

2018. gada marts


QuantiFERON Monitor[®] (QFM[®]) ELISA iepakojuma ieliktnis 2x96

Pilnasiņu IFN- γ tests, kas paredzēts, lai noteiktu atbildes reakciju uz dabīgās un adaptīvās imunitātes stimulantiem

1. versija

 Lietošanai *in vitro* diagnostikā



 0650-0201



QIAGEN, 19300 Germantown Road

Germantown, MD 20874, ASV

 QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1

40724 Hilden, VĀCIJA

1079024LV 03. izd.

 www.QuantiFERON.com



www.QuantiFERON.com

Saturs

Paredzētais lietojums	4
Testa kopsavilkums un skaidrojums	4
Testa principi	5
Testa veikšanai nepieciešamais laiks	6
Komponenti un glabāšana	6
Nepieciešamie materiāli, kas netiek piegādāti	8
Glabāšana un lietošana	8
Brīdinājumi un piesardzības pasākumi	10
Brīdinājumi	10
Piesardzības pasākumi	11
Paraugu ņemšana un apstrāde	13
Lietošanas norādījumi	16
Aprēķini un testa rezultātu interpretācija	22
Standarta līknes izveidošana	22
Testa kvalitātes kontrole	23
Rezultātu interpretācija	23
Ierobežojumi	24
Darbības raksturojums	25
Klīniskie pētījumi	25
Testa veikspējas raksturojums	30
Tehniskā informācija	31
Recekļaini plazmas paraugi	31
Problēmu novēršanas ieteikumi	32
Atsauces	34
Simboli	35
Kontaktinformācija	35
Saīsināta testa procedūra	36

Paredzētais lietojums

QuantiFERON Monitor (QFM) ir diagnostikas tests, kas paredzēts šūnu imūnreakcijas *in vitro* noteikšanai. Šajā testā, lai noteiktu gamma interferona (IFN- γ) līmeni plazmā pēc pilnasiņu šūnu, kas apstrādātas ar heparīnu, inkubācijas kopā ar dabīgās un adaptīvās imunitātes stimulantiem, tiek izmantots enzīmu imūnsorbcijas tests (ELISA — Enzyme-Linked Immunosorbent Assay). Testu izmanto, lai noteiktu šūnu atbildes imūnreakciju pacientiem ar novājinātu imunitāti, kam ir veikta parenhimatozo orgānu transplantācija.

Testu QFM ir paredzēts izmantot kopā ar risku novērtēšanas un citām medicīniskām un diagnostiskām novērtēšanas metodēm.

Testa kopsavilkums un skaidrojums

Imūndeficītu raksturo organisma pavājināta spēja efektīvi aktivizēt imūnreakciju. Šis atbildes reakcijas defekts vai trūkums var radīt primāru vai iegūtu (sekundāru) imūndeficītu (1).

Primārie imūndeficīti ir ģenētiski iedzimti defekti, kam raksturīgi atsevišķu adaptīvās vai dabīgās imūnsistēmas komponentu darbības traucējumi (1). Tomēr vairākumā gadījumu imūndeficīts ir iegūta (sekundāra) slimība, kuru var izraisīt patogēni, zāles (piemēram, imūnsupresīva terapija pēc orgānu transplantācijas), slimības (piemēram, vēzis, tostarp leukēmija un limfoma), kā arī vides piesārņotāji (1).

Imūndeficīta molekulārais process ir daudzveidīgs. Tomēr daudzu novēroto klīnisko izpausmju izraisīšanas galvenais cēlonis ir šūnu imunitāte. Pašreiz imūndeficīta sindroma diagnosticēšana un ārstēšana ir atkarīga no slimības izraisītāja (2, 3).

Piemēram, īpaši noteikta ārstēšana parasti tiek izmantota, lai uzraudzītu tādu pacientu šūnu imūndeficīta statusu, kam ir veikta parenhimatozo orgānu transplantācija (Solid Organ Transplant — SOT) un kas lieto zāles imūnsistēmas nomākšanai. Pacientu imūnreakcijas statusu parasti nosaka, uzraugot farmakoloģisko zāļu devas un veicot implantāta klīniski patoloģisko funkciju novērtēšanu (2, 3).

Vairāki T šūnu funkcionalitātes testi ļauj noteikt šūnu imunitāti pret mitogēniem, piemēram, fitohemaglutinīnu, fitolaka mitogēnu un konkanavalīnu A. Taču tie ļauj noteikt tikai T šūnu funkcionalitātes spēju, kas ir vien ar šūnu imunitāti saistīto šūnu apakšgrupu. Arvien biežāk tiek iegūti pierādījumi, ka organisma imūno aizsardzību būtiski ietekmē dabīgās imunitātes mehānismi, vai nu darbojoties individuāli, vai veicinot specifisku T šūnu atbildes reakciju. Tāpēc dabīgo (galējāšūnu) un adaptīvo (T šūnu) imūnšūnu funkcionālā atbildes reakcija kopā nodrošina visaptverošu šūnu imunitātes analīzi (2, 3).

