

2018. gada februāris

# QuantiFERON<sup>®</sup>-CMV ELISA

## Iepakojuma ieliktnis



Pilnasiņu gamma interferona (IFN- $\gamma$ ) tests, kas paredzēts, lai noteiktu atbildes reakciju uz cilvēku citomegalovīrusu peptīdu antigēniem

**IVD** Lietošanai "in vitro" diagnostikā



**REF** 0350-0201



QIAGEN, 19300 Germantown Road, Germantown,  
MD 20874, ASV. Tel.nr. +1-800-426-8157

**EC** **REP** QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,  
VĀCIJA

1075110LV 05. izd.



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



# Saturs

Paredzētais lietojums .....	5
Kopsavilkums un skaidrojums .....	5
Procedūras princips .....	6
<b>Testa veikšanai nepieciešamais laiks</b> .....	7
Nodrošinātie materiāli .....	8
<b>Komplekta komponenti</b> .....	8
Nepieciešamie materiāli, kas netiek nodrošināti .....	9
Brīdinājumi un piesardzības pasākumi .....	9
<b>Informācija par drošību</b> .....	11
Reāģentu glabāšana un lietošana .....	12
Paraugu ņemšana un apstrāde .....	13
Procedūra .....	16
1. solis: Asins paraugu inkubācija un plazmas atdalīšana .....	16
2. solis: Cilvēka IFN- $\gamma$ noteikšana ar QuantiFERON-CMV ELISA testu .....	17
Aprēķini un testa rezultātu interpretācija .....	22
Standarta līknes izveidošana (ja netiek izmantota QF-CMV analīžu veikšanas programmatūra) .....	22
Testa kvalitātes kontrole .....	23
Rezultātu interpretācija .....	24
Ierobežojumi .....	25
Sagaidāmās vērtības .....	25
Darbības raksturojums .....	28

---

Klīniskā veiktspēja.....	28
Testa sliekšnis .....	28
Klīniskie pētījumi.....	29
Specifiskums .....	29
Jūtība .....	30
Pētījumi, kas izceļ klīnisko lietderību.....	30
Starptautiska konsensa pamatnostādnes par citomegalovīrusu izraisītu sasilimšanu pārvaldību, transplantējot parenhimatozos orgānus .....	35
Testa veiktspējas raksturojums .....	36
Tehniskā informācija.....	38
Nenoteikti rezultāti.....	38
Receklājaini plazmas paraugi.....	38
Problēmu novēršanas ieteikumi .....	39
Atsauces.....	41
Simboli.....	43
Kontaktinformācija .....	44
Saīsināta ELISA testa procedūra.....	45
1. solis: Asins paraugu inkubācija .....	45
2. solis: IFN- $\gamma$ ELISA .....	45
Rokasgrāmatas rediģēšanas vēsture.....	48

## Paredzētais lietojums

QuantIFERON-CMV ELISA (QF-CMV) ir *in vitro* tests, kurā tiek izmantots peptīdu maisījums, kas simulē cilvēka citomegalovīrusa (cytomegalovirus, CMV) olbaltumvielas, lai ierosinātu ar heparīnu apstrādātas pilnasiņu šūnas. Gamma interferona (interferon-gamma, IFN $\gamma$ ) noteikšanai tiek izmantots enzīmu imūnsorbcijas tests (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA), lai kvantitatīvi noteiktu *in vitro* atbildes reakciju uz tiem peptīdu antigēniem, kas tiek saistīti ar CMV infekcijas imunoloģisko kontroli. Šādas imunoloģiskas reakcijas zudums var būt saistīts ar CMV slimības attīstību. QF-CMV testu ir paredzēts lietot, lai uzraudzītu pacientu imunitātes līmeni pret CMV.

QF-CMV tests nav paredzēts CMV infekcijas noteikšanai, un to nedrīkst lietot CMV infekcijas izslēgšanai.

## Kopsavilkums un skaidrojums

CMV ir herpes vīruss, ar ko inficējas aptuveni 50–85% no pieaugušo populācijas. Tā ir bieža komplikācija novājinātas imunitātes gadījumā, jo īpaši pēc transplantācijas, kas var ievērojami palielināt saslimstību un mirstību pacientiem, kuriem transplantēts kāds orgāns. Pašreizējā imūnsupresijas terapija, ko lieto, lai pasargātu no transplantētā orgāna atgrūšanas, nelabvēlīgi ietekmē T limfocītu un šūnu imūno (cell-mediated immune, CMI) reakciju, tā izraisot paaugstinātu uzņēmību pret vīrusu izraisītām infekcijām pēc transplantācijas. T šūnu darbības nozīmi CMV replikācijas nomākšanā izceļ arī fakts, ka CD8<sup>+</sup> CMV specifiskie citotoksiskie T limfocīti (cytotoxic T-lymphocytes, CTL) var aizsargāt no vīrusu ierosinātām slimībām. CD8<sup>+</sup> CMV specifisko CTL uzskaitē pacientiem ar imūnsupresiju un IFN $\gamma$  veidošanās ļauj prognozēt risku saslimt ar CMV slimību. IFN $\gamma$  veidošanos var izmantot kā funkcionālu aizstājēju, lai identificētu CMV specifiskos CTL.

QF-CMV ir tests, lai noteiktu CMI atbildes reakcijas uz peptīdu antigēniem, kas simulē CMV olbaltumvielas. CMV peptīdi ir paredzēti, lai iedarbotos uz CD8<sup>+</sup> T šūnām, tostarp uz HLA I klases haplotīpiem A1, A2, A3, A11, A23, A24, A26, B7, B8, B27, B35, B40, B41, B44, B51, B52, B57, B58, B60 un Cw6 (A30, B13), kas ir >98% no cilvēku populācijas. Individīdiem, kas inficēti ar CMV, parasti asinīs ir CD8<sup>+</sup> limfocīti, kas šos antigēnus atpazīst. Šis atpazīšanas process ietver citokīna IFN $\gamma$  veidošanu un sekrēciju. Šī testa pamatā ir IFN $\gamma$  noteikšana un tālāka kvantitatīvā aprēķināšana.

## Procedūras princips

QF-CMV tests tiek veikts divos posmos. Vispirms tiek paņemts asins paraugs katrā QF-CMV asins analīžu stobriņā, t.i. nulles kontroles stobriņā, CMV antigēna stobriņā un mitogēna stobriņā.

Mitogēna stobriņš QF-CMV testā tiek izmantots kā pozitīvā kontrole. Tas var būt īpaši nepieciešams, ja pastāv šaubas par personas imūnstatusu. Mitogēna stobriņš var kalpot arī kā pareizas asins apstrādes un inkubācijas kontrole.

Stobriņi jāinkubē 37 °C pēc iespējas drīzāk, bet ne vēlāk kā 16 stundu laikā pēc parauga ņemšanas. Pēc 16–24 stundu inkubācijas perioda stobriņi tiek centrifugēti, tiek atdalīta plazma un ar QF-CMV ELISA testu tiek noteikts IFN $\gamma$  daudzums (SV/ml).

IFN $\gamma$  daudzums CMV antigēna un mitogēna stobriņu plazmas paraugos bieži vien var pārsniegt lielākās daļas ELISA testa rādījumu nolaišanās augstākās robežvērtības pat tādos gadījumos, ja indivīdiem ir mērena imūnsupresija. Lai iegūtu kvalitatīvus rezultātus, izmantojiet tīrai plazmai aprēķinātās vērtības. Ja kvantitatīvajiem rezultātiem nepieciešamas faktiskās SV/ml vērtības, plazmas paraugi jāatšķaida attiecībā 1/10 ar zaļo atšķaidītāju un jāveic ELISA tests kopā ar tīru plazmu.

**Piezīme:** Ja paraugi ir QF-CMV ELISA testa diapazonā (t.i. līdz 10 SV/ml), jāizmanto ar tīru plazmas paraugu iegūtais rezultāts. Ja šādām IFN $\gamma$  koncentrācijām tiek izmantoti plazmas paraugi ar atšķaidījumu 1/10, iegūtās vērtības var būt neprecīzas.

Tiek uzskatīts, ka IFN $\gamma$  atbilde testā ir pozitīva, ja CMV antigēna stobriņa rādījums ievērojami pārsniedz nulles stobriņa IFN $\gamma$  SV/ml vērtību. Mitogēna stimulētais plazmas paraugs kalpo kā IFN $\gamma$  pozitīvā kontrole katram testētajam paraugam. Vāja atbildes reakcija uz mitogēnu norāda uz nenoteiktu rezultātu, ja arī asins parauga atbilde uz CMV antigēniem ir negatīva. Šāds modelis var īstenoties, ja ir nepietiekams limfocītu daudzums, samazināta limfocītu aktivitāte nepareizas parauga apstrādes dēļ, nepareiza mitogēna stobriņa uzpilde/maisīšana vai pacienta limfocīti nespēj veidot IFN $\gamma$  – piemēram, pacientiem, kuriem nesena veikta transplantācija. Nulles paraugs tiek koriģēts ar fonu vai nespecifisku IFN $\gamma$  asins paraugos. Nulles stobriņa IFN $\gamma$  līmenis tiek atņemts no IFN $\gamma$  CMV antigēna stobriņa un mitogēna stobriņa līmeņa (izklāstu par QF-CMV testa rezultātu interpretēšanu skatiet šī iepakojuma ieliktna sadaļā “Rezultātu interpretācija” 24. lappusē).

## Testa veikšanai nepieciešamais laiks

Tālāk novērtēts QF-CMV testa veikšanai nepieciešamais laiks; ir norādīts arī laiks vairāku paraugu testēšanai, tos testējot kopā.

Asins stobriņu inkubācija 37 °C temperatūrā:

16–24 stundas

ELISA tests:

aptuveni 3 stundas vienai ELISA testa platei  
mazāk nekā 1 stunda darba

Pieskaitiet 10–15 minūtes par katru papildu plati.

# Nodrošinātie materiāli

## Komplekta komponenti

<b>Blood Collection Tubes (Single Patient Pack)</b>	
<b>Kataloga nr.</b>	<b>0192-0301</b>
<b>Sagatavju skaits</b>	<b>1</b>
QuantiFERON Nil Control (QuantiFERON nulles kontrole) (pelēks vāciņš)	1 stobriņš
QuantiFERON CMV Antigen (QuantiFERON CMV antigēns) (zils vāciņš)	1 stobriņš
QuantiFERON Mitogen Control (QuantiFERON mitogēna kontrole) (violets vāciņš)	1 stobriņš
QF-CMV Blood Collection Tubes Package Insert (QF-CMV asins analīžu stobriņu iepakojuma ieliktnis)	1

<b>QuantiFERON-CMV ELISA tests</b>	<b>2 plašu ELISA komplekts</b>
<b>Kataloga nr.</b>	<b>0350-0201</b>
Mikroplates plātnītes (12×8 iedobītes), pārklātas ar IFN $\gamma$ monoklonālu antivielu, kas iegūta no pelēm un reaģē uz cilvēka imūnsistēmu	2 komplekti ar 12×8 iedobīšu mikroplates plātnītēm
Human IFN- $\gamma$ - Standard, lyophilized (cilvēka IFN $\gamma$ standarts, liofilizēts; satur rekombinantu cilvēka IFN $\gamma$ , govu kazeīnu, 0,01% svāra/tilpuma timerosalu)	1 flakons (8 SV/ml pēc pagatavošanas)
Green Diluent (zaļais atšķaidītājs; satur govu kazeīnu, standarta peļu serumu, 0,01% svāra/tilpuma timerosalu)	1 × 30 ml
Conjugate 100x Concentrate, lyophilized (konjugāta 100x koncentrāts, liofilizēts) (no pelēm iegūts, uz cilvēku imūnsistēmu reaģējošs IFN $\gamma$ HRP, satur 0,01% svāra/tilpuma timerosalu)	1 × 0,3 ml
Wash Buffer 20x Concentrate (skalošanas buferšķīduma 20x koncentrāts; pH 7,2, satur 0,05% tilpuma ProClin® 300)	1 × 100 ml
Enzyme Substrate Solution (enzīmu substrāta šķīdums; satur H $_2$ O $_2$ , 3,3', 5,5' tetrametilbenzidīnu)	1 × 30 ml
Enzyme Stopping Solution (enzīmu darbības pārtraukšanas šķīdums; satur 0,5 M H $_2$ SO $_4$ )*	1 × 15 ml
QF-CMV ELISA Package Insert (QF-CMV ELISA iepakojuma ieliktnis)	1

\* Satur sērskābi. Informāciju par piesardzības pasākumiem sk. 9. lpp.



