



# Ένθετο συσκευασίας QuantiFERON Monitor<sup>®</sup> (QFM<sup>®</sup>) ELISA


 2 × 96

Η εξέταση IFN- $\gamma$  σε ολικό αίμα για τη μέτρηση της απάντησης  
σε διεγέρτες της εγγενούς και της επίκτητης ανοσίας

Έκδοση 1

 Για in vitro διαγνωστική χρήση

**CE**

 0650-0201



QIAGEN, 19300 Germantown Road

Germantown, MD 20874, ΗΠΑ

 QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1

40724 Hilden, ΓΕΡΜΑΝΙΑ

1079024EL Αναθ. 03

 [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com)





# Περιεχόμενα

<b>Προβλεπόμενη χρήση</b>	<b>4</b>
<b>Σύνοψη και επεξήγηση της εξέτασης</b>	<b>4</b>
Αρχές της μεθόδου	5
Απαιτούμενος χρόνος για την εκτέλεση της ανάλυσης	6
<b>Συστατικά και αποθήκευση</b>	<b>6</b>
Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται	8
Αποθήκευση και χειρισμός	8
<b>Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις</b>	<b>10</b>
Προειδοποιήσεις	10
Προφυλάξεις	11
<b>Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων</b>	<b>13</b>
<b>Οδηγίες χρήσης</b>	<b>17</b>
<b>Υπολογισμοί και ερμηνεία αναλύσεων</b>	<b>24</b>
Παραγωγή της πρότυπης καμπύλης	24
Έλεγχος ποιότητας εξέτασης	25
Ερμηνεία αποτελεσμάτων	25
<b>Περιορισμοί</b>	<b>27</b>
<b>Χαρακτηριστικά απόδοσης</b>	<b>27</b>
Κλινικές μελέτες	27
Χαρακτηριστικά απόδοσης ανάλυσης	32
<b>Τεχνικές πληροφορίες</b>	<b>33</b>
Θρομβωμένα δείγματα πλάσματος	33
<b>Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων</b>	<b>34</b>
<b>Βιβλιογραφία</b>	<b>37</b>
<b>Σύμβολα</b>	<b>38</b>
<b>Πληροφορίες επικοινωνίας</b>	<b>38</b>
<b>Συνοπτική διαδικασία ανάλυσης</b>	<b>39</b>

## Προβλεπόμενη χρήση

Η ανάλυση QuantiFERON Monitor (QFM) είναι μια *in vitro* διαγνωστική εξέταση που προορίζεται για χρήση στην ανίχνευση της κυτταροεξαρτώμενης ανοσολογικής λειτουργίας μέσω μέτρησης της ιντερφερόνης γάμμα (IFN- $\gamma$ ) στο πλάσμα με χρήση μιας ενζυμικής μεθόδου ανοσοπροσρόφησης (ELISA) μετά από επώαση ηπαρινισμένου ολικού αίματος με διεγέρτες της εγγενούς και της επίκτητης ανοσοαπάντησης. Η ανάλυση χρησιμοποιείται για την ανίχνευση της κυτταροεξαρτώμενης ανοσοαπάντησης στον πληθυσμό ανοσοκατεσταλμένων ληπτών μοσχευμάτων συμπαγών οργάνων.

Η ανάλυση QFM προορίζεται για χρήση σε συνδυασμό με εκτίμηση κινδύνου και άλλες ιατρικές και διαγνωστικές αξιολογήσεις.

## Σύνοψη και επεξήγηση της εξέτασης

Η ανοσοανεπάρκεια χαρακτηρίζεται από μειωμένη ικανότητα ανάπτυξης αποτελεσματικής ανοσοαπάντησης. Αυτή η ανεπαρκής ή απύσχα απάντηση μπορεί να οφείλεται σε πρωτοπαθή ή επίκτητη (δευτεροπαθή) ανοσοανεπάρκεια (1).

Οι πρωτοπαθείς ανοσοανεπάρκειες κληρονομούνται γενετικά και χαρακτηρίζονται από ανεπάρκεια συγκεκριμένων συστατικών του συστήματος επίκτητης ή εγγενούς ανοσίας (1). Ωστόσο, η ανοσοανεπάρκεια είναι στις περισσότερες περιπτώσεις επίκτητη (δευτεροπαθής) και προκαλείται από παθογόνους παράγοντες, φάρμακα (π.χ. ανοσοκατασταλτική θεραπεία μετά από μεταμόσχευση οργάνων), ασθένειες (π.χ. καρκίνοι όπως η λευχαιμία και το λέμφωμα) ή περιβαλλοντικές μολυσματικές ουσίες (1).

Η μοριακή βάση της ανοσοανεπάρκειας είναι πολυποίκιλη, αλλά η κυτταροεξαρτώμενη ανοσία παίζει βασικό ρόλο στην επαγωγή πολλών από τις παρατηρούμενες κλινικές εκδηλώσεις. Η διάγνωση και αντιμετώπιση των συνδρόμων ανοσοανεπάρκειας σήμερα εξαρτάται από τον αιτιολογικό παράγοντα (2, 3).

Για παράδειγμα, η κατά περίπτωση αντιμετώπιση είναι η πιο συνηθισμένη προσέγγιση για την παρακολούθηση της κατάστασης κυτταρικής ανοσοανεπάρκειας των ασθενών που έχουν υποβληθεί σε μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων και λαμβάνουν φάρμακα που καταστέλλουν το ανοσοποιητικό τους σύστημα. Η κατάσταση της ανοσοαπάντησης του ασθενούς μετρίεται κατά κανόνα με την παρακολούθηση του επιπέδου των φαρμάκων και με κλινικοπαθολογική αξιολόγηση της λειτουργίας του μοσχεύματος (2, 3).

Ορισμένες εξετάσεις λειτουργίας των T κυττάρων μετρούν την κυτταροεξαρτώμενη ανοσία έναντι μιτογόνων όπως η φυτοαιμοσυγκολλιτίνη (PHA), το μιτογόνο του φυτού *Phytolacca americana* (pokeweed mitogen) και η κονκαβαλίνη A (ConA), αλλά οι εξετάσεις αυτές μετρούν μόνο τη λειτουργική ικανότητα των T κυττάρων που αποτελούν ένα υποσύνολο μόνο των

κυττάρων που συμμετέχουν στην κυτταροεξαρτώμενη ανοσία. Γίνεται ολοένα πιο σαφές ότι οι μηχανισμοί εγγενούς ανοσίας συμβάλλουν στην άμυνα του ξενιστή σε πολύ μεγάλο βαθμό, είτε αυτόνομα είτε μέσω ενίσχυσης συγκεκριμένων απαντήσεων των Τ κυττάρων. Κατά συνέπεια, οι λειτουργικές απαντήσεις των κυττάρων της εγγενούς (φυσικά φονικά (NK) κύτταρα) και της επίκτητης (Τ κύτταρα) ανοσίας συνιστούν μια πιο ολοκληρωμένη ανάλυση της κυτταροεξαρτώμενης ανοσίας (2, 3).

Η QFM είναι μια *in vitro* διαγνωστική εξέταση που χρησιμοποιεί έναν συνδυασμό διεγερτών (σε μορφή σφαιριδίου LyoSphere™) που διεγείρουν ειδικά διαφορετικούς κυτταρικούς τύπους που συμμετέχουν στα συστήματα εγγενούς αλλά και επίκτητης ανοσίας. Η κατάσταση λειτουργικής ανοσίας ενός ασθενούς αξιολογείται με μέτρηση της απάντησης στη διέγερση του συστήματος εγγενούς και επίκτητης ανοσίας με αγωνιστές των υποδοχέων τύπου Toll (TLR) και των υποδοχέων των Τ κυττάρων (TCR), αντίστοιχα. Η ανίχνευση της ιντερφερόνης γ (IFN-γ) με τη μέθοδο ELISA παρέχει μια ποιοτική και ποσοτική μέτρηση της κυτταροεξαρτώμενης ανοσολογικής λειτουργίας.

## Αρχές της μεθόδου

Η ανάλυση QFM χρησιμοποιεί λυόφιλους διεγέρτες (QFM LyoSpheres™), που προστίθενται σε ηπαρινισμένο ολικό αίμα. Το αίμα επωάζεται επί 16 έως 24 ώρες και στη συνέχεια το πλάσμα συλλέγεται και εξετάζεται ως προς την παρουσία IFN-γ η οποία παράγεται ως απάντηση στους διεγέρτες.

Η ανάλυση QFM εκτελείται σε χωριστά στάδια. Πρώτα συλλέγεται ολικό αίμα στο σωληνάριο συλλογής αίματος QFM. Κατόπιν προστίθεται ένα σφαιρίδιο QFM LyoSphere στο σωληνάριο, το οποίο επωάζεται στους 37°C όσο το δυνατόν συντομότερα αλλά το πολύ εντός 8 ωρών από την αιμοληψία. Μετά από επώαση διάρκειας 16 έως 24 ωρών, τα σωληνάρια φυγοκεντρούνται, το πλάσμα αφαιρείται και η ποσότητα της IFN-γ (σε διεθνείς μονάδες ανά χιλιοστόλιτρο, IU/ml) μετριέται μέσω ELISA και συγκρίνεται με ένα εύρος αναμενόμενων τιμών προκειμένου να χαρακτηριστεί η ανοσοαπάντηση του ασθενούς.

Η QFM είναι μια ανάλυση που παρέχει ποιοτική και ποσοτική μέτρηση της ανοσολογικής λειτουργίας. Τα αποτελέσματα της QFM ενδέχεται να μην αποτελούν άμεση ποσοτική μέτρηση του βαθμού ανοσοκαταστολής.

Η ποσότητα της IFN-γ σε δείγματα πλάσματος είναι συχνά μεγαλύτερη από το ανώτατο όριο μέτρησης των περισσότερων συσκευών μέτρησης ELISA, ακόμα και σε άτομα με ανοσοκαταστολή μέτριου βαθμού. Συνιστάται η αραιώση των δειγμάτων πλάσματος σε αναλογία 1 προς 10 ή/και 1 προς 100 σε πράσινο αραιωτικό και η μέτρησή τους με ELISA μαζί με μη αραιωμένο πλάσμα.

**Σημείωση:** Το κατώφλιο της ανάλυσης QFM πιθανόν να διαφέρει ανάλογα με τον βαθμό ανοσοκαταστολής του ασθενούς και τις περιστάσεις της εκάστοτε μεταμόσχευσης.

Βλ. «Ερμηνεία αποτελεσμάτων» στη σελίδα 25 αυτού του ενθέτου συσκευασίας για μια γενική περιγραφή του τρόπου ερμηνείας των αποτελεσμάτων QFM.

## Απαιτούμενος χρόνος για την εκτέλεση της ανάλυσης

Ο χρόνος που απαιτείται για την εκτέλεση της ανάλυσης QFM υπολογίζεται παρακάτω. Αναφέρεται επίσης ο χρόνος για την ανάλυση πολλαπλών δειγμάτων σε παρτίδες.

Επώαση σωληναρίων αίματος στους 37°C: 16 έως 24 ώρες

ELISA: Περίπου 3 ώρες για μία πλάκα ELISA  
(μέχρι 88 δείγματα)

<1 ώρα εργασίας

Υπολογίστε άλλα 10 έως 15 λεπτά για κάθε επιπλέον πλάκα

## Συστατικά και αποθήκευση

<b>QuantiFERON Monitor LyoSpheres</b>	
<b>Αρ. καταλόγου</b>	<b>0650-0701</b>
<b>Αριθμός παρασκευών</b>	<b>10</b>
QuantiFERON Monitor LyoSpheres	10 φιαλίδια
<i>Ένθετο συσκευασίας QuantiFERON Monitor LyoSpheres</i>	1
<b>Σωληνάρια συλλογής αίματος QuantiFERON Monitor</b>	
<b>Αρ. καταλόγου</b>	<b>0650-0101</b>
<b>Αριθμός παρασκευών</b>	<b>100</b>
QuantiFERON Monitor Blood Collection Tubes (σωληνάρια συλλογής αίματος) (λευκό πώμα, λευκός δακτύλιος)	100 σωληνάρια
<i>Ένθετο συσκευασίας σωληναρίων συλλογής αίματος QuantiFERON Monitor</i>	1

<b>Συστατικά κιτ ELISA QuantiFERON Monitor 2 πλακών</b>	<b>Κιτ ELISA 2 πλακών 0650-0201</b>
<b>Αρ. καταλόγου</b>	
Σειρές μικροπλάκας, 12 × 8 βυθίσματα (επικαλυμμένες με μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού κατά της ανθρώπινης IFN-γ)	2 σετ 12 σειρές μικροπλάκας των 8 βυθισμάτων
IFN-γ Standard, lyophilized (πρότυπο IFN-γ, λυόφιλο) (περιέχει ανασυνδυασμένη ανθρώπινη IFN-γ, καζεΐνη βοοειδούς, θιμεροσάλη 0,01% κ.ό.)	1 φιαλίδιο (8 IU/ml μετά την ανασύσταση)
Green Diluent (πράσινο αραιωτικό) (περιέχει καζεΐνη βοοειδούς, φυσιολογικό ορό ποντικού, θιμεροσάλη 0,01% κ.ό.)	1 × 30 ml φιαλίδιο
Conjugate 100× Concentrate, lyophilized (συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100×, λυόφιλο) (αντίσωμα ποντικού κατά της ανθρώπινης IFN-γ HRP, περιέχει θιμεροσάλη 0,01% κ.ό.)	1 × 0,3 ml μετά την ανασύσταση
Wash Buffer 20× Concentrate (συμπύκνωμα ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης 20×) (pH 7,2, περιέχει ProClin® 300 0,05% κ.ό.)	1 × 100 ml
Enzyme Substrate Solution (διάλυμα υποστρώματος ενζύμου) (περιέχει H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3', 5,5'-τετραμεθυλοβενζιδίνη)	1 × 30 ml
Enzyme Stopping Solution (διάλυμα διακοπής ενζυμικής αντίδρασης) (περιέχει H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,5 M)*	1 × 15 ml
Ένθετο συσκευασίας QuantiFERON Monitor ELISA	1

\* Περιέχει θειικό οξύ. Βλ. προφυλάξεις στη σελ. 11.