QFM ir diagnostikas tests *in vitro*, kurā izmanto stimulantu kombināciju (LyoSphere™ granulas veidā), kas īpaši stimulē dažādus dabīgās un adaptīvās imūnsistēmas darbībā iesaistītus šūnu tipus. Lai novērtētu pacientu

imūnreakcijas statusu, nosaka atbildes reakciju uz dabīgās un adaptīvās imūnsistēmas stimulēšanu attiecīgi ar “Toll” līdzīgā receptora (Toll Like Receptor — TLR) un T šūnu receptora (T-cell Receptor — TCR) agonistiem. Enzīmu imūnsorbcijas testa (ELISA) izmantošana gamma interferona (IFN- γ) noteikšanai nodrošina kvalitatīvus un kvantitatīvus šūnu imūnreakcijas mērījumus.

Testa principi

Testā QFM tiek izmantoti liofilizēti stimulantu (QFM LyoSpheres™), kas tiek pievienoti ar heparīnu apstrādātām pilnasiņu šūnām. Asins inkubācija notiek 16–24 stundas, pēc tam tiek atdalīta plazma un tiek testēts, vai tajā ir atrodams IFN- γ , kas saražots, reaģējot uz stimulantiem.

QFM tests tiek veikts vairākos posmos. Vispirms QFM asins analīžu stobriņā tiek paņemts pilnasiņu paraugs. Pēc tam stobriņā tiek pievienota QFM LyoSphere granula, un stobriņš tiek ievietots inkubatorā 37 °C temperatūrā pēc iespējas drīzāk, bet ne vēlāk kā 8 stundu laikā pēc asins parauga paņemšanas. Pēc 16–24 stundu inkubācijas perioda tiek veikta stobriņa centrifugēšana, atdalīta plazma un, izmantojot ELISA testu, tiek noteikts IFN- γ daudzums (izteikts starptautiskajās vienībās uz 1 ml; SV/ml), kas tiek salīdzināts ar paredzamo vērtību diapazonu, lai raksturotu pacienta imūnreakciju.

QFM ir tests, kas nodrošina kvalitatīvus un kvantitatīvus šūnu imūnreakcijas mērījumus. QFM testa rezultāti, iespējams, tiešā veidā nenorāda imūnsupresijas līmeni.

IFN- γ daudzums plazmas paraugos bieži vien var pārsniegt lielākās daļas ELISA testa rādījumu nolasīšanas augstākās robežvērtības pat tādus gadījumos, ja indivīdiem ir mērena imūnsupresija. Tāpēc plazmas paraugus ir ieteicams atšķaidīt attiecībā 1 pret 10 un/vai 1 pret 100 ar zaļo atšķaidītāju (Green Diluent) un pēc tam tos testēt kopā ar neatšķaidītu plazmu, izmantojot ELISA testu.

Piezīme. QFM testa robežvērtība var atšķirties atkarībā no pacienta imūnsupresijas līmeņa un konkrētā transplantāta parametriem.

Lai iegūtu informāciju par QFM testa rezultātu interpretēšanu, skatiet šī iepakojuma ieliktna sadaļu “Rezultātu interpretācija” 23. lpp.

Testa veikšanai nepieciešamais laiks

Tālāk ir sniegta informācija par QFM testa izpildei nepieciešamo laiku.
Ir norādīts arī laiks, kas nepieciešams, lai kopā testētu vairākus paraugus.

Asins stobriņu inkubācija 37 °C temperatūrā: 16–24 stundas.

ELISA tests: aptuveni 3 stundas vienai ELISA testa platei
(līdz 88 paraugiem)

<1 stunda darba

Pieskaitiet 10–15 minūtes par katru papildu plati.

Komponenti un glabāšana

QuantiFERON Monitor LyoSpheres	
Kataloga nr.	0650-0701
Sagatavju skaits	10
QuantiFERON Monitor LyoSpheres	10 flakoni
<i>QuantiFERON Monitor LyoSpheres iepakojuma ieliktnis</i>	1
QuantiFERON Monitor asins analīžu stobriņi	
Kataloga nr.	0650-0101
Sagatavju skaits	100
QuantiFERON Monitor asins analīžu stobriņi (balts vāciņš, balts gredzens)	100 stobriņi
<i>QuantiFERON Monitor asins analīžu stobriņu iepakojuma ieliktnis</i>	1

QuantiFERON Monitor 2 plašu ELISA komplekta sastāvdaļas	2 plašu ELISA komplekts
Kataloga nr.	0650-0201
Mikroplātes plātnītes, 12×8 iedobītes (pārklātas ar IFN- γ monoklonālu antivielu, kas iegūta no pelēm un reaģē uz cilvēka imūnsistēmu)	2 komplekti 12×8 iedobīšu mikroplātes plātnītes
IFN- γ Standard, lyophilized (standarta IFN- γ , liofilizēts; satur rekombinantu cilvēka IFN- γ , govu kazeīnu, 0,01% svara/tilpuma timerosalu)	1 flakons (8 SV/ml pēc pagatavošanas)
Green Diluent (zaļais atšķaidītājs; satur govu kazeīnu, standarta peļu serumu, 0,01% svara/tilpuma timerosalu)	1×30 ml flakons
Conjugate 100× Concentrate, lyophilized (konjugāta 100× koncentrāts, liofilizēts; no pelēm iegūts, uz cilvēku imūnsistēmu reaģējošs IFN- γ HRP, satur 0,01% svara/tilpuma timerosalu)	1×0,3 ml pēc pagatavošanas
Wash Buffer 20× Concentrate (skalošanas buferšķīduma 20× 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
QuantiFERON Monitor ELISA iepakojuma ieliktnis	1

* Satur sērskābi. Informāciju par piesardzības pasākumiem sk. 11. lpp.