# Nepieciešamie materiāli, kas netiek nodrošināti

Strādājot ar ķīmiskām vielām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles. Lai saņemtu papildinformāciju, iepazīstieties ar attiecīgajām drošības datu lapām (Safety Data Sheets, SDS), kas ir pieejamas pie produkta piegādātāja.

- 37 °C inkubators; CO<sub>2</sub> nav nepieciešams
- Kalibrētas pipetes ar maināmu tilpumu 10–1000 µl šķīduma pārvešanai ar vienreizējas lietošanas uzgaļiem
- Kalibrētas daudzkanālu pipetes, tilpums 50 µl un 100 µl, ar vienreizējas lietošanas uzgaļiem
- Mikroplašu kratītājs
- Dejonizēts vai destilēts ūdens, 2 litri
- Ierīce mikroplašu skalošanai (ieteicama automātiska skalošanas ierīce)
- Mikroplašu lasītājs ar 450 nm filtru un 620–650 nm references filtru

## Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

Lietošanai *in vitro* diagnostikā

Strādājot ar ķīmiskām vielām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles. Lai iegūtu papildinformāciju, lūdzu, iepazīstieties ar attiecīgajām drošības datu lapām (SDS). Tās ērtā un kompaktā PDF formātā ir pieejamas vietnē [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), kur katram QIAGEN® komplektam un tā sastāvdaļām var atrast, apskatīt un izdrukāt SDS.

**UZMANĪBU!**



Rīkojoties ar cilvēku asinīm, ievērojiet, ka tās var būt infekciozas. Ievērojiet atbilstošās asins paraugu apstrādes vadlīnijas.

Tālāk norādītie riska un piesardzības pasākumu paziņojumi attiecas uz QuantiFERON-CMV ELISA sastāvdaļām.

**QuantiFERON Enzyme Stopping Solution**



Satur: sulfuric acid. Brīdinājums! Var kodīgi iedarboties uz metāliem. Kairina ādu. Izraisa nopietnu acu kairinājumu. Izmantot aizsargcimdus/ aizsargdrēbes/ acu aizsargus/ sejas aizsargus.

**QuantiFERON Enzyme Substrate Solution**

Brīdinājums! Izraisa vieglu ādas kairinājumu. Izmantot aizsargcimdus/ aizsargdrēbes/ acu aizsargus/ sejas aizsargus.

**QuantiFERON Green Diluent**



Satur: trinātrijs 5-hidroksi-1-(4-sulfofenil)-4-(4-sulfofenilazo) pirazol-3-karboksilātu. Satur: tartrazine. Brīdinājums! Var izraisīt alerģisku ādas reakciju. Izmantot aizsargcimdus/ aizsargdrēbes/ acu aizsargus/ sejas aizsargus.

**QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate**

Satur: ProClin 300. Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām. Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē.

## Informācija par drošību

### Papildinformācija

- Novirzes no QF-CMV lietošanas pamācībā sniegtajiem norādījumiem var izraisīt kļūdainus rezultātus. Pirms lietošanas rūpīgi izlasiet norādījumus.
- Nelietojiet komplektu, ja pirms lietošanas kāda reaģenta pudele izskatās bojāta vai tai ir noplūde.
- **Svarīgi.** Pirms lietošanas pārbaudiet flakonus. Neizmantojiet konjugāta vai IFN $\gamma$  flakonus, kam redzamas bojājumu pazīmes vai ir bojāts gumijas aizbāznis. Neizmantojiet saplēstus flakonus. Veiciet atbilstošus piesardzības pasākumus, lai tos utilizētu drošā veidā.

**Leteikumi:** Konjugāta vai IFN $\gamma$  standarta flakonu atvēršanai izmantojiet speciālas knaibles, lai mazinātu risku savainoties no metāla vāciņa.

- Nejauciet kopā un nelietojiet vienlaikus mikroplates plātnītes, cilvēka IFN $\gamma$  standartu, zaļo atšķaidītāju vai konjugāta 100 $\times$  koncentrātu no citām QF-CMV komplektu sērijām. Citus reaģentus (skalošanas buferšķīduma 20 $\times$  koncentrātu, enzīmu substrāta šķīdumu un enzīmu darbības pārtraukšanas šķīdumu) var lietot no dažādiem komplektiem, pieņemot, ka nav beidzies reaģentu derīguma termiņš un tie ir no vienas partijas.
- Neizlietotos reaģentus un paraugus izmetiet saskaņā ar vietējiem un valstī pastāvošajiem noteikumiem.
- Neizmantojiet QF-CMV testa asins analīžu stobriņus vai QF-CMV ELISA testa komplektus pēc derīguma termiņa beigām.
- Pārliecinieties, vai laboratorijas aprīkojums, piemēram, plašu skalošanas ierīces un lasītāji, ir kalibrēts/apstiprināts lietošanai.

# Reaģentu glabāšana un lietošana

## Asins analīžu stobriņi

- Uzglabājiet QF-CMV asins analīžu stobriņus 4–25 °C temperatūrā.
- Asins paraugu ņemšanas laikā QF-CMV asins analīžu stobriņu temperatūrai ir jābūt 17–25°C.
- QF-CMV asins analīžu stobriņu maksimālais uzglabāšanas laiks ir 15 mēneši no ražošanas datuma, ja tie tiek glabāti 4–25 °C temperatūrā.

## ELISA komplekta reaģenti

- Uzglabājiet komplektu 2–8°C temperatūrā.
- Vienmēr aizsargājiet enzīmu substrāta šķīdumu no tiešu saules staru ietekmes.

## Pagatavotie un neizmantotie reaģenti

Reaģentu pagatavošanas norādījumus, lūdzu, skatiet sadaļā “2. solis: Cilvēka IFN- $\gamma$  noteikšana ar QuantiFERON-CMV ELISA testu” (3. un 5. darbība 17. un 19. lappusē).

- Pagatavoto cilvēka IFN $\gamma$  standarta šķīdumu var uzglabāt līdz 3 mēnešiem 2–8 °C temperatūrā.  
Pierakstiet datumu, kurā cilvēka IFN $\gamma$  standarta šķīdums tika pagatavots.
- Pēc pagatavošanas neizlietotais konjugāta 100 $\times$  koncentrāts atkal jānovieto glabāšanai 2–8 °C temperatūrā un jāizlieto 3 mēnešu laikā.  
Pierakstiet datumu, kurā konjugāts tika pagatavots.
- Konjugāta darba šķīdums jāizlieto 6 stundu laikā pēc tā sagatavošanas.
- Skalošanas buferšķīduma darba šķīdumu var glabāt istabas temperatūrā (22 $\pm$ 5 °C) ne ilgāk kā 2 nedēļas.

# Paraugu ņemšana un apstrāde

QF-CMV testā tiek lietoti šādi asins analīžu stobriņi:

- Nil Control (nulles kontrole) (pelēks vāciņš);
- CMV Antigen (CMV antigēns) (zils vāciņš);
- Mitogen Control (mitogēna kontrole) (violets vāciņš).

Antigēni tiek izžāvēti uz asins analīžu stobriņu iekšējās sienas, tāpēc ir svarīgi, lai stobriņu saturs tiktu rūpīgi sajaukts ar asinīm. Stobriņi jāievieto inkubatorā 37 °C temperatūrā pēc iespējas drīzāk, bet ne vēlāk kā 16 stundu laikā pēc parauga ņemšanas.

Lai iegūtu optimālus rezultātus, ievērojiet šīs procedūras:

1. Veicot vēnas punkciju, no katra pacienta paņemiet 1 ml asiņu tieši katrā QF-CMV asins analīžu stobriņā. Šī procedūra ir jāveic apmācītam flebotomistam.

QF-CMV asins analīžu stobriņus var izmantot, ja neatrodaties augstāk par 810 metriem virs jūras līmeņa.

Ja QF-CMV asins analīžu stobriņus izmantojat vietās, kas atrodas augstāk par 810 metriem virs jūras līmeņa, vai ir vērojams mazs asins pieplūdums, asinis var ņemt ar šļirci un pa 1 ml uzreiz iepildīt katrā no trīs stobriņiem. Drošības apsvērumu dēļ šī procedūra jāveic, noņemot šļirces adatu, nodrošinot attiecīgās drošības procedūras, noņemot vāciņus no trīs QF-CMV testa stobriņiem un iepildot 1 ml asiņu katrā no tiem (līdz melnajai atzīmei uz stobriņa sāniem). Stingri uzlieciet atpakaļ stobriņu vāciņus un samaisiet, kā aprakstīts tālāk. Tā kā, lietojot 1 ml stobriņus, asins ņemšana notiek samērā lēni, turiet stobriņu pie adatas vēl 2–3 sekundes pēc stobriņa uzpildes, lai nodrošinātu pareiza daudzuma paņemšanu.

Melnā atzīme uz stobriņa sāniem norāda, ciktāl jāiepilda asinis, lai būtu paņemts 1 ml tilpuma paraugs. QF-CMV testa asins analīžu stobriņi ir validēti tilpumam diapazonā no 0,8 līdz 1,2 ml. Ja kādā no stobriņiem asins līmenis neietilpst atzīmētajā diapazonā, ir jāņem jauns asins paraugs.

Ja asins ņemšanai izmanto tauriņdatum, tad ar tukša stobriņa palīdzību jānodrošina, lai būtu piepildīta tauriņadatai pievienotā caurulīte, pirms tiek lietoti QF-CMV testa asins analīžu stobriņi.

Asins paraugu var paņemt arī vienā kopējā asins analīžu stobriņā, kurā kā antikoagulants ir litija heparīns, un pēc tam paraugu pārliet QF-CMV stobriņos. Kā asins antikoagulantu izmantojiet tikai litija heparīnu, jo citi antikoagulanti traucē testa veikšanai. Piepildiet asins analīžu stobriņu (minimālais tilpums: 5 ml) un uzmanīgi samaisiet asinis, apgriežot stobriņu vairākas reizes, lai izšķīdinātu heparīnu. Šī procedūra ir jāveic apmācītam flebotomistam. Asins paraugi ir jāglabā istabas temperatūrā ( $22\pm 5$  °C), pirms asinis tiek pārlietas QF-CMV stobriņos inkubācijai, kas ir jāsāk 16 stundu laikā pēc asins parauga paņemšanas.

