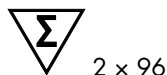


Veebruar 2018

# QuantiFERON<sup>®</sup>-CMV ELISA

## Pakendi infoleht



Täisvere gamma-interferooni (IFN- $\gamma$ ) analüüsi mõõtmisnäidud inimese tsütomegaloviiruse peptiidantigeenidele reageerimise kohta



Kasutamiseks in vitro diagnostikas



0350-0201



QIAGEN, 19300 Germantown Road, Germantown,  
MD 20874, USA +1-800-426-8157



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,  
SAKSAMAA

1075110ET Vers. 05



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



# Sisukord

Sihtotstarve .....	5
Ülevaade ja selgitus.....	5
Protseduuri põhimõtted .....	6
<b>Analüüsimiseks kuluv aeg</b> .....	<b>7</b>
Kaasasolevad materjalid .....	8
<b>Komplekti sisu</b> .....	<b>8</b>
Vajalikud materjalid, mida kaasas pole.....	9
Hoiatused ja ettevaatusabinõud.....	9
<b>Ohutusteave</b> .....	<b>11</b>
Reaktiivide hoiustamine ja tarnimine .....	12
Proovide võtmine ja käsitlemine .....	13
Protseduur.....	16
1. etapp – vere inkubeerimine ja plasma eraldamine.....	16
2. etapp – humaanse IFN- $\gamma$ QuantiFERON-CMV ensüüm-immunosorptsiooni analüüs .....	17
Arvutused ja analüüsi tõlgendamine.....	22
Standardkõvera moodustamine (kui QF-CMV analüüsitarkvara ei kasutata) .....	22
Analüüsi kvaliteedikontroll .....	23
Tulemuste tõlgendamine .....	24
Piirangud.....	25
Eeldatavad väärtused.....	25
Sooritusnäitajad .....	28

Kliiniline toimivus.....	28
Analüüsi läviväärtus.....	29
Kliinilised uuringud .....	29
Spetsiifilisus .....	29
Tundlikkus.....	30
Kliinilist kasulikkust esiletõstvad uuringud.....	30
Rahvusvahelised kokkuleppelised juhised tsütomegaloviiruse ohjamiseks parenhümatoossete elundite siirdamisel.....	35
Analüüsi sooritusnäitajad.....	36
Tehniline teave .....	38
Määramatud tulemused.....	38
Plasmaproovide hüübimine.....	38
Tõrkeotsingujuhend .....	39
Viited .....	41
Tähised .....	43
Kontaktteave .....	44
Ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi lühikirjeldus .....	45
1. etapp – Vere inkubeerimine.....	45
2. etapp – IFN- $\gamma$ ELISA .....	45
Käsiraamatu redaktsiooniajalugu.....	48

# Sihotstarve

QuantiFERON-CMV ELISA (QF-CMV) on in vitro analüüs, milles kasutatakse peptiidisegu inimese tsütomegaloviiruse (cytomegalovirus, CMV) proteiinide simuleerimiseks, et stimuleerida hepariniseeritud täisvere rakke. Ensüüm-immunosorptsiooni analüüsiga (enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA) tuvastatakse gamma-interferoon (interferon-gamma, IFN $\gamma$ ) ja selle abil mõõdetakse in vitro reaktsiooni sellistele peptiidantigeenidele, mis on seotud tsütomegaloviirusnakkuse immuunkontrolliga. Selle immuunfunktsiooni kadumist võib seostada tsütomegaloviirusnakkuse väljaarenemisega. QF-CMV on ette nähtud patsiendi tsütomegaloviiruse vastase immuunsustaseme jälgimiseks.

QF-CMV pole ette nähtud tsütomegaloviirusnakkuse diagnoosimiseks ja seda ei tohi kasutada selle nakkuse välistamiseks.

## Ülevaade ja selgitus

Tsütomegaloviirus on herpesviirus, millega on nakatunud 50–85% täiskasvanud elanikkonnast. See on sageli esinev immunosupressiooni tagajärjel tekkiv tüsistus, eriti pärast elundisiirdamist, ja võib märkimisväärselt mõjutada siiratud elundiga isikute haigestumust ja suremust. Tänapäeval kasutataval immuunsupressiivsel ravil, mille abil takistatakse siiratud organi äratõukereaktsiooni, on kahjustav mõju T-lümfotsüütidele ja rakuvahendatud immuunreaktsioonidele (cell-mediated immune, CMI), mille tulemusena tõuseb siirdamisjärgne vastuvõtlikkus viirusnakkustele. T-rakufunktsiooni tähtsust tsütomegaloviiruse paljunemise pärssimisel toetab ka fakt, et CD8<sup>+</sup> CMV-spetsiifilised tsütotoksilised T-lümfotsüüdid (cytotoxic T-lymphocytes, CTL-id) võivad kaitsta viirusega seotud patogeneesi eest. Immunosupressiivsete patsientide CD8<sup>+</sup> CMV-spetsiifiliste CTL-ide arvu ja IFN- $\gamma$  tootmise põhjal saab prognoosida tsütomegaloviiruse väljaarenemise riski. IFN- $\gamma$  tootmine võib olla funktsionaalne surrogaat CMV-spetsiifiliste CTL-ide tuvastamiseks.

QF-CMV on tsütomegaloviiruse proteiine simuleerivate peptiidantigeenide suhtes ilmnevate CMI-reaktsioonide analüüs. CMV peptiidid on loodud mõjutama CD8<sup>+</sup> T-rakke, sh A1, A2, A3, A11, A23, A24, A26, B7, B8, B27, B35, B40, B41, B44, B51, B52, B57, B58, B60 ja Cw6 (A30, B13) HLA klassi I haplotüüpe, mis hõlmavad > 98% elanikkonnast. Tsütomegaloviirusega nakatunud isikutel on tavaliselt veres CD8<sup>+</sup> lümfotsüüte, mis need antigeenid ära tunnevad. Sellise identifitseerimisprotsessi käigus toodab ja vallandab organism tsütokiini gamma-interferooni (IFN- $\gamma$ ). Selle analüüsi aluseks on IFN- $\gamma$  tuvastamine ja edasine kvantifitseerimine.

## Protseduuri põhimõtted

QF-CMV analüüs viiakse läbi kahes etapis. Esmalt kogutakse igasse QF-CMV verekogumiskatsutisse (kontroll-lahus, CMV antigeen ja mitogeen) täisveri.

Mitogeeni katsutit kasutatakse QF-CMV analüüsis positiivse kontrollina. See võib olla näidustatud eriti siis, kui patsiendi immuunsüsteemi seisund on küsitav. Mitogeeniga katsutit võib kasutada ka selleks, et kontrollida vereproovi nõuetekohast käsitlemist ja inkubeerimist.

Katsutid tuleb inkubeerida võimalikult kiiresti temperatuuril 37 °C (kuni 16 tunni jooksul pärast verevõtmist). Pärast 16–24-tunnist inkubatsiooniaega katsutid tsentrifuugitakse. Seejärel eraldatakse verest plasma ning määratakse QF-CMV ELISA testi abil kindlaks IFN- $\gamma$  hulk (RÜ/ml).

IFN- $\gamma$  hulk CMV antigeeni ja mitogeeni katsutite plasmaproovides võib sageli ületada enamiku ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi riiderite ülempiiri, isegi siis, kui isikute immunosupressioon on mõdukas. Kvalitatiivsete tulemuste saamiseks kasutage töötlemata plasma kohta arvatud väärtusi. Kvantitatiivsete tulemuste jaoks, mille puhul on nõutavad tegelikud RÜ/ml väärtused, tuleb plasmaproovid lahjendada rohelise lahjendiga vahekorras 1/10 ja analüüsida ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi abil koos töötlemata plasmaga.

Märkus. Proovide puhul, mis jäävad QF-CMV ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi vahemikku (st kuni 10 RÜ/ml), tuleb kasutada töötlemata plasma prooviga saadud tulemust. Selliste IFN- $\gamma$  kontsentratsioonide puhul võivad lahjendusastmega 1/10 plasmaproovide abil saadud väärtused olla ebatäpsed.

Analüüs loetakse IFN- $\gamma$ -vastusele reaktiivseks siis, kui CMV antigeeni katsuti näit on tunduvalt kõrgem IFN- $\gamma$  kontrollväärtusest RÜ/ml. Mitogeenstimuleeritud plasmaprooviga kontrollitakse iga analüüsitava proovi IFN- $\gamma$ -positiivsust. Vähene reaktsioon mitogeenile näitab indeterminantset tulemust, kui vereproov ei reageeri ka CMV antigeenidele. Selline muster võib ilmned ebapiisava arvu lümfotsüütide, nende pärssitud tegevuse, proovide vale käsitlemise, mitogeenikatsuti vale täitmise/segamise korral või patsiendi lümfotsüütide võimetuse korral toota IFN- $\gamma$ , nt patsientide puhul, kellele on äsja tehtud elundisiirdamine. Kontrollproov kohandub tausta või mittespetsiifilise IFN- $\gamma$ -ga vereproovis. Kontrollkatsuti IFN- $\gamma$  tase lahutatakse CMV antigeenikatsuti ja mitogeenikatsuti IFN- $\gamma$  tasemest (selle infolehe teemast „Tulemuste tõlgendamine”, lk 24 leiate ülevaate QF-CMV tulemuste tõlgendamise kohta).

## Analüüsimiseks kuluv aeg

Allpool on prognoositav aeg, mis kulub QF-CMV analüüsi tegemisele; näidatud on ka mitmest proovist koosneva seeria analüüsimisele kuluv aeg.