Nepieciešamie materiāli, kas netiek piegādāti

- 37 °C inkubators*; CO₂ nav nepieciešams
- Kalibrētas pipetes ar maināmu tilpumu*
- Kalibrētas daudzkanālu pipetes†, tilpums 50–100 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
- Cilindrs ar iedaļām (mērcilindrs)
- Uzsūcoši dvieļi, kas nepūkojas

Glabāšana un lietošana

Asins analīžu stobriņi

Glabājiet QFM asins analīžu stobriņus 4–25 °C temperatūrā. Asins iepildes un maisīšanas laikā QFM asins analīžu stobriņu temperatūrai ir jābūt no 17 līdz 25 °C.

LyoSpheres

Glabājiet QFM LyoSpheres 2–8 °C temperatūrā.

ELISA komplekta reaģenti

Glabājiet ELISA komplekta reaģentus 2–8 °C temperatūrā.

Vienmēr aizsargājiet enzīmu substrāta šķīdumu no tiešu saules staru ietekmes.

* Pārliedzieties, vai instrumenti ir pārbaudīti un kalibrēti saskaņā ar ražotāja ieteikumiem.

Pagatavotie un neizmantojie ELISA reaģenti

ELISA reaģentu pagatavošanas norādījumus skatiet sadaļā “2. posms — IFN- γ noteikšana ar ELISA” 17. lpp.

- Pagatavoto komplekta standarta šķīdumu var uzglabāt līdz 3 mēnešiem 2–8 °C temperatūrā.
Pierakstiet datumu, kurā komplekta standarta šķīdums tika pagatavots.
- Pēc pagatavošanas neizlietotais konjugāta 100× 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 (sk. 1. tabulu).
- Skalošanas buferšķīduma darba šķīdumu var glabāt istabas temperatūrā (22±5 °C) ne ilgāk kā 2 nedēļas.

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

Lietošanai *in vitro* diagnostikā

Strādājot ar ķīmiskām vielām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles. Lai iegūtu papildu informāciju, lūdzu, iepazīstieties ar attiecīgajām drošības datu lapām (SDS — Safety Data Sheets). Tās ērtā un kompaktā PDF formātā pieejamas vietnē www.qiagen.com/safety, kur katram QIAGEN komplektam un tā sastāvdaļām var atrast, apskatīt un izdrukāt SDS.

Brīdinājumi

- QFM ir tests, kas nodrošina kvalitatīvus un kvantitatīvus šūnu imūnreakcijas mērījumus. QFM testa rezultāti, iespējams, tiešā veidā nenorāda imūnsupresijas līmeni.
- Nosakot pacienta imūnstatusu, QFM testa rezultāti jāizmanto kopā ar klīniskajām pazīmēm, slimības vēsturi un citiem klīniskajiem indikatoriem.
- QFM testa robežvērtība var atšķirties atkarībā no pacienta imūnsupresijas līmeņa un konkrētā transplantāta parametriem.

Piesardzības pasākumi

Lietošanai tikai *in vitro* diagnostikā.



UZMANĪBU! Rīkojoties ar cilvēku asinīm un plazmu, ievērojiet, ka tā var būt infekcioza. Ievērojiet atbilstošās vadlīnijas darbam ar asinīm un asins produktiem. Paraugus un materiālus, kas bijuši saskarē ar asinīm vai asins produktiem, izmetiet saskaņā ar federālajiem, valsts un vietējiem noteikumiem.

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

Paziņojumi par riskiem



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution (QuantiFERON enzīmu darbības pārtraukšanas šķīdums)

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 (QuantiFERON enzīmu substrāta šķīdums)

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



QuantiFERON Green Diluent (QuantiFERON zaļais atšķaidītājs)

Satur: trisodium 5-hydroxy-1-(4-sulphophenyl)-4-(4-sulphophenylazo) pyrazole-3-carboxylate. Satur: tartrazine. Brīdinājums! Var izraisīt alerģisku ādas reakciju. Izmantot aizsargcimdus/ aizsargdrēbes/ acu aizsargus/ sejas aizsargus.



QuantiFERON Wash Buffer 20× Concentrate (QuantiFERON skalošanas buferšķīduma 20× koncentrāts)

Satur: Mixture of 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one and 2-Methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām. Izvairīties no izplatīšanas apkārtējā vidē.

Papildinformācija

Drošības datu lapas: www.qiagen.com/safety

- *QuantiFERON Monitor (QFM) ELISA iepakojuma ieliktnī* sniegto norādījumu neievērošana var izraisīt kļūdainus rezultātus. Pirms lietošanas rūpīgi izlasiet norādījumus.
- **Svarīgi.** Pirms lietošanas pārbaudiet flakonus. Neizmantojiet saistītos IFN- γ standarta vai QFM LyoSphere flakonus, kam redzamas bojājumu pazīmes vai ir bojāts gumijas aizbāznis. Neizmantojiet saplēstus flakonus. Veiciet atbilstošus piesardzības pasākumus, lai flakonus utilizētu drošā veidā. Ieteikums: lai mazinātu traumu risku, ko varētu izraisīt saistīto IFN- γ standarta vai QFM LyoSphere flakonu aptverošie metāla vāciņi, flakonu atvēršanai izmantojiet šādu vāciņu noņemšanai paredzētu instrumentu.
- Nelietojiet ELISA komplektu, ja pirms lietošanas kāda reaģenta pudele izskatās bojāta vai tai ir noplūde.
- Nejauciet kopā un nelietojiet vienlaikus mikroplates plātnītes, IFN- γ standartu, zaļo atšķaidītāju vai konjugāta 100 \times koncentrātu no citām QFM ELISA 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 bioloģiskos paraugus izmetiet saskaņā ar vietējiem un valstī pieņemtajiem drošības un vides aizsardzības noteikumiem.
- Neizmantojiet QFM asins analīžu stobriņus, QFM LyoSpheres vai QFM ELISA komplektu pēc derīguma termiņa beigām.
- Pārliecinieties, vai laboratorijas aprīkojums ir kalibrēts un pēc nepieciešamajām pārbaudēm atzīts par derīgu lietošanai.