2. Uzreiz pēc QF-CMV stobriņu piepildīšanas sakratiet tos 10 reizes tikai tik spēcīgi, lai nodrošinātu visas stobriņa iekšējās virsmas pārklāšanos ar asinīm. Tādējādi tiek izšķīdināti uz stobriņa sienām esošie antigēni.

Asins uzpildes laikā stobriņa temperatūrai jābūt no 17 līdz 25 °C.

Pārāk spēcīga kratīšana var izraisīt gela izšķīšanu, kas var būt par iemeslu neprecīziem rezultātiem.

Ja asinis ir paņemtas litija heparīna stobriņā, paraugi pirms dozēšanas QF-CMV stobriņos ir vienmērīgi jāsamaisa. Nodrošini, lai asinis tiktu kārtīgi samaisītas, uzmanīgi vairākkārt apgriežot stobriņu tieši pirms dozēšanas. Dozējiet 1 ml daļas (vienu katrā QF-CMV stobriņā) atbilstošā nulles, CMV antigēna un mitogēna stobriņā. Šo darbību ieteicams veikt aseptiski, nodrošinot attiecīgo drošības procedūru ievērošanu, noņemot vāciņus no trīs QF-CMV testa stobriņiem un iepildot 1 ml asiņu katrā no tiem (līdz melnajai atzīmei uz stobriņa sāniem). Stingri uzlieciet atpakaļ stobriņu vāciņus un samaisiet, kā aprakstīts iepriekš.

3. Atbilstoši marķējiet stobriņus.

Pārlicinieties, vai katru stobriņu (nulle, CMV antigēna, mitogēna) var identificēt pēc etiķetes vai kā citādi.

4. Pēc piepildīšanas, sakratīšanas un marķēšanas stobriņi jāievieto inkubatorā  $37\pm 1$  °C temperatūrā pēc iespējas drīzāk, bet ne vēlāk kā 16 stundas pēc parauga paņemšanas. Pirms inkubācijas glabājiet stobriņus istabas temperatūrā ( $22\pm 5$  °C). Asins paraugus nedrīkst glabāt ledusskapī vai saldētavā.

# Procedūra

## 1. solis: Asins paraugu inkubācija un plazmas atdalīšana

1. Inkubējiet stobriņus STĀVUS 16–24 stundas  $37 \pm 1$  °C temperatūrā. CO<sub>2</sub> vai mitrināšana inkubatorā nav nepieciešama.

**Svarīgi.** Ja asins paraugi netiek inkubēti uzreiz pēc paņemšanas, pirms inkubēšanas atkārtoti samaisiet to saturu, apvēršot stobriņus 10 reizes.

Pēc inkubācijas un pirms centrifugēšanas asins analīžu stobriņus var glabāt ne ilgāk kā 3 diennaktis 4–27 °C temperatūrā.

2. Pēc stobriņu inkubēšanas 37 °C plazmu var iegūt, 15 minūtes centrifugējot stobriņus ar ātrumu 2000–3000 RCF (g). Gela korķis šūnas atdalīs no plazmas. Ja tas nenotiek, stobriņi jācentrifugē vēlreiz.

Plazmu var iegūt arī bez centrifugēšanas, tomēr papildu uzmanība jāpievērš tam, lai plazmu atdalītu, nesabojājot šūnas.

3. Pēc centrifugēšanas un pirms plazmas iegūšanas izvairieties no pipetēšanas augšup un lejup vai jebkāda veida plazmas maisīšanas. Vienmēr ievērojiet piesardzību, lai nesabojātu materiālu uz gela virsmas.

**Svarīgi.** Plazmas paraugus drīkst iegūt tikai ar pipeti.

No centrifugētiem asins analīžu stobriņiem plazmas paraugus var pārliet tieši QF-CMV ELISA platē arī tad, ja tiek izmantotas automatizētas ELISA testa ierīces.

Plazmas paraugus var glabāt centrifugētos QF-CMV stobriņos ne ilgāk kā 28 dienas 2–8 °C temperatūrā, bet, iegūstot tīru plazmu, ilgāku laiku temperatūrā, kas zemāka par -20 °C (ieteicams zemākā par -70°C).

Lai iegūtu piemērotus testa paraugus, iegūstiet vismaz 150 µl plazmas.



## 2. solis: Cilvēka IFN- $\gamma$ noteikšana ar QuantiFERON-CMV ELISA testu

Nepieciešamos materiālus, lai veiktu ELISA testu, skatiet sadaļas “Komplekta komponenti” 8. lappusē un “Nepieciešamie materiāli, kas netiek nodrošināti” 9. lappusē.

1. Visi plazmas paraugi un reaģenti, izņemot konjugāta 100 $\times$  koncentrātu, pirms lietošanas jāsasilda līdz istabas temperatūrai (22 $\pm$ 5 °C). Nepieciešamās temperatūras sasniegšanai jāatvēl vismaz 60 minūtes.

2. Izņemiet no rāmja ELISA testa plātnītes, kas netiek izmantotas, ielieciet tās atpakaļ folija iepakojumā un līdz lietošanai glabājiet ledusskapī.

Jāparedz vismaz viena plātnīte QF-CMV ELISA testa standartiem un pietiekams skaits plātnīšu testējamajiem pacientiem. Pēc izmantošanas rāmi un vāku saglabājiet lietošanai ar atlikušajām plātnītēm.

3. Pagatavojiet cilvēka INF $\gamma$  standarta šķīdumu tādā daudzumā dejonizēta vai destilēta ūdens, kas norādīts uz flakona etiķetes. Uzmanīgi samaisiet, pēc iespējas samazinot putu veidošanos un nodrošinot pilnīgu izšķīšanu. Pagatavojot norādītā tilpuma INF $\gamma$  standarta šķīdumu, tiek iegūts šķīdums, kura koncentrācija ir 8,0 SV/ml.

**Piezīme.** Cilvēka INF $\gamma$  standarta (komplekta standarts) šķīduma pagatavošanas tilpums dažādās partijās atšķiras.

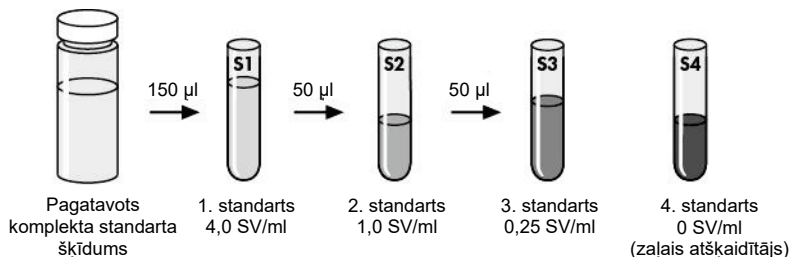
Izmantojot pagatavoto standarta šķīdumu, sagatavojiet četru INF $\gamma$  koncentrāciju atšķaidījuma virkni zaļajā atšķaidītājā (Green Diluent, GD) (1 att., nākamā lpp.).

S1 (1. standarts) satur 4,0 SV/ml, S2 (2. standarts) satur 1,0 SV/ml, S3 (3. standarts) satur 0,25 SV/ml un S4 (4. standarts) satur 0 SV/ml (tīrs GD). Standarta šķīdumi jātestē vismaz dubultā. Katrai ELISA testa sērijai sagatavojiet jaunus komplekta standarta šķīduma atšķaidījumus.

## Dubultā standarta šķīdumu procedūras piemērs

### Dubultā standarta šķīdumu procedūras piemērs

- |   |  |
|---|--|
| A | Veic iezīmi uz četriem stobriņiem: S1, S2, S3, S4.                         |
| B | Pievieno 150 µl GD stobriņos S1, S2, S3, S4.                               |
| C | Pievieno 150 µl komplekta standarta šķīduma stobriņā S1 un rūpīgi samaisa. |
| D | Pārnēs 50 µl no stobriņa S1 uz stobriņu S2 un rūpīgi samaisa.              |
| E | Pārnēs 50 µl no stobriņa S2 uz stobriņu S3 un rūpīgi samaisa.              |
| F | Tīrs GD kalpo kā nulles standarts (S4).                                    |



### 1. attēls. Standarta līknes sagatavošana ar sērijveida atšķaidījumu palīdzību.

4. Pagatavojiet liofilizēto konjugāta 100× koncentrātu, izmantojot 0,3 ml dejonizēta vai destilēta ūdens. Uzmanīgi samaisiet, pēc iespējas samazinot putu veidošanos un nodrošinot pilnīgu konjugāta izšķīšanu.

Konjugāta darba šķīdumu sagatavo, atšķaidot nepieciešamo pagatavotā konjugāta 100× koncentrāta daudzumu ar zaļo atšķaidītāju (skatiet 1 nākamajā lpp.).

Rūpīgi, bet uzmanīgi samaisiet, nepieļaujot putu veidošanos.

Neizlieto konjugāta 100× koncentrātu uzreiz pēc lietošanas ievietojiet 2–8 °C temperatūrā.

Izmantojiet tikai zaļo atšķaidītāju.

1. tabula. Konjugāta darba šķīduma sagatavošana

Plātnišu skaits	Konjugāta 100x koncentrāta tilpums	Zaļā atšķaidītāja tilpums
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. Plazmas paraugus, kas iegūti no asins analīžu stobriņiem un pēc tam sasaldēti vai pirms testa glabāti ilgāk nekā 24 stundas, rūpīgi samaisiet pirms pievienošanas ELISA iedobītei.

**Svarīgi.** Ja plazmas paraugus ir paredzēts pievienot tieši no centrifugētiem QF-CMV stobriņiem, plazmu nedrīkst maisīt. Vienmēr ievērojiet piesardzību, lai nesabojātu materiālu uz gela virsmas.

6. Ja nepieciešami kvantitatīvi rezultāti, atšķaidiet CMV un mitogēna plazmas paraugus ar zaļo atšķaidītāju attiecībā 1/10 (10 µl plazma + 90 µl zaļais atšķaidītājs). Nulles plazmas paraugu nedrīkst atšķaidīt.

Ieteicams paralēli testēt šādus paraugus:

nulles, CMV antigēns, mitogēns, CMV antigēns (1/10), mitogēns (1/10).

Papildus QuantiFERON-CMV analīžu veikšanas programmatūra atbalsta vēl šādas pacientu paraugu iespējas:

nulles, CMV antigēns, mitogēns;

nulles, CMV antigēns (1/10), mitogēns (1/10);

nulles, CMV antigēns, mitogēns, CMV antigēns (1/10);

nulles, CMV antigēns (1/10), mitogēns.