Verekatsutite inkubeerimine temperatuuril 37 °C:	16 kuni 24 tundi
Ensüüm-immunosorptsiooni analüüs:	Ligikaudu 3 tundi ühe ELISA analüüsi plaadile
	Alla 1 tunni tööd
	Lisaks 10–15 minutit iga lisaplaadi kohta

# Kaasasolevad materjalid

## Komplekti sisu

Blood Collection Tubes (Single Patient Pack)	
Katalooginr	0192-0301
Preparaatide arv	1
QuantifERON Nil Control (QuantifERON kontroll-lahuse katsuti) (hall kork)	1 katsuti
QuantifERON CMV Antigen (QuantifERON CMV antigeeni katsuti) (sinine kork)	1 katsuti
QuantifERON Mitogen Control (QuantifERON mitogeeni kontrollkatsuti) (lilla kork)	1 katsuti
QF-CMV Blood Collection Tubes Package Insert (QF-CMV-verevõtukatsutite infoleht)	1

QuantifERON-CMV ELISA	Kahest plaadist koosnev ELISA komplekt
Katalooginr	0350-0201
Mikroplaadiribad (12 x 8 süvendiga), kaetud anti-humaanse IFN- $\gamma$ monoklonaalse antikehaga (hiir)	2 komplekti 12 x 8 süvendiga mikroplaadiriba
Human IFN- $\gamma$ Standard, lyophilized (Humaanne IFN- $\gamma$ standardkontsentratsioon, lüofiliseeritud; sisaldab rekombinantset humaanset IFN- $\gamma$ , veise kaseiini, 0,01% mass/maht timerosaali)	1 vial (8 RÜ/ml pärast rekonstitueerimist)
Green Diluent (Roheline lahjendi) (sisaldab veise kaseiini, tavalist hiireseerumit, 0,01% mass/maht timerosaali)	1 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate, lyophilized (Konjugaadikontsentraat (100-kordne), lüofiliseeritud) (anti-humaanne (hiir) IFN- $\gamma$ HRP, sisaldab 0,01% mass/maht timerosaali)	1 x 0,3 ml
Wash Buffer 20x Concentrate (Pesupuhvri kontsentraat (20-kordne kontsentraat)(pH 7,2; sisaldab 0,05 mahu% ProClin® 300)	1 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Ensüümsubstradi lahus)(sisaldab H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3', 5,5' tetrametüülbensidiini)	1 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Ensüümi deaktiveerimislahus) (sisaldab 0,5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )*	1 x 15 ml
QF-CMV ELISA Package Insert (QF-CMV ELISA pakendi infoleht)	1

\* Sisaldab väävelhapet. Ettevaatusabinõude kohta vt lk 9.



# Vajalikud materjalid, mida kaasas pole

Kemikaalidega töötamisel kandke alati sobivat laborikitlit, ühekordselt kasutatavaid kindaid ja kaitseprille. Lisateabe saamiseks tutvuge toote tarnija pakutava vastava ohutuskaardiga (safety data sheets, SDS).

- 37 °C inkubaator; CO<sub>2</sub> pole nõutav
- Kalibreeritud eri suurusega pipetid (10–1000 µl, ühekordse otsaga)
- Kalibreeritud, mitme kanaliga pipetid (50–100 µl, ühekordse otsaga)
- Mikroplaadi raputi
- Deioniseeritud või destilleeritud vesi, 2 liitrit
- Mikroplaatide pesuseade (soovitavalt automaatne)
- Mikroplaadilugeja 450 nm filtri ja 620–650 nm referentsfiltriga

## Hoiatused ja ettevaatusabinõud

Kasutamiseks in vitro diagnostikas

Kemikaalidega töötamisel kandke alati sobivat laborikitlit, ühekordselt kasutatavaid kindaid ja kaitseprille. Lisateabe saamiseks tutvuge vastava ohutuskaardiga (SDS). Need on saadaval mugavas ja kompaktses PDF-vormingus veebiaadressil [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety). Seal saate vaadata kõiki QIAGEN®-i komplekti ja selle osade ohutuskaarte ning need välja printida.

ETTEVAATUST!



Käsitsege inimverd kui potentsiaalselt nakkusohklikku. Järgige asjakohaseid vere käsitsemise juhiseid.

QuantiFERON-CMV ELISA analüüsikomplekti komponentidele kehtivad järgmised ohu- ja hoiatuslaused.

#### QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Sisaldab: sulfuric acid. Hoiatus! Võib söövitada metalle. Põhjustab nahaärritust. Põhjustab tugevat silmade ärritust. Kanda kaitsekindaid/ kaitserõivastust/ kaitseprille/ kaitsemaski.

#### QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Hoiatus! Põhjustab keskmist naha ärritust. Kanda kaitsekindaid/ kaitserõivastust/ kaitseprille/ kaitsemaski.

#### QuantiFERON Green Diluent



Sisaldab: trinaatrium-5-hüdroksü-1-(4-sulfofenüül)-4-(4-sulfofenüül)sool-3-karboksülaati. Sisaldab: tartrazine. Hoiatus! Võib põhjustada allergilist nahareaktsiooni. Kanda kaitsekindaid/ kaitserõivastust/ kaitseprille/ kaitsemaski.

#### QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Sisaldab: ProClin 300. Ohtlik veeorganismidele, pikaajaline toime. Vältida sattumist keskkonda.

## Ohutusteave

### Lisateave

- QF-CMV infolehe juhiste eiramine võib põhjustada valesid tulemusi. Lugege juhised enne analüüsi kasutamist tähelepanelikult läbi.
- Ärge kasutage komplekti, kui mõni reaktiivipudel on enne kasutamist kahjustatud või lekib.
- NB! Enne kasutamist vaadake viaalid üle. Ärge kasutage konjugaadi või IFN- $\gamma$  standardviaale, millel on märke kahjustustest või mille kummikork on rikutud. Ärge kasutage purunenud viaale. Rakendage vajalikud meetmed viaalide ohutuks hävitamiseks. Soovitus: kasutage konjugaadi või IFN- $\gamma$  standardviaalde avamiseks avamistöriista, et vähendada vigastusohtu metallist korgi tõttu.
- Ärge segage erinevatest QF-CMV komplektipartiidest pärit mikropladiribasid, humaanset IFN- $\gamma$  standardkomplektis, rohelist lahendit ega 100-kordset konjugaadikontsentrati. Muid erinevatest komplektidest pärit reaktiive (pesupuhvri kontsentrati (20-kordne kontsentratsioon), ensüüm-substraadi lahust ja ensüümi deaktiveerimislahust) võib kasutada eeldusel, et nende reaktiivide säilivusaeg pole ületatud ja partii üksikasjad on üles kirjutatud.
- Kõrvaldage ülejäänud reaktiivid ja bioloogilised proovid kohalike ja riiklike määruste kohaselt.
- Ärge kasutage QF-CMV verevõtukatsuteid ega QF-CMV ensüüm-immunosorptsiooni analüüsikomplekte pärast aegumiskuupäeva.
- Veenduge, et laboriseadmed, nt mikroplaatide pesuseadmed ja plaadilugejad oleksid kalibreeritud/tunnistatud kasutuskõlblikuks.

# Reaktiivide hoiustamine ja tarnimine

## Verevõtukatsutid

- Säilitage QF-CMV-verevõtukatsuteid temperatuuril 4–25 °C.
- QF-CMV-verevõtukatsutite temperatuur peab verevõtmise ajal olema vahemikus 17–25 °C.
- QF-CMV-verevõtukatsutite kõlblikkusaeg on kuni 15 kuud alates tootmiskuupäevast, säilitustemperatuuril 4–25 °C.

## Ensüüm-immunosorptsiooni analüüsikomplekti reaktiivid

- Säilitage komplekti temperatuuril 2–8 °C.
- Kaitske ensüüm-substraadi lahust alati otsese päikesevalguse eest.

## Rekonstitueeritud ja kasutamata reaktiivid

Reaktiivide rekonstitueerimise kohta leiate teavet teemast „2. etapp – humaanse IFN- $\gamma$  QuantiFERON-CMV ensüüm-immunosorptsiooni analüüs“ (juhised 3 ja 5 lk 17 ja 19).

- Rekonstitueeritud humaanse IFN- $\gamma$  standard säilib temperatuuril 2–8 °C 3 kuud.  
Märkige üles humaanse IFN- $\gamma$  standardi rekonstitueerimise kuupäev.
- Ülejäänud kontsentrati (100-kordne) tuleb pärast rekonstitueerimist säilitada temperatuuril 2–8 °C ning see tuleb ära kasutada 3 kuu jooksul.  
Märkige üles konjugaadi rekonstitueerimise kuupäev.
- Kasutusvalmis konjugaat tuleb ära tarvitada 6 tunni jooksul pärast valmistamist.
- Kasutusvalmis pesupuhver säilib toatemperatuuril (22  $\pm$  5 °C) kuni 2 nädalat.

# Proovide võtmine ja käsitlemine

QF-CMV sisaldab järgmisi verevõtukatsuteid:

- Kontrolllahuse katsuti (hall kork)
- CMV antigeeni katsuti (sinine kork)
- Mitogeeni kontrollkatsuti (lilla kork)

Antigeenid katavad kuivatatud kihina verevõtukatsutite siseseina, seetõttu tuleb vereproovid hoolikalt katsuti sisuga segada. Katsutid tuleb toimetada võimalikult kiiresti inkubaatorisse temperatuuril 37 °C (kuni 16 tunni jooksul pärast vere võtmist).

Optimaalsete tulemuste saamiseks tuleb kinni pidada järgmistest juhistest.

1. Võtke igalt patsiendilt otse igasse QF-CMV verevõtukatsutisse 1 ml veeniverd. Selle protseduuri peab läbi viima ainult vastava väljaõppega veenivere võtja (flebotomist).

QF-CMV-verevõtukatsuteid saab kasutada kõrgusel 0–810 m ümp.

Kui QF-CMV-verevõtukatsuteid kasutatakse kõrgemal kui 810 m ümp või kui veri voolab liiga aeglaselt, võib verevõtmiseks kasutada ka süstalt ning viia sellega igasse 3 katsutisse 1 ml verd. Et seda oleks turvaline ja mugav teha, tuleb süstlanõel nõuetekohaselt eemaldada, võtta kõigilt kolmelt QF-CMV-verevõtukatsutilt korgid ära ning viia süstlaga igasse katsutisse 1 ml verd (kuni musta märgistuseni katsuti küljel). Pange katsutikorgid kindlalt peale ja segage, nagu järgnevas osas kirjeldatud. Kuna veri voolab 1 ml katsutitesse suhteliselt aeglaselt, jätkke katsuti pärast näilise täituvustaseme saavutamist veel 2–3 sekundiks nõela otsa. Sellega on tagatud vajaliku verekoguse saamine.

Katsuti küljel olev must märgistus tähistab 1 ml täituvustaset. QF-CMV-verevõtukatsutid on nähtud ette 0,8–1,2 ml vere jaoks. Kui vere tase ei ole mõnes katsutis indikaatortähise lähedal, tuleb võtta uus vereproov.

