

artus[®] TPMT LC PCR Kit

Håndbog



24 (katalog nr. 4622063)

Kvalitativ in vitro diagnostik

Til anvendelse med *LightCycler[®]* Instrument

April 2007 – version 1



4622063



1046980DA



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden

R1

MAT

1046980DA

artus TPMT LC PCR Kit

Mærker og ansvarsfraskrivelse

QIAGEN®, QIAamp®, *artus*® (QIAGEN Group); *LightCycler*®, COBAS® AMPLICOR® (Roche Diagnostics).

Registrerede navn, varemærker, osv. i dette dokument kan ikke betragtes som juridisk ubeskyttede, selvom de mangler en tilsvarende kendetegnelse.

artus TPMT LC PCR Kit er et CE-mærket diagnostisk kit i overensstemmelse med den europæiske retningslinje 98/79/EF om in vitro-diagnostik. Kan ikke fås i alle lande.

QIAamp Kits er til almindelig laboratoriebrug. Produktangivelserne eller fremstillingerne er ikke bestemt til at levere information om diagnose, prævention eller behandling af en sygdom.

Købet af *artus* PCR Kits indeholder en begrænset licens for deres anvendelse til gennemførelsen af polymerase-kædereaktion-proceduren (PCR) i den humane og veterinære in vitro-diagnostik i forbindelse med en thermocycler, hvis anvendelse i en automatisk gennemført PCR er dækket ved en forudbetalt licensgebyr, som enten betales til Applied Biosystems eller betales ved køb af en autoriseret thermocycler. PCR-proceduren er beskyttet gennem tilsvarende nationale beskyttelsesrettigheder af U.S.-patenterne med numrene 5,219,727 og 5,322,770 og 5,210,015 og 5,176,995 og 6,040,166 og 6,197,563 og 5,994,056 og 6,171,785 og 5,487,972 und 5,804,375 og 5,407,800 og 5,310,652 og 5,994,056 egendom af F. Hoffmann-La Roche Ltd.

© 2007 QIAGEN, alle rettigheder forbeholdt.

Indholdsfortegnelse

1. Indhold.....	4
2. Opbevaring.....	4
3. Nødvendige ekstra-materialer og instrumenter	5
4. Almindelige sikkerhedsregler	5
5. Baggrundsinformationer.....	6
6. Princip for testproceduren.....	7
7. Produktbeskrivelse.....	7
8. Protokol	8
8.1 DNA-isolering	8
8.2 Forberedelse af PCR.....	8
8.3 Programmering af <i>LightCycler</i> [®] instrumentet	11
9. Analyse.....	14
10. Fejlkilder	19
11. Specifikationer	20
11.1 Analytisk sensitivitet	20
11.2 Analytisk specificitet	20
11.3 Diagnostisk sensitivitet og specificitet	21
12. Særlige anvisninger til brug af produktet	21
13. Sikkerhedsinformationer.....	21
14. Kvalitetskontrol.....	21
15. Litteratur.....	22
16. Symbolforklaring	23

artus[®] TPMT LC PCR Kit*

Til anvendelse med *LightCycler[®]* instrumentet.

1. Indhold

	Påskrift og indhold	Art. Nr. 4622063 24 reaktioner
Blå	<i>TPMT LC Master A</i>	2 x 12 reaktioner
Blå	<i>TPMT LC Master B</i>	2 x 12 reaktioner
Gul	<i>TPMT LC Mg-Sol[†]</i>	1 x 400 µl
Rød	<i>TPMT LC Control Aw</i>	1 x 200 µl
Rød	<i>TPMT LC Control Av</i>	1 x 200 µl
Rød	<i>TPMT LC Control B</i>	1 x 200 µl
Hvid	<i>Water (PCR grade)</i>	1 x 1.000 µl

[†] *Mg-Sol* = magnesium-løsning

2. Opbevaring

artus TPMT LC PCR Kit opbevares ved -20°C og er holdbart indtil datoen, der er angivet på etiketten. Gentagen optøning og nedfrysning (> 2 x) bør undgås, da sensitiviteten derved forringes. Ved uregelmæssig brug skal reagenserne derfor aliquoteres. Hvis det er nødvendigt at opbevare kittet ved +4°C, må dette tidsrum ikke vare længere end fem timer.

* TPMT = thiopurin S-methyltransferase

3. Nødvendige ekstra-materialer og instrumenter

- Pudderfri engangs laboratoriehandsker
- DNA-isoleringskit (se **8.1 DNA-isolering**)
- Pipetter (justerbare)
- Sterile pipettespidser med filter
- Vortex-mixer
- Bordcentrifuge med rotor til 2 ml-reaktionsbeholdere
- *Color Compensation Set* (Roche Diagnostics, kat.-nr. 2 158 850) til oprettelse af en *Crosstalk Color Compensation*-fil
- *LightCycler*[®] Kapillarer
- *LightCycler*[®] Cooling Block
- *LightCycler*[®] Instrument
- *LightCycler*[®] Capping Tool

4. Almindelige sikkerhedsregler

Følgende anvisninger skal altid overholdes af brugeren:

- Analysér venligst maksimalt tolv prøver per PCR-kørsel, da det kan komme til et teknisk betinget, atypisk smeltekurve-forløb for den heterozygot variant nt 238, når der parallelt analyseres mere end tolv prøver.
- Brug sterile pipettespidser med filter.
- Positivt materiale (prøver, kontroller, amplifikater) skal opbevares, oprenses og tilsættes reaktionsblandingen i et separat rum, adskilt fra de øvrige reagenser.
- Optø alle komponenter fuldstændigt ved stuetemperatur, inden testen startes.
- Bland komponenterne grundigt og centrifuger kort.
- Der bør arbejdes hurtigt på is eller i *LightCycler*[®] Cooling Block.