## **Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται**

- Επωαστήρας 37°C, δεν απαιτείται CO<sub>2</sub>
- Βαθμονομημένες πιπέτες ρυθμιζόμενου όγκου\*
- Βαθμονομημένη πολυκάναλη πιπέτα† με δυνατότητα χορήγησης 50 µl και 100 µl, με ρύγχη μίας χρήσης
- Συσκευή ανακίνησης μικροπλακών†
- Απιονισμένο ή αποσταγμένο νερό, 2 λίτρα
- Συσκευή έκπλυσης μικροπλακών (συνιστάται αυτόματη συσκευή)
- Συσκευή ανάγνωσης μικροπλακών† με φίλτρο 450 nm και φίλτρο αναφοράς 620 nm έως 650 nm
- Βαθμονομημένος κύλινδρος (ογκομετρικός κύλινδρος)
- Απορροφητικό χαρτί χωρίς χνούδι

## **Αποθήκευση και χειρισμός**

### **Σωληνάρια συλλογής αίματος**

Αποθηκεύστε τα σωληνάρια συλλογής αίματος QFM σε θερμοκρασία 4°C έως 25°C. Τα σωληνάρια συλλογής αίματος QFM πρέπει να βρίσκονται σε θερμοκρασία 17°C–25°C κατά την πλήρωση και την ανάμειξη του αίματος.

### **LyoSpheres**

Αποθηκεύστε τα σφαιρίδια QFM LyoSpheres σε θερμοκρασία 2°C έως 8°C.

### **Αντιδραστήρια kit ELISA**

Αποθηκεύστε τα αντιδραστήρια του kit ELISA σε θερμοκρασία 2°C έως 8°C.

Να προστατεύετε διαρκώς το διάλυμα υποστρώματος ενζύμου από το άμεσο ηλιακό φως.

\* Βεβαιωθείτε ότι τα όργανα έχουν ελεγχθεί και βαθμονομηθεί σύμφωνα με τις συστάσεις του κατασκευαστή.



## **Ανασυσταθέντα και αχρησιμοποίητα αντιδραστήρια ELISA**

Για οδηγίες σχετικά με την ανασύσταση των αντιδραστηρίων ELISA, ανατρέξτε στην παράγραφο «Στάδιο 2 — ανάλυση ELISA για την IFN- $\gamma$ », σελίδα 18.

- Το ανασυσταθέν πρότυπο του κιτ μπορεί να διατηρηθεί μέχρι και για 3 μήνες εφόσον φυλάσσεται σε θερμοκρασία 2°C έως 8°C.

Σημειώστε την ημερομηνία ανασύστασης του προτύπου του κιτ.

- Μετά την ανασύσταση, το αχρησιμοποίητο συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100 $\times$  πρέπει να επιστραφεί σε χώρο φύλαξης με θερμοκρασία 2°C έως 8°C και να χρησιμοποιηθεί εντός 3 μηνών.

Σημειώστε την ημερομηνία ανασύστασης του διαλύματος συζευγμένου μορίου.

- Το διάλυμα εργασίας του συζευγμένου μορίου πρέπει να χρησιμοποιηθεί εντός 6 ωρών από την παρασκευή του (βλ. Πίνακα 1).
- Το ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης σε συγκέντρωση εργασίας μπορεί να φυλαχθεί σε θερμοκρασία δωματίου (22°C  $\pm$  5°C) μέχρι και για 2 εβδομάδες.

# Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

## Για in vitro διαγνωστική χρήση

Κατά την εργασία με χημικά, φοράτε πάντα κατάλληλη προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας (SDS). Διατίθενται στο Διαδίκτυο σε εύχρηστη και συμπιεσμένη μορφή PDF, στην ιστοσελίδα [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), όπου μπορείτε να βρείτε, να εμφανίσετε και να εκτυπώσετε τα SDS για κάθε κιτ της QIAGEN καθώς και για τα περιεχόμενά του.

## Προειδοποιήσεις

- Η QFM είναι μια ανάλυση που παρέχει ποιοτική και ποσοτική μέτρηση της ανοσολογικής λειτουργίας. Τα αποτελέσματα της QFM ενδέχεται να μην αποτελούν άμεση ποσοτική μέτρηση του βαθμού ανοσοκαταστολής.
- Τα αποτελέσματα της QFM θα πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα, το ιατρικό ιστορικό και άλλους κλινικούς δείκτες κατά την εξακρίβωση της ανοσολογικής κατάστασης του ασθενούς.
- Το κατώφλιο της ανάλυσης QFM πιθανόν να διαφέρει ανάλογα με τον βαθμό ανοσοκαταστολής του ασθενούς και τις περιστάσεις της εκάστοτε μεταμόσχευσης.

## Προφυλάξεις

Αποκλειστικά για in vitro διαγνωστική χρήση.



**ΠΡΟΣΟΧΗ:** Να χειρίζεστε το ανθρώπινο αίμα και πλάσμα ως δυνητικά μολυσματικό υλικό. Να τηρείτε τις σχετικές κατευθυντήριες οδηγίες περί χειρισμού δειγμάτων αίματος και παραγώγων αίματος. Απορρίψτε τα δείγματα και τα υλικά που ήρθαν σε επαφή με αίμα ή παράγωγα αίματος όπως προβλέπουν οι διεθνείς, κρατικοί και τοπικοί κανονισμοί.

Οι παρακάτω δηλώσεις επικινδυνότητας και προφυλάξεων αφορούν τα συστατικά του kit QuantiFERON Monitor ELISA.

### Δηλώσεις επικινδυνότητας



#### **QuantiFERON Enzyme Stopping Solution (Διάλυμα διακοπής ενζυμικής αντίδρασης QuantiFERON)**

Περιέχει: θειικό οξύ. Προσοχή! Μπορεί να διαβρώσει μέταλλα. Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος. Προκαλεί σοβαρό οφθαλμικό ερεθισμό. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/ προστατευτικά ενδύματα/ μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/ πρόσωπο.

#### **QuantiFERON Enzyme Substrate Solution (Διάλυμα υποστρώματος-ενζύμου QuantiFERON)**

Προσοχή! Ερεθίζει ελαφρώς το δέρμα. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/ προστατευτικά ενδύματα/ μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/ πρόσωπο.



#### **QuantiFERON Green Diluent (Πράσινο αραιωτικό QuantiFERON)**

Περιέχει: trisodium 5-hydroxy-1-(4-sulphophenyl)-4-(4-sulphophenylazo) pyrazole-3-carboxylate. Περιέχει: ταρτραζίνη. Προσοχή! Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/ προστατευτικά ενδύματα/ μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/ πρόσωπο.



#### **QuantiFERON Wash Buffer 20× Concentrate (Συμπύκνωμα ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης QuantiFERON 20×)**

Περιέχει: Mixture of 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one and 2-Methyl-2H -isothiazol-3-one (3:1). Επιβλαβές για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις. Να αποφεύγεται η ελευθέρωση στο περιβάλλον.

## Περισσότερες πληροφορίες

Δελτία δεδομένων ασφαλείας: [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)

- Οι αποκλίσεις από τις οδηγίες στο *ένθετο συσκευασίας QuantiFERON Monitor (QFM) ELISA* μπορούν να οδηγήσουν σε λανθασμένα αποτελέσματα. Διαβάστε προσεκτικά τις οδηγίες πριν τη χρήση.
- **Σημαντικό:** Επιθεωρήστε τα φιαλίδια πριν από τη χρήση. Μη χρησιμοποιείτε φιαλίδια συζευγμένου μορίου ή προτύπου IFN- $\gamma$  ή QFM LyoSphere με ενδείξεις ζημιάς ή εάν το σφράγισμα από καουτσούκ έχει παραβιαστεί. Μην πιάνετε σπασμένα σωληνάρια. Λάβετε τις απαραίτητες προφυλάξεις για την ασφαλή απόρριψη των φιαλιδίων. Σύσταση: Χρησιμοποιήστε εργαλείο αποσφράγισης για να ανοίξετε τα φιαλίδια συζευγμένου μορίου, προτύπου IFN- $\gamma$  ή QFM LyoSphere, προκειμένου να ελαχιστοποιηθεί ο κίνδυνος τραυματισμού από το μεταλλικό πρεσαριστό κάλυμμα.
- Μη χρησιμοποιήσετε το κιτ ELISA εάν κάποιο φιαλίδιο αντιδραστήριου παρουσιάζει ενδείξεις ζημιάς ή διαρροής πριν τη χρήση.
- Μην αναμειγνύετε και μη χρησιμοποιείτε σειρές μικροπλάκας, πρότυπο IFN- $\gamma$ , πράσινο αραιωτικό ή συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100 $\times$  από κιτ QFM ELISA διαφορετικών παρτίδων. Για τα υπόλοιπα αντιδραστήρια (συμπύκνωμα ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης 20 $\times$ , διάλυμα υποστρώματος ενζύμου και διάλυμα διακοπής ενζυμικής αντίδρασης), μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαλύματα από άλλα κιτ εφόσον δεν έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης και εφόσον καταγράφουν τα στοιχεία των παρτίδων.
- Απορρίψτε τα αχρησιμοποίητα αντιδραστήρια και τα βιολογικά δείγματα όπως ορίζουν οι τοπικοί και οι εθνικοί κανονισμοί ασφαλείας και περιβαλλοντικής προστασίας.
- Μη χρησιμοποιείτε τα σωληνάρια συλλογής αίματος QFM, τα σφαιρίδια QFM LyoSpheres και το κιτ QFM ELISA μετά την ημερομηνία λήξης τους.
- Βεβαιωθείτε ότι ο εργαστηριακός εξοπλισμός έχει βαθμονομηθεί και επικυρωθεί για χρήση.

## Συλλογή και προετοιμασία δειγμάτων

Η ανάλυση QFM θα πρέπει να εκτελείται μόνο με χρήση ολικού αίματος που έχει συλλεχθεί είτε σε σωληνάριο συλλογής αίματος με λιθιούχο ηπαρίνη είτε απευθείας σε σωληνάριο συλλογής αίματος QFM. Απαιτείται 1 ml ολικού αίματος ανά εξέταση. Τα σωληνάρια συλλογής αίματος θα πρέπει να φέρουν κατάλληλη επισήμανση και να αναγράφουν την ώρα της αιμοληψίας.

**Σημαντικό:** Τόσο η διέγερση των δειγμάτων αίματος QFM (δηλαδή η προσθήκη ενός QFM LyoSphere σε 1 ml μερίδας αίματος) όσο και η επακόλουθη επώαση στους 37°C πρέπει να γίνουν εντός 8 ωρών από την αιμοληψία.

Πριν από την επώαση, φυλάξτε τα δείγματα αίματος σε θερμοκρασία δωματίου (22°C ± 5°C).

**Για τα καλύτερα δυνατά αποτελέσματα θα πρέπει να ακολουθούνται οι παρακάτω διαδικασίες:**

### 1. Επιστημάνετε κατάλληλα τα σωληνάρια.

Βεβαιωθείτε ότι όλα τα σωληνάρια συλλογής αίματος QFM φέρουν κατάλληλη επισήμανση, με τα στοιχεία του ασθενούς και την ώρα της αιμοληψίας.

### 2. Για κάθε ασθενή, συλλέξτε μέσω φλεβοκέντησης 1 ml αίματος απευθείας σε ένα σωληνάριο συλλογής αίματος QFM. Η διαδικασία αυτή θα πρέπει να πραγματοποιηθεί από εκπαιδευμένο αιμολήπτη.

**Σημαντική σημείωση:** Κατά τη στιγμή της πλήρωσης με αίμα, τα σωληνάρια θα πρέπει να βρίσκονται σε θερμοκρασία μεταξύ 17°C και 25°C.

Τα σωληνάρια συλλογής αίματος της μεθόδου QFM μπορούν να χρησιμοποιηθούν σε υψόμετρο έως 810 μέτρων πάνω από την επιφάνεια της θάλασσας.

Επειδή τα σωληνάρια του 1 ml αναρροφούν το αίμα σχετικά αργά, αφήστε το σωληνάριο πάνω στη βελόνα για 2–3 δευτερόλεπτα από τη στιγμή που το σωληνάριο θα φαίνεται να έχει γεμίσει. Έτσι θα βεβαιωθείτε ότι θα ληφθεί ο σωστός όγκος.