Paraugu ņemšana un apstrāde

QFM testam drīkst izmantot tikai pilnasiņu paraugu, kas paņemts vai nu asins analīžu stobriņā ar litija heparīnu, vai tieši QFM asins analīžu stobriņā. Testam ir nepieciešams 1 ml pilnasiņu parauga. Asins analīžu stobriņi ir atbilstoši jāmarķē, norādot arī asins parauga paņemšanas laiku.

Svarīgi. Gan QFM asins paraugu stimulēšana (proti, QFM LyoSphere pievienošana vienam mililitram (1 ml) asins parauga), gan pēc tam to inkubācija 37 °C temperatūrā ir jāveic ne vēlāk kā 8 stundas pēc asins paraugu paņemšanas.

Pirms inkubācijas glabājiet asins paraugus istabas temperatūrā (22±5 °C).

Lai iegūtu optimālus rezultātus, ievērojiet šīs procedūras:

1. Atbilstoši marķējiet stobriņus.

Pārbaudiet, vai QFM asins analīžu stobriņš ir pareizi marķēts, norādot pacienta datus un asins parauga paņemšanas laiku.

2. Veicot vēnas punkciju, no katra pacienta paņemiet 1 ml asiņu tieši QFM asins analīžu stobriņā. Šī procedūra ir jāveic apmācītam flebotomistam.

Svarīga piezīme. Asins iepildes laikā stobriņu temperatūrai ir jābūt 17–25 °C.

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

Tā kā, lietojot 1 ml stobriņus, asins ņemšana notiek samērā lēni, turiet stobriņu pie adatas vēl 2–3 sekundes pēc stobriņa uzpildes. Tas nodrošina pareiza asins daudzuma paņemšanu.

Melnā atzīme uz QFM asins analīžu stobriņa sāniem norāda, ciktāl jāiepilda asinis, lai būtu paņemts 1 ml tilpuma paraugs. QFM asins analīžu stobriņi ir izgatavoti tā, lai tajos varētu iepildīt 1 ml ±10%, un to darbība šajā tilpuma diapazonā ir optimāla. Ja asins līmenis ir ārpus šī ar līniju atzīmētā diapazona, ir jāņem jauns asins paraugs.

Ja asins ņemšanai izmanto tauriņadatu, tad ar tukša stobriņa palīdzību jānodrošina, lai būtu piepildīta tauriņadatai pievienotā caurulīte, pirms tiek lietoti QFM asins analīžu stobriņi.

Ja QFM asins analīžu stobriņus izmantojat augstumā, kas pārsniedz 810 metrus virs jūras līmeņa, vai arī ir vērojams mazs asins pieplūdums, asinis var ņemt ar šļirci un 1 ml uzreiz iepildīt QFM asins analīžu stobriņā. Drošības apsvērumu dēļ šī procedūra ir jāveic, noņemot šļirces adatu (ievērojot atbilstošās drošības procedūras), noņemot QFM asins analīžu stobriņa vāciņu un iepildot stobriņā 1 ml asiņu (līdz melnās atzīmes vidum uz stobriņa sāniem). Stingri uzlieciet atpakaļ vāciņu un samaisiet, kā aprakstīts tālāk.

Ja izmantojat žņaugu, atbrīvojiet to, tiklīdz adata ir iedurta vēnā, lai izvairītos no spiediena atšķirībām, kas var ietekmēt asins parauga tilpumu.

Asins paraugu var paņemt arī vienā kopējā asins analīžu stobriņā, kurā kā antikoagulants ir litija heparīns, un pēc tam paraugu pārnest QFM asins analīžu stobriņā. Kā asins antikoagulantu izmantojiet tikai litija heparīnu, jo citi antikoagulanti traucē testa veikšanai. Piepildiet asins analīžu stobriņu (minimālais tilpums: 3 ml) un uzmanīgi samaisiet asinis, apgriežot stobriņu vairākas reizes, lai izšķīdinātu heparīnu. Pirms asins paraugu pārņemšanas QFM asins analīžu stobriņos, lai veiktu stimulēšanu ar QFM LyoSphere, tie ir jāglabā istabas temperatūrā (22 ± 5 °C). Nodrošiniet, lai asinis tiktu kārtīgi samaisītas, uzmanīgi vairākkārt apgriežot stobriņu tieši pirms dozēšanas. Dozējiet 1 ml asins parauga QFM asins analīžu stobriņā. Dozēšana ir jāveic aseptiski (ievērojot atbilstošās drošības procedūras), noņemot QFM asins analīžu stobriņa vāciņu un iepildot stobriņā 1 ml asiņu (līdz melnās atzīmes vidum uz stobriņa sāniem). Stingri uzlieciet atpakaļ stobriņu vāciņus un samaisiet, kā aprakstīts tālāk.

