średnią 5,24 wymazu; metoda 2 połączonych wymazów dała średnią 1,98 wymazu; metoda 1 przesunięcia po wnętrzu policzka dała średnią 0,6 wymazu, a metoda dotknięcia wymazówką wnętrza jamy ustnej dała średnią 0,28 wymazu.

W przypadku każdej metody wykonano 52 powtórzenia w celu ustalenia częstości generowania niejednoznacznych i prawidłowych wyników.

Ryc. 1 — związek między populacją zwykłych wymazów a ilością materiału zebranego przy użyciu różnych technik pobierania wymazów, zgodnie z opisem w protokole. Odpowiednia średnia ilość genomowego DNA (ng) zebrana przy użyciu każdej z technik pobierania wymazów jest określona po prawej stronie wykresu. Ilość DNA w wymazach oznaczono ilościowo przy użyciu barwnika SYBR Green, a wartość tę przełożono na odpowiadającą jej liczbę wymazów w stosunku do średniej z populacji.

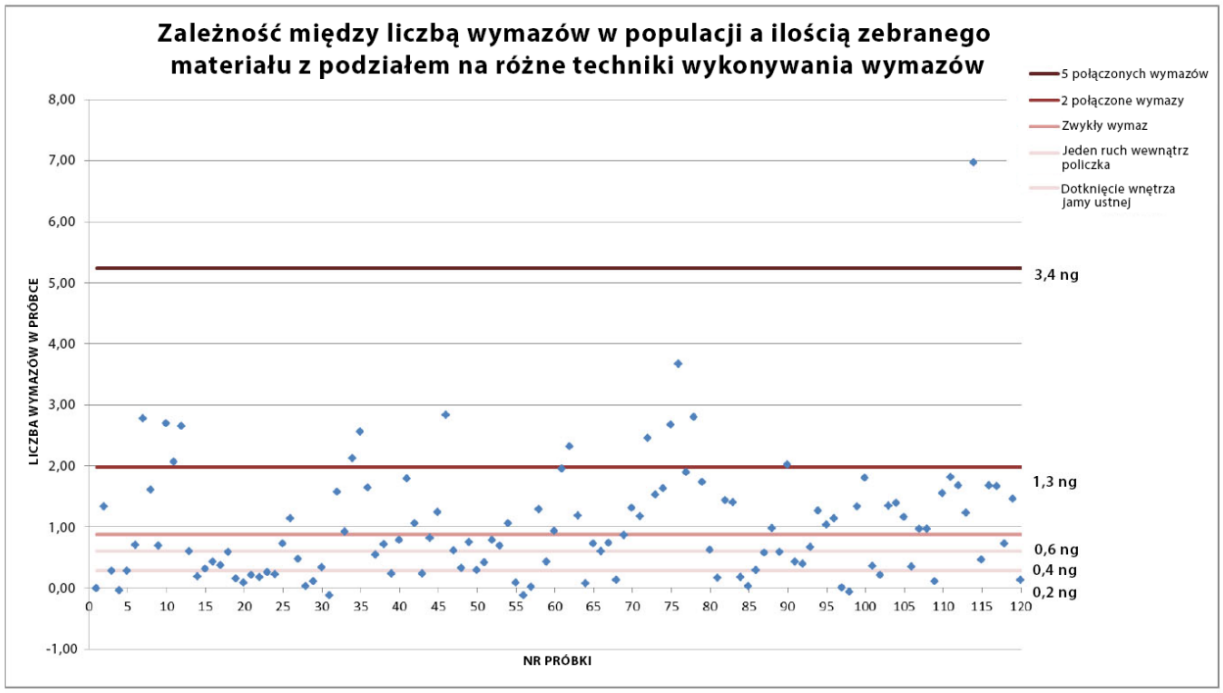


Tabela 7a — granica wykrywalności — WYNIKI PIERWSZEGO TESTU

Metoda	Genotyp[a]	L. przeba-danych próbek	L. prawi-dłowych wyników[b]	L. niepra-widłowych wyników	L. niejedno-znacznych wyników	Odsetek prawi-dłowych wyników (%)	Dolna granica (jednostronna) 95-procentowego przedziału ufności
5 połączonych wymazów	*1/*1	13	11	0	2	84,6%	62,5%
	*2/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*17/*17	13	11	1	1	84,6%	62,5%
	Z allelem *3[#]	13	11	0	2	84,6%	62,5%
	Łącznie	**52**	**46**	**1**	**5**	**88,4%**	**79,2%**
2 połączone wymazy	*1/*1	13	12	0	1	92,3%	71,8%
	*2/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*17/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	Z allelem *3[#]	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	Łącznie	**52**	**51**	**0**	**1**	**98,1%**	**91,8%**
Zwykły wymaz	*1/*1	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*2/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*17/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	Z allelem *3[#]	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	Łącznie	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0%**	**95,1%**
1 ruch wewnątrz policzka	*1/*1	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*2/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*17/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	Z allelem *3[#]	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	Łącznie	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0%**	**95,1%**
Dotknięcie wnętrza jamy ustnej	*1/*1	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*2/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*17/*17	13	11	0	2	84,6%	62,5%
	Z allelem *3[#]	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	Łącznie	**52**	**50**	**0**	**2**	**96,2%**	**89,0%**

[a]Genotyp potwierdzony poprzez sekwencjonowanie dwukierunkowe; próbki *1/*1 zawierają allele *2, *3 i *17 typu dzikiego.
[b]Aby można było uznać wynik próbki za prawidłowy, wyniki uzyskane dla wszystkich trzech genotypów (*2, *3, *17) musiały być prawidłowe.
[#]W tym osoby z genotypem *1/*3 lub *2/*3

Tabela 7b — granica wykrywalności — WYNIKI DRUGIEGO TESTU

Metoda	Genotyp[a]	L. przebadanych próbek	L. prawidłowych wyników[b]	L. nieprawidłowych wyników	L. niejednoznacznych wyników	Odsetek prawidłowych wyników (%)	Dolna granica (jednostronna) 95-procentowego przedziału ufności
5 połączonych wymazów	*1/*1	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*2/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*17/*17	13	12	1	0	92,3%	71,8%
	Z allelem *3[#]	13	12	0	1	92,3%	71,8%
	Łącznie	**52**	**50**	**1**	**1**	**96,2%**	**89,0%**
2 połączone wymazy	*1/*1	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*2/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*17/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	Z allelem *3[#]	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	Łącznie	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0%**	**95,1%**
Standardowa	*1/*1	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*2/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*17/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	Z allelem *3[#]	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	Łącznie	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0%**	**95,1%**
1 ruch wewnątrz policzka	*1/*1	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*2/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*17/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	Z allelem *3[#]	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	Łącznie	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0%**	**95,1%**
Dotknięcie wnętrza jamy ustnej	*1/*1	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*2/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	*17/*17	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	Z allelem *3[#]	13	13	0	0	100,0%	82,8%
	Łącznie	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0%**	**95,1%**

[a]Genotyp potwierdzony poprzez sekwencjonowanie dwukierunkowe; próbki *1/*1 zawierają allele *2, *3 i *17 typu dzikiego.
[b]Aby można było uznać wynik próbki za prawidłowy, wyniki uzyskane dla wszystkich trzech genotypów (*2, *3, *17) musiały być prawidłowe.
[#]W tym osoby z genotypem *1/*3 lub *2/*3

Odsetek prawidłowych wyników (%) pierwszego testu przy poziomach wejściowych niższych niż 0,28 wymazu na test wynosił 98,1%. Z tego względu dolna granica wykrywalności systemu Spartan Cube CYP2C19 System to **0,28 wymazu na test**. W górnym zakresie testowanego materiału dla próbek uzyskanych z 2 połączonych wymazów otrzymano sto procent prawidłowych wyników. Z tego względu górna granica wykrywalności systemu to **1,98 wymazu na test**.

Zakłócenia

Zakłócenia powodowane przez endogenne i egzogenne substancje zakłócające, które potencjalnie mogą być obecne w próbce, zostały ocenione przy użyciu próbek wymazów policzkowych pobranych od osób o genotypie *1/*1, *2/*17, *17/*17, *1/*3 i *2/*3. Przed rozpoczęciem badania genotypy wszystkich osób potwierdzono poprzez sekwencjonowanie dwukierunkowe. Dla każdej substancji wykonano łącznie 16 powtórzeń. W celu zbadania wpływu substancji egzogennych próbki wymazu policzkowego pobrano od osób po poddaniu ich działaniu danej substancji. Jeśli wynik otrzymany z pierwszego testu danej próbki był niejednoznaczny, test był wykonywany ponownie (drugie powtórzenie testu).
Wyniki zgłaszane są w oparciu o wynik pierwszego i drugiego testu. Poniżej wymieniono substancje egzogenne, które uwzględniono w badaniu. Wymazy policzkowe pobrano od osób bezpośrednio po ich kontakcie z substancją.

- Antyseptyczny płyn do płukania ust - 20 ml — płukanie jamy ustnej przez 30 s
- Pasta do zębów - Pasek o długości 1,9 cm — szczotkowanie zębów przez 2 min, splunięcie
- Roztwór sody oczyszczonej - 30 ml (0,1 g/ml) — płukanie jamy ustnej przez 10 s
- Syrop na kaszel - 30 ml — płukanie jamy ustnej przez 10 s
- Sok żurawinowy - 30 ml — płukanie jamy ustnej przez 10 s
- Woda z solą - 30 ml (0,01 g/ml) — płukanie jamy ustnej przez 10 s
- Woda z cukrem - 30 ml (0,01 g/ml) — płukanie jamy ustnej przez 10 s
- Mięso - 15 g — żucie przez 10 s
- Guma do żucia - 1 sztuka w typowym rozmiarze —żucie przez 1 minutę
- Landrynka - 1 sztuka w typowym rozmiarze —ssanie do całkowitego rozpuszczenia
- Palenie wyrobów tytoniowych - 1 papieros — 5 zaciągnięć
- Pasta do protez zębowych - 3 paski — nałożenie pasków na podniebienie na 5 minut, usunięcie

Nie było możliwe bezpośrednie narażenie osób na substancje endogenne. Bezpośrednio przed wprowadzeniem próbki wymazu policzkowego do probówki z odczynnikami dodano około 9 x 10^4 komórek bakterii z jamy ustnej. Krew dodano do badania poprzez pobranie próbki wymazu policzkowego i zanurzenie jej w roztworze krwi w ślinie dawcy (1,7% krwi w ślinie dawcy).

Nie wykryto żadnych zakłóceń ze strony żadnej z badanych substancji egzogennych i endogennych.

Tabela 8a — zakłócające substancje egzogenne i endogenne — WYNIKI PIERWSZEGO TESTU

PIERWSZY TEST						
Substancja	**L. przebadanych próbek**	**L. prawidłowych wyników**	**L. nieprawidłowych wyników**	**L. niejednoznacznych wyników**	**Odsetek prawidłowych wyników (%)**	**Dolna granica (jednostronna) 95-procentowego przedziału ufności**
Płyn do płukania ust	16	16	0	0	100	85,5
Pasta do zębów	16	14	0	2	87,5	68,4
Soda oczyszczona	16	16	0	0	100	85,5
Syrop na kaszel	16	16	0	0	100	85,5
Sok żurawinowy	16	16	0	0	100	85,5
Roztwór soli	16	16	0	0	100	85,5
Roztwór cukru	16	15	0	1	93,75	76,3
Mięso końskie	16	16	0	0	100	85,5
Guma do żucia	16	16	0	0	100	85,5
Landrynka	16	16	0	0	100	85,5
Tytoń	16	15	0	1	93,75	76,3
Pasta do protez	16	16	0	0	100	85,5
Bakterie	16	15	0	1	93,75	76,3
Bakterie *(powtórzenie 2020-06-25)*	16	16	0	0	100	85,5
Krew pełna	16	16	0	0	100	85,5
Łącznie	**240**	**235**	**0**	**5**	**97,9**	**95,8**

[a]Aby można było uznać wynik próbki za prawidłowy, wyniki uzyskane dla wszystkich trzech genotypów (*2, *3, *17) musiały być prawidłowe.

Tabela 8b — zakłócające substancje egzogenne i endogenne — WYNIKI DRUGIEGO TESTU

DRUGI TEST						
Substancja	**L. przebadanych próbek**	**L. prawidłowych wyników**	**L. nieprawidłowych wyników**	**L. niejednoznacznych wyników**	**Odsetek prawidłowych wyników (%)**	**Dolna granica (jednostronna) 95-procentowego przedziału ufności**
Płyn do płukania ust	16	16	0	0	100	85,5
Pasta do zębów	16	16	0	0	100	85,5
Soda oczyszczona	16	16	0	0	100	85,5
Syrop na kaszel	16	16	0	0	100	85,5
Sok żurawinowy	16	16	0	0	100	85,5
Roztwór soli	16	16	0	0	100	85,5
Roztwór cukru	16	16	0	0	100	85,5
Mięso końskie	16	16	0	0	100	85,5
Guma do żucia	16	16	0	0	100	85,5
Landrynka	16	16	0	0	100	85,5
Tytoń	16	16	0	0	100	85,5
Pasta do protez	16	16	0	0	100	85,5
Bakterie	16	16	0	0	100	85,5
Bakterie *(powtórzenie 2020-06-25)*	16	16	0	0	100	85,5
Krew pełna	16	16	0	0	100	85,5
Łącznie	**240**	**240**	**0**	**0**	**100**	**98,9**

[a]Aby można było uznać wynik próbki za prawidłowy, wyniki uzyskane dla wszystkich trzech genotypów (*2, *3, *17) musiały być prawidłowe.

LICENCJE I PATENTY

Technologie Black Hole Quencher i CAL Fluor podlegają licencji na podstawie umowy z firmą Biosearch Technologies, Inc. (BTI). Ten produkt jest sprzedawany na podstawie licencji udzielonej przez firmę BTI.

Technologia Molecular Beacon podlega licencji na podstawie umowy z instytutem Public Health Research Institute (PHRI). Ten produkt jest sprzedawany na podstawie licencji udzielonej przez instytut PHRI.

Ten produkt jest objęty amerykańskimi patentami o numerach 8,528,777; 8,735,104; 9,593,369 oraz innymi patentami przyznanymi firmie Spartan Bioscience i przez nią zgłoszonymi na całym świecie.

ZNAKI TOWAROWE

Spartan Bioscience Inc. to zastrzeżony znak towarowy firmy Spartan Bioscience Inc. Microsoft Windows to zastrzeżony znak towarowy firmy Microsoft Corporation w Stanach Zjednoczonych i innych krajach. Wszystkie pozostałe znaki towarowe są wyłączną własnością ich odpowiednich właścicieli.

PIŚMIENNICTWO

1. Desta Z et al. (2002). Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet*. 41(12): 913–958.

2. Sim SC 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.

3. Rudberg I et al. (2008). Impact of the ultrarapid CYP2C19*17 allele on serum concentration of escitalopram in psychiatric patients. *Clin Pharmacol Ther*. 83(2): 322–327.

4. https://www.pharmvar.org/gene/CYP2C19

5. Romkes M et al. (1991). Cloning and expression of complementary DNAs for multiple members of the human cytochrome P450IIC subfamily. *Biochemistry*. 30(13): 3247–3255.

6. Richardson TH 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(1): 87–96.

7. Blaisdell J et al. (2002). Identification and functional characterization of new potentially defective alleles of human CYP2C19. *Pharmacogenetics*. 12(9): 703–711.

8. de Morais SM et al. (1994). The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem*. 269(22): 15419–15422.

9. Ibeanu GC et al. (1998). Identification of new human CYP2C19 alleles (CYP2C19*6 and CYP2C19*2B) in a Caucasian poor metabolizer of mephenytoin. *J Pharmacol Exp Ther*. 286(3): 1490–1495.

10. Fukushima-Uesaka H et al. (2005). Genetic variations and haplotypes of CYP2C19 in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokinet*. 20(4): 300–307.

11. Lee S et al. (2009). Identification of new CYP2C19 variants exhibiting decreased enzyme activity in the metabolism of S-mephenytoin and omeprazole. *Drug Metab Dispos*. 37(11): 2262–2269.

Spartan Cube CYP2C19 System

Brugsanvisning

Til *in vitro*-diagnostisk brug

SPARTAN BIOSCIENCE INC.

2934 Baseline Road
Suite 500
Ottawa, Ontario K2H 1B2

INDHOLDSFORTEGNELSE

GARANTIBEGRÆNSNINGER 71
TABEL OVER SYMBOLER 72
TILSIGTET ANVENDELSE 73
INDIKATIONER 73
DELE TIL ASSAYET SPARTAN CUBE CYP2C19 ASSAY 73
BAGGRUNDSOPLYSNINGER 73
TESTPRINCIP/OVERSIGT OVER ASSAYET 75
BESKRIVELSE AF ENHEDEN 75
ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER 76
OPBEVARING/STABILITET 77
MATERIALER DER LEVERES MED ASSAYET SPARTAN CUBE CYP2C19 ASSAY 78
NØDVENDIGE MATERIALER, DER IKKE LEVERES AF SPARTAN BIOSCIENCE 78
UDSTYR 78
TRÆNING 78
ASSAYPROCEDURE 79
EKSTERN KONTROLPROCEDURER 85
KVALITETSKONTROL 87
FORTOLKNING AF RESULTATER 88
RESIDUALRISICI OG BEGRÆNSNINGER 90
YDEEVNEKARAKTERISTIKA 90
LICENSER OG PATENTER 101
VAREMÆRKER 101
REFERENCER 102

GARANTIBEGRÆNSNINGER

SPARTAN BIOSCIENCE INC. FRALÆGGER SIG ALLE UDTRYKKELIGE ELLER UNDERFORSTÅEDE GARANTIER MED HENSYN TIL DETTE DOKUMENT, HERUNDER, MEN IKKE BEGRÆNSET TIL, GARANTIER FOR SALGBARHED ELLER EGNETHED TIL ET BESTEMT FORMÅL. SPARTAN BIOSCIENCE INC. ER UNDER INGEN OMSTÆNDIGHEDER ANSVARLIG, HVAD ENTEN DET ER I KONTRAKT ELLER UDEN FOR KONTRAKT, PÅ GARANTI- ELLER LOVMÆSSIGT GRUNDLAG ELLER ANDET GRUNDLAG, FOR SÆRLIGE, TILFÆLDIGE, INDIREKTE, PØNALT BEGRUNDEDE ELLER MULTIPLE SKADER ELLER FØLGESKADER I FORBINDELSE MED ELLER SOM FØLGE AF DETTE DOKUMENT, HERUNDER, MEN IKKE BEGRÆNSET TIL, ANVENDELSEN DERAF.

TABEL OVER SYMBOLER

Der anvendes symboler i hele dette dokument eller på produktet. I tabellen herunder er symbolerne anført med en kort beskrivelse af deres betydning.

Tabel 1 – Symboler

	Advarsel, risiko for fare – Dette symbol anvendes til at angive, at manglende overholdelse af anvisningerne eller procedurerne kan føre til fysisk skade, eller endog dødsfald, eller kan beskadige instrumentet.
	Vigtig note – Dette symbol anvendes til at gøre brugeren opmærksom på en vigtig anmærkning.
	Biologisk risiko – Dette symbol anvendes til at angive, at der skal tages visse forholdsregler ved arbejde med potentielt infektiøst materiale.
	Dette symbol angiver fabrikanten af enheden eller systemkomponenten.
	Fremstillingsdato.
	Et produkt med dette symbol må ikke genbruges (produktet må kun bruges én gang).
	Anvendes inden (angiver produktets udløbsdato).
	Læs dokumentationen, før du fortsætter.
−80°C / −15°C	Produktet skal holdes ved mellem -80 °C og -15 °C under forsendelse og opbevaring.
REF	Varenummer eller katalognummer.
LOT	Produktets lotnummer.
Σ	Tilstrækkeligt materiale til N test.
IVD	In vitro-diagnostik (angiver, at materialet er in vitro-diagnostisk udstyr eller er en del af in vitro-diagnostisk udstyr).
Rx	Receptpligtig.