7. Ar daudzkanālu pipeti pievienojiet 50 µl tikko sagatavotā konjugāta darba šķīduma nepieciešamajās ELISA iedobītēs.
8. Atbilstošajās iedobītēs pievienojiet 50 µl testa plazmas parauga. Beigās pievienojiet pa 50 µl no katra 1.–4. standarta šķīduma atbilstošajās iedobītēs. Standarta šķīdumi ir jātestē vismaz dubultā.
9. ELISA plati pārklājiet ar vāku un rūpīgi 1 minūti maisiet konjugātu un plazmas paraugus/standarta šķīdumus mikroplašu kratītājā ar ātrumu 500 līdz 1000 apgr./min. Izvairieties no izšķakstīšanās.
10. ELISA plati pārklājiet ar vāku un 120±5 minūtes inkubējiet istabas temperatūrā (22±5 °C). Inkubācijas laikā plates nedrīkst atrasties tiešu saules staru ietekmē. Novirzes no norādītā temperatūras diapazona var izraisīt kļūdainus rezultātus.
11. Inkubācijas laikā sagatavojiet skalošanas buferšķīduma darba šķīdumu. Atšķaidiet un rūpīgi samaisiet vienu daļu skalošanas buferšķīduma 20× koncentrāta ar 19 daļām dejonizēta vai destilēta ūdens. Tiek piegādāts pietiekami daudz skalošanas buferšķīduma 20× koncentrāta, lai varētu sagatavot 2 litrus skalošanas buferšķīduma darba šķīduma.
12. Pēc ELISA plates inkubācijas perioda veiciet vismaz sešus skalošanas ciklus iedobītēs ar 400 µl skalošanas buferšķīduma darba šķīdumu. Ieteicams lietot automātisku plates skalošanas ierīci.  
**Svarīgi.** Rūpīga skalošana ir ļoti svarīga pareizai testa norisei. Nodrošiniet, lai katrā skalošanas ciklā katra iedobīte būtu pilnīgi uzpildīta ar skalošanas buferšķīdumu līdz iedobītes augšējai malai. Starp katru ciklu ieteicams vismaz 5 sekunžu mērcēšanas periods.  
Notekūdeņu uzkrāšanas tvertnē jāielej parastais laboratorijas dezinfekcijas līdzeklis, kā arī jāievēro spēkā esošie noteikumi par iespējami infekcioza materiāla dekontamināciju.
13. Noteciniet otrādi apgrieztas plates uz uzsūcoša dvieļa, kas nepūkojas, lai atbrīvotos no atlikušā skalošanas buferšķīduma. Pievienojiet 100 µl enzīmu substrāta šķīduma katrā iedobītē, plati pārklājiet ar vāku un 1 minūti rūpīgi samaisiet mikroplašu kratītājā ar ātrumu 500 līdz 1000 apgr./min.

---

14. Pārklājiet katru plati un 30 minūtes inkubējiet istabas temperatūrā ( $22\pm 5$  °C).

Inkubācijas laikā plates nedrīkst atrasties tiešu saules staru ietekmē.

15. Pēc 30 minūšu inkubācijas perioda pievienojiet 50 µl enzīmu darbības pārtraukšanas šķīduma katrā iedobītē tādā pašā secībā, kā tika pievienots substrāta šķīdums. Rūpīgi samaisiet mikroplašu kratītājā ar ātrumu 500 līdz 1000 apgr./min.

16. Ar mikroplašu lasītāju, kas aprīkots ar 450 nm filtru un 620–650 nm references filtru, izmēriet optisko blīvumu (OB) katrā iedobītē 5 minūšu laikā pēc reakcijas pārtraukšanas. Rezultātu aprēķināšanai tiek izmantotas OB vērtības.

# Aprēķini un testa rezultātu interpretācija

QuantIFERON-CMV analīžu veikšanas programmatūra iegūto datu analīzei un rezultātu aprēķinam ir pieejama QIAGEN tīmekļa vietnē **www.QuantiFERON.com**. Pārliecinieties, vai tiek izmantota visjaunākā QF-CMV analīžu veikšanas programmatūras versija.

Programmatūra veic testa kvalitātes kontroles novērtējumu, izveido standarta līkni un nodrošina testa rezultātu katram pacientam. Sīkāks izklāsts pieejams sadaļā “Rezultātu interpretācija” 24.lappusē. Programmatūra norāda vismazāko atšķaidījumu, kas devis rezultātu QF-CMV ELISA testa diapazonā, ņemot vērā atšķaidīšanas attiecību.

QF-CMV analīžu veikšanas programmatūras izmantošanas alternatīva ir rezultātu noteikšana, izmantojot tālāk aprakstīto metodi.

## Standarta līknes izveidošana (ja netiek izmantota QF-CMV analīžu veikšanas programmatūra)

Nosakiet komplekta standarta šķīduma atkārtojumu vidējās OB vērtības katrai plātei.

Uzzīmējiet standarta līkni  $\log_{(e)} - \log_{(e)}$ , atzīmējot vidējo OB vērtību  $\log_{(e)}$  (y ass) attiecībā pret standarta  $\log_{(e)}$  IFN $\gamma$  koncentrāciju SV/ml (x ass), neņemot vērā šo aprēķinu nulles vērtību. Ar regresijas analīzi aprēķiniet līniju, kas vislabāk atbilst standarta līknei.

Lietojiet standarta līkni, lai noteiktu IFN $\gamma$  koncentrāciju (SV/ml) katram testa plazmas paraugam, izmantojot katra parauga OB vērtību.

Šos aprēķinus var veikt, izmantojot mikroplašu lasītājiem pieejamās programmatūras paketes, kā arī standarta izklājlapu vai statistikas programmatūru (piemēram, Microsoft® Excel®). Šādas paketes ieteicams izmantot regresijas analīzes aprēķiniem, kā arī standartu variācijas koeficienta (%VK) un standarta līknes korelācijas koeficienta (r) noteikšanai.

---

Kā ziņotais rezultāts ir jānorāda tā vismazākā atšķaidījuma vērtība, kas devusi rezultātu QF-CMV ELISA testa diapazonā, nodrošinot, lai pēc nepieciešamības tiktu ņemta vērā atšķaidīšanas attiecība.

## Testa kvalitātes kontrole

Testa rezultātu precizitāte ir atkarīga no precīzas standarta līknes izveides. Tādēļ pirms testa paraugu rezultātu interpretācijas jāpārbauda no standartiem atvasinātie rezultāti.

Lai ELISA tests būtu derīgs:

- vidējai 1. standarta OB vērtībai jābūt  $\geq 0,600$ ;
- 1. un 2. standarta atkārtojumu OB vērtību %VK jābūt  $< 15\%$ ;
- 3. un 4. standarta atkārtojumu OB vērtību variācija nedrīkst būt lielāka par 0,040 optiskā blīvuma vienībām, salīdzinot ar to vidējo vērtību;
- no standartu vidējām absorbcijas vērtībām aprēķinātajam korelācijas koeficientam ( $r$ ) jābūt  $\geq 0,98$ .

QF-CMV analīžu veikšanas programmatūra aprēķina šos kvalitātes kontroles parametrus un sniedz par tiem atskaites. Ja iepriekš minētie kritēriji nav izpildīti, tests nav derīgs un ir jāatkārto.

Vidējai nulles standarta (zaļais atšķaidītājs) OB vērtībai jābūt  $\leq 0,150$ . Ja vidējā OB vērtība ir  $> 0,150$ , jāpārbauda plates skalošanas procedūra.

# Rezultātu interpretācija

QuantIFERON-CMV testa rezultāti tiek interpretēti, izmantojot kritērijus, kas norādīti 2.

2. tabula. QuantIFERON-CMV testa rezultātu interpretācija

Nulles st. (SV/ml)	CMV mīnus nulle (SV/ml)	Mitogēna st. mīnus nulles st. (SV/ml)*	QF-CMV testa rezultāts	Ziņojums/interpretācija
≤8,0	≥0,20 un ≥25% no nulles vērtības	Jebkāds	Pozitīvs <sup>†</sup>	Ir noteikta imunitāte pret CMV
	<0,20 vai ≥0,20 un <25% no nulles vērtības	≥0,5	Negatīvs	NAV noteikta imunitāte pret CMV
		<0,5	Nenoteikts <sup>‡</sup>	Atbildes reakcijas uz CMV rezultāts ir nenoteikts
>8,0 <sup>§</sup>	Jebkāds	Jebkāds	Nenoteikts <sup>‡</sup>	Atbildes reakcijas uz CMV rezultāts ir nenoteikts

\* Atbildes reakcija uz mitogēna pozitīvo kontroli (un palaikam — CMV antigēniem) bieži var neatbilst mikroplates lasītāja diapazonam. Tas neietekmē testa rezultātus.

<sup>†</sup> Ja nav aizdomu par citomegalovīrusa infekciju, sākotnēji pozitīvos rezultātus var apstiprināt, veicot atkārtotu oriģinālo plazmas paraugu dubultu testēšanu QF-CMV ELISA komplektā. Ja viena vai abu atkārtojumu atkārtota testēšana ir pozitīva, jāpieņem, ka personas tests ir pozitīvs.

<sup>‡</sup> Iespējamos iemeslus skatiet sadaļā “Problēmu novēršanas ieteikumi” (39. lpp.).

Klīniskajos pētījumos (1), nenoteikts rezultāts tiem pacientiem, kuriem veikta parenhimatozo orgānu transplantācija un donors ir CMV pozitīvs, bet mitogēna kontroles rezultāts bija mazāks par 0,5 SV/ml, ir klīniski nozīmīgs. Šādiem pacientiem ir vislielākais risks saslimt ar CMV slimību.

<sup>§</sup> Klīniskajos pētījumos mazāk nekā 0,25% dalībnieku IFN<sub>γ</sub> līmenis nulles stobriņa vērtībai bija >8,0 SV/ml.

**Piezīme.** Nosakot pacienta imūno reakciju uz CMV antigēniem, iegūtais IFN<sub>γ</sub> līmenis jāizmanto kopā ar klīniskajām pazīmēm, slimības vēsturi un citiem diagnostiskiem izmeklējumiem. QF-CMV tests nav paredzēts CMV infekcijas noteikšanai, un to nedrīkst lietot CMV infekcijas izslēgšanai.



# Ierobežojumi

QuantiFERON-CMV testa rezultāti izvērtējami saistībā ar katra atsevišķā pacienta epidemioloģisko vēsturi, pašreizējo veselības stāvokli un citiem diagnostiskiem izmeklējumiem.

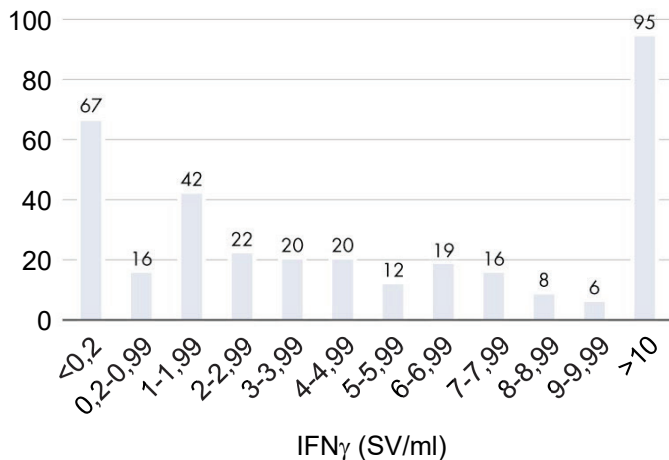
Neuzticamu un nenoteiktu rezultātu iemesli var būt šādi:

- novirzes no QuantiFERON-CMV ELISA iepakojuma ieliktnī aprakstītās procedūras;
- pārāk augsta IFN $\gamma$  koncentrācija kontroles stobriņā;
- no asins parauga paņemšanas līdz inkubēšanai 37 °C temperatūrā pagājušas vairāk nekā 16 stundas.