Kui verevõtmisel kasutatakse libliknõela, tuleb tühja katsuti abil veenduda, et toru oleks enne QF-CMV-verevõtukatsutite kasutamist verega täidetud.

Alternatiivselt võib verd võtta ühte üldisesse verevõtukatsutisse, milles sisalduv antikoagulant on liitiumhepariin ja mis viiakse seejärel QF-CMV-verevõtukatsutitesse. Antikoagulandina kasutage ainult liitiumhepariini, kuna muud antikoagulandid võivad analüüsitulemusi moonutada. Täitke verevõtukatsuti (miinimumkogus 5 ml) ja segage hepariini lahustamiseks ettevaatlikult (pöörates katsutit mitu korda tagurpidi). Selle protseduuri peab läbi viima ainult vastava väljaõppega veenivere võtja (flebotomist). Verd tuleb säilitada toatemperatuuril ( $22 \pm 5$  °C) enne selle viimist QF-CMV-verevõtukatsutisse inkubeerimiseks, mis tuleb läbi viia hiljemalt 16 tunni jooksul pärast verevõtmist.

2. Segage QF-CMV-verevõtukatsutite sisu kohe pärast verevõtmist, raputades katsuteid kümme (10) korda piisava tugevusega nii, et kogu katsuti sisepind oleks verega kaetud ja katsuti seintel olev antigeen lahustunud.

Katsutite temperatuur peab verevõtmise ajal olema vahemikus 17–25 °C.

Liiga energiline raputamine võib geeli lagundada ja põhjustada valesid tulemusi.

Kui verd on võetud liitiumhepariiniga katsutisse, tuleb proove enne QF-CMV-verevõtukatsutisse viimist ühtlaselt segada. Veenduge, et veri on vahetult enne teise katsutisse viimist põhjalikult segatud (kergelt loksutades). Jagage 1 ml alikvooti (üks iga QF-CMV-verevõtukatsuti kohta) vastavasse lisanditeta, CMV-antigeeniga või mitogeeniga katsutisse. Turvalisuse tagamiseks tuleks seda teha aseptiliselt, eemaldades kõigilt kolmelt QF-CMV-verevõtukatsutilt korgid ning viia süstlaga igasse katsutisse 1 ml verd (kuni musta märgistuseni katsuti küljel). Pange katsutikorgid kindlalt peale ja segage vastavalt eespool kirjeldatule.

---

3. Sildistage katsutid vastavalt nõuetele.

Kontrollige, kas iga katsuti (lisanditeta, CMV-antigeeniga, mitogeeniga katsuti) on sildi või muude vahendite abil tuvastatav.

4. Katsutid tuleb toimetada võimalikult kiiresti inkubaatorisse temperatuuril  $37 \pm 1$  °C (kuni 16 tunni jooksul pärast verevõtmist). Hoidke katsuteid enne inkubeerimist toatemperatuuril ( $22 \pm 5$  °C). Ärge säilitage vereproove külmikus ega jääkapis.

# Protseduur

## 1. etapp – vere inkubeerimine ja plasma eraldamine

1. Inkubeerige katsuteid PÜSTASENDIS temperatuuril  $37 \pm 1$  °C 16–24 tundi. Inkubaator ei vaja CO<sub>2</sub> ega niisutamist.

NB! Kui katsuteid ei inkubeerita vahetult pärast verevõtmist, segage verd enne inkubeerimist uuesti, pöörates katsutit 10 korda tagurpidi.

Pärast inkubeerimist võib verevõtukatsuteid enne tsentrifuugimist hoida temperatuuril 4–27 °C kuni 3 ööpäeva.

2. Pärast katsutite inkubeerimist temperatuuril 37 °C tsentrifuugige neid 15 minutit 2000–3000 g (RCF) juures. Moodustuv hüüvis eraldab rakud plasmast. Kui seda ei juhtu, tuleb katsuteid uuesti tsentrifuugida.

Plasmat on võimalik eraldada ka tsentrifuugimata, kuid seejuures peab toimima äärmise ettevaatusega, et plasma võtmisel rakke mitte kaasa haarata.

3. plasmaproove ei tohi pärast tsentrifuugimist ja enne plasma eraldamist mingil juhul üles või alla pipeteerida ega segada. Toimige suure ettevaatusega, et materjal hüüvise pinnaga ei seguneks.

NB! Kasutage plasmaproovi võtmiseks alati pipetti.

Plasmaproovid võib tsentrifuugitud verevõtukatsutitest kanda otse QF-CMV ensüüm-immunosorptsiooni analüüsiplaadile; sama kehtib ka ensüüm-immunosorptsiooni analüüsiautomaatide kasutamise korral.

Plasmaproove võib säilitada tsentrifuugitud QF-CMV-verevõtukatsutites kuni 28 päeva temperatuuril 2–8 °C või temperatuuril –20 °C (soovitavalt alla –70°C) pärast plasma eraldamist ka pikema aja jooksul.

Piisava analüüsiproovi saamiseks eraldage plasmat vähemalt 150 µl.



## 2. etapp – humaanse IFN- $\gamma$ QuantiFERON-CMV ensüüm-immunosorptsiooni analüüs

Teavet ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi jaoks vajalike materjalide kohta vt jaotisest „Komplekti sisu”, lk 8 ja jaotisest „Vajalikud materjalid, mida kaasas pole”, lk 9.

1. Kõik plasmaproovid ja reaktiivid, välja arvatud 100-kordne konjugaadikontsentratsioon, peavad olema enne kasutamist saavutanud toatemperatuuri ( $22 \pm 5$  °C). Kavandage selleks vähemalt 60 minutit.
2. Võtke kasutamata ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi plaadi ribad raamist välja, pange kilepakendisse tagasi ja säilitage kuni kasutamiseni külmikus.

Varuge QF-CMV ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi standarditele vähemalt üks riba ja analüüsitavaatele patsientidele piisav arv ribasid. Hoidke raam ja kaas pärast kasutamist ülejäänud ribade jaoks alles.

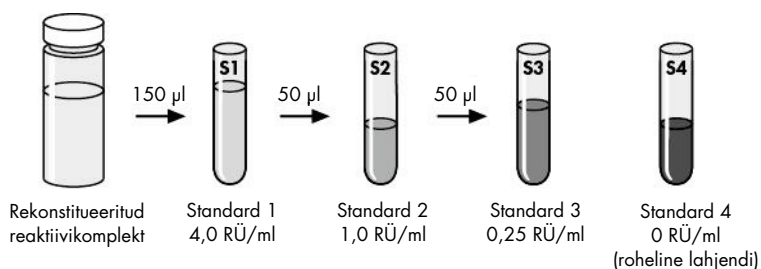
3. Rekonstitueerige humaanse IFN- $\gamma$  standard viaali etiketile märgitud koguse deioniseeritud või destilleeritud veega. Segage pudeli sisu ettevaatlikult (et tekiks võimalikult vähe vahtu) ja veenduge, et sisu oleks täielikult lahustunud. IFN- $\gamma$  standardi rekonstitueerimine õige mahuni annab tulemuseks 8,0 RÜ/ml kontsentratsiooniga lahuse.

Märkus. Humaanse IFN- $\gamma$  standardi (standardkomplekti) rekonstitueerimise maht on partiist sõltuvalt erinev.

Rekonstitueeritud standardit kasutades valmistage ette neljast IFN- $\gamma$  kontsentratsioonist koosnev rohelise lahjendi (RL) seeria (Joonis 1, järgmine leht). S1 (standard 1) sisaldab 4,0 RÜ/ml, S2 (standard 2) sisaldab 1,0 RÜ/ml, S3 (standard 3) sisaldab 0,25 RÜ/ml ja S4 (standard 4) sisaldab 0 RÜ/ml (ainult RL). Standardeid tuleb testida vähemalt kahekordselt. Valmistage igaks ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi seansiks ette standardkomplekti uus lahus.

## Kahekordse menetluse näide

Kahekordse menetluse näide	
A	Sildistage neli katsutit: S1, S2, S3, S4
B	Valage katsutitesse S1, S2, S3, S4 150 µl RL-i.
C	Valage katsutisse S1 150 µl standardlahust ja segage korralikult.
D	Valage katsutist S1 50 µl katsutisse S2 ja segage korralikult.
E	Valage katsutist S2 50 µl katsutisse S3 ja segage korralikult.
F	Ainult RL on nullstandard (S4).



Joonis 1. Standardkõvera valmistamine lahjendusseeria abil.

4. Rekonstitueerige lüofiliseeritud 100-kordne konjugaadikontsentratsioon 0,3 ml deioniseeritud või destilleeritud veega. Segage pudeli sisu ettevaatlikult (et tekiks võimalikult vähe vahu) ning veenduge, et konjugaat oleks täielikult lahustunud.

Kasutusvalmis konjugaadi valmistamiseks lahjendatakse vajalik kogus rekonstitueeritud 100x konjugaadikontsentrati rohelises lahjendis (vt tabel Tabel 1, järgmine leht).

Segage korralikult, kuid ettevaatlikult, et vältida vahu teket.

Paigutage ülejäänud 100-kordne konjugaadikontsentratsioon kohe pärast kasutust uuesti temperatuurile 2–8 °C.

Kasutage ainult rohelist lahjendit.

Tabel 1. Kasutusvalmis konjugaadi valmistamine

Ribade arv	100-kordse konjugaadikontsentradi kogus	Rohelise lahjendi kogus
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. Katsutitest eraldatud ja seejärel külmutatud või kauem kui 24 tunniks hoiule pandud plasmaproove tuleb enne ELISA automaati panemist hoolikalt loksutada.

NB! Kui plasmaproovid pannakse automaati otse tsentrifuugitud QF-CMV- verevõtukatsutitest, tuleb hoiduda plasmat loksutamast. Toimige suure ettevaatusega, et materjal hüüvise pinnaga ei seguneks.

6. Kui on vaja kvantitatiivseid tulemusi, lahjendage ka CMV ja mitogeeni plasmaproovid rohelise lahjendiga vahekorras 1:10 (10 µl plasmat segatud 90 µl RL-ga). Kontroll-plasmaproovi ei tohi lahjendada.