TILSIGTET ANVENDELSE

Systemet Spartan Cube CYP2C19 System er en kvalitativ *in vitro*-diagnostisk test til identificering af en patients CYP2C19*2-, *3- og *17-genotype bestemt ud fra genomisk DNA indhentet ved hjælp af en mundskrabsprøve.

℞ Receptpligtig.

INDIKATIONER

Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay – Systemet Spartan Cube CYP2C19 System er indiceret til anvendelse som en hjælp for klinikere til at bestemme behandlingsstrategier i forbindelse med terapier, som metaboliseres af cytokrom P450 2C19-genproduktet, og som specifikt påvirkes af allel *2, *3 og *17. Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay vil blive kørt på platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform ved anvendelse af en mundskrabsprøve indsamlet med en Spartan podepind. Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay er ikke indiceret til at blive anvendt til at forudsige respons eller manglende respons på lægemidler.

Platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform – Systemet Spartan Cube CYP2C19 System er indiceret til anvendelse som en hjælp for klinikere til at bestemme behandlingsstrategier i forbindelse med terapier, som metaboliseres af cytokrom P450 2C19-genproduktet, og som specifikt påvirkes af allel *2, *3 og *17. Platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform vil blive anvendt til at køre assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay.

DELE TIL ASSAYET SPARTAN CUBE CYP2C19 ASSAY

REF Systemet Spartan Cube CYP2C19 System består af assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay og platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform. Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay udføres med en mundskrabsprøve på platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform. Denne brugsanvisning omhandler assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay.

	Varenummer
Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay	ASM-00095
Testkit	ASM-00101
Prøvetagningskit	ASM-00103
Kit til ekstern kontrol	ASM-00099

BAGGRUNDSOPLYSNINGER

Der er individuel variabilitet i aktiviteten af lægemiddelmetaboliserende enzymer. Denne variabilitet er en af hovedårsagerne til, at mennesker sommetider reagerer forskelligt på det samme lægemiddel. CYP450 2C19 (CYP2C19) er et lægemiddelmetaboliserende enzym i leveren, der er involveret i metabolisering og nedbrydning af mange almindeligt ordinerede lægemidler, bl.a. antidepressiva, antiepileptika, barbiturater, protonpumpehæmmere og antitrombocytmidler.

Genetiske polymorfismer i CYP2C19 er almindelige og kan føre til variable niveauer af enzymaktivitet spændende fra dårlig metabolisme til ultrahurtig metabolisme. Personer, som har genotypen dårlig eller intermediær metabolisator, kan opleve andre lægemiddelniveauer end normale personer. Derfor kan disse personer kræve alternative behandlingsstrategier for lægemidler, der metaboliseres af CYP2C19.

CYP2C19*1-allelen har fuldt funktionel enzymaktivitet. CYP2C19*2- og *3-allelerne, som er associeret med funktionstab, koder for ikke-funktionelle proteiner uden funktionel enzymaktivitet. En person med to alleler med funktionstab klassificeres som en dårlig metabolisator. En person med en allel med funktionstab klassificeres som en intermediær metabolisator. CYP2C19*2- og *3-alleler er ansvarlige for langt størstedelen af fænotyperne dårlige metabolisatorer. Allelfrekvensen af disse mutationer varierer signifikant mellem forskellige etniske grupper, spændende fra 2-5 % i hvide og afrikanske populationer til 13-23 % i asiatiske populationer.[1]

CYP2C19*17-allelen er associeret med ultrahurtig CYP2C19-enzymaktivitet. Den befinder sig inden for det regulerende upstream område af CYP2C19-genet og forbedrer transskriptionen af genproduktet.[2, 3] Allelfrekvensen rapporteres at være 18 % i svenske og etiopiske populationer, 27 % i en polsk population og 4 % hos kinesiske forsøgspersoner.[3]

Spartan Cube CYP2C19 identificerer **CYP2C19*2**-, **CYP2C19*3**- og **CYP2C19*17**-alleler. Følgende tabel angiver de alleler, der genkendes af assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay, polymorfismen for hver allel, enzymaktivitet og referencer.[4]

Tabel 2 – Alleler, der genkendes af assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay

CYP2C19-allel	Polymorfisme, der genkendes af assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay	Enzymaktivitet	Referencer
*1[a]	Ingen[a]	Normal	Romkes (1991), Richardson (1995), Blaisdell (2002)
*2	19154G>A	Ingen	de Morais (1994), Ibeanu (1998), Fukushima-Uesaka (2005), Lee (2009)
*3	17948G>A	Ingen	de Morais (1994), Fukushima-Uesaka (2005)
*17	-806C>T	Øget	Sim (2006), Rudberg (2008)

b. Genotype *1 for assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay indikerer kun fravær af allel *2, *3 og *17.

Andre alleler kan være knyttet til fravær af eller nedsat enzymaktivitet, men er signifikant mindre hyppige end CYP2C19*2- og *3-allelerne. Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay giver ikke oplysninger om andre alleler end *2, *3 og *17.

Prøver med genotypen CYP2C19*10 kan give et forkert resultat med assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay og erklære resultatet en *2. Både CYP2C19*2 og CYP2C19*10 er alleler med funktionstab.

TESTPRINCIP/OVERSIGT OVER ASSAYET

Systemet Spartan Cube CYP2C19 System består af:

- Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay
- Platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform

Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay er en hurtig, automatisk *in vitro*-diagnostisk test til identificering af allelerne CYP2C19*2, *3 og *17. Assayet udføres på platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform.

Assayprotokollen er baseret på følgende hovedprocesser:

a. Indsamling af humant genomisk DNA ved hjælp af mundskrabsprøve
b. DNA-ekstraktion
c. PCR-amplifikation af ekstraheret DNA
d. Påvisning af amplificerede PCR-produkter ved hjælp af fluorescens-oligonukleotidprober
e. Påvisning og analyse af fluorescenssignal (bestemmelse af genotyperne CYP2C19*2, *3 og *17)
f. Udskrivning af resultaterne

Trin (b) til (e) udføres automatisk af systemet Spartan Cube CYP2C19 System.

BESKRIVELSE AF ENHEDEN

Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay udføres på platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform.

Testen Spartan Cube CYP2C19 Test består af et **PRØVETAGNINGSKIT** og et **TESTKIT** til identificering af CYP2C19*2-, *3- og *17-alleler.

Hvert prøvetagningskit består af en **POSE** indeholdende tre podepinde. På posen er der en etiket, hvorpå patientinformation, tidspunkt for prøveindsamling og andre oplysninger kan registreres.

PODEPINDEN anvendes til at indsamle en mundskrabsprøve fra indersiden af patientens kind og overføre den til testkassetten.

Hvert testkit indeholder en **TESTKASSETTE** med substanser til DNA-ekstraktion, PCR-amplifikation og fluorescenspåvisning af CYP2C19-allelerne, i tre forskellige prøverør. Blandingen i hvert enkelt prøverør er beregnet til specifik påvisning af et af de tre loci. De kemiske stoffer består af fire (4) syntetiske oligonukleotider (1 sæt pr. locus), Taq DNA polymerase (nok til 1 reaktion pr. prøverør) og DNA-ekstraktions- og PCR-aktiverende væske (nok til 1 reaktion pr. prøverør).

Platformen **SPARTAN CUBE CYP2C19 PLATFORM** omfatter følgende:

- Kuben Spartan Cube
- Computer
- Printer
- Stregkodescanner

Instruktioner i, hvordan platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform anvendes, findes i brugervejledningen til platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform (dokumentnummer CUS-00045).

Kuben **SPARTAN CUBE** er et instrument, der automatiserer assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay og integrerer følgende trin:

- Ekstraktion af humant genomisk DNA fra en mundskrabsprøve i reagensrøret
- Termisk PCR-cyklusbehandling
- Optisk påvisning af fluorescenssignaler fra oligonukleotidprober, der binder sig til PCR-amplikoner
- Automatisk analyse af fluorescenssignaler og genotypebestemmelse

COMPUTEREN fungerer som brugergrænseflade til at logge på platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform, indføre patientoplysninger og andre oplysninger forbundet med testen, automatisk indføre testkittenes lotnumre samt give anvisninger til, hvordan man starter en test.

PRINTEREN kan anvendes til at udskrive genotyperesultaterne, efter platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform er færdig med at udføre assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay.

EKSTERN KONTROL er designet til at bestemme, om platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform fungerer korrekt.

Hvert kit til ekstern kontrol består af en **KONTROLKASSETTE** med substanser til DNA-ekstraktion, PCR-amplifikation og fluorescenspåvisning af CYP2C19-allelerne, i tre forskellige prøverør. Blandingen i hvert enkelt prøverør er beregnet til specifik påvisning af et af de tre loci. De kemiske stoffer består af fire (4) syntetiske oligonukleotider (1 sæt pr. locus), Taq DNA polymerase (nok til 1 reaktion pr. prøverør), DNA-ekstraktions- og PCR-aktiverende væske (nok til 1 reaktion pr. prøverør) og en syntetisk DNA-skabelon. Kassetten tages ud af emballagen og sættes direkte ind i kuben Spartan Cube i henhold til den eksterne kontrolprocedure (se nedenfor). Kassetten i kittet til ekstern kontrol skal aldrig åbnes.

Alle krav og al testning forbundet med kvalitetskontrol skal udføres i overensstemmelse med gældende forskrifter såvel som godkendelseskrav.

ADVARSLER OG FORHOLDSREGLER

Krav vedrørende håndtering

- Til *in vitro*-diagnostisk brug.
- Skal anvendes af kvalificeret personale.
- Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay må kun anvendes med mundskrabsprøver indsamlet med Spartan podepinden i prøvetagningskittet.
- Mundskrabsprøver skal indsamles og testes inden for de tidsbegrænsninger, der er beskrevet i assayproceduren.
- Alle patientprøver er potentielt farlige. Der skal udvises forsigtighed ved håndtering af materialer af human oprindelse.
- Podepinden i prøvetagningskittet må ikke anvendes, hvis der er synlige tegn på beskadigelse.
- Kassetten i testkittet må ikke anvendes, hvis der er synlige tegn på beskadigelse.
- Testkits eller kits til ekstern kontrol må ikke anvendes efter deres udløbsdato.
- Testkits og kits til ekstern kontrol skal opbevares ved -15 °C til -80 °C i den originale æske. Spartan Bioscience anbefaler at opbevare kittene bagest i fryseren. Derved undgås eksponering for stuetemperatur, når døren til fryseren åbnes.
- Testkits og kits til ekstern kontrol er kun beregnet til engangsbrug.

Kontamineringskontrol

- Brug **altid** engangshandsker ved håndtering af podepinden eller kassetten. Derved undgås det, at assayet kontamineres med dit DNA.
- En kassette må **aldrig** åbnes, efter at testen er startet i Spartan Cube. Hvis en kassette åbnes, efter at testen er færdig, kan miljøet blive kontamineret med amplificeret DNA. Dette kan føre til unøjagtige resultater af fremtidige tests.
- Når en test er afsluttet, skal kassetten bortskaffes i en forseglet pose eller handske. Hvis det usandsynlige skulle ske, at låget på en kassette åbnes, skal låget **straks** lukkes, og kassetten bortskaffes i en forseglet pose eller handske.
- Forsøg **aldrig** på noget tidspunkt at åbne en kassette i et kit til ekstern kontrol. Kittet til ekstern kontrol indeholder en syntetisk DNA-skabelon. Hvis en kassette i et kit til ekstern kontrol åbnes, kan miljøet blive kontamineret med denne syntetiske skabelon. Dette kan føre til unøjagtige resultater af fremtidige tests.

Laboratorieprocedurer

- Overhold normale forholdsregler for håndtering af laboratoriereagenser.
- Sikre laboratorieprocedurer skal følges: Brug beskyttelsesbeklædning (f.eks. engangshandsker). Undlad at spise, drikke og ryge i laboratoriet eller testopsætningsområder. Vask hænderne grundigt efter håndtering af mundskrabsprøver og reagensrør.

Håndtering af affald

- Alle brugte komponenter fra assayet, inklusive podepinde, reagensrør, mundskrabsprøver og affald, skal bortskaffes som biologisk farligt affald i henhold til gældende forskrifter.
- Sikkerhedsdatablade (SDS) kan fås hos Spartan Bioscience efter anmodning.

Platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform

- Læs brugervejledningen til Spartan Cube CYP2C19 Platform (CUS-00045), før platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform betjenes.
- Følg anvisningerne i afsnittet Advarsler og forholdsregler i brugervejledningen.
- Følg anvisningerne i afsnittet Driftskrav ved installation af platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform.
- Se afsnittet Fejlfinding, hvis der opstår problemer.

OPBEVARING/STABILITET

Testkittene og kittene til ekstern kontrol forsendes frosne og kan blive forsendt i tøris. Tøris kan give alvorlig forfrysning ved få sekunders kontakt. Undgå kontakt med hud og øjne. Brug altid handsker. Må aldrig håndteres med de bare hænder. Må ikke indtages. Må ikke anvendes i indelukkede områder. Tøris frigiver kuldioxiddampe, som kan forårsage kvælning. Ved bortskaffelse skal tøris have mulighed for at fordampe i et område med god ventilation.

Ved modtagelse af testkits og/eller kits til ekstern kontrol skal pakningen inspiceres for at kontrollere, at reagenserne er forblevet frosne og under -15 °C under forsendelsen. Kontakt den lokale distributør, hvis du mener, at dine testkits kan have været udsat for termisk påvirkning.

−80°C −15°C Testkits og kits til ekstern kontrol skal opbevares i en fryser med manuel optønings-funktion (**ikke** en såkaldt "frostfri" model) ved en temperatur på mellem -15 °C og -80 °C. Spartan Bioscience anbefaler at opbevare kittene bagest i fryseren i den originale æske. Derved undgås eksponering for stuetemperatur, når døren til fryseren åbnes.

Når testkits og kits til ekstern kontrol opbevares under disse forhold, er de stabile indtil udløbsdatoen angivet på produktetiketten.

Tag ikke testkits eller kits til ekstern kontrol ud af fryseren, før du er klar til at udføre en test.

MATERIALER DER LEVERES MED ASSAYET SPARTAN CUBE CYP2C19 ASSAY

REF Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay (ASM-00095)

Hver enkelt Spartan Cube CYP2C19 Test består af to komponenter:

- Prøvetagningskittet Spartan Cube CYP2C19 Swab Kit (indeholder tre podepinde til mundskrab, ASM-00104)
- Testkittet Spartan Cube CYP2C19 Test Kit (indeholder en testkassette, ASM-00092)

Hvert kit til ekstern kontrol, External Control Kit (ASM-00093), indeholder:

- En kassette til ekstern kontrol

Kittene til ekstern kontrol, som kun kan anvendes med assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay, sælges af Spartan Bioscience.

NØDVENDIGE MATERIALER, DER IKKE LEVERES AF SPARTAN BIOSCIENCE

- Engangshandsker
- Almindeligt printerpapir (8,5 tommer x 11 tommer)

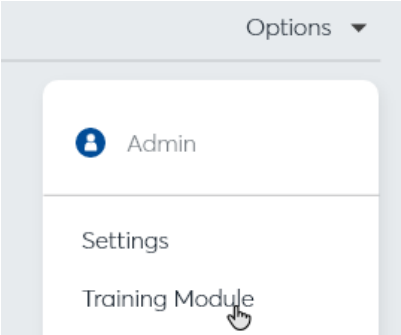
UDSTYR

REF Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay skal udføres på platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform (ASM-00096).

TRÆNING

Spartan anbefaler, at alle brugere gennemfører træningsmodulet, før de udfører test eller kontroller på systemet Spartan Cube CYP2C19 System. Træningsmodulet indbefatter en video, en praktisk gennemgang af proceduren og en quiz. Efter at have gennemført træningsmodulet vil brugeren få tildelt et træningscertifikat, som kan udskrives eller tilgås senere på computeren af en administrator.

Træningsmodulet tilgås ved at vælge **Options** (Valgmuligheder) øverst til højre på hovedskærmbilledet og derefter vælge **Training Module** (Træningsmodul). Softwaren vil lede dig igennem de forskellige komponenter af træningen.



ASSAYPROCEDURE

Udførelse af assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay omfatter **8 trin**:

- **Trin 1-4:**
    1. Find et prøvetagningskit frem.
    2. Tag hætten af podepinden.
    3. Udtag mundskrabsprøve.
    4. Sæt hætten på podepinden igen.
- **Trin 5-8:**
    5. Sæt testkassetten i Spartan Cube.
    6. Indfør podepindens spids i testkassetten.
    7. Slå let på testkassetten for at blande prøverne.
    8. Start testen.

NB! Trin 2-4 og 5-6 udføres for hver af de tre podepinde i prøvetagningskittet.

VIGTIGT:

Det er vigtigt at overholde følgende tidsbegrænsninger:

- Start testen inden for **15 minutter**, efter at testkittet tages ud af fryseren.
- Start testen inden for **20 timer** efter indsamling af mundskrabsprøven.

VIGTIGT: Brug engangshandsker ved udførelse af trin 1-8. Brug et nyt par engangshandsker for hver patient, du udtager prøve på.

TRIN 1: Find et prøvetagningskit frem

iii) Prøvetagningskittet opbevares ved stuetemperatur.	
iv) Åbn posen med prøvetagningskittet, og tag alle tre podepinde ud. **VIGTIGT:** • **Brug handsker ved håndtering af podepindene.** • **Posen med prøvetagningskittet må ikke bortskaffes. Podepindene skal lægges tilbage i posen, når prøven er udtaget.** • **Riv posen med prøvetagningskittet langsomt op. Dette vil forhindre, at spidsen af en podepind utilsigtet løsner sig fra podepinden.**	

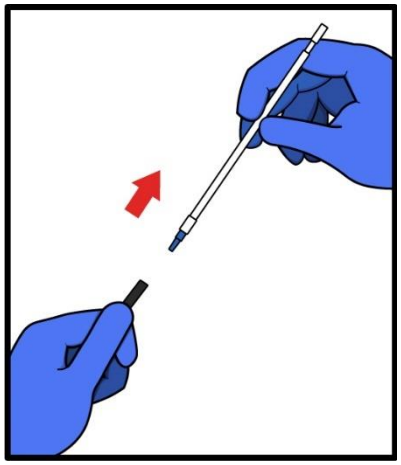
TRIN 2: Tag hætten af podepinden

iv) Tag en podepind op med den ene hånd, og hold på det hvide skaft, som om det var en blyant. Den ideelle position er halvvejs til trekvartvejs væk fra podepindens hætte.

v) Tag podepindens hætte af med den anden hånd.

vi) Bortskaf ikke podepindens hætte. Den skal sættes på podepinden igen.

VIGTIGT: Sørg for, at podepindens blå spids ikke ved et uheld kommer i kontakt med nogen overflader, efter at hætten er taget af podepinden.*

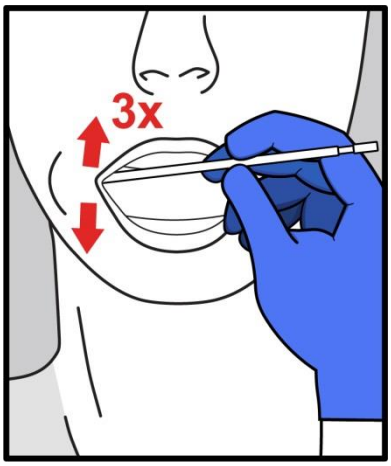


TRIN 3: Udtag mundskrabsprøve

ii) Skrab indersiden af patientens kind med podepindens blå spids. Foretag tre (3) skrab op-ned (6 skrab i alt). Skrab med samme styrke, når du skraber opad og nedad.