5. Baggrundsinformationer

Ved siden af påvirkninger som alder, køn, ernæring og en interaktion mellem forskellige lægemidler, har hovedsageligt genetiske faktorer indflydelse på enzymaktiviteten. Det er kendt, at patienter som opviser en genetisk betinget, forandret aktivitet af enzymet thiopurin S-methyltransferase (TPMT), har en øget risiko for udvikling af betydelige bivirkninger (1 – 3, f.eks. hæmatologiske toksiciteter, hepatotoksiciteter) under behandling med 6-thioguanin, 6-mercaptopurin eller azathioprin. Undersøgelsen af TPMT-genet tillader vurderingen af den genetisk betingede risiko for behandlingsinducerede bivirkninger. Før personer begynder med en terapi kan bestemmes, om de er genetiske bærere af TPMT-genet, og i givet fald behandles alternativt eller med tydelig reduceret dosis.

Enzymaktiviteten af thiopurin S-methyltransferase bestemmes bl.a. gennem forandringer i TPMT-genet. Genetiske forandringer kan f.eks. forårsage en aminosyreudskiftning. Enzymets derfor forandrede konformation har udvirkninger på enzymaktiviteten. De hyppigste genetiske varianter i TPMT-genet vedkommer nukleotiderne (nt) 238, 460 og 719. I litteraturen findes beskrivelser af flere genetiske varianter, der dog sjældent hhv. kun én eneste gang blev observeret i én population. Omkring 10 % af den hvide befolkning har en ca. 75% reduceret TPMT-aktivitet, hvorimod ca. 0,3 % ikke viser en målbar enzymaktivitet. Sammenlignende genotype-fænotype undersøgelser resulterede i, at genotypiseringen korrelerede med TPMT-aktiviteten i 87 % af tilfældene.

Genotypiseringen kan hjælpe at optimere individuel medicinsk behandling. Særligt ved tumorterapi med thiopuriner, ved behandling af kronisk-inflammatoriske tarmsygdomme eller efter transplantationer er analysen af TPMT-genet nyttig og kan reducere risikoen for uønskede bivirkninger og dermed hjælpe at reducere udgifter (forlænget sygehusophold m.m.).

6. Princip for testproceduren

Ved genetisk diagnostik ved hjælp af polymerase kædereaktion (eng. Polymerase Chain Reaction = PCR) bliver specifikke områder af smitstofgenomet amplificeret. Detektionen foregår via Real-Time PCR ved hjælp af fluorescensfarver. Disse er som regel koblet til oligonukleotid-prober, som binder sig specifikt til PCR-amplifikatet. Smeltekurveanalysen, der foretages direkte efter PCR-amplifikationen, gør det muligt at identificere og diskriminere genvarianter. Fordi det ikke er nødvendigt at åbne prøverørene efter PCR-kørslen, reduceres tydelig risikoen for en kontamination (Mackay, 2004).

7. Produktbeskrivelse

Med *artus* TPMT LC PCR Kit undersøges den humane DNA simpelt, hurtigt og sikkert for tilstedeværelse af klinisk relevante genetiske varianter i TPMT-genet. Analysen gør det muligt at vurdere behandlingsinducerede risici, f.eks. gennem behandling med thiopuriner.

Analysen gennemføres ved hjælp af *LightCycler*[®] instrumentet idet genetiske varianter af TPMT-genet påvises. Reagenserne indeholder primere for amplifikationen af sekvenser af det humane TPMT-gen og fluorescensmarkerede prober til påvisning af de genetiske varianter på nukleotidpositionerne nt 238 i exon 5, nt 460 i exon 7 og nt 719 i exon 10. Derudover indsættes, til kontrol af reaktionen, positivkontrollerne A (*Aw* / *Av*) og B i separate opsætninger.

Testen baserer sig på amplifikationen af human genomisk DNA. Derfor skal fluorescenssignaler i smeltekurveafsnittet være erkendelige, uafhængigt af tilstedeværelsen af allel-varianter. Hvis dette ikke er tilfældet, tyder det på en ineffektiv DNA-oprensning eller på en PCR-inhibition. Derfor er en ekstra intern kontrol i denne genetiske test ikke nødvendig.

Bemærk: Signalerne fra smeltekurveanalysen er afgørende for analysen. Ved anvendelsen af *artus* TPMT LC PCR Kit behøves i de fleste tilfælde ikke observeres en kvantitativ amplifikation under *LightCycler*[®] kørslen. Den har ingen indflydelse på smeltekurveanalysen.

8. Protokol

8.1 DNA-isolering

Kits til DNA-isolering af blod tilbydes af forskellige producenter. Prøvevolumener til DNA-isoleringsproceduren afhænger af den benyttede protokol. Tilsæt den anbefalede prøvemængde til oprensningen og udfør DNA-isoleringen efter producentens forskrift. Det følgende isoleringskit anbefales:

Prøve-materiale	Oprensningskit	Katalognummer	Producent
blod	QIAamp DNA Blood Mini Kit (50)	51 104	QIAGEN

- *artus* TPMT LC PCR Kit er ikke egnet til oprensningskørsler, som arbejder på basis af phenol.
- Bruger man en oprensningsprotokol med **ethanolholdige** vaskebuffere, anbefales det, at man udfører et ekstra centrifugeringstrin (tre minutter, 13.000 rpm) før elueringen for at fjerne ethanolrester. Dette forhindrer eventuelle PCR-inhibitioner.

8.2 Forberedelse af PCR

Bemærk: Analysér venligst kun maksimalt tolv prøver per PCR-kørsel, da det kan komme til et teknisk betinget, atypisk smeltekurve-forløb for den heterozygot variant nt 238, når der parallelt analyseres mere end tolv prøver.

Sørg for, at Cooling Block'en med de tilhørende adaptore (tilbehør til *LightCycler*[®] instrumentet) er kølet ned til +4°C. Sæt det nødvendige antal *LightCycler*[®] kapillarer til de planlagte reaktioner ind i adapterne til Cooling Block'en. Alle reagenser skal optøes fuldstændigt ved stuetemperatur, blandes godt (gentagen pipettering eller kort vortexen) og centrifugeres kort.

For hver anvendelse bør der indsættes de i *artus* TPMT LC PCR Kit indeholdte positive kontroller (*TPMT LC Control Aw*, *TPMT LC Control Av* og *TPMT LC Control B*) og den negative kontrol (*Water*, *PCR grade*).