## Sagaidāmās vērtības

Sagaidāmās IFN $\gamma$  vērtības, izmantojot QuantiFERON-CMV testu, tika iegūtas, pētot 591 paraugus no veseliem pacientiem. 343 paraugi uzrādīja seropozitīvu un 248 paraugi – seronegatīvu CMV IgG testa rezultātu. QF-CMV testa laikā CMV seroloģiskais statuss nebija zināms. No 248 pārbaudītajiem CMV seronegatīvo pacientu paraugiem 100% (248/248) paraugu QF-CMV ELISA testa rezultāti bija negatīvi. Tādējādi IFN $\gamma$  atbildes reakcijas uz CMV antigēna stobriņu (mīnus nulle) bija <0,2 SV/ml. Tālāk parādīts IFN $\gamma$  atbildes reakciju uz CMV antigēna stobriņu (mīnus nulle) sadalījums 343 CMV seropozitīvajiem pacientiem (2 att.).

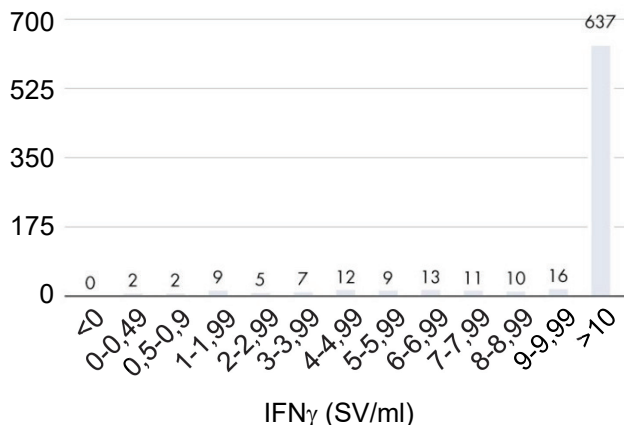
## Paraugu skaits



2. attēls. QF-CMV IFN $\gamma$  atbildes reakciju sadalījums (mīnus nulle) seropozitīviem veseliem pacientiem (n=343).

IFN $\gamma$  atbildes reakciju uz mitogēnu sadalījums (mīnus nulle) tika noteikts, izmantojot 733 veselu pieaugušu pacientu paraugus un QF-CMV ELISA testu neatkarīgi no CMV IgG seroloģijas (3. att.). Mitogēna stobriņa (mīnus nulle) rezultāts, kas mazāks par 0,5 SV/ml, norāda, ka tests nav izdevies vai personai ir novājinātas imunitātes stāvoklis. Veselo cilvēku populācijā tikai 2/733 rezultātu bija šajā kategorijā.

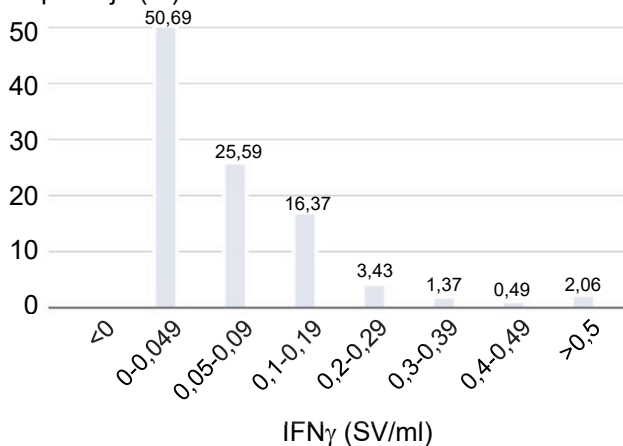
### Paraugu skaits



3. attēls. Mitogēna IFN $\gamma$  atbildes reakciju sadalījums (mīnus nulle) veseliem pacientiem (n=733).

IFN $\gamma$  atbildes reakciju uz nulles stobriņiem sadalījums tika noteikts, izmantojot 1020 veselu pieaugušu pacientu plazmas paraugus un QF-CMV ELISA testu neatkarīgi no CMV IgG seroloģijas (4. att.).

### Populācija (%)



4. attēls. Nulles stobriņu IFN $\gamma$  atbildes reakciju sadalījums veseliem pacientiem (n=1020), kas izteikts procentos no populācijas.

# Darbības raksturojums

## Klīniskā veikspēja

Izmantojot QF-CMV testu, tika izveidots testa sliekšnis iepriekšējas saskares ar CMV noteikšanai, pamatojoties uz veselu pieaugušo grupas (n=223) rezultātu analīzi, kurā QF-CMV testa rezultāti tika salīdzināti ar CMV IgG seroloģijas testa rezultātiem. ROC līknes analīzē tika noteikts, ka 0,04 SV/ml (mīnus nulle) testa sliekšnis sniedz optimālas pozitīvas un negatīvas QF-CMV testa prognozējamās vērtības (laukums zem līknes = 0,9679 [95% TI: 0,9442–0,9915,  $p < 0,0001$ ]). Tādējādi pie šāda testa sliekšņa tests sniedz visprecīzākos rezultātus veselo cilvēku populācijā.

QF-CMV testa rezultāti tika salīdzināti ar SeraQuest™ CMV IgG seroloģiskā testa rezultātiem (Quest International). QF-CMV tests parādīja 95% (294 no 310 indivīdiem) sakritību ar CMV IgG seroloģiskā testa rezultātiem veseliem pacientiem. QF-CMV testā nevienam no 149 seronegatīvajiem donoriem netika parādīts pozitīvs rezultāts. 145 no 161 seropozitīvajiem donoriem tika parādīta pozitīva QF-CMV testa atbildes reakcija. Kopējā pozitīvā sakritība bija 90%, bet negatīvās sakritības vērtība bija 100%. QF-CMV testa atbildes reakciju un CMV IgG seroloģiskā testa rezultātu sakritības līmenis veselo pacientu populācijā ir parādīts 3.

3. tabula. QuantiFERON-CMV testa un CMV IgG seroloģijas testa rezultātu sakritība veseliem pacientiem

		CMV seroloģija		Kopā
		Pozitīvs	Negatīvs	
QuantiFERON-CMV	Pozitīvs	145	0	145 (46,8%)
	Negatīvs	16	149	165 (53,2%)
	Kopā	161 (51,9%)	149 (48,1%)	310 (100%)

## Testa sliekšnis

Šī testa ieteicamais klīniskais testa sliekšnis ir 0,2 SV/ml CMV antigēna stobriņā (mīnus nulle), lai gan dažādām klīniskajām vajadzībām var validēt dažādus sliekšņus.

# Klīniskie pētījumi

Tā kā nav noteikta standarta citomegalovīrusa infekcijas apstiprināšanai vai izslēgšanai, QF-CMV testa jutīgumu un specifiskumu nevar praktiski izvērtēt. QF-CMV testa specifiskums un jutība tika aptuveni noteikta, novērtējot QF-CMV testa atbildes reakciju un CMV IgG seroloģiskā testa rezultātu sakritības līmeni veseliem pacientiem.

QF-CMV testa specifiskums tika aptuveni noteikts, novērtējot kļūdaini pozitīvus rādītājus (pozitīva atbilde ar QF-CMV testu) veselu donoru paraugiem bez pierādījumiem par iepriekšēju saskari ar CMV (CMV IgG seronegatīvi indivīdi). Jutīgums tika aptuveni noteikts, novērtējot QF-CMV testa atbildes reakcijas veselu donoru paraugiem ar pierādījumiem par iepriekšēju saskari ar CMV (CMV IgG seropozitīvi indivīdi). QF-CMV testā tiek izmantots liels skaits specifisku CMV epitopu no dažādām CMV olbaltumvielām, tādējādi aptverot plašu populāciju ar dažādiem HLA I klases haplotipiem (aptuveni 98% no populācijas). Tā kā cilvēkiem, kuriem veica CMV seroloģiskos izmeklējumus, nebija zināmi HLA haplotipi, tika sagaidīts, ka nelielai daļai seroloģiski pozitīvo indivīdu nebūs reakcijas uz QF-CMV asins analīžu stobriņiem.

## Specifiskums

591 veselu cilvēku parauga pētījumā indivīdiem ar seronegatīvu CMV IgG testa rezultātu netika konstatēts neviens nepatiesi pozitīvs QF-CMV testa rezultāts — 248 paraugiem no 248 bija negatīvs QF-CMV ELISA tests un negatīvs CMV IgG seroloģiskais tests. Tādējādi QF-CMV testa un CMV IgG seroloģiskā testa rezultātu sakritība ir 100%.

Visos citos specifiskuma novērtējumos, kas tika veikti cilvēkiem, kuriem ir transplantēti parenhimatozie orgāni (1–8) vai ir veikta asinsrades cilmes šūnu transplantācija (9,10), kā arī ar HIV inficētiem pacientiem (11), arī tika pierādīts, ka QF-CMV testa un CMV IgG seroloģiskā testa rezultātu sakritības līmenis ir 100%.

## Jutība

Pētījumā, kas tika veikts ar 343 no veselīgiem cilvēkiem iegūtiem paraugiem ar seropozitīvu CMV IgG testa rezultātu, tika konstatēts, ka QF-CMV atbildes reakciju un CMV IgG seroloģiskā testa rezultātu sakritības līmenis ir 80,5%. 276 no 343 paraugiem bija pozitīva atbildes reakcija uz QF-CMV testu un pozitīvs CMV IgG seroloģiskais tests. Novērotās pretrunas var būt saistītas ar kļūdaini pozitīvu CMV seroloģiskā testa rezultātu vai neatbilstošu pārbaudāmo indivīdu HLA tipu.

Jutības novērtējumos, kas tika veikti cilvēkiem, kuriem transplantēti parenhimatozie orgāni (1–8) vai veikta asinsrades cīmes šūnu transplantācija (9, 10), kā arī ar HIV inficētiem pacientiem (11), tika atklāts zemāks sakritības līmenis, kas varētu būt izskaidrojams ar kļūdaini pozitīvu CMV seroloģiskā testa rezultātu, neatbilstošu pārbaudāmo indivīdu HLA tipu vai reaģējošu T šūnu trūkumu pacientiem, kuriem ir imūnsupresija.

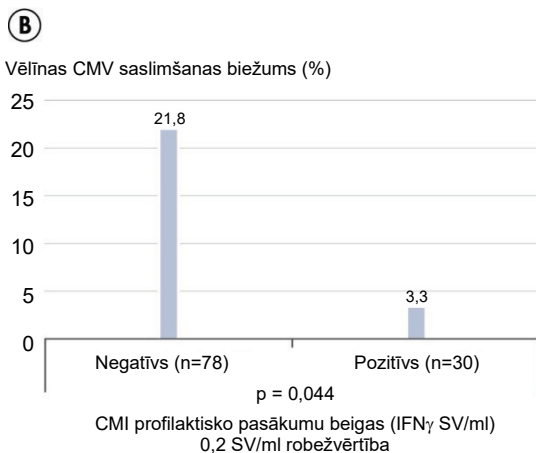
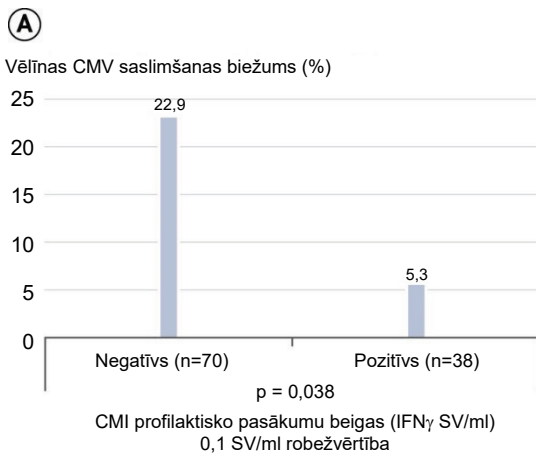
## Pētījumi, kas izceļ klīnisko lietderību

Gan CMV IgG seroloģisko analīžu, gan QF-CMV testa aprakstā ir norādīts, ka to paredzētais lietojums ļauj noteikt imunitāti pret CMV. Transplantācijas jomā CMV seroloģiskās analīzes tiek plaši izmantotas pirms transplantācijas, lai noteiktu CMV komplikāciju risku, kas pacientam varētu rasties pēc transplantācijas, tomēr šīm analīzēm ir ierobežota vērtība pēc transplantācijas. Toties QF-CMV testu var izmantot pacientiem, kuriem veikta transplantācija, lai novērtētu viņu CMV imunitātes līmeni, nosakot, vai nepastāv risks, ka attīstīsies simptomātiska CMV infekcija un/vai slimība imūnsupresijas dēļ (12–15).