VIGTIGT:

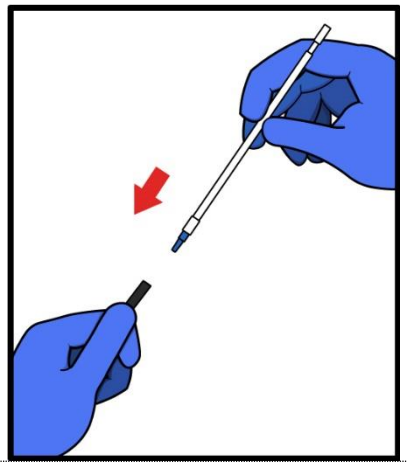
- **Hold podepindens blå spids i en ret vinkel mod indersiden af kinden, som om du tegner lodrette linjer på kinden med podepindens spids.**
- **Tryk godt til, når du skraber på indersiden af patientens kind.**
- **Patientens kind skal presses tydeligt udad og danne en udbulning.**



TRIN 4: Sæt hætten på podepinden igen

ii) Sæt hætten tilbage på podepindens spids.

VIGTIGT: Sørg for, at podepindens spids ikke ved et uheld kommer i kontakt med nogen overflader, inklusive din behandskede hånd.*



iv) Gentag trin 2 til 4 (i) med de øvrige to podepinde.

v) Registrer eller påsæt patientens oplysninger på posen til prøvetagningskittet, og læg podepindene tilbage i posen.

TRIN 5: Sæt testkassetten i Spartan Cube

viii) Testkittene indeholder en testkassette i en pose, der er forsynet med en stregkode. Tag testkittet ud af fryseren.

ix) Log på brugergrænsefladen for Spartan Cube CYP2C19 med dit brugernavn og din adgangskode.

x) Vælg **Run a test** (Kør en test), og fortsæt gennem brugergrænsefladens skærmbilleder.

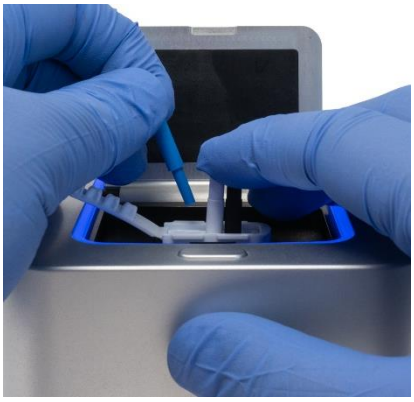
xi) Indtast patientoplysninger i de relevante felter.

xii) Brug stregkodescanneren til at scanne stregkoden på posen i testkittet.

xiii) Åbn låget på Spartan Cube.

xiv) Sæt testkassetten i Spartan Cube.	

TRIN 6: Indfør podepindens spids i testkassetten

vii) Hold testkassetten nede med den ene hånd, og tag en prop ud af kassetten med den anden hånd. **VIGTIGT: Sørg for, at der ikke falder noget ned i kassetterøret, mens proppen er taget ud.***	
viii) Tag hætten af en af de podepinde, der blev brugt til at udtage mundskrab fra patienten.	
ix) Indfør podepindens blå spids i det åbne kassetterør. **VIGTIGT: Undgå at lade podepindens spids berøre kassettens sider for at undgå tab af mundskrabsmateriale.** **x)** Hold godt fast i podepindens skaft med fingrene. Anbring tommelfingeren på toppen af podepinden. Tryk toppen af podepinden ned med tommelfingeren. Podepindens blå spids vil blive skubbet ned i kassetterøret. **xi)** Gentag trin 6(i) til 6(iv) for de tilbageværende prøver.	

xii) Luk låget på testkassetten ved at føre en finger eller tommelfingeren tværs over det.

TRIN 7: Slå let på testkassetten for at blande prøverne

viii) Tag fat i den lukkede testkassette med tommel- og pegefingeren, og løft kassetten ud af Spartan Cube.

ix) Slå let på kassetterørene tre gange med en hurtig bevægelse af pegefingeren på din frie hånd.

x) Sæt kassetten tilbage i Cube-enheden, og luk låget.

VIGTIGT: Ved at slå let på kassetten bliver det lettere for væsken og mundskrabsmaterialet at komme i kontakt med hinanden.

TRIN 8: Start testen

xi) Vælg **Start** for at påbegynde analysen.

VIGTIGT: Låget på Spartan Cube må ikke åbnes under testen. Hold låget lukket til enhver tid, undtagen ved isætning eller udtagning af kassetter.

xii) Testen vil være afsluttet efter cirka en time. På dette tidspunkt vil resultaterne blive vist på skærmen, og de kan så eksporteres og/eller udskrives.	
xiii) Når testen er færdig, skal låget på Spartan Cube åbnes og testkassetten langsomt tages ud.	
xiv) Bortskaf testkassetten i en forseglet pose eller tilbundne handsker. **VIGTIGT: En testkassette må <u>aldrig</u> åbnes, efter at den er blevet lukket.** **VIGTIGT: Testkassetter kan ikke genkøres.**	

***Hvis du ved et uheld er kommet til at lade podepindens spids berøre en utilsigtet genstand eller mener, at reaktionen af en anden grund er blevet kontamineret med utilsigtet materiale, skal prøvetagningskittet og/eller testkittet kasseres, og udtagning af mundskrabsprøver skal gentages.**

EKSTERN KONTROLPROCEDURER

Før den eksterne kontrolprocedure påbegyndes, skal kittet til ekstern kontrol hentes ud af fryseren og bringes hen til Spartan Cube.

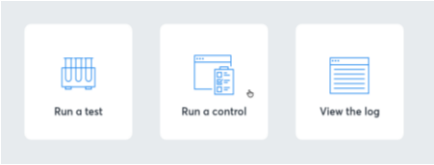
Udførelse af proceduren for ekstern kontrol omfatter **3 trin**:

4. Klargør kassetten til ekstern kontrol
5. Sæt kassetten i Spartan Cube
6. Start kørslen

VIGTIGT: Trin 1-3 af den eksterne kontrolprocedure skal udføres inden for <u>15 minutter efter udtagning fra fryseren.</u>

VIGTIGT: Brug engangshandsker ved udførelse af trin 1-3. Brug altid et nyt par handsker ved kørsel af kits til ekstern kontrol. Det samme par handsker må ikke bruges ved kørsel af tests fra patienter.

TRIN 1: Klargør ekstern kontrol

vii) Kittene til ekstern kontrol indeholder en kontrolkassette i en pose, der er forsynet med en stregkode. Tag et kit til ekstern kontrol ud af fryseren. **VIGTIGT: Kassetter til ekstern kontrol må <u>aldrig</u> åbnes på noget tidspunkt.**	
viii) Log på brugergrænsefladen for Spartan Cube CYP2C19 med dit brugernavn og din adgangskode.	
ix) Vælg **Run a Control** (Kør en kontrol), og fortsæt gennem brugergrænsefladens skærmbilleder.	
x) Scan stregkoderne på posen med kittet til ekstern kontrol.	
xi) Tag kassetten til ekstern kontrol ud af posen, og lad den optø i cirka 2-3 minutter.	
xii) Slå let på kassetterørene tre gange med en hurtig bevægelse af pegefingeren på din frie hånd.	

TRIN 2: Sæt kontrolkassetten i Spartan Cube	
iv) Åbn låget på Spartan Cube.	
v) Sæt kontrolkassetten i Spartan Cube.	
vi) Luk låget på Spartan Cube.	

TRIN 3: Start kørslen	
v) Vælg **Start**.	
vi) Testen vil være afsluttet efter cirka en time. På dette tidspunkt vil resultaterne blive vist på skærmen, og de kan så eksporteres og/eller udskrives.	
vii) Når testen er færdig, skal låget på Spartan Cube åbnes og kontrolkassetten tages ud.	
viii) Bortskaf kontrolkassetten i en forseglet pose eller tilbundne handsker.	

KVALITETSKONTROL

Alle krav og al testning forbundet med kvalitetskontrol skal udføres i overensstemmelse med gældende forskrifter eller godkendelseskrav. Spartan anbefaler, at eksterne kontroller udføres på basis af testhyppighed. Hvis der testes dagligt, anbefales det at udføre ugentlige eksterne kontroller. Hvis der kun sjældent udføres tests, anbefales det at udføre eksterne kontroller på dagen for testene.

Interne kontroller

Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay har to interne kontroller, der kører automatisk under hver test:

- Intern positiv kontrol (Internal Positive Control, IPC)
- Positiv systemkontrol (Positive System Control, PSC)

IPC-kontrollen måler fluorescenssignaler ved kørslens afslutning. Den sikrer, at der blev tilsat tilstrækkelig mundskrabsprøve til reagensrøret, og at prøven blev korrekt behandlet. Hvis IPC-kontrollen udløses, vil resultatet blive angivet som INCONCLUSIVE (Inkonklusivt). Kør testen igen med et nyt prøvetagningskit og et nyt testkit, hvis dette sker.

PSC-kontrollen vurderer systemets ydeevne på intermediære stadier i kørslen og ved kørslens afslutning. Den sikrer, at Spartan Cube fungerer korrekt, og at systemet og testen er inden for acceptable ydeevnegrænser. Hvis PSC-kontrollen udløses på et tidspunkt under kørslen, afbrydes testen, og skærmbilledet vil vise en advarselsmeddelelse med oplysninger om platformens status, og hvad der skal gøres. Kontakt den lokale distributør, hvis PSC-kontrollen udløses gentagne gange.

Eksterne kontroller

KITTENE TIL EKSTERN KONTROL er designet af Spartan Bioscience til at bestemme, om platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform fungerer korrekt.

Hvert kit til ekstern kontrol indeholder substanser til DNA-ekstraktion, PCR-amplifikation og fluorescenspåvisning af CYP2C19-allelerne, i tre forskellige prøverør. Blandingen i hvert enkelt prøverør er beregnet til specifik påvisning af et af de tre loci. De kemiske stoffer består af fire (4) syntetiske oligonukleotider (1 sæt pr. locus), Taq DNA polymerase (nok til 1 reaktion pr. prøverør), DNA-ekstraktions- og PCR-aktiverende væske (nok til 1 reaktion pr. prøverør) og en syntetisk DNA-skabelon. Det er ikke nødvendigt at tilsætte noget andet.

Det tager cirka 1 time at køre kits til ekstern kontrol på platformen Spartan Cube CYP2C19 Platform. Når en vellykket ekstern kontroltest er afsluttet, vil resultatet af den eksterne kontrol angive “PASS” (Vellykket). Hvis den eksterne kontrol ikke er vellykket, vil skærmbilledet angive, at den eksterne kontrol mislykkedes. Kør en ny ekstern kontrol, hvis dette sker.

Spartan Bioscience anbefaler at køre kits til ekstern kontrol, hvis et eller flere af følgende forhold forekommer:

- IPC-kontrollen genererer til stadighed inkonklusive resultater.
- PSC-kontrollen genererer til stadighed advarselsmeddelelser.
- Eksterne kontroller skal køres i overensstemmelse med gældende forskrifter og/eller godkendelseskrav.

FORTOLKNING AF RESULTATER

Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay

Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay er designet til at påvise og genotypebestemme allelerne CYP2C19*2, *3 og *17. Ved testens afslutning vises assayrapporten på skærmbilledet, hvorefter den kan udskrives. Den angiver, hvilke genotyper der er blevet påvist i mundskrabsprøven.

Der påvises fire mulige udfald for hver CYP2C19-allel:

- CYP2C19*2
  - *1/*1 – Patienten er ikke bærer af allel *2 (wildtype)
  - *1/*2 – Patienten bærer en kopi af allel *2 (heterozygot)
  - *2/*2 – Patienten bærer to kopier af allel *2 (homozygot)
  - INCONCLUSIVE (Inkonklusivt) – Systemet kan ikke påvise genotype *2
- CYP2C19*3
  - *1/*1 – Patienten er ikke bærer af allel *3 (wildtype)
  - *1/*3 – Patienten bærer en kopi af allel *3 (heterozygot)
  - *3/*3 – Patienten bærer to kopier af allel *3 (homozygot)
  - INCONCLUSIVE (Inkonklusivt) – Systemet kan ikke påvise genotype *3
- CYP2C19*17
  - *1/*1 – Patienten er ikke bærer af allel *17 (wildtype)
  - *1/*17 – Patienten bærer en kopi af allel *17 (heterozygot)
  - *17/*17 – Patienten bærer to kopier af allel *17 (homozygot)
  - INCONCLUSIVE (Inkonklusivt) – Systemet kan ikke påvise genotype *17

Ovennævnte testudfald kombineres for at frembringe en kombineret genotypebestemmelse for patienten, hvilket er angivet i testresultaterne, som vist i tabellen herunder:

Tabel 3 – Testudfald og kombineret genotypebestemmelse for patient

*2	*3	*17	Kombineret genotype
*1/*1	*1/*1	*1/*1	***1/*1**
*1/*2	*1/*1	*1/*1	***1/*2**
*1/*1	*1/*3	*1/*1	***1/*3**
*1/*1	*1/*1	*1/*17	***1/*17**
*2/*2	*1/*1	*1/*1	***2/*2**
*1/*1	*3/*3	*1/*1	***3/*3**
*1/*1	*1/*1	*17/*17	***17/*17**
*1/*2	*1/*3	*1/*1	***2/*3**
*1/*2	*1/*1	*1/*17	***2/*17**
*1/*1	*1/*3	*1/*17	***3/*17**

Bemærk, at en genotype *1/*1 kun angiver fravær af allel *2, *3 og *17. Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay bestemmer kun genotyperne CYP2C19*2, *3 og *17, og der gives ikke oplysninger for andre CYP2C19-alleler. Det er usikkert, om disse ikke-påviste alleler er til stede i mundskrabsprøven.

Når testresultatet er INCONCLUSIVE (Inkonklusivt), skal testen gentages med et nyt prøvetagningskit og testkit.

RESIDUALRISICI OG BEGRÆNSNINGER

Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay identificerer kun allel CYP2C19*2, *3 og *17 og de tilsvarende polymorfismer. Assayet rapporterer kun genotyperne for disse alleler. Når rapporterne anfører den kombinerede genotype som wildtype (*1/*1), er kun disse alleler wildtype.

Assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay giver ingen resultater for CYP2C19*4, *5, *6, *7, *8 og andre alleler. Det kan ikke siges, om der er mutationer i disse alleler til stede i mundskrabsprøven.

Tilstedeværelse af allel CYP2C19*10 kan interferere med testen for allel CYP2C19*2. Prøver med genotype CYP2C19*10 kan give en forkert bestemmelse med testen Spartan Cube CYP2C19 Test og bestemme resultatet til en *2. Både CYP2C19*2 og CYP2C19*10 er alleler med funktionstab.

Der er risiko for, at podepindens spids kan falde af i patientens mund. Hvis dette sker, skal patienten straks instrueres om at fjerne spidsen fra sin mund, og der skal anvendes et nyt prøvetagningskit til at indsamle prøven.

På grundlag af publicerede oplysninger kan de genotypeoplysninger, som assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay frembringer, anvendes af klinikeren til at forudsige en persons CYP2C19-enzymaktivitet. Klinikere bør udvise forsigtighed og anvende deres faglige skøn med hensyn til at forudsige fænotype og justere behandlingsstrategien for patienter, hos hvem allel *2, *3 og/eller *17 kommer til udtryk. De oplysninger, denne test frembringer, kan være et supplement i forbindelse med beslutningstagningen og bør kun anvendes i kombination med rutineovervågning foretaget af en læge. På grund af variabiliteten inden for viden om den kliniske nytte af bestemte lægemidler, der metaboliseres af CYP2C19, skal klinikere anvende deres faglige skøn ved fortolkning af resultaterne fra denne test. Resultater fra denne type assay må ikke anvendes til at forudsige en patients respons på lægemidler, for hvilke den lægemiddelmetaboliserende enzymaktivitet for den pågældende allel, eller lægemidlets metaboliske bane, ikke er klart fastslået.

YDEEVNEKARAKTERISTIKA

Reproducerbarhed mellem laboratorier

Ydeevnen af systemet Spartan Cube CYP2C19 System blev vurderet på tre kliniske steder over fem ikkekonsekutive dage pr. sted. I alt seks operatører deltog i undersøgelsen (2 operatører pr. sted).

Reproducerbarhedsundersøgelsen testede otte personer med følgende genotyper: *1/*1, *1/*2, *2/*2, *1/*3, *2/*3, *1/*17, *17/*17 og *2/*17. Alle personernes genotyper blev bekræftet ved bidirektionel sekventering.

De operatører, der var involveret i undersøgelsen, var tre laboratorieteknikere, to sygeplejersker og en forskningsstuderende, som alle havde gennemført træningen med produktet Spartan Cube CYP2C19 og ikke havde omfattende erfaring med indsamling af mundskrabsprøver. Resultaterne blev genereret fra to prøvetagningssessioner (morgen og eftermiddag) med hver session opdelt i to undersessioner. I hver undersession blev hver deltager testet af operatør 1 og operatør 2 på hvert sted. Hvis resultatet af den første test for en bestemt person var inkonklusivt, blev testen gentaget (anden testning).

Der blev udført i alt sekshundrede fyrre (640) tests. Der blev udført seks (6) tests i anden testning på grund af inkonklusive resultater ved den respektive første testning. Efter anden testning (én tilladt gentagen test) var de seks prøver afklarede. Efter den kombinerede første og anden testning havde produktet Spartan Cube CYP2C19 en korrekt bestemmelsesrate på 100 %, med en 95 % tosidet nedre konfidensgrænse på 99,6 %.

Tabel 4a – Reproducerbarhed mellem laboratorier – Kombinerede resultater for første og anden testning

Prøvetype [a]	Anden testning (kombineret endeligt)					
	Antal testede prøver	Antal korrekte bestemmelser [b]	Antal inkorrekte bestemmelser	Antal ingen bestemmelser	Korrekt bestemmelsesrate (%)	95 % konfidens, nedre grænse (tosidet)
*1/*1	120	120	0	0	100	96,9
*1/*2	120	120	0	0	100	96,9
*1/*3	120	120	0	0	100	96,9
*1/*17	120	120	0	0	100	96,9
*17/*17	120	120	0	0	100	96,9
*2/*17	120	120	0	0	100	96,9
*2/*2	120	120	0	0	100	96,9
*2/*3	120	120	0	0	100	96,9
Prøver i alt (alle steder, alle lots)	**960**	**960**	**0**	**0**	**100**	**99,6**

[a]Genotype ved bidirektionel sekventering. *1/*1-prøver er wildtype for *2, *3 og *17.
[b]For at en prøve kunne anses som en korrekt bestemmelse, skulle resultaterne af alle tre genotyper (*2, *3, *17) være korrekte.

Reproducerbarhed mellem lots med testkit

Systemet Spartan Cube CYP2C19 System anvender et enkelt testkit til påvisning af tre CYP2C19-mutationer (*2, *3, *17).

Reproducerbarheden mellem lots blev vurderet ved hjælp af de tre uafhængige testkit-lots, der var til stede på sted 1, sted 2 og sted 3 som følger:

- Testkit lot A: Sted 1 og 3
- Testkit lot B: Sted 1 og sted 2
- Testkit lot C: Sted 2 og 3

Ved første testning gav 6 prøver (lot A sted 1 og 3 (2), lot B sted 2 (3), lot C sted 3 (1)) inkonklusive resultater. Efter anden testning (én tilladt gentagen test) var de seks prøver afklarede. Resultaterne angiver generelt, at forskellige reagenslots fungerer på tilsvarende vis.

Tabel 5a – Reproducerbarhed mellem lots med testkit – Kombineret første og anden testning

Reagens-lots i testkit	Prøvetype [a]	Laborato-riested	Antal testede prøver	Antal korrekte bestem-melser [b]	Antal inkorrekte bestem-melser	Antal in-gen bestem-melser	Korrekt bestemmel-sesrate (%)	95 % kon-fidens, nedre grænse (tosidet)
Lot A	*1/*1	1 og 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*2	1 og 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*3	1 og 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*17	1 og 3	40	40	0	0	100	91,2
	*17/*17	1 og 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*17	1 og 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*2	1 og 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*3	1 og 3	40	40	0	0	100	91,2
	I alt		**320**	**320**	**0**	**0**	**100**	**98,8**
Lot B	*1/*1	1 og 2	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*2	1 og 2	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*3	1 og 2	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*17	1 og 2	40	40	0	0	100	91,2
	*17/*17	1 og 2	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*17	1 og 2	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*2	1 og 2	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*3	1 og 2	40	40	0	0	100	91,2
	I alt		**320**	**320**	**0**	**0**	**100**	**98,8**
Lot C	*1/*1	2 og 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*2	2 og 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*3	2 og 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*17	2 og 3	40	40	0	0	100	91,2
	*17/*17	2 og 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*17	2 og 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*2	2 og 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*3	2 og 3	40	40	0	0	100	91,2
	I alt		**320**	**320**	**0**	**0**	**100**	**98,8**

[a]Genotype ved bidirektionel sekventering. *1/*1-prøver er wildtype for *2, *3 og *17.
[b]For at en prøve kunne anses som en korrekt bestemmelse, skulle resultaterne af alle tre genotyper (*2, *3, *17) være korrekte.