3. Uzreiz pēc asins iepildīšanas uzmanīgi vairākas reizes apgrieziet stobriņus otrādi, lai izšķīdinātu heparīnu.

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

4. Tieši pirms lietošanas ļaujiet, lai QFM LyoSphere granulas sasniegtu istabas temperatūru (22 ± 5 °C).

5. Aseptiski pievienojiet vienu QFM LyoSphere granulu vienam mililitram (1 ml) asiņu.

Noņemiet analīžu stobriņa vāciņu.

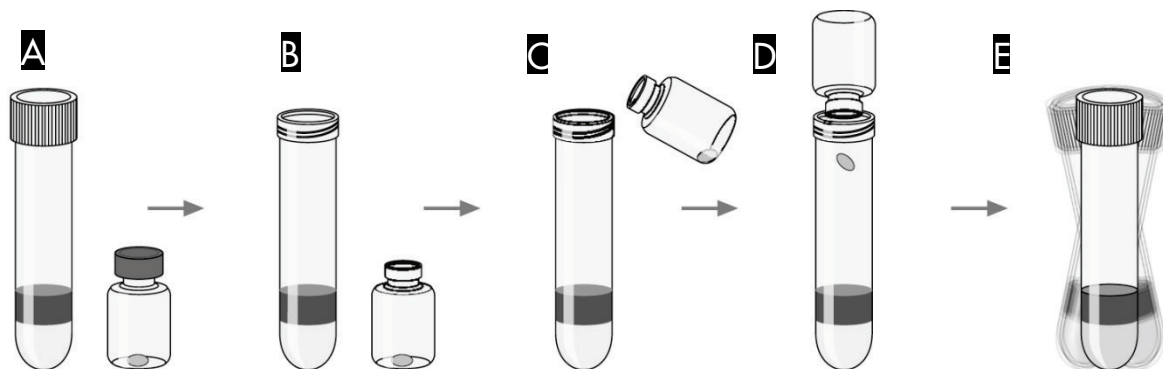
Lai panāktu, ka QFM LyoSphere granula atrodas flakona apakšā, ar QFM LyoSphere flakonu viegli piesitiet pa stingru virsmu. Lai atvērtu QFM LyoSphere flakonu, vispirms noņemiet aptverošo metāla vāciņu un pēc tam izņemiet gumijas aizbāzni.

Uzmanīgi iemetiet QFM LyoSphere granulu viena mililitra (1 ml) asins paraugā, novietojot stikla flakona malu pie QFM asins analīžu stobriņa malas un pēc tam lēnām apgriežot flakonu otrādi, lai QFM LyoSphere granula nonāktu QFM asins analīžu stobriņā (sk. 1. att.).

Svarīgi. Ja QFM LyoSphere granula netrāpa QFM asins analīžu stobriņā, izmetiet to un atveriet citu QFM LyoSphere flakonu.

Svarīgi. Neatstājiet QFM LyoSphere flakonu ilgstoši atvērtu. Stimulants QFM LyoSphere jāpievieno asins paraugam, tiklīdz flakona ir atvērts.

Ja QFM LyoSphere granulas tiek pievienotas QFM asins analīžu stobriņos paņemtiem asins paraugiem, noteikti uzlieciet paraugiem atpakaļ pareizos stobriņu vāciņus.



1. attēls. QFM LyoSphere pievienošana. **A** QFM asins analīžu stobriņš un QFM LyoSphere flakons. **B** Noņemiet QFM asins analīžu stobriņa vāciņu un QFM LyoSphere flakona aptverošo metāla vāciņu un izņemiet gumijas aizbāzni. **C** Nekavējoties pievienojiet QFM LyoSphere granulu asins paraugam, novietojot stikla flakona malu pie analīžu stobriņa malas. **D** Pēc tam lēnām apgrieziet flakonu otrādi, lai LyoSphere granula iekristu analīžu stobriņā. **E** Uzlieciet atpakaļ QFM asins analīžu stobriņa vāciņu un 5–10 reizes sakratiet stobriņu.

6. Uzlieciet QFM asins analīžu stobriņa vāciņu un 5–10 reizes sakratiet stobriņu tikai tik stipri, cik nepieciešams, lai pilnībā izšķīdinātu QFM LyoSphere granulu.

Ja QFM LyoSphere granula pielīp stobriņa iekšējai virsmai, to var izšķīdināt, apgiežot stobriņu vairākkārt otrādi un tādējādi panākot, ka LyoSphere granula pārklājas ar asinīm.

Kad QFM LyoSphere granula ir pievienota, nekavējoties uzlieciet stobriņa vāciņu, lai tajā pašā stobriņā nejauši nepievienotu vēl vienu LyoSphere granulu.

Piezīme. Tā kā QFM LyoSphere granula ir balta, tā pēc izšķīšanas asinīs vairs nav saskatāma.

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

7. Pēc QFM LyoSphere pievienošanas un izšķīdināšanas QFM asins analīžu stobriņi ir jāievieto inkubatorā 37 ± 1 °C temperatūrā pēc iespējas drīzāk, bet ne vēlāk kā 8 stundu laikā pēc asins paraugu paņemšanas.

Lietošanas norādījumi

1. posms — asins parauga inkubācija un plazmas atdalīšana

Nodrošinātie materiāli

- QFM asins analīžu stobriņi (sk. “Komponenti un glabāšana” 6. lpp.)