Soovitav on paralleelselt analüüsida järgmisi proove:

kontroll, CMV antigeen, mitogeen, CMV antigeen (1/10), mitogeen (1/10)

Analüüsitarkvara QuantiFERON-CMV Analysis Software toetab ka järgmisi patsiendi proovikombinatsioone:

kontroll, CMV antigeen, mitogeen

kontroll, CMV antigeen (1/10), mitogeen (1/10)

kontroll, CMV antigeen, mitogeen, CMV antigeen (1/10)

kontroll, CMV antigeen (1/10), mitogeen

7. Tilgutage mitmekanalilise pipetiga igasse ELISA süvendisse 50 µl valmis konjugaati.
8. Lisage vastavatesse mikrolohukestesse 50 µl plasmaproovi. Lõpuks lisage igasse mikrolohukestesse 50 µl standardeid 1–4. Standardeid tuleb testida vähemalt kahekordselt.
9. Katke ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi plaat kaanega ja segage konjugaati ja plasmaproove/standardeid korralikult 1 minuti vältel mikroplaatide raputis kiirusel 500–1000 p/min. Vältige pritsimist.
10. Katke ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi plaat kaanega ja inkubeerige neid  $120 \pm 5$  minutit toatemperatuuril ( $22 \pm 5$  °C).  
Inkubeerimise ajal tuleb plaate kaitsta otsese päikesekiirguse eest. Kõrvalekaldumine ettenähtud temperatuurivahemikust võib põhjustada valesid tulemusi.
11. Valmistage inkubeerimise ajal kasutusvalmis pesupuhver. Lahjendage üks osa 20-kordset pesupuhvrikontsentrati 19 osa deioniseeritud või destilleeritud veega ja segage korralikult läbi. Analüüsiga on kaasas piisav kogus 20-kordset pesupuhvrikontsentrati, millest piisab 2 liitri kasutusvalmis pesupuhvri valmistamiseks.
12. Kui ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi plaatide inkubeerimine on lõppenud, peske mikrolohukesti vähemalt kuus korda 400 µl kasutusvalmis pesupuhvriga. Soovitav on kasutada automaatset pesemisseadet.  
NB! Korralik pesemine on analüüsi tulemuste seisukohast väga tähtis. Kontrollige iga pesutsükli korral, et kõik süvendid oleksid kuni ülemise servani pesupuhvriga täielikult kaetud. Soovitav on jätta iga pesutsükli vahele vähemalt 5 sekundi pikkuse leotusaja. Kasutatud pesuvee kogumisenõusse tuleb lisada laborites kasutatavat desinfitseerimisvahendit. Lisaks sellele järgige teie laboris kehtivaid potentsiaalselt nakkava materjali dekontamineerimise eeskirju.
13. Koputage plaate ebemevaba paberrätiku peal, et eemaldada nendesse jäänud pesupuhvri jäägid. Tilgutage igasse mikrolohukesse 100 µl ensüüm-substraadi lahust, katke plaat kaanega ja segage korralikult 1 minuti vältel mikroplaatide raputis kiirusel 500–1000 p/min.
14. Katke kõik plaadid kaanega ja inkubeerige neid 30 minutit toatemperatuuril ( $22 \pm 5$  °C).  
Inkubeerimise ajal tuleb plaate kaitsta otsese päikesekiirguse eest.

- 
15. 30-minutise inkubeerimise järel tilgutage igasse mikrolohuksesse 50 µl Enzyme Stopping Solutionit (ensüümi deaktiveerimislahus) samas järjekorras, milles lisasite substraadi ja segage korralikult mikroplaatide raputis kiirusel 500–1000 p/min.
16. Mõõtkite iga mikrolohuksese optilist tihedust (OT) 5 minuti jooksul pärast deaktivaatori lisamist mikroplaatide lugejaga ja kasutage selleks 450 nm filtrit ning 620–650 nm referentsfiltrit. OT-väärtusi on hiljem vaja tulemuste arvutamiseks.

# Arvutused ja analüüsi tõlgendamine

Tarkvara QuantiFERON-CMV Analysis Software lähteandmete analüüsimiseks ja tulemuste arvutamiseks on saadaval QIAGEN-i veebisaidil [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Veenduge, et kasutate QF-CMV analüüsitarkvara uusimat versiooni.

Tarkvara teeb analüüsi kvaliteedikontrolli, koostab standardkõvera ja väljastab iga analüüsitud katseisiku kohta tulemuse, mida kirjeldatakse üksikasjalikumalt teemas „Tulemuste tõlgendamine“, lk 24. Tarkvara annab lahjenduse madalaima tulemuse, mis annab tulemuse QF-CMV ELISA analüüsivahemikus, arvestades ka lahjendustegurit.

QF-CMV analüüsimise tarkvara kasutamise alternatiivina on võimalik tulemusi kindlaks teha ka järgmise meetodi abil.

## Standardkõvera moodustamine (kui QF-CMV analüüsitarkvara ei kasutata)

Leidke igal plaadil standardkomplekti korduste keskmised OT-väärtused.

Konstrueerige  $\log_{(e)}\text{-}\log_{(e)}$  standardkõver, kandes ( $y$ -teljele) OT keskmise väärtuse  $\log_{(e)}$  ja ( $x$ -teljele) standardite IFN- $\gamma$  kontsentratsiooni (RÜ/ml)  $\log_{(e)}$ , jättes arvutustest välja nullstandardi. Arvutage regressioonanalüüsi kaudu standardkõvera parim kontuur.

Leidke standardkõvera abil kõikide analüüsitud plasmaproovide IFN- $\gamma$  kontsentratsioon (RÜ/ml), kasutades iga proovi OT-väärtust.

Nendeks arvutusteks võib kasutada mikroplaatide lugemisseadmetele pakutavaid tarkvarapakette ja standardseid arvutustabeleid või statistikaprogramme (nt Microsoft® Excel®). Soovitav on selliseid tarkvarapakette kasutada regressioonanalüüsi tegemiseks, standardite variatsioonikoefitsiendi (%VK) ja standardkõvera korrelatsioonikoefitsiendi (r) leidmiseks.

Esitatud tulemus tuleb võtta madalaimast lahjendusest, mis annab tulemuse QF-CMV ELISA analüüsivahemikus, arvestades ka lahjendustegurit (kui see on asjakohane).

## Analüüsi kvaliteedikontroll

Analüüsi tulemuste täpsus sõltub korrektse standardkõvera moodustamisest. Seetõttu tuleb enne proovide analüüsitulemuste tõlgendamist kontrollida standarditest tuletatud tulemusi.

Ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi tulemused on valiidsed, kui on täidetud järgmised tingimused.

- Standardi 1 keskmine OT-väärtus peab olema  $\geq 0,600$ .
- Standardi 1 ja standardi 2 korduvate OT-väärtuste protsendis peab %VK olema  $< 15\%$ .
- Standardi 3 ja standardi 4 korduvad OT-väärtused ei tohi hõlbida konkreetsest keskmisest väärtusest rohkem kui 0,040 OT-ühikut.
- Standardite keskmiste ekstinktsiooniväärtuste põhjal arvutatud korrelatsioonikoefitsient (r) peab olema  $\geq 0,98$ .

QF-CMV analüüsitarkvara arvutab ja esitab need kvaliteedikontrolli parameetrid. Kui nimetatud kriteeriumid pole täidetud, on analüüsipartii kehtetu ja seda tuleb korrata.

Nullstandardi (roheline lahjendi) keskmine OT-väärtus peab olema  $\leq 0,150$ . Kui keskmine OT-väärtus on  $> 0,150$ , tuleks kontrollida, kuidas toimub plaatide pesemine.

# Tulemuste tõlgendamine

QuantiferON-CMV tulemusi saab tõlgendada järgmiste kriteeriumide alusel, vt Tabel 2.

Tabel 2. QuantiferON-CMV tulemuste tõlgendamine

Lisanditeta (RÜ/ml)	CMV miinus kontroll (RÜ/ml)	Mitogeeni miinus lisanditeta (RÜ/ml)*	QF-CMV tulemus	Aruanne/tõlgendus
≤ 8,0	≥ 0,20 ja ≥ 25% lisanditeta väärtusest	Suvaline	Reaktiivne <sup>†</sup>	CMV vastane immuunsus on tuvastatud
	< 0,20 VÕI ≥ 0,20 ja < 25% lisanditeta väärtusest	≥ 0,5	Mittereaktiivne	CMV vastast immuunsust EI tuvastatud
		< 0,5	Määramatu <sup>‡</sup>	CMV reaktiivsuse tulemused on määratlematud
> 8,0 <sup>§</sup>	Suvaline	Suvaline	Määramatu <sup>‡</sup>	CMV reaktiivsuse tulemused on määratlematud

\* Mitogeeni positiivse kontrolli vastused (mõnel juhul ka CMV antigeenide omad) võivad tavaliselt olla väljaspool mikroplaatide lugeja vahemikku. See ei mõjuta analüüsitulemusi.

<sup>†</sup> Neil juhtudel, kui tsütomegaloviiruse nakkust ei oletata, võib algsete plasmaproovide uus kahekordne testimine QF-CMV ELISA testiga esialgseid reaktiivseid tulemusi kinnitada. Kui testi kordamisel on ühe või mõlema proovi tulemus positiivne, tuleb testi üldtulemus hinnata reaktiivseks.

<sup>‡</sup> Võimalike põhjuste kohta leiate teavet teemast „Tõrkeotsingujuhend“ (lk 39).

Kliinilistes uuringutes (1) on osutunud kliiniliselt oluliseks määramatu tulemus parenhümatoosse elundi siirdamise patsientide seas, kus doonor on CMV suhtes reaktiivne, kuid mitogeeni kontroll oli alla 0,5 RÜ/ml. Selliste patsientide puhul on kõrgeim CMV-risk.

<sup>§</sup> Kliinilistes uuringutes oli alla 0,25% katseisikutel lisanditeta väärtuse IFN- $\gamma$  tase > 8,0 RÜ/ml.

**Märkus.** Mõõdetud IFN- $\gamma$ -taseme tulemusi tuleb kasutada, arvestades CMV-antigeenide immuunreaktsiooni hindamisel kliinilist pilti, haiguste anamneesi ja muid diagnostilisi uuringuid. QF-CMV pole ette nähtud tsütomegaloviirusnakkuse diagnoosimiseks ja seda ei tohi kasutada selle nakkuse välistamiseks.



