

Marts 2018

Indlægseddle til QuantiFERON Monitor[®] (QFM[®]) ELISA 2 x 96

IFN- γ -fuldblodstesten til måling af medfødte og adaptive
immunstimulerende midler.

Version 1

IVD Til in vitro-diagnostisk brug

CE

REF 0650-0201



QIAGEN, 19300 Germantown Road

Germantown, MD 20874, USA

EC REP QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1

40724 Hilden, TYSKLAND

1079024DA Rev. 03

 www.QuantiFERON.com



www.QuantiFERON.com

Indhold

Tilsigtet anvendelse	4
Opsummering og forklaring af testen	4
Analyseprincipper	5
Påkrævet tid til udførelse af analysen	6
Komponenter og opbevaring	6
Nødvendige materialer, som ikke medfølger	8
Opbevaring og håndtering	8
Advarsler og forholdsregler	10
Advarsler	10
Forholdsregler	11
Prøveindsamling og -håndtering	13
Brugsvejledning	17
Beregninger og testfortolkning	23
Generering af standardkurve	23
Kvalitetskontrol af testen	24
Fortolkning af resultater	24
Begrænsninger	26
Ydelsesegenskaber	26
Kliniske undersøgelser	26
Analysens ydelseskarakteristika	31
Teknisk information	32
Koagulerede plasmaprøver	32
Fejlfindingsvejledning	33
Referencer	35
Symboler	36
Kontaktoplysninger	36
Forkortet testprocedure	37

Tilsigtet anvendelse

QuantiFERON Monitor-analysen (QFM) er en in vitro-diagnostisk test, som er beregnet til påvisning af cellemedieret immunfunktion gennem målingen af interferon-gamma (IFN- γ) i plasma med ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) efter inkubering af hepariniseret fuldblod med medfødte og adaptive immunresponsstimulerende midler. Analysen bruges til at påvise cellemedieret immunrespons blandt den immunsupprimerede population med hele organtransplantater.

QFM er beregnet til brug i sammenhæng med risikovurdering og andre medicinske og diagnostiske evalueringer.

Opsummering og forklaring af testen

Immundefekt er kendetegnet ved nedsat evne til effektivt at udløse en immunrespons. Denne kompromitterede eller manglende respons kan skyldes en primær eller erhvervet (sekundær) immundefekt (1).

Primære immundefekter er generelt nedarvet og kendetegnet ved defekter i adskilte dele af det adaptive eller medfødte immunsystem (1). De fleste immundefekter er dog erhvervet (sekundære) og kan fremkaldes af patogener midler, lægemidler (som f.eks. immunsuppressiv behandling efter organtransplantation), sygdom (som f.eks. cancer i form af leukæmi og lymfekræft) eller af miljøbelastende stoffer (1).

Det molekylære grundlag for immundefekt er forskelligt, men cellemedieret immunitet spiller en vigtig rolle i forekomsten af mange af de observerede kliniske manifestationer. På nuværende tidspunkt afhænger diagnosen og håndteringen af immundefektsyndromer af den forårsagende agent (2, 3).

Ad hoc-håndtering er f.eks. normen ved overvågningen af status for den cellulære immundefekt hos personer, som har modtaget hele organtransplantater (SOT'er) og får medicin for at undertrykke deres immunsystem. Status for personens immunrespons måles som regel ved at overvåge niveauerne af farmakologiske lægemidler og en klinisk/patologisk vurdering af graffunktionen (2, 3).

En række test af T-cellefunktionen måler den cellemedierede immunitet over for mitogener, som f.eks. phytohæmagglutinin (PHA), pokeweed-mitogen (PWM) og concanavalin A (ConA). Disse måler dog kun funktionsevnen for T-celler og er et undersæt af cellerne i en cellemedieret immunitet. Det er flere tegn på, at medfødte immunmekanismer i høj grad bidrager til værtsforsvaret enten alene eller ved at forstærke specifikke T-celleresponser. De funktionelle responser fra medfødte (naturlig dræbercelle [NK]) og adaptive (T-celle) immunceller giver

derfor sammen en mere omfattende analyse af den cellemedierede immunitet (2, 3).

QFM er en in vitro-diagnostisk test, som anvender en kombination af stimulerende midler (i form af en LyoSphere™-pellet), som specifikt stimulerer forskellige celletyper i både de medfødte og adaptive immunsystemer. Den funktionelle immunstatus hos en person vurderes ved at måle responsen på stimulering af det medfødte og adaptive immunsystem med hhv. TLR- og TCR-agonister. Påvisningen af interferon-gamma (IFN- γ) vha. ELISA giver en både kvalitativ og kvantitativ måling af den cellemedierede immunfunktion.

Analyseprincipper

QFM-analysen bruger frysetørrede stimulerende midler (QFM LyoSpheres™), som tilsættes i hepariniseret fuldblod. Inkuberingen af blodet forekommer i 16 til 24 timer, hvorefter plasmaet opsamles og testes for tilstedeværelsen af IFN- γ , der dannes som svar på de stimulerende midler.

QFM-testen udføres i trin. Først opsamles der fuldblod i QFM-blodprøvetagningsrøret. Derefter tilsættes en QFM LyoSphere-pellet i røret og inkuberes ved 37 °C så hurtigt som muligt og inden for 8 timer efter blodprøvetagning. Efter en 16 til 24 timers inkuberingsperiode centrifugeres rørene, plasmaen fjernes, og mængden af IFN- γ (rapporteret i internationale enheder pr. ml; IE/ml) måles vha. ELISA og sammenlignes med en række forventede værdier for at vurdere immunresponsen hos personen.

QFM er en analyse, som giver en både kvalitativ og kvantitativ måling af immunfunktionen. QFM-resultater kan ikke direkte kvantificere niveauet af immunsuppression.

Mængden af IFN- γ i plasmaprøver kan ofte være over de øvre grænser for de fleste ELISA-læsere, selv for moderat immunsupprimerede personer. Det anbefales, at plasmaprøver fortyndes 1 til 10 og/eller 1 til 100 i grøn diluent og analyseres i ELISA sammen med ufortyndet plasma.

Bemærk: Tærsklen for QFM-analysen kan variere afhængigt af personens grad af immunsuppression og de individuelle transplantationsforhold.

Se, hvordan QFM-resultaterne fortolkes i "Fortolkning af resultater" på side 24 i denne indlægsseddel.

Påkrævet tid til udførelse af analysen

Den tid, der skal bruges til at udføre QFM-analysen, er anslået nedenfor. Tiden til test af flere prøver, når de er samlede i batch, er også angivet.

Inkubering af blodrør ved 37 °C: 16 til 24 timer

ELISA: Ca. 3 timer for én ELISA-plade
(op til 88 prøver)
<1 times arbejde
Tilføj 10 til 15 minutter for hver ekstra plade

Komponenter og opbevaring

QuantiFERON Monitor LyoSpheres	
Katalognr.	0650-0701
Antal forberedelser	10
QuantiFERON Monitor LyoSpheres	10 hætteglas
<i>Indlægsseddel til QuantiFERON Monitor LyoSpheres</i>	1
QuantiFERON Monitor-blodprøvetagningsrør	
Katalognr.	0650-0101
Antal forberedelser	100
QuantiFERON Monitor-blodprøvetagningsrør (hvid hætte, hvid ring)	100 rør
<i>Indlægsseddel til QuantiFERON Monitor-blodprøvetagningsrør</i>	1

Komponenter til QuantiFERON Monitor 2 plade-kit ELISA	2 plade-kit ELISA
Katalognr.	0650-0201
Mikropladestrips, 12 x 8 brønde (dækket med murint anti-humant IFN- γ -monoklonalt antistof)	2 sæt mikropladestrips med 12 x 8 brønde
IFN- γ Standard, lyophilized (IFN- γ standard, frysetørret) (indeholder rekombinant humant IFN- γ , komælkskasein, 0,01 % w/v Thimerosal)	1 x hætteglas (8 IE/ml, når det er rekonstitueret)
Green Diluent (Grøn diluent) (indeholder komælkskasein, normalt museserum, 0,01 % w/v Thimerosal)	1 x 30 ml hætteglas
Conjugate 100x Concentrate, lyophilized (Konjugat 100x koncentrat, frysetørret) (muint anti-humant IFN- γ HRP, indeholder 0,01 % w/v Thimerosal)	1 x 0,3 ml, når det er rekonstitueret
Wash Buffer 20x Concentrate (Vaskebuffer 20x koncentrat) (pH 7,2, indeholder 0,05 % v/v ProClin [®] 300)	1 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Enzymsubstratopløsning) (indeholder H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetramethylbenzidin)	1 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Enzymstandsningsoopløsning) (indeholder 0,5 M H ₂ SO ₄)*	1 x 15 ml
Indlægsseddel til QuantiFERON Monitor ELISA	1

* Indeholder svovlsyre. Se forholdsregler på side 11.