Η μαύρη ένδειξη στο πλάι της ετικέτας του σωληναρίου συλλογής αίματος QFM δείχνει τον όγκο πλήρωσης του 1 ml. Τα σωληνάρια συλλογής αίματος QFM είναι κατασκευασμένα έτσι ώστε να αναρροφούν 1 ml ± 10% και λειτουργούν καλύτερα μέσα σε αυτό το εύρος όγκων. Εάν η στάθμη του αίματος βρίσκεται εκτός του εύρους που φαίνεται από την ενδεικτική γραμμή, θα πρέπει να ληφθεί νέο δείγμα αίματος.

Εάν χρησιμοποιείται βελόνα τύπου πεταλούδας για την αιμοληψία, χρησιμοποιήστε ένα σωληνάριο εκκαθάρισης ώστε να διασφαλιστεί ότι η σωλήνωση έχει γεμίσει με αίμα προτού χρησιμοποιηθούν τα σωληνάρια συλλογής αίματος QFM.

Εάν τα σωληνάρια συλλογής αίματος QFM χρησιμοποιηθούν σε υψόμετρο μεγαλύτερο από τα 810 μέτρα ή αν ο όγκος αίματος που λήφθηκε είναι μικρός, συλλέξτε αίμα με μια σύριγγα και μεταφέρετε αμέσως 1 ml αίματος στο σωληνάριο συλλογής αίματος QFM. Για λόγους ασφάλειας, ο καλύτερος τρόπος να το κάνετε αυτό είναι να αφαιρέσετε τη βελόνα της σύριγγας, σύμφωνα με τις κατάλληλες διαδικασίες ασφάλειας, να αφαιρέσετε το πώμα από το σωληνάριο συλλογής αίματος QFM και να προσθέσετε 1 ml αίματος (μέχρι το κέντρο της μαύρης ένδειξης στο πλάι της ετικέτας του σωληναρίου). Τοποθετήστε ξανά το πώμα με ασφάλεια και αναμείξτε όπως περιγράφεται παρακάτω.

Εάν χρησιμοποιείτε αιμοστατικό επίδεσμο, χαλαρώστε τον μόλις εισαχθεί η βελόνα στη φλέβα ώστε να αποφευχθούν οι διακυμάνσεις στην πίεση που ενδέχεται να επηρεάσουν τον όγκο του αίματος.

Εναλλακτικά, το αίμα μπορεί να συλλεχθεί σε ένα κοινό σωληνάριο με λιθιούχο ηπαρίνη ως αντιπηκτικό και κατόπιν να μεταφερθεί σε σωληνάριο συλλογής αίματος QFM. Χρησιμοποιήστε αποκλειστικά λιθιούχο ηπαρίνη ως αντιπηκτικό αίματος καθώς τα άλλα αντιπηκτικά επηρεάζουν την ανάλυση. Γεμίστε ένα σωληνάριο συλλογής αίματος (ελάχιστος όγκος 3 ml) και ανακινήστε προσεκτικά αναστρέφοντας το σωληνάριο αρκετές φορές ώστε να διαλυθεί η ηπαρίνη. Φυλάξτε το αίμα σε θερμοκρασία δωματίου ( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) προτού το μεταφέρετε σε σωληνάρια συλλογής αίματος QFM για διέγερση με QFM LyoSphere. Βεβαιωθείτε ότι το αίμα έχει αναμειχθεί σχολαστικά με προσεκτική αναστροφή ακριβώς πριν τη μεταφορά. Μεταφέρετε μια μερίδα αίματος 1 ml σε σωληνάριο συλλογής αίματος QFM. Πραγματοποιήστε τη μεταφορά με άσηπτη τεχνική, σύμφωνα με τις κατάλληλες διαδικασίες ασφάλειας, όταν αφαιρείτε το πώμα από το σωληνάριο συλλογής αίματος QFM και προσθέτετε 1 ml αίματος (μέχρι το κέντρο της μαύρης ένδειξης στο πλάι της ετικέτας του σωληναρίου). Τοποθετήστε ξανά τα πώματα των σωληναρίων με ασφάλεια και αναμείξτε τα όπως περιγράφεται παρακάτω.

**3. Αμέσως μόλις γεμίσετε τα σωληνάρια, αναστρέψτε προσεκτικά αρκετές φορές για να διαλυθεί η ηπαρίνη.**

**Σημαντικό:** Η υπερβολική ανακίνηση μπορεί να προκαλέσει αποδιοργάνωση της γέλης και θα μπορούσε να οδηγήσει σε ανώμαλα αποτελέσματα.

**4. Ακριβώς πριν από τη χρήση, αφήστε τα σφαιρίδια QFM LyoSpheres να ισορροπήσουν σε θερμοκρασία δωματίου ( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ).**

**5. Προσθέστε ένα QFM LyoSphere σε 1 ml αίματος, εφαρμόζοντας άσηπτη τεχνική.**

Αφαιρέστε το πώμα του σωληναρίου συλλογής αίματος.

Κτυπήστε προσεκτικά το φιαλίδιο QFM LyoSphere σε μια σκληρή επιφάνεια για να εξασφαλίσετε ότι το σφαιρίδιο θα βρεθεί στον πυθμένα του φιαλιδίου. Αφαιρέστε το πώμα του φιαλιδίου QFM LyoSphere

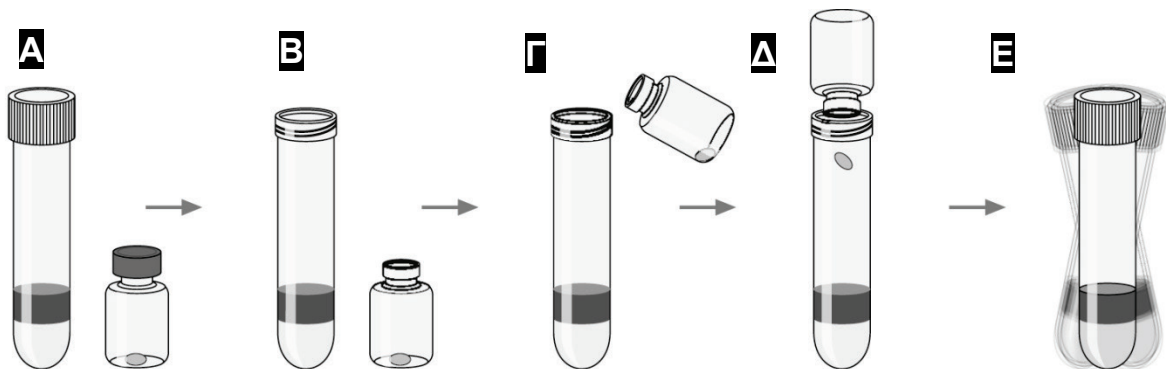
αφαιρώντας πρώτα το μεταλλικό πρεσαριστό κάλυμμα και κατόπιν το πώμα από καουτσούκ.

Ρίξτε προσεκτικά το QFM LyoSphere στο δείγμα αίματος 1 ml, ευθυγραμμίζοντας το χείλος του γυάλινου φιαλιδίου με το χείλος του σωληναρίου συλλογής αίματος QFM και κατόπιν αναστρέψτε το φιαλίδιο προσεκτικά ώστε το QFM LyoSphere να μεταφερθεί στο σωληνάριο συλλογής αίματος QFM (βλ. Εικόνα 1).

**Σημαντικό:** Εάν το QFM LyoSphere πέσει έξω από το σωληνάριο συλλογής αίματος QFM, απορρίψτε το και ανοίξτε ένα άλλο φιαλίδιο QFM LyoSphere.

**Σημαντικό:** Μην αφήσετε το φιαλίδιο QFM LyoSphere ανοικτό για μεγάλο χρονικό διάστημα. Το QFM LyoSphere θα πρέπει να προστεθεί στο αίμα αμέσως μόλις αφαιρεθεί το πώμα του φιαλιδίου.

Εάν προστίθενται QFM LyoSpheres σε αίμα που έχει συλλεχθεί σε σωληνάριο συλλογής αίματος QFM, βεβαιωθείτε ότι τα πώματα των σωληναρίων θα τοποθετηθούν ξανά στα σωστά δείγματα.



**Εικόνα 1. Προσθήκη του QFM LyoSphere.** **A** Σωληνάριο συλλογής αίματος QFM και φιαλίδιο QFM LyoSphere. **B** Αφαιρέστε το πώμα από το σωληνάριο συλλογής αίματος QFM και αφαιρέστε το μεταλλικό πρεσαριστό κάλυμμα και το πώμα από καουτσούκ από το φιαλίδιο QFM LyoSphere. **C** Προσθέστε αμέσως το QFM LyoSphere στο αίμα, ευθυγραμμίζοντας το χείλος του γυάλινου φιαλιδίου με το χείλος του σωληναρίου συλλογής. **D** Κατόπιν, αναστρέψτε προσεκτικά το φιαλίδιο για να μεταφέρετε το LyoSphere στο σωληνάριο συλλογής. **E** Τοποθετήστε ξανά το πώμα του σωληναρίου συλλογής αίματος QFM και ανακινήστε 5–10 φορές.

**6. Τοποθετήστε το πώμα του σωληναρίου συλλογής αίματος QFM και ανακινήστε το 5–10 φορές, όχι πιο έντονα απ' όσο χρειάζεται, για να βεβαιωθείτε ότι το QFM LyoSphere έχει διαλυθεί εντελώς.**

Εάν το QFM LyoSphere προσκολληθεί στην εσωτερική πλευρά του σωληναρίου, μπορείτε να το διαλύσετε καλύπτοντας το LyoSphere με αίμα καθώς αναστρέφετε το σωληνάριο.

Φροντίστε να τοποθετήσετε το πώμα του σωληναρίου αφού προσθέσετε το QFM LyoSphere, ώστε να αποφευχθεί η εσφαλμένη προσθήκη δεύτερου LyoSphere στο ίδιο σωληνάριο.

**Σημείωση:** Επειδή το QFM LyoSphere είναι λευκό, θα πάψει να είναι ορατό μέσα στο αίμα αφού διαλυθεί.

**Σημαντικό:** Η υπερβολική ανακίνηση μπορεί να προκαλέσει αποδιοργάνωση της γέλης και θα μπορούσε να οδηγήσει σε ανώμαλα αποτελέσματα.

- 7. Μετά την προσθήκη και τη διάλυση του QFM LyoSphere, τα σωληνάρια συλλογής αίματος QFM πρέπει να τοποθετηθούν σε επωαστήρα στους  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  το συντομότερο δυνατόν και εντός 8 ωρών από την αιμοληψία.**



# Οδηγίες χρήσης

## Στάδιο 1 — επώαση αίματος και συλλογή πλάσματος

### Υλικά που παρέχονται

- Σωληνάρια συλλογής αίματος QFM (βλ. «Συστατικά και αποθήκευση», σελίδα 6)

### Υλικά που απαιτούνται (αλλά δεν παρέχονται)

- Ανατρέξτε στην παράγραφο «Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται», σελίδα 8

### Διαδικασία

- 1. Επώαστε τα σωληνάρια συλλογής αίματος QFM που περιέχουν μερίδες αίματος 1 ml και QFM LyoSphere OPΘΙΑ στους 37°C ± 1°C επί 16 έως 24 ώρες.**

**Σημείωση:** Για την επώαση δεν απαιτείται ούτε CO<sub>2</sub> ούτε υγρανση.

Μετά την επώαση, τα σωληνάρια συλλογής αίματος QFM μπορούν να φυλαχθούν σε θερμοκρασία μεταξύ 4°C και 27°C μέχρι και για 3 ημέρες πριν από τη φυγοκέντρηση.

- 2. Μετά την επώαση, η συλλογή του πλάσματος διευκολύνεται με φυγοκέντρηση των σωληναρίων συλλογής αίματος QFM επί 15 λεπτά με ταχύτητα 2000 έως 3000 × g (RCF). Το βύσμα γέλης θα διαχωρίσει τα κύτταρα από το πλάσμα. Εάν αυτό δεν συμβεί, φυγοκεντρήστε ξανά τα σωληνάρια.**

Το πλάσμα μπορεί να συλλεχθεί και χωρίς φυγοκέντρηση, αλλά απαιτείται αυξημένη προσοχή ώστε να αφαιρεθεί το πλάσμα χωρίς να διαταραχθούν τα κύτταρα.

- 3. Τα δείγματα πλάσματος θα πρέπει να συλλέγονται αποκλειστικά και μόνο με πιπέτα.**

**Σημαντικό:** Μετά τη φυγοκέντρηση, αποφύγετε την παλινδρόμηση του υγρού κατά την αναρρόφηση και γενικά την ανάδευση του πλάσματος κατ' οποιονδήποτε τρόπο πριν τη συλλογή. Να φροντίζετε πάντοτε να μη διαταράσσετε το υλικό που βρίσκεται στην επιφάνεια της γέλης.

Τα δείγματα πλάσματος μπορούν να φορτωθούν απευθείας από τα φυγοκεντρημένα σωληνάρια συλλογής αίματος QFM στην πλάκα QFM ELISA, ακόμα και όταν χρησιμοποιούνται αυτοματοποιημένοι σταθμοί εργασίας ELISA.