# Piirangud

QuantiFERON-CMV analüüsi tulemusi tuleb vaadelda koos iga isiku epidemioloogilise ajaloo, tema tegeliku tervisliku seisundi ja muude diagnostiliste uuringutega.

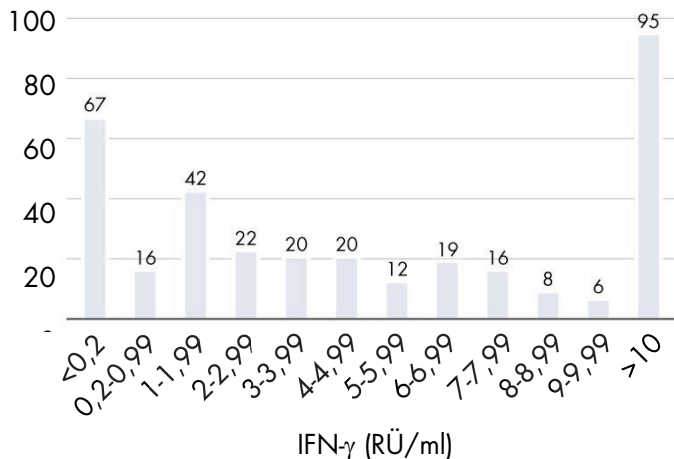
Ebausaldusväärsed või määramatud tulemused võidakse saada järgmistel põhjustel.

- Kõrvalekaldumine QuantiFERON-CMV ELISA infolehel kirjeldatud protseduurist.
- IFN- $\gamma$  ülemäärane tase kontrollkatsutis.
- Vereproovi võtmise ja temperatuuril 37 °C inkubeerimise vahe on pikem kui 16 tundi

# Eeldatavad väärtused

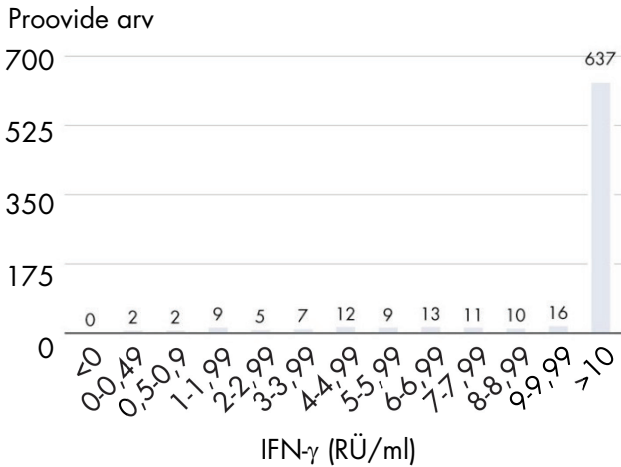
Eeldatavad IFN- $\gamma$  väärtused QuantiFERON-CMV analüüsi kasutades saadi tervetelt analüüsitavatelt isikutelt võetud 591 proovi uuringuga. 343 proovi tulemus oli CMV IgG analüüsi tulemusel seropositiivne ja 248 proovi tulemus oli seronegatiivne. CMV seroloogia olek oli QF-CMV testimise ajal teadmata. CMV-seronegatiivsete analüüsitud isikute 248 testitud proovist olid QF-CMV ELISA analüüsi tulemusel 100% (248/248) mittereaktiivsed, andes CMV antigeeni katsutis IFN- $\gamma$  tulemuse  $< 0,2$  RÜ/ml (kontrollväärtus on lahutatud). Joonis 2 on näidatud 343 CMV seropositiivse kaitseisiku IFN- $\gamma$  tulemuste jaotuvus CMV antigeeni katsuti puhul (kontrollväärtus on lahutatud).

Proovide arv



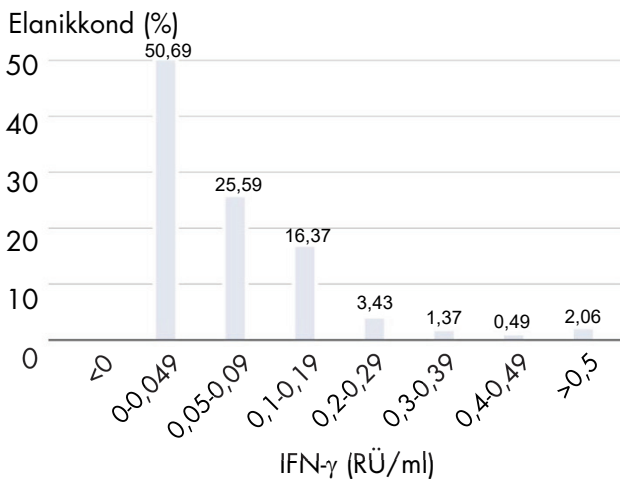
Joonis 2. QF-CMV IFN- $\gamma$  tulemuste jaotuvus (kontrollväärtus on lahutatud) seropositiivsetes tervetes analüüsitud isikutes (n = 343).

Mitogeeni reageerimise IFN- $\gamma$  jaotuvus (kontrollväärtus on lahutatud) määrati kindlaks tervetelt täiskasvanud analüüsitud isikutelt võetud 733 prooviga, kasutades QF-CMV ELISA analüüsi, olenemata CMV IgG seroloogiast (Joonis 3). Mitogeeni tulemus (kontrollväärtus on lahutatud) alla 0,5 RÜ/ml näitab analüüsi nurjumist või seda, et analüüsitud isiku immuunsüsteem on ohustatud seisundis. Tervetest analüüsitud isikutest sattus sellesse kategooriasse ainult 2/733-st tulemusest.



Joonis 3. Mitogeeni IFN- $\gamma$  tulemuste jaotuvus (kontrollväärtus on lahutatud) tervetes analüüsitud isikutes (n = 733).

Kontroll-lahuseta katsutitele reageerimise IFN- $\gamma$  jaotuvus määrati kindlaks tervelt analüüsitud isikutelt võetud 1020 prooviga, kasutades QF-CMV ELISA analüüsi, olenemata CMV IgG seroloogiast (Joonis 4).



Joonis 4. Kontroll-lahuseta IFN- $\gamma$  vastuste jaotuvus tervetes analüüsitud isikutes (n = 1020) väljendatuna protsendina elanikkonnast.

# Sooritusnäitajad

## Kliiniline toimivus

Analüüsi läviväärtus varasema CMV-ga kokkupuute tuvastamiseks QF-CMV abil saadi grupi tervete täiskasvanute (n = 223) testimise tulemuste analüüsi põhjal, mille käigus QF-CMV tulemusi võrreldi CMV seroloogiliste tulemustega. ROC-analüüsiga tehti kindlaks, et analüüsi läviväärtus 0,04 RÜ/ml (pärast kontrollväärtuse lahutamist) tagas QF-CMV analüüsi optimaalsed positiivsed ja negatiivsed prognoosimisväärtused (ala kõvera all = 0,9679 [95%CI: 0,9442–0,9915, p<0,0001]) ja näitas seega lävi, milleni see analüüs täitis tervete analüüsitavate seas sihtotstarvet kõige tõhusamalt.

QF-CMV analüüsi toimivust võrreldi SeraQuest™ CMV IgG seroloogiaanalüüsiga (Quest International). QF-CMV analüüs kattus tervete täiskasvanute puhul 95% (294/310 isikust) ulatuses CMV IgG seroloogiaanalüüsi tulemustega, kusjuures ükski 149-st seronegatiivsest doonorist ei olnud reaktiivne QF-CMV-le. 161-st seropositiivsest doonorist olid QF-CMV-le reaktiivsed 145. Üldine positiivne ühildumine oli 90%, negatiivse ühildumise väärtus aga 100%. QF-CMV vastuste ja CMV IgG seroloogia oleku tulemuste kattumine tervete analüüsitavate puhul on esitatud Tabel 3.

Tabel 3. QuantiFERON-CMV ja CMV IgG seroloogiaanalüüsi tulemuste kattumine tervete analüüsitavate puhul

		CMV seroloogia		Kokku
		Positiivne	Negatiivne	
QuantiFERON-CMV	Reaktiivne	145	0	145 (46,8%)
	Mittereaktiivne	16	149	165 (53,2%)
	Kokku	161 (51,9%)	149 (48,1%)	310 (100%)

## Analüüsi läviväärtus

Selle analüüsi soovitatav kliiniline läviväärtus CMV antigeeni katsuti puhul on 0,2 RÜ/ml (kontrollväärtus on lahutatud), kuigi erinevate kliiniliste tingimuste korral võivad valiidses osutuda erinevad läviväärtused.

## Kliinilised uuringud

Kuna üldtunnustatud standard tsütomegaloviiruse nakkuse diagnoosi kinnitamiseks või välistamiseks puudub, ei saa QF-CMV tundlikkuse ja spetsiifilisuse analüüsi praktiliselt hinnata. QF-CMV ligikaudne spetsiifilisus ja tundlikkus määrati tervete analüüsitava isikute QF-CMV vastuste ja CMV IgG seroloogia oleku tulemuste kattumise hindamise teel.

QF-CMV ligikaudne spetsiifilisus leiti valepositiivsete tulemuste määra hindamise teel (QF-CMV reaktiivne vastus) tervete doonorite proovides, kellel puudus varasem kokkupuude CMV-ga (CMV IgG seronegatiivsed isikud). Ligikaudne tundlikkus määrati tervete doonorite proovide QF-CMV-le reageerimise hindamise teel, kellel oli varasemaid kokkupuuteid CMV-ga (CMV IgC seropositiivsed isikud). QF-CMV kasutab suurt arvu erinevate CMV proteiinide CMV-spetsiifilisi epitoope, võimaldades ulatuslikku kliinilist rakendust suurele hulgale erineva HLA klassi I haplotüüpidega elanikkonnale (ligikaudu 98% elanikkonnast). Kuna CMV seroloogiaga analüüsitud isikute HLA haplotüübid polnud teada, eeldati, et väike protsent seropositiivsete isikute proovidest ei reageeri QF-CMV-vere võtukohtadele.

## Spetsiifilisus

Tervetelt analüüsitava isikutelt võetud 591 proovi uuringuga ei avastanud CMV IgG seronegatiivsete isikute kohta ühtki valepositiivset QF-CMV tulemust, kusjuures 248 proovi 248-st olid QF-CMV ELISA analüüsi tulemusel mittereaktiivsed ja CMV IgG seroloogiatesti tulemusel negatiivsed. Seega näitasid QF-CMV analüüsi ja CMV IgG seroloogiatestiga saadud tulemused 100% kokkulangevust.