Nødvendige materialer, som ikke medfølger

- 37 °C inkubator; CO₂ ikke påkrævet
- Kalibrerede pipetter med variabelt volumen*
- Kalibreret flerkanalspipette†, som kan tilføre 50 µl og 100 µl med engangsspidser
- Mikropladeryster†
- Deioniseret eller destilleret vand, 2 liter
- Mikropladevasker (automatiseret vasker anbefales)
- Mikropladelæser† forsynet med 450 nm filter og 620 nm til 650 nm referencefilter
- Gradueret cylinder (måling af cylinder)
- Fnugfrie, absorberende klæder

Opbevaring og håndtering

Blodprøvetagningsrør

Opbevar QFM-blodprøvetagningsrør ved 4 til 25 °C. QFM-blodprøvetagningsrør skal have en temperatur på mellem 17-25 °C, når blodet fyldes i dem, og når de blandes.

LyoSpheres

Opbevar QFM LyoSpheres ved 2 til 8 °C.

ELISA-kittets reagenser

ELISA-kittets reagenser opbevares ved 2 til 8 °C.

Enzyme Substrate Solution (Enzymsubstratopløsning) skal altid beskyttes mod direkte sollys.

* Kontrollér, at instrumenterne er kontrolleret og kalibreret i henhold til producentens anbefalinger.

Rekonstituerede og ubrugte ELISA-reagenser

Se instruktioner i rekonstituering af ELISA-reagenser i "Stadie 2 – IFN- γ ELISA", side 18.

- Den rekonstituerede kitstandard har en holdbarhed på op til 3 måneder, hvis den opbevares ved 2 til 8 °C.

Notér den dato, hvor kitstandarden blev rekonstitueret.

- Efter rekonstituering skal ubrugt Conjugate 100× Concentrate (Konjugat 100× koncentrat) igen opbevares ved 2 til 8 °C og anvendes inden for 3 måneder.

Notér den dato, hvor konjugatet blev rekonstitueret.

- Konjugat med brugsstyrke skal anvendes inden for 6 timer efter fremstilling (se tabel 1).
- Vaskebuffer med brugsstyrke kan opbevares ved stuetemperatur (22 ± 5 °C) i op til 2 uger.

Advarsler og forholdsregler

Til in vitro-diagnostisk brug

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der findes flere oplysninger i de tilhørende sikkerhedsdatablade (safety data sheets, SDS'er). Disse er tilgængelige online i et praktisk og kompakt PDF-format på adressen www.qiagen.com/safety, hvor det er muligt at finde, få vist og udskrive SDS'et for hvert QIAGEN-kit og hver kitkomponenter.

Advarsler

- QFM er en analyse, som giver en både kvalitativ og kvantitativ måling af immunfunktionen. QFM-resultater kan ikke direkte kvantificere niveauet af immunsuppression.
- Resultaterne af QFM-analysen skal bruges sammen med den kliniske præsentation, sygehistorien og andre kliniske indikatorer ved fastlæggelse af en patients immunstatus.
- Tærsklen for QFM-analysen kan variere afhængigt af personens grad af immunsuppression og de individuelle transplantationsforhold.

Forholdsregler

Kun til in vitro-diagnostisk brug.



FORSIGTIG: Håndter humant blod og plasma som potentielt infektiøst. Overhold relevante retningslinjer for håndtering af blod. Bortskaf prøver og materialer, som har været i kontakt med blod eller blodprodukter, i overensstemmelse med nationale, regionale og lokale miljøbestemmelser.

Følgende farer og forholdsregler gælder for komponenterne i QuantiFERON Monitor ELISA.

Faresætninger



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution
(QuantiFERON-enzymstandsningsopløsning)

Indeholder: svovlsyre. Advarsel! Kan ætse metaller. Forårsager hudirritation. Forårsager alvorlig øjenirritation. Bær beskyttelseshandsker/ beskyttelsestøj/ øjenbeskyttelse/ ansigtsbeskyttelse.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution
(QuantiFERON-enzymsubstratopløsning)

Advarsel! Forårsager svag hudirritation. Bær beskyttelseshandsker/ beskyttelsestøj/ øjenbeskyttelse/ ansigtsbeskyttelse.



QuantiFERON Green Diluent (QuantiFERON grøn diluent)

Indeholder: trisodium 5-hydroxy-1-(4-sulphophenyl)-4-(4-sulphophenylazo) pyrazole-3-carboxylate. Indeholder: tartrazin. Advarsel! Kan forårsage allergisk hudreaktion. Bær beskyttelseshandsker/ beskyttelsestøj/ øjenbeskyttelse/ ansigtsbeskyttelse.



QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate
(QuantiFERON-vaskebuffer 20x koncentrat)

Indeholder: Mixture of 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one and 2-Methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. Undgå udledning til miljøet.

Yderligere information

Sikkerhedsdatablade: www.qiagen.com/safety

- Afvigelser fra *indlægssedlen til QuantiFERON Monitor (QFM) ELISA* kan medføre fejlagtige resultater. Læs instruktionerne grundigt inden brug.
- Vigtigt: Inspicer hætteglassene før brug. Konjugat-, IFN- γ Standard- eller QFM LyoSphere-hætteglas må ikke bruges, hvis der er tegn på skader, eller hvis gummiforseglingen er i stykker. Beskadigede hætteglas må ikke bruges. Træf de fornødne sikkerhedsforanstaltninger for at bortskaffe dem sikkert. Anbefaling: Brug en decrimper-tang til hætteglas til at åbne konjugat-, IFN- γ Standard- eller LyoSphere-hætteglas for at minimere risikoen for personskade pga. metalforseglingen.
- ELISA-kittet må ikke anvendes, hvis en eller flere af reagensflaskerne viser tegn på beskadigelse eller lækage inden brug.
- Mikropladestrips, IFN- γ -standard, Green Diluent (Grøn diluent) eller Conjugate 100 \times Concentrate (Konjugat 100 \times koncentrat) fra andre QFM ELISA-kitbatches må ikke iblandes eller anvendes. Andre reagenser (Wash Buffer 20 \times Concentrate, Enzyme Substrate Solution og Enzyme Stopping Solution) kan udskiftes mellem kits, hvis reagenserne er inden for deres udløbsperioder, og lotdetaljerne er registreret.
- Bortskaf ubrugte reagenser og biologiske prøver i overensstemmelse med lokale og nationale sikkerhedsforanstaltninger og miljøbestemmelser.
- Hverken QFM-blodprøvetagningsrør, QFM LyoSpheres eller QFM ELISA må anvendes efter udløbsdatoen.
- Sørg for, at laboratorieudstyret er kalibreret/godkendt før brug.

Prøveindsamling og -håndtering

QFM-analysen må kun udføres med fuldblod, der er opsamlet i et blodprøvetagningsrør, der indeholder lithium-heparin, eller direkte i et QFM-blodprøvetagningsrør. Der skal bruges 1 ml fuldblod pr. test. Blodopsamlingsrørene skal mærkes korrekt med tidspunktet for blodprøvetagningen.

Vigtigt: Både stimuleringen af QFM-blodprøver (dvs. tilsætningen af en QFM LyoSphere-pellet i en 1 ml alikvot blod) og deres efterfølgende inkubering ved 37 °C skal foregå inden for 8 timer efter blodprøvetagning.

Før inkubering skal blodprøverne opbevares ved stuetemperatur (22 ± 5 °C).

Følgende procedurer bør følges for at opnå optimale resultater:

1. Mærk rørene korrekt.

Sørg for, at hvert QFM-blodprøvetagningsrør er markeret korrekt med personens oplysninger og tidspunktet for blodprøvetagningen.

2. For hver person opsamles 1 ml blod ved venepunktur direkte i et QFM-blodprøvetagningsrør. Denne procedure skal udføres af en uddannet bioanalytiker.

Vigtig bemærkning: Rørene skal have en temperatur på mellem 17 °C og 25 °C, når blodet fyldes i dem.

QFM-blodprøvetagningsrør kan bruges i højder op til 810 meter over havoverfladen.

Eftersom 1 ml rør aftapper blod relativt langsomt, skal røret beholdes på kanylen i 2-3 sekunder, når røret ser ud til at være helt fyldt. Dette sikrer, at der aftappes det korrekte volumen.

Det sorte mærke på siden af QFM-blodprøvetagningsrørets etiket angiver 1 ml fyldningsvolumen. QFM-blodprøvetagningsrør er fremstillet til at aftappe 1 ml ± 10 % og fungerer optimalt inden for dette område. Hvis blodniveauet er uden for området for indikatormærket, skal der tages en ny blodprøve.

Hvis der anvendes en "sommerfuglekanyle" til udtagning af blod, bør der anvendes et "gennemskylningsrør" for at sikre, at slangen fyldes med blod inden brug af QFM-blodprøvetagningsrørene.

Hvis QFM-blodprøvetagningsrørene anvendes i større højder end 810 meter, eller hvis der er for lidt blod, skal blodet opsamles ved hjælp af en kanyle, og der skal straks overføres 1 ml blod til QFM-blodprøvetagningsrøret. Af sikkerhedsmæssige årsager gøres dette bedst ved at fjerne sprøjtekanylen under overholdelse af passende sikkerhedsprocedurer, fjerne

hætten fra QFM-blodprøvetagningsrøret og tilsætte 1 ml blod (op til midten af det sorte mærke på siden af røretiketten). Sæt hætten godt fast igen, og bland som beskrevet nedenfor.