Nepieciešamie materiāli, kas netiek piegādāti

- Skatiet sadaļu “Nepieciešamie materiāli, kas netiek piegādāti” 8. lpp.

Procedūra

1. **Inkubējiet QFM asins analīžu stobriņus, kuros ir 1 ml asins parauga ar QFM LyoSphere, VERTIKĀLĀ stāvoklī 37 ± 1 °C temperatūrā 16–24 stundas.**

Piezīme. CO₂ vai mitrināšana inkubatorā nav nepieciešama.

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

2. **Pēc inkubācijas plazmu var iegūt, 15 minūtes centrifugējot QFM asins analīžu stobriņus ar ātrumu 2000–3000×g (RCF). Gela korķis šūnas atdalīs no plazmas. Ja tas nenotiek, atkārtojiet stobriņu centrifugēšanu.**

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

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

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

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

Plazmas paraugus var glabāt ne ilgāk kā 28 dienas 2–8 °C temperatūrā, bet, iegūstot tīru plazmu, ilgāku laiku temperatūrā, kas zemāka par -20 °C. Iegūtās tīrās plazmas paraugu daļas pirms uzglabāšanas hermētiski jānoslēdz.

Iegūstiet vismaz 150 µl lielu plazmas paraugu, lai, ja nepieciešams, testēšanu varētu atkārtot.

IFN- γ daudzums plazmas paraugos bieži vien var pārsniegt lielākās daļas ELISA testa rādījumu nolasīšanas augstākās robežvērtības pat tādos gadījumos, ja indivīdiem ir mērena imūnsupresija. Ieteicams plazmas paraugus atšķaidīt attiecībā 1:10 un/vai 1:100 ar zaļo atšķaidītāju (Green Diluent) un pēc tam tos testēt kopā ar neatšķaidītu plazmu, izmantojot ELISA testu (sk. “2. posms — IFN- γ noteikšana ar ELISA”).

2. posms — IFN- γ noteikšana ar ELISA

Nodrošinātie materiāli

- QuantiFERON Monitor 2 plašu ELISA komplekts (sk. “Komponenti un glabāšana” 6. lpp.)

Nepieciešamie materiāli, kas netiek piegādāti

- Skatiet sadaļu “Nepieciešamie materiāli, kas netiek piegādāti” 8. lpp.

Sagatavošana

IFN- γ daudzums plazmā bieži vien var pārsniegt lielākās daļas ELISA testa rādījumu nolasīšanas augstākās robežvērtības pat tādos gadījumos, ja indivīdiem ir mērena imūnsupresija. Ieteikums: atšķaidiet plazmas paraugus attiecībā 1:10 un/vai 1:100 ar zaļo atšķaidītāju (Green Diluent) un testējiet kopā ar neatšķaidītu plazmu, izmantojot ELISA testu.

Ja pacientam ir īpaši novājināta imunitāte, kvantitatīvu rezultātu, iespējams, var iegūt, sagatavojot un testam izmantojot tikai neatšķaidītas plazmas paraugu.

Piezīme. Rezultātu interpretēšanai jāizmanto parauga rezultāti, kas ir QFM ELISA testa diapazonā (proti, līdz 10 SV/ml). Ja neatšķaidītas plazmas rezultāts pārsniedz QFM ELISA testa diapazonu, kā gala rezultāts ir jāizmanto tas rezultāts, kas ietilpst QFM ELISA testa diapazonā un ir iegūts no vismazāk atšķaidītās plazmas (ņemot vērā atšķaidīšanas attiecību).

Procedūra

1. **Visi plazmas paraugi un reaģenti, izņemot konjugāta 100× koncentrātu, pirms lietošanas jāsasilda līdz istabas temperatūrai (22±5 °C). Nepieciešamās temperatūras sasniegšanai jāatvēr vismaz 60 minūtes.**

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

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

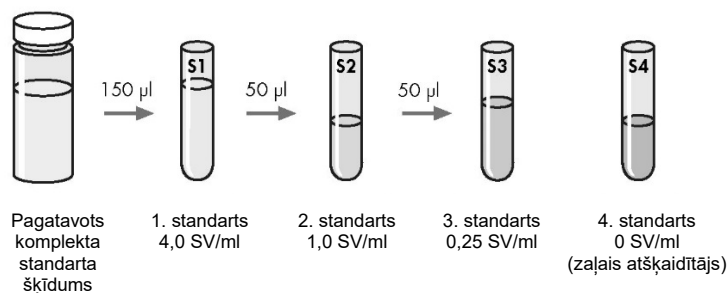
3. **Pagatavojiet liofilizētu INF- γ standarta šķīdumu tādā daudzumā dejonizēta vai destilēta ūdens, kas norādīts uz standarta flakona etiķetes. Uzmanīgi samaisiet, pēc iespējas samazinot putu veidošanos un nodrošinot pilnīgu izšķīšanu. Pagatavojot norādītā tilpuma standarta šķīdumu, iegūst šķīdumu ar koncentrāciju 8,0 SV/ml.**

Svarīgi. INF- γ standarta šķīduma pagatavošanas tilpums dažādās partijās atšķiras. Pareizais dejonizētā vai destilētā ūdens daudzums ir norādīts uz standarta flakona etiķetes.