QuantiFERON-CMV testa lietderību ir pierādījuši vairāki publicēti klīniskie pētījumi dažādās cilvēku grupās, kurās ir veikta transplantācija (1–11, 15, 16).

Lielā pētījumā, kas aptvēra 108 pacientus, kuriem veikta parenhimatozo orgānu transplantācija (4), tiem pacientiem, kam bija pozitīvs QF-CMV testa rezultāts, pabeidzot

profilaktiskos pasākumus pret CMV, bija ievērojami zemāki vēlnas saslimšanas ar CMV rādītāji (3,3% jeb 1/30; izmantojot 0,2 SV/ml testa sliekšni), salīdzinot ar pacientiem, kam bija negatīvs QF-CMV testa rezultāts (21,8% jeb 17/78,  $p=0,044$ ) (5. att.).



**5. attēls.** Vēlnas saslimšanas ar CMV infekciju rādītāji pacientiem ar pozitīvu QuantiFERON-CMV testa rezultātu un pacientiem ar negatīvu QuantiFERON-CMV testa rezultātu profilaktisko pasākumu beigās. Attēloti Kumar et al dati. (4).

---

Turklāt CMV seronegatīvi pacienti, kam transplantēts CMV pozitīva donora (D+R-) orgāns ar pozitīvu QF-CMV testa rezultātu, profilaktisko pasākumu beigās biežāk un ilgāk nenaslima ar CMV slimību. Tas liecina, ka QF-CMV testu var izmantot, lai identificētu pacientus, kuriem ir risks vēlīnai saslimšanai ar CMV slimību.

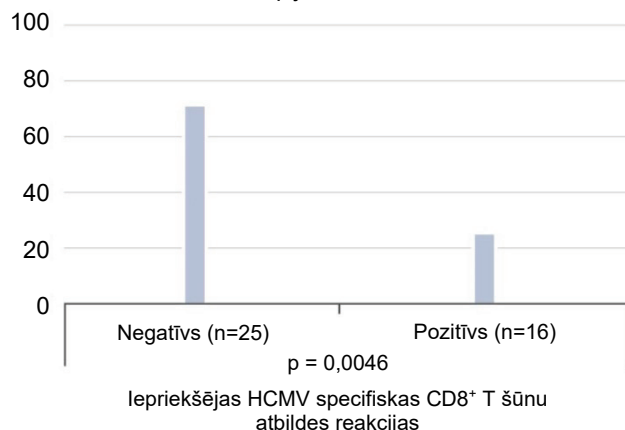
Šajā pētījumā arī uzsvērts, ka to pacientu grupā, kuriem veikta transplantācija un bija augstākais risks CMV slimības attīstībai (D+/R-), pozitīvs testa rezultāts jebkurā laikā pēc profilaktiskajiem pasākumiem tika saistīts ar lielāku varbūtību nenaslimt ar CMV slimību.

Pētījumā ar 37 pacientiem, kuriem tika transplantēti parenhimatozie orgāni (6), CMV specifisko CD8<sup>+</sup> T šūnu atbildes reakcijas novērtēšana ar QF-CMV testu palīdzēja prognozēt spontānu atbrīvošanos no vīrusiem, salīdzinot ar CMV infekcijas progresēšanu pēc CMV virēmijas pastiprināšanās. Šajā pētījumā 24 no 26 pacientiem (92,3%) ar pozitīvu QF-CMV testa rezultātu (izmantojot IFN $\gamma$  testa sliekšni  $\geq 0,2$  SV/ml) spontāni atbrīvojās no CMV vīrusa, bet tikai 5 no 11 pacientiem (45,5%) ar negatīvu QF-CMV testa rezultātu bija līdzīgs iznākums.

Pētījumā ar 67 pacientiem, kuriem veica plaušu transplantāciju un novērtēja CMV virēmijas epizodes pēc transplantācijas (7), tika novērots, ka 18 no 25 (72%) CMV virēmijas epizodēm ievadīja negatīvs QF-CMV testa rezultāts, salīdzinot ar 4 no 16 (25%) epizodēm, kuras ievadīja pozitīva QF-CMV testa reakcija (Fišera kritērijs,  $p=0,0046$ ; 6 att.).



% no epizodēm ar HCMV DNS asinīs  
ar vīrusu slodzi >1000 kopijas/ml



**6. attēls. CMV specifiskās CD8<sup>+</sup> T šūnu atbildes reakcijas, kas noteiktas ar QuantiFERON-CMV testu, un CMV virēmijas attīstības statistiskā analīze (Fišera kritērijs, p=0,0046).** Attēloti Weseslindtner et al dati (7).

Lielā daudzcentru perspektīvā pētījumā ar 127 CMV seronegatīviem pacientiem, kuriem transplantēti parenhimatozie orgāni no CMV seropozitīviem donoriem (8) un kuri saņēma pretvīrusu profilaktiskos līdzekļus, pacientiem ar pozitīviem QF-CMV testa rezultātiem (izmantojot 0,1 SV/ml testa sliekšni) jebkurā laikā pēc profilaktisko pasākumu pret CMV pabeigšanas 12 mēnešus pēc transplantācijas bija ievērojami zemāki vēlnas saslimšanas rādītāji (6,4%), salīdzinot ar tiem pacientiem, kuriem bija negatīvi QF-CMV testa rezultāti (22,2%) un nenoteikti rezultāti (58,3%, p<0,001). Klasificējot arī nenoteiktos rezultātus kā “negatīvus”, turpmākais CMV infekcijas biežums bija 6,4%, salīdzinot ar 26,8%, p=0,024. Prognozējamās pozitīvās un negatīvās QF-CMV vērtības attiecībā uz aizsardzību pret CMV slimību bija attiecīgi 0,90 (95% TI 0,74–0,98) un 0,27 (95% TI 0,18–0,37). Šajā pētījumā tika atklāts, ka QF-CMV tests var būt noderīgs, lai prognozētu, vai pacientiem pēc profilaktiskajiem pasākumiem ir zems, vidējs vai augsts turpmākas CMV infekcijas attīstības risks.

---

Perspektīvā pētījumā ar 55 pacientiem, kuriem transplantēti parenhimatozie orgāni (8), tika analizēti QF-CMV testa rezultāti pirms transplantācijas un CMV replikācijas epizodes pēc transplantācijas, konstatējot, ka biežāka CMV replikācija pēc transplantācijas tika novērota CMV seropozitīviem orgānu saņēmējiem, kam pirms transplantācijas bija negatīvs (izmantojot 0,2 SV/ml testa sliksni) QF-CMV testa rezultāts (7 no 14 jeb 50%), salīdzinot ar tiem CMV seropozitīviem orgānu saņēmējiem, kam pirms transplantācijas bija pozitīvs QF-CMV testa rezultāts (4 no 30 jeb 13,3%,  $p=0,021$ ).

Šajā pētījumā tika atklāts, ka tiem orgānu saņēmējiem, kuriem pirms transplantācijas bija negatīvs QF-CMV testa rezultāts un kuri orgānu saņēma no CMV seropozitīva donora, bija desmitkārt lielāks CMV replikācijas risks, salīdzinot ar tiem orgānu saņēmējiem, kuriem pirms transplantācijas bija pozitīvs QF-CMV testa rezultāts (koriģētais relatīvais risks 10,49, 95% TI 1,88–58,46). Tādējādi QF-CMV tests pirms transplantācijas var būt noderīgs, lai prognozētu CMV replikācijas risku pēc transplantācijas un līdz ar to atļautu veikt individualizētu CMV infekcijas ārstēšanu pēc parenhimatozo orgānu transplantācijas.

Visā pasaulē ir pabeigti (2, 3, 5, 9, 10, 15, 16) vai pašlaik notiek vairāki citi pētījumi par CMV specifisko CD8<sup>+</sup> T šūnu atbildes reakciju noteikšanu ar QF-CMV testu to pacientu grupā, kuriem tiek veikta transplantācija.

## Starptautiska konsensa pamatnostādnes par citomegalovīrusu izraisītu saslimšanu pārvaldību, transplantējot parenhimatozos orgānus

Īpaša CMV imunoloģiskā monitoringa nozīme ir vispārēji atzīta un informācija par to ir publicēta izdevumā *Jaunākās starptautiska konsensa pamatnostādnes par citomegalovīrusu izraisītu saslimšanu pārvaldību, transplantējot parenhimatozos orgānus* (12). Šīs starptautiskās pamatnostādnes par CMV un parenhimatozo orgānu transplantāciju, ko izstrādājusi ekspertu grupa, kuru sasaukusi Transplantācijas biedrības infekcijas slimību nodaļa, pārstāv uz pierādījumiem un ekspertu atzinumiem pamatotas pamatnostādnes par CMV izraisītu saslimšanu pārvaldību, tostarp diagnostiku, imunoloģiju, profilaksi un ārstēšanu.

Šajās pamatnostādnēs secināts, ka “ar CMV specifisko T šūnu atbildes reakciju imunoloģisko monitoringu var prognozēt indivīdu CMV slimības risku pēc transplantācijas, un tas var būt noderīgs profilaktisko pasākumu vadīšanā un preventīvajā terapijā” (12).

Turklāt pamatnostādnēs sniegti arī ieteikumi par ideāla imunoloģiskā monitoringa testa īpašībām, kuras ietver:

- spēju novērtēt pacienta, kuram transplantēts orgāns, CD4<sup>+</sup> un CD8<sup>+</sup> T šūnu daudzumu un funkciju;
- spēju izmērīt IFN $\gamma$ ;
- vienkāršību, izmaksu efektivitāti un atkārtojamību;
- ātru izpildes laiku;
- vienkāršu paraugu pārvadāšanu uz specializētām laboratorijām, kurās tiek veiktas analīzes.

QF-CMV tests atbilst visiem šajās pamatnostādnēs norādītajiem kritērijiem un pārstāv vienīgo standartizēto imunoloģiskā monitoringa testu, ar kuru var noteikt CMV specifisko IFN $\gamma$ .