Til opsætning af PCR-reaktionerne anvendes venligst det følgende pipetteringsskema (se også den skematiske oversigt i Fig. 1):

	Antal prøver	1
1. Opsætning af Master Mix	<i>TPMT LC Master A</i> eller <i>TPMT LC Master B</i>	16 µl
	<i>TPMT LC Mg-Sol</i>	2 µl
	Samlet volumen	18 µl
2. Opsætning af PCR-reaktion	Master Mix	18 µl
	Prøve	2 µl
	Samlet volumen	20 µl

Pipettér i hvert af kapillarenes plasticreservoirs 18 µl af Master Mix. Derefter tilsættes 2 µl af eluatet fra DNA-isoleringen. Tilsvarende skal der som positiv kontrol anvendes 2 µl af *TPMT LC Control A* (*Aw/Av*) eller *TPMT LC Control B*, og som negativ kontrol tilsættes 2 µl vand (*Water, PCR grade*). Luk kapillarerne. For at overføre opsætningen fra plasticreservoirret til kapillarerne, centrifugeres adapterne med kapillarerne i en bordcentrifuge i ti sekunder ved maksimalt 400 x g (2.000 rpm).

Bemærk: For at undgå en kontamination med *LightCycler*[®] Capping Tool, bør lågene sættes på kapillarerne.

Forberedelse af PCR

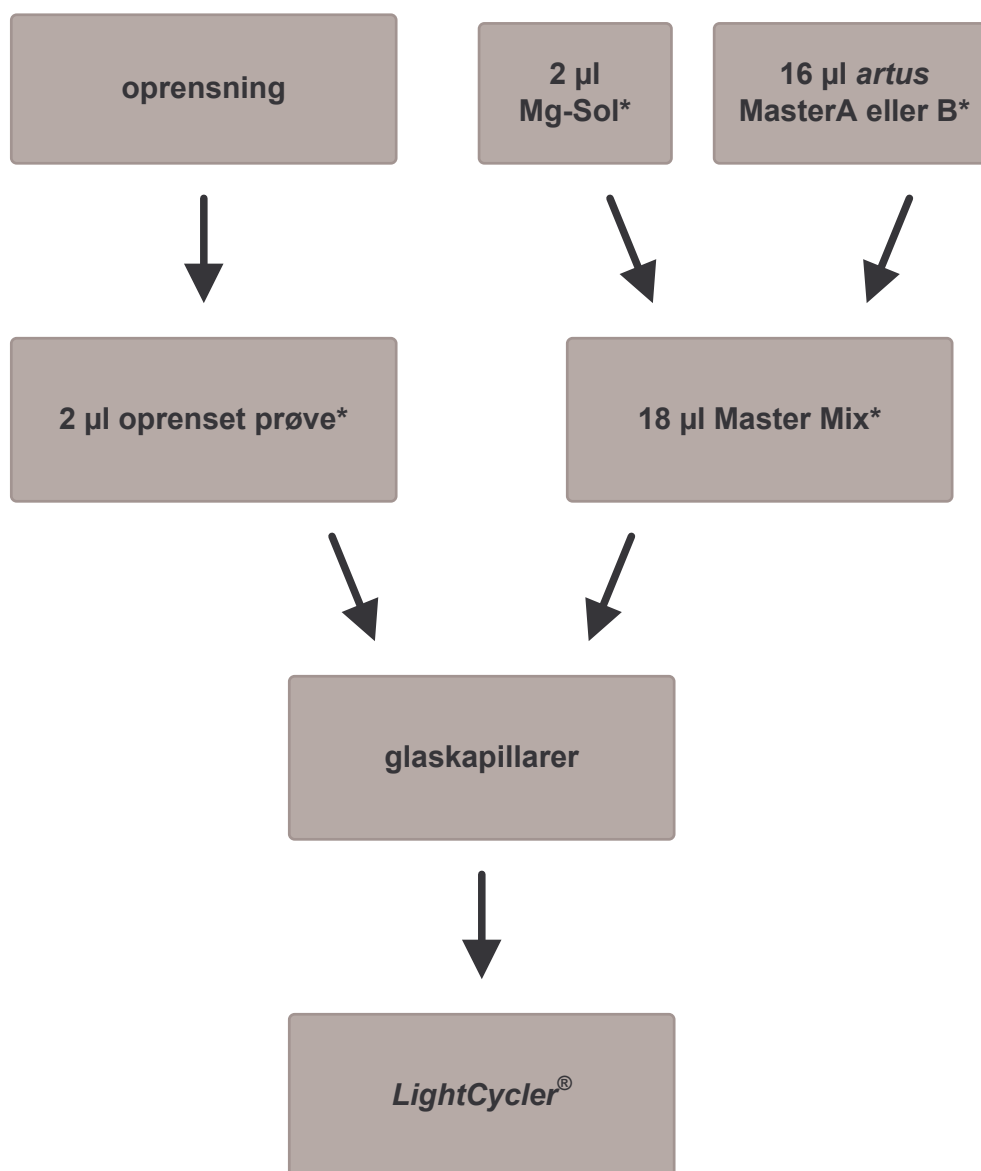


Fig. 1: Skematisk arbejdsforløb.

*Det er yderst vigtigt at sørge for, at de anvendte opløsninger er fuldstændigt optøet, blandet godt og centrifugeret kort.

8.3 Programmering af *LightCycler*[®] instrumentet

Til detektion af de genetiske varianter i TPMT-genet udarbejder De på Deres *LightCycler*[®]-instrument en temperaturprofil i henhold til de følgende fem arbejdsstrin (se Fig. 2 - Fig. 6).

- | | | |
|----|---|--------|
| A. | Initial aktivering af Hot Start-enzymet | Fig. 2 |
| B. | Touch Down trin | Fig. 3 |
| C. | Amplifikation af DNA | Fig. 4 |
| D. | Smeltekurve | Fig. 5 |
| E. | Køling | Fig. 6 |

Læg især mærke til indstillingerne for *Analysis Mode*, *Cycle Program Data* og *Temperature Targets*. Af hensyn til overskueligheden er indstillingerne, der skal foretages, fremhævet med sorte rammer i figurerne. Anvisninger til programmering af *LightCycler*[®] instrumentet kan findes i *LightCycler Operator's Manual*.