Izmantojiet pagatavoto komplekta standarta šķīdumu, lai iegūtu 1 no 2 un pēc tam 1 no 4 IFN- γ atšķaidījumu sērijām zaļajā atšķaidītājā (GD — Green Diluent) (sk. 2. attēlu). S1 (1. standarts) satur 4 SV/ml, S2 (2. standarts) satur 1 SV/ml, S3 (3. standarts) satur 0,25 SV/ml un S4 (4. standarts) satur 0 SV/ml (tikai GD). Standarta šķīdumi ir jātestē dubultā. Katrai ELISA testa sērijai sagatavojiet jaunus komplekta standarta šķīduma atšķaidījumus.

Ieteicamā procedūra dubultā standarta šķīdumiem

- Marķējiet 4 stobriņus kā "S1", "S2", "S3" un "S4".
- Pievienojiet 150 μ l GD stobriņos S1, S2, S3 un S4.
- Pievienojiet 150 μ l komplekta standarta šķīduma stobriņā S1 un rūpīgi samaisiet.
- Pārnesiet 50 μ l no stobriņa S1 uz stobriņu S2 un rūpīgi samaisiet.
- Pārnesiet 50 μ l no stobriņa S2 uz stobriņu S3 un rūpīgi samaisiet.
- Zaļais atšķaidītājs (GD) tīrā veidā kalpo kā nulles standarts (S4).



2. attēls. Standarta līknes sagatavošana.

- Pagatavojiet liofilizēto konjugāta 100 \times 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 \times koncentrāta daudzumu ar zaļo atšķaidītāju (1. tabula "Konjugāta sagatavošana"). Neizlieto to konjugāta 100 \times koncentrātu uzreiz pēc lietošanas ievietojiet 2–8 °C temperatūrā. Izmantojiet tikai zaļo atšķaidītāju.

1. tabula. Konjugāta sagatavošana

Plātnišu skaits	Konjugāta 100× 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. Ja plazmas paraugi ir iegūti no asins analīžu stobriņiem un pēc tam glabāti sasaldētā veidā, samaisiet paraugus pirms pievienošanas ELISA iedobītei.

Svarīgi. Ja plazmas paraugus ir paredzēts pievienot tieši no centrifugētajiem QFM stobriņiem, plazmu nedrīkst maisīt. Vienmēr ievērojiet piesardzību, lai nesabojātu materiālu uz gela virsmas.

6. Ieteikums: atšķaidiet plazmas paraugus attiecībā 1:10.

- Stobriņā, kas marķēts ar pacienta datiem un norādi "1:10", iepildiet 90 µl zaļā atšķaidītāja (Green Diluent — GD).
- Pēc tam pievienojiet 10 µl samaisīta plazmas parauga (papildinformāciju par to, kā samaisīti plazmas paraugi atšķiras no tādiem plazmas paraugiem, kas paņemti tieši no centrifugētiem QFM stobriņiem, sk. 5. darbībā).
- Rūpīgi samaisiet ar pipeti tā, lai neveidotos putas.

7. Ieteikums: atšķaidiet plazmas paraugus attiecībā 1:100.

- Sagatavojiet šķīdumu attiecībā 1:10 (sk. 6. darbību iepriekš).
- Stobriņā, kas marķēts ar pacienta datiem un norādi "1:100", iepildiet 90 µl zaļā atšķaidītāja.
- Pievienojiet 10 µl attiecībā 1:10 sagatavotā šķīduma.
- Rūpīgi samaisiet ar pipeti tā, lai neveidotos putas.

Ieteikums: paralēli testējiet minētos paraugus šādā secībā:

- neatšķaidīts, 1:10, 1:100.

Papildus QFM analīžu programmatūra atbalsta vēl šādas pacientu paraugu iespējas:

- neatšķaidīts;
- 1:10;
- 1:100;
- 1:10, 1:100;
- neatšķaidīts, 1:10.

- 8. Ar daudzkanālu pipeti pievienojiet 50 µl tikko sagatavotā konjugāta darba šķīduma nepieciešamajās ELISA iedobītēs.**
- 9. Ar daudzkanālu pipeti pievienojiet 50 µl testa plazmas parauga atbilstošajās iedobītēs. Pēc tam pievienojiet pa 50 µl no katra 1.–4. standarta šķīduma. Testējiet standarta šķīdumus dubultā.**
- 10. Katru plati pārklājiet ar vāku un rūpīgi 1 minūti maisiet konjugātu un plazmas paraugus/standarta šķīdumus mikroplašu kratītājā. Izvairieties no izšķakstīšanās.**
- 11. Inkubējiet istabas temperatūrā (22±5 °C) 120±5 minūtes.**

Inkubācijas laikā plates nedrīkst atrasties tiešu saules staru ietekmē.

- 12. Inkubācijas laikā atšķaidiet un rūpīgi samaisiet 1 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.**

Skalojiet iedobītes mikroplašu skalošanas ierīcē ar 400 µl skalošanas buferšķīduma darba šķīduma vismaz 6 ciklus. Ieteicams lietot automātisku plates skalošanas ierīci.

Rūpīga skalošana ir ļoti svarīga pareizai testa norisei. Nodrošiniet, lai katrā skalošanas ciklā katra iedobīte **būtu pilnīgi uzpildīta** ar skalošanas buferšķīdumu. Ieteikums: lai sasniegtu vislabākos rezultātus, starp cikliem mērcējiet iedobītes vismaz 5 sekundes.

Notekūdeņu uzkrāšanas tvertnēs ielejiet parasto laboratorijas dezinfekcijas līdzekli un ievērojiet spēkā esošos norādījumus par iespējami infekcioza materiāla dekontamināciju.