Τα δείγματα πλάσματος μπορούν να φυλαχθούν μέχρι και για 28 ημέρες σε θερμοκρασία 2°C έως 8°C ή σε θερμοκρασία μικρότερη των -20°C για παρατεταμένη χρονική περίοδο εφόσον έχει συλλεχθεί το πλάσμα. Οι

μερίδες του συλλεχθέντος πλάσματος πρέπει να σφραγιστούν πριν από την αποθήκευση.

Εάν συλλέγετε δείγματα πλάσματος, συλλέξτε τουλάχιστον 150 μl πλάσματος ώστε να υπάρχει αρκετή ποσότητα για επανάληψη της εξέτασης, εάν χρειαστεί.

Η ποσότητα της IFN- $\gamma$  σε δείγματα πλάσματος είναι συχνά μεγαλύτερη από το ανώτατο όριο μέτρησης των περισσότερων συσκευών μέτρησης ELISA, ακόμα και σε άτομα με ανοσοκαταστολή μέτριου βαθμού.

Συνιστάται η αραιώση των δειγμάτων πλάσματος σε αναλογία 1:10 ή/και 1:100 με πράσινο αραιωτικό και η μέτρησή τους με ELISA μαζί με μη αραιωμένο πλάσμα (βλ. Στάδιο 2 — ανάλυση ELISA για την IFN- $\gamma$ ).

## Στάδιο 2 — ανάλυση ELISA για την IFN- $\gamma$

### Υλικά που παρέχονται

- Συστατικά κιτ ELISA QuantiFERON Monitor 2 πλακών (βλ. «Συστατικά και αποθήκευση», σελίδα 6)

### Υλικά που απαιτούνται (αλλά δεν παρέχονται)

- Ανατρέξτε στην παράγραφο «Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται», σελίδα 8

### Προετοιμασία

Η ποσότητα της IFN- $\gamma$  στο πλάσμα είναι συχνά μεγαλύτερη από το ανώτατο όριο μέτρησης των περισσότερων συσκευών μέτρησης ELISA, ακόμα και σε άτομα υπό ανοσοκαταστολή μέτριου βαθμού. Σύσταση: Αραιώστε τα δείγματα πλάσματος σε αναλογία 1:10 ή/και 1:100 με πράσινο αραιωτικό και αναλύστε τα με ELISA μαζί με μη αραιωμένο πλάσμα.

Σε περιπτώσεις σοβαρής ανοσοκαταστολής, η προετοιμασία και η ανάλυση ενός μη αραιωμένου δείγματος πλάσματος μόνο μπορεί να αρκεί για τη λήψη ποιοτικού αποτελέσματος.

**Σημείωση:** Για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων θα πρέπει να χρησιμοποιούνται αποτελέσματα δειγμάτων που βρίσκονται εντός του εύρους μέτρησης της μεθόδου QFM ELISA (δηλαδή μέχρι 10 IU/ml). Εάν το μη αραιωμένο πλάσμα βρίσκεται πάνω από το εύρος της QFM ELISA, θα πρέπει να δοθεί ως αναφερόμενο αποτέλεσμα (με μετατροπή βάσει του συντελεστή αραιώσης) η μικρότερη αραιώση που δίνει αποτέλεσμα εντός του εύρους μέτρησης της μεθόδου QFM ELISA.

## Διαδικασία

1. Όλα τα δείγματα πλάσματος και τα αντιδραστήρια, εκτός από το συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x, πρέπει να φθάσουν σε θερμοκρασία δωματίου ( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) πριν τη χρήση. Αφήστε να περάσουν τουλάχιστον 60 λεπτά για εξισορρόπηση.
2. Αφαιρέστε τις περιττές σειρές από το πλαίσιο μικροπλάκας, σφραγίστε ξανά τη θήκη αλουμινίου και τοποθετήστε την ξανά στο ψυγείο για φύλαξη μέχρι την επόμενη χρήση.

Αφήστε τουλάχιστον μία σειρά για τα πρότυπα διαλύματα QFM και επαρκή αριθμό σειρών για τον αριθμό των εξεταζόμενων ασθενών. Μετά τη χρήση, φυλάξτε το πλαίσιο και το καπάκι για χρήση με τις υπόλοιπες σειρές.

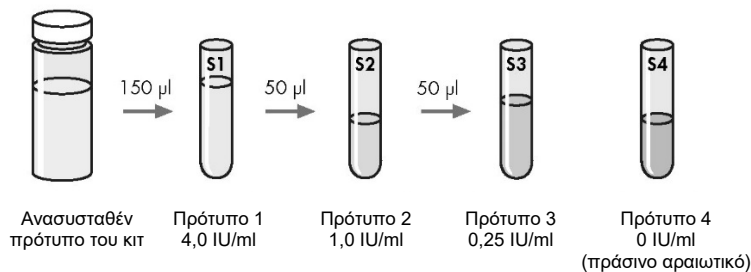
3. Ανασυστήστε το λυόφιλο πρότυπο IFN- $\gamma$  με τον όγκο απιονισμένου ή απεσταγμένου νερού που αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου. Αναμείξτε ήπια ώστε να περιοριστεί στο ελάχιστο ο σχηματισμός αφρού και να διασφαλιστεί πλήρης επαναδιαλυτοποίηση. Η ανασύσταση του προτύπου μέχρι τον καθορισμένο όγκο θα δώσει ένα διάλυμα με συγκέντρωση 8,0 IU/ml.

**Σημαντικό:** Ο όγκος ανασύστασης του προτύπου IFN- $\gamma$  διαφέρει ανάλογα με την παρτίδα. Για να βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιείτε τον σωστό όγκο απιονισμένου ή απεσταγμένου νερού, συμβουλευτείτε την ετικέτα του φιαλιδίου του προτύπου.

Χρησιμοποιήστε το ανασυσταθέν πρότυπο του kit για να σχηματίσετε μια σειρά αραιώσεων IFN- $\gamma$  σε πράσινο αραιωτικό (GD) σε αναλογία 1 προς 2 και στη συνέχεια 1 προς 4 (βλ. Εικόνα 2). Το πρότυπο S1 (Πρότυπο 1) περιέχει 4,0 IU/ml, το S2 (Πρότυπο 2) περιέχει 1,0 IU/ml, το S3 (Πρότυπο 3) περιέχει 0,25 IU/ml και το S4 (Πρότυπο 4) περιέχει 0 IU/ml (GD μόνο). Τα πρότυπα πρέπει να αναλύονται εις διπλούν. Παρασκευάστε νέες αραιώσεις του προτύπου του kit για κάθε περίοδο εργασίας ELISA.

### Συνιστώμενη διαδικασία για διπλά πρότυπα

- α. Επισημάνετε 4 σωληνάρια ως «S1», «S2», «S3», «S4».
- β. Προσθέστε 150 μl GD στα S1, S2, S3 και S4.
- γ. Προσθέστε 150 μl του προτύπου του κιτ στο S1 και αναμείξτε καλά.
- δ. Μεταφέρετε 50 μl από το S1 στο S2 και αναμείξτε καλά.
- ε. Μεταφέρετε 50 μl από το S2 στο S3 και αναμείξτε καλά.
- στ. Ένα σωληνάριο με πράσινο αραιωτικό (GD) μόνο θα χρησιμοποιηθεί ως μηδενικό πρότυπο (S4).



Εικόνα 2. Προετοιμασία της πρότυπης καμπύλης.

4. **Ανασυστήστε το λυόφιλο συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100× με 0,3 ml απιονισμένου ή απεσταγμένου νερού. Αναμείξτε ήπια ώστε να περιοριστεί στο ελάχιστο ο σχηματισμός αφρού και να διασφαλιστεί πλήρης διαλυτοποίηση του συζευγμένου μορίου.**

Η συγκέντρωση εργασίας του συζευγμένου μορίου παρασκευάζεται με αραιώση της απαιτούμενης ποσότητας ανασυσταθέντος συμπυκνώματος συζευγμένου μορίου 100× σε πράσινο αραιωτικό (Πίνακας 1. Παρασκευή συζευγμένου μορίου). Επιστρέψτε το αχρησιμοποίητο συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100× στους 2°C έως 8°C αμέσως μετά τη χρήση. Χρησιμοποιήστε αποκλειστικά πράσινο αραιωτικό.

**Πίνακας 1. Παρασκευή συζευγμένου μορίου**

Αριθμός σειρών	Όγκος συμπυκνώματος συζευγμένου μορίου 100*	Όγκος πράσινου αραιωτικού
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. Τα δείγματα πλάσματος που λαμβάνονται από σωληνάρια συλλογής αίματος και κατόπιν φυλάσσονται ή καταψύχονται πρέπει να αναμιγνύονται προτού προστεθούν στο βύθισμα ELISA.**

**Σημαντικό:** Εάν τα δείγματα πλάσματος προστίθενται απευθείας από τα φυγοκεντρημένα σωληνάρια QFM, θα πρέπει να αποφευχθεί οποιαδήποτε ανακίνηση του πλάσματος. Να φροντίζετε πάντοτε να μη διαταράσσετε το υλικό που βρίσκεται στην επιφάνεια της γέλης.

**6. Σύσταση: Αραιώστε τα δείγματα πλάσματος σε αναλογία 1:10.**

- Προσθέστε 90 µl πράσινου αραιωτικού (GD) σε σωληνάριο επισημασμένο με τα στοιχεία του ασθενούς και την ένδειξη «1:10».
- Κατόπιν προσθέστε 10 µl δειγμάτων αναμεμιγμένου πλάσματος (για λεπτομέρειες σχετικά με τα δείγματα αναμεμιγμένου πλάσματος έναντι δειγμάτων που προστίθενται απευθείας από φυγοκεντρημένα σωληνάρια QFM βλ. βήμα 5).
- Αναμείξτε σχολαστικά με χρήση πιπέτας, αποφεύγοντας τον σχηματισμό αφρού.

**7. Σύσταση: Αραιώστε τα δείγματα πλάσματος σε αναλογία 1:100.**

- Παρασκευάστε μια αραιώση 1:10 (βλ. βήμα 6 παραπάνω).
- Προσθέστε 90 µl πράσινου αραιωτικού σε σωληνάριο επισημασμένο με τα στοιχεία του ασθενούς και την ένδειξη «1:100».

- Προσθέστε 10 μl της αραιώσης 1:10.
- Αναμείξτε σχολαστικά με χρήση πιπέτας, αποφεύγοντας τον σχηματισμό αφρού.

**Σύσταση: Αναλύστε τα παρακάτω δείγματα παράλληλα, με την εξής σειρά:**

- Μη αραιωμένο, 1:10, 1:100

Το λογισμικό ανάλυσης QFM υποστηρίζει επίσης τις παρακάτω επιλογές δειγμάτων ασθενούς:

- Μη αραιωμένο
- 1:10
- 1:100
- 1:10, 1:100
- Μη αραιωμένο, 1:10

8. Προσθέστε 50 μl πρόσφατα παρασκευασμένου διαλύματος συζευγμένου μορίου σε συγκέντρωση εργασίας στα απαιτούμενα βυθίσματα ELISA, χρησιμοποιώντας πολυκάναλη πιπέτα.
9. Προσθέστε 50 μl του εξεταζόμενου δείγματος πλάσματος στα κατάλληλα βυθίσματα, χρησιμοποιώντας πολυκάναλη πιπέτα. Κατόπιν προσθέστε 50 μl από καθένα από τα πρότυπα 1 έως 4. Αναλύστε τα πρότυπα εις διπλούν.
10. Καλύψτε κάθε πλάκα με ένα καπάκι και αναμείξτε σχολαστικά το συζευγμένο μόριο και τα δείγματα πλάσματος/πρότυπα χρησιμοποιώντας συσκευή ανακίνησης μικροπλακών επί 1 λεπτό. Αποφύγετε την εκτίναξη υγρού.
11. Επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου ( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) επί  $120 \pm 5$  λεπτά. Οι πλάκες δεν θα πρέπει να εκτεθούν σε άμεσο ηλιακό φως κατά τη διάρκεια της επώασης.
12. Κατά τη διάρκεια της επώασης, αραιώστε 1 μέρος συμπυκνώματος ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης  $20\times$  με 19 μέρη απιονισμένου ή απεσταγμένου νερού και αναμείξτε σχολαστικά. Παρέχεται επαρκές συμπύκνωμα ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης  $20\times$  για να παρασκευαστούν 2 λίτρα ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης σε συγκέντρωση εργασίας.

Εκπλύνετε τα βυθίσματα με 400 μl ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης σε συγκέντρωση εργασίας επί 6 κύκλους τουλάχιστον, χρησιμοποιώντας συσκευή έκπλυσης μικροπλακών. Συνιστάται η χρήση αυτόματης συσκευής έκπλυσης πλακών.

Η σχολαστική έκπλυση είναι πολύ σημαντική για την εκτέλεση της ανάλυσης. Βεβαιωθείτε ότι όλα τα βυθίσματα **γεμίζουν εντελώς** με ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης για κάθε κύκλο έκπλυσης. Σύσταση:

Υγράνετε τα βυθίσματα επί 5 δευτερόλεπτα τουλάχιστον μεταξύ των κύκλων, για καλύτερα αποτελέσματα.