Hvis du anvender en årepresse, skal den løsnes, så snart kanylen stikkes ind i blodåren, for at undgå variationer i trykket, som kan påvirke mængden af blod.

Alternativt kan blodet opsamles i et generisk blodprøvetagningsrør, der indeholder lithium-heparin som antikoagulant, og derefter overføres til et QFM-blodprøvetagningsrør. Brug kun lithium-heparin som antikoagulant til blod, da andre antikoagulanter kan påvirke analysen. Fyld et blodprøvetagningsrør (mindst 3 ml volumen), og bland forsigtigt ved at vende røret flere gange for at opløse heparinen. Opbevar blodet ved stuetemperatur ($22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$), før det overføres til QFM-blodprøvetagningsrør til stimulering med en QFM LyoSphere-pellet. Sørg for, at blodet er grundigt blandet ved at vende det forsigtigt umiddelbart før dispensering. Dispensér a 1 ml alikvot blod i et QFM-blodprøvetagningsrør. Udfør dispenseringen aseptisk, og sørg for at følge de relevante sikkerhedsprocedurer, når du fjerner hætten fra QFM-blodprøvetagningsrøret og tilsætter 1 ml blod (til midten af det sorte mærke på siden af røretiketten). Sæt hætterne godt fast på rørene igen, og bland som beskrevet nedenfor.

3. Straks efter påfyldning af rørene skal du vende røret forsigtigt flere gange for at opløse heparinen.

Vigtigt: For kraftig rystning af rørene kan skabe gel-forstyrrelser og forårsage afvigende resultater.

4. Lige før brug skal QFM LyoSphere-pellet'en temperaturudlignes til stuetemperatur ($22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$).
5. Tilsæt en QFM LyoSphere-pellet aseptisk i 1 ml blod.

Tag hætten af blodprøvetagningsrøret.

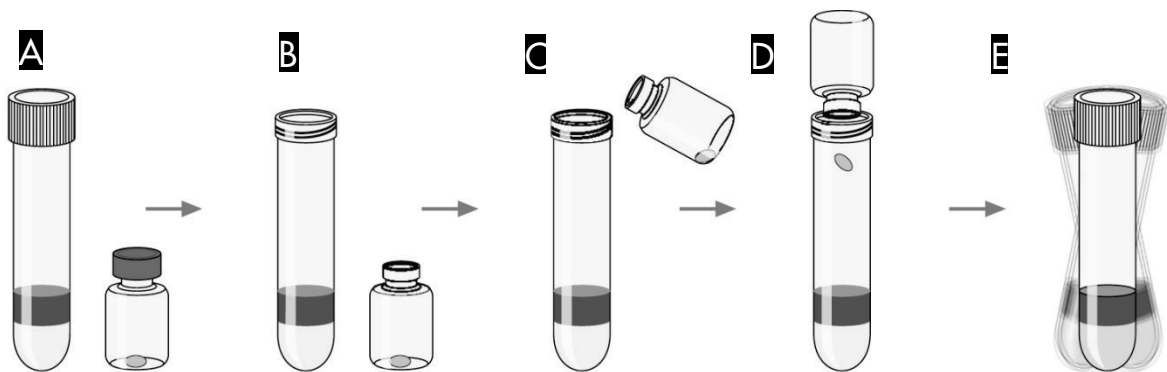
Bank QFM LyoSphere-hætteglasset forsigtigt mod en hård overflade for at sikre, at QFM LyoSphere-pellet'en ligger i bunden af hætteglasset. Tag hætten af QFM LyoSphere-hætteglasset ved først at fjerne metalforseglingshætten og derefter fjerne gummiproppen.

Lad forsigtigt QFM LyoSphere-pellet'en falde ned i 1 ml blodprøve ved at sætte kanten af hætteglasset mod kanten af QFM-blodprøvetagningsrøret og derefter forsigtigt vende hætteglasset for at overføre QFM LyoSphere-pellet'en til QFM-blodprøvetagningsrøret (se figur 1).

Vigtigt: Hvis QFM LyoSphere-pellet'en falder uden for QFM-blodprøvetagningsrøret, skal du bortskaffe den og åbne et andet QFM LyoSphere-hætteglas.

Vigtigt: QFM LyoSphere-hætteglasset må ikke stå åbent i længere tid ad gangen. QFM LyoSphere-pellet'en skal tilsættes i blodet, så snart du har taget hættten af glasset.

Hvis QFM LyoSphere-pellet'erne tilsættes i blod, som er opsamlet i QFM-blodprøvetagningsrøret, skal du sørge for, at rørhætteerne sættes på de korrekte prøver.



Figur 1. Tilsætning af QFM LyoSphere. **A** QFM-blodprøvetagningsrør og QFM LyoSphere-hætteglas. **B** Fjern hættten fra QFM-blodprøvetagningsrøret, og fjern metalforseglingen og gummiproppen fra QFM LyoSphere-hætteglasset. **C** Tilsæt straks QFM LyoSphere-pellet'en i blodet ved at sætte kanten af hætteglasset mod kanten af blodprøvetagningsrøret. **D** Derefter skal du forsigtigt vende hætteglasset for at overføre LyoSphere-pellet'en til prøvetagningsrøret **E** Sæt hættten på QFM-blodprøvetagningsrøret igen, og ryst det 5-10 gange.

6. Sæt hætte på QFM-blodprøvetagningsrøret, og ryst det 5-10 gange lige akkurat kraftigt nok til at sikre, at QFM LyoSphere-pellet'en er helt opløst. Hvis en QFM LyoSphere-pellet sidder fast på indersiden af røret, kan den opløses ved at dække LyoSphere-pellet'en med blod, mens røret vendes. Sørg for, at hæppen sættes på røret, når QFM LyoSphere-pellet'en er tilsat for at forhindre, at der utilsigtet tilsættes en anden LyoSphere-pellet i det samme rør.

Bemærk: Da QFM LyoSphere-pellet'en er hvid, kan den ikke længere ses i blodet, når den først er opløst.

Vigtigt: For kraftig rystning af rørene kan skabe gel-forstyrrelser og forårsage afvigende resultater.
7. Efter tilsætning og opløsning af QFM LyoSphere-pellet'en, skal QFM-blodprøvetagningsrørene overføres til en 37 ± 1 °C inkubator så hurtigt som muligt og inden for 8 timer efter blodprøvetagning.

Brugsvejledning

Stadie 1 – inkubering af blod og opsamling af plasma

Medfølgende materialer

- QFM-blodprøvetagningsrør (se "Komponenter og opbevaring", side 6)

Nødvendige materialer (som ikke medfølger)

- Se "Nødvendige materialer, som ikke medfølger", side 8.

Procedure

1. Inkuber QFM-blodprøvetagningsrørene, der indeholder 1 ml blod alikvoter, med en QFM LyoSphere-pellet STÅENDE ved 37 ± 1 °C i 16 til 24 timer.
Bemærk: Inkubatoren kræver ikke CO₂ eller fugt.

Efter inkubering kan QFM-blodprøvetagningsrørene opbevares ved 4 til 27 °C i op til 3 dage før centrifugering.

2. Efter inkubering opsamles plasmaet nemmere ved at centrifugere QFM-blodprøvetagningsrørene i 15 minutter ved 2000 til 3000 × *g* (RCF). Gelproppen skiller cellerne fra plasmaet. Hvis dette ikke sker, skal rørene centrifugeres igen.

Det er muligt at opsamle plasmaet uden centrifugering, men der kræves større forsigtighed for at fjerne plasmaet uden at hvirvle cellerne op.

3. Plasmaprøver bør kun opsamles ved brug af en pipette.

Vigtigt: Efter centrifugering skal det undgås at pipettere op og ned eller på nogen måde blande plasmaet inden opsamling. Pas til enhver tid på ikke at hvirvle materialet på gelens overflade op.

Plasmaprøverne kan overføres direkte fra centrifugerede QFM-blodprøvetagningsrør til QFM ELISA-pladen, også når der anvendes automatiserede ELISA-arbejdsstationer.

Plasmaprøver kan opbevares i op til 28 dage ved 2 til 8 °C eller, hvis de er opsamlet, under -20 °C i længere perioder. Alikvoter af opsamlede plasmaprøver skal forsegles før opbevaring.

Ved opsamling af plasma skal du opsamle mindst 150 µl plasma, så der er tilstrækkeligt til en eventuel gentagen test.

Mængden af IFN- γ i plasmaprøver kan ofte være over de øvre grænser for de fleste ELISA-læsere, selv for moderat immunsupprimerede personer. Det anbefales, at plasmaprøver fortyndes 1:10 og/eller 1:100 i grøn diluent

og analyseres i ELISA sammen med ufortyndet plasma (se Stadiet 2 – IFN- γ ELISA).