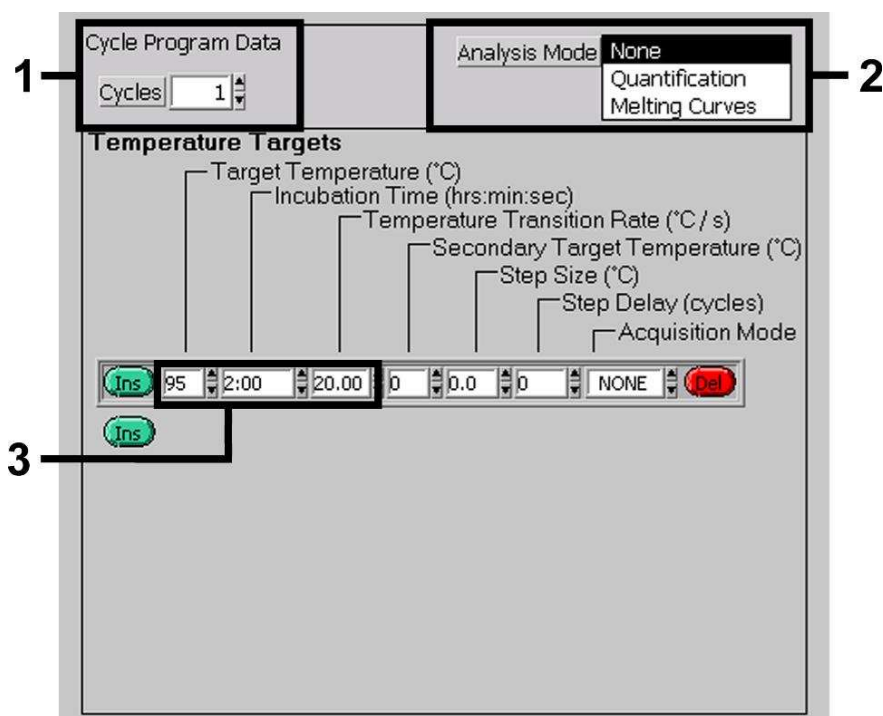


Fig. 2: Initial aktivering af Hot Start-enzymet.

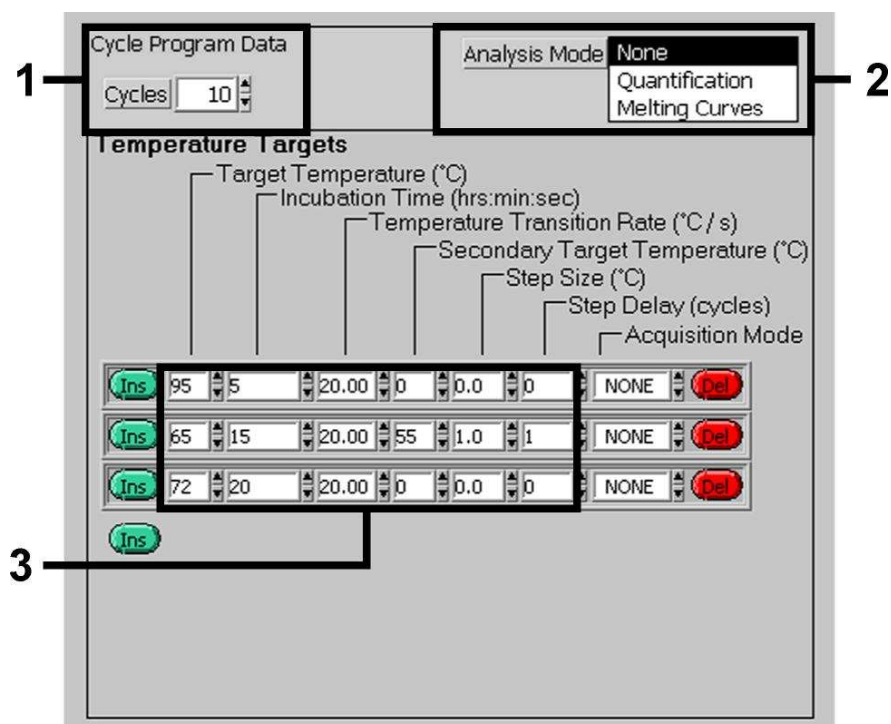


Fig. 3: Touch Down trin.

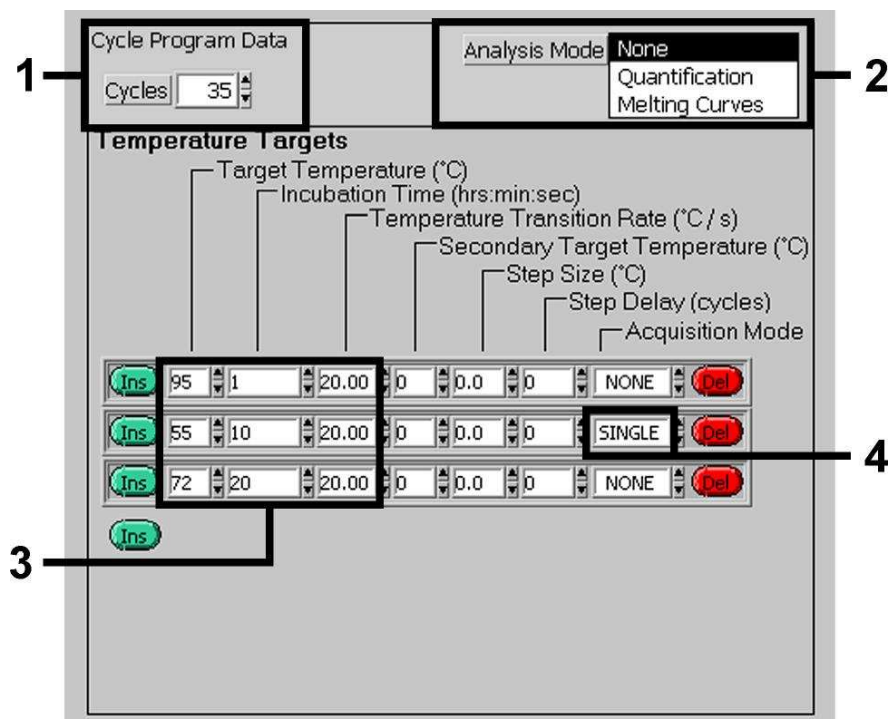


Fig. 4: Amplifikation af DNA.