Προσθέστε ένα κοινό απολυμαντικό εργαστηρίου στη δεξαμενή εκροής και ακολουθήστε τις καθιερωμένες διαδικασίες για την απολύμανση των δυνητικά λοιμογόνων υλικών.

**13. Χτυπήστε τις πλάκες ανάποδα πάνω σε απορροφητικό χαρτί που δεν αφήνει χνούδι για να απομακρυνθεί το εναπομένον ρυθμιστικό διάλυμα έκπλυσης. Προσθέστε 100 μl διαλύματος υποστρώματος ενζύμου σε κάθε βύθισμα, καλύψτε κάθε πλάκα με ένα καπάκι και αναμείξτε σχολαστικά με μια συσκευή ανακίνησης μικροπλακών.**

**14. Επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου ( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) επί 30 λεπτά.**

Οι πλάκες δεν θα πρέπει να εκτεθούν σε άμεσο ηλιακό φως κατά τη διάρκεια της επώασης.

**15. Μετά την επώαση, προσθέστε 50 μl διαλύματος διακοπής ενζυμικής αντίδρασης σε κάθε βύθισμα και αναμείξτε σχολαστικά με μια συσκευή ανακίνησης μικροπλακών.**

Το διάλυμα διακοπής ενζυμικής αντίδρασης θα πρέπει να προστίθεται στα βυθίσματα με την ίδια σειρά και με την ίδια περίπτωση ταχύτητα όπως και το διάλυμα υποστρώματος ενζύμου στο βήμα 13.

**16. Μετρήστε την οπτική πυκνότητα (OD) μέσα σε 5 λεπτά από τη διακοπή της αντίδρασης, χρησιμοποιώντας συσκευή ανάγνωσης μικροπλακών που διαθέτει φίλτρο 450 nm και φίλτρο αναφοράς 620 nm έως 650 nm. Οι τιμές OD χρησιμοποιούνται για να υπολογιστούν τα αποτελέσματα.**

## Υπολογισμοί και ερμηνεία αναλύσεων

Το λογισμικό ανάλυσης QuantiFERON Monitor χρησιμοποιείται για να αναλυθούν τα πρωτογενή δεδομένα και να υπολογιστούν τα αποτελέσματα. Μπορείτε να το προμηθευτείτε από τη διεύθυνση [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Φροντίστε να χρησιμοποιήσετε την πιο πρόσφατη έκδοση του λογισμικού ανάλυσης QuantiFERON Monitor.

Το λογισμικό εκτελεί εκτίμηση ελέγχου ποιότητας στην ανάλυση, σχεδιάζει την πρότυπη καμπύλη και δίνει ένα αποτέλεσμα εξέτασης για κάθε εξεταζόμενο, όπως περιγράφεται στην ενότητα περί ερμηνείας αποτελεσμάτων.

Εάν το μη αραιωμένο πλάσμα δίνει τιμή μεγαλύτερη από το ανώτατο όριο (> 10 IU/ml) της μεθόδου QFM ELISA, το λογισμικό ανάλυσης QuantiFERON Monitor αναφέρει τη μικρότερη αραιώση που δίνει αποτέλεσμα εντός του εύρους της μεθόδου QFM ELISA, λαμβάνοντας υπόψη τον συντελεστή αραιώσης.

Εναλλακτικά, αντί για τη χρήση του λογισμικού ανάλυσης QuantiFERON Monitor, ο προσδιορισμός των αποτελεσμάτων μπορεί να γίνει με την εξής μέθοδο.

## Παραγωγή της πρότυπης καμπύλης

**(εάν δεν χρησιμοποιείται το λογισμικό ανάλυσης QuantiFERON Monitor)**

Προσδιορίστε τις μέσες τιμές OD από τις επαναλήψεις του προτύπου του kit σε κάθε πλάκα.

Κατασκευάστε μια πρότυπη καμπύλη  $\log_{(e)}-\log_{(e)}$ , σχεδιάζοντας τις τιμές  $\log_{(e)}$  της μέσης OD (άξονας y) έναντι των τιμών  $\log_{(e)}$  της συγκέντρωσης IFN- $\gamma$  των προτύπων, σε IU/ml (άξονας x), παραλείποντας το μηδενικό πρότυπο από τους υπολογισμούς αυτούς. Μέσω ανάλυσης παλινδρόμησης, υπολογίστε την καμπύλη καλύτερης προσαρμογής για την πρότυπη καμπύλη.

Χρησιμοποιήστε την πρότυπη καμπύλη για να προσδιορίσετε τη συγκέντρωση της IFN- $\gamma$  (IU/ml) για καθένα από τα εξεταζόμενα δείγματα πλάσματος, με βάση την τιμή OD κάθε δείγματος.

Αυτοί οι υπολογισμοί μπορούν να εκτελεστούν με τα πακέτα λογισμικού που συνοδεύουν τις συσκευές ανάγνωσης μικροπλάκων ή με κοινό λογισμικό λογιστικών φύλλων ή στατιστικής επεξεργασίας (όπως το Microsoft® Excel®). Συνιστάται η χρήση αυτών των πακέτων για την εκτέλεση της ανάλυσης παλινδρόμησης και για τον υπολογισμό του συντελεστή μεταβλητότητας (%CV) για τα πρότυπα και του συντελεστή συσχέτισης ( $r$ ) για την πρότυπη καμπύλη.

Εάν το μη αραιωμένο πλάσμα δίνει τιμή πάνω από το εύρος της QFM ELISA, το αναφερόμενο αποτέλεσμα θα πρέπει να ληφθεί από τη μικρότερη αραιώση που δίνει αποτέλεσμα εντός του εύρους τιμών της μεθόδου QFM ELISA (λαμβάνοντας υπόψη τον συντελεστή αραιώσης).



## Έλεγχος ποιότητας εξέτασης

Η ορθότητα των αποτελεσμάτων εξέτασης εξαρτάται από την παραγωγή μιας ορθής πρότυπης καμπύλης. Συνεπώς, τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τα πρότυπα πρέπει να εξετάζονται προτού ερμηνευτούν τα αποτελέσματα των εξεταζόμενων δειγμάτων.

Για μια έγκυρη ανάλυση ELISA:

- Η μέση τιμή OD για το πρότυπο 1 πρέπει να είναι  $\geq 0,600$ .
- Ο συντελεστής %CV για τις τιμές OD των επαναληπτικών μετρήσεων του προτύπου 1 και του προτύπου 2 πρέπει να είναι  $\leq 15\%$ .
- Οι τιμές OD των επαναληπτικών μετρήσεων του προτύπου 3 και του προτύπου 4 δεν πρέπει να διαφέρουν από τη μέση τιμή κατά περισσότερες από 0,040 μονάδες οπτικής πυκνότητας.
- Ο συντελεστής συσχέτισης ( $r$ ) που υπολογίζεται από τις μέσες τιμές απορρόφησης των προτύπων πρέπει να είναι  $\geq 0,98$ .

Το λογισμικό ανάλυσης QuantiFERON Monitor υπολογίζει και αναφέρει αυτές τις παραμέτρους ελέγχου ποιότητας.

Εάν δεν πληρούνται τα παραπάνω κριτήρια, η ανάλυση είναι άκυρη και πρέπει να επαναληφθεί.

Η μέση τιμή OD για το μηδενικό πρότυπο (πράσινο αραιωτικό) πρέπει να είναι  $\leq 0,150$ . Εάν οι μέσες τιμές OD είναι  $> 0,150$  τότε θα πρέπει να ελεγχθεί η διαδικασία έκπλυσης των πλακών.

## Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα QFM ερμηνεύονται ανάλογα με την απάντηση της IFN- $\gamma$  στους διεγέρτες της εγγενούς και της επίκτητης ανοσίας. Η ανάλυση QFM παρέχει ποιοτική και ποσοτική μέτρηση της ανοσολογικής λειτουργίας. Τα αποτελέσματα της QFM ενδέχεται να μην αποτελούν άμεση ποσοτική μέτρηση του βαθμού ανοσοκαταστολής.

**Σημαντικό:** Κατά την εξακρίβωση της ανοσολογικής κατάστασης ενός ασθενούς, το μετρούμενο επίπεδο IFN- $\gamma$  θα πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με την κλινική εικόνα, το ιατρικό ιστορικό και άλλες διαγνωστικές αξιολογήσεις (Πίνακας 2). Το κατώφλιο της εξέτασης QFM πιθανόν να διαφέρει ανάλογα με τον βαθμό ανοσοκαταστολής του ασθενούς και τις περιστάσεις της εκάστοτε μεταμόσχευσης.

## Πίνακας 2. Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Αποτέλεσμα QFM IFN-γ (IU/ml)	Ταξινόμηση	Ερμηνεία
< 15	Χαμηλή τιμή	Ο ασθενής έχει χαμηλή απάντηση IFN-γ σε διεγέρτες της εγγενούς και της επίκτητης ανοσίας
15–1.000	Μέτρια τιμή	Ο ασθενής έχει μέτρια απάντηση IFN-γ σε διεγέρτες της εγγενούς και της επίκτητης ανοσίας
> 1.000	Υψηλή τιμή	Ο ασθενής έχει υψηλή απάντηση IFN-γ σε διεγέρτες της εγγενούς και της επίκτητης ανοσίας

Εάν το μετρούμενο επίπεδο IFN-γ ενός μη αραιωμένου δείγματος πλάσματος είναι χαμηλότερο από 0,1 IU/ml:

- Βεβαιωθείτε ότι το QFM LyoSphere έχει προστεθεί στο δείγμα αίματος και ότι το σωληνάριο έχει επωαστεί σύμφωνα με τις οδηγίες σε αυτό το ένθετο συσκευασίας.
- Βεβαιωθείτε ότι το αποτέλεσμα IFN-γ συμφωνεί με την τρέχουσα κλινική κατάσταση του ασθενούς.

Εάν υποπτεύεστε τεχνικά προβλήματα κατά τη συλλογή ή τον χειρισμό των δειγμάτων αίματος, επαναλάβετε ολόκληρη την ανάλυση QFM με νέο δείγμα αίματος. Επαναλάβετε την εξέταση ELISA των διεγερμένων δειγμάτων πλάσματος εάν υποπτεύεστε ότι η αρχική εξέταση παρουσίαζε αποκλίσεις από τη διαδικασία που περιγράφεται σε αυτό το ένθετο συσκευασίας (για λεπτομέρειες, βλ. «Έλεγχος ποιότητας της εξέτασης»).

Ο ιατρός ίσως επιλέξει να επαναλάβει την εξέταση εάν τα αποτελέσματα δεν συμφωνούν με την τρέχουσα κλινική κατάσταση του ασθενούς.

## Περιορισμοί

Τα αποτελέσματα των εξετάσεων QFM πρέπει να αξιοποιούνται σε συνδυασμό με πληροφορίες από το κλινικό ιστορικό, την υφιστάμενη κατάσταση της υγείας και άλλες διαγνωστικές αξιολογήσεις του ατόμου. Τα εργαστήρια μπορούν να επιλέξουν να ορίσουν δικά τους εύρη τιμών για την ανάλυση αυτή.

Τα εργαστήρια μπορούν επίσης να επιλέξουν να αναλύσουν ένα δείγμα εξωτερικού ελέγχου, που έχει ληφθεί από υγιές άτομο, παράλληλα με τα δείγματα των ασθενών.

Αναξιόπιστα ή λανθασμένα αποτελέσματα ενδέχεται να ληφθούν λόγω:

- Λανθασμένου αντιπηκτικού αίματος — χρησιμοποιείτε μόνο λιθιούχο ηπαρίνη επειδή τα άλλα αντιπηκτικά επηρεάζουν την ανάλυση.
- Αποκλίσεων από τη διαδικασία που περιγράφεται σε αυτό το ένθετο συσκευασίας.
- Υπερβολικών επιπέδων IFN- $\gamma$  στην κυκλοφορία ή παρουσίας ετερόφιλων αντισωμάτων.
- Παρέλευσης άνω των 8 ωρών μεταξύ της αιμοληψίας και της επώασης στους 37°C.
- Ελλιπούς ή υπερβολικής πλήρωσης των σωληναρίων αίματος QFM εκτός του εύρους 0,9–1,1 ml.

## Χαρακτηριστικά απόδοσης

### Κλινικές μελέτες

Διεξήχθησαν δύο κλινικές μελέτες προκειμένου να αξιολογηθούν οι απαντήσεις φαινομενικά υγιών ατόμων (n = 114) έναντι ληπτών μοσχευμάτων (n = 30).

Από τους λήπτες μοσχευμάτων, οι 18 ανήκαν στην ομάδα πρώιμης μετεγχειρητικής φάσης (Early Post-Tx, εντός 3 μηνών μετά τη μεταμόσχευση) και οι 12 ανήκαν στην ομάδα όψιμης μετεγχειρητικής ή σταθερής φάσης (Late Post-Tx, > 12 μήνες μετά τη μεταμόσχευση).