Stadie 2 – IFN- γ ELISA

Medfølgende materialer

- QuantiFERON Monitor 2 plade-kit ELISA (se "Komponenter og opbevaring", side 6)

Nødvendige materialer (som ikke medfølger)

- Se "Nødvendige materialer, som ikke medfølger", side 8.

Forberedelse

IFN- γ i plasma kan ofte ligge over de øvre grænser for de fleste ELISA-læsere, selv for moderat immunsupprimerede personer. Anbefalet: Fortynd plasma-prøver 1:10 og/eller 1:100 i grøn diluent, og analysér dem i ELISA sammen med ufortyndet plasma.

I situationer, hvor en patient kan være stærkt immunsupprimeret, kan forberedelse og analyse af en enkelt ufortyndet plasma-prøve være tilstrækkelig til at opnå et kvantitativt resultat.

Bemærk: Der skal bruges prøveresultater, som ligger inden for området for QFM ELISA (dvs. op til 10 IE/ml), til fortolkning af resultaterne. Den laveste fortynding, som genererer et resultat inden for området for QFM ELISA, skal bruges som det rapporterede resultat (der skal tages højde for fortyndingsfaktoren), hvis ufortyndet plasma ligger over området for QFM ELISA.

Procedure

1. Alle plasma-prøver og reagenser, bortset fra Conjugate 100x Concentrate (Konjugat 100x koncentrat), skal bringes til stuetemperatur (22 ± 5 °C) inden brug. Afsæt mindst 60 minutter til temperaturudligning.
2. Fjern de strips, der ikke er påkrævet, fra mikropladerammen, genforsegl dem i folieposen, og opbevar dem i køleskabet, indtil de skal bruges.

Anvend mindst én strip til QFM-standarderne og et tilstrækkeligt antal strips i forhold til det antal personer, der skal testes. Gem rammen og låget efter brug med henblik på brug sammen med de resterende strips.

3. Rekonstituer den frysetørrede IFN- γ Standard med det volumen deioniseret eller destilleret vand, som er angivet på etiketten på Standard-hætteglasset. Bland forsigtigt for at minimere skumdannelse og sikre fuldstændig genopløsning. Rekonstituering af Standard (Standarden) til det angivne volumen vil give en opløsning med en koncentration på 8,0 IE/ml.

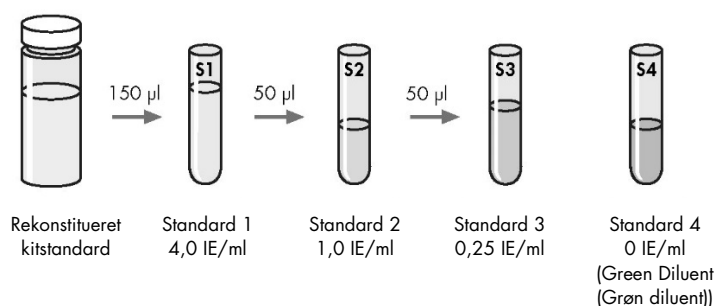
Vigtigt: Rekonstitueringsvolumen i IFN- γ Standard er forskellig for de forskellige batches. Læs etiketten på standardhætteglasset for at sikre, at du bruger det korrekte volumen af deioniseret eller destilleret vand.

Brug den rekonstituerede kit-standard til at producere en 1-i-2-fortyndingsserie efterfulgt af en 1-i-4-fortyndingsserie af IFN- γ i Green Diluent (Grøn diluent (GD)) (se figur 2). S1 (Standard 1) indeholder 4,0 IE/ml, S2 (Standard 2) indeholder 1,0 IE/ml, S3 (Standard 3) indeholder 0,25 IE/ml og S4 (Standard 4) indeholder 0 IE/ml (GD alene).

Standarderne skal som minimum analyseres med dobbeltbestemmelse. Fremstil friske fortyndinger af kitstandarden til hver ELISA-session.

Anbefalet procedure for standarder med dobbeltbestemmelse

- Mærk 4 rør "S1", "S2", "S3", "S4".
- Tilsæt 150 μ l GD i S1, S2, S3 og S4.
- Tilsæt 150 μ l af kitstandarden i S1, og bland grundigt.
- Overfør 50 μ l fra S1 til S2 og bland grundigt.
- Overfør 50 μ l fra S2 til S3 og bland grundigt.
- Green Diluent (Grøn diluent (GD)) alene fungerer som nulstandard (S4).



Figur 2. Forberedelse af standardkurve.

4. Rekonstituer frysetørret Conjugate 100x Concentrate (Konjugat 100x koncentrat) med 0,3 ml deioniseret eller destilleret vand. Bland forsigtigt for at minimere skumdannelse og sikre fuldstændig opløsning af konjugatet. Konjugat med brugsstyrke fremstilles ved at fortynde den påkrævede mængde rekonstitueret konjugat 100x koncentrat i Green Diluent (Grøn diluent) (tabel 1. Fremstilling af konjugat). Sæt ubrugt konjugat 100x koncentrat på køl igen ved 2 til 8 °C straks efter brug. Brug kun Green Diluent (Grøn diluent).

Tabel 1. Forberedelse af konjugat

Antal strips	Volumen af konjugat 100x koncentrat	Volumen af Green Diluent (Grøn diluent)
2	10 µl	1,0 ml
3	15 µl	1,5 ml
4	20 µl	2,0 ml
5	25 µl	2,5 ml
6	30 µl	3,0 ml
7	35 µl	3,5 ml
8	40 µl	4,0 ml
9	45 µl	4,5 ml
10	50 µl	5,0 ml
11	55 µl	5,5 ml
12	60 µl	6,0 ml

5. Plasmaprøver, der er opsamlet fra blodprøvetagningsrør og efterfølgende opbevaret eller nedfrosset, skal blandes, før de tilsættes i ELISA-brønden. Vigtigt: Hvis plasmaprøver tilføjes direkte fra de centrifugerede QFM-rør, skal en eventuel blanding af plasmaet undgås. Pas til enhver tid på ikke at hvirvle materialet på gelens overflade op.

6. Anbefalet: Fortynd plasmaprøver 1:10.
- Tilsæt 90 µl grøn diluent (GD) i et rør, som er mærket med patientens oplysninger og "1:10".
 - Tilsæt derefter 10 µl blandede plasmaprøver (se flere oplysninger i trin 5 om blandede plasmaprøver i forhold til dem, der tilsættes direkte fra centrifugerede QFM-rør).
 - Bland grundigt ved pipettering for at minimere skumdannelse.

7. Anbefalet: Fortynd plasmaprøver 1:100.
- Forbered en 1:10-fortynding (se trin 6 ovenfor).
 - Tilsæt 90 µl grøn diluent i et rør, som er markeret med patientens oplysninger og "1:100".
 - Tilsæt 10 µl af 1:10-fortyndingen.
 - Bland grundigt ved pipettering for at minimere skumdannelse.

Anbefalet: Test følgende prøver parallelt og i denne rækkefølge:

- Ufortyndet, 1:10, 1:100

Følgende patientprøvemuligheder understøttes også af QFM-analyse-softwaren:

- Ufortyndet
- 1:10
- 1:100
- 1:10, 1:100
- Ufortyndet, 1:10

8. Tilsæt 50 µl friskfremstillet konjugat med brugsstyrke til de påkrævede ELISA-brønde ved brug af en flerkanalspipette.
9. Tilsæt 50 µl testplasmaprøve til de relevante brønde ved hjælp af en flerkanalspipette. Tilsæt derefter 50 µl af hver standard 1 til 4. Analysér standarderne i duplikeret form.
10. Dæk hver plade med et låg, og bland konjugatet og plasmaprøver/standarder grundigt ved brug af en mikropladeryster i 1 minut. Undgå sprøjt.
11. Inkuber ved stuetemperatur (22 ± 5 °C) i 120 ± 5 minutter.
Pladerne bør ikke udsættes for direkte sollys under inkuberingen.

12. Mens inkuberingen foregår, fortyndes 1 del Wash Buffer 20x Concentrate (Vaskebuffer 20x koncentrat) med 19 dele deioniseret eller destilleret vand, hvorpå det blandes grundigt. Der er leveret tilstrækkeligt Wash Buffer 20x Concentrate (Vaskebuffer 20x koncentrat) til fremstilling af 2 liter vaskebuffer med brugsstyrke.

Vask brøndene med 400 µl vaskebuffer med brugsstyrke i mindst 6 cykler i en mikropladevasker. Det anbefales at benytte en automatiseret pladevasker.

Grundig vask er meget vigtig for analysens ydeevne. Sørg for, at alle brønde er helt fyldte med vaskebuffer i hver eneste vaskecyklus. Anbefalet: Lad brøndene stå i blød i mindst 5 sekunder mellem hver cyklus for at opnå de bedste resultater.

Tilsæt laboratoriedesinfektionsmiddel af standardtypen til spildevandsreservoiret, og følg de fastlagte procedurer for dekontaminering af potentielt infektiøst materiale.
13. Bank pladerne let med oversiden nedad mod et frugfrit absorberende klæde for at fjerne resterende vaskebuffer. Tilsæt 100 µl Enzyme Substrate Solution (Enzymsubstratopløsning) til hver brønd, dæk hver plade med et låg, og bland grundigt ved brug af en mikropladeryster.
14. Inkuber ved stuetemperatur (22 ± 5 °C) i 30 minutter.

Pladerne bør ikke udsættes for direkte sollys under inkuberingen.
15. Efter inkubering skal du tilsætte 50 µl Enzyme Stopping Solution (Enzymstandsningsopløsning) i alle brønde og blande dem grundigt ved hjælp af en mikropladeryster.

Enzyme Stopping Solution (Enzymstandsningsopløsning) bør tilsættes i brøndene i samme rækkefølge og med ca. samme hastighed, som bruges ved tilsætning af Enzyme Substrate Solution (Enzymsubstratopløsning) i trin 13.
16. Mål Optical Density (OD, Optisk densitet) inden for 5 minutter efter standsning af reaktionen ved brug af en mikropladelæser forsynet med et 450 nm filter og et 620 nm til 650 nm referencefilter. OD-værdier anvendes til beregning af resultater.

Beregninger og testfortolkning

Der anvendes QuantiFERON Monitor-analysesoftware til at analysere rådata og beregne resultater. Den er tilgængelig fra www.QuantiFERON.com. Sørg for at anvende den seneste version af QuantiFERON Monitor-analysesoftwaren.

Softwaren udfører en kvalitetskontrolvurdering af analysen, genererer en standardkurve og leverer et testresultat for hver patient, som beskrevet i afsnittet Fortolkning af resultater.

Hvis ufortyndet plasma ligger over det øvre område (dvs. > 10 IE/ml) for QFM ELISA, rapporterer QuantiFERON Monitor-analysesoftwaren den laveste fortynding, der genererer et resultat inden for området for QFM ELISA, når der tages højde for fortyndingsfaktoren.

Som alternativ til brug af QuantiFERON Monitor-analysesoftwaren kan resultaterne bestemmes med følgende metode.

Generering af standardkurve

(Hvis QuantiFERON Monitor-analysesoftwaren ikke anvendes)

Bestem de gennemsnitlige OD-værdier for kitstandardens replikater på hver plade.

Konstruer en $\log_{(e)}$ - $\log_{(e)}$ -standardkurve ved at afbilde $\log_{(e)}$ af den gennemsnitlige OD (y-akse) mod $\log_{(e)}$ af IFN- γ -koncentrationen i standarderne i IE/ml (x-akse), idet nulstandard udelades fra disse beregninger. Beregn den bedst tilpassede linje for standardkurven ved regressionsanalyse.

Benyt standardkurven til at bestemme IFN- γ -koncentrationen (IE/ml) for hver af testplasmaprøverne ved brug af OD-værdien for hver prøve.

Disse beregninger kan udføres ved brug af de softwarepakker, der følger med mikropladelæsere og standardregnearks- eller statistiksoftware (såsom Microsoft® Excel®). Det anbefales, at disse pakker anvendes til at beregne regressionsanalysen, variationskoefficienten (%CV) for standarderne og korrelationskoefficienten (r) for standardkurven.

Det rapporterede resultat skal tages fra den laveste fortynding, som genererer et resultat inden for området for QFM ELISA (hvis der tages højde for fortyndingsfaktoren), hvis den fortyndede plasma ligger over området for QFM ELISA.

Kvalitetskontrol af testen

Testresultaternes nøjagtighed afhænger af generering af en nøjagtig standardkurve. Derfor skal resultater for standarderne undersøges, inden testprøveresultaterne kan fortolkes.

Følgende er nødvendigt, for at ELISA er gyldig:

- Den gennemsnitlige OD-værdi for Standard 1 skal være $\geq 0,600$.
- %CV for replikat-OD-værdierne for Standard 1 og Standard 2 skal være $\leq 15\%$.
- Replikat-OD-værdierne for Standard 3 og Standard 4 må ikke variere med mere end 0,040 OD-enheder i forhold til deres gennemsnit.
- Den ud fra de gennemsnitlige absorbansværdier for standarderne beregnede korrelationskoefficient (r) skal være $\geq 0,98$.

QuantiFERON Monitor-analysesoftwaren beregner og rapporterer disse kvalitetskontrolparametre.

Hvis ovennævnte kriterier ikke er opfyldt, er kørslen ugyldig og skal gentages.

Den gennemsnitlige OD-værdi for Zero Standard (Green Diluent) [Nullstandarden (Grøn diluent)] bør være $\leq 0,150$. Hvis den gennemsnitlige OD-værdi er $> 0,150$, bør pladevaskeproceduren undersøges nærmere.

Fortolkning af resultater

QFM-resultater fortolkes ud fra IFN- γ -responsen på medfødte og adaptive immunstimulerende midler. QFM-analysen giver en både kvalitativ og kvantitativ måling af immunfunktionen. QFM-resultater kan ikke direkte kvantificere niveauet af immunsuppression.

Vigtigt: Ved fastlæggelse af en persons immunstatus skal det målte IFN- γ -niveau bruges sammen med den kliniske præsentation, sygehistorien og andre diagnostiske evalueringer (tabel 2). Tærsklen for QFM-testen kan variere afhængigt af personens grad af immunsuppression og de individuelle transplantationsforhold.

Tabel 2. Fortolkning af resultater

QFM-resultatets IFN- γ (IE/ml)	Klassifikation	Fortolkning
< 15	Lav	Personen har lav IFN- γ -respons på medfødte og adaptive immunstimulerende midler
15-1000	Moderat	Personen har moderat IFN- γ -respons på medfødte og adaptive immunstimulerende midler
> 1000	Høj	Personen har høj IFN- γ -respons på medfødte og adaptive immunstimulerende midler

Hvis det målte IFN- γ -niveau i en ufortyndet plasmaoprøve er under 0,1 IE/ml:

- Kontrollér, at QFM LyoSphere-pellet'en blev tilsat i blodoprøven, og at røret blev inkuberet som anvist i denne indlægsseddel.
- Kontrollér, at IFN- γ -resultatet svarer til den aktuelle kliniske status for personen.

Hvis der er mistanke om tekniske problemer med indsamling eller håndtering af blodoprøve, gentages hele QFM-analysen med en ny blodoprøve. Gentag ELISA-testen af stimulerede plasmaoprøve, hvis der er mistanke om, at den originale test afvigede fra den procedure, der er beskrevet i denne indlægsseddel (se flere oplysninger i afsnittet Kvalitetskontrol af testen).

Lægen kan vælge at gentage testen, hvis resultaterne ikke stemmer overens med den aktuelle kliniske status for personen.

Begrænsninger

Resultaterne af QFM-testen skal anvendes i sammenhæng med hver enkelt persons kliniske historie, aktuelle helbredstilstand og andre diagnostiske vurderinger. Laboratorier kan vælge at fastlægge deres egne områder for analysen.

Laboratorier kan også vælge at køre en ekstern kontrolprøve, som er indsamlet fra en rask person, parallelt med patientprøver.

Upålidelige eller unøjagtige resultater kan forekomme som følge af:

- Forkert blodantikoagulant – brug kun lithium-heparin, da andre antikoagulantia kan påvirke analysen.
- Afvigelser fra den procedure, der er beskrevet i denne indlægsseddel.
- For høje niveauer af cirkulerende IFN- γ eller tilstedeværelsen af heterofile antistoffer.
- Mere end 8 timer mellem blodprøvetagningen og inkuberingen ved 37 °C.
- Under- eller overfyldning af QFM-blodprøvetagningsrørene i forhold til området 0,9 til 1,1 ml.

Ydelsesegenskaber

Kliniske undersøgelser

Der blev udført to kliniske undersøgelser til vurdering af responsen hos tilsyneladende raske personer (n = 114) i forhold til transplanterede patienter (n = 30). Ud af de transplanterede patienter var 18 i gruppen af nyligt transplanterede (Early Post-Tx, inden for 3 måneder efter transplantation), og 12 havde haft transplantatet i længere tid eller var stabile (Late Post-Tx, > 12 måneder efter transplantation).

- Prøverne blev indsamlet på op til 5 tidspunkter fra hver person for Early Post-Tx (3 måneder efter transplantation, n = 64 prøver).
- Prøverne blev indsamlet 1 gang fra hver person for Late Post-Tx (12 måneder efter transplantation, n = 12 prøver).
- Prøverne blev indsamlet 1 gang fra hver person i gruppen af tilsyneladende raske personer (n = 114).

Responser på QFM lå mellem lav og moderat i både Early Post-Tx-prøver og Late Post-Tx-prøver. Early Post-Tx havde en højere procentdel (93,8 %) af responser inden for det lave område og en lavere procentdel af responser

(6,3 %) inden for det moderate område sammenlignet med Late Post-Tx, hvor 25 % af responserne var i det lave område, og 66,7 % var i det moderate område (tabel 3). Ingen responser i Early Post-Tx var i området med høj respons, og kun 1 (8,3 %) respons i Late Post-Tx-prøverne var i området med høj respons. QFM-responser i gruppen af de tilsyneladende raske personer var hovedsageligt i det moderate område (83,3 %) og området med høj respons (15,8 %) (tabel 3).

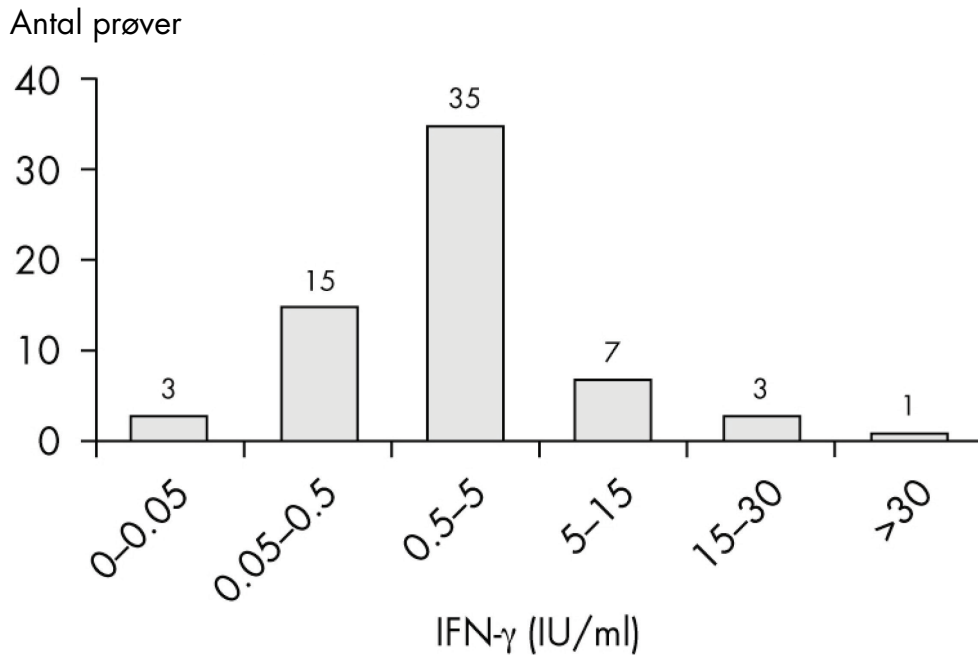
Tabel 3. QFM-responsområdet hos de tilsyneladende raske personer i forhold til transplanterede patienter

IFN- γ (IE/ml)	Resultat-kategori	Early Post-Tx %* 95 % CI n	Late Post-Tx %* 95 % CI n	Tilsyne-ladende rask %* 95 % CI n	Samlede resultater
< 15	Lav	93,8 % 85,0-97,5 n = 60	25,0 % 8,9-53,2 n = 3	0,9 % 0,2-4,8 n = 1	64
15-1000	Moderat	6,3 % 2,5-15,0 n = 4	66,7 % 39,1-86,2 n = 8	83,3 % 75,4-89,1 n = 95	107
> 1000	Høj	0,0 % 0-5,7 n = 0	8,3 % 1,5-35,4 n = 1	15,8 % 10,2-23,6 n = 18	19
Prøver i alt		64	12	114	190

* Procentdelene angiver fordelingen af prøver inden for hver donorgruppe, som falder inden for det bestemte responsområde.

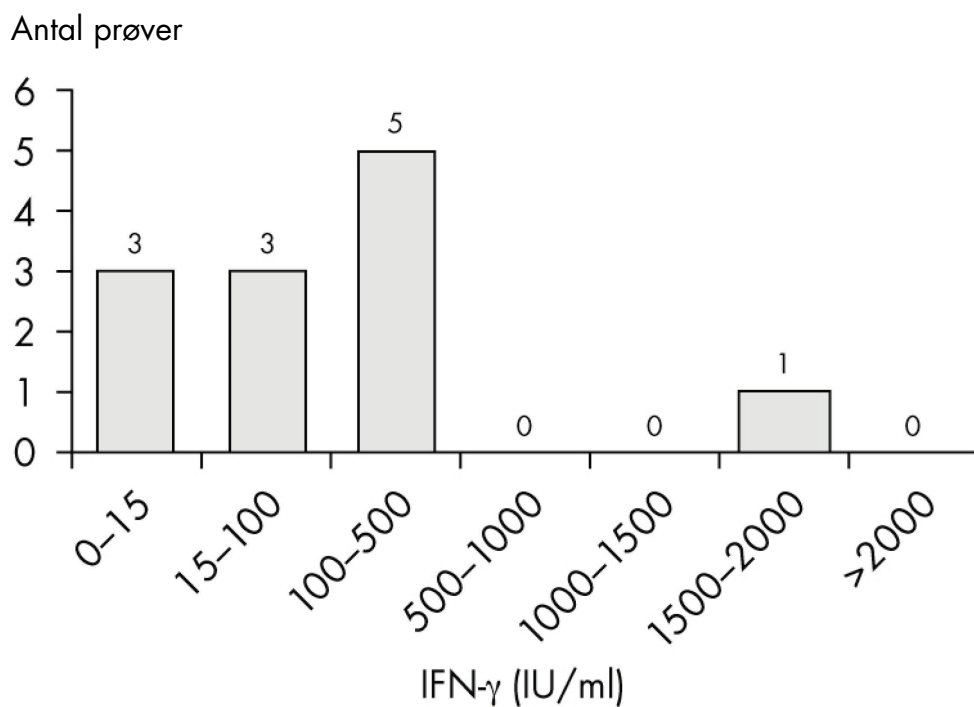
Forventede værdier

Fordelingen af IFN- γ -respons på QFM hos nyligt transplanterede patienter (op til 3 måneder efter transplantation), blev bestemt på baggrund af 64 prøver, som var indsamlet fra 18 transplanterede patienter ved hjælp af QFM ELISA (figur 3).



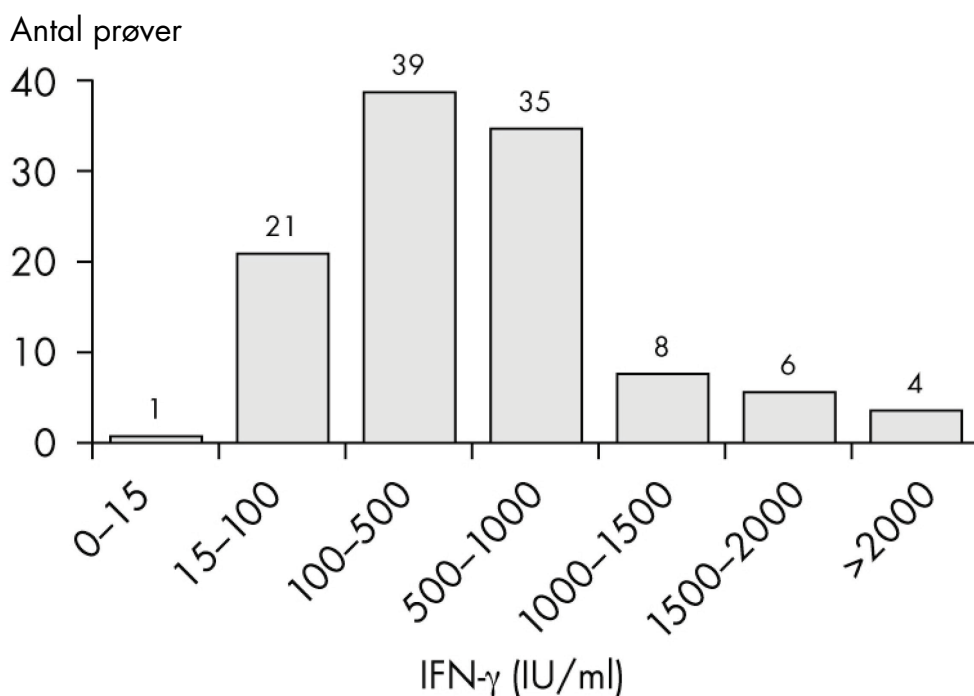
Figur 3. Fordelingen af QFM IFN- γ -respons hos nyligt transplanterede patienter (n = 64; median = 1,5 IE/ml).

Fordelingen af IFN- γ -respons på QFM hos patienter med transplantater gennem længere tid (> 12 måneder efter transplantationen) blev bestemt på baggrund af 12 prøver ved hjælp af QFM ELISA (figur 4).



Figur 4. Fordelingen af QFM IFN- γ -respons hos patienter med transplantater i længere tid (n = 12; median = 98,8 IE/ml).

Fordelingen af IFN- γ -respons på QuantiFERON Monitor hos tilsyneladende raske personer blev bestemt på baggrund af 114 prøver ved hjælp af QFM ELISA (figur 5).



Figur 5. Fordelingen af QFM IFN- γ -respons hos tilsyneladende raske personer (n = 114; median = 400,5 IE/ml).

QFM-responser hos patienter med hele organtransplantater

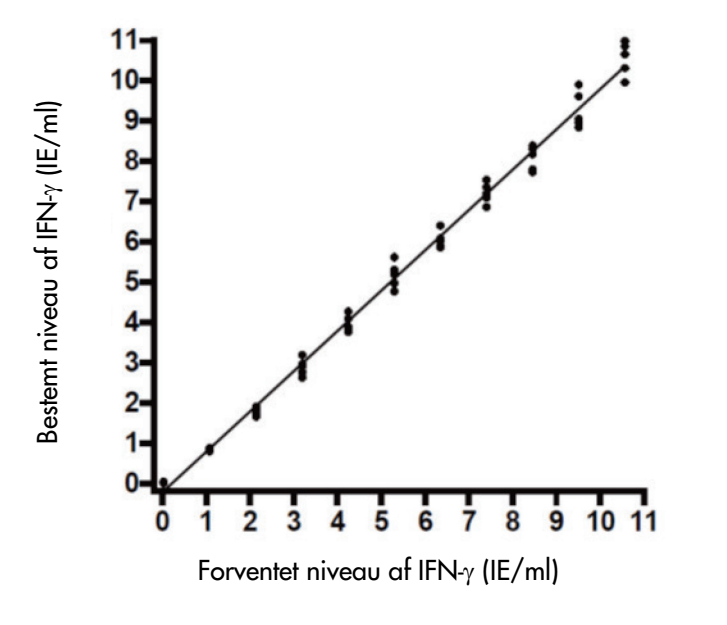
QFM blev vurderet i en observationel tværsnitsundersøgelse af patienter med hele organtransplantater (4). Undersøgelsen omfattede: 212 raske personer med en undergruppe af 30 alders- og kønssvarende kontroller, 30 præ-transplanterede patienter, 18 nyligt transplanterede patienter (66 prøver, mediantid efter transplantation = 21 dage) og 11 patienter med transplantater i længere tid (mediantid efter transplantation=2290 dage). Den gennemsnitlige IFN- γ -produktion var 555,2 IE/ml blandt de raske kontroller og 614,6 IE/ml blandt de alders- og kønssvarende kontroller. Den gennemsnitlige IFN- γ -produktion viste sig at være betydeligt lavere hos både præ-transplanterede (IFN- γ = 89,3 IE/ml) og patienter med nylig transplantation (IFN- γ = 3,76 IE/ml) sammenlignet med de alders- og kønssvarende kontroller ($p < 0,001$).

Genoprettelsen af immunfunktionen hos patienter med transplantater i længere tid (gennemsnitlig IFN- γ = 256,1 IE/ml) blev observeret og viste sig at være betydeligt højere end hos nyligt transplanterede patienter ($p < 0,05$). Denne undersøgelse indikerer, at QFM kan bruges til at vurdere den cellemedierede immunfunktion hos den immunsupprimerede population med hele organtransplantater.

Analysens ydelseskarakteristika

QFM ELISA har vist sig at være lineær ved at placere 5 replikater af 11 plasma-pools med kendte IFN- γ -koncentrationer tilfældigt på ELISA-pladen. Den lineære regressionslinje har en hældning på $1,002 \pm 0,011$ og en korrelationskoefficient på 0,99 (figur 6).

Påvisningsgrænsen for QFM ELISA er 0,065 IE/ml, og der er ikke noget tegn på en prozoneeffekt ("højdosiskrogeffekt") for koncentrationer af IFN- γ på op til 10.000 IE/ml.



Figur 6. Linearitetsprofil for QFM ELISA bestemt ud fra test af 5 replikater af 11 plasma-prøver med kendte IFN- γ -koncentrationer.

Reproducerbarheden i QFM-analysen (trin 1) blev bestemt ved hjælp af blodprøver fra 20 sunde personer. Tre forskellige operatører, QFM LyoSphere-lot og udstyrssæt blev vurderet. Den gennemsnitlige variationskoefficient for IFN- γ -responsniveauerne blev bestemt ved hjælp af QFM ELISA i alle tre lot med QFM LyoSpheres, og alle tre forhold, der blev testet, var 22,22 % (95 % CI: 17,20-27,25).

Reproducerbarheden af QFM-analysen (trin 1) blev vurderet ved at måle variationen i 5-6 gentagne QFM LyoSphere-blodstimulationer inden for den samme donor blandt 14 personer. Den gennemsnitlige variationskoefficient blandt de 14 testede personer var 14,7 % (95 % CI: 10,2-19,2). % CV for enkelte personer var under 30 %.

Reproducerbarheden af QFM ELISA (trin 2) blev vurderet ved at teste 20 plasma-prøver med varierende IFN- γ -koncentrationer med tredobbelt

bestemmelse, på 3 laboratorier, på 3 ikke-fortløbende dage og udført af 3 operatører. Hver prøve blev således testet 27 gange og i 9 uafhængige analysekørsler. Den ene prøve var en negativ kontrol og havde en beregnet IFN- γ -koncentration på 0,08 IE/ml (95 % CI: 0,07-0,09). Ud af de resterende 19 plasmaprøver var koncentrationsområdet 0,33 (95 % CI: 0,31-0,34) til 7,7 IE/ml (95 % CI: 7,48-7,92).

Unøjagtigheden inden for en kørsel eller analyse blev estimeret ved at beregne gennemsnittet af %CV-værdierne for hver testplasma med IFN- γ fra hver pladekørsel ($n = 9$), som lå fra 4,1 til 9,1 % CV. Inden for en kørsel var %CV-gennemsnittet (± 95 % CI) $6,6 \% \pm 0,6 \%$. Gennemsnittet af plasma uden IFN- γ var 14,1 % CV.

Unøjagtigheden samlet set eller mellem analyser blev bestemt ved at sammenligne de 27 beregnede koncentrationer af IFN- γ for hver plasmaprøve. Unøjagtigheden mellem analyser lå fra 6,6 til 12,3 % CV. Samlet set var %CV-gennemsnittet (± 95 % CI) $8,7 \pm 0,7 \%$. For plasma uden IFN- γ var resultatet 26,1 % CV. Dette variationsniveau er forventeligt, fordi den beregnede koncentration af IFN- γ er lav, og variationen omkring et lavt koncentrations-estimat vil være større end den for højere koncentrationer.

Teknisk information

Koagulerede plasmaprøver

Hvis der opstår fibrinkoagulerer ved længere opbevaring af plasmaprøver, skal prøverne centrifugeres til bundfældet koaguleret materiale og lette pipetteringen af plasma.

Fejlfindingsvejledning

Denne fejlfindingsvejledning kan være nyttig til at afhjælpe eventuelle problemer. For yderligere information henvises også til Technical Information (Teknisk information) på: www.QuantiFERON.com. Se kontaktoplysninger på bagsiden.

Fejlfinding af ELISA

Uspecifik farveudvikling

Mulig årsag	Løsning
a) Ufuldstændig vask af pladen	Vask pladen mindst 6 gange med 400 µl vaskebuffer pr. brønd. Alt efter hvilken vaskemaskine, der anvendes, kan der være behov for mere end 6 vaskecyklusser. Der bør være en iblødsætningsperiode på mindst 5 sekunder mellem hver cyklus.
b) Krydskontaminering af ELISA-brønde	Vær forsigtig ved pipettering og blanding af prøver for at minimere risici.
c) Kittets/komponenternes udløbsdato er overskredet	Sørg for, at kittet anvendes inden udløbsdatoen. Sørg for, at rekonstitueret standard og Conjugate 100x Concentrate (Konjugat 100x koncentrat) anvendes inden for 3 måneder efter rekonstitueringsdatoen.
d) Kontamineret Enzyme Substrate Solution	Bortskaf substratet, hvis der er blåfarvning. Sørg for, at der anvendes rene reagensreservoirer.
e) Blanding af plasma i QFM-rør inden opsamling	Efter centrifugering skal det undgås at pipettere op og ned eller på nogen måde blande plasmaet inden opsamling. Pas til enhver tid på ikke at hvirvle materialet på gelens overflade op.

Lave aflæsningsværdier for optisk densitet for standarder

Mulig årsag	Løsning
a) Fejl ved fortynding af standard	Sørg for, at fortyndingerne af kitstandarden forberedes korrekt i henhold til denne indlægsseddel.
b) Pipetteringsfejl	Sørg for, at pipetterne kalibreres og anvendes i henhold til producentens instruktioner.

Fejlfinding af ELISA

- | | |
|---|---|
| c) For lav inkuberings-temperatur | Inkubering af ELISA bør ske ved stuetemperatur (17 til 27 °C). |
| d) For kort inkuberingstid | Inkuber pladen med konjugatet, standarderne og prøverne i 120 ± 5 minutter. Inkuber Enzyme Substrate Solution (Enzymsubstratopløsning) på pladen i 30 minutter. |
| e) Brug af forkert plade-læserfilter | Pladen bør aflæses ved 450 nm med et referencefilter mellem 620 og 650 nm. |
| f) For kolde reagenser | Alle reagenser, med undtagelse af Conjugate 100x Concentrate (Konjugat 100x koncentrat), skal bringes til stuetemperatur inden påbegyndelse af analysen. Dette tager ca. én time. |
| g) Kittets/komponenternes udløbsdato er overskredet | Sørg for, at kittet anvendes inden udløbsdatoen. Sørg for, at rekonstitueret standard og Conjugate 100x Concentrate (Konjugat 100x koncentrat) anvendes inden for 3 måneder efter rekonstitueringsdatoen. |

Høj baggrund

Mulig årsag

Løsning

- | | |
|---|--|
| a) Ufuldstændig vask af pladen | Vask pladen mindst 6 gange med 400 µl vaskebuffer pr. brønd. Alt efter hvilken vaskemaskine, der anvendes, kan der være behov for mere end 6 vaskecyklusser. Der bør være en iblødsætningsperiode på mindst 5 sekunder mellem hver cyklus. |
| b) For høj inkuberings-temperatur | Inkubering af ELISA bør ske ved stuetemperatur (17 til 27 °C). |
| c) Kittets/komponenternes udløbsdato er overskredet | Sørg for, at kittet anvendes inden udløbsdatoen. Sørg for, at rekonstitueret standard og Conjugate 100x Concentrate (Konjugat 100x koncentrat) anvendes inden for tre måneder efter rekonstitueringsdatoen. |
| d) Kontamineret Enzyme Substrate Solution | Bortskaf substratet, hvis der er blåfarvning. Sørg for, at der anvendes rene reagensreservoirer. |

Fejlfinding af ELISA

Ikke-lineær standardkurve og variabilitet i dobbeltbestemmelse

Mulig årsag	Løsning
a) Ufuldstændig vask af pladen	Vask pladen mindst 6 gange med 400 µl vaskebuffer pr. brønd. Alt efter hvilken vaskemaskine, der anvendes, kan der være behov for mere end 6 vaskecyklusser. Der bør være en iblødsætningsperiode på mindst 5 sekunder mellem hver cyklus.
b) Fejl ved fortynding af standard	Sørg for, at fortyndingerne af standarden forberedes korrekt i henhold til denne indlægsseddel.
c) Dårlig blanding	Bland reagenserne grundigt ved at vende dem eller forsigtigt vortexe dem, før de tilsættes pladen.
d) Inkonsekvent pipetteringsteknik eller afbrydelse under opsætningen af analysen	Prøven og standardtilsætningen skal udføres kontinuerligt. Alle reagenser skal forberedes, før analysen påbegyndes.

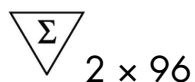
Produktoplysninger og tekniske vejledninger kan fås hos QIAGEN via din forhandler eller ved at besøge www.QuantiFERON.com.

Referencer

Der findes en omfattende liste over QFM-referencer på Gnowee – QuantiFERON-referencesamlingen på www.gnowee.net.

1. Abbas, A.K., Lichtman, A.H., and Pillai, S. (2012) *Cellular and Molecular Immunology*. 7th ed. Philadelphia: Elsevier/Sanders.
2. Fernández-Ruiz, M., Kumar, D., and Humar, A. (2014) Clinical immune-monitoring strategies for predicting infection risk in solid organ transplantation. *Clin. Transl. Immunol.* 3, e12.
3. Sood, S. and Testro, A.G. (2014) Immune monitoring post liver transplant. *World J. Transplant.* 4, 30.
4. Sood, S. (2014) A novel biomarker of immune function and initial experience in a transplant population. *Transpl. J.* 97, e50.

Symboler



Tilstrækkeligt til 2 x 96 prøveforberedelse



Ansvarlig producent



CE-IVD-symbol



Til in vitro-diagnostisk brug



Batchkode



Katalognummer



Anvendes inden



Temperaturbegrænsning



Se de informationer, der er angivet i håndbogen



Må ikke genbruges



Opbevares uden for sollys



Autoriseret repræsentant i EF

Kontaktoplysninger

For teknisk bistand og yderligere oplysninger henvises til vores gratisnummer 00800-22-44-6000, se vores tekniske supportcenter på www.qiagen.com/contact, eller kontakt en af QIAGENs tekniske serviceafdelinger (se bagsiden, eller besøg www.qiagen.com).

Forkortet testprocedure

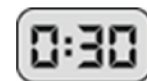
Stadie 1 – inkubering af blod

1. Patientens blod opsamles i enten et QFM-blodprøvetagningsrør eller et blodprøvetagningsrør med lithium-heparin. Mærk rørene med patientens oplysninger og tidspunktet for blodprøvetagningen. Derefter transporteres de til laboratoriet under stuetemperatur inden for 8 timer efter prøvetagningen.
 - a. Hvis blodet blev opsamlet i et blodprøvetagningsrør med lithium-heparin, tilsættes 1 ml blod i et QFM-blodprøvetagningsrør, og røret markeres med patientens oplysninger og tidspunktet for blodprøvetagningen.
2. Tilsæt 1 QFM LyoSphere-pellet i hvert QFM-blodprøvetagningsrør, der indeholder 1 ml blod, opløs LyoSphere-pellet'en, og inkuber derefter rørene så hurtigt som muligt (inden for 8 timer efter blodprøvetagningen) stående i 16-24 timer ved 37 °C.
3. Efter inkubering centrifugeres rørene i 15 minutter ved 2000 til 3000 × g (RCF) for at skille plasmaet og de røde celler.
4. Efter centrifugering skal det undgås at pipettere op og ned eller på nogen måde blande plasmaet inden opsamling. Pas til enhver tid på ikke at hvirvle materialet på gelens overflade op.



Stadie 2 – IFN- γ ELISA

1. Lad ELISA-komponenterne, med undtagelse af Conjugate 100 \times Concentrate (Konjugat 100 \times koncentrat), temperaturudligne til stuetemperatur. Det tager mindst 60 minutter.
2. Rekonstituer kitstandarden til 8,0 IE/ml med destilleret eller deioniseret vand. Fremstil 4 standardfortyndinger.
3. Rekonstituer frysetørret Conjugate 100 \times Concentrate med destilleret eller deioniseret vand.
4. Fremstil konjugat med brugsstyrke i Green Diluent (Grøn diluent), og tilsæt 50 μ l til alle brønde.
5. Tilsæt 50 μ l testplasmaoprøver (ufortyndet, 1:10 og 1:100 fortyndinger efter behov) og 50 μ l standarder i de relevante brønde. Bland ved brug af en ryster.
6. Inkuber i 120 \pm 5 minutter ved stuetemperatur.
7. Vask brøndene mindst 6 gange med 400 μ l vaskebuffer pr. brønd.
8. Tilsæt 100 μ l Enzyme Substrate Solution (Enzymsubstratopløsning) til brøndene. Bland ved brug af en ryster.
9. Inkuber i 30 minutter ved stuetemperatur.
10. Tilsæt 50 μ l Enzyme Stopping Solution (Enzymstandsningsopløsning) til alle brønde. Bland ved brug af en ryster.
11. Aflæs resultater ved 450 nm med et 620 til 650 nm referencefilter.
12. Analysér resultaterne.



Noter

Væsentlige ændringer

Væsentlige ændringer i denne udgave af indlægssedlen til QuantiFERON Monitor® (QFM®) ELISA er opsummeret i tabellen nedenfor:

Afsnit	Side	Ændring(er)
Forholdsregler	11	Ny GHS-information
Forholdsregler	12	Der er blevet tilføjet sikkerhedsanvisninger med relation til hætteglas med metalforsegling.

Varemærker: QIAGEN®, QFM®, QuantiFERON®, QuantiFERON Monitor® (QIAGEN Gruppen); LyoSphere™, LyoSpheres™ (BioLymph); Excel®, Microsoft® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.).

Begrænset licensaftale for QuantiFERON Monitor-kit

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger af produktet accepterer følgende vilkår:

1. Produktet må kun anvendes i overensstemmelse med protokoller leveret med produktet og denne håndbog og kun med de komponenter, der er i kittet. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkludere komponenterne i dette kit med komponenter, der ikke er inkluderet i dette kit, undtagen som beskrevet i de protokoller, der følger med produktet, denne håndbog og andre protokoller, der er tilgængelige på www.qiagen.com. Nogen af disse andre protokoller er stillet til rådighed af QIAGEN-brugere for QIAGEN-brugere. Disse protokoller er ikke grundigt testet eller optimeret af QIAGEN. QIAGEN hverken garanterer for dem eller for, at de ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for, at dette kit, og/eller brugen af det, ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette kit og dets komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, genoprettes eller videresælges.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af kittet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt der kunne føre til, eller fremme, handlinger der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale ved enhver domstol og vil inddrive alle undersøgelses- og retsomsomkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med kittet og/eller komponenterne deri.

For opdaterede licensbetingelser henvises til www.qiagen.com.

© 2014 QIAGEN. Alle rettigheder forbeholdes.

www.qiagen.com

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgium ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

Canada ■ techservice-ca@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ■ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ■ techservice-nordic@qiagen.com

France ■ techservice-fr@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Ireland ■ techservice-uk@qiagen.com

Italy ■ techservice-it@qiagen.com

Japan ■ techservice-jp@qiagen.com

Korea (South) ■ techservice-kr@qiagen.com

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ■ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ■ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ■ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

UK ■ techservice-uk@qiagen.com