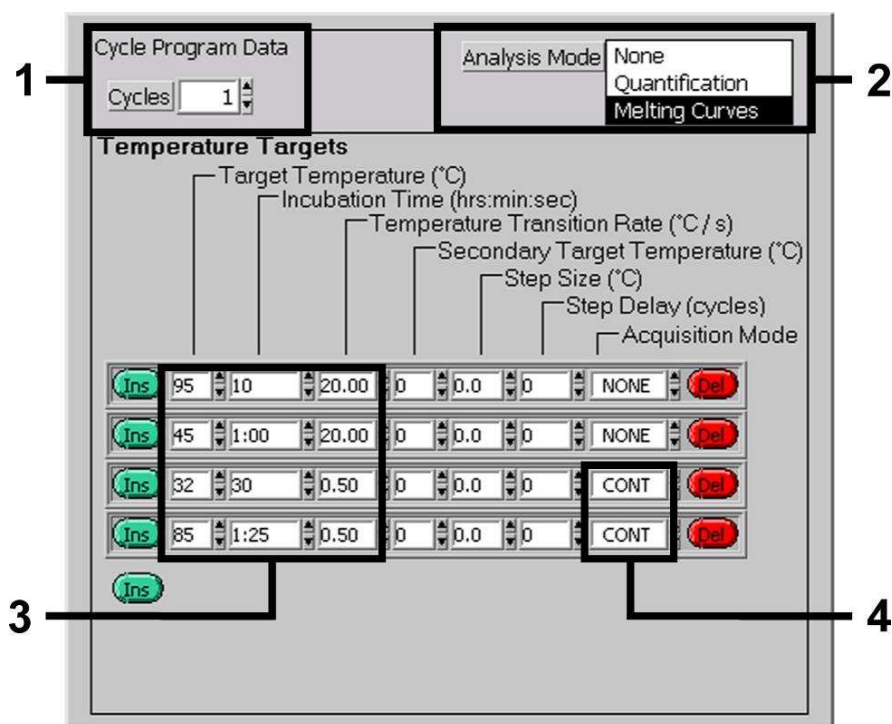


Fig. 5: Smeltekurve.

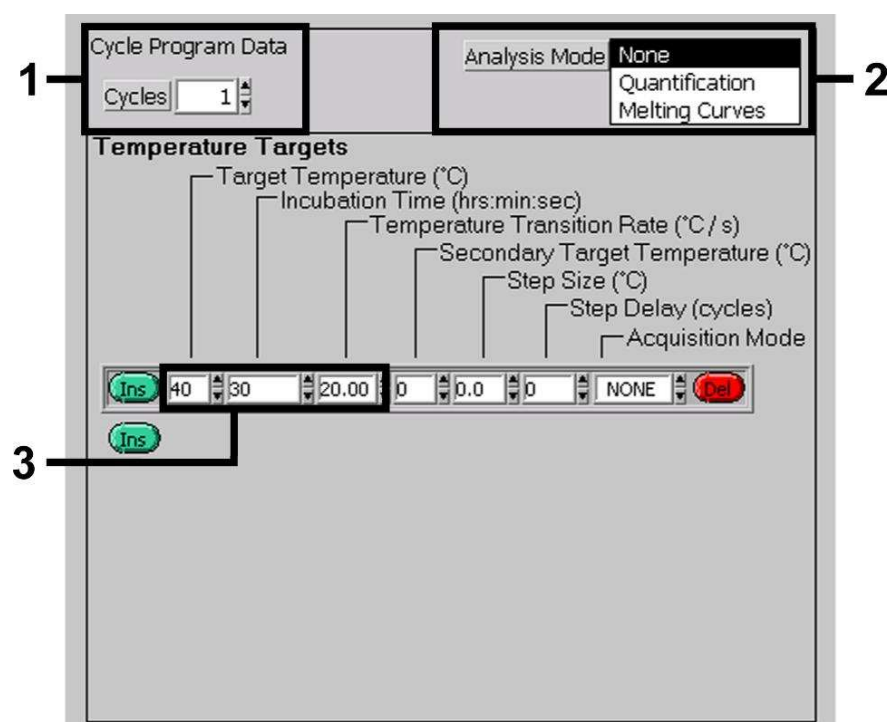


Fig. 6: Køling.

9. Analyse

Ved multifarve-analyser optræder interferenser mellem fluorescens-kanalerne. Softwaren til *LightCycler*[®] instrumentet indeholder en fil med betegnelsen *Color Compensation File*, som kompenserer for disse interferenser. Åbn denne fil før, under eller lige efter PCR-kørslen ved aktivering af *Choose CCC File* eller *Select CC Data*. Hvis der ikke er installeret en *Color Compensation File*, udarbejdes den ifølge anvisningerne i *LightCycler Operator's Manual*. Efter aktiveringen af *Color Compensation File* fremkommer separate signaler i fluorescenskanalerne F1, F2 og F3. Til analysen af PCR-resultaterne, der indhentes med *artus* TPMT LC PCR Kit, vælges visningsfunktionerne F2/Back-F1 og F3/Back-F1 til den analytiske TPMT-PCR. Når *artus* TPMT LC PCR Kit anvendes, kan der i de fleste tilfælde ikke observeres en kvantitativ amplifikation under *LightCycler*[®]-kørslen.

Komponenterne af *artus* TPMT LC PCR Kit bruges til påvisning af de genetiske varianter (vildtype: wt; variant = var) i nukleotidpositionerne (nt) 238, 460 og 719 i TPMT-genet. Bestemmelsen af de genetiske varianter gennemføres ved hjælp af programmet *Melting Curve*. Smeltepunkterne i grafikken tyder på tilstedeværelsen af enten vildtypen eller den genetiske variant ved hjælp af temperaturer, der er oplistet i den følgende tabel (se Tabel 1). I tilfældet af heterozygoti fremkommer en totoppet kurve i smeltekurveanalysen.