- Από κάθε άτομο της ομάδας Early Post-Tx συλλέχθηκαν δείγματα σε 5 ή λιγότερα χρονικά σημεία (ομάδα 3 μηνών μετά τη μεταμόσχευση, n = 64 δείγματα).
- Από κάθε άτομο της ομάδας Late Post-Tx συλλέχθηκαν δείγματα σε 1 χρονικό σημείο (ομάδα όψιμης φάσης μετά τη μεταμόσχευση, n = 12 δείγματα).
- Από κάθε άτομο της φαινομενικά υγιούς ομάδας συλλέχθηκαν δείγματα 1 φορά (n = 114).

Οι απαντήσεις στην ανάλυση QFM κυμαίνονταν από χαμηλές έως μέτριες στα δείγματα Early Post-Tx και Late Post-Tx. Η ομάδα Early Post-Tx παρουσίασε

υψηλότερο (93,8%) ποσοστό απαντήσεων στο χαμηλό εύρος και χαμηλότερο (6,3%) ποσοστό απαντήσεων στο μέτριο εύρος σε σύγκριση με την ομάδα Late Post-Tx, με 25% των απαντήσεων στο χαμηλό εύρος και 66,7% στο μέτριο εύρος (Πίνακας 3). Καμία από τις απαντήσεις της ομάδας Early Post-Tx δεν βρισκόταν στο υψηλό εύρος απαντήσεων ενώ μόνο 1 (8,3%) απάντηση της ομάδας Late Post-Tx βρισκόταν στο υψηλό εύρος απαντήσεων. Οι απαντήσεις QFM στη φαινομενικά υγιή ομάδα βρίσκονταν κυρίως στο μέτριο (83,3%) και στο υψηλό (15,8%) εύρος απαντήσεων (Πίνακας 3).

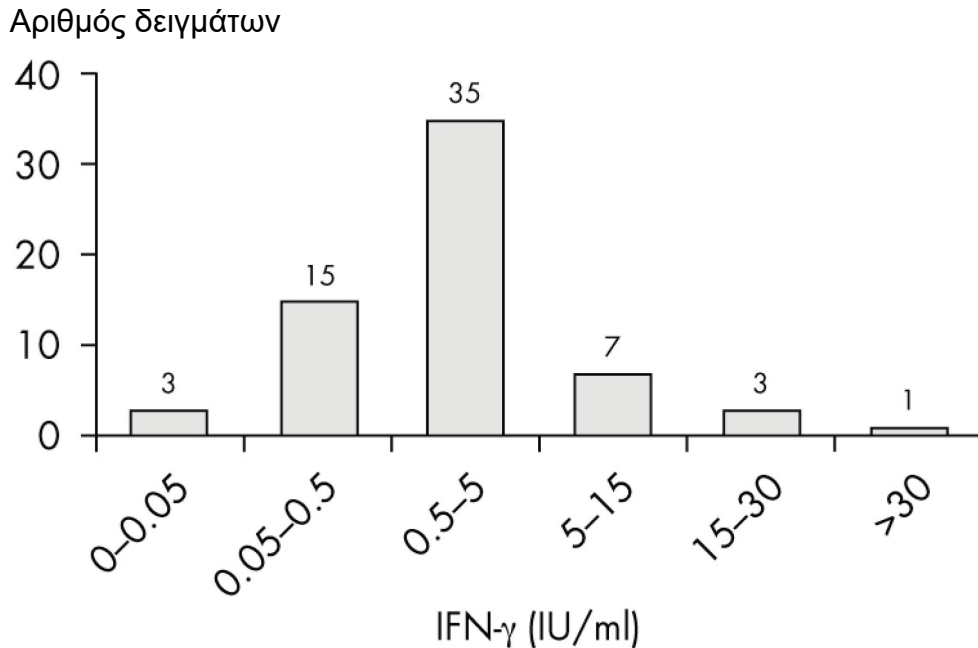
**Πίνακας 3. Εύρος απαντήσεων QFM σε φαινομενικά υγιή άτομα έναντι ληπτών μοσχεύματος**

IFN- $\gamma$ (IU/ml)	Κατηγορία αποτελε- σμάτων	Early Post-Tx %* 95% CI n	Late Post-Tx %* 95% CI n	Φαινο- μενικά υγιής %* 95% CI n	Σύνολο αποτελε- σμάτων
< 15	Χαμηλή τιμή	93,8% 85,0–97,5 n = 60	25,0% 8,9–53,2 n = 3	0,9% 0,2–4,8 n = 1	<b>64</b>
15–1.000	Μέτρια τιμή	6,3% 2,5–15,0 n = 4	66,7% 39,1–86,2 n = 8	83,3% 75,4–89,1 n = 95	<b>107</b>
> 1.000	Υψηλή τιμή	0,0% 0–5,7 n = 0	8,3% 1,5–35,4 n = 1	15,8% 10,2–23,6 n = 18	<b>19</b>
Σύνολο δειγμάτων		<b>64</b>	<b>12</b>	<b>114</b>	<b>190</b>

\* Τα ποσοστά δείχνουν το ποσοστό των δειγμάτων κάθε ομάδας δοτών που εμπίπτουν στο αντίστοιχο εύρος απαντήσεων.

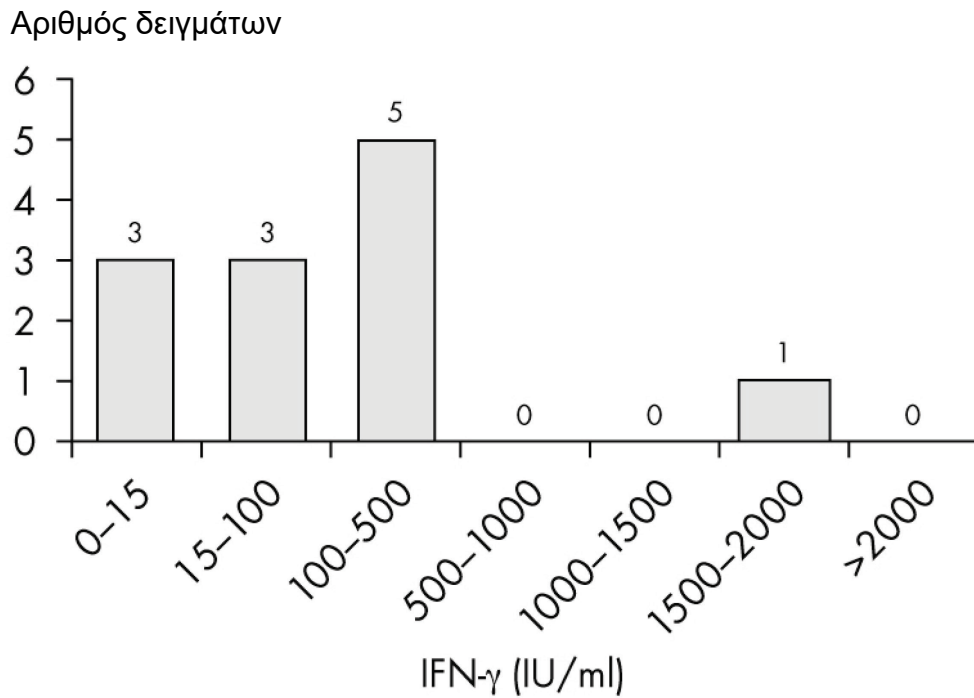
### Αναμενόμενες τιμές

Η κατανομή των απαντήσεων IFN- $\gamma$  στην QFM σε ασθενείς στην πρώιμη μετεγχειρητική φάση (μέχρι 3 μήνες μετά τη μεταμόσχευση) προσδιορίστηκε από 64 δείγματα που συλλέχθηκαν από 18 λήπτες μοσχεύματος με τη μέθοδο QFM ELISA (Εικόνα 3).



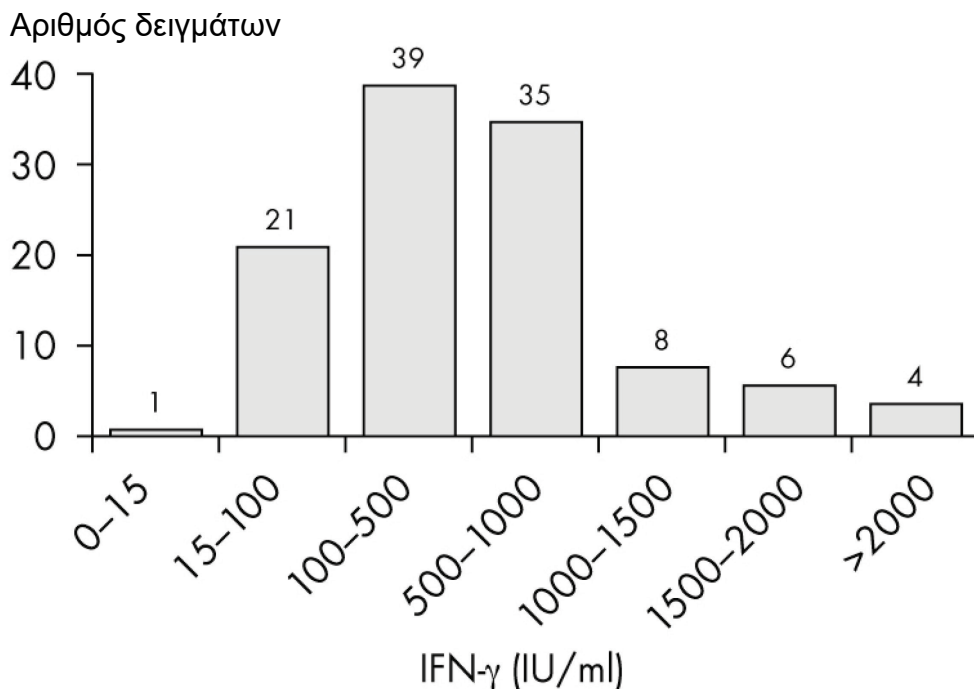
**Εικόνα 3.** Κατανομή των απαντήσεων QFM IFN- $\gamma$  σε ασθενείς στην πρώιμη φάση μετά από μεταμόσχευση (n = 64, διάμεση τιμή = 1,5 IU/ml).

Η κατανομή των απαντήσεων IFN- $\gamma$  στην QFM σε ασθενείς στην όψιμη μετεγχειρητική φάση (> 12 μήνες μετά τη μεταμόσχευση) προσδιορίστηκε από 12 δείγματα με τη μέθοδο QFM ELISA (Εικόνα 4).



**Εικόνα 4. Κατανομή των απαντήσεων QFM IFN-γ σε ασθενείς στην όψιμη φάση μετά από μεταμόσχευση (n = 12, διάμεση τιμή = 98,8 IU/ml).**

Η κατανομή των απαντήσεων IFN-γ στην ανάλυση QuantiFERON Monitor σε φαινομενικά υγιή άτομα προσδιορίστηκε από 114 δείγματα με τη μέθοδο QFM ELISA (Εικόνα 5).



**Εικόνα 5. Κατανομή των απαντήσεων QFM IFN-γ σε φαινομενικά υγιή άτομα (n = 114, διάμεση τιμή = 400,5 IU/ml).**

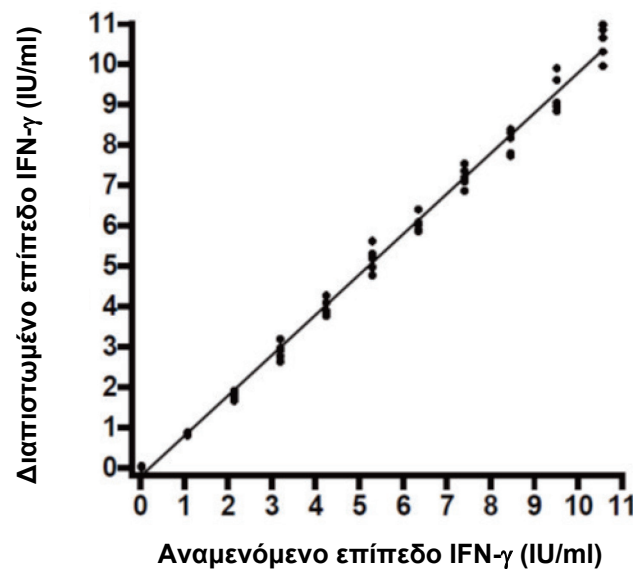
## Απαντήσεις QFM σε ασθενείς μετά από μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων

Η QFM αξιολογήθηκε σε μια συγχρονική μελέτη παρατήρησης ασθενών μετά από μεταμόσχευση συμπαγών οργάνων (4). Η μελέτη περιλάμβανε: 212 υγιή άτομα με μια υποομάδα 30 μαρτύρων αντίστοιχης ηλικίας και φύλου, 30 ασθενείς πριν από μεταμόσχευση, 18 ασθενείς στην πρώιμη φάση μετά από μεταμόσχευση (66 δείγματα, διάμεσος χρόνος μετά τη μεταμόσχευση = 21 ημέρες) και 11 ασθενείς στην όψιμη φάση μετά από μεταμόσχευση (διάμεσος χρόνος μετά τη μεταμόσχευση = 2290 ημέρες). Η μέση παραγωγή IFN- $\gamma$  ήταν 555,2 IU/ml στους υγιείς μάρτυρες και 614,6 IU/ml στους μάρτυρες αντίστοιχης ηλικίας και φύλου. Βρέθηκε ότι η μέση παραγωγή IFN- $\gamma$  ήταν σημαντικά χαμηλότερη στους ασθενείς πριν από μεταμόσχευση (IFN- $\gamma$  = 89,3 IU/ml) και στην πρώιμη φάση μετά από μεταμόσχευση (IFN- $\gamma$  = 3,76 IU/ml) σε σύγκριση με τους μάρτυρες αντίστοιχης ηλικίας και φύλου ( $p < 0,001$ ). Η ανάκαμψη της ανοσολογικής λειτουργίας σε ασθενείς στην όψιμη φάση μετά από μεταμόσχευση (μέσο επίπεδο IFN- $\gamma$  = 256,1 IU/ml) παρατηρήθηκε και αποδείχθηκε σημαντικά υψηλότερη απ' ό,τι σε ασθενείς στην πρώιμη φάση μετά από μεταμόσχευση ( $p < 0,05$ ). Αυτή η μελέτη δείχνει ότι η QFM μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την εκτίμηση της κυτταροεξαρτώμενης ανοσολογικής λειτουργίας στον πληθυσμό ανοσοκατεσταλμένων ληπτών μοσχευμάτων συμπαγών οργάνων.

## Χαρακτηριστικά απόδοσης ανάλυσης

Η γραμμικότητα της μεθόδου QFM ELISA αποδείχτηκε με τυχαία τοποθέτηση 5 επαναληπτικών δειγμάτων από 11 δεξαμενές πλάσματος με γνωστές συγκεντρώσεις IFN- $\gamma$  πάνω στην πλάκα ELISA. Η καμπύλη γραμμικής παλινδρόμησης έχει κλίση  $1,002 \pm 0,011$  και συντελεστή συσχέτισης 0,99 (Εικόνα 6).

Το όριο ανίχνευσης της μεθόδου QFM ELISA είναι 0,065 IU/ml, ενώ η μέθοδος δεν εμφανίζει στοιχεία φαινομένου προζώνης (υψηλών δόσεων) σε συγκεντρώσεις IFN- $\gamma$  έως 10.000 IU/ml.



Εικόνα 6. Το προφίλ γραμμικότητας της μεθόδου QFM ELISA, όπως προσδιορίστηκε με ανάλυση 5 επαναλήψεων 11 δειγμάτων πλάσματος με γνωστή συγκέντρωση IFN- $\gamma$ .

Η αναπαραγωγιμότητα της ανάλυσης QFM (Στάδιο 1) προσδιορίστηκε με χρήση δειγμάτων αίματος από 20 υγιή άτομα. Αξιολογήθηκαν τρεις διαφορετικοί χειριστές, παρτίδες QFM LyoSphere και σύνολα εξοπλισμού. Ο μέσος συντελεστής μεταβλητότητας των επιπέδων απάντησης IFN- $\gamma$  που προσδιορίστηκαν με την ανάλυση QFM ELISA στις τρεις παρτίδες QFM LyoSpheres και τις τρεις συνθήκες που δοκιμάστηκαν ήταν 22,22% (95% CI: 17,20–27,25).

Η επαναληψιμότητα της ανάλυσης QFM (Στάδιο 1) αξιολογήθηκε με μέτρηση της μεταβλητότητας 5–6 επαναληπτικών διεγέρσεων αίματος με QFM LyoSphere με τον ίδιο δότη για 14 άτομα. Ο μέσος συντελεστής μεταβλητότητας στα 14 άτομα που εξετάστηκαν ήταν 14,7% (95% CI: 10,2–19,2). Ο συντελεστής %CV για τα μεμονωμένα άτομα ήταν μικρότερος από 30%.



Η αναπαραγωγιμότητα της ανάλυσης QFM ELISA (Στάδιο 2) υπολογίστηκε με εξέταση 20 δειγμάτων πλάσματος με ποικίλες συγκεντρώσεις IFN- $\gamma$  σε 3 επαναλήψεις, σε 3 διαφορετικά εργαστήρια, σε 3 μη διαδοχικές ημέρες και από 3 χειριστές. Συνεπώς κάθε δείγμα εξετάστηκε 27 φορές σε 9 ανεξάρτητες σειρές αναλύσεων. Το ένα δείγμα ήταν δείγμα μηδενικού ελέγχου και είχε υπολογιζόμενη συγκέντρωση IFN- $\gamma$  ίση με 0,08 IU/ml (95% CI: 0,07–0,09). Στα υπόλοιπα 19 δείγματα πλάσματος, οι συγκεντρώσεις κυμαίνονταν από 0,33 (95% CI: 0,31–0,34) έως 7,7 IU/ml (95% CI: 7,48–7,92).

Η ανακρίβεια εντός σειράς αναλύσεων εκτιμήθηκε με υπολογισμό του μέσου όρου των συντελεστών %CV για κάθε εξεταζόμενο πλάσμα που περιείχε IFN- $\gamma$  από κάθε σειρά αναλύσεων πλάκας ( $n = 9$ ) και κυμάνθηκε από 4,1 έως 9,1 %CV. Η μέση τιμή %CV εντός σειράς αναλύσεων ( $\pm 95\%$  CI) ήταν  $6,6\% \pm 0,6\%$ . Η μέση τιμή του πλάσματος μηδενικής IFN- $\gamma$  ήταν 14,1 %CV.

Η συνολική ανακρίβεια μεταξύ αναλύσεων προσδιορίστηκε με σύγκριση των 27 υπολογισμένων συγκεντρώσεων IFN- $\gamma$  για κάθε δείγμα πλάσματος. Η ανακρίβεια μεταξύ αναλύσεων κυμάνθηκε από 6,6 έως 12,3 %CV. Η συνολική μέση τιμή %CV ( $\pm 95\%$  CI) ήταν  $8,7\% \pm 0,7\%$ . Το δείγμα πλάσματος μηδενικής IFN- $\gamma$  είχε 26,1 %CV. Αυτό το επίπεδο μεταβλητότητας είναι αναμενόμενο επειδή η υπολογιζόμενη συγκέντρωση IFN- $\gamma$  είναι χαμηλή και η μεταβλητότητα γύρω από τις χαμηλές εκτιμώμενες τιμές συγκέντρωσης θα είναι υψηλότερη απ' ό,τι γύρω από υψηλές συγκεντρώσεις.

## Τεχνικές πληροφορίες

### Θρομβωμένα δείγματα πλάσματος

Εάν σχηματιστούν θρόμβοι ινώδους κατά τη μακροχρόνια φύλαξη των δειγμάτων πλάσματος, φυγοκεντρήστε τα δείγματα ώστε να κατακρημνιστεί το θρομβωμένο υλικό και να διευκολυνθεί η αναρρόφηση του πλάσματος.

## Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων

Αυτός ο οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων μπορεί να σας βοηθήσει στην επίλυση ενδεχόμενων προβλημάτων. Για περισσότερες πληροφορίες, δείτε επίσης τις τεχνικές πληροφορίες που παρέχονται στον ιστότοπο: [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Για πληροφορίες επικοινωνίας, δείτε το οπισθόφυλλο.

### Αντιμετώπιση προβλημάτων με την ανάλυση ELISA

---

#### Μη ειδική ανάπτυξη χρώματος

Πιθανή αιτία	Λύση
α) Ατελής έκπλυση της πλάκας	Εκπλύνετε την πλάκα τουλάχιστον 6 φορές με 400 μl ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης ανά βύθισμα. Ενδέχεται να χρειαστούν περισσότεροι από 6 κύκλοι έκπλυσης, ανάλογα με τη χρησιμοποιούμενη συσκευή έκπλυσης. Συνιστάται η εκτέλεση διαβροχής διάρκειας τουλάχιστον 5 δευτερολέπτων μεταξύ των κύκλων.
β) Διασταυρούμενη μόλυνση των βυθισμάτων ELISA	Απαιτείται προσοχή κατά την αναρρόφηση με πιπέτα και την ανάμειξη των δειγμάτων ώστε να ελαχιστοποιηθούν οι κίνδυνοι.
γ) Το κιτ ή τα συστατικά του έχουν λήξει	Βεβαιωθείτε ότι το κιτ θα χρησιμοποιηθεί πριν από την ημερομηνία λήξης. Βεβαιωθείτε ότι το ανασυσταθέν πρότυπο και το συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100× θα χρησιμοποιηθούν εντός 3 μηνών από την ημερομηνία ανασύστασης.
δ) Το διάλυμα υποστρώματος-ενζύμου είναι ακάθαρτο	Απορρίψτε το υπόστρωμα εάν παρουσιάζει μπλε χρωματισμό. Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιούνται καθαρά δοχεία αντιδραστηρίων.
ε) Ανάμειξη του πλάσματος στα σωληνάρια QFM πριν τη συλλογή	Μετά τη φυγοκέντρηση, αποφύγετε την παλινδρόμηση του υγρού κατά την αναρρόφηση και γενικά την ανάδευση του πλάσματος κατ' οποιονδήποτε τρόπο πριν τη συλλογή. Να φροντίζετε πάντοτε να μη διαταράσσετε το υλικό που βρίσκεται στην επιφάνεια της γέλης.

## Αντιμετώπιση προβλημάτων με την ανάλυση ELISA

---

### Χαμηλές μετρήσεις οπτικής πυκνότητας με τα πρότυπα

Πιθανή αιτία	Λύση
α) Σφάλμα αραιώσης προτύπου	Βεβαιωθείτε ότι οι αραιώσεις του προτύπου του κιτ παρασκευάζονται σωστά, σύμφωνα με αυτό το ένθετο συσκευασίας.
β) Σφάλμα αναρρόφησης	Βεβαιωθείτε ότι οι πιπέτες βαθμονομούνται και χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.
γ) Πολύ χαμηλή θερμοκρασία επώασης	Η επώαση της ELISA θα πρέπει να εκτελείται σε θερμοκρασία δωματίου (17°C έως 27°C).
δ) Πολύ μικρός χρόνος επώασης	Επωάστε την πλάκα με το συζευγμένο μόριο, τα πρότυπα και τα δείγματα επί 120 ± 5 λεπτά. Επωάστε το διάλυμα υποστρώματος ενζύμου στην πλάκα επί 30 λεπτά.
ε) Χρήση λανθασμένου φίλτρου ανάγνωσης πλάκας	Η ανάγνωση της πλάκας θα πρέπει να γίνει στα 450 nm με φίλτρο αναφοράς μεταξύ 620 και 650 nm.
στ) Υπερβολικά ψυχρά αντιδραστήρια	Όλα τα αντιδραστήρια, εκτός από το συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x, πρέπει να φθάσουν σε θερμοκρασία δωματίου προτού ξεκινήσει η ανάλυση. Για να γίνει αυτό χρειάζεται περίπου μία ώρα.
ζ) Το κιτ ή τα συστατικά του έχουν λήξει	Βεβαιωθείτε ότι το κιτ θα χρησιμοποιηθεί πριν από την ημερομηνία λήξης. Βεβαιωθείτε ότι το ανασυσταθέν πρότυπο και το συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x θα χρησιμοποιηθούν εντός 3 μηνών από την ημερομηνία ανασύστασης.

### Υψηλό υπόβαθρο

Πιθανή αιτία	Λύση
α) Ατελής έκπλυση της πλάκας	Εκπλύνετε την πλάκα τουλάχιστον 6 φορές με 400 μl ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης ανά βύθισμα. Ενδέχεται να χρειαστούν περισσότεροι από 6 κύκλοι έκπλυσης, ανάλογα με τη χρησιμοποιούμενη συσκευή έκπλυσης. Συνιστάται η εκτέλεση διαβροχής διάρκειας τουλάχιστον 5 δευτερολέπτων μεταξύ των κύκλων.

## Αντιμετώπιση προβλημάτων με την ανάλυση ELISA

---

- β) Πολύ υψηλή θερμοκρασία επώασης Η επώαση της ELISA θα πρέπει να εκτελείται σε θερμοκρασία δωματίου (17°C έως 27°C).
- γ) Το κιτ ή τα συστατικά του έχουν λήξει Βεβαιωθείτε ότι το κιτ θα χρησιμοποιηθεί πριν από την ημερομηνία λήξης. Βεβαιωθείτε ότι το ανασυσταθέν πρότυπο και το συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100× θα χρησιμοποιηθούν εντός τριών μηνών από την ημερομηνία ανασύστασης.
- δ) Το διάλυμα υποστρώματος-ενζύμου είναι ακάθαρμο Απορρίψτε το υπόστρωμα εάν παρουσιάζει μπλε χρωματισμό. Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιούνται καθαρά δοχεία αντιδραστηρίων.

### Μη γραμμική πρότυπη καμπύλη και μεταβλητότητα επαναλήψεων

- Πιθανή αιτία Λύση
- α) Ατελής έκπλυση της πλάκας Εκπλύνετε την πλάκα τουλάχιστον 6 φορές με 400 μl ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης ανά βύθισμα. Ενδέχεται να χρειαστούν περισσότεροι από 6 κύκλοι έκπλυσης, ανάλογα με τη χρησιμοποιούμενη συσκευή έκπλυσης. Συνιστάται η εκτέλεση διαβροχής διάρκειας τουλάχιστον 5 δευτερολέπτων μεταξύ των κύκλων.
- β) Σφάλμα αραιώσης προτύπου Βεβαιωθείτε ότι οι αραιώσεις του προτύπου παρασκευάζονται σωστά, σύμφωνα με αυτό το ένθετο συσκευασίας.
- γ) Κακή ανάμειξη Αναμείξτε σχολαστικά τα αντιδραστήρια με αναστροφή ή μαλακή περιδίνηση προτού τα προσθέσετε στην πλάκα.
- δ) Ανομοιόμορφη τεχνική αναρρόφησης με πιπέτα ή διακοπή κατά την προετοιμασία της ανάλυσης Η προσθήκη δειγμάτων και προτύπων θα πρέπει να γίνεται με συνεχή τρόπο. Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να παρασκευάζονται πριν την έναρξη της ανάλυσης.

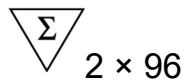
**Πληροφορίες προϊόντων και τεχνικοί οδηγοί διατίθενται δωρεάν από την QIAGEN, μέσω του αντιπροσώπου σας ή μέσω της διεύθυνσης [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com).**

## Βιβλιογραφία

Ένας πλήρης κατάλογος βιβλιογραφικών παραπομπών για την QFM βρίσκεται στο Gnowee — τη βιβλιοθήκη βιβλιογραφίας QuantiFERON, στη διεύθυνση [www.gnowee.net](http://www.gnowee.net).

1. Abbas, A.K., Lichtman, A.H., and Pillai, S. (2012) *Cellular and Molecular Immunology*. 7<sup>th</sup> 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.

## Σύμβολα



Επαρκής ποσότητα για την προετοιμασία 2 × 96 δειγμάτων



Νόμιμος κατασκευαστής



Σύμβολο σήμανσης CE-IVD



Για in vitro διαγνωστική χρήση



Κωδικός παρτίδας



Αριθμός καταλόγου



Ημερομηνία λήξης



Περιορισμός θερμοκρασίας



Ανατρέξτε στις οδηγίες χρήσης



Μην επαναχρησιμοποιείτε



Διατηρήστε το προϊόν μακριά από την ηλιακή ακτινοβολία



Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα

## Πληροφορίες επικοινωνίας

Για τεχνική υποστήριξη και περισσότερες πληροφορίες, καλέστε ατελώς το 00800-22-44-6000, επισκεφθείτε το Κέντρο Τεχνικής Υποστήριξης στην ιστοσελίδα [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) ή απευθυνθείτε σε κάποιο από τα τμήματα Τεχνικής Υποστήριξης της QIAGEN (δείτε το οπισθόφυλλο ή επισκεφθείτε την ιστοσελίδα [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

# Συνοπτική διαδικασία ανάλυσης

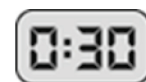
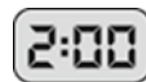
## Στάδιο 1 — επώαση αίματος

1. Συλλέξτε το αίμα του ασθενούς σε σωληνάριο συλλογής αίματος QFM ή σε σωληνάριο συλλογής αίματος με λιθιούχο ηπαρίνη. Επισημάνετε τα σωληνάρια με τα στοιχεία των ασθενών και την ώρα της αιμοληψίας και κατόπιν μεταφέρετέ τα στο εργαστήριο, σε θερμοκρασία περιβάλλοντος, εντός 8 ωρών από την αιμοληψία.
  - α. Εάν το αίμα συλλέχθηκε σε σωληνάριο λιθιούχου ηπαρίνης, μεταφέρετε 1 ml αίματος σε σωληνάριο συλλογής αίματος QFM και επισημάνετε το σωληνάριο με τα στοιχεία του ασθενούς και την ώρα της αιμοληψίας.
2. Προσθέστε 1 QFM LyoSphere σε κάθε σωληνάριο συλλογής αίματος QFM που περιέχει 1 ml αίματος, διαλύστε το LyoSphere και κατόπιν επωάστε τα σωληνάρια όσο το δυνατόν νωρίτερα (εντός 8 ωρών από την αιμοληψία) **όρθια** για 16–24 ώρες στους 37°C.
3. Μετά την επώαση, φυγοκεντρήστε τα σωληνάρια επί 15 λεπτά σε ταχύτητα 2.000 έως 3.000 × g (RCF) για να διαχωρίσετε το πλάσμα από τα ερυθροκύτταρα.
4. Μετά τη φυγοκέντρηση, αποφύγετε την παλινδρόμηση του υγρού κατά την αναρρόφηση και γενικά την ανάδευση του πλάσματος κατ' οποιοδήποτε τρόπο πριν τη συλλογή. Να φροντίζετε πάντοτε να μη διαταράσσετε το υλικό που βρίσκεται στην επιφάνεια της γέλης.



## Στάδιο 2 — ανάλυση ELISA για την IFN- $\gamma$

1. Αφήστε τα συστατικά της ELISA, εκτός του συμπυκνώματος συζευγμένου μορίου 100 $\times$ , να ισορροπήσουν σε θερμοκρασία δωματίου επί 60 λεπτά τουλάχιστον.
2. Ανασυστήστε το πρότυπο του kit σε συγκέντρωση 8,0 IU/ml με αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό. Παρασκευάστε 4 τυπικές αραιώσεις.
3. Ανασυστήστε το λυόφιλο συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100 $\times$  με αποσταγμένο ή απιονισμένο νερό.
4. Παρασκευάστε ένα διάλυμα εργασίας συζευγμένου μορίου σε πράσινο αραιωτικό και προσθέστε 50  $\mu$ l σε όλα τα βυθίσματα.
5. Προσθέστε 50  $\mu$ l των εξεταζόμενων δειγμάτων πλάσματος (μη αραιωμένων και σε αραιώση 1:10 και 1:100, όπως απαιτείται) και 50  $\mu$ l προτύπων στα κατάλληλα βυθίσματα. Αναμείξτε με συσκευή ανακίνησης.
6. Επωάστε επί 120  $\pm$  5 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
7. Εκπλύνετε τα βυθίσματα τουλάχιστον 6 φορές με 400  $\mu$ l ρυθμιστικού διαλύματος έκπλυσης ανά βύθισμα.
8. Προσθέστε 100  $\mu$ l διαλύματος υποστρώματος ενζύμου στα βυθίσματα. Αναμείξτε με συσκευή ανακίνησης.
9. Επωάστε επί 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.
10. Προσθέστε 50  $\mu$ l διαλύματος διακοπής ενζυμικής αντίδρασης σε όλα τα βυθίσματα. Αναμείξτε με συσκευή ανακίνησης.
11. Διαβάστε τα αποτελέσματα στα 450 nm, με φίλτρο αναφοράς στα 620 έως 650 nm.
12. Αναλύστε τα αποτελέσματα.





## Σημειώσεις

## Σημαντικές αλλαγές

Οι σημαντικές αλλαγές σε αυτήν την έκδοση του ενθέτου συσκευασίας QuantiFERON Monitor® (QFM®) ELISA συνοψίζονται στον παρακάτω πίνακα:

<b>Ενότητα</b>	<b>Σελίδα</b>	<b>Αλλαγές</b>
Προφυλάξεις	11	Νέες πληροφορίες GHS
Προφυλάξεις	12	Προστέθηκαν οδηγίες ασφαλείας σχετικά με τα φιαλίδια που διαθέτουν πρεσαριστό κάλυμμα.

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, QFM®, QuantiFERON®, QuantiFERON Monitor® (Όμιλος QIAGEN), LyoSphere™, LyoSpheres™ (BioLymph), Excel®, Microsoft® (Microsoft), ProClim® (Rohm and Haas Co.).

#### **Άδεια περιορισμένης χρήσης για το κιτ QuantiFERON Monitor**

Η χρήση του προϊόντος αυτού συνεπάγεται την αποδοχή των παρακάτω όρων εκ μέρους του αγοραστή ή του χρήστη του προϊόντος:

1. Το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποκλειστικά και μόνο όπως ορίζεται στα πρωτόκολλα που παρέχονται μαζί με το προϊόν και όπως ορίζεται στο εγχειρίδιο αυτό, και μόνο με τα συστατικά που περιλαμβάνονται στο κιτ. Η QIAGEN δεν παρέχει άδεια χρήσης υπό οποιαδήποτε πνευματική ιδιοκτησία της για τη χρήση ή ενσωμάτωση των παρεχόμενων συστατικών αυτού του κιτ σε οποιαδήποτε συστατικά που δεν περιλαμβάνονται σε αυτό το κιτ, παρά μόνον όπως περιγράφεται στα πρωτόκολλα που παρέχονται μαζί με το προϊόν, στο εγχειρίδιο αυτό, και στα συμπληρωματικά πρωτόκολλα που διατίθενται στον ιστότοπο [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Ορισμένα από αυτά τα συμπληρωματικά πρωτόκολλα παρέχονται από χρήστες της QIAGEN για χρήση από χρήστες της QIAGEN. Αυτά τα πρωτόκολλα δεν έχουν δοκιμαστεί σχολαστικά ούτε έχουν βελτιστοποιηθεί από την QIAGEN. Η QIAGEN δεν παρέχει καμία εγγύηση επ' αυτών, ούτε εγγυάται πως αυτά δεν παραβιάζουν δικαιώματα τρίτων.
2. Εκτός από τις άδειες που αναφέρονται ρητά, η QIAGEN δεν εγγυάται ότι αυτό το κιτ ή/και η χρήση(εις) του δεν παραβιάζουν τα δικαιώματα τρίτων.
3. Αυτό το κιτ και τα συστατικά του παραχωρούνται με άδεια για μία μόνο χρήση και δεν επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση, η επανεπεξεργασία, η ανακατασκευή ή η μεταπώλησή τους.
4. Η QIAGEN αποποιείται ειδικά κάθε άλλη άδεια, ρητή ή σιωπηρή, εκτός από αυτές που αναφέρονται ρητά.
5. Ο αγοραστής και ο χρήστης του κιτ συμφωνούν να μην προβούν και να μην επιτρέψουν σε κανέναν να προβεί σε ενέργειες οι οποίες θα μπορούσαν να προκαλέσουν ή να διευκολύνουν τις ενέργειες που απαγορεύονται σύμφωνα με τα προαναφερθέντα. Η QIAGEN διατηρεί το δικαίωμα να επιβάλει τις απαγορεύσεις της παρούσας Άδειας περιορισμένης χρήσης σε οποιοδήποτε δικαστήριο και πρέπει να αποζημιωθεί για όλες τις δαπάνες ανάκρισης και δικαστηρίου, συμπεριλαμβανομένων των δικηγορικών αμοιβών, στο πλαίσιο οποιασδήποτε ενέργειας για την επιβολή της παρούσας Άδειας περιορισμένης χρήσης ή οποιοδήποτε εκ των δικαιωμάτων πνευματικής της ιδιοκτησίας σχετικά με το κιτ και/ή τα συστατικά του.

Για τους ενημερωμένους όρους της άδειας, ανατρέξτε στην ιστοσελίδα [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2014 QIAGEN, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

---

**www.qiagen.com**

**Australia** ■ [techservice-au@qiagen.com](mailto:techservice-au@qiagen.com)

**Austria** ■ [techservice-at@qiagen.com](mailto:techservice-at@qiagen.com)

**Belgium** ■ [techservice-bnl@qiagen.com](mailto:techservice-bnl@qiagen.com)

**Brazil** ■ [suportetecnico.brasil@qiagen.com](mailto:suportetecnico.brasil@qiagen.com)

**Canada** ■ [techservice-ca@qiagen.com](mailto:techservice-ca@qiagen.com)

**China** ■ [techservice-cn@qiagen.com](mailto:techservice-cn@qiagen.com)

**Denmark** ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

**Finland** ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

**France** ■ [techservice-fr@qiagen.com](mailto:techservice-fr@qiagen.com)

**Germany** ■ [techservice-de@qiagen.com](mailto:techservice-de@qiagen.com)

**Hong Kong** ■ [techservice-hk@qiagen.com](mailto:techservice-hk@qiagen.com)

**India** ■ [techservice-india@qiagen.com](mailto:techservice-india@qiagen.com)

**Ireland** ■ [techservice-uk@qiagen.com](mailto:techservice-uk@qiagen.com)

**Italy** ■ [techservice-it@qiagen.com](mailto:techservice-it@qiagen.com)

**Japan** ■ [techservice-jp@qiagen.com](mailto:techservice-jp@qiagen.com)

**Korea (South)** ■ [techservice-kr@qiagen.com](mailto:techservice-kr@qiagen.com)

**Luxembourg** ■ [techservice-bnl@qiagen.com](mailto:techservice-bnl@qiagen.com)

**Mexico** ■ [techservice-mx@qiagen.com](mailto:techservice-mx@qiagen.com)

**The Netherlands** ■ [techservice-bnl@qiagen.com](mailto:techservice-bnl@qiagen.com)

**Norway** ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

**Singapore** ■ [techservice-sg@qiagen.com](mailto:techservice-sg@qiagen.com)

**Sweden** ■ [techservice-nordic@qiagen.com](mailto:techservice-nordic@qiagen.com)

**Switzerland** ■ [techservice-ch@qiagen.com](mailto:techservice-ch@qiagen.com)

**UK** ■ [techservice-uk@qiagen.com](mailto:techservice-uk@qiagen.com)