Kõigis muudes spetsiifilisuse analüüsides, mis viidi läbi parenhümatosse elundi siirdamise (1–8), hematopoeetilise tüvirakusiirdamise (9,10) läbi teinud ja HI-viirusega (11) patsientide seas, oli QF-CMV ja CMV IgG seroloogia kokkulangevuse tase olnud järjepidevalt 100%.

## Tundlikkus

Tervetelt analüüsitatavalt isikutelt võetud 343 proovi uuringuga CMV IgG seropositiivsete isikute kohta selgus, et QF-CMV analüüsi ja CMV IgG seroloogiatesti tulemuste kokkulangevuse tase oli 80,5%, 276 proovi 343-st olid QF-CMV analüüsi tulemusel reaktiivsed ja CMV IgG seroloogiatesti tulemusel positiivsed. Ebakõla võib olla tingitud valepositiivsest CMV-seroloogiast või reaktiivsete HLA tüüpide puudumisest testitud isikutel.

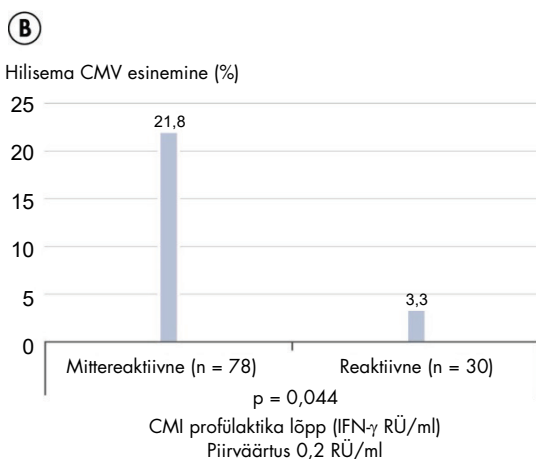
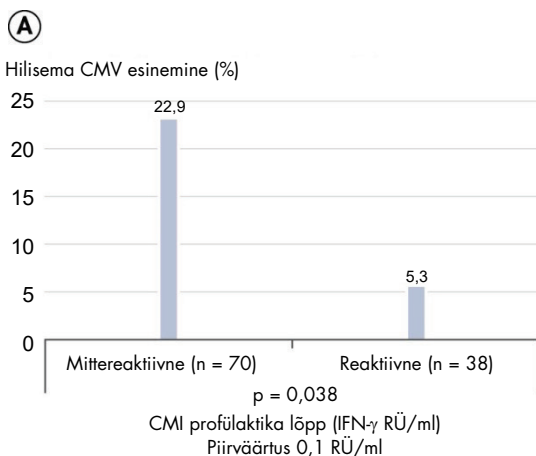
Tundlikkuse hindamisel parenhümatosse elundi siirdamise läbi teinud patsientidel (1–8), hematopoeetilise tüvirakusiirdamise patsientidel (9, 10) ja HI-viirusega nakatunud patsientidel (11) leiti pisut madalam ühilduvuse tase, mis võib olla tingitud valepositiivsest CMV-seroloogiast, reaktiivsete HLA tüüpide puudumisest testitud isikutel või reaktiivsete T-rakkude puudumisest nendel patsientidel immuunreaktsiooni pärsituse tõttu.

## Kliinilist kasulikkust esiletõstvad uuringud

Nii CMV IgG seroloogia kui ka QF-CMV sihtotstarve on CMV suhtes immuunsuse tuvastamise võimaldamine. Elundite siirdamisel kasutatakse CMV seroloogiat laialdaselt enne siirdamist, et kindlaks teha CMV-ga seotud komplikatsioonide riski pärast patsiendile elundi siirdamist, kuid siirdamisjärgselt on sel vaid piiratud väärtus. QF-CMV-d võib kasutada ka elundisiirdamisepatsientide puhul, et hinnata nende CMV vastase immuunsuse taset ja riski sümptomaatilise CMV-nakkuse ja/või -haiguse väljakujunemiseks immuunreaktsiooni pärsituse tõttu (12–15).

Mitmed avaldatud kliinilised uuringud erinevate siirdamisepatsiendirühmade seas on tõestanud QuantiFERON-CMV kasulikkust (1–11, 15, 16).

Ulatuslikus uuringus 108 parenhümatosose elundi siirdamise läbi teinud patsiendi (4) seas oli QF-CMV reaktiivse tulemusega patsientidel pärast CMV vastase profülaktika läbimist märkimisväärselt madalam hiljem avaldunud haigestumuse tase (3,3% ehk 1 30-st, analüüsi läviväärtus 0,2 RÜ/ml) võrreldes nendega, kellel oli QF-CMV analüüsis mittereaktiivne tulemus (21,8% ehk 17 78-st,  $p = 0,044$ ) (Joonis 5).



Joonis 5. Hiljem avaldunud haiguse CMV reaktiivsete ja mittereaktiivsete QuantiFERON-CMV tulemustega patsientide puhul pärast profülaktika lõppu. Andmed võetud Kumar et al. (4).

---

Veelgi enam – CMV-seronegatiivsed patsiendid, kes said elundi CMV-positiivselt doonorilt (D+R-) ja QF-CMV tulemus oli pärast profülaktikat reaktiivne, ei nakatunud CMV-sse sagedamini ja pikema aja vältel, mis näitab, et QF-CMV abil saab tuvastada isikuid, kelle puhul on risk hiljem avalduva CMV väljakujunemiseks.

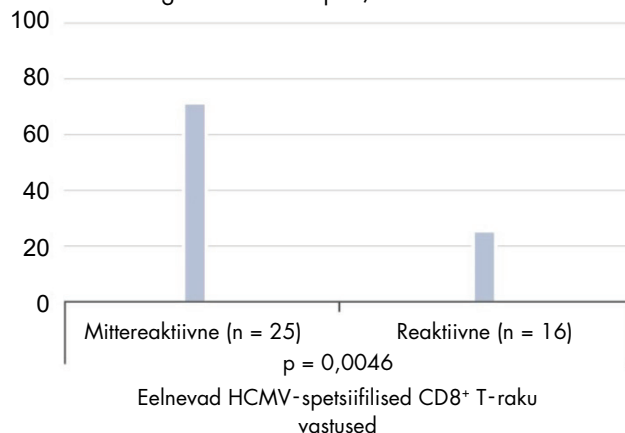
Selle uuringuga tõsteti ka esile, et kõrgeima CMV-riskiga siirdamispatientide rühma (D+/R-) puhul oli reaktiivne tulemus pärast profülaktikat seotud suurema tõenäosusega mitte nakatuda CMV-sse.

37 parenhümatoosse elundi siirdamise läbi teinud patsiendi (6) seas tehtud uuringus aitas QF-CMV analüüsi CMV-spetsiifiliste CD8<sup>+</sup> T-raku vastuste analüüs prognoosida CMV vireemia suurenemise järgset spontaanset viiruse kadumist organismist või CMV väljakujunemist. Selles uuringus kadus 24-l QF-CMV reaktiivse tulemusega (analüüsi IFN- $\gamma$  läviväärtus  $\geq 0,2$  RÜ/ml) patsiendil 26-st (92,3%) CMV-viirus organismist spontaanselt ja ainult 5-l QF-CMV mittereaktiivse tulemusega patsiendil 11-st (45,5%) kadus viirus spontaanselt.

Uuringus, kus osales 67 kopsusiirdamispatient ja kus analüüsiti siirdamisjärgseid CMV vireemia episoodide (7), leiti, et 18-l 25-st (72%) CMV vireemia episoodist eelnes mittereaktiivne QF-CMV tulemus ja 4-l 16-st (25%) episoodist eelnes reaktiivne QF-CMV tulemus (Fisher'i täppisanalüüs,  $p = 0,0046$ , Joonis 6).



## HCMV DNAemia episoodid viiruskoormusega > 1000 koopiat/ml



Joonis 6. QuantiFERON-CMV-ga tuvastatud CMV-spetsiifiliste CD8<sup>+</sup> T-raku vastuste ja CMV vireemia väljakujunemise statistiline analüüs (Fisheri täppisanalüüs, p = 0,0046). Andmed võetud Weseslindtner et al (7).

Ulatuslikus laboratooriumidevahelises perspektiivses uuringus, milles osales 127 doonori CMV-seropositiivseid, retsiptiendi CM seronegatiivseid parenhümatosse elundi siirdamise patsienti (8), kes läbisid kõik viirusevastase profülaktika, oli QF-CMV reaktiivse tulemusega patsientide seas (analüüsi läviväärtus 0,1 RÜ/ml) 12 kuu jooksul pärast siirdamist ja CMV-vastase profülaktika läbimist märkimisväärselt väiksem hiljem avaldunud haiguse avaldumise protsent võrreldes nendega, kelle QF-CMV tulemus oli mittereaktiivne ja määramatu (vastavalt 6,4% ja 22,2% ja 58,3%, p < 0,001). Kui liigitada määramatud tulemused samuti mittereaktiivsete hulka, oli hilisema CMV avaldumise protsent 6,4% ja 26,8%, p = 0,024. QF-CMV positiivsed ja negatiivsed väärtused, mille põhjal sai prognoosida kaitset CMV viiruse vastu, olid 0,90 (95% CI 0,74–0,98) ja 0,27 (95% CI 0,18–0,37). Selles uuringus leiti, et QF-CMV abil võib olla võimalik prognoosida, kas patsientidel on profülaktikajärgselt väike, keskmine või suur CMV väljakujunemise risk.

---

55 parenhümatoosse elundi siirdamise läbi teinud patsiendi perspektiivses uuringus (8), milles analüüsiti siirdamiseelsete QF-CMV tulemuste ja siirdamisjärgsete CMV replikatsiooniepisoodide vahelist seost, leiti, et siirdamisjärgselt esines CMV replikatsiooni rohkem CMV-seropositiivsetel patsientidel, kellel oli siirdamiseelses QF-CMV analüüsis (analüüsi läviväärtus 0,2 RÜ/ml) mittereaktiivne tulemus (7 14-st või 50%), võrreldes nende CMV-seropositiivsete patsientidega, kelle siirdamiseelne QF-CMV tulemus oli reaktiivne (4 30-st või 13,3%,  $p = 0,021$ ).