Tabel 1: Smeltepunkt af vildtypen (wt) og de genetiske varianter (var).

Master	Kanal F2			Kanal F3		
	nt	wt	var	nt	wt	var
A	238	54 °C	64 °C	-	-	-
B	460	57 °C	47 °C	719	42 °C	54 °C

Bemærk venligst at de som smeltepunkter angivne temperaturer kan variere $\pm 2^\circ\text{C}$. I mange tilfælde anbefales det, at slukke den *Digital Filter*, for en bedre fremstilling af smeltekurveanalysen.

De følgende figurer (se Fig. 7 - 9) viser smeltekurveanalyserne til detektionen af polymorfismer i nukleotidpositionerne nt 238, nt 460 og nt 719 i homozygot vildtype-form, såvel som i heterozygot hhv. homozygot forandret form. Positivkontrollerne (*TPMT LC Control A* (*Aw / Av*) og *B*), der vedlægges i *artus* TPMT LC PCR Kit, fremviser den heterozygote tilstand af de genetiske varianter.

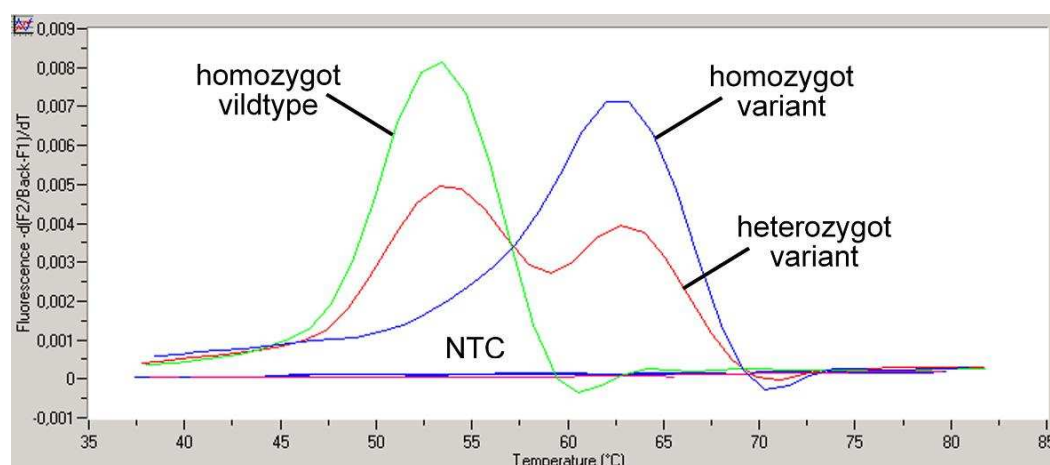


Fig. 7: Smeltekurveanalyse for detektionen af den nukleotide udskiftning nt 238 ved hjælp af *artus* TPMT LC PCR Kit (**Master A**) i fluorescenskanalen F2/Back-F1. NTC: non-template control (negativ kontrol).

Bemærk: Analysér venligst kun maksimalt tolv prøver per PCR-kørsel, da det kan komme til et teknisk betinget atypisk smeltekurve-forløb for den heterozygote variant nt 238, når der parallelt analyseres mere end tolv prøver.

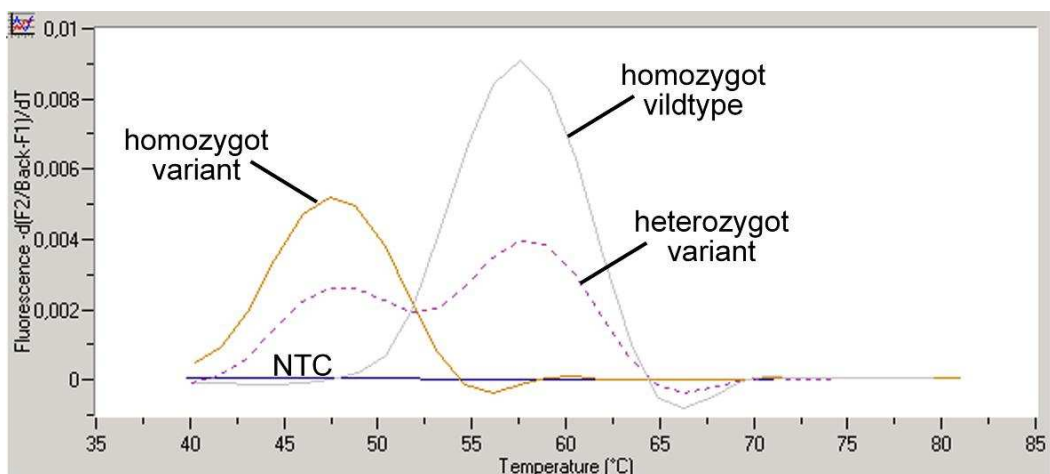


Fig. 8: Smeltekurveanalyse for detektionen af den nukleotide udskiftning nt 460 ved hjælp af *artus* TPMT LC PCR Kit (**Master B**) i fluorescenskanalen F2/Back-F1. NTC: non-template control (negative control).

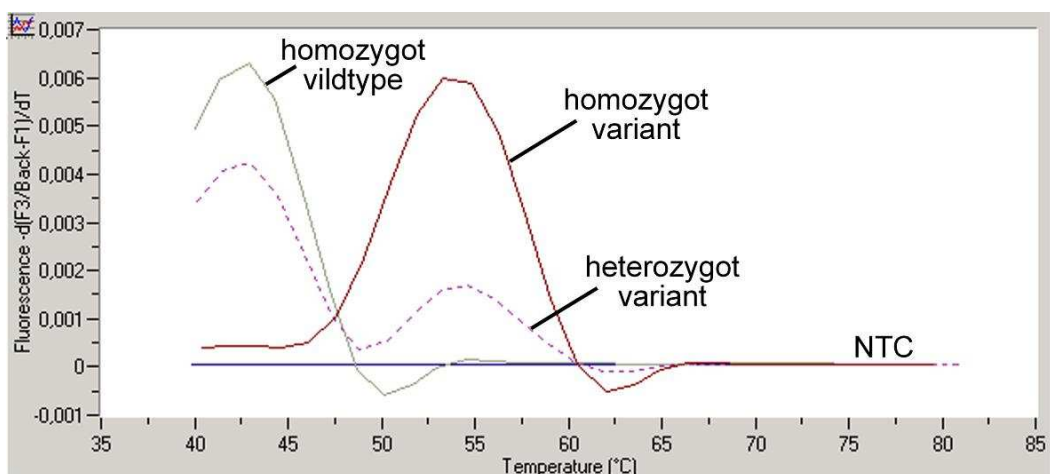


Fig. 9: Smeltekurveanalyse for detektionen af den nukleotide udskiftning nt 719 ved hjælp af *artus* TPMT LC PCR Kit (**Master B**) i fluorescenskanalen F3/Back-F1. NTC: non-template control (negativ kontrol).