Metodesammenligning

Den procentvise overensstemmelse mellem resultater fra produktet Spartan Cube CYP2C19 ved bidirektionel sekventering blev vurderet i en metodesammenligningsundersøgelse. Denne undersøgelse bestod af to dele (A og B). I del A blev i alt seks hundrede fem (605) prøver testet ved hjælp af produktet Spartan Cube CYP2C19. Disse resultater blev genereret fra ti (10) personers materiale fra munden (DNA-prøve) indsamlet på tværs af tre forskellige lots, af 3 operatører. Alle resultater blev sammenlignet med bidirektionel sekventering på en tredjeparts kvalificeret testfacilitet for at bestemme den procentvise overensstemmelse (tyve DNA-prøver blev verificeret ved hjælp af næste generations sekventering). Til bidirektionel sekventering blev genomisk DNA ekstraheret fra spytprøver. Nøjagtigheden af Spartan Cube CYP2C19 er 99,3 % efter én tilladt gentagen kørsel for data indsamlet med begge metoder.

Tabel 6a – Metodesammenligning – Kombinerede resultater fra første og anden testning

Prøvetype[a]	Kombineret første og anden testning (endelig bestemmelse)					
	Antal testede prøver	Antal inkonklusive bestemmelser	Antal inkorrekte bestemmelser	Antal korrekte bestemmelser[b]	% korrekt bestemmelsesrate	95 % konfidens, nedre grænse (tosidet)
*1/*1	203	0	0	203	100	98,1
*1/*2	171	0	1[c]	170	99,4	96,8
*2/*2	34	0	0	34	100	89,8
*1/*17	110	1	1[d]	108	98,2	93,6
*17/*17	21	0	0	21	100	84,5
*2/*17	38	0	0	38	100	90,8
*2/*3	9	1	0	8	88,9	56,5
*1/*3	16	0	0	16	100	80,6
*3/*17	2	0	0	2	100	34,2
*3/*3	1	0	0	1	100	20,7
I alt	**605**	**2**	**2**	**601**	**99,3**	**98,3**

[a]Genotype ved bidirektionel sekventering. *1/*1-prøver er wildtype for *2, *3 og *17.
[b]For at en prøve kunne anses som en korrekt bestemmelse, skulle resultaterne af alle tre genotyper (*2, *3, *17) være korrekte.
[c]Prøve 0109 blev testet på Spartan Cube og frembragte genotypebestemmelsen *1/*17, hvilket var overensstemmende med resultatet fra den bidirektionelle sekventering. Den prøve, der blev testet ved holdetiden på over 20 timer, resulterede i en kombineret genotypebestemmelse på *1/*1. Genotypen for personen, der udtager mundskrab, og prøveisætteren (tilføjelse ved håndtering af prøverør) kendes ikke. Det er muligt, at genomisk DNA indført af disse personer kunne resultere i et skift fra bestemmelsen *1/*17 til *1/*1, hvis deres genotype for S17 var *1/*1. Eksogent DNA fra personer, som har indsamlet eller kørt prøven, kan ikke udelukkes som en mulig årsag til det uoverensstemmende resultat.
[d]Prøve 0310 blev ombyttet med prøve 0311 (operatørfejl). Prøve 0311 blev udelukket fra populationen baseret på Phred-scorens acceptkriterier. Resultaterne af den bidirektionelle sekventering genererede et klart signal, som understøttede, at den tilgrundliggende årsag var operatørfejl.

I del B af metodesammenligningsundersøgelsen blev i alt 480 prøver fra 34 personer testet med produktet Spartan Cube CYP2C19. Del B af undersøgelsen omfatter to underafsnit, hvor prøver blev analyseret umiddelbart efter indsamling (< 1 time) eller efter opbevaring i mindst 20 timer (ved stuetemperatur) og op til 28 timer (> 20 timers prøve-holdetid). Alle resultater blev sammenlignet med bidirektionel sekventering for at bestemme den procentvise overensstemmelse. Til bidirektionel sekventering blev genomisk DNA ekstraheret fra spytprøver.

Patientpopulationens etnicitet var tilnærmelsesvis repræsentativ for den nordamerikanske population. Hvis resultatet af den første test var et inkonklusivt resultat, blev testen genoptaget (anden testning). I gruppen med en prøve-holdetid på < 1 time frembragte femten (15) prøver et inkonklusivt resultat for den første test, som var afklaret ved testning i anden testning. Af de 397 prøver, der blev analyseret med en prøve-holdetid på < 1 time, genererede 394 prøver et korrekt resultat efter testning i anden testning.

I gruppen med en prøve-holdetid på > 20 timer blev 208 prøver testet. Der blev genereret én inkonklusiv bestemmelse, som blev afklaret ved testning i anden testning. Samlet genererede 239 prøver af de 240 prøver, der blev testet efter en prøve-holdetid på > 20 timer, et korrekt resultat efter anden testning.

Den samlede korrekte bestemmelsesrate efter anden testning var 99,2 % for prøver med en holdetid på < 1 time, med en nedre 95 % konfidensgrænse på 97,8 %, og 99,5 % for prøver, der havde en holdetid på > 20 timer, med en nedre 95 % konfidensgrænse på 97,3 %.

Tabel 5: Prøve-holdetid < 1 time (t)

Prøvetype[a]	Første testning (< 1 t)						Kombineret anden testning (endelig bestemmelse) (< 1 t)					
	Antal testede prøver	Antal inkonklusive bestem-melser	Antal inkorrekte bestem-melser	Antal korrekte bestem-melser[b]	% korrekt bestem-melsesrate	95 % konfi-densgrænse	Antal testede prøver	Antal inkonklusive bestem-melser	Antal inkorrekte bestem-melser	Antal korrekte bestem-melser[b]	% korrekt bestem-melsesrate	95 % konfi-dens, nedre grænse (to-sidet)
*1/*1	136	3	0	133	97,8	93,7	136	0	0	136	100	97,3
*1/*2	117	3	1	113	96,6	91,5	117	0	1[c]	116	99,1	95,8
*2/*2	21	1	0	20	95,2	77,3	21	0	0	21	100	84,5
*1/*17	70	3	0	67	95,7	88,1	70	1	0	69	98,6	92,3
*17/*17	12	0	0	12	100	75,7	12	0	0	12	100	75,7
*2/*17	22	2	0	20	90,9	72,2	22	0	0	22	100	85,1
*2/*3	6	2	0	4	66,7	30,0	6	1	0	5	83,3	43,6
*1/*3	12	1	0	11	91,7	64,6	12	0	0	12	100	75,7
*3/*17	1	0	0	1	100	20,7	1	0	0	1	100	20,7
*3/*3	0	0	0	0	Ikke rele-vant	Ikke rel-evant	0	0	0	0	Ikke rel-evant	Ikke rel-evant
I alt	**397**	**15**	**1**	**381**	**96,0**	**93,6**	**397**	**2**	**1**	**394**	**99,2**	**97,8**

[a]Genotype ved bidirektionel sekventering. *1/*1-prøver er wildtype for *2, *3 og *17.

[b]For at en prøve kunne anses som en korrekt bestemmelse, skulle resultaterne af alle tre genotyper (*2, *3, *17) være korrekte.

[c]Prøve 0109 blev testet på Spartan Cube og frembragte genotypebestemmelsen *1/*17, hvilket var overensstemmende med resultatet fra den bidirektionelle sekventering. Den prøve, der blev testet ved holdetiden på over 20 timer, resulterede i en kombineret genotypebestemmelse på *1/*1. Genotypen for personen, der udtager mundskrab, og prøveisætteren (tilføjelse ved håndtering af prøverør) kendes ikke. Det er muligt, at genomisk DNA indført af disse personer kunne resultere i et skift fra bestemmelsen *1/*17 til *1/*1, hvis deres genotype for S17 var *1/*1. Eksogent DNA fra personer, som har indsamlet eller kørt prøven, kan ikke udelukkes som en mulig årsag til det uoverensstemmende resultat.

Tabel 6: Prøve-holdetid > 20 timer (t)

Prøvetype[a]	Første testning (> 20 t)						Kombineret anden testning (endelig bestemmelse) (> 20 t)					
	Antal testede prøver	Antal inkonklusive bestem-melser	Antal inkorrekte bestem-melser	Antal korrekte bestem-melser[b]	% korrekt bestem-melsesrate	95 % konfi-dens-grænse	Antal testede prøver	Antal inkonklusive bestem-melser	Antal inkorrekte bestem-melser	Antal korrekte bestem-melser[b]	% korrekt bestem-melsesrate	95 % konfi-dens, nedre grænse (to-sidet)
*1/*1	67	0	0	67	100	94,6	67	0	0	67	100	94,6
*1/*2	54	0	0	54	100	93,4	54	0	0	54	100	93,4
*2/*2	13	0	0	13	100	77,2	13	0	0	13	100	77,2
*1/*17	40	0	1	39	97,5	87,1	40	0	1[d]	39	97,5	87,1
*17/*17	9	0	0	9	100	70,1	9	0	0	9	100	70,1
*2/*17	16	0	0	16	100	80,6	16	0	0	16	100	80,6
*2/*3	3	0	0	3	100	43,8	3	0	0	3	100	43,8
*1/*3	4	0	0	4	100	51,0	4	0	0	4	100	51,0
*3/*17	1	0	0	1	100	20,7	1	0	0	1	100	20,7
*3/*3	1	0	0	1	100	20,7	1	0	0	1	100	20,7
I alt	**208**	**0**	**1**	**207**	**99,5**	**97,3**	**208**	**0**	**1**	**207**	**99,5**	**97,3**

[a]Genotype ved bidirektionel sekventering. *1/*1-prøver er wildtype for *2, *3 og *17.
[b]For at en prøve kunne anses som en korrekt bestemmelse, skulle resultaterne af alle tre genotyper (*2, *3, *17) være korrekte.
[d]Prøve 0310 blev ombyttet med prøve 0311 (operatørfejl). Prøve 0311 blev udelukket fra populationen baseret på Phred-scorens acceptkriterier. Resultaterne af den bidirektionelle sekventering genererede et klart signal, som understøttede, at den tilgrundliggende årsag var operatørfejl.

Tabel 6b: Metodesammenligning – Del B – prøve-holdetid – RESULTATER FRA FØRSTE TESTNING

Prøve-holdetid[a,b]	Antal testede prøver	Antal inkonklusive bestem-melser	Antal inkorrekte bestem-melser	Antal korrekte bestem-melser[a]	% korrekt bestem-melsesrate	95 % konfi-dens, nedre grænse (to-sidet)
< 1 t	**397**	**2**	**1[c]**	**394**	99,2 %	97,8 %
> 20 t	**208**	**0**	**1[d]**	**207**	99,5 %	97,3 %

[a]Genotype ved bidirektionel sekventering. *1/*1-prøver er wildtype for *2, *3 og *17.
[b]For at en prøve kunne anses som en korrekt bestemmelse, skulle resultaterne af alle tre genotyper (*2, *3, *17) være korrekte.
[c]Prøve 0109 blev testet på Spartan Cube og frembragte genotypebestemmelsen *1/*17, hvilket var overensstemmende med resultatet fra den bidirektionelle sekventering. Den prøve, der blev testet ved holdetiden på over 20 timer, resulterede i en kombineret genotypebestemmelse på *1/*1. Genotypen for personen, der udtager mundskrab, og prøveisætteren (tilføjelse ved håndtering af prøverør) kendes ikke. Det er muligt, at genomisk DNA indført af disse personer kunne resultere i et skift fra bestemmelsen *1/*17 til *1/*1, hvis deres genotype for S17 var *1/*1. Eksogent DNA fra personer, som har indsamlet eller kørt prøven, kan ikke udelukkes som en mulig årsag til det uoverensstemmende resultat.
[d]Prøve 0310 blev ombyttet med prøve 0311 (operatørfejl). Prøve 0311 blev udelukket fra populationen baseret på Phred-scorens acceptkriterier. Resultaterne af den bidirektionelle sekventering genererede et klart signal, som understøttede, at den tilgrundliggende årsag var operatørfejl.

Analytisk sensitivitet (påvisningsgrænse)

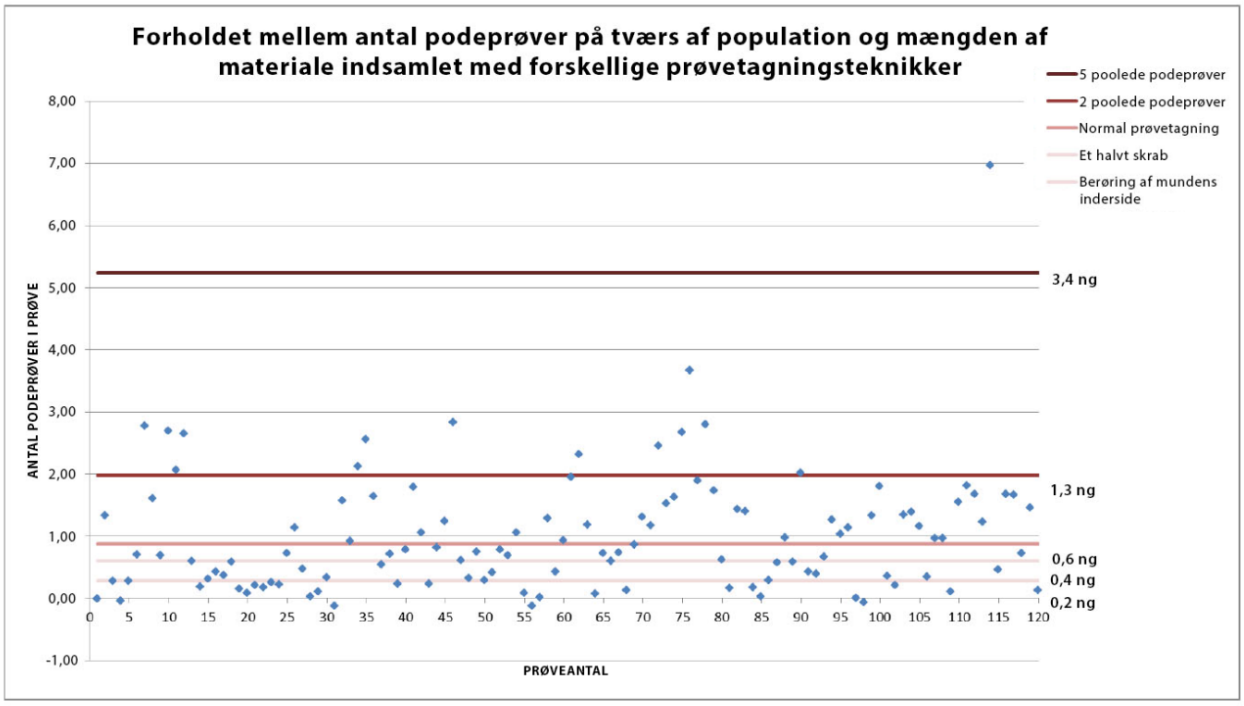
De relative mængder DNA, der var til stede i 120 individuelle mundskrabsprøver, indsamlet fra 40 forskellige personer af 10 forskellige operatører, blev bestemt. Fordelingen af disse data vises grafisk herunder (Figur 1). Den gennemsnitlige DNA-mængde blev vurderet til at svare til en "typisk" podeprøve, og alle målinger blev normaliseret i forhold til denne værdi og fremstillet som antal podeprøve-ækvivalenter.

Den øvre og nedre påvisningsgrænse for assayet Spartan Cube CYP2C19 Assay blev vurderet ved analyse af mundskrabsprøver indsamlet fra personer med *1/*1, *2/*17, *17/*17, *1/*3 og *2/*3. Alle personernes genotyper blev bekræftet ved bidirektionel sekventering inden påbegyndelse af undersøgelsen. Fem typer af prøver anvendtes til DNA-indsamling: 5 poolede mundskrab, 2 poolede mundskrab, et normalt mundskrab, et enkelt skrab nedad (1 halvt mundskrab) og en enkelt berøring med podepinden på indersiden af munden. Parallelt hermed blev mængden af DNA i podeprøverne kvantificeret ved

anvendelse af SYBR Green, og denne værdi blev translateret til et tilsvarende antal podeprøver i forhold til middelværdien for populationen. På tværs af personerne gav indsamlingsmetoden med 5 poolede podeprøver en middelværdi på 5,24 podninger, indsamlingsmetoden med de 2 poolede podeprøver gav en middelværdi på 1,98 podninger, indsamlingsmetoden med et halvt mundskrab gav en middelværdi på 0,6 podning, og indsamlingsmetoden med berøring af indersiden af munden gav en middelværdi på 0,28 podning.

For hver prøvetype blev der udført 52 replikater for at bestemme raten af inkonklusive bestemmelser og korrekte bestemmelser.

Figur 1 – Forhold mellem populationens normale podeprøver og mængden af materiale indsamlet med de forskellige prøvetagningsteknikker, som angivet i protokollen. Den tilsvarende gennemsnitsmængde af genomisk DNA (ng) indsamlet med hver prøvetagningsteknik er angivet i højre side af grafen. Mængden af DNA i podeprøverne blev kvantificeret ved anvendelse af SYBR Green, og denne værdi blev translateret til et tilsvarende antal podeprøver i forhold til middelværdien for populationen.



Tabel 7a – Påvisningsgrænse – RESULTATER FRA FØRSTE TESTNING

Metode	Genotype[a]	Antal testede prøver	Antal korrekte bestem-melser[b]	Antal forkerte bestem-melser	Antal inkonklusive bestem-melser	% korrekte bestem-melser	Nedre grænse af 95 % ensidet konfidens
5 poolede podeprøver	*1/*1	13	11	0	2	84,6 %	62,5 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	11	1	1	84,6 %	62,5 %
	*3-indeholdende[#]	13	11	0	2	84,6 %	62,5 %
	I alt	**52**	**46**	**1**	**5**	**88,4 %**	**79,2 %**
2 poolede podeprøver	*1/*1	13	12	0	1	92,3 %	71,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*3-indeholdende[#]	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	I alt	**52**	**51**	**0**	**1**	**98,1 %**	**91,8 %**
Normal po-deprøve	*1/*1	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*3-indeholdende[#]	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	I alt	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0 %**	**95,1 %**
1 halvt skrab	*1/*1	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*3-indeholdende[#]	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	I alt	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0 %**	**95,1 %**
Berøring af mundens inderside	*1/*1	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	11	0	2	84,6 %	62,5 %
	*3-indeholdende[#]	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	I alt	**52**	**50**	**0**	**2**	**96,2 %**	**89,0 %**

[a]Genotype bekræftet ved bidirektionel sekventering. *1/*1-prøver er wildtype for *2, *3 og *17.
[b]For at en prøve kunne anses som en korrekt bestemmelse, skulle resultaterne af alle tre genotyper (*2, *3, *17) være korrekte.
[#]Omfatter personer med enten genotyperne *1/*3 eller *2/*3

Tabel 7b – Påvisningsgrænse – RESULTATER FRA ANDEN TESTNING

Metode	Genotype[a]	Antal testede prøver	Antal korrekte bestem-melser[b]	Antal inkorrekte bestem-melser	Antal inkonklusive bestem-melser	% korrekte bestem-melser	Nedre grænse af 95 % ensidet konfidens
5 poolede podeprøver	*1/*1	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	12	1	0	92,3 %	71,8 %
	*3-indeholdende[#]	13	12	0	1	92,3 %	71,8 %
	I alt	**52**	**50**	**1**	**1**	**96,2 %**	**89,0 %**
2 poolede podeprøver	*1/*1	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*3-indeholdende[#]	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	I alt	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0 %**	**95,1 %**
Normal	*1/*1	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*3-indeholdende[#]	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	I alt	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0 %**	**95,1 %**
1 halvt skrab	*1/*1	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*3-indeholdende[#]	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	I alt	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0 %**	**95,1 %**
Berøring af mundens inderside	*1/*1	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*3-indeholdende[#]	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	I alt	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0 %**	**95,1 %**

[a]Genotype bekræftet ved bidirektionel sekventering. *1/*1-prøver er wildtype for *2, *3 og *17.
[b]For at en prøve kunne anses som en korrekt bestemmelse, skulle resultaterne af alle tre genotyper (*2, *3, *17) være korrekte.
[#]Omfatter personer med enten genotyperne *1/*3 eller *2/*3

Den korrekte bestemmelsesrate for første testning ved inputniveauer under 0,28 podeprøve pr. test var 98,1 %. Derfor er den nedre påvisningsgrænse for systemet Spartan Cube CYP2C19 System **0,28 podeprøve pr. test**. Inden for det øvre område af materiale, der blev testet, frembragte de 2 poolede podeprøvetyper alle korrekte bestemmelser, hvorfor systemets øvre påvisningsgrænse er **1,98 podeprøve pr. test**.