Selles uuringus leiti, et siirdamiseelse QF-CMV analüüsi mittereaktiivse tulemusega patsientidel, kes said elundi CMV-seropositiivselt doonorilt, oli kümme korda suurem CMV replikatsiooni risk võrreldes siirdamiseelse QF-CMV analüüsi reaktiivse tulemusega patsientidega (korrigeeritud OR 10,49, 95% CI 1,88–58,46). Seega võib siirdamiseelne QF-CMV analüüs olla kasulik siirdamisjärgse CMV replikatsiooni riski prognoosimisel ja seega võimaldab parenhümatoosse elundi siirdamise järgse CMV-nakkuse ohu individuaalset käsitlemist.

Üle maailma on läbi viidud või parajasti viiakse läbi teisigi uuringuid (2, 3, 5, 9, 10, 15, 16) QF-CMV analüüsiga CMV-spetsiifiliste CD8<sup>+</sup> T-raku vastuste tuvastamiseks siirdamispatientide rühmades.

## Rahvusvahelised kokkuleppelised juhised tsütomegaloviiruse ohjamiseks parenhümatossete elundite siirdamisel

Väljaandes „Updated International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid Organ Transplantation” (12) on rõhutatud CMV-spetsiifilise immuunsuse jälgimise tähtsust. Need rahvusvahelised juhised on välja töötanud CMV ja parenhümatossete elundite siirdamise ekspertide komisjon, heaks kiitnud siirdamisühenduse Transplantation Society nakkushaiguste haru, ja need hõlmavad tõendusmaterjali ja ekspertide arvamusel põhinevaid konsensuslikke juhiseid CMV ohjamiseks, sh järgmist: diagnostika, immunoloogia, ennetamine ja ravi.

Neis juhistes leiti, et CMV-spetsiifiliste T-raku vastuste immuunreaktsiooni jälgimine võib aidata prognoosida individuaalselt siirdamisjärgse CMV-sse nakatumise riski ning olla kasulik profülaktika ja ennetava ravi suunamisel (12).

Juhistes kirjeldatakse ka ideaalse immuunsuse jälgimise analüüsi omadusi, mis hõlmavad järgmist:

- võimaldab hinnata siirdamispatsiendi CD4<sup>+</sup> ja CD8<sup>+</sup> T-rakkude kogust ja funktsiooni;
- võimaldab mõõta IFN- $\gamma$ ;
- lihtne läbi viia, kulusäästlik ja korratav;
- kiire läbiviimistsükkel;
- võimaldab proove kiiresti lähetada spetsiaalsetesse laboratooriumidesse.

QF-CMV vastab peaaegu kõigile neis juhistes seatud kriteeriumidele ja on ainus standarditud immuunsuse jälgimise analüüs, mis suudab tuvastada CMV-spetsiifilist IFN- $\gamma$ .

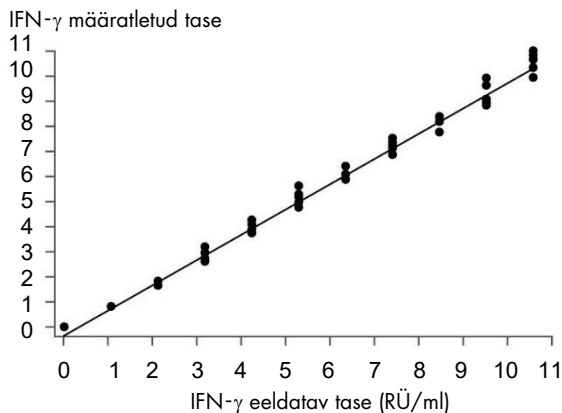
# Analüüsi sooritusnäitajad

QF-CMV ELISA kasutab rekombinantset humaanset IFN- $\gamma$  standardit, mida on analüüsitud IFN- $\gamma$  võrdluspreparaadi (NIH viide: Gxg01-902-535) suhtes. Analüüsivate proovide tulemused esitatakse rahvusvahelikes ühikutes (RÜ) võrrelduna standardkõveraga, mis on valmistatud komplektiga kuuluva sekundaarse standardi lahuse testimise teel.

Kinnitust on leidnud, et mõnede isikute seerumis või plasmas olevad heterofiilsed (nt inimese hiirevastased) antikehad põhjustavad immunoloogiliste analüüsides häiringut. Heterofiilsete antikehade mõju QF-CMV ELISA analüüsis vähendatakse tavalise hiireseerumi lisamisega rohelisse lahjendisse ja F(ab')<sub>2</sub> monoklonaalse antikeha fragmentide kasutamisega, sest IFN- $\gamma$  haaravad mikroplaadi süvenditesse kinnitunud antikeha.

QF-CMV ELISA tuvastuspiir on 0,065 RÜ/ml ja analüüs ei näita IFN- $\gamma$  kuni 10 000 RÜ/ml kontsentratsiooni juures mingeid ülisuure kontsentratsiooniga seotud negatiivseid tulemusi. Kinnitust on leidnud, et QF-CMV ELISA antikehad ei ristreageeri ühegi testitud tsütokiiniga (sh IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL10 ja IL12).

QF-CMV ELISA on lineaarne. Teadaoleva IFN- $\gamma$  kontsentratsiooniga 11 plasmaproovi 5 paralleelproovi paigutati juhuslikus järjestuses ELISA-plaadile. Lineaarsel regressioonisirgel on kalle  $1,002 \pm 0,011$  ja korrelatsioonikordaja 0,99 (joonis 7).



Joonis 7. QF-CMV ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi (ELISA) lineaarsusprofiil, mis määratleti teadaoleva IFN- $\gamma$  kontsentratsiooniga 11 plasmaproovi viie paralleelproovi analüüsimise teel.

QF-CMV ELISA-meetodi korratavust hinnati 20 erineva IFN- $\gamma$  kontsentratsiooniga plasmaproovi analüüsimisel 3-kaupa, 3 laboris 3 järjestikusel päeval ja 3 operatori poolt. Seega analüüsiti igat proovi 27 korda üheksas eraldi analüüsipartiiis. Üks proov oli kontrolllahus ja selle arvatud IFN- $\gamma$  kontsentratsioon oli 0,08 (95% CI 0,07–0,09) RÜ/ml. Ülejäänud 19 plasmaproovi kontsentratsioonide vahemik oli 0,33 (95% CI 0,31–0,34) kuni 7,7 RÜ/ml (95% CI 7,48–7,92).

Analüüsipartii või analüüsisisest ebatäpsust hinnati iga plaadipartii IFN- $\gamma$  sisaldava analüüsitava plasmaproovi keskmise %VK leidmise teel ( $n = 9$ ) ja selle vahemik %VK oli 4,1–9,1%. Analüüsipartii keskmine %VK ( $\pm 95\%$  CI) oli 6,6%  $\pm 0,6\%$ . IFN- $\gamma$  nullplasmaproovi keskmine %VK oli 14,1.

Kogu- või analüüsidevaheline ebatäpsus määratleti iga plasmaproovi 27 arvatud IFN- $\gamma$  kontsentratsiooni võrdlemise teel ja selle %VK vahemik oli 6,6–12,3. Üldine keskmine %VK ( $\pm 95\%$  CI) oli 8,7%  $\pm 0,7\%$ . IFN- $\gamma$  nullplasmaproovi %VK oli 26,1. Selline varieerumistase oli eeldatav, kuna IFN- $\gamma$  arvatud kontsentratsioon on madal ja madala kontsentratsiooni varieeruvus on suurem kui kõrgemate kontsentratsioonide puhul.

# Tehniline teave

## Määramatud tulemused

Määramatud tulemused võivad olla seotud analüüsitava isiku immuunsüsteemi seisundiga, kuid ka mitmesuguste tehniliste teguritega:

- verevõtu ja temperatuuril 37 °C inkubeerimise vahe on pikem kui 16 tundi;
- vereproove hoiti väljaspool soovitatud temperatuurivahemikku (22 ±5 °C);
- Verevõtukatsuteid ei segatud piisavalt
- ELISA plaadid olid puudulikult pestud

Kui teil on kahtlusi, et vereproovide võtmisel või käsitlemisel võib olla esinenud tehnilisi probleeme, korrake kogu QF-CMV analüüsi uute vereproovidega. Kui ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi puhul kahtlustatakse protseduurilisi kõrvalekaldeid, võib stimuleeritud plasmaproovide analüüsi ensüüm-immunosorptsiooni analüüsiga korrata. Kui ensüüm-immunosorptsiooni analüüsimisel pole vigu tehtud, siis määramatud tulemused (madalate mitogeeniväärtuste põhjal) analüüsi kordamisel tõenäoliselt ei muutu.

## Plasmaproovide hüübimine

Kui plasmaproovide pikemaajalisel säilitamisel tekib nendes fibriniide hüübimine, tuleb proove tsentrifugida, kuni tekib sete; see hõlbustab plasma pipeteerimist.

# Tõrkeotsingujuhend

See tõrkeotsingujuhend võib aidata tekkivaid probleeme lahendada. Lisateavet leiate ka tehnilisest teabest veebisaidil [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Kontaktteabe leiate tagakaanelt.