Genotypen bestemmes via kombination af de alleliske varianter. Der skal bemærkes, at ved tilstedeværelsen af to heterozygote varianter, kan disse være lokaliseret på en allel eller på to forskellige alleler. På nuværende tidspunkt blev i litteraturen ikke skrevet om tilstedeværelsen af to heterozygote varianter, hverken lokaliseret på en allel eller på to alleler. Ved tilstedeværelse af minimum én genetisk variant kan i hvert fald forventes en reduceret TPMT-enzymaktivitet.

Hos bærere af to vildtype-alleler kan der forventes en normal enzymaktivitet, forudsat at ingen andre ikke-genetiske faktorer har indflydelse på enzymaktiviteten. Hos bærere af minimum én genetisk forandret allel, kan der forventes en indskrænket enzymaktivitet. Hvis begge alleler er ramt af dette, stiger risikoen for en genetisk betinget bivirkning. For eksempel kan en tilstedeværelse af en heterozygoti ved positionen nt 460 **og** nt 719 føre til genotypen TPMT*3A/*1 men også til genotypen TPMT*3B/*3C. Hvis begge alleler er ramt, stiger risikoen for en genetisk betinget bivirkning. Ved hjælp af *artus* TPMT LC PCR Kit bliver nukleotidvarianterne undersøgt på tre forskellige positioner i TPMT-genet. Dette tillader detektion af allelerne TPMT*1, TPMT*2, TPMT*3A, TPMT*3B og TPMT*3C.

Tabel 2: Genetiske varianter i TPMT-genet.

Allel	nt 238 F2	nt 460 F2	nt 719 F3	Enzymaktivitet
TPMT*1				normal
TPMT*2	x			reduceret
TPMT*3A		x	x	ingen aktivitet
TPMT*3B		x		reduceret
TPMT*3C			x	reduceret

De ovenfor beskrevne alleler resulterer i forskellige mulige genotyper. Disse er oplistet i den efterfølgende tabel (se Tabel 3).

Tabel 3: Indflydelse af genotypen på TPMT enzymaktiviteten.

Homozygot viltype genotype	Heterozygot eller homozygot variant genotype	Homozygot variant genotype
TPMT*1/*1	TPMT*1/*2	TPMT*3A/*3A
	TPMT*1/*3A	
	TPMT*1/*3B	
	TPMT*1/*3C	
	TPMT*2/*2	
	TPMT*2/*3A	
	TPMT*2/*3B	
	TPMT*2/*3C	
	TPMT*3A/*3B	
	TPMT*3A/*3C	
	TPMT*3B/*3B	
	TPMT*3B/*3C	
	TPMT*3C/*3C	
normal enzymaktivitet	reduceret enzymaktivitet	ingen enzymaktivitet

10. Fejlkilder

Intet signal ved positivkontrollen (*TPMT LC Control Aw, Av* eller *B*) eller ved prøverne i fluorescenskanalen F2/Back-F1 hhv. F3/Back-F1:

- Fejl i programmeringen af temperaturprofilen for *LightCycler*[®] instrumentet.
 - Sammenlign temperaturprofilen med angivelserne i protokollen (se **8.3 Programmering af *LightCycler*[®] instrumentet**).
- Fejl i sammensætningen af PCR-reaktionen.
 - Kontrollér arbejdsrinnene ved hjælp af pipetteringsskemaet (se **8.2 Forberedelse af PCR**) og gentag i givent tilfælde PCR'en.
- Betingelserne for opbevaring af en eller flere af kittets komponenter svarede ikke til de i **2. Opbevaring** angivne forskrifter eller holdbarhedsdatoen for *artus* TPMT LC PCR Kit blev overtrådt.
 - Kontrollér venligst både betingelserne for opbevaring og holdbarhedsdatoen (se på kit-etiketten) af reagenserne og anvend i givent tilfælde et nyt kit.
- PCR'en er blevet inhiberet.
 - Sørg for, at De anvender en af os anbefalet oprensningsmetode (se **8.1 DNA-isolering**) og hold Dem nøje til producentens anvisninger.
 - Kontrollér, at der ved DNA-oprensningen, før gennemførelsen af elueringen, blev gennemført det anbefalede centrifugeringstrin til den fuldstændige fjernelse af ethanol-rester (se **8.1 DNA-isolering**).
- Der foreligger tab af DNA forårsaget af oprensningen.
 - Sørg for, at De anvender en af os anbefalet oprensningsmetode (se **8.1 DNA-isolering**) og hold Dem nøje til producentens anvisninger.

Intet signal ved *TPMT Master A* i fluorescenskanalen F3/Back-F1:

- *TPMT LC Master A* genererer kun et signal i fluorescenskanalen F2/Back-F1.

Atypisk smeltekurveforløb ved detektion af den nukleotide udskiftning nt 238 i fluorescenskanalen F2/Back-F1:

- Mere end 12 prøver er blevet analyseret parallel.

Svagt fluorescens-peak (svagt maksimalt udsving af fluorescensen):

- Bland grundigt komponenterne før anvendelsen.
- Kontrollér betingelserne for amplifikationen.
- Lad Cooling Block'en med de tilhørende adaptore være kølet ned til +4 °C, før der begyndes med anvendelsen.
- Under pipetteringen skal alle reagenser være i kølet tilstand.