Interferens

Interferens fra potentielle endogene og eksogene interfererende stoffer blev evalueret ved hjælp af mundskrabsprøver indsamlet fra personer med *1/*1, *2/*17, *17/*17, *1/*3 og *2/*3. Alle personernes genotyper blev bekræftet ved bidirektionel sekventering inden påbegyndelse af undersøgelsen. Der blev udført i alt 16 replikater for hvert stof. For at teste indvirkningen af eksogene stoffer blev der indsamlet mundskrabsprøver fra personer efter eksponering for stoffet. Hvis resultatet af den første test for en bestemt person var inkonklusivt, blev testen gentaget (anden testning). Resultaterne rapporteres baseret på udfaldet af testene fra første testning og anden testning. De eksogene stoffer, der indgår i undersøgelsen, omtales nærmere nedenfor. Mundskrabsprøver blev indsamlet fra personerne umiddelbart efter eksponering for stoffet.

- Antiseptisk mundskyl - 20 ml – Mundskylning i 30 sek.
- Tandpasta - 1,9 cm stribe – Tandbørstning i 2 min., udspytning
- Opløsning med tvekulsurt natron - 30 ml (0,1 g/ml) – Mundskylning i 10 sek.
- Hostesaft - 30 ml – Mundskylning i 10 sek.
- Tranebærsaft - 30 ml – Mundskylning i 10 sek.
- Saltvand - 30 ml (0,01 g/ml) – Mundskylning i 10 sek.
- Sukkervand - 30 ml (0,01 g/ml) – Mundskylning i 10 sek.
- Kød - 15 g – Tygges i 10 sek.
- Tyggegummi - 1 typisk stykke – Tygges i 1 min.
- Bolsje - 1 typisk bolsje – Suttes, indtil det er helt opløst
- Tobaksrygning - 1 cigar – 5 sug
- Proteserensemiddel - 3 striber – Striberne påføres ganen, bliver siddende i 5 min, fjernes

Direkte eksponering af personer for endogene stoffer var ikke mulig. Cirka 9 x 10^4 celler fra mundbakterier blev tilsat reagensrøret direkte, umiddelbart før mundskrabsprøven kom i reagensrøret. Der blev tilsat blod til assayet ved at indsamle mundskrabsprøven og dyppe den i en opløsning af blod i spyt fra donorer (1,7 % blod i spyt fra donorer).

Der blev ikke påvist nogen interferens fra nogen af de eksogene eller endogene stoffer, der blev testet.

Tabel 8a – Eksogene og endogene interfererende stoffer – RESULTATER FRA FØRSTE TESTNING

FØRSTE TESTNING						
Stof	**Antal testede prøver**	**Antal korrekte bestemmelser**	**Antal inkorrekte bestemmelser**	**Antal inkonklusive bestemmelser**	**% korrekte bestemmelser**	**Nedre grænse af 95 % ensidet konfidens**
Mundskyllemiddel	16	16	0	0	100	85,5
Tandpasta	16	14	0	2	87,5	68,4
Tvekulsurt natron	16	16	0	0	100	85,5
Hostesaft	16	16	0	0	100	85,5
Tranebærsaft	16	16	0	0	100	85,5
Saltopløsning	16	16	0	0	100	85,5
Sukkeropløsning	16	15	0	1	93,75	76,3
Hestekød	16	16	0	0	100	85,5
Tyggegummi	16	16	0	0	100	85,5
Bolsje	16	16	0	0	100	85,5
Tobak	16	15	0	1	93,75	76,3
Proteserensemiddel	16	16	0	0	100	85,5
Bakterier	16	15	0	1	93,75	76,3
Bakterier *(genta-get 2020-06-25)*	16	16	0	0	100	85,5
Fuldblod	16	16	0	0	100	85,5
I alt	**240**	**235**	**0**	**5**	**97,9**	**95,8**

[a]For at en prøve kunne anses som en korrekt bestemmelse, skulle resultaterne af alle tre genotyper (*2, *3, *17) være korrekte.

Tabel 8b – Eksogene og endogene interfererende stoffer – RESULTATER FRA ANDEN TESTNING

ANDEN TESTNING						
Stof	**Antal testede prøver**	**Antal korrekte bestemmelser**	**Antal inkorrekte bestemmelser**	**Antal inkonklusive bestemmelser**	**% korrekte bestemmelser**	**Nedre grænse af 95 % ensidet konfidens**
Mundskyllemiddel	16	16	0	0	100	85,5
Tandpasta	16	16	0	0	100	85,5
Tvekulsurt natron	16	16	0	0	100	85,5
Hostesaft	16	16	0	0	100	85,5
Tranebærsaft	16	16	0	0	100	85,5
Saltopløsning	16	16	0	0	100	85,5
Sukkeropløsning	16	16	0	0	100	85,5
Hestekød	16	16	0	0	100	85,5
Tyggegummi	16	16	0	0	100	85,5
Bolsje	16	16	0	0	100	85,5
Tobak	16	16	0	0	100	85,5
Proteserensemiddel	16	16	0	0	100	85,5
Bakterier	16	16	0	0	100	85,5
Bakterier *(genta-get 2020-06-25)*	16	16	0	0	100	85,5
Fuldblod	16	16	0	0	100	85,5
I alt	**240**	**240**	**0**	**0**	**100**	**98,9**

[a]For at en prøve kunne anses som en korrekt bestemmelse, skulle resultaterne af alle tre genotyper (*2, *3, *17) være korrekte.

LICENSER OG PATENTER

Teknologierne Black Hole Quencher og CAL Fluor er licenseret i henhold til en aftale med Biosearch Technologies, Inc. (BTI). Dette produkt sælges under licens fra BTI.

Teknologien Molecular Beacon er licenseret i henhold til en aftale med Public Health Research Institute (PHRI). Dette produkt sælges under licens fra PHRI.

Dette produkt er dækket af patentnumrene 8,528,777; 8,735,104; 9,593,369 i USA og andre patenter tildelt til og anmeldt af Spartan Bioscience verden over.

VAREMÆRKER

Spartan Bioscience Inc. er et registreret varemærke tilhørende Spartan Bioscience Inc. Microsoft Windows er et registreret varemærke tilhørende Microsoft Corporation i USA og andre lande. Alle andre varemærker tilhører udelukkende deres respektive ejere.

REFERENCER

1. Desta Z et al. (2002). Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet*. 41(12): 913-958.

2. Sim SC 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.

3. Rudberg I et al. (2008). Impact of the ultrarapid CYP2C19*17 allele on serum concentration of escitalopram in psychiatric patients. *Clin Pharmacol Ther*. 83(2): 322-327.

4. https://www.pharmvar.org/gene/CYP2C19

5. Romkes M et al. (1991). Cloning and expression of complementary DNAs for multiple members of the human cytochrome P450IIC subfamily. *Biochemistry*. 30(13): 3247-3255.

6. Richardson TH 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(1): 87-96.

7. Blaisdell J et al. (2002). Identification and functional characterization of new potentially defective alleles of human CYP2C19. *Pharmacogenetics*. 12(9): 703-711.

8. de Morais SM et al. (1994). The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem*. 269(22): 15419-15422.

9. Ibeanu GC et al. (1998). Identification of new human CYP2C19 alleles (CYP2C19*6 and CYP2C19*2B) in a Caucasian poor metabolizer of mephenytoin. *J Pharmacol Exp Ther*. 286(3): 1490-1495.

10. Fukushima-Uesaka H et al. (2005). Genetic variations and haplotypes of CYP2C19 in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokinet*. 20(4): 300-307.

11. Lee S et al. (2009). Identification of new CYP2C19 variants exhibiting decreased enzyme activity in the metabolism of S-mephenytoin and omeprazole. *Drug Metab Dispos*. 37(11): 2262-2269.

Spartan Cube CYP2C19 System

Bruksanvisning

För *in vitro*-diagnostik

SPARTAN BIOSCIENCE INC.
2934 Baseline Road
Suite 500
Ottawa, Ontario K2H 1B2, Kanada

INNEHÅLL

BEGRÄNSAD GARANTI 105
SYMBOLER 106
AVSEDD ANVÄNDNING 107
INDIKATIONER FÖR ANVÄNDNING 107
KOMPONENTER I SPARTAN CUBE CYP2C19 ASSAY 107
BAKGRUNDSINFORMATION 107
TESTPRINCIP/ÖVERSIKT ÖVER ANALYSEN 109
BESKRIVNING AV ENHETEN 109
VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER 110
FÖRVARING/STABILITET 112
MATERIAL SOM MEDFÖLJER SPARTAN CUBE CYP2C19 ASSAY 112
MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE TILLHANDAHÅLLES AV SPARTAN BIOSCIENCE 112
UTRUSTNING 113
UTBILDNING 113
UTFÖRANDE AV ANALYSEN 113
EXTERN KONTROLL 119
KVALITETSKONTROLL 121
TOLKNING AV RESULTATET 122
KVARSTÅENDE RISKER OCH BEGRÄNSNINGAR 124
SYSTEMETS PRESTANDA 124
LICENSER OCH PATENT 136
VARUMÄRKEN 136
REFERENSER 137

BEGRÄNSAD GARANTI

SPARTAN BIOSCIENCE INC. FRÅNSÄGER SIG ALLA GARANTIER VAD GÄLLER DETTA DOKUMENT, SÅVÄL UTTRYCKLIGA SOM UNDERFÖRSTÅDDA, INNEFATTANDE MEN INTE BEGRÄNSADE TILL GARANTIER OM SÄLJBARHET ELLER LÄMPLIGHET FÖR ETT VISST SYFTE. SPARTAN BIOSCIENCE INC. SKA UNDER INGA OMSTÄNDIGHETER VARA SKADESTÅNDSSKYLDIGT, VARE SIG GRUNDAT PÅ AVTAL, FÖRSEELSE, GARANTI ELLER NÅGON ANNAN STADGA ELLER GRUND FÖR ERSÄTTNING FÖR EKONOMISK SKADA, SKADESTÅND PÅ GRUND AV OAVSIKTLIG ELLER INDIREKT SKADA, I AVSKRÄCKANDE SYFTE, FÖR MULTIPLA SKADOR ELLER FÖLJDSKADOR, PÅ GRUND AV DETTA DOKUMENT, VILKET ÄVEN INNEFATTAR MEN INTE ÄR BEGRÄNSAT TILL ANVÄNDNINGEN AV DETSAMMA.

SYMBOLER

Symboler används genomgående i detta dokument eller på produkten. Symbolerna förklaras i nedanstående tabell.

Tabell 1 - Symboler

	Varning, fara - denna symbol anger att bristande efterlevnad av de instruktioner eller procedurer som beskrivs kan leda till fysisk skada, eller till och med dödsfall, eller kan skada instrumentet.
	Viktigt meddelande - denna symbol används för att göra läsaren uppmärksam på ett viktigt meddelande.
	Biologisk risk - denna symbol innebär att vissa försiktighetsåtgärder måste vidtas vid arbete med potentiellt smittförande material.
	Denna symbol anger tillverkaren av utrustningen eller systemkomponenten.
	Tillverkningsdatum.
	Produkter med denna symbol får inte återanvändas (produkten får endast användas en gång).
	Används före (visar utgångsdatum för produkten).
	Läs dokumentationen innan du går vidare.
−80°C −15°C	Produkten måste transporteras och förvaras i temperaturer mellan -80 °C och -15 °C.
REF	Artikelnummer eller katalognummer.
LOT	Produktens batchnummer.
Σ	Tillräckligt material för N antal tester.
IVD	*In vitro*-diagnostik (anger att materialet är en enhet för *in vitro*-diagnostik eller utgör en del av en enhet för *in vitro*-diagnostik).
Rx	Endast mot recept.

AVSEDD ANVÄNDNING

Spartan Cube CYP2C19 System är ett kvalitativt diagnostiskt *in vitro*-test för identifiering av en patients CYP2C19*2-, *3- och *17-genotyp genom bestämning i genomiskt DNA erhållet genom prov från kindslemhinnan taget med provpinne.

℞ Endast mot recept.

INDIKATIONER FÖR ANVÄNDNING

Spartan Cube CYP2C19 Assay - Spartan Cube CYP2C19 System är avsett att användas av läkare för att underlätta beslutet om behandlingsstrategier för läkemedel som metaboliseras av cytokrom P450 2C19-genprodukten och som specifikt påverkas av allelerna *2, *3 och *17. Spartan Cube CYP2C19 Assay körs på plattformen Spartan Cube CYP2C19 Platform med ett prov från kindslemhinnan som tagits med provpinne från Spartan. Spartan Cube CYP2C19 Assay ska inte användas för att förutsäga respons eller icke-respons på läkemedel.

Spartan Cube CYP2C19 Platform - Spartan Cube CYP2C19 System är avsett att användas av läkare för att underlätta beslutet om behandlingsstrategier för läkemedel som metaboliseras av cytokrom P450 2C19-genprodukten och som specifikt påverkas av allelerna *2, *3 och *17. Plattformen Spartan Cube CYP2C19 Platform används för körning av analysen Spartan Cube CYP2C19 Assay.

KOMPONENTER I SPARTAN CUBE CYP2C19 ASSAY

REF Systemet Spartan Cube CYP2C19 System består av analysen Spartan Cube CYP2C19 Assay och plattformen Spartan Cube CYP2C19 Platform. Spartan Cube CYP2C19 Assay utförs på ett prov från en Spartan-provpinne på Spartan Cube CYP2C19 Platform. Denna bruksanvisning gäller Spartan Cube CYP2C19 Assay.

	Artikelnummer
Spartan Cube CYP2C19 Assay	ASM-00095
Testkit	ASM-00101
Provpinnekit	ASM-00103
Kit för extern kontroll	ASM-00099

BAKGRUNDSINFORMATION

Aktiviteten hos läkemedelsmetaboliserande enzymer varierar från person till person. Denna variabilitet är ett av huvudskälen till att individer ibland svarar på olika sätt på samma läkemedel. CYP450 2C19 (CYP2C19) är ett läkemedelsmetaboliserande enzym i levern som medverkar i metabolismen och nedbrytningen av många vanliga läkemedel, t.ex. antidepressiva, antiepileptika, barbiturater, protonpumphämmare och trombocytaggregationshämmare.

Genetiska polymorfismer i CYP2C19 är vanliga och kan leda till skiftande nivåer av enzymatisk aktivitet, från långsam metabolism till ultrasnabb metabolism. Läkemedelskoncentrationen hos individer med genotyper som ger långsam eller intermediär metabolism kan skilja sig från den hos normala individer. Behandlingsstrategin för dessa individer kan därför behöva vara annorlunda om de får ett läkemedel som metaboliseras av CYP2C19.

CYP2C19*1-allelen har fullt funktionell enzymaktivitet. CYP2C19*2- och *3-allelerna för funktionsbortfall kodar för icke-funktionella proteiner som saknar funktionell enzymaktivitet. En individ med två alleler för funktionsbortfall klassificeras som långsam metaboliserare. En individ med en allel för funktionsbortfall klassificeras som intermediär metaboliserare. CYP2C19*2- och *3-allelerna svarar för den övervägande delen av de fenotyper som är långsamma metaboliserare. Frekvensen alleler för dessa mutationer varierar betydligt mellan olika etniska grupper, från 2–5 % i kaukasiska och afrikanska populationer till 13–23 % i asiatiska populationer.[1]

CYP2C19*17-allelen är kopplad till ultrasnabb aktivitet hos CYP2C19-enzymet. Den finns i den uppströms reglerande regionen av CYP2C19-genen och förstärker transkriptionen av genprodukten.[2, 3] Allelen förekommer med en frekvens på 18 % i den svenska och etiopiska befolkningen, 27 % i den polska befolkningen och 4 % i den kinesiska befolkningen.[3]

Spartan Cube CYP2C19 identifierar allelerna **CYP2C19*2**, **CYP2C19*3** och **CYP2C19*17**. I följande tabell redovisas vilka alleler som kan identifieras genom Spartan Cube CYP2C19 Assay, polymorfismen för varje allel, enzymaktivitet samt referenser.[4]

Tabell 2 – Alleler som identifieras av Spartan Cube CYP2C19 Assay

CYP2C19-allel	Polymorfism som identifieras av Spartan Cube CYP2C19 Assay	Enzymaktivitet	Referenser
*1[a]	Ingen[a]	Normal	Romkes (1991), Richardson (1995), Blaisdell (2002)
*2	19154G>A	Ingen	de Morais (1994), Ibeanu (1998), Fukushima-Uesaka (2005), Lee (2009)
*3	17948G>A	Ingen	de Morais (1994), Fukushima-Uesaka (2005)
*17	-806C>T	Förhöjd	Sim (2006), Rudberg (2008)

g. *1-genotyp för Spartan Cube CYP2C19 Assay visar endast frånvaro av allelerna *2, *3 och *17.

Andra alleler kan ha samband med frånvaro av eller minskad enzymaktivitet, men är betydligt ovanligare än CYP2C19*2- och *3-allelerna. Spartan Cube CYP2C19 Assay ger ingen information om andra alleler än *2, *3 och *17.

Prover med CYP2C19*10-genotypen kan ge ett felaktigt resultat på Spartan Cube CYP2C19 Assay, som visar resultatet som *2. Både CYP2C19*2 och CYP2C19*10 är alleler som medför funktionsbortfall.

TESTPRINCIP/ÖVERSIKT ÖVER ANALYSEN

Spartan Cube CYP2C19 System består av:

- Spartan Cube CYP2C19 Assay
- Spartan Cube CYP2C19 Platform

Spartan Cube CYP2C19 Assay är ett snabbt och automatiserat diagnostiskt *in vitro*-test för identifiering av allelerna CYP2C19*2, *3 och *17. Analysen utförs på plattformen Spartan Cube CYP2C19 Platform.

Analysprotokollet bygger på följande huvudprocesser:

a. Insamling av humant genomiskt DNA genom topsning (provpinne)
b. DNA-extraktion
c. PCR-amplifiering av extraherat DNA
d. Detektion av amplifierade PCR-produkter med fluorescerande oligonukleotidprober
e. Detektion och analys av fluorescerande signaler (bestämning av CYP2C19*2-, *3- och *17-genotyper)
f. Utskrift av resultat

Steg b) t.o.m. e) utförs automatiskt av Spartan Cube CYP2C19 System.

BESKRIVNING AV ENHETEN

Spartan Cube CYP2C19 Assay utförs på Spartan Cube CYP2C19 Platform.

Testet Spartan Cube CYP2C19 Test består av ett **PROVPINNEKIT** och ett **TESTKIT** för identifiering av allelerna CYP2C19*2, *3 och *17.

I varje provpinnekit finns en **PÅSE** med tre provpinnar. Påsen är försedd med en etikett där uppgifter om patienten, tidpunkt för provtagning samt övrig information kan noteras.

PROVPINNEN används för att ta ett prov från patientens kindslemhinna och överföra detta till testkassetten.

I varje testkit finns en **TESTKASSETT** med substanser för utförandet av DNA-extraktion, PCR-amplifiering och fluorescensdetektion av CYP2C19-alleler, i tre separata rör. Varje rör innehåller en specifik blandning avsedd för detektion av ett av dessa tre loci. De kemiska ämnena utgörs av fyra (4) syntetiska oligonukleotider (1 set per locus), taq-polymeras (för 1 reaktion per rör) samt vätska för DNA-extraktion och PCR-test (för 1 reaktion per rör).

SPARTAN CUBE CYP2C19 PLATFORM innehåller följande:

- Spartan Cube
- Dator
- Skrivare
- Streckkodsläsare

Anvisningar om hur Spartan Cube CYP2C19 Platform används finns i användarhandboken till Spartan Cube CYP2C19 Platform (dokumentnummer CUS-00045).

SPARTAN CUBE är ett instrument som automatiskt utför analysen Spartan Cube CYP2C19 Assay, vilken består av följande steg:

- extraktion av humant genomiskt DNA från ett prov från kindslemhinnan i ett reagensrör
- PCR med termiska cykler

- optisk detektion av fluorescerande signaler från oligonukleotidprober som binder till PCR-amplikon
- automatiserad analys av fluorescerande signaler och genotyp.

Via **DATORN** kan användaren logga in till Spartan Cube CYP2C19 Platform, lägga in patientuppgifter och annan information om testet, automatiskt ange testkitets batchnummer samt få instruktioner om hur man startar ett test.

SKRIVAREN används för att skriva ut resultatet av genotyptesterna när Spartan Cube CYP2C19 Platform har avslutat analysen Spartan Cube CYP2C19 Assay.

EXTERNA KONTROLLKIT är till för att kontrollera om Spartan Cube CYP2C19 Platform fungerar korrekt.

I varje externt kontrollkit finns en **KONTROLLKASSETT** med substanser för utförandet av DNA-extraktion, PCR-amplifiering och fluorescensdetektion av CYP2C19-alleler, i tre separata rör. Varje rör innehåller en specifik blandning avsedd för detektion av ett av dessa tre loci. De kemiska ämnena utgörs av fyra (4) syntetiska oligonukleotider (1 set per locus), taq-polymeras (för 1 reaktion per rör), vätska för DNA-extraktion och PCR-test (för 1 reaktion per rör) samt syntetiskt DNA-templat. Kassetten tas upp ur förpackningen och placeras direkt i Spartan Cube enligt proceduren för extern kontroll (se nedan). Kassetten i det externa kontrollkitet ska aldrig öppnas.

Alla åtgärder för kvalitetskontroll och tester ska utföras i enlighet med lokala, regionala och nationella regler och bestämmelser, samt enligt gällande ackrediteringskrav.

VARNINGAR OCH FÖRSIKTIGHETSÅTGÄRDER

Krav på hantering

- För *in vitro*-diagnostik.
- Ska endast användas av utbildad, kvalificerad personal.
- Spartan Cube CYP2C19 Assay ska endast utföras på prover från kindslemhinnan som tagits med Spartan-provpinnen i provpinnekitet.
- Prover från kindslemhinnan måste samlas in och testas inom de tidsgränser som beskrivs i avsnittet ”Utförande av analysen”.
- Alla patientprover är potentiellt farliga. Hantering av provmaterial från människa ska ske med försiktighet.
- Använd inte provpinnen i provpinnekitet om det finns synliga tecken på skador.
- Använd inte kassetten i testkitet om det finns synliga tecken på skador.
- Använd inga testkit eller externa kontrollkit vars utgångsdatum har passerats.
- Förvara testkit och externa kontrollkit i originalförpackningen vid -15 °C till -80 °C. Spartan Bioscience rekommenderar att kiten förvaras längst bak i frysen för att undvika att de värms upp av rumstemperaturen när dörren till frysen öppnas.
- Testkit och externa kontrollkit är endast avsedda för engångsbruk.

⚠ Förhindra kontaminering

- Använd **alltid** engångshandskar vid hantering av provpinnar och kassetter. Det förhindrar att analysen kontamineras med ditt DNA.
- Öppna **aldrig** en kassett när testet har startat i Spartan Cube. Om man öppnar en kassett när testet är klart kan amplifierat DNA förorena den omgivande miljön. Det kan leda till felaktiga resultat av framtida tester.
- När ett test är klart ska kassetten kastas i en förseglad påse eller handske. Om locket till en kassett skulle öppnas, vilket är osannolikt, stäng locket **omedelbart** och kasta kassetten i en förseglad påse eller handske.
- Försök **aldrig** att öppna ett externt kontrollkit. De externa kontrollkiten innehåller ett syntetiskt DNA-templat. Om kassetten i ett externt kontrollkit öppnas kan detta DNA-templat förorena den omgivande miljön. Det kan leda till felaktiga resultat av framtida tester.

Laboratorierutiner

- Vidta normala försiktighetsåtgärder för hantering av reagens på laboratorier.
- Följ säkra laboratorierutiner: använd skyddskläder (t.ex. engångshandskar); ät, drick eller rök inte på laboratoriet eller på platser där tester iordningställs; tvätta händerna noga efter hantering av prover från kindslemhinnan eller reagensrör.

☣ Hantering av avfall

- Alla komponenter som används vid analysen, såsom provpinnar, reagensrör, kindslemhinne-prover och avfall, ska kasseras som biologiskt riskavfall i enlighet med lokala, regionala och nationella regler och bestämmelser.
- Säkerhetsdatablad (SDS) kan beställas från Spartan Bioscience.

⚠ Spartan Cube CYP2C19 Platform

- Läs användarhandboken till Spartan Cube CYP2C19 Platform (CUS-00045) innan Spartan Cube CYP2C19 Platform börjar användas.
- Följ de varningar och försiktighetsåtgärder som finns i användarhandboken.
- Vid installation av Spartan Cube CYP2C19 Platform, se avsnittet Driftskrav.
- Vid problem, se avsnittet Felsökning.

FÖRVARING/STABILITET

⚠ Testkit och externa kontrollkit levereras frysta och kan transporteras på torris. Torris kan orsaka svåra frostskador efter bara några sekunders kontakt. Undvik kontakt med huden och ögonen. Använd alltid handskar. Hantera aldrig isen med bara händerna. Får ej förtäras. Får ej användas i trånga utrymmen. Torris avger koldioxidångor som kan leda till kvävning. För kassering, låt torrisen sublimeras i ett väl ventilerat utrymme.

Vid leverans av testkit och/eller externa kontrollkit ska förpackningens innehåll inspekteras och det ska säkerställas att reagenserna under hela transporten har varit nedfrysta vid under -15 °C. Kontakta återförsäljaren om du misstänker att testkiten kan ha skadats av felaktiga temperaturer.

−80°C −15°C Testkit och externa kontrollkit måste förvaras i en frys med manuell avfrostning (en som **inte** är ”frostfri” dvs. har automatisk avfrostning) och vid en temperatur på mellan -15 °C och -80 °C. Spartan Bioscience rekommenderar att kiten förvaras i originalförpackningen, längst bak i frysen för att undvika att de värms upp av rumstemperaturen när dörren till frysen öppnas.

Vid förvaring under dessa förhållanden är testkit och externa kontrollkit stabila fram till det utgångsdatum som anges på produktmärkningen.

Ta inte ut testkit eller externa kontrollkit ur frysen förrän allt är klart för att utföra ett test.

MATERIAL SOM MEDFÖLJER SPARTAN CUBE CYP2C19 ASSAY

REF Spartan Cube CYP2C19 Assay (ASM-00095)

Varje Spartan Cube CYP2C19 Test består av två delar:

- Spartan Cube CYP2C19 Swab Kit (provpinnekit med tre provpinnar; ASM-00104)
- Spartan Cube CYP2C19 Test Kit (innehåller en testkassett; ASM-00092)

Varje externt kontrollkit External Control Kit (ASM-00093) innehåller:

- Kassett för extern kontroll

Spartan Bioscience säljer de externa kontrollkiten, som endast kan användas med Spartan Cube CYP2C19 Assay.

MATERIAL SOM BEHÖVS MEN INTE TILLHANDAHÅLLES AV SPARTAN BIOSCIENCE

- Engångshandskar
- Vanligt skrivarpapper (A4)

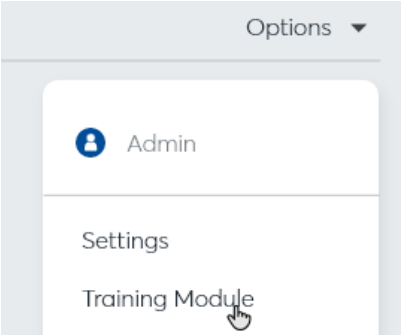
UTRUSTNING

REF Plattformen Spartan Cube CYP2C19 Platform (ASM-00096) används för körning av analysen Spartan Cube CYP2C19 Assay.

UTBILDNING

⚠ Spartan rekommenderar att alla användare går igenom utbildningsmodulen innan några tester eller kontroller körs på Spartan Cube CYP2C19 System. Utbildningsmodulen består av en video, en praktisk genomgång av proceduren och några kunskapsfrågor. När användaren är klar med utbildningsmodulen får denne ett intyg som kan skrivas ut eller öppnas på dator vid ett senare tillfälle av administratören.

För att öppna utbildningsmodulen går du till **Options** (Alternativ) i övre högra hörnet på huvudskärmen och väljer sedan **Training Module** (Utbildningsmodul). Programmet leder dig genom de olika delarna i utbildningen.



UTFÖRANDE AV ANALYSEN

Spartan Cube CYP2C19 Assay utförs i **8 steg**.

d. Steg 1–4:

1. Ta fram ett provpinnekit.
2. Ta bort skyddet från provpinnen.
3. Ta prov från kindslemhinnan.
4. Sätt tillbaka skyddet på provpinnen.

e. Steg 5–8:

5. Placera testkassetten i Spartan Cube.
6. Stick ner provpinnens spets i testkassetten.
7. Knacka på testkassetten så att provet blandas.
8. Starta testet.

Obs! Steg 2–4 och 5–6 ska utföras för var och en av de tre provpinnarna i provpinnekitet.

VIKTIGT:

Följande tidsgränser måste respekteras:

- När testkitet tagits ut ur frysen ska testet startas inom **15 minuter**.
- När provet tagits från kindslemhinnan ska testet startas inom **20 timmar.**

VIKTIGT: Använd engångshandskar när steg 1–8 utförs. Ta ett nytt par engångshandskar för varje ny patient som provtas.

STEG 1: Ta fram ett provpinnekit

v) Kitet med provpinnar förvaras i rumstemperatur.	
vi) Öppna påsen med provpinnar och ta upp alla tre pinnarna. **VIKTIGT:** • **Använd handskar när du hanterar provpinnar.** • **Kasta inte påsen som provpinnarna ligger i. När provet har tagits måste du lägga tillbaka pinnarna i påsen.** • **Öppna påsen med provpinnar långsamt. Det förhindrar att spetsen på pinnen av misstag lossnar från provpinnen.**	

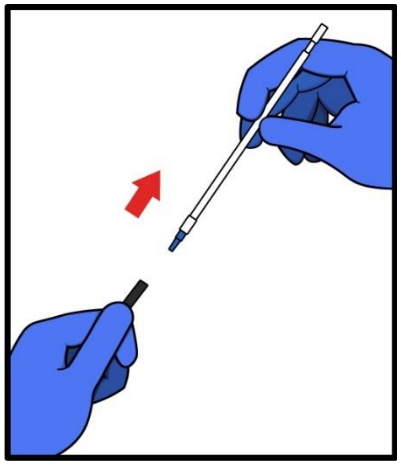
STEG 2: Ta av skyddet från provpinnen

vii) Ta upp en provpinne med ena handen. Håll i det vita skaftet så som man håller en penna. Det bästa stället är mitt på skaftet eller på tre fjärdedels avstånd från skyddet.

viii) Ta med andra handen bort skyddet från provpinnen.

ix) Kasta inte skyddet. Det måste sättas tillbaka på provpinnen igen.

VIKTIGT: När skyddet har tagits bort från provpinnen får den blå spetsen på provpinnen inte vidröra något.*

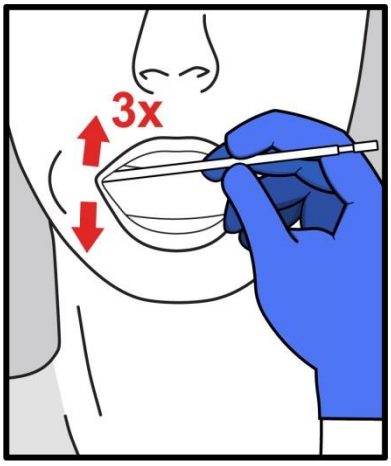


STEG 3: Ta prov från kindslemhinnan

iii) Skrapa på insidan på patientens kind med den blå spetsen på provpinnen. Stryk med pinnen uppåt-nedåt tre (3) gånger (totalt 6 strykningar). Trycket ska vara lika hårt oavsett om du stryker uppåt eller nedåt.

VIKTIGT:

- **Den blå spetsen på provpinnen ska riktas i rät vinkel mot kindens insida, som om man drar lodräta linjer på kinden med provpinnens spets.**
- **Skrapa på insidan på patientens kind med ett bestämt tryck.**
- **Du ska se en utbuktning på patientens kind där du skrapar.**

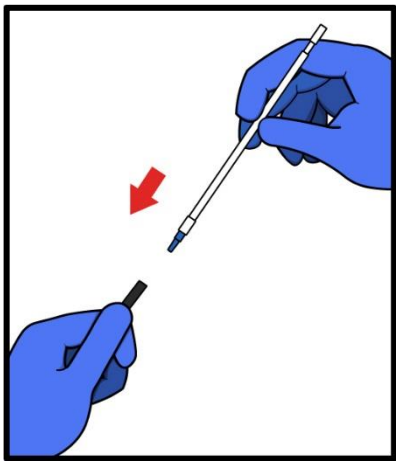


STEG 4: Sätt tillbaka skyddet på provpinnen

iii) Sätt tillbaka skyddet på provpinnens spets.

VIKTIGT: Provpinnens spets får inte vidröra något. Det gäller även din behandskade hand.*

vi) Upprepa steg 2 till och med 4 (i) med de resterande två provpinnarna.



vii) Skriv eller fäst patientuppgifter på påsen med provpinnar och lägg tillbaka provpinnarna i påsen.

STEG 5: Placera testkassetten i Spartan Cube

xv) Testkitet innehåller en testkassett i en påse försedd med streckkod. Ta fram ett testkit ur frysen.

xvi) Logga in på Spartan Cube CYP2C19 på datorn med användarnamn och lösenord.

xvii) Välj **Run a test** (Kör ett test) och gå vidare genom skärmarna som visas på datorn.

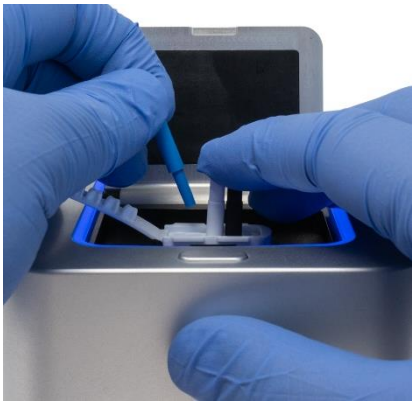
xviii) Ange patientinformation i härför avsedda fält.

xix) Skanna streckkoden på testkitpåsen med hjälp av streckkodsläsaren.

xx) Öppna locket på Spartan Cube.

xxi) Placera testkassetten i Spartan Cube.	

STEG 6: Stick ner provpinnens spets i testkassetten

xiii) Håll ner testkassetten med ena handen och ta bort en propp från kassetten med andra handen. **VIKTIGT: Se till att inget faller ner i det öppna röret i kassetten.***	
xiv) Ta bort skyddet från en av provpinnarna som du använt för att ta prov på patienten.	
xv) För ner den blå spetsen på provpinnen i det öppna röret i kassetten. **VIKTIGT: För att provmaterial inte ska gå förlorat får provpinnens spets inte vidröra kassettens sidor.** **xvi)** Ta ett stadigt tag med fingrarna runt skaftet på provpinnen. Placera tummen på toppen av pinnen. Tryck toppen nedåt med tummen. Den blå spetsen på provpinnen släpps av och hamnar i röret i kassetten. **xvii)** Upprepa steg 6(i) till och med 6(iv) med resten av proverna.	

xviii) Stäng locket på testkassetten genom att trycka ner det och stryka med ett finger över locket så att det säkert är stängt.

STEG 7: Knacka på testkassetten så att provet blandas

xv) Fatta tag i testkassetten med tumme och pekfinger och lyft upp kassetten från Spartan Cube.

xvi) Knacka/slå lätt på rören i kassetten tre gånger med en svepande rörelse med den fria handens pekfinger.

xvii) Sätt tillbaka kassetten i Cube-enheten och stäng locket.

VIKTIGT: Genom att knacka på kassetten blir det bättre kontakt mellan vätskan och provmaterialet på den blå spetsen.

STEG 8: Starta testet

xviii) Välj **Starta** för att påbörja analysen.

VIKTIGT: Öppna inte locket på Spartan Cube medan testet pågår. Locket ska alltid vara stängt, utom när en kassett sätts i eller tas upp.

xix) Testet tar cirka en timme. Därefter visas resultatet på skärmen och kan exporteras och/eller skrivas ut.	
xx) När testet är klart öppnar du locket på Spartan Cube och tar långsamt och försiktigt upp testkassetten.	
xxi) Kasta testkassetten i en förseglad påse eller hop-knuten handske. **VIKTIGT: Öppna <u>aldrig</u> testkassetten när den väl har stängts.** **VIKTIGT: Testkassetter kan bara köras en gång.**	

***Om provpinnen oavsiktligt har vidrört något föremål eller om du av någon anledning misstänker att reaktionen har förorenats med oönskat material, ska provpinnekitet och/eller testkitet kasseras och nya prover tas från patientens kind.**

EXTERN KONTROLL

Innan du börjar köra den externa kontrollen ska du hämta ut det externa kontrollkitet ur frysen och placera det bredvid Spartan Cube.

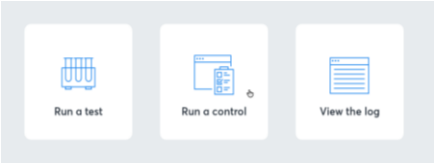
Den externa kontrollen körs i **tre steg**:

7. Gör i ordning kassetten för extern kontroll
8. Placera kassetten i Spartan Cube
9. Starta körningen

VIKTIGT: Steg 1–3 i den externa kontrollen måste utföras inom <u>15 minuter efter att kassetten tagits ut ur frysen.</u>

VIKTIGT: Använd engångshandskar när steg 1–3 utförs. Använd alltid ett nytt par handskar när du kör externa kontrollkit. Använd inte samma handskar som när du kör patienttester.

STEG 1: Gör i ordning den externa kontrollkassetten

xiii) Kitet för extern kontroll innehåller en kontrollkassett i en påse försedd med streckkod. Ta fram ett externt kontrollkit ur frysen. **VIKTIGT: Öppna <u>aldrig</u> någonsin en extern kontrollkassett.**	
xiv) Logga in på Spartan Cube CYP2C19 på datorn med ditt användarnamn och lösenord.	
xv) Välj **Run a Control** (Kör en kontroll) och gå vidare genom alla bilder som visas på datorn.	
xvi) Skanna streckkoderna på påsen med det externa kontrollkitet.	
xvii) Ta upp den externa kontrollkassetten ur påsen och låt den tina i cirka 2–3 minuter.	
xviii) Knacka/slå lätt på rören i kassetten tre gånger med en svepande rörelse med den fria handens pekfinger.	

STEG 2: Placera kontrollkassetten i Spartan Cube	
vii) Öppna locket på Spartan Cube.	
viii) Placera kontrollkassetten i Spartan Cube.	
ix) Stäng locket på Spartan Cube.	

STEG 3: Starta körningen	
ix) Välj **Starta**.	
x) Testet tar cirka en timme. Därefter visas resultatet på skärmen och kan exporteras och/eller skrivas ut.	
xi) När testet är klart öppnar du locket på Spartan Cube och tar långsamt och försiktigt upp kontrollkassetten.	
xii) Kasta kontrollkassetten i en förseglad påse eller hopknuten handske.	

KVALITETSKONTROLL

Alla åtgärder för kvalitetskontroll och tester ska utföras i enlighet med lokala, regionala och/eller nationella regler och bestämmelser samt ackrediteringskrav. Spartan rekommenderar att externa kontroller utförs baserat på hur ofta tester sker. Om tester görs dagligen rekommenderas externa kontroller varje vecka. Om tester sker mera sällan rekommenderas att extern kontroll utförs samma dag som testet körs.

Interna kontroller

Spartan Cube CYP2C19 Assay har två interna kontroller som körs automatiskt under varje test:

- Intern positiv kontroll (IPC)
- Positiv systemkontroll (PSC)

Vid IPC mäts fluorescenssignalerna när körningen är klar. Detta säkerställer att tillräckligt mycket provmaterial har tillsatts till reagensröret och att provet har bearbetats på rätt sätt. Om något upptäcks under IPC visas resultatet INCONCLUSIVE (ej konklusivt). Kör i sådant fall testet igen med ett nytt provpinnekit och testkit.

PSC bedömer systemets funktion vid olika stadier under körningen och när körningen är klar. Den säkerställer att Spartan Cube fungerar korrekt och att systemet och testet ligger inom godtagbara gränsvärden. Om PSC upptäcker en avvikelse någon gång under körningen avbryts testet och en varning visas på skärmen, med information om plattformens status och hur du går vidare. Kontakta återförsäljaren om PSC rapporterar avvikelser upprepade gånger.

Externa kontroller

EXTERNA KONTROLLKIT har tagits fram av Spartan Bioscience med syftet att kontrollera om Spartan Cube CYP2C19 Platform fungerar korrekt.

Varje externt kontrollkit innehåller substanser för utförandet av DNA-extraktion, PCR-amplifiering och fluorescensdetektion av CYP2C19-alleler, i tre separata rör. Varje rör innehåller en specifik blandning avsedd för detektion av ett av dessa tre loci. De kemiska ämnena utgörs av fyra (4) syntetiska oligonukleotider (1 set per locus), taq-polymeras (för 1 reaktion per rör), vätska för DNA-extraktion och PCR-test (för 1 reaktion per rör) samt en syntetiskt DNA-templat. Ingenting behöver tillsättas.

Det tar cirka 1 timme att köra externa kontrollkit på Spartan Cube CYP2C19 Platform. När ett externt kontrolltest har genomförts med godkänt resultat visas texten ”PASS” (Godkänd). Om det externa kontrolltestet inte godkänns visas en text om misslyckad extern kontroll. I sådana fall ska en ny extern kontroll köras.

Spartan Bioscience rekommenderar att externa kontrollkit körs om något av det följande inträffar:

- IPC visar hela tiden ej konklusiva resultat.
- PSC visar hela tiden varningsmeddelanden.
- Externa kontroller måste köras för att uppfylla lokala, regionala och nationella regler och bestämmelser och/eller ackrediteringskrav.

TOLKNING AV RESULTATET

Spartan Cube CYP2C19 Assay

Spartan Cube CYP2C19 Assay är utformat för detektering och genotypning av allelerna CYP2C19*2, *3 och *17. När ett test är klart visas en analysrapport på skärmen, som sedan kan skrivas ut. Rapporten visar vilka genotyper som detekterats i kindslemhinneprovet.

Det finns fyra möjliga resultat för varje CYP2C19-allel:

- CYP2C19*2
  - *1/*1 – Patient är inte bärare av *2-allelen (vildtyp)
  - *1/*2 – Patient har en kopia av *2-allelen (heterozygot)
  - *2/*2 – Patient har två kopior av *2-allelen (homozygot)
  - INCONCLUSIVE (ej konklusivt) – Systemet kan inte detektera *2-genotyp

- CYP2C19*3
  - *1/*1 – Patient är inte bärare av *3-allelen (vildtyp)
  - *1/*3 – Patient har en kopia av *3-allelen (heterozygot)
  - *3/*3 – Patient har två kopior av *3-allelen (homozygot)
  - INCONCLUSIVE (ej konklusivt) – Systemet kan inte detektera *3-genotyp
- CYP2C19*17
  - *1/*1 – Patienten är inte bärare av *17-allelen (vildtyp)
  - *1/*17 – Patient har en kopia av *17-allelen (heterozygot)
  - *17/*17 – Patient har två kopior av *17-allelen (homozygot)
  - INCONCLUSIVE (ej konklusivt) – Systemet kan inte detektera *17-genotyp

Ovanstående testresultat kombineras och ger ett kombinerat resultat för patientens genotyp, vilket visas i restresultaten på följande sätt:

Tabell 3 – Testresultat och kombinerad genotyp hos patienten

*2	*3	*17	Kombinerad genotyp
*1/*1	*1/*1	*1/*1	***1/*1**
*1/*2	*1/*1	*1/*1	***1/*2**
*1/*1	*1/*3	*1/*1	***1/*3**
*1/*1	*1/*1	*1/*17	***1/*17**
*2/*2	*1/*1	*1/*1	***2/*2**
*1/*1	*3/*3	*1/*1	***3/*3**
*1/*1	*1/*1	*17/*17	***17/*17**
*1/*2	*1/*3	*1/*1	***2/*3**
*1/*2	*1/*1	*1/*17	***2/*17**
*1/*1	*1/*3	*1/*17	***3/*17**

Observera att *1/*1-genotypen endast visar på frånvaro av *2-, *3- eller *17-alleler. Spartan Cube CYP2C19 Assay genotypar endast CYP2C19*2, *3 och *17. Ingen information ges om andra CYP2C19-alleler. Mutationer i dessa ej detekterade alleler kan alltså eventuellt finnas i kindslemhinneprovet.

Om testresultatet är INCONCLUSIVE (ej konklusivt) måste testet göras om med ett nytt provpinnekit och testkit.

KVARSTÅENDE RISKER OCH BEGRÄNSNINGAR

Spartan Cube CYP2C19 Assay identifierar endast CYP2C19*2-, *3- och *17-allelerna och deras polymorfismer. Analyssvaret visar endast genotyperna för dessa alleler. När rapporten redovisar de kombinerade genotyperna som vildtyp (*1/*1) är det endast dessa alleler som är vildtyp.

Spartan Cube CYP2C19 Assay ger inga resultat för CYP2C19*4, *5, *6, *7, *8 eller andra alleler. Mutationer i dessa alleler kan eventuellt finnas i kindslemhinneprovet.

Förekomsten av CYP2C19*10-allelen kan interferera med testet för CYP2C19*2-allelen. Prover med CYP2C19*10-genotypen kan ge ett felaktigt resultat på Spartan Cube CYP2C19 Test och visa resultatet som *2. Både CYP2C19*2 och CYP2C19*10 är alleler som medför funktionsbortfall.

Det finns en risk att provpinnens spets faller av i patientens mun. Om det skulle hända måste patienten omedelbart ta ut spetsen ur munnen och provet ska tas om med ett nytt provpinnekit.

Baserat på publicerad information kan de uppgifter om genotyp som är resultatet av Spartan Cube CYP2C19 Assay användas av läkare för att förutsäga en individs CYP2C19-aktivitet. När det gäller patienter med *2-, *3- och/eller *17-alleler bör förutsägelser om fenotyp och justering av behandlingsstrategi göras med försiktighet och professionellt omdöme. Den information som erhålles genom detta test kan underlätta beslutsfattandet och ska endast användas i kombination med rutinmässiga kontroller av läkare. Eftersom erfarenheterna av den kliniska nyttan av specifika läkemedel som metaboliseras av CYP2C19 inte är entydiga ska läkaren använda sitt professionella omdöme vid tolkning av resultatet av detta test. Resultaten av denna typ av analys ska inte användas för att förutsäga en patients respons på läkemedel för vilka allelens läkemedelsnedbrytande förmåga, eller läkemedlets nedbrytningsväg, inte är helt klarlagd.

SYSTEMETS PRESTANDA

Reproducerbarhet mellan laboratorier

Spartan Cube CYP2C19 System har utvärderats vid tre kliniska laboratorier, under fem utspridda dagar på varje laboratorium. Sex operatörer deltog i studien (två per laboratorium).

Åtta personer med följande genotyper testades i reproducerbarhetsstudien: *1/*1, *1/*2, *2/*2, *1/*3, *2/*3, *1/*17, *17/*17 och *2/*17. Samtliga genotyper bekräftades genom dubbelriktad sekvensering.

Operatörer i studien var tre laboratorieassistenter/-tekniker, två sjuksköterskor och en forskarstuderande, som alla genomgått Spartan Cube CYP2C19-utbildningen och inte hade någon större erfarenhet av topsning av kindslemhinnan. Resultat erhölls från två provtagningstillfällen (morgon och eftermiddag), båda uppdelade i ytterligare två provtagningar. Vid varje provtagning testades försökspersonerna av Operatör 1 och Operatör 2, vid respektive laboratorium. Om resultatet av det första testet för en viss individ inte var konklusivt gjordes testet om (andra testet).

Totalt utfördes sexhundrafyrtio (640) tester. Sex (6) omtester utfördes på grund av ej konklusiva resultat vid den första omgången tester. Efter det andra testet (ett omtest tilläts) fastställdes dessa sex prover. Vid kombination av första och andra testet visade Spartan Cube CYP2C19 ett korrekt resultat i 100 % av fallen, med en tvåsidig nedre 95 % konfidensgräns på 99,6 %.

Tabell 4a – reproducerbarhet mellan laboratorier – kombinerat resultat av första och andra testet

Provtyp [a]	Andra testet (kombinerat slutresultat)					
	Antal testade prover	Antal korrekta resultat [b]	Antal felaktiga resultat	Antal utan resultat	Korrekta resultat (%)	Nedre 95 % konfidensgräns (tvåsidig)
*1/*1	120	120	0	0	100	96,9
*1/*2	120	120	0	0	100	96,9
*1/*3	120	120	0	0	100	96,9
*1/*17	120	120	0	0	100	96,9
*17/*17	120	120	0	0	100	96,9
*2/*17	120	120	0	0	100	96,9
*2/*2	120	120	0	0	100	96,9
*2/*3	120	120	0	0	100	96,9
Totalt antal prover (alla lab., alla batcher)	**960**	**960**	**0**	**0**	**100**	**99,6**

[a]Genotyp bestämd genom dubbelriktad sekvensering; prover med *1/*1 är vildtyp för *2, *3 och *17.
[b]För att resultatet av ett prov skulle bedömas som korrekt måste resultaten för samtliga tre genotyper (*2,*3,*17) vara korrekta.

Reproducerbarhet mellan batcher i ett testkit

Spartan Cube CYP2C19 System använder sig av ett enda testkit för att detektera tre CYP2C19-mutationer (*2, *3, *17).

Reproducerbarheten mellan batcher bedömdes med användning av de tre olika batcherna av testkitet vid laboratorium 1, 2 och 3 på följande sätt:

- Testkit batch A: lab. 1 och 3
- Testkit batch B: lab. 1 och 2
- Testkit batch C: lab. 2 och 3

I den första testomgången var resultaten för sex prover (batch A, lab. 1 och 3 [2], batch B, lab. 2 [3], batch C, lab. 3 [1]) inte konklusiva. Efter det andra testet (ett godkänt omtest) fastställdes dessa sex prover. Totalt sett visar resultatet att olika reagensbatcher ger samma resultat.

Tabell 5a – reproducerbarhet mellan batcher i ett testkit – kombinerat resultat från första och andra testet

Reagensbatch	Provtyp [a]	Laboratorium	Antal testade prover	Antal korrekta resultat [b]	Antal felaktiga resultat	Antal utan re-sultat	Korrekta resultat (%)	Nedre 95 % konfidensgräns (tvåsidig)
Batch A	*1/*1	1 och 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*2	1 och 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*3	1 och 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*17	1 och 3	40	40	0	0	100	91,2
	*17/*17	1 och 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*17	1 och 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*2	1 och 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*3	1 och 3	40	40	0	0	100	91,2
	Summa		**320**	**320**	**0**	**0**	**100**	**98,8**
Batch B	*1/*1	1 och 2	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*2	1 och 2	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*3	1 och 2	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*17	1 och 2	40	40	0	0	100	91,2
	*17/*17	1 och 2	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*17	1 och 2	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*2	1 och 2	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*3	1 och 2	40	40	0	0	100	91,2
	Summa		**320**	**320**	**0**	**0**	**100**	**98,8**
Batch C	*1/*1	2 och 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*2	2 och 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*3	2 och 3	40	40	0	0	100	91,2
	*1/*17	2 och 3	40	40	0	0	100	91,2
	*17/*17	2 och 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*17	2 och 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*2	2 och 3	40	40	0	0	100	91,2
	*2/*3	2 och 3	40	40	0	0	100	91,2
	Summa		**320**	**320**	**0**	**0**	**100**	**98,8**

[a]Genotyp bestämd genom dubbelriktad sekvensering; prover med *1/*1 är vildtyp för *2, *3 och *17.
[b]För att resultatet av ett prov skulle bedömas som korrekt måste resultaten för samtliga tre genotyper (*2,*3,*17) vara korrekta.

Metodjämförelse

Den procentuella överensstämmelsen mellan resultaten med Spartan Cube CYP2C19 och dubbelriktad sekvensering analyserades i en metodjämförande studie. Studien bestod av två delar (A och B). I del A testades totalt sexhundrafem (605) prover med Spartan Cube CYP2C19. Resultaten erhölls för tio personers kindslemhinneprov (DNA-prov) som insamlats med tre olika batcher av tre operatörer. Samtliga resultat jämfördes med dubbelriktad sekvensering utförd av tredje part vid ett kvalificerat testlaboratorium, för att fastställa den procentuella överensstämmelsen (tjugo DNA-prover verifierades med *next-generation sequencing* [NGS]). Genomiskt DNA extraherades från salivprover för dubbelriktad sekvensering. Noggrannheten med Spartan Cube CYP2C19 är 99,3 % efter en tillåten omkörning för data som erhållits med båda metoderna.

Tabell 6a – metodjämförelse – kombinerat resultat från första och andra testet

Provtyp[a]	Kombinerat resultat från första och andra testet (slutresultat)					
	Antal testade prover	Antal ej konklusiva resultat	Antal felaktiga resultat	Antal korrekta resultat[b]	% korrekta resultat	Nedre 95 % konfidensgräns (tvåsidig)
*1/*1	203	0	0	203	100	98,1
*1/*2	171	0	1[c]	170	99,4	96,8
*2/*2	34	0	0	34	100	89,8
*1/*17	110	1	1[d]	108	98,2	93,6
*17/*17	21	0	0	21	100	84,5
*2/*17	38	0	0	38	100	90,8
*2/*3	9	1	0	8	88,9	56,5
*1/*3	16	0	0	16	100	80,6
*3/*17	2	0	0	2	100	34,2
*3/*3	1	0	0	1	100	20,7
Summa	**605**	**2**	**2**	**601**	**99,3**	**98,3**

[a]Genotyp bestämd genom dubbelriktad sekvensering; prover med *1/*1 är vildtyp för *2, *3 och *17.
[b]För att resultatet av ett prov skulle bedömas som korrekt måste resultaten för samtliga tre genotyper (*2,*3,*17) vara korrekta.
[c]Prov 0109 testades på Spartan Cube och gav resultatet genotyp *1/*17, vilket stämde överens med resultatet av den dubbelriktade sekvenseringen. Provet som testades efter en väntetid på mer än 20 timmar resulterade i en kombinerad genotyp *1/*1. Genotypen hos den person som tog provet och den som laddade provet i analysapparaten är inte kända. Det är möjligt att genomiskt DNA som tillförts från dessa personer skulle kunnat ändra resultatet från *1/*17 till *1/*1 om deras genotyp för S17 var *1/*1. Exogent DNA från personer som tagit eller kört provet kan inte uteslutas som en möjlig orsak till avvikande resultat.
[d]Prov 0310 förväxlades med prov 0311 (operatörsfel). Prov 0311 uteslöts från populationen i enlighet med Phred-score acceptanskriterier. Vid dubbelriktad sekvensering erhölls ett resultat som bekräftade att ett operatörsfel var orsaken.

I del B i metodjämförelsen testades totalt 480 prover från 34 personer i Spartan Cube CYP2C19. Del B av studien omfattade två delar där proverna antingen analyserades direkt efter provtagningen (< 1 timme) eller efter förvaring i minst 20 timmar (i rumstemperatur) och högst 28 timmar (> 20 timmars väntetid). För att fastställa den procentuella överenskommelsen jämfördes alla resultat med dubbelriktad sekvensering. Genomiskt DNA extraherades från salivprover för dubbelriktad sekvensering.

Populationens etnicitet var i stort representativ för den nordamerikanska befolkningen. Om resultatet av det första testet inte var konklusivt gjordes testet om (andra testet). I gruppen där provet analyserades inom < 1 timme var resultatet inte konklusivt för femton (15) prover i det första testet och kunde fastställas i det andra testet. Av de 397 prover som analyserades inom < 1 timme var resultatet korrekt för 394 prover efter den andra testomgången.

I gruppen med en väntetid på > 20 timmar innan testet utfördes, testades 208 prover. Ett prov var inte konklusivt men kunde fastställas i det andra testet. Av de 240 prover som analyserades efter > 20 timmar var resultatet korrekt för 239 prover efter det andra testet.

Den totala frekvensen korrekta resultat efter andra testomgången var 99,2 % för prover som analyserades inom < 1 timme, med en nedre 95 % konfidensgräns på 97,8 %, och 99,5 % för prover som analyserades efter > 20 timmar, med en nedre 95 % konfidensgräns på 97,3 %.

Tabell 5: Tid innan test < 1 timme

Provtyp[a]	**Första testet** (< 1 tim.)						**Kombinerat med andra testet (slutresultat)** (< 1 tim.)					
	Antal testade prover	Antal ej konklusiva resultat	Antal felaktiga resultat	Antal korrekta resultat[b]	% korrekta resultat	95 % konfidensgräns	Antal testade prover	Antal ej konklusiva resultat	Antal felaktiga resultat	Antal korrekta resultat[b]	% korrekta resultat	Nedre 95 % konfidensgräns (tvåsidig)
*1/*1	136	3	0	133	97,8	93,7	136	0	0	136	100	97,3
*1/*2	117	3	1	113	96,6	91,5	117	0	1[c]	116	99,1	95,8
*2/*2	21	1	0	20	95,2	77,3	21	0	0	21	100	84,5
*1/*17	70	3	0	67	95,7	88,1	70	1	0	69	98,6	92,3
*17/*17	12	0	0	12	100	75,7	12	0	0	12	100	75,7
*2/*17	22	2	0	20	90,9	72,2	22	0	0	22	100	85,1
*2/*3	6	2	0	4	66,7	30,0	6	1	0	5	83,3	43,6
*1/*3	12	1	0	11	91,7	64,6	12	0	0	12	100	75,7
*3/*17	1	0	0	1	100	20,7	1	0	0	1	100	20,7
*3/*3	0	0	0	0	E/T	E/T	0	0	0	0	N/A	N/A
Summa	**397**	**15**	**1**	**381**	**96,0**	**93,6**	**397**	**2**	**1**	**394**	**99,2**	**97,8**

[a]Genotyp bestämd genom dubbelriktad sekvensering; prover med *1/*1 är vildtyp för *2, *3 och *17.
[b]För att resultatet av ett prov skulle bedömas som korrekt måste resultaten för samtliga tre genotyper (*2,*3,*17) vara korrekta.
[c] Prov 0109 testades på Spartan Cube och gav resultatet genotyp *1/*17, vilket stämde överens med resultatet av den dubbelriktade sekvenseringen. Provet som testades efter en väntetid på mer än 20 timmar resulterade i en kombinerad genotyp *1/*1. Genotypen hos den person som tog provet och den som laddade provet i analysapparaten är inte kända. Det är möjligt att genomiskt DNA som tillförts från dessa personer skulle kunnat ändra resultatet från *1/*17 till *1/*1 om deras genotyp för S17 var *1/*1. Exogent DNA från personer som tagit eller kört provet kan inte uteslutas som en möjlig orsak till avvikande resultat.

Tabell 6: Tid innan test > 20 timmar

Provtyp[a]	**Första testet** (> 20 tim.)						**Kombinerat med andra testet (slutresultat)** (> 20 tim.)					
	Antal testade prover	Antal ej konklusiva resultat	Antal felaktiga resultat	Antal korrekta resultat[b]	% korrekta resultat	95 % konfidensgräns	Antal testade prover	Antal ej konklusiva resultat	Antal felaktiga resultat	Antal korrekta resultat[b]	% korrekta resultat	Nedre 95 % konfidensgräns (tvåsidig)
*1/*1	67	0	0	67	100	94,6	67	0	0	67	100	94,6
*1/*2	54	0	0	54	100	93,4	54	0	0	54	100	93,4
*2/*2	13	0	0	13	100	77,2	13	0	0	13	100	77,2
*1/*17	40	0	1	39	97,5	87,1	40	0	1[d]	39	97,5	87,1
*17/*17	9	0	0	9	100	70,1	9	0	0	9	100	70,1
*2/*17	16	0	0	16	100	80,6	16	0	0	16	100	80,6
*2/*3	3	0	0	3	100	43,8	3	0	0	3	100	43,8
*1/*3	4	0	0	4	100	51,0	4	0	0	4	100	51,0
*3/*17	1	0	0	1	100	20,7	1	0	0	1	100	20,7
*3/*3	1	0	0	1	100	20,7	1	0	0	1	100	20,7
Summa	**208**	**0**	**1**	**207**	**99,5**	**97,3**	**208**	**0**	**1**	**207**	**99,5**	**97,3**

[a]Genotyp bestämd genom dubbelriktad sekvensering; prover med *1/*1 är vildtyp för *2, *3 och *17.
[b]För att resultatet av ett prov skulle bedömas som korrekt måste resultaten för samtliga tre genotyper (*2,*3,*17) vara korrekta.
[d]Prov 0310 förväxlades med prov 0311 (operatörsfel). Prov 0311 uteslöts från populationen i enlighet med Phred-score acceptanskriterier. Vid dubbelriktad sekvensering erhölls ett resultat som bekräftade att ett operatörsfel var orsaken.

Tabell 6b: Metodjämförelse – del B – tid innan test- RESULTAT FRÅN FÖRSTA TESTET

Tid innan test[a,b]	Antal testade prover	Antal ej konklusiva resultat	Antal felaktiga resultat	Antal korrekta resultat[a]	% korrekta resultat	Nedre 95 % konfidensgräns (tvåsidig)
< 1 tim.	**397**	**2**	**1**[c]	**394**	99,2 %	97,8 %
> 20 tim.	**208**	**0**	**1**[d]	**207**	99,5 %	97,3 %

[a]Genotyp bestämd genom dubbelriktad sekvensering; prover med *1/*1 är vildtyp för *2, *3 och *17.
[b]För att resultatet av ett prov skulle bedömas som korrekt måste resultaten för samtliga tre genotyper (*2,*3,*17) vara korrekta.
[c] Prov 0109 testades på Spartan Cube och gav resultatet genotyp *1/*17, vilket stämde överens med resultatet av den dubbelriktade sekvenseringen. Provet som testades efter en väntetid på mer än 20 timmar resulterade i en kombinerad genotyp *1/*1. Genotypen hos den person som tog provet och den som laddade provet i analysapparaten är inte kända. Det är möjligt att genomiskt DNA som tillförts från dessa personer skulle kunnat ändra resultatet från *1/*17 till *1/*1 om deras genotyp för S17 var *1/*1. Exogent DNA från personer som tagit eller kört provet kan inte uteslutas som en möjlig orsak till avvikande resultat.
[d]Prov 0310 förväxlades med prov 0311 (operatörsfel). Prov 0311 uteslöts från populationen i enlighet med Phred-score acceptanskriterier. Vid dubbelriktad sekvensering erhölls ett resultat som bekräftade att ett operatörsfel var orsaken.

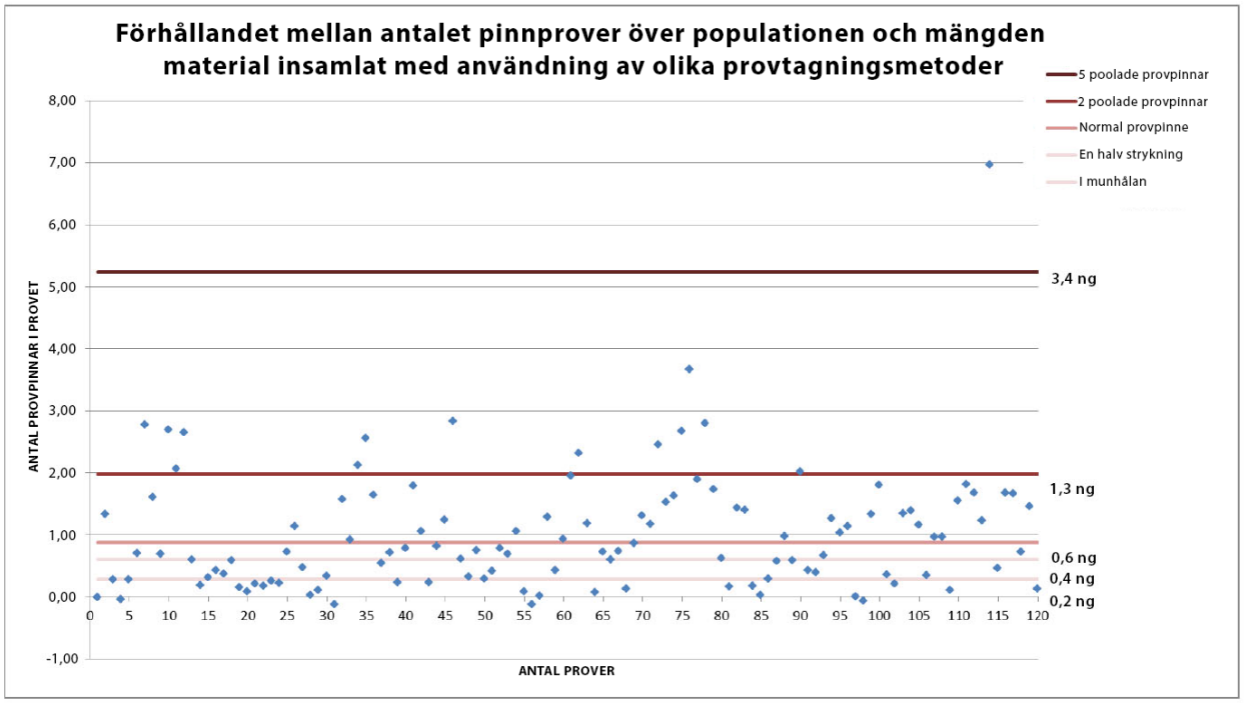
Analyskänslighet (detektionsgräns)

De relativa mängderna DNA i 120 prover från kindslemhinna, tagna med provpinne på 40 olika personer av 10 olika operatörer, fastställdes. Resultatfördelningen återges grafiskt nedan (figur 1). Den genomsnittliga mängden DNA ansågs motsvara en ”typisk” provpinne och alla mätvärden normaliserades till detta värde och redovisas som antalet ”provpinneekvivalenter”.

Övre och nedre detektionsgräns för Spartan Cube CYP2C19 Assay bedömdes genom analys av prover från kindslemhinnan från försökspersoner med genotyperna *1/*1, *2/*17, *17/*17, *1/*3 och *2/*3. Samtliga genotyper bekräftades genom dubbelriktad sekvensering innan studien inleddes. DNA-prov togs med fem olika tekniker: 5 provpinnar i kombination; 2 provpinnar i kombination; 1 vanlig provpinne; 1 provpinne med en enda nedåtriktad strykning (en halv strykning); samt 1 pinne som endast berört munnens insida. Mängden DNA i proverna mättes samtidigt med SYBR grönt, och detta värde omvandlades till motsvarande antal provpinnar i förhållande till genomsnittsvärdet för populationen. Metoden med 5 kombinerade provpinnar (topsningar) resulterade i ett medelvärde på 5,24 provpinnar; metoden med 2 kombinerade provpinnar resulterade i ett medelvärde på 1,98 provpinnar; metoden med en halv strykning resulterade i ett medelvärde på 0,6 provpinnar; och endast vidrörande av munnens insida resulterade i ett medelvärde på 0,28 provpinnar.

52 replikat utfördes med respektive teknik för att bestämma frekvensen ej konklusiva resultat respektive korrekta resultat.

Figur 1 – sambandet mellan gruppen med vanlig provtagningsteknik och den mängd material som samlats upp med de olika teknikerna som beskrivs i protokollet. Motsvarande genomsnittlig mängd genomiskt DNA (ng) som erhölls med vardera provtagningsteknik anges till höger i diagrammet. Mängden DNA i proverna mättes med SYBR grön och värdet omvandlades till motsvarande antal provpinnar i förhållande till genomsnittsvärdet för populationen.



Tabell 7a – detektionsgräns - RESULTAT FRÅN FÖRSTA TESTET

Metod	Genotyp[a]	Antal testade prover	Antal korrekta resultat[b]	Antal felaktiga resultat	Antal ej konklusiva resultat	% korrekta resultat	Ensidig nedre 95 % konfidensgräns
5 provpinnar	*1/*1	13	11	0	2	84,6 %	62,5 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	11	1	1	84,6 %	62,5 %
	innehöll *3[#]	13	11	0	2	84,6 %	62,5 %
	Summa	**52**	**46**	**1**	**5**	**88,4 %**	**79,2 %**
2 provpinnar	*1/*1	13	12	0	1	92,3 %	71,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	innehöll *3[#]	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	Summa	**52**	**51**	**0**	**1**	**98,1 %**	**91,8 %**
Normal provpinne	*1/*1	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	innehöll *3[#]	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	Summa	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0 %**	**95,1 %**
En halv strykning	*1/*1	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	innehöll *3[#]	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	Summa	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0 %**	**95,1 %**
Vidrört munnens insida	*1/*1	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	11	0	2	84,6 %	62,5 %
	innehöll *3[#]	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	Summa	**52**	**50**	**0**	**2**	**96,2 %**	**89,0 %**

[a]Genotyp bekräftad genom dubbelriktad sekvensering; prover med *1/*1 är vildtyp för *2, *3 och *17.
[b]För att resultatet av ett prov skulle bedömas som korrekt måste resultaten för samtliga tre genotyper (*2,*3,*17) vara korrekta.
[#]Inkluderar försökspersoner med någon av genotyperna *1/*3 eller *2/*3

Tabell 7b – detektionsgräns - ANDRA TESTET

Metod	Genotyp[a]	Antal testade prover	Antal korrekta resultat[b]	Antal felaktiga resultat	Antal ej konklusiva resultat	% korrekta resultat	Ensidig nedre 95 % konfidensgräns
5 provpinnar	*1/*1	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	12	1	0	92,3 %	71,8 %
	innehöll *3[#]	13	12	0	1	92,3 %	71,8 %
	Summa	**52**	**50**	**1**	**1**	**96,2 %**	**89,0 %**
2 provpinnar	*1/*1	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	innehöll *3[#]	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	Summa	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0 %**	**95,1 %**
Normal	*1/*1	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	innehöll *3[#]	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	Summa	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0 %**	**95,1 %**
En halv strykning	*1/*1	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	innehöll *3[#]	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	Summa	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0 %**	**95,1 %**
Vidrört munnens insida	*1/*1	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*2/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	*17/*17	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	innehöll *3[#]	13	13	0	0	100,0 %	82,8 %
	Summa	**52**	**52**	**0**	**0**	**100,0 %**	**95,1 %**

[a]Genotyp bekräftad genom dubbelriktad sekvensering; prover med *1/*1 är vildtyp för *2, *3 och *17.
[b]För att resultatet av ett prov skulle bedömas som korrekt måste resultaten för samtliga tre genotyper (*2,*3,*17) vara korrekta.
[#]Inkluderar försökspersoner med någon av genotyperna *1/*3 eller *2/*3

Frekvensen korrekta resultat i det första testet med färre än 0,28*provpinnar per test var 98,1 %. Den nedre detektionsgränsen för Spartan Cube CYP2C19 System är därmed **0,28 provpinnar per test**. I det övre intervallet för det material som testades gav 2 kombinerade provpinnar ett hundraprocentigt korrekt resultat, varför systemets övre detektionsgräns är **1,98 provpinnar per test**.

Interferens

Interferens från potentiella endogena och exogena störande substanser utvärderades med hjälp av prover tagna med provpinne från personer med genotyperna *1/*1, *2/*17, *17/*17, *1/*3 och *2/*3. Samtliga genotyper bekräftades genom dubbelriktad sekvensering innan studien inleddes. Totalt utfördes 16 replikat för varje substans. För att testa inverkan av exogena substanser togs proverna efter att deltagarna exponerats för substansen. Om resultatet av det första testet för en viss individ inte var konklusivt gjordes testet om (andra testet). Resultaten rapporteras baserat på utfallet av det första och andra testet. I studien ingick de exogena substanser som räknas upp nedan. Prover från kindslemhinnan togs omedelbart efter exponering för substansen.

- Antiseptisk munskölj – 20 ml – skölj munnen i 30 sek.
- Tandkräm – 1,9 cm sträng – borsta tänderna i 2 min., spotta
- Bikarbonatlösning – 30 ml (0,1 g/ml) – skölj munnen i 10 sek.
- Hostmedicin – 30 ml – skölj munnen i 10 sek.
- Tranbärsjuice – 30 ml – skölj munnen i 10 sek.
- Saltlösning – 30 ml (0,01 g/ml) – skölj munnen i 10 sek.
- Sockerlösning – 30 ml (0,01 g/ml) – skölj munnen i 10 sek.
- Kött – 15 g – tugga i 10 sek.
- Tuggummi – 1 normalstort tuggummi – tugga i 1 min.
- Hårt godis – 1 normalstor godisbit – sug tills biten har lösts upp helst
- Tobaksrökning – 1 cigarr – 5 puffar
- Protestandkräm – 3 strängar – applicera strängarna i gommen, låt verka i 5 min., ta bort

Direkt exponering för endogena substanser var inte möjligt. Ungefär 9 x 10^4 orala bakterieceller tillsattes direkt i reagensröret omedelbart innan provpinnen fördes ner. Blod tillsattes till analysen genom att provpinnen doppades i en lösning med blod i donatorns saliv (1,7 % blod i donatorns saliv).

Inga interferenser detekterades från någon av de exogena eller endogena substanser som testades.

Tabell 8a – exogena och endogena interfererande substanser – RESULTAT FRÅN FÖRSTA TESTET

FÖRSTA TESTET						
Substans	**Antal testade prover**	**Antal korrekta resultat**	**Antal felaktiga resultat**	**Antal ej konklusiva resultat**	**% korrekta resultat**	**Ensidig nedre 95 % konfidensgräns**
Munskölj	16	16	0	0	100	85,5
Tandkräm	16	14	0	2	87,5	68,4
Bikarbonat	16	16	0	0	100	85,5
Hostmedicin	16	16	0	0	100	85,5
Tranbärsjuice	16	16	0	0	100	85,5
Saltlösning	16	16	0	0	100	85,5
Sockerlösning	16	15	0	1	93,75	76,3
Hästkött	16	16	0	0	100	85,5
Tuggummi	16	16	0	0	100	85,5
Hårt godis	16	16	0	0	100	85,5
Tobak	16	15	0	1	93,75	76,3
Protestandkräm	16	16	0	0	100	85,5
Bakterier	16	15	0	1	93,75	76,3
Bakterier *(uppre-pat 2020-06-25)*	16	16	0	0	100	85,5
Helblod	16	16	0	0	100	85,5
Summa	**240**	**235**	**0**	**5**	**97,9**	**95,8**

[a]För att resultatet av ett prov skulle bedömas som korrekt måste resultaten för samtliga tre genotyper (*2,*3,*17) vara korrekta.

Tabell 8b - exogena och endogena interfererande substanser - RESULTAT FRÅN ANDRA TESTET

ANDRA TESTET						
Substans	**Antal testade prover**	**Antal korrekta resultat**	**Antal felaktiga resultat**	**Antal ej konklusiva resultat**	**% korrekta resultat**	**Ensidig nedre 95 % konfidensgräns**
Munskölj	16	16	0	0	100	85,5
Tandkräm	16	16	0	0	100	85,5
Bikarbonat	16	16	0	0	100	85,5
Hostmedicin	16	16	0	0	100	85,5
Tranbärsjuice	16	16	0	0	100	85,5
Saltlösning	16	16	0	0	100	85,5
Sockerlösning	16	16	0	0	100	85,5
Hästkött	16	16	0	0	100	85,5
Tuggummi	16	16	0	0	100	85,5
Hårt godis	16	16	0	0	100	85,5
Tobak	16	16	0	0	100	85,5
Protestandkräm	16	16	0	0	100	85,5
Bakterier	16	16	0	0	100	85,5
Bakterier *(uppre-pat 2020-06-25)*	16	16	0	0	100	85,5
Helblod	16	16	0	0	100	85,5
Summa	**240**	**240**	**0**	**0**	**100**	**98,9**

[a]För att resultatet av ett prov skulle bedömas som korrekt måste resultaten för samtliga tre genotyper (*2,*3,*17) vara korrekta.

LICENSER OCH PATENT

Black Hole Quencher och CAL Fluor teknikerna är licensierade i enlighet med ett avtal med Biosearch Technologies, Inc. (BTI). Denna produkt säljs på licens från BTI.

Molecular Beacon-teknologin är licensierad enligt avtal med Public Health Research Institute (PHRI). Denna produkt säljs på licens från PHRI.

Denna produkt omfattas av patentnummer 8,528,777; 8,735,104; 9,593,369 i USA, samt andra patent som Spartan Bioscience beviljats eller har ansökt om globalt.

VARUMÄRKEN

Spartan Bioscience Inc. är ett registrerat varumärke som tillhör Spartan Bioscience Inc. Microsoft Windows är ett i USA och andra länder registrerat varumärke som tillhör Microsoft Corporation. Alla övriga varumärken är respektive ägares enskilda egendom.

REFERENSER

1. Desta Z et al. (2002). Clinical significance of the cytochrome P450 2C19 genetic polymorphism. *Clin Pharmacokinet*. 41(12): 913–958.

2. Sim SC 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.

3. Rudberg I et al. (2008). Impact of the ultrarapid CYP2C19*17 allele on serum concentration of escitalopram in psychiatric patients. *Clin Pharmacol Ther*. 83(2): 322–327.

4. https://www.pharmvar.org/gene/CYP2C19

5. Romkes M et al. (1991). Cloning and expression of complementary DNAs for multiple members of the human cytochrome P450IIC subfamily. *Biochemistry*. 30(13): 3247–3255.

6. Richardson TH 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(1): 87–96.

7. Blaisdell J et al. (2002). Identification and functional characterization of new potentially defective alleles of human CYP2C19. *Pharmacogenetics*. 12(9): 703–711.

8. de Morais SM et al. (1994). The major genetic defect responsible for the polymorphism of S-mephenytoin metabolism in humans. *J Biol Chem*. 269(22): 15419–15422.

9. Ibeanu GC et al. (1998). Identification of new human CYP2C19 alleles (CYP2C19*6 and CYP2C19*2B) in a Caucasian poor metabolizer of mephenytoin. *J Pharmacol Exp Ther*. 286(3): 1490–1495.

10. Fukushima-Uesaka H et al. (2005). Genetic variations and haplotypes of CYP2C19 in a Japanese population. *Drug Metab Pharmacokinet*. 20(4): 300–307.

11. Lee S et al. (2009). Identification of new CYP2C19 variants exhibiting decreased enzyme activity in the metabolism of S-mephenytoin and omeprazole. *Drug Metab Dispos*. 37(11): 2262–2269.

This page intentionally left blank

This page intentionally left blank

EC REP

EMERGO EUROPE
Prinsessegracht 20
2514 AP The Hague
The Netherlands

SPARTAN BIOSCIENCE INC
2934 Baseline Road
Suite 500
Ottawa, Ontario, Canada K2H 1B2

CUS-00044 v3.0 2020-11-01