- 13. Noteciniet otrādi apgrieztas plates uz uzsūcoša dvieļa, kam ir maz pūku, lai atbrīvotos no atlikušā skalošanas buferšķīduma. Pievienojiet 100 µl enzīmu substrāta šķīduma katrā iedobītē, katru plati pārklājiet ar vāku un rūpīgi samaisiet ar mikroplašu kratītāju.**
- 14. Inkubējiet istabas temperatūrā (22±5 °C) 30 minūtes.**

Inkubācijas laikā plates nedrīkst atrasties tiešu saules staru ietekmē.

- 15. Pēc inkubācijas pievienojiet 50 µl enzīmu darbības pārtraukšanas šķīduma katrā iedobītē un rūpīgi samaisiet, izmantojot mikroplašu kratītāju.**

Enzīmu darbības pārtraukšanas šķīdums iedobītēs jāpievieno tādā pašā secībā un ar aptuveni tādu pašu ātrumu, kādā tika pievienots enzīmu substrāta šķīdums 13. darbībā.

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

Aprēķini un testa rezultātu interpretācija

QuantiFERON Monitor analīžu programmatūra tiek izmantota, lai analizētu iegūtos datus un aprēķinātu rezultātus. Tā ir pieejama vietnē www.QuantiFERON.com. Pārliecinieties, vai tiek izmantota visjaunākā QuantiFERON Monitor analīžu programmatūras versija.

Programmatūra veic testa kvalitātes kontroles novērtējumu, izveido standarta līkni un nodrošina testa rezultātu katram pacientam. Sīkāks izklāsts pieejams sadaļā "Rezultātu interpretācija".

Ja neatšķaidītās plazmas parauga rezultāts pārsniedz QFM ELISA testa augšējo robežu (proti, ir >10 SV/ml), QuantiFERON Monitor analīžu programmatūra kā rezultātu uzrāda to vērtību, kas iegūta no vismazāk atšķaidītās plazmas ar rezultātu QFM ELISA testa diapazonā, ņemot vērā atšķaidīšanas attiecību.

QuantiFERON Monitor analīžu programmatūras izmantošanas alternatīva ir rezultātu noteikšana, izmantojot tālāk aprakstīto metodi.

Standarta līknes izveidošana

(Ja netiek izmantota QuantiFERON Monitor analīžu programmatūra)

Nosakiet komplekta standarta šķīduma atkārtojumu vidējās OB vērtības katrai platei.

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

Lietojiet standarta līkni, lai noteiktu IFN- γ 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.

Ja neatšķaidītas plazmas rezultāts pārsniedz QFM ELISA testa diapazonu, kā gala rezultāts ir jāizmanto tas rezultāts, kas ietilpst QFM ELISA testa diapazonā un ir iegūts no vismazāk atšķaidītās plazmas (ņemot vērā atšķaidīšanas attiecību).

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 $\leq 15\%$;
- 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 $\geq 0,98$.

QuantiFERON Monitor analīžu 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

QFM rezultātu interpretācija ir atkarīga no IFN- γ atbildes reakcijas uz dabīgās un adaptīvās imunitātes stimulantiem. QFM tests nodrošina gan kvalitatīvus, gan kvantitatīvus šūnu imūnreakcijas mērījumus. QFM testa rezultāti, iespējams, tiešā veidā nenorāda imūnsupresijas līmeni.

Svarīgi. Nosakot pacienta imūnstatusu, noteiktā IFN- γ līmeņa rādītājs jāizmanto kopā ar klīniskajām pazīmēm, slimības vēsturi un citu diagnostisko izmeklējumu datiem (2. tabula). QFM testa robežvērtība var atšķirties atkarībā no pacienta imūnsupresijas līmeņa un konkrētā transplantāta parametriem.

2. tabula. Rezultātu interpretācija

QFM rezultāts IFN- γ (SV/ml)	Klasifikācija	Interpretācija
<15	Vāja	Pacientam ir vāja IFN- γ atbildes reakcija uz dabīgās un adaptīvās imunitātes stimulantiem
15–1000	Vidēja	Pacientam ir vidēja IFN- γ atbildes reakcija uz dabīgās un adaptīvās imunitātes stimulantiem
>1000	Augsta	Pacientam ir augsta IFN- γ atbildes reakcija uz dabīgās un adaptīvās imunitātes stimulantiem

Ja noteiktais IFN- γ līmenis neatšķaidītas plazmas paraugā ir mazāks par 0,1 SV/ml:

- pārbaudiet, vai asins paraugam tika pievienots stimulants QFM LyoSphere un vai stobriņš tika inkubēts, kā norādīts šajā iepakojuma ieliktnī;
- pārbaudiet, vai IFN- γ rezultāts atbilst pacienta pašreizējam veselības stāvoklim.

Ja ir aizdomas, ka asins paraugu ņemšanas vai to turpmākās apstrādes laikā ir radušās tehniskas problēmas, viss QFM tests ir jāatkārto ar jaunu asins paraugu. Ja ir aizdomas, ka sākotnējā testa izpilde neatbilda šajā iepakojuma ieliktnī aprakstītajai procedūrai, atkārtojiet ELISA testu ar stimulētiem plazmas paraugiem (papildinformāciju sk. sadaļā “Testa kvalitātes kontrole”).

Ja rezultāti neatbilst pacienta pašreizējam veselības stāvoklