


Mars 2018


Pakningsvedlegg for QuantiFERON Monitor[®] (QFM[®]) ELISA 2 x 96

IFN- γ -testen med fullblod måler responser på naturlige
og adaptive immunstimulanter

Versjon 1

 Til bruk i in vitro-diagnostikk



 0650-0201



QIAGEN, 19300 Germantown Road

Germantown, MD 20874, USA

 QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1

40724 Hilden, TYSKLAND

1079024NO Rev. 03

 www.QuantiFERON.com



www.QuantiFERON.com

Innhold

Tiltenkt bruk	4
Sammendrag og forklaring av testen	4
Analyseprinsipp	5
Tiden som er nødvendig for utføre analysen	6
Komponenter og oppbevaring	6
Materialer som er nødvendige (men som ikke medfølger)	8
Oppbevaring og håndtering	8
Advarsler og forholdsregler	10
Advarsler	10
Forholdsregler	11
Prøvetaking og -klargjøring	13
Bruksanvisning	16
Beregninger og tolkning av tester	22
Fremstilling av standardkurve	22
Kvalitetskontroll av testen	23
Tolkning av resultater	23
Begrensninger	25
Ytelseskarakteristikker	25
Kliniske studier	25
Analysens ytelseskarakteristika	30
Teknisk informasjon	31
Koagulerte plasmaprøver	31
Feilsøkingsveiledning	32
Referanser	34
Symboler	35
Kontaktinformasjon	35
Forkortet testprosedyre	36

Tiltenkt bruk

QuantiFERON Monitor-analysen (QFM) er en in vitro-diagnostisk test som brukes til å påvise cellemediert immunfunksjon ved å måle interferon-gamma (IFN- γ) i plasma ved hjelp av enzymkoblet immunsorbent analyse (ELISA) etter inkubasjon av heparinisert fullblod med naturlige og adaptive immunresponsstimulanter. Analysen brukes til å detektere cellemediert immunrespons i en immunsupprimert populasjon med solid organtransplantasjon.

QFM skal brukes i forbindelse med risikovurdering og andre medisinske og diagnostiske vurderinger.

Sammendrag og forklaring av testen

Immundefekt er karakterisert av en redusert evne til å bygge opp immunresponsen på en effektiv måte. Den utsatte eller manglende immunresponsen kan skyldes en primær eller ervervet (sekundær) immundefekt (1).

Primære immundefekter er genetisk arvet og kjennetegnes av defekter i viktige deler av det adaptive eller naturlige immunforsvaret (1). De fleste immundefekter er imidlertid ervervet (sekundære) og kan indueres av patogene agens, legemidler (f.eks. immunsuppressiv behandling etter en organtransplantasjon), sykdommer (f.eks. kreft av typen leukemi og lymfom), eller miljøbetingede kontaminanter (1).

Det molekylære grunnlaget for immundefekt er variert, men cellemediert immunitet spiller en viktig rolle for å indusere mange av de observerte kliniske tegnene. I dag avhenger diagnose og behandling av immundefektsyndromer av kausalitet (2, 3).

Ad hoc-behandling er normen ved overvåking av cellulær immundefektstatus til personer som har vært gjennom solid organtransplantasjon (SOT) og som bruker legemidler for å supprimere immunforsvaret. Statusen til pasientens immunrespons måles normalt ved å overvåke nivåer av farmakologisk legemiddel og foreta en klinisk/patologisk vurdering av graftfunksjon (2, 3).

Flere T-cellefunksjonstester måler cellemediert immunitet til mitogener som f.eks. fytohemagglutinin (PHA), kermesbærmitogen og konkanavalin A (ConA); men disse måler kun funksjonsevnen til T-celler og er en undergruppe av celler som er involvert i cellemediert immunitet. Det har i større grad blitt tydelig at naturlige immunmekanismer i bidrar mye til forsvar av verten, enten ved å agere selv eller ved å fremme bestemte T-celle-responser. Et funksjonelt forsvar fra naturlige dreperceller (NK-celler) og adaptive immunforsvarceller (T-celler) former derfor sammen en mer omfattende analyse av cellemediert immunitet (2, 3).

QFM er en in vitro-diagnostisk test som bruker en kombinasjon av stimulanter (i form av en LyoSphere™-pellet) som spesifikt stimulerer ulike celletyper som er involvert i både det naturlige og adaptive immunforsvaret. Den funksjonelle immunstatusen til en person vurderes ved å måle responsen ved stimulering av det naturlige og adaptive immunforsvaret med henholdsvis toll-like reseptorer (TLR) og T-celle-reseptor (TCR)-agonister. Deteksjon av interferon-gamma (IFN- γ) på ELISA gir både en kvalitativ og kvantitativ måling av cellemediert immunfunksjon.

Analyseprinsipp

QFM-analysen bruker lyofiliserte stimulanter (QFM LyoSpheres™) som tilsettes heparinisert fullblod. Blodet inkuberes i rørene i 16 til 24 timer. Deretter innhentes plasma, som testes for forekomst av IFN- γ , som produseres som en respons på stimulantene.

QFM-testen utføres i to trinn. Først blir fullblodet samlet i QFM-blodprøverøret. Deretter blir en QFM LyoSphere tilsatt røret, som deretter inkuberes ved 37 °C så snart som mulig og innen 8 timer etter prøvetaking. Etter en inkubasjonsperiode på 16–24 timer, sentrifugeres rørene, plasma fjernes, og antall IFN- γ (rapportert i internasjonale enheter per ml; IU/ml) blir målt av ELISA og sammenlignet med en rekke forventede verdier for å angi immunresponsen til vedkommende.

QFM er en analyse som gir både en kvalitativ og en kvantitativ måling av immunfunksjon. QFM-resultater vil kanskje ikke direkte kvantifisere immun-suppresjonsnivået.

Mengden IFN- γ i plasmaprøver kan ofte ligge over de øvre grensene for de fleste ELISA-avlesningsenhetene, selv når personene er moderat immun-supprimert. Det er anbefalt at plasmaprøver fortynnes i forholdet 1:10 og/eller 1:100 i grønn fortyner og analyseres i ELISA sammen med ufortynnet plasma.

Merk: Terskelen til QFM-analysen kan variere avhengig av en persons immun-suppresjonsnivå og individuelle transplantasjonsforhold.

Se "Tolkning av resultater" på side 23 i dette pakningsvedlegget for en oversikt over hvordan QFM-resultater er tolket.

Tiden som er nødvendig for utføre analysen

Tiden som kreves for å utføre QFM-analysen, er beregnet nedenfor. Tid for testing av flere prøver i batcher, er også angitt.

37 °C-inkubasjon av blodrør: 16 til 24 timer

ELISA: Cirka 3 timer for én ELISA-plate
(opptil 88 prøver)

<1 times arbeid

Legg til 10–15 minutter for hver ekstra plate

Komponenter og oppbevaring

QuantiFERON Monitor LyoSpheres	
Katalognr.	0650-0701
Antall klargjøringer	10
QuantiFERON Monitor LyoSpheres	10 flasker
<i>Pakningsvedlegg for QuantiFERON Monitor LyoSpheres</i>	1
QuantiFERON Monitor-blodprøverør	
Katalognr.	0650-0101
Antall klargjøringer	100
QuantiFERON Monitor-blodprøverør (hvit hette, hvit ring)	100 rør
<i>Pakningsvedlegg for QuantiFERON Monitor-blodprøverør</i>	1

QuantiFERON Monitor-komponenter, sett med 2 ELISA-plater Katalognr.	Sett med 2 ELISA-plater 0650-0201
Mikroplateremser, 12 × 8 brønner (belagt med murint anti-humant IFN- γ -monoklonalt antistoff)	2 sett mikroplateremser med 12 × 8 brønner
IFN- γ Standard, lyophilized (IFN- γ -standard, lyofilisert; inneholder rekombinant humant IFN, bovint kasein, 0,01 % vekt/volum timerosal)	1 × ampulle (8 IU/ml rekonstituert)
Green Diluent (grønn fortyner; inneholder bovint kasein, normalt museserum, 0,01% vekt/volum timerosal)	1 × 30 ml ampulle
Conjugate 100× Concentrate, lyophilized (konjugatkonsentrat 100×; lyofilisert, murin anti-human IFN- γ HRP inneholder 0,01 % vekt/volum timerosal)	1 × 0,3 ml rekonstituert
Wash Buffer 20× Concentrate (vaskebufferkonsentrat 20×; pH 7,2, inneholder 0,05 % vekt/volum ProClin® 300)	1 × 100 ml
Enzym Substrate Solution (enzymsubstratløsning; inneholder H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetramethylbenzidin)	1 × 30 ml
Enzyme Stopping Solution (enzymstoppende løsning; inneholder 0,5 M H ₂ SO ₄)*	1 × 15 ml
Pakningsvedlegg for QuantiFERON Monitor ELISA	1

* Inneholder svovelsyre. Se side 11 for forholdsregler.

Materialer som er nødvendige (men som ikke medfølger)

- 37 °C-inkubator*; CO₂ ikke nødvendig
- Kalibrerte pipetter med variabelt volum*
- Kalibrerte pipetter† for flere kanaler og spisser til engangsbruk for levering av 50 µl til 100 µl
- Mikroplaterister†
- Avionisert eller destillert vann, 2 liter
- Oppvaskmaskin for mikroplater (automatisert vaskemaskin anbefales)
- Mikroplateleser† med 450 nm-filter og 620 nm- til 650 nm-referansefilter
- Gradert sylinder (målesylinder)
- Absorberende og lofrie håndklær

Oppbevaring og håndtering

Blodprøverør

QFM-blodprøverør skal oppbevares ved 4–25 °C. QFM-blodprøverør skal holde mellom 17–25 °C når de fylles med blod og under blanding.

LyoSpheres

QFM LyoSpheres-pelleter skal oppbevares ved 2–8 °C.

ELISA-settreagenser

Reagenser i ELISA-settet skal oppbevares ved 2–8 °C.

Enzymsubstratløsningen må alltid beskyttes mot direkte sollys.

* Se til at instrumentene er kontrollert og kalibrert i henhold til produsentens anbefalinger.

Rekonstituerte og ubrukte ELISA-reagenser

Du finner instruksjoner om hvordan du kan rekonstituere ELISA-reagensene under "Trinn 2 – IFN- γ ELISA" på side 17.

- Det rekonstituerte standardsettet kan oppbevares i opptil 3 måneder dersom det lagres ved 2–8 °C.

Skriv ned datoen for rekonstituering av standardsettet.

- Etter rekonstituering må konjugatkonsentratet 100x returneres til oppbevaring ved 2–8 °C og må brukes innen 3 måneder.

Skriv ned datoen for rekonstituering av konjugatet.

- Konjugat med arbeidsstyrke må brukes innen 6 timer etter klargjøring (se tabell 1).
- Vaskebuffer med arbeidsstyrke kan oppbevares ved romtemperatur (22±5 °C) i opptil 2 uker.

Advarsler og forholdsregler

Til bruk i in vitro-diagnostikk

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablader (SDS) hvis du ønsker mer informasjon. Disse er tilgjengelige i praktisk og kompakt PDF-format på www.qiagen.com/safety, der du kan søke etter, vise og skrive ut sikkerhetsdatabladet for hvert QIAGEN-sett og hver settkomponent.

Advarsler

- QFM er en analyse som gir både en kvalitativ og en kvantitativ måling av immunfunksjon. QFM-resultater vil kanskje ikke direkte kvantifisere immunsuppresjonsnivået.
- Resultater fra QFM-analysen skal brukes sammen med den kliniske presentasjonen, medisinsk historikk og andre kliniske indikatorer ved etablering av pasientens immunstatus.
- Terskelen til QFM-analysen kan variere avhengig av en persons immunsuppresjonsnivå og individuelle transplantasjonsforhold.

Forholdsregler

Kun til bruk i in vitro-diagnostikk.



FORSIKTIG: Håndter humant blod og plasma som potensielt smittefarlig. Overhold relevante retningslinjer for håndtering av blod og blodprodukter. Prøver og materialer som har vært i kontakt med blod eller blodprodukter, skal kasseres i henhold til offentlige og lokale forskrifter.

Følgende risiko- og sikkerhetssetninger gjelder for komponenter i QuantiFERON Monitor ELISA.

Risikoseetninger



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution
(QuantiFERON-enzymstoppløsning)

Inneholder: svovelsyre. Advarsel! Kan være etsende for metaller. Irriterer huden. Gir alvorlig øyeirritasjon. Benytt vernehansker/ verneklær/ vernebriller/ ansiktsskjerm.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution
(QuantiFERON-enzymsubstratløsning)

Advarsel! Forårsaker mild hudirritasjon. Benytt vernehansker/ verneklær/ vernebriller/ ansiktsskjerm.



QuantiFERON Green Diluent
(QuantiFERON grønn fortynningsløsning)

Inneholder: trisodium 5-hydroxy-1-(4-sulphophenyl)-4-(4-sulphophenylazo) pyrazole-3-carboxylate. Inneholder: tartrazine. Advarsel! Kan utløse en allergisk hudreaksjon. Benytt vernehansker/ verneklær/ vernebriller/ ansiktsskjerm.



QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate
(QuantiFERON-vaskebuffer, 20x-konsentrat)

Inneholder: Mixture of 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one and 2-Methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). Skadelig, med langtidsvirkning, for liv i vann. Unngå utslipp til miljøet.

Ytterligere informasjon

Sikkerhetsdatablad: www.qiagen.com/safety

- Avvik fra *pakningsvedlegg for QuantiFERON Monitor (QFM) ELISA* kan føre til feilaktige resultater. Instruksjonene må leses nøye før bruk.
- **Viktig:** Inspiser flasker før bruk. Konjugat-, IFN- γ -standard- eller QFM LyoSphere-flasker skal ikke brukes dersom de har tegn til skader eller gummiforseglingen er ødelagt. Knuste flasker skal ikke håndteres. Kast flaskene i tråd med egnede sikkerhetsprosedyrer. Anbefaling: Bruk en flaskekorkåpner til å åpne konjugat-, IFN- γ -standard- eller QFM LyoSphere-flaskene for å minimere risikoen for skade fra krympelokket av metall.
- Ikke bruk ELISA-settet hvis noen av reagensflaskene viser tegn til skade eller lekkasje før bruk.
- Mikroplateremser, IFN- γ -standard, grønn fortynner og konjugatkonsentrat 100x fra ulike QFM ELISA-sett må ikke blandes og brukes. Andre reagenser (vaskebufferkonsentrat 20x, enzymsubstratløsning og enzymstoppende løsning) kan byttes mellom sett, forutsatt at partiinformasjon er registrert og reagensene ikke er utløpt på dato.
- Kast ubrukte reagenser og biologiske prøver i samsvar med lokale og statlige sikkerhets- og miljøkrav.
- QFM-blodprøverør, QFM LyoSphere og QFM ELISA skal ikke brukes etter utløpt holdbarhetsdato.
- Sørg for at laboratorieutstyr er kalibrert/validert for bruk.

Prøvetaking og -klargjøring

QFM-analysen skal bare utføres med fullblod som er tatt i enten et blodprøverør med litiumheparin eller direkte i et QFM-blodprøverør; 1 ml fullblod er nødvendig per test. Blodprøverør må merkes i henhold til retningslinjene og omfatte tidspunkt for prøvetaking.

Viktig: Både stimuleringen av QFM-blodprøver (dvs. tillegg av en QFM LyoSphere til en alikvot på 1 ml blod) og etterfølgende inkubasjon ved 37 °C, må skje innen 8 timer etter blodprøvetaking.

Før inkubasjon må blodprøvene holde romtemperatur (22±5 °C).

Følgende prosedyrer må følges for optimale resultater:

1. Rørene må merkes riktig.

Se til at QFM-blodprøverøret er merket riktig med pasientopplysninger og tidspunkt for blodprøvetaking.

2. Ta en blodprøve på 1 ml blod ved venepunksjon fra hver pasient, direkte oppi et QFM-blodprøverør. Denne prosedyren bør utføres av en fagperson som har opplæring i blodprøvetaking.

Viktig merknad: Rørene skal holde 17–25 °C når de fylles med blod.

QFM-blodprøverør kan brukes i en høyde på opptil 810 moh.

Da 1 ml-rør trekker blod forholdsvis langsomt, må du holde røret på nålen i 2–3 sekunder etter at røret ser ut til å være fylt. Dette sikrer at korrekt volum trekkes.

Det svarte merket på siden av QFM-blodprøverørene angir 1 ml fyllvolum. QFM-blodprøverør er produsert for å tappe 1 ml ± 10 % og yte optimalt innenfor dette området. Hvis blodnivået er utenfor det angitte området, skal det tas en ny blodprøve.

Hvis en "butterfly-nål" brukes for å ta blodprøven, må man ved hjelp av et tomt rør sikre at slangen fylles med blod før bruk av QFM-blodprøverør.

Hvis QFM-blodprøverør brukes over 810 meter over havet, eller ved mindre prøvevolum, kan en sprøyte benyttes til blodprøvetaking, og 1 ml overføres deretter umiddelbart til QFM-blodprøverøret. Av sikkerhetsmessige årsaker er det best å fjerne sprøytenålen i tråd med egnede sikkerhetsprosedyrer. Ta av hetten på de QFM-blodprøverørene, og tilsett 1 ml blod i hvert rør (til midten av det svarte merket på siden av etiketten). Sett hetten godt på igjen, og bland slik det er beskrevet nedenfor.

Hvis et turniké brukes, må det løsnes så snart nålen er satt inn i venen, for å unngå variasjoner i trykk som kan påvirke blodvolumet.

Alternativt kan blodprøver tas i et generelt blodprøverør med litiumheparin som antikoagulant og deretter overføres til et QFM-blodprøverør. Bare litiumheparin skal brukes som blodantikoagulant, siden andre antikoagulanter vil påvirke analysen. Fyll et blodprøverør (minstevolum på 3 ml), og bland forsiktig ved å snu røret opp og ned flere ganger for å løse opp heparinen. La blodet holde romtemperatur (22 ± 5 °C) før det overføres til QFM-blodprøverøret for stimulering med en QFM LyoSphere-pellet. Se til at blod er grundig blandet med lett vending av rørene umiddelbart før dispensering. Pipetter en alikvot på 1 ml blod i et QFM-blodprøverør. Pipetteringen skal gjøres med aseptisk teknikk i tråd med egnede sikkerhetsprosedyrer ved å ta av hetten på QFM-blodprøverøret og tilsette 1 ml blod (til midten av det svarte merket på siden av etiketten). Bytt ut rørhetter på en sikker måte og bland som beskrevet nedenfor.

3. Umiddelbart etter at rørene er fylt, skal røret snus flere ganger for å løse opp heparinet.

Viktig: For kraftig risting kan føre til gelforstyrrelse og feil resultater.

4. Ekvilibrer QFM LyoSpheres til romtemperatur (22 ± 5 °C) rett før bruk.
5. Tilsett én QFM LyoSphere til 1 ml blod med aseptisk teknikk.

Ta av hetten på blodprøverøret.

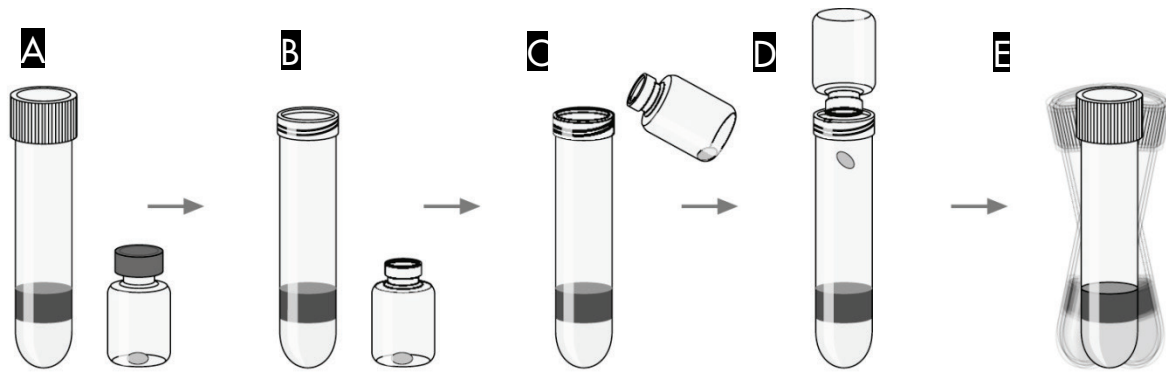
Slå QFM LyoSphere-flasken forsiktig mot noe hardt for å sikre at QFM LyoSphere ligger nederst i flasken. Ta av QFM LyoSphere-hetten ved først å fjerne hetten med metallklemmen og deretter gummikorken.

Slipp QFM LyoSphere-pelleten i 1 ml blod ved å legge kanten på glassflasken mot kanten på QFM-blodprøverøret, og deretter løfte flasken forsiktig opp ned for å overføre QFM LyoSphere-pelleten til QFM-blodprøverøret (se figur 1).

Viktig: Hvis QFM LyoSphere-pelleten faller på utsiden av QFM-blodprøverøret, må den kastes og en ny QFM LyoSphere-flaske må åpnes.

Viktig: QFM LyoSphere-flasken må ikke stå åpen over lengre tid. QFM LyoSphere bør tilsettes blodet så snart hetten er tatt av flasken.

Hvis QFM LyoSphere tilsettes blod som har vært tatt i QFM-blodprøverøret, må rørets hette settes tilbake på riktig prøverør.



Figur 1. Tilsette QFM LyoSphere. **A** QFM-blodprøverør og QFM LyoSphere-flaske. **B** Fjern hetten fra QFM-blodprøverøret, og ta av metallklemmen og gummikorken fra QFM LyoSphere-flasken. **C** Tilsett QFM LyoSphere til blodet umiddelbart ved å legge kanten på glassflasken mot kanten på prøverøret. **D** Løft deretter flasken forsiktig opp for å overføre LyoSphere i røret. **E** Sett hetten på QFM-blodprøverøret og rist røret 5 til 10 ganger.

6. Sett hette på QFM-blodprøverøret og rist røret 5–10 ganger, såpass kraftig at QFM LyoSphere løser seg helt opp.

Hvis en QFM LyoSphere kleber seg til innsiden av røret, kan den løses opp ved å dekke den med blod mens røret snus.

Pass på at røret får påsatt hetten så snart LyoSphere er tilsatt, for å forhindre at en ekstra QFM LyoSphere kommer oppi samme rør.

Merk: I og med at QFM LyoSphere er hvit, vil den ikke lenger vises i blodet når den har løst seg opp.

Viktig: For kraftig risting kan føre til gelforstyrrelse og feil resultater.

7. Når QFM LyoSphere er tilsatt og løst opp, må QFM-blodprøverørene overføres til en $37 \pm 1^\circ \text{C}$ -inkubator så snart som mulig og innen 8 timer etter prøvetaking.

Bruksanvisning

Trinn 1 — inkubasjon av blod og innhenting av plasma

Materialer som medfølger

- QFM-blodprøverør (se “Komponenter og oppbevaring” på side 6)

Materialer som er nødvendige (men som ikke medfølger)

- Se “Materialer som er nødvendige (men som ikke medfølger)”, side 8

Prosedyre

1. Inkuber QFM-blodprøverør som inneholder alikvoter på 1 ml blod med QFM LyoSphere, i STÅENDE posisjon ved 37 ± 1 °C i 16 til 24 timer.

Merk: Inkubatoren krever ikke CO₂ eller fukting.

Etter inkubering kan QFM-blodprøverørene oppbevares mellom 4–27 °C i opptil 3 dager før sentrifugering.

2. Innhenting av plasma etter inkubasjon gjøres ved hjelp av sentrifugering av QFM-blodprøverørene i 15 minutter ved 2000 til 3000 × *g* (RCF). Gelpluggen vil skille cellene fra plasma. Hvis dette ikke skjer, skal rørene sentrifugeres på nytt.

Det er mulig å samle inn plasma uten sentrifugering, men man må være ekstra forsiktig for å fjerne plasma uten å forstyrre cellene.

3. Plasmaprøver må bare samles inn ved hjelp av en pipette.

Viktig: Etter sentrifugering må du unngå å pipettere opp og ned eller blande plasma på noen måte før innsamling. Du må til enhver tid passe på å ikke å forstyrre materialet på geloverflaten.

Plasmaprøver kan lastes direkte fra sentrifugerte QFM-blodprøverør og inn i QFM ELISA-platen, også ved bruk av automatiske ELISA-arbeidsstasjoner.

Plasmaprøver kan oppbevares i 28 dager ved 2–8 °C eller, ved innsamling, under –20 °C i lengre perioder. Alikvoter med innhentede plasmaprøver må forsegles før oppbevaring.

Ved innhenting av plasmaprøver må minst 150 µl plasma innhentes for å ha muligheten for gjentatt testing dersom det skulle være behov for det.

Mengden IFN- γ i plasmaprøver kan ofte ligge over de øvre grensene for de fleste ELISA-avlesningsenhetene, selv når personene er moderat immun-supprimert. Det er anbefalt at plasmaprøver fortynnes i forholdet 1:10 og/eller 1:100 i grønn fortynner og analyseres i ELISA sammen med ufortynnet plasma (se “Trinn 2 — IFN- γ ELISA”).

Trinn 2 – IFN- γ ELISA

Materialer som medfølger

- QuantiFERON Monitor 2 Plate Kit ELISA (se “Komponenter og oppbevaring”, side 6)

Materialer som er nødvendige (men som ikke medfølger)

- Se “Materialer som er nødvendige (men som ikke medfølger)”, side 8

Klargjøring

IFN- γ i plasma kan ofte være over de øvre grensene for de fleste ELISA-avlesningsenhetene, selv når personene er moderat immunsupprimert. Anbefalt: fortynn plasmaprøver i forholdet 1:10 og/eller 1:100 i grønn fortynner og analyser dem i ELISA sammen med ufortynnet plasma.

I situasjoner der en pasient kan bli sterkt immunsupprimert, kan det være tilstrekkelig å klargjøre og analysere en ufortynnet plasmaprøve for å oppnå et kvantitativt resultat.

Merk: Prøveresultater som er innenfor området for QFM ELISA (dvs. opptil 10 IU/ml), bør brukes til tolkning av resultater. Den laveste fortynningen som gir et resultat innenfor området til QFM ELISA, bør brukes som rapportert resultat (med fortynningsfaktor) dersom ufortynnet plasma ligger over QFM ELISA-området.

Prosedyre

1. Alle plasmaprøver og reagenser, unntatt konjugat 100x-konsentrat, må oppnå romtemperatur (22 ± 5 °C) før bruk. La det gå minst 60 minutter for å oppnå likevekt.
2. Fjern remser som ikke er nødvendige fra mikroplaterammen, forsegl på nytt i folieposen, og sett dem tilbake i kjøleskapet for oppbevaring frem til de blir nødvendige.

Sett av minst én remse til QF-CMV ELISA-standarder og tilstrekkelig med remser til det antallet pasienter som testes. Etter bruk beholder du rammen og lokket for bruk med gjenværende remser.

3. Rekonstruer IFN- γ -standarden med volumet med avionisert eller destillert vann angitt på etiketten til standardflasken. Bland forsiktig for å forhindre skumming, og sørg for at det løser seg fullstendig opp. Rekonstituering av standarden til det angitte volumet gir en løsning med en konsentrasjon på 8,0 IE/ml.

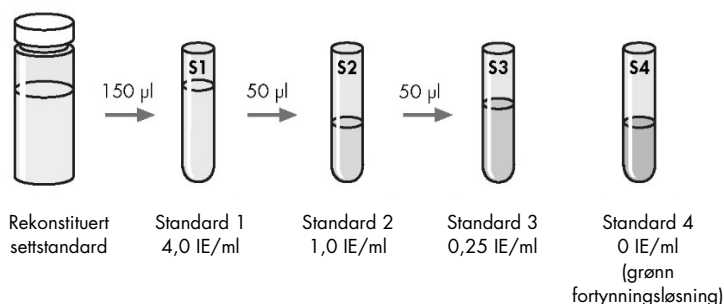
Viktig: Det rekonstituerte volumet av IFN- γ -standarden varierer fra batch til batch. Se på merkingen på standardflasken for å sikre at du bruker riktig volum av avionisert eller destillert vann.

Bruk det rekonstituerte standardsettet til å lage en fortynning med forholdet 1:2 etterfulgt av en fortynningsserie med forholdet 1:4 med IFN- γ i grønn fortynning (GD) (se figur 2). S1 (Standard 1) inneholder 4,0 IU/ml, S2 (Standard 2) inneholder 1,0 IU/ml, S3 (Standard 3) inneholder 0,25 IU/ml og S4 (Standard 4) inneholder 0 IU/ml (kun GD).

Standardene bør analyseres minst to ganger. Klargjør ferske fortynninger av settstandarden for hver ELISA-prosedyre.

Anbefalt prosedyre for doble standarder

- Merk 4 rør "S1", "S2", "S3", "S4".
- Tilsett 150 μ l GD i S1, S2, S3 og S4.
- Tilsett 150 μ l av settstandarden til S1 og bland godt.
- Overfør 50 μ l fra S1 til S2 og bland godt.
- Overfør 50 μ l fra S2 til S3 og bland godt.
- Den grønne fortynningsløsningen (GD) alene tjener som nullstandard (S4).



Figur 2. Klargjøring av standardkurve.

4. Rekonstituer lyofilisert konjugat 100x-konsentrat med 0,3 ml avionisert eller destillert vann. Bland forsiktig for å forhindre skumming, og sørg for at det løser seg fullstendig opp.

Konjugat med arbeidsstyrke klargjøres ved å fortynne den nødvendige mengden av 100x-konsentrat av rekonstituert konjugat i den grønne fortynningsløsningen (tabell 1. Konjugatklargjøring). Ubrukt 100x-konjugatkonsentrat skal umiddelbart etter bruk settes tilbake i en temperatur på 2 til 8 °C. Bruk kun den grønne fortynningsløsningen.

Tabell 1. Konjugatklargjøring

Antall remser	Volumet til 100x-konjugatkonsentratet	Volum til den grønne fortynningsløsningen
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 innhentet fra blodprøverør og som deretter blir oppbevart eller fryst, må blandes før de tilsettes i ELISA-brønnen.

Viktig: Hvis plasmaprøver skal tilsettes direkte fra de sentrifugerte QFM-rørene, må enhver form for blanding av plasma unngås. Du må til enhver tid passe på å ikke å forstyrre materialet på geloverflaten.

6. Anbefalt: Fortynn plasmaprøver i forholdet 1:10.
 - Tilsett 90 µl grønn fortynner (GD) til et rør merket med pasientopplysninger og "1:10".
 - Tilsett deretter 10 µl med blandede plasmaprøver (se trinn 5 for mer informasjon om blandede plasmaprøver vs. de som tilsettes direkte fra sentrifugerte QFM-rør).
 - Bland grundig med pipettering, prøv å minimere skumdannelse.
7. Anbefalt: Fortynn 1:100 plasmaprøver.
 - Klargjør en fortynning i forholdet 1:10 (se trinn 6 over).
 - Tilsett 90 µl grønn fortynner til et rør merket med pasientopplysninger og "1:100".
 - Tilsett 10 µl av 1:10-fortynningen.
 - Bland grundig med pipettering, prøv å minimere skumdannelse.

Anbefalt: Test følgende prøver parallelt og i denne rekkefølgen:

- Ufortynnet, 1:10, 1:100

Følgende pasientprøvealternativer støttes imidlertid også av QFM-analyseprogramvaren:

- Ufortynnet
 - 1:10
 - 1:100
 - 1:10, 1:100
 - Ufortynnet, 1:10
8. Tilsett 50 µl fersk Working strenght-konjugat til de aktuelle ELISA-brønnene ved hjelp av en pipette for flere kanaler.
 9. Tilsett 50 µl testplasmaprøve til riktige brønner ved hjelp av en flerkanalspipette. Tilsett deretter 50 µl hver til standard 1–4. Analyser standardene to ganger.
 10. Dekk hver plate med lokk, og bland konjugat og plasmaprøver/standarder grundig ved hjelp av en mikroplaterister i 1 minutt. Unngå sprut.
 11. Inkuber i romtemperatur (22 ± 5 °C) i 120 ± 5 minutter.
Platene må ikke utsettes for direkte sollys under inkubasjon.

12. Ved inkubasjon skal 1 del vaskebufferkonsentrat (20x) fortynnes med 19 deler avionisert eller destillert vann og blandes grundig. Tilstrekkelig vaskebufferkonsentrat (20x) følger med for å klargjøre 2 liter Working strength-vaskebuffer.

Vask brønner med 400 µl Working strength-vaskebuffer i minst 6 sykluser i en oppvaskmaskin for mikroplater. En automatisert oppvaskmaskin for plater anbefales.

Grundig vask er svært viktig for analyseytelsen. Se til at hver brønn er helt fylt med vaskebuffer for hver vaskesyklus. Anbefalt: Legg brønnene ned i væsken i minst 5 sekunder mellom hver syklus for å få best resultater.

Legg til standard laboratorievaskemiddel til avløpsvannreservoaret, og følg etablerte prosedyrer for dekontaminering av potensielt smittefarlig materiale.

13. Vend platene med oversiden ned på et absorberende, lofritt håndkle for å fjerne overflødig vaskebuffer. Tilsett 100 µl enzymsubstratløsning i hver brønn, dekk hver plate med lokk, og bland grundig ved hjelp av en mikroplaterister.

14. Inkuber i romtemperatur (22 ± 5 °C) i 30 minutter.

Platene må ikke utsettes for direkte sollys under inkubasjon.

15. Tilsett 50 µl enzymstoppende løsning til hver brønn, og bland grundig ved hjelp av en mikroplaterister.

Den enzymstoppende løsningen skal tilsettes brønnene i samme rekkefølge og ved cirka samme hastighet som ved tilsetting av enzymsubstratløsningen i trinn 13.

16. Mål den optiske tettheten (OD) for hver brønn innen 5 minutter etter at reaksjonen er stoppet ved å bruke en mikroplateleser montert med et 450 nm-filter og et 620 nm- til 650 nm-referansefilter. OD-verdier brukes til å beregne resultatene.

Beregninger og tolkning av tester

QuantiFERON Monitor-analyseprogramvare brukes til å analysere rådata og beregne resultater. Dette er tilgjengelig fra www.QuantiFERON.com. Sørg for at den nyeste versjonen av QuantiFERON Monitor-analyseprogramvaren benyttes.

Programvaren utfører en kvalitetskontrollvurdering av analysen, genererer en standardkurve og avgir et testresultat for hver person, slik det er gitt nærmere informasjon om i avsnittet om tolkning av resultater.

Hvis ufortynnet plasma ligger over det øvre området (dvs. >10 IU/ml) for QFM ELISA, vil QuantiFERON Monitor-analyseprogramvaren rapportere den laveste fortynningen som genererer et resultat innenfor QFM ELISA-området, iberegnet fortynningsfaktoren.

Som et alternativ til å bruke QuantiFERON Monitor-analyseprogramvaren, kan resultater bestemmes i henhold til følgende metode.

Fremstilling av standardkurve

(hvis QuantiFERON Monitor-analyseprogramvaren ikke brukes)

Bestemme OD-middelverdien for settstandardreplikater på hver plate.

Lag en $\log_{(e)}$ - $\log_{(e)}$ -standardkurve ved å legge inn $\log_{(e)}$ for gjennomsnittlig OD (y-akse) mot $\log_{(e)}$ for IFN- γ -konsentrasjonen av standardene i IU/ml (x-akse). Nullstandarden tas ikke med i disse beregningene. Beregn den best tilpassede linjen for standardkurven ved regresjonsanalyse.

Bruk standardkurven for å bestemme IFN- γ -konsentrasjonen (IU/ml) til hver av testplasmaprøvene ved å bruke OD-verdien for hver prøve.

Disse beregningene kan utføres ved hjelp av programvarepakker som er tilgjengelige med mikroplateleserne, samt standard regnerark eller statistisk programvare (f.eks. Microsoft® Excel®). Det anbefales at disse pallene brukes til å beregne regresjonsanalysen, variasjonskoeffisienten (%CV) til standardene, samt korrelasjonskoeffisienten (r) til standardkurven.

Det rapporterte resultatet skal tas fra den laveste fortynningen som genererer et resultat innenfor QFM ELISA-området (iberegnet fortynningsfaktoren) hvis ufortynnet plasma ligger over QFM ELISA-området.

Kvalitetskontroll av testen

Nøyaktigheten til testresultatene er avhengig av at standardkurven som genereres er nøyaktig. Derfor må resultatene som utledes fra standardene undersøkes før testprøveresultatene kan tolkes.

For at ELISA skal være gyldig må:

- Middelverdien for OD for standard 1 må være $\geq 0,600$.
- %CV for standard 1 og standard 2s replikat OD-verdier må være ≤ 15 %.
- Replikat-OD-verdier for standard 3 og standard 4 må ikke variere med mer enn 0,040 OD-enheter fra gjennomsnittsverdien.
- Korrelasjonskoeffisienten (r) beregnet fra gjennomsnittlige absorbansverdier for standardene må være $\geq 0,98$.

QuantiFERON Monitor-analyseprogramvaren beregner og rapporterer disse kvalitetskontrollparameterne.

Hvis de ovennevnte kriteriene ikke oppfylles, er kjøringen ugyldig og må gjentas.

Gjennomsnittlig OD-verdi for nullstandarden (grønn fortynner) skal være $\leq 0,150$. Hvis gjennomsnittlig OD-verdi er $> 0,150$, bør vaskeprosedyren av plater undersøkes nærmere.

Tolkning av resultater

QFM-resultater tolkes avhengig av IFN- γ -responsen til naturlige og adaptive immunstimulanter. QFM-analysen gir både en kvalitativ og en kvantitativ måling av immunfunksjon. QFM-resultater vil kanskje ikke direkte kvantifisere immun-suppresjonsnivået.

Viktig: Når immunstatusen til en person skal fastsettes, skal det målte IFN- γ -nivået brukes sammen med klinisk presentasjon, medisinsk historikk og andre diagnostiske vurderinger (tabell 2). Terskelen til QFM-testen kan variere avhengig av en persons immunsuppresjonsnivå og individuelle transplantasjonsforhold.

Tabell 2. Tolkning av resultater

QFM-resultat IFN- γ (IU/ml)	Klassifisering	Tolkning
<15	Lav	Personen har lav IFN- γ -respons på naturlige og adaptive immunstimulanter
15–1000	Moderat	Personen har moderat IFN- γ -respons på naturlige og adaptive immunstimulanter
>1000	Høy	Personen har høy IFN- γ -respons på naturlige og adaptive immunstimulanter

Hvis det målte IFN- γ -nivået til en ufortynnet plasmaprøve er mindre enn 0,1 IU/ml:

- Pass på at QFM LyoSphere er tilsatt blodprøven og at røret ble inkubert i henhold til informasjonen i dette pakningsvedlegget.
- Pass på at IFN- γ -resultatet samsvarer med pasientens gjeldende kliniske status.

Hvis det er mistanke om tekniske problemer ved prøvetaking eller behandling av blodprøver, må hele QFM-analysen gjentas med en ny blodprøve. Gjenta ELISA-testingen av stimulerede plasmaprøver hvis det er mistanke om at originaltesten avvek fra prosedyren beskrevet i dette pakningsvedlegget (se avsnittet Kvalitetskontroll av testen for mer informasjon).

Legen vil kanskje gjenta testen dersom resultatet er inkonsekvent med pasientens gjeldende kliniske status.

Begrensninger

Resultater fra QFM-testing må brukes i sammenheng med hver enkelt persons individuelle kliniske historie, aktuelle medisinske status og andre diagnostiske vurderinger. Laboratorier kan velge å etablere egne verdiområder for analysen.

Laboratorier kan også velge å kjøre en ekstern kontrollprøve tatt fra en frisk person, parallelt med pasientprøvene.

Upålitelige eller ubestemte resultater kan oppstå på grunn av:

- Feil blodantikoagulant – kun litiumheparin skal brukes fordi andre anti-koagulanter kan virke inn på analysen.
- Avvik fra prosedyren beskrevet i pakningsvedlegget.
- Høye nivåer av sirkulerende IFN- γ eller forekomst av heterofile antistoffer.
- Mer enn 8 timer fra blodprøvetaking til inkubering ved 37 °C.
- For lite eller for mye prøvemateriale som fylles i QFM-blodprøverørene, over eller under grensen på 0,9–1,1 ml.

Ytelseskarakteristikker

Kliniske studier

To kliniske studier ble utført for å vurdere responsen til tilsynelatende friske personer (n=114) vs. transplantatmottakere (n=30). Blant transplantatmottakerne var 18 i den tidlige posttransplantasjonskohorten (tidlig posttransplantasjon innen 3 måneder etter transplantasjon) og 12 var i den sene posttransplantasjonskohorten eller stabile kohorten (sen posttransplantasjon, >12 måneder etter transplantasjon).

- Det ble tatt prøver på opptil 5 ulike tidspunkter fra hver enkelt i den tidlige posttransplantasjonskohorten (3 måneder posttransplantasjonskohort, n=64 prøver).
- Det ble tatt prøver 1 gang fra hver enkelt i den sene posttransplantasjonskohorten (sen posttransplantasjonskohort, n=12 prøver).
- Det ble tatt prøver 1 gang fra hver enkelt i den tilsynelatende friske kohorten (n=114).

QFM-responser var fra lave til moderate både for prøvene som ble tatt i den tidlige posttransplantasjonskohorten og den sene posttransplantasjonskohorten. Tidlig posttransplantasjon hadde en høyere prosentandel (93,8 %) responser i det lave området, og en lavere prosentandel (6,3 %) i det moderate område

sammenlignet med responsene fra sen posttransplantasjon, med 25 % responser i det lave området og 66,7 % i det moderate området (tabell 3). Ingen svar for prøver tatt fra den tidlige posttransplantasjonskohorten lå i området for høy respons, og bare 1 (8,3 %) svar for prøver tatt fra den sene posttransplantasjonskohorten, lå i området for høy respons. QFM-responser i den tilsynelatende friske kohorten lå hovedsakelig i det moderate området (83,3 %) og området med høy respons (15,8 %) (tabell 3).

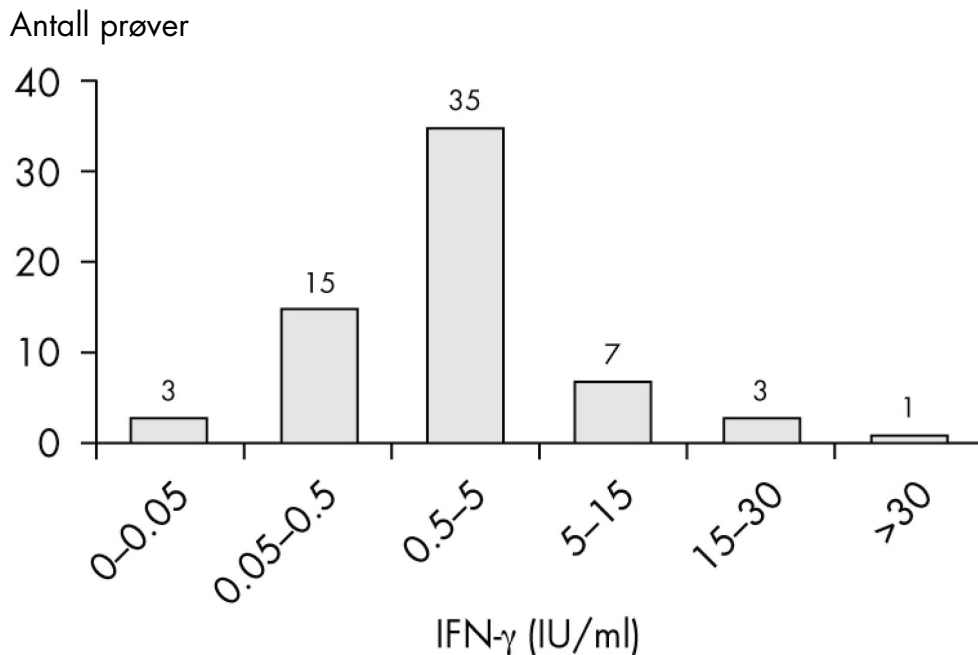
Tabell 3. QFM-responsområde hos tilsynelatende friske personer vs. transplantatmottakere

IFN- γ (IU/ml)	Resultat- kategori	Tidlig posttrans- plantasjon %* 95 % KI n	Sen posttrans- plantasjon %* 95 % KI n	Tilsyne- latende friske personer %* 95 % KI n	Resultater totalt
<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	Høy	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 totalt		64	12	114	190

* Prosentene angir andelen prøver innenfor hver donorkohort som faller innenfor det aktuelle responsområdet.

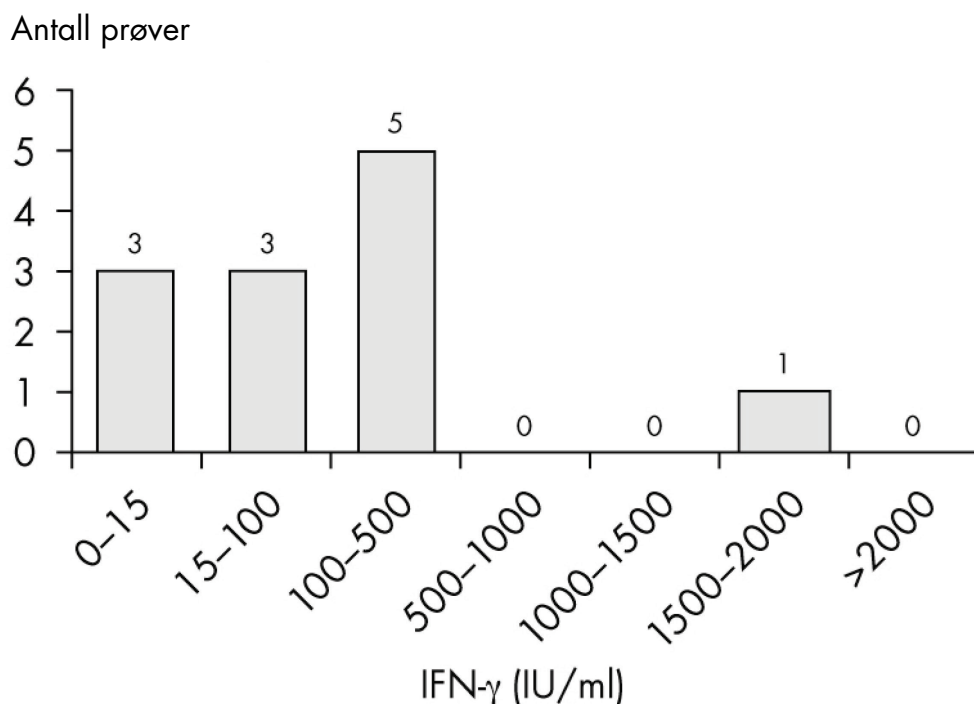
Forventede verdier

Distribusjonen av IFN- γ -responser på QFM hos pasienter i den tidlige posttransplantasjonskohorten (opptil 3 måneder etter transplantasjon) ble bestemt utifra 64 prøver som ble tatt fra 18 transplantatmottakere med QFM ELISA (figur 3).



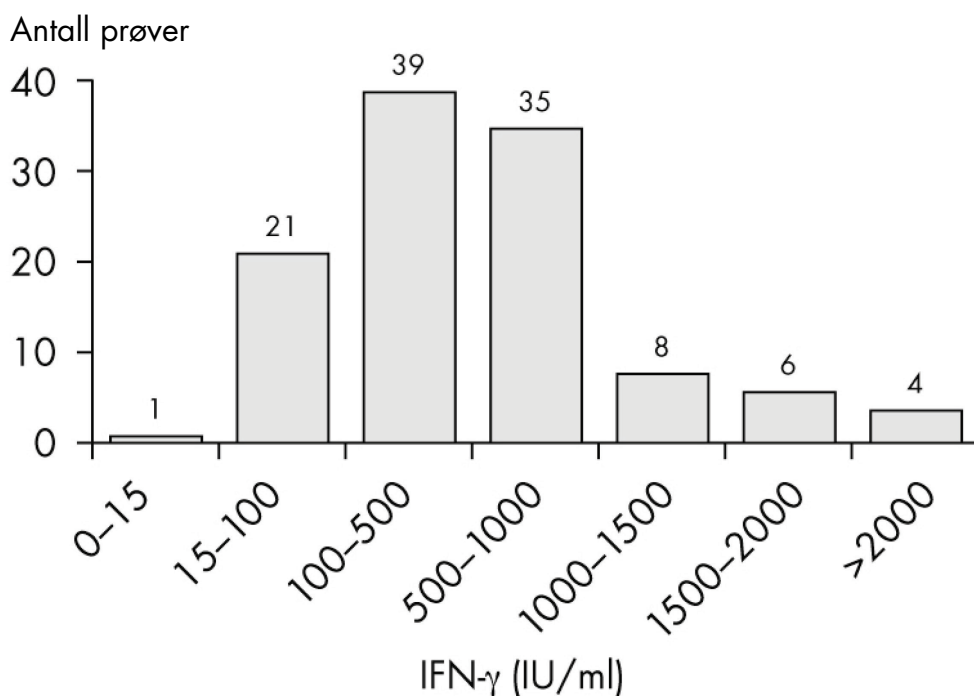
Figur 3. Distribusjon av QFM IFN- γ -responser hos pasienter i den tidlige posttransplantasjonskohorten (n=64; median=1,5 IU/ml).

Distribusjonen av IFN- γ -responser på QFM hos pasienter i den sene posttransplantasjonskohorten (> 12 måneder etter transplantasjon) ble bestemt utifra 12 prøver som ble tatt med QFM ELISA (figur 4).



Figur 4. Distribusjon av QFM IFN- γ -responser hos pasienter i den sene posttransplantasjonskohorten (n=12; median=98,8 IU/ml).

Distribusjonen av IFN- γ -responser på QuantiFERON Monitor hos tilsynelatende friske pasienter ble bestemt utifra 114 prøver som ble tatt med QFM ELISA (figur 5).



Figur 5. Distribusjon av QFM IFN- γ -responser hos tilsynelatende friske pasienter (n=114; median=400,5 IU/ml).

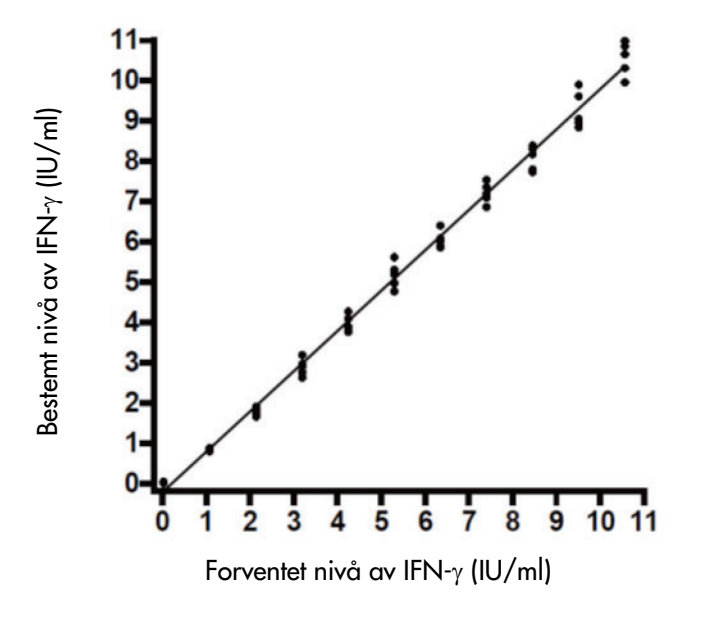
QFM-responser hos pasienter med solid organtransplantasjon

QFM ble evaluert i en observasjonell tverrsnittstudie på pasienter med solid organtransplantasjon (4). Studien omfattet: 212 friske personer med en undergruppe på 30 alders- og kjønntilpassede kontroller, 30 pasienter i pretransplantasjonskohorten, 18 pasienter i den tidlige posttransplantasjonskohorten (66 prøver; median posttransplantasjonstid=21 dager) og 11 pasienter i den sene posttransplantasjonskohorten (median posttransplantasjonstid=2290 dager). Gjennomsnittlig IFN- γ -produksjon var 555,2 IU/ml i friske kontroller og 614,6 IU/ml i alders- og kjønntilpassede kontroller. Gjennomsnittlig IFN- γ -produksjon ble vist å være signifikant lavere både hos pasienter før transplantasjon (IFN- γ =89,3 IU/ml) og pasienter etter transplantasjon (IFN- γ =3,76 IU/ml) sammenlignet med alders- og kjønntilpassede kontroller ($p<0,001$). Gjenvinningen av immunfunksjonen hos pasienter i den sene posttransplantasjonskohorten (gjennomsnittlig IFN- γ =256,1 IU/ml) ble observert og vist å være signifikant høyere enn hos pasienter i den tidlige posttransplantasjonskohorten ($p<0,05$). Denne studien indikerer at QFM kan brukes til å vurdere cellemediert immunfunksjon i en immunsupprimert populasjon med solid organtransplantasjon.

Analysens ytelseskarakteristika

QFM ELISA har blitt vist å være lineær ved vilkårlig plassering av 5 replikater av 11 plasmapooler med kjente IFN- γ -konsentrasjoner på ELISA-platen. Den lineære regresjonslinjen har en helling på $1,002 \pm 0,011$ og en korrelasjonskoeffisient på 0,99 (figur 6).

Deteksjonsgrensen for QFM ELISA er 0,065 IU/ml, og det er ingen tegn på noen høydose-hook-effekt (prozoneffekt) ved konsentrasjoner av IFN- γ opptil 10 000 IU/ml.



Figur 6. Lineærhetsprofilen til QFM ELISA bestemt ved å teste 5 replikater av 11 plasmaprøver med kjente IFN- γ -konsentrasjoner.

Reproduserbarheten for QFM-analysen (trinn 1) ble bestemt ved å bruke blodprøver fra 20 friske personer. Tre ulike operatører, QFM LyoSphere-loter og utstyrsett ble også vurdert. Den gjennomsnittlige variasjonskoeffisienten for IFN- γ -responsnivåene som ble bestemt ved bruk av QFM ELISA for alle tre loter med QFM LyoSpheres og alle tre forholdene som ble testet, var 22,22 % (95 % KI: 17,20–27,25).

Repeterbarheten til QFM-analysen (trinn 1) ble vurdert ved å måle variasjon for 5–6 gjentatte QFM LyoSphere-blodstimuleringer med samme donor for 14 pasienter. Gjennomsnittlig variasjonskoeffisient for de 14 pasientene som ble testet, var 14,7 % (95 % KI: 10,2–19,2). Prosent variasjonskoeffisient for enkeltpersoner var mindre enn 30 %.

Reproduserbarheten til QFM ELISA (trinn 2) ble anslått ved å teste 20 plasma-prøver med ulike IFN- γ -konsentrasjoner i replikater på 3, i 3 laboratorier, på

3 ikke-sammenhengende dager, av 3 operatører. Hver prøve ble dermed testet 27 ganger, i 9 uavhengige analysekjøringer. Én prøve var en nil-kontroll og hadde en beregnet IFN- γ -konsentrasjon på 0,08 IU/ml (95 % KI: 0,07–0,09). De resterende 19 plasmaprøvene hadde konsentrasjoner fra 0,33 (95 % KI: 0,31–0,34) til 7,7 IU/ml (95 % KI: 7,48–7,92).

Unøyaktighet innenfor kjøringen eller innenfor analysen ble anslått ved å beregne gjennomsnittet for % KV-verdiene for hvert testplasma som inneholdt IFN- γ , fra hver platekjøring (n=9), og varierte fra 4,1 til 9,1 % KV. Gjennomsnitt-%CV innenfor kjøringen (± 95 % KI) var $6,6 \pm 0,6$ %. Gjennomsnittet for null-IFN- γ -plasma var 14,1 % KV.

Total unøyaktighet eller unøyaktighet mellom analyser ble bestemt ved å sammenligne de 27 beregnede konsentrasjonene av IFN- γ for hver plasmaprøve. Unøyaktigheten mellom analyser varierte fra 6,6 til 12,3 % KV. Total gjennomsnittlig % KV (± 95 % KI) var $8,7 \pm 0,7$ %. Null-IFN- γ -plasma viste 26,1 % KV. Denne graden av variasjon er som forventet, fordi den beregnede konsentrasjonen av IFN- γ er lav, og fordi variasjonen rundt et lavt konsentrasjonsestimat er større enn for høyere konsentrasjoner.

Teknisk informasjon

Koagulerte plasmaprøver

Hvis det dannes fibrin i forbindelse med langvarig oppbevaring av plasmaprøver, kan prøvene sentrifugeres for å sedimentere det koagulerte materialet og forenkle pipetteringen av plasma.

Feilsøkingsveiledning

Denne feilsøkingsveiledningen kan være nyttig for å løse problemer som kan oppstå. Hvis du ønsker mer informasjon, se også den tekniske informasjonen på: www.QuantiFERON.com. Se baksiden for kontaktinformasjon.

ELISA-feilsøking

Ikke-spesifikk fargeutvikling

Mulig årsak	Løsning
a) Ufullstendig vasking av platen	Vask platen minst 6 ganger med 400 µl vaskebuffer per brønn. Mer enn 6 vaskesykluser kan være nødvendig avhengig av vaskemaskinen som brukes. La vaskebufferen virke i minst 5 sekunder mellom hver syklus.
b) Krysskontaminering av ELISA-brønner	Vær forsiktig ved pipettering og blanding av prøvene for å redusere risikoen for krysskontaminering.
c) Settet/komponentene har gått ut på dato	Se til at settet brukes før utløpsdatoen. Kontroller at rekonstituert standard og konjugatkonsentrat 100x brukes innen tre måneder etter rekonstitueringsdatoen.
d) Enzymsubstratløsningen er kontaminert	Kast substratet dersom det forekommer blå fargeskjær. Forsikre deg om at rene reagensbeholdere brukes.
e) Blanding av plasma i QFM-rør før innsamling	Etter sentrifugering må du unngå å pipettere opp og ned eller blande plasma på noen måte før innsamling. Du må til enhver tid passe på å ikke å forstyrre materialet på geloverflaten.

Avlesninger av lav optisk tetthet for standarder

Mulig årsak	Løsning
a) Standard fortynningsfeil	Påse at fortyninger av settstandarder er klargjort på riktig måte i henhold til dette pakningsvedlegget.
b) Pipetteringsfeil	Sørg for at pipettene er kalibrert og brukes i henhold til produsentens instruksjoner.

ELISA-feilsøking

- | | |
|--|--|
| c) For lav inkubasjons-temperatur | ELISA-inkubasjon må utføres ved romtemperatur (17 til 27 °C). |
| d) For kort inkubasjonstid | Inkuber platen med konjugat, standarder og prøver i 120 ± 5 minutter. Inkuber enzymsubstratløsningen på platen i 30 minutter. |
| e) Feil plateleserfilter brukt | Platen skal leses ved 450 nm med et referansefilter på mellom 620 og 650 nm. |
| f) For kalde reagenser | Alle reagenser, med unntak av 100x-konjugat-konsentratet, må bringes til romtemperatur før du begynner analysen. Dette tar ca. en time. |
| g) Settet/komponentene har gått ut på dato | Se til at settet brukes før utløpsdatoen. Kontroller at rekonstituert standard og konjugatkonsentrat 100x brukes innen tre måneder etter rekonstitueringsdatoen. |

Høy bakgrunn

Mulig årsak

Løsning

- | | |
|--|---|
| a) Ufullstendig vasking av platen | Vask platen minst 6 ganger med 400 µl vaskebuffer per brønn. Mer enn 6 vaskesykluser kan være nødvendig avhengig av vaskemaskinen som brukes. La vaskebufferen virke i minst 5 sekunder mellom hver syklus. |
| b) For høy inkubasjons-temperatur | ELISA-inkubasjon må utføres ved romtemperatur (17 til 27 °C). |
| c) Settet/komponentene har gått ut på dato | Se til at settet brukes før utløpsdatoen. Kontroller at rekonstituert standard og konjugat 100x-konsentrat brukes innen tre måneder etter rekonstitueringsdatoen. |
| d) Enzymsubstratløsningen er kontaminert | Kast substratet dersom det forekommer blå fargeskjær. Forsikre deg om at rene reagensbeholdere brukes. |

ELISA-feilsøking

Ikke-lineær standardkurve og variabilitet mellom duplikat

Mulig årsak	Løsning
a) Ufullstendig vasking av platen	Vask platen minst 6 ganger med 400 µl vaskebuffer per brønn. Mer enn 6 vaskesykluser kan være nødvendig avhengig av vaskemaskinen som brukes. La vaskebufferen virke i minst 5 sekunder mellom hver syklus.
b) Standard fortynningsfeil	Påse at fortyninger av standarden er klargjort på riktig måte i henhold til dette pakningsvedlegget.
c) Dårlig blanding	Bland reagensene grundig ved å snu dem opp og ned eller ved å vortekse dem før de settes på platen.
d) Inkonsekvent pipetteringsteknikk eller avbrudd under oppsett av analysen	Prøve- og standardtillegg skal utføres på kontinuerlig måte. Alle reagenser skal klargjøres før analysen starter.

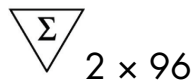
Produktinformasjon og teknisk veiledning er gratis tilgjengelig fra QIAGEN via distributøren eller på www.QuantiFERON.com.

Referanser

En fullstendig liste over QFM-referanser ligger på Gnowee – QuantiFERON-referansebiblioteket – 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



Tilstrekkelig til 2 x 96 prøveklargjøringer



Lovlig produsent



CE-IVD-merket symbol



Til bruk i in vitro-diagnostikk



Partinummer



Katalognummer



Skal brukes innen



Temperaturbegrensninger



Se informasjonen i håndboken



Ikke til gjenbruk



Må beskyttes mot sollys



Autorisert representant i EU

Kontaktinformasjon

Hvis du ønsker teknisk assistanse eller mer informasjon, kan du ringe gratis på 00800-22-44-6000, gå inn på sidene til vårt tekniske supportcenter på www.qiagen.com/Support eller kontakte en av QIAGENs tekniske serviceavdelinger eller lokale distributører (se bak på omslaget eller www.qiagen.com).

Forkortet testprosedyre

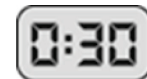
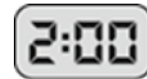
Trinn 1 – inkubasjon av blod

1. Pasientblod tas i enten et QFM-blodprøverør eller blodprøverør med litiumheparin. Merk rørene med pasientopplysninger og tidspunkt for blodprøvetaking før de transporteres til laboratoriet i romtemperatur innen 8 timer etter prøvetaking.
 - a. Hvis blodet er tatt i et blodprøverør med litiumheparin, skal 1 ml blod pipetteres i et QFM-blodprøverør og merkes med pasientopplysninger og tidspunkt for blodprøvetaking.
2. Tilsett 1 QFM LyoSphere til hvert QFM-blodprøverør som inneholder 1 ml blod. Løs opp LyoSphere-pelleten, og inkuber deretter rørene så snart som mulig (innen 8 timer etter blodprøvetaking) i stående posisjon i 16–24 timer ved 37 °C.
3. Etter inkubering sentrifugerer du rørene i 15 minutter ved 2000 til 3000 × *g* (RCF) for å separere plasma og røde blodceller.
4. Etter sentrifugering må du unngå å pipettere opp og ned eller blande plasma på noen måte før innsamling. Du må til enhver tid passe på å ikke å forstyrre materialet på geloverflaten.



Trinn 2 – IFN- γ ELISA

1. Ekvilibrer ELISA-komponenter, med unntak av 100x-konjugatkonsentratet, til romtemperatur i minst 60 minutter.
2. Rekonstituer settstandarden til 8,0 IU/ml med destillert eller avionisert vann. Klargjør 4 standardfortynninger.
3. Rekonstituer frysetørret konjugatkonsentrat 100x med destillert eller avionisert vann.
4. Klargjør Working strength-konjugat i grønn fortynning, og tilsett 50 μ l i alle brønner.
5. Tilsett 50 μ l testplasma prøver (ufortynnet, 1:10 og 1:100 fortynninger) og 50 μ l standarder til de aktuelle brønnene. Bland med en rister.
6. Inkuber i 120 \pm 5 minutter ved romtemperatur.
7. Vask brønnene minst 6 ganger med 400 μ l vaskebuffer per brønn.
8. Tilsett 100 μ l enzymsubstratløsning i brønnene. Bland med en rister.
9. Inkuber i 30 minutter ved romtemperatur.
10. Tilsett 50 μ l enzymsubstratløsning i alle brønnene. Bland med en rister.
11. Avles resultater ved 450 nm med et 620 til 650 nm referansefilter.
12. Analyser resultatene.



Merknader

Signifikante endringer

Signifikante endringer i denne utgaven av pakningsvedlegget for QuantiFERON Monitor® (QFM®) ELISA er oppsummert i tabellen nedenfor:

Avsnitt	Side	Endring(er)
Forholdsregler	11	Ny GHS-informasjon
Forholdsregler	12	Lagt til sikkerhetsinstrukser relatert til flasker med krympelukk.

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

Begrenset lisensavtale for QuantiFERON Monitor-settet

Bruk av dette produktet innebærer at enhver kjøper eller bruker av produktet samtykker i følgende vilkår:

1. Produktet kan bare brukes i samsvar med protokollene som leveres med produktet og denne håndboken, og skal bare brukes med komponenter som er inkludert i settet. QIAGEN gir ingen lisens i forhold til noen av sine åndsprodukter til å bruke eller innlemme komponenter i dette settet med andre komponenter som ikke er inkludert i dette settet, med unntak av det som er beskrevet i protokollene som leveres med produktet, denne håndboken og andre protokoller som er tilgjengelige på www.qiagen.com. Noen av disse andre kontrollene er utarbeidet av QIAGEN-brukere for QIAGEN-brukere. Disse protokollene er ikke blitt grundig testet eller optimalisert av QIAGEN. QIAGEN garanterer ikke for dem, og gir heller ingen garanti for at de ikke krenker rettighetene til tredjeparter.
2. QIAGEN gir ingen garanti for at dette settet og/eller dets bruk ikke krenker rettighetene til tredjeparter, bortsett fra uttrykkelig oppgitte lisenser.
3. Dette settet og tilhørende komponenter er lisensiert til engangsbruk og kan ikke brukes flere ganger, modifiseres eller selges på nytt.
4. QIAGEN frasier seg spesifikt andre lisenser, uttrykt eller antydnet, bortsett fra de som er uttrykkelig oppgitt.
5. Kjøperen og brukeren av settet samtykker i at de ikke skal gjøre eller la noen andre gjøre noe som kan resultere i eller fremme handlinger som er forbudt ovenfor. QIAGEN kan håndheve forbud i denne begrensede lisensavtalen i en hvilken som helst domstol, og skal få tilbake alle sine etterforsknings- og domstolskostnader, inkludert advokathonorarer, knyttet til enhver handling som iverksettes for å håndheve denne begrensede lisensavtalen eller eventuelle immaterielle rettigheter forbundet med settet og/eller komponentene.

Oppdaterte lisensvilkår er tilgjengelige på www.qiagen.com.

© 2014 QIAGEN. Med enerett.

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