## Kommentaariid ja ettepanekud

### Standardite halvad optilise tiheduse näidud

- |   |   |
|---|---|
| a) Viga standardi lahendamisel            | Veenduge, et standardkomplekti lahused valmistataks õigesti vastavalt QF-CMV ELISA infolehe juhiste.  |
| b) Pipeteerimisviga                       | Veenduge, et pipetid oleks kalibreeritud ja neid kasutataks vastavalt tootja juhistele.   |
| c) Inkubeerimistemperatuur on liiga madal | ELISA inkubeerimine tuleb läbi viia toatemperatuuril ( $22 \pm 5$ °C).  |
| d) Inkubeerimisaeg on liiga lühike        | Konjugaadi, standardite ja proovidega plaadi inkubeerimine peab kestma $120 \pm 5$ minutit. Ensüümsubstraadi lahust inkubeeritakse plaadil 30 minutit.                      |
| e) Kasutati valelt plaadilugemisfiltrit   | Mikroplaati tuleb lugeda 450 nm filtri ja 620–650 nm referentsfiltri abil.  |
| f) Reaktiivid on liiga külmad             | Kõik reaktiivid (välja arvatud 100-kordne konjugaadikontsentraat) peavad enne analüüsi tegemist olema saavutanud toatemperatuuri. See võtab aega umbes 1 tund.              |
| g) Komplekt/komponendid on aegunud        | Kontrollige, et komplekti säilivusaeg poleks möödas. Tagage, et standard ja 100-kordne konjugatsioonikontsentraat on ära kasutatud 3 kuu jooksul pärast rekonstitueerimist. |

### Mittespetsiifiline värvireaktsioon

- |                                    |  |
|------------------------------------|--|
| a) Plaadid pole piisavalt puhtad   | Peske plaati vähemalt 6 korda, kasutades iga mikrolohukese kohta 400 µl pesupuhvrit. Sõltuvalt kasutatavast pesuseadmest võib osutada vajalikuks üle 6 pesutsükli. Iga pesutsükli vahele tuleb jätta vähemalt 5 sekundi pikkune leotusaeg. |
| b) ELISA süvendite ristsaastumine  | Proovide hoolikas pipeteerimine ja segamine minimeerib saastumisohtu.  |
| c) Komplekt/komponendid on aegunud | Kontrollige, et komplekti säilivusaeg poleks möödas. Tagage, et standard ja 100-kordne konjugatsioonikontsentraat on ära kasutatud 3 kuu jooksul pärast rekonstitueerimist.  |

## Kommentaariid ja ettepanekud

- |   |  |
|---|--|
| d) Ensüümsubstraadi lahus on saastunud                          | Kui substraat muutub sinakaks, tuleb see kõrvaldada. Kontrollige, et kasutatavad reaktiivimahutid oleksid puhtad.                                |
| e) Plasmal on enne eraldamist tsentrifuugikatsutites loksutatud | Plasma tuleb eraldada ettevaatlikult hüüvise pealt hüüvist alt või pealt pipeteerimata, hoolitsedes selle eest, et plasma ja hüüvis ei seguneks. |

### Tausta tugev värvumus

- |   |  |
|---|--|
| a) Plaadid pole piisavalt puhtad          | Peske plaati vähemalt 6 korda, kasutades iga mikrolohukese kohta 400 µl pesupuhvrit. Sõltuvalt kasutatavast pesuseadmest võib osutada vajalikuks üle 6 pesutsükli. Iga pesutsükli vahele tuleb jätta vähemalt 5 sekundi pikkune leotusaeg. |
| b) Inkubeerimistemperatuur on liiga kõrge | ELISA inkubeerimine tuleb läbi viia toatemperatuuril (22 ±5 °C).   |
| c) Komplekt/komponendid on aegunud        | Kontrollige, et komplekti säilivusaeg poleks möödas. Tagage, et standard ja 100-kordne konjugatsioonikontsentraat on ära kasutatud 3 kuu jooksul pärast rekonstitueerimist.  |
| d) Ensüümsubstraadi lahus on saastunud    | Kui substraat muutub sinakaks, tuleb see kõrvaldada. Kontrollige, et kasutatavad reaktiivimahutid oleksid puhtad.  |

### Mittelineaarne standardkõver ja kahekordsete testide vahelised hälbed

- |  |  |
|--|--|
| a) Plaadid pole piisavalt puhtad                               | Peske plaati vähemalt 6 korda, kasutades iga mikrolohukese kohta 400 µl pesupuhvrit. Sõltuvalt kasutatavast pesuseadmest võib osutada vajalikuks üle 6 pesutsükli. Iga pesutsükli vahele tuleb jätta vähemalt 5 sekundi pikkune leotusaeg. |
| b) Viga standardi lahendamisel                                 | Veenduge, et standardkomplekti lahused valmistataks õigesti vastavalt selle infolehe juhistele.  |
| c) Reaktiivid ei ole läbi segatud                              | Segage reaktiive enne süvenditesse jaotamist kergelt või loksutage nende anumaid.  |
| d) Ebaühtlane pipeteerimine või katkestused testi läbiviimisel | Proovide ja standardite jaotamine peab toimuma katkestusteta. Kõik reaktiivid peavad olema enne testi alustamist kasutamiseks ette valmistatud.  |

Tooteteave ja tehnilised juhendid on QIAGENist tasuta saadaval edasimüüjate kaudu või veebisaidil [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com).

















# Viited

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.

# Tähised

Pakendil ja sildil võivad olla järgmised tähised:

Tähis	Tähise selgitus
 $\Sigma$ <N>	Sisaldab reaktiive, millest piisab <N> reaktsiooni jaoks
	Kõlblik kuni
	CE-märgis
	In vitro diagnostikaks ettenähtud meditsiiniseade
	Katalooginumber
	Partii number
	Materjali number
	Globaalne kaubaartikli number
	Temperatuuripiirangud
	Mitte korduskasutada
	Hoida otsese päikesevalguse eest
	Kasutamiseks tutvuge juhistega
	Tootja
	Euroopa Ühenduse volitatud esindaja

---

## Kontaktteave

Tehnilise toe ja lisateabe saamiseks külastage meie tehnilise toe keskust veebiaadressil [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support), helistage numbril 00800-22-44-6000 või võtke ühendust mõne QIAGENi tehnilise toe osakonnaga või kohaliku müügiesindajaga (vt tagakaant või külastage veebilehte [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

# Ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi lühikirjeldus

## 1. etapp – Vere inkubeerimine

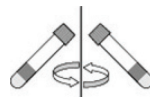
1. Võtke patsiendi veri verevõtukatsutitesse ja raputage neid kohe pärast nende täitmist kümme (10) korda piisava tugevusega, et katsuti kogu sisepind oleks verrega kaetud ja katsuti seintel olevad antigeenid lahustuksid.



2. Inkubeerige katsuteid püstasendis temperatuuril  $37 \pm 1$  °C 16–24 tundi.



3. Tsentrifugeerige katsuteid pärast inkubeerimist 15 minutit 2000–3000 RCF (g) juures, et plasma ja punalibled eraldada.



4. Pärast tsentrifugimist ja enne plasma eraldamist ei tohi seda mingil juhul üles või alla pipeteerida ega segada. Olge hoolikas, et plasma ei seguneks hüüvise pinnaga.



## 2. etapp – IFN- $\gamma$ ELISA

1. Ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi komponentidel (välja arvatud 100-kordne konjugaadikontsentratsioon) tuleb lasta vähemalt 60 minutit toatemperatuuril stabiliseeruda.



2. Rekonstitueerige standardkomplekt destilleeritud või deioniseeritud veega 8,0 RÜ/ml-ni. Valmistage neli (4) standardlahust.



3. Rekonstitueerige lüofiliseeritud 100-kordne konjugaadikontsentraat destilleeritud või deioniseeritud veega.

4. Valmistage rohelise lahjendiga konjugaat ja valage igasse süvendisse 50 µl.



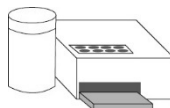
5. Lisage igasse mikrolohukesse 50 µl plasmaproovi ja 50 µl standardeid. Segage raputis.



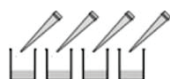
6. Inkubeerige 120 minutit toatemperatuuril.



7. Peske süvendeid vähemalt 6 korda, kasutades iga süvendi kohta 400 µl pesupuhvrit.



8. Tilgutage igasse mikrolohukesse 100 µl ensüümsubstraadi lahust. Segage raputis.



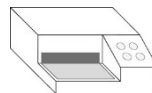
9. Inkubeerige 30 minutit toatemperatuuril.



10. Tilgutage igasse mikrolohukesse 50 µl deaktivaatorit. Segage raputis.



11. Mõõtku tulemusi 450 nm filtri ja 620–650 nm referentsfiltriga.



12. Analüüsi tulemusi.



# Käsiraamatu redaktsioonialugu

Dokument	Muudatused	Kuupäev
L1075110-R5	Täiendav ohutusteave purunenud viaalide kohta Uuendused lisatud tabelile 2, QF-CMV tulemuste tõlgendamine, lk 24.	Veebruar 2018
L1075110-R5	Uuendused lisatud GHS teabele, lk 10.	Veebruar 2018



---

See leht on teadlikult tühjaks jäetud.

---

See leht on teadlikult tühjaks jäetud.

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

#### QuantiFERON-CMV ELISA piiratud litsentsileping

Selle toote kasutamine tähendab, et toote ostja või kasutaja nõustub järgmiste tingimustega.

1. Toodet tohib kasutada ainult vastavalt tootega kaasas olevatele protokollidele ja sellele käsiraamatule ning ainult koos paneelisi sisalduvate komponentidega. QIAGEN ei anna oma intellektuaalse omandi all litsentse paneeli komponentide kasutamiseks või ühendamiseks sellesse paneeli mittekuuluvate komponentidega, välja arvatud toote protokollides, selles käsiraamatus ja veebisaidil [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) kirjeldatud juhtudel. Mõne neist lisaprotokollidest on lisanud QIAGEN-i kasutajate jaoks teised QIAGEN-i kasutajad. QIAGEN pole neid protokolle põhjalikult testinud ega optimeerinud. QIAGEN ei garanteeri, et need ei riku kolmandate osapoolte õigusi.

2. QIAGEN ei anna garantiid, et paneel ja/või selle kasutus ei riku kolmandate osapoolte õigusi, v.a selgesõnalised litsentsid.

3. Paneel ja selle osad on litsentsitud ühekordseks kasutuseks ning neid ei tohi korduskasutada, parandada ega edasi müüa.

4. QIAGEN ütleb lahti muudest otsestest või kaudsetest litsentsidest, v.a selgesõnalistest litsentsidest.

5. Paneeli ostja ja kasutaja nõustuvad, et ei tee ise ega luba kellelgi teisel teha midagi, mis võiks kaasa aidata või viia ülalloodud keelatud toiminguteni. QIAGEN võib selle piiratud litsentsilepingu keelde jõustada mis tahes kohtus ning taotlema tagasi kõik piiratud litsentsilepingu või paneeli ja/või selle komponentidega seotud mis tahes intellektuaalse omandi õiguste jõustamiseks kulunud juurdlus- ja kohtukulud, sh advokaaditasud.

Uuendatud litsentsitingimused leiate veebilehelt [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 18. veebruar 2018, QIAGEN. Kõik õigused kaitstud.

---

Tellimine [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Tehniline tugi [support.qiagen.com](mailto:support.qiagen.com) | Veebisait [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)