Hvis der skulle opstå yderligere spørgsmål eller problemer, kontakt venligst vores tekniske service.

11. Specifikationer

11.1 Analytisk sensitivitet

artus TPMT LC PCR Kit bruges til detektion af den individuelle genetiske konstitution vedrørende de genetiske varianter nt 238, nt 460 og nt 719 i det humane TPMT-gen ved hjælp af *LightCycler*[®]-teknologien. Den humane genomiske DNA blev oprenset fra blodprøver, spektrofotometrisk kvantificeret og fortyndet i serielle fortyndingstrin. For at detektere de genetiske varianter er et minimum af 0,12 ng genomisk DNA (20 kopier) per PCR (svarer til 0,005-0,02 µl blod, alt efter bloddonor og oprensning) tilstrækkelig.

11.2 Analytisk specificitet

Specificiteten for *artus* TPMT LC PCR Kit sikres først og fremmest igennem udvalget af primere og prober samt ved valget af stringente reaktionsbetingelser. Primerne og proberne blev kontrolleret for eventuelle homologier til alle i genbanker publicerede sekvenser ved hjælp af en sekvenssammenlignings-analyse. Derudover sikres specificiteten til påvisning af denne genetiske polymorfisme ved hjælp af sekvenseringen af de enkelte allel-varianter og en efterfølgende sekvenssammenligning i internationale databanker.

11.3 Diagnostisk sensitivitet og specificitet

Frekvensen af polymorphismer i den kaukasiske population, som beskrevet i litteraturen, blev bekræftet ved hjælp af 300 DNA prøver under anvendelse af kit-bestanddelene.

12. Særlige anvisninger til brug af produktet

- Alle reagenser må udelukkende anvendes til in vitro-diagnostik.
- Kun personale, der er specielt undervist og uddannet i in-vitro-diagnostika-proceduren (EN375), bør anvende dette udstyr.
- Det er absolut nødvendigt at protokollen overholdes nøje, for at opnå optimale PCR-resultater.
- Holdbarhedsdatoerne for de enkelte komponenter, der er angivet på emballagen og etiketterne, skal overholdes. Udløbne reagenser må ikke benyttes.

13. Sikkerhedsinformationer

Sikkerhedsinformationer vedrørende *artus* TPMT LC PCR Kit findes i de tilsvarende materialsikkerheds-datablade (material safety data sheets, MSDS). Disse findes som kompakt og brugervenlig PDF-fil under www.qiagen.com/support/msds.aspx.

14. Kvalitetskontrol

I overensstemmelse med det ISO 9001 og ISO 13485-certificerede kvalitets-management-system fra QIAGEN blev ethvert lot af *artus* TPMT LC PCR Kit testet imod givne specifikationer for at sikre en ensartet produktkvalitet.

15. Litteratur

- (1) Andersen JB, Szumlanski C, Weinshilboum RM, Schmiegelow K. Pharmacokinetics, dose adjustments, and 6-mercaptopurine/methotrexate drug interactions in two patients with thiopurine methyltransferase deficiency. *Acta Paediatr.* 1998 Jan; 87 (1): 108 - 111.
- (2) Krynetski EY, Schuetz JD, Galpin AJ, Pui CH, Relling MV, Evans WE. A single point mutation leading to loss of catalytic activity in human thiopurine S-methyltransferase. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1995 Feb 14; 92 (4): 949 - 953.
- (3) Mackay IM. Real-time PCR in the microbiology laboratory. *Clin. Microbiol. Infect.* 2004; 10 (3): 190 - 212.
- (4) Schwab M, Schaffeler E, Marx C, Fischer C, Lang T, Behrens C, Gregor M, Eichelbaum M, Zanger UM, Kaskas BA. Azathioprine therapy and adverse drug reactions in patients with inflammatory bowel disease: impact of thiopurine S-methyltransferase polymorphism. *Pharmacogenetics.* 2002 Aug; 12 (6): 429 – 436.

16. Symbolforklaring



Holdbar til



Lotnummer



Producent



Katalognummer



Materialenummer



Håndbog



In vitro diagnostisk medicinsk produkt



Indholdet er tilstrækkeligt for <N> tests



Temperaturbegrænsning

Mg-Sol

Magnesium løsning

Austria ■ QIAGEN Vertriebs GmbH ■ Löwengasse 47/6 ■ 1030 Wien

Orders 0800/28-10-10 ■ Fax 0800/28-10-19 ■ Technical 0800/28-10-11

Canada ■ QIAGEN Inc. ■ 2800 Argentia Road ■ Unit 7 ■ Mississauga ■ Ontario ■ L5N 8L2

Orders 800-572-9613 ■ Fax 800-713-5951 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

France ■ QIAGEN S.A. ■ 3 avenue du Canada ■ LP 809 ■ 91974 COURTABOEUF CEDEX

Orders 01-60-920-920 ■ Fax 01-60-920-925 ■ Technical 01-60-920-930

Germany ■ QIAGEN GmbH ■ QIAGEN Strasse 1 ■ 40724 Hilden

Orders 02103-29-12000 ■ Fax 02103-29-22000 ■ Technical 02103-29-12400

Italy ■ QIAGEN S.p.A. ■ Via Grosio, 10/10 ■ 20151 Milano

Orders 02-33430-411 ■ Fax 02-33430-426 ■ Technical 800-787980

Japan ■ QIAGEN K.K. ■ Forefront Tower II ■ 13-1, Kachidoki 3 Chome ■ Chuo-ku, Tokyo 104-0054

Telephone 03-5547-0811 ■ Fax 03-5547-0818 ■ Technical 03-5547-0811

Switzerland ■ QIAGEN AG ■ Garstligweg 8 ■ 8634 Hombrechtikon

Orders 055-254-22-11 ■ Fax 055-254-22-13 ■ Technical 055-254-22-12

USA ■ QIAGEN Inc. ■ 27220 Turnberry Lane ■ Valencia ■ CA 91355

Orders 800-426-8157 ■ Fax 800-718-2056 ■ Technical 800-DNA-PREP (800-362-7737)

1046980DA 127132194