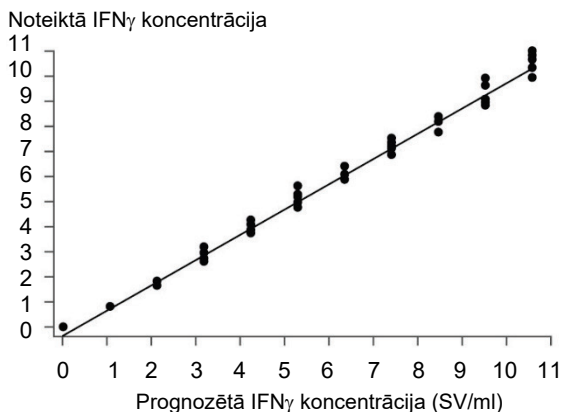
# Testa veikspējas raksturojums

QF-CMV ELISA testā tiek izmantots rekombinants cilvēka IFN $\gamma$  standarts, kas ir testēts pret references IFN $\gamma$  šķīdumu (NIH ref.: Gxg01-902-535). Testa paraugu rezultāti ir noteikti starptautiskajās vienībās (SV) attiecībā pret standarta līkni, kas izveidota, testējot komplektā piegādātā sekundārā standarta atšķaidījumu.

Ir zināms, ka heterofilās (piem., cilvēka pretpes) antivielas atsevišķu indivīdu serumā vai plazmā izraisa imūntestu traucējumus. Heterofilo antivielu ietekme uz QF-CMV ELISA testu ir samazināta, pievienojot zaļajam atšķaidītājam normālu peles serumu un izmantojot F(ab')<sub>2</sub> monoklonālu antivielu fragmentus kā IFN $\gamma$  uztverošu antivielu, kas uzklāta mikroplates iedobēm.

QF-CMV ELISA testa noteikšanas ierobežojums ir 0,065 SV/ml, un nav pierādījumu par augstas devas āķa (prozona) efektu ar IFN $\gamma$  koncentrācijām līdz 10 000 SV/ml. Tika atklāts, ka QF-CMV ELISA antivielām nav krusteniskas reakcijas ne ar vienu analizēto citokīnu, ieskaitot IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL10 un IL12.

Ir pierādīts, ka QF-CMV ELISA testa rezultāti ir lineāri, uz ELISA plates nejauši novietojot 11 plazmas pūlu piecus atkārtojumus ar zināmām IFN $\gamma$  koncentrācijām. Lineārās regresijas līnijai ir  $1,002 \pm 0,011$  slīpums un korelācijas koeficients 0,99 (7. attēls).



**7. attēls. QF-CMV ELISA testa linearitātes profils, kuru nosaka, testējot 11 plazmas paraugu piecus atkārtojumus ar zināmām IFN- $\gamma$  koncentrācijām.**

QF-CMV ELISA testa atkārtojamība tika novērtēta, testējot 20 plazmas paraugus ar mainīgām IFN $\gamma$  koncentrācijām trīs atkārtojumos, ko veikuši trīs dažādi operatori trīs dažādās laboratorijās trīs dienās, kas nebija secīgas. Tādējādi katrs paraugs tika testēts 27 reizes deviņos neatkarīgos testos. Viens paraugs bija nulles kontrole, un tam bija aprēķināta IFN $\gamma$  koncentrācija 0,08 (95% TI: 0,07–0,09) SV/ml. Atlikušo 19 plazmas paraugu koncentrāciju diapazons bija no 0,33 (95% TI: 0,31–0,34) līdz 7,7 SV/ml (95% TI: 7,48–7,92).

Visa testa kopējā, kā arī starptestu neprecizitāte tika novērtēta, aprēķinot vidējo %VK katram testa plazmas paraugam, kas satur IFN $\gamma$  no katras plātes testa (n=9), un bija diapazonā no 4,1 līdz 9,1 %VK. Vidējais testa %VK ( $\pm 95\%$  TI) bija  $6,6 \pm 0,6\%$ . Nulles IFN $\gamma$  plazmas parauga vidējais %VK bija 14,1%.

Kopējo vai starptestu neprecizitāti noteica, salīdzinot 27 aprēķinātās IFN $\gamma$  koncentrācijas katram plazmas paraugam, un tās %VK bija diapazonā no 6,6 līdz 12,3%. Kopējais vidējais %VK ( $\pm 95\%$  TI) bija  $8,7 \pm 0,7\%$ . Nulles IFN $\gamma$  plazmas parauga %VK bija 26,1%.

Šāds variāciju līmenis ir prognozējams, jo aprēķinātā IFN $\gamma$  koncentrācija ir zema, un zemām prognozētajām koncentrācijām variācijas ir lielākas nekā augstākām koncentrācijām.

## Tehniskā informācija

### Nenoteikti rezultāti

Nenoteikti rezultāti var būt saistīti ar testējamā indivīda imunoloģisko statusu, taču tos var izraisīt arī vairāki tehniski faktori:

- no asins parauga ņemšanas līdz inkubēšanai 37 °C temperatūrā pagājušas vairāk nekā 16 stundas;
- asins paraugi glabāti, neievērojot ieteicamo temperatūras diapazonu (22±5 °C);
- nepietiekami samaisīts asins analīžu stobriņu saturs;
- nepietiekama ELISA plates skalošana.

Ja pastāv aizdomas, ka asins paraugu ņemšanas vai to turpmākās apstrādes laikā radušās tehniska rakstura problēmas, viss QF-CMV tests jāatkārto ar jauniem asins paraugiem. Ja pastāv aizdomas, ka ELISA testa procedūrā ir bijušas novirzes, var atkārtot ELISA testēšanu ar stimulētiem plazmas paraugiem. Nenoteiktiem rezultātiem (zemu mitogēna vērtību dēļ), testu atkārtojot, nevajadzētu atšķirties, izņemot tos gadījumus, kad ELISA testēšanā pieļautas kļūdas.

### Receklaini plazmas paraugi

Ja ilgi glabātos plazmas paraugos rodas fibrīna recekļi, centrifugējiet paraugus, lai receklainā daļa izgulsnētos un tiktu atvieglota plazmas pipetēšana.

# Problēmu novēršanas ieteikumi

Šie problēmu novēršanas ieteikumi var būt noderīgi, risinot radušās problēmas. Papildu informāciju skatiet arī tehniskajā informācijā, kas sniegta tīmekļa vietnē [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Kontaktinformāciju skatiet uz aizmugurējā vāka.

## Komentāri un ieteikumi

### Zemas optiskā blīvuma vērtības standartiem

- |   |  |
|---|--|
| a) Kļūda, sagatavojot standarta atšķaidījumu      | Nodrošiniet, lai komplekta standarta atšķaidījumi tiktu sagatavoti, precīzi ievērojot QF-CMV ELISA iepakojuma ieliktnī sniegtos norādījumus.   |
| b) Pipetēšanas kļūda                              | Nodrošiniet, lai pipetes būtu kalibrētas un tiktu lietotas atbilstoši ražotāja norādījumiem.   |
| c) Pārāk zema inkubācijas temperatūra             | ELISA testu inkubācija jāveic istabas temperatūrā (22±5 °C).   |
| d) Pārāk īss inkubācijas laiks                    | Platei ar konjugātu, standarta šķīdumiem un paraugiem jānodrošina 120±5 minūtes ilgs inkubācijas periods. Enzīmu substrāta šķīdumu uz plates inkubē 30 minūtes.  |
| e) Tiek lietots nepareizs plates lasītāja filtrs  | Plate jānolasa pie 450 nm ar 620–650 nm references filtru.   |
| f) Pārāk auksti reaģenti                          | Visi reaģenti, izņemot konjugāta 100× koncentrātu, pirms testa sākšanas jāsasilda līdz istabas temperatūrai. Tam nepieciešama aptuveni 1 stunda.   |
| g) Beidzies komplekta/sastāvdaļu derīguma termiņš | Nodrošiniet, lai komplekts tiktu izlietots pirms derīguma termiņa beigām. Nodrošiniet, lai pagatavotais standarta šķīdums un konjugāta 100× koncentrāts tiktu izlietots 3 mēnešu laikā pēc pagatavošanas datuma. |

### Nespecifiskas krāsas rašanās

- |   |  |
|---|--|
| a) Nepietiekama plates skalošana                  | Plate jāskalo vismaz sešas reizes ar 400 µl skalošanas buferšķīduma uz katru iedobīti. Atkarībā no izmantotās skalošanas ierīces var būt nepieciešami vairāk nekā seši skalošanas cikli. Starp cikliem jānodrošina vismaz 5 sekunžu ilgs mērcēšanas laiks. |
| b) ELISA iedobīšu savstarpēja kontaminācija       | Lai mazinātu risku, pipetējiet un maisiet paraugu uzmanīgi.  |
| c) Beidzies komplekta/sastāvdaļu derīguma termiņš | Nodrošiniet, lai komplekts tiktu izlietots pirms derīguma termiņa beigām. Nodrošiniet, lai pagatavotais standarta šķīdums un konjugāta 100× koncentrāts tiktu izlietots 3 mēnešu laikā pēc pagatavošanas datuma.   |
| d) Enzīmu substrāta šķīduma kontaminācija         | Izmetiet substrātu, ja tam ir zilgana nokrāsa. Nodrošiniet, lai reaģentiem tiktu izmantotas tīras tvertnes.  |

## Komentāri un ieteikumi

- e) Plazmas maisīšana centrifūgas stobriņos pirms tās iegūšanas
- Nodrošiniet, lai plazmas paraugi tiktu uzmanīgi iegūti virs gela, neveicot pipetēšanu augšup un lejup un uzmanoties, lai nesabojātu materiālu uz gela virsmas.

### Spilgts fons

- a) Nepietiekama plates skalošana
- Plate jāskalo vismaz sešas reizes ar 400 µl skalošanas buferšķīduma uz katru iedobīti. Atkarībā no izmantotās skalošanas ierīces var būt nepieciešami vairāk nekā seši skalošanas cikli. Starp cikliem jānodrošina vismaz 5 sekunžu ilgs mērcēšanas laiks.
- b) Pārāk augsta inkubācijas temperatūra
- ELISA testu inkubācija jāveic istabas temperatūrā (22±5 °C).
- c) Beidzies komplekta/sastāvdaļu derīguma termiņš
- Nodrošiniet, lai komplekts tiktu izlietots pirms derīguma termiņa beigām. Nodrošiniet, lai pagatavotais standarta šķīdums un konjugāta 100× koncentrāts tiktu izlietots 3 mēnešu laikā pēc pagatavošanas datuma.
- d) Enzīmu substrāta šķīduma kontaminācija
- Izmetiet substrātu, ja tam ir zilgana nokrāsa. Nodrošiniet, lai reaģentiem tiktu izmantotas tīras tvertnes.

### Nelineāra standarta līkne un dublikātu mainīgums

- a) Nepietiekama plates skalošana
- Plate jāskalo vismaz sešas reizes ar 400 µl skalošanas buferšķīduma uz katru iedobīti. Atkarībā no izmantotās skalošanas ierīces var būt nepieciešami vairāk nekā seši skalošanas cikli. Starp cikliem jānodrošina vismaz 5 sekunžu ilgs mērcēšanas laiks.
- b) Kļūda, sagatavojot standarta atšķaidījumu
- Nodrošiniet, lai komplekta standarta atšķaidījumi tiktu sagatavoti, precīzi ievērojot šajā iepakojuma ieliktnī sniegtos norādījumus.
- c) Nepietiekama samaisīšana
- Samaisiet reaģentus rūpīgi, inversējot vai uzmanīgi vorteksējot, pirms tos pievienojat platei.
- d) Nekonsekvēna pipetēšanas tehnika vai pārtraukumi testa sagatavošanas laikā
- Paraugu un standarta šķīdumu pievienošana ir jāveic vienmērīgi. Visiem reaģentiem ir jābūt sagatavotiem pirms testa sākšanas.

Informāciju par precēm, kā arī tehniskās rokasgrāmatas QIAGEN nodrošina bez maksas, un tās varat saņemt no izplatītāja vai vietnē [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com).

















# Atsauces

1. Manuel, O., et al. (2013) Assessment of cytomegalovirus-specific cell-mediated immunity for the prediction of cytomegalovirus disease in high-risk solid-organ transplant recipients: a multicenter cohort study. *Clin. Infect. Dis.* 56, 817.
2. Walker, S., et al. (2007) Ex vivo monitoring of human cytomegalovirus-specific CD8<sup>+</sup> T-cell responses using QuantiFERON-CMV. *Transpl. Infect. Dis.* 9, 165.
3. Westall, G.P., et al. (2008) Linking CMV serostatus to episodes of CMV reactivation following lung transplantation by measuring CMV reactivation following lung transplantation by measuring CMV-specific CD8<sup>+</sup> T cell immunity. *Am. J. Transplant.* 8, 1749.
4. Kumar, D., et al. (2009) Cell-mediated immunity to predict cytomegalovirus disease in high-risk solid organ transplant recipients. *Am. J. Transpl.* 9, 1214.
5. Lachmanova, A.I., et al. (2010) QuantiFERON-CMV test in prediction of cytomegalovirus infection after kidney transplantation. *Transpl. Proc.* 42, 3574.
6. Lisboa, L.F., et al. (2012) Clinical utility of cytomegalovirus cell-mediated immunity in transplant recipients with cytomegalovirus viremia. *Transplant.* 93, 195.
7. Weseslindtner, L., et al. (2012) Prospective analysis of human cytomegalovirus DNAemia and specific CD8<sup>+</sup> T-cell responses in lung transplant recipients. *Am. J. Transplant.* 12, 2172.
8. Cantisán, S., et al. (2013) Pre-transplant interferon- $\gamma$  secretion by CMV-specific CD8<sup>+</sup> T cells informs the risk of CMV replication after transplantation. *Am. J. Transplant.* 13, 738.
9. Fleming, T., et al. (2010) Ex vivo monitoring of human cytomegalovirus-specific CD8<sup>+</sup> T-cell responses using the QuantiFERON-CMV assay in allogeneic hematopoietic stem cell transplant recipients attending an Irish Hospital. *J. Med. Virol.* 82, 433.
10. Clari, M.A., et al. (2012) Performance of the QuantiFERON-cytomegalovirus (CMV) assay for detection and estimation of the magnitude and functionality of the CMV-specific interferon-producing CD8<sup>+</sup> T-cell response in allogeneic stem cell transplant recipients. *Clin. Vaccine Immunol.* 19, 791.

- 
11. Singh, K.P., et al. (2007) Human cytomegalovirus (CMV)-specific CD8<sup>+</sup> T-cell responses are reduced in HIV-infected individuals with a history of CMV disease despite CD4<sup>+</sup> T-cell recovery. *Clin. Immunol.* 124, 200.
  12. Kotton, C.N., et al. (2013) Updated international consensus guidelines on the management of cytomegalovirus in solid organ transplantation. *Transplant.* 96, 333.
  13. Kotton, C.N. (2010) Management of cytomegalovirus infection in solid organ transplantation. *Nat. Rev. Nephrol.* 6, 711.
  14. Torre-Cisneros, J., et al. (2011). GESITRA-SEIMC/REIPI recommendations for the management of cytomegalovirus infection in solid-organ transplant patients. *Enferm. Infecc. Microbiol. Clin.* 29, 735.
  15. Giulieri, S., Manuel, O. (2011) QuantiFERON-CMV assay for the assessment of cytomegalovirus cell-mediated immunity. *Expert. Rev. Mol. Diagn.* 11, 17.
  16. Crough, T., Khanna, R. (2009). Immunobiology of human cytomegalovirus: from bench to bedside. *Clin. Microbiol. Rev.* 22, 76.

# Simboli

Uz iepakojuma un marķējuma var būt sekojoši simboli:

Simbols	Simbola definīcija
	Satur reaģentus, kuru daudzums ir pietiekams <N> reakcijām
	Izlietot līdz
	CE zīme
	<i>In vitro</i> diagnostikas medicīnas ierīce
	Kataloga numurs
	Partijas numurs
	Materiāla numurs
	Globālais tirdzniecības identifikācijas numurs (GTIN)
	Temperatūras ierobežojums
	Nelietot atkārtoti
	Neuzglabāt saules gaismā
	Skatīt lietošanas norādījumus
	Ražotājs
	Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā

---

## Kontaktinformācija

Lai saņemtu tehnisku palīdzību un papildu informāciju, lūdzu apskatiet mūsu tehniskā atbalsta centra vietni **[www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support)**, zvaniet pa tālruņa numuru 00800-22-44-6000 vai sazinieties ar kādu no QIAGEN tehnisko pakalpojumu dienesta nodaļām (skatiet aizmugurējo vāku vai apmeklējiet vietni **[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)**).

# Saīsināta ELISA testa procedūra

## 1. solis: Asins paraugu inkubācija

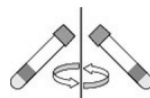
1. Asins analīžu stobriņos paņemiet pacienta asins paraugu un samaisiet stobriņu saturu, sakratot stobriņus desmit (10) reizes tikai tik spēcīgi, lai visa stobriņa iekšējā virsma tiktu pārklāta ar asinīm, tādējādi izšķīdinot uz stobriņa sienīņām esošos antigēnus.



2. Inkubējiet stobriņus stāvus 16–24 stundas  $37 \pm 1$  °C temperatūrā.



3. Pēc inkubācijas centrifugējiet stobriņus 15 minūtes ar ātrumu 2000–3000 RCF (g), lai atdalītu plazmu un sarkanos asins ķermeņiņšus.



4. Pēc centrifugēšanas un pirms plazmas iegūšanas izvairieties no pipetēšanas augšup un lejup vai jebkāda veida plazmas maisīšanas. Vienmēr ievērojiet piesardzību, lai nesabojātu materiālu uz gela virsmas.



## 2. solis: IFN- $\gamma$ ELISA

1. Nodrošiniet, lai visas ELISA testa sastāvdaļas, izņemot konjugāta  $100\times$  koncentrātu, būtu istabas temperatūrā vismaz 60 minūtes.

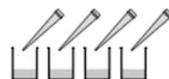


2. Pagatavojiet komplekta standarta šķīduma atšķaidījumu ar koncentrāciju 8,0 SV/ml, izmantojot destilētu vai dejonizētu ūdeni. Sagatavojiet četrus (4) standarta atšķaidījumus.



3. Pagatavojiet liofilizēto konjugāta 100x koncentrātu, izmantojot destilētu vai dejonizētu ūdeni.

4. Sagatavojiet konjugāta darba šķīdumu zaļajā atšķaidītājā un pievienojiet 50 µl visās iedobītēs.



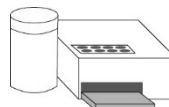
5. Atbilstošajās iedobītēs ievadiet 50 µl testa plazmas paraugu un 50 µl standarta šķīdumu. Samaisiet ar kratītāju.



6. Inkubējiet 120 minūtes istabas temperatūrā.



7. Skalojiet iedobītes vismaz 6 reizes ar 400 µl skalošanas buferšķīduma uz iedobīti.



8. Ievadiet iedobītēs 100 µl enzīmu substrāta šķīduma. Samaisiet ar kratītāju.



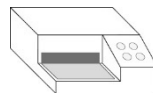
9. Inkubējiet 30 minūtes istabas temperatūrā.



10. Ievadiet visās iedobītēs 50 µl enzīmu darbības pārtraukšanas šķīduma. Samaisiet ar kratītāju.



11. Nolasiet rezultātus pie 450 nm ar 620–650 nm references filtru.



12. Analizējiet rezultātus.



## Rokasgrāmatas rediģēšanas vēsture

Dokuments	Izmaiņas	Datums
L1075110-R5	Pievienota informācija par drošību saistībā ar saplēstiem flakoniem Atjaunota 2. tabula. QF-CMV testa rezultātu interpretācija, 24. lpp.	2018. gada februāris
L1075110-R5	Atjaunota GHS informācija, 10. lpp.	2018. gada februāris



---

Ši lappuse ir atstāta tukša ar nodomu

---

Ši lappuse ir atstāta tukša ar nodomu

Preču zīmes: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (QIAGEN Group); Excel®, Microsoft® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.); SeraQuest™ (Quest International, Inc.).

#### **QuantiFERON-CMV ELISA ierobežotais licences līgums**

Šī produkta izmantošana liecina par katra produkta pircēja vai lietotāja piekrišanu tālāk minētajiem nosacījumiem.

1. Šo produktu drīkst lietot tikai saskaņā ar kopā ar produktu nodrošinātajiem protokoliem un šo rokasgrāmatu un tikai kopā ar sastāvdaļām, kas ietilpst šajā komplektā. Uzņēmums QIAGEN nepiešķir nekāda veida licenci uz nevienu no tā intelektuālajiem īpašumiem, lai šajā komplektā ietvertās sastāvdaļas izmantotu kopā ar jebkādam sastāvdaļām, kas neietilpst šajā komplektā, vai ar tām apvienotu, izņemot gadījumus, kas aprakstīti kopā ar produktu piegādātajos protokolos un šajā rokasgrāmatā, kā arī papildu protokolos, kas pieejami tīmekļa vietnē [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Dažus no šiem papildu protokoliem QIAGEN lietotāji nodrošina QIAGEN lietotājiem. Šie protokoli nav rūpīgi testēti vai optimizēti uzņēmumā QIAGEN. Uzņēmums QIAGEN nedz apliecina, nedz garantē, ka tie nepārkāpj trešo personu tiesības.
2. Uzņēmums QIAGEN nesniedz citas garantijas, izņemot skaidri norādītās licences, ka šis komplekts un/vai tā lietošana neaizskar trešo personu tiesības.
3. Šis komplekts un tā sastāvdaļas ir licencētas vienreizējai lietošanai, un tās nedrīkst izmantot atkārtoti, atjaunot vai pārdot tālāk.
4. Uzņēmums QIAGEN īpaši atsakās no jebkādam citām tiesām vai netiesām licencēm, kas nav skaidri norādīta.
5. Komplekta pircējs un lietotājs piekrīt neveikt un neatļaut citiem veikt nekādas darbības, kas varētu izraisīt vai veicināt jebkuras no iepriekš aizliegtajām darbībām. Uzņēmums QIAGEN var pieprasīt šī ierobežotā licences līguma aizliegumu īstenošanu jebkurā tiesā un apņemas atgūt visus savus izmeklēšanas un tiesas izdevumus, ieskaitot advokātu honorārus, kas radušies, īstenojot šo ierobežoto licences līgumu vai jebkuru no uzņēmuma intelektuālā īpašuma tiesībām saistībā ar komplektu un/vai tā sastāvdaļām.

Jaunākos licences nosacījumus skatiet tīmekļa vietnē [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Feb-18 © 2018, QIAGEN, visas tiesības aizsargātas.

---

Pasūtišana [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Tehniskais atbalsts [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Tīmekļa vietne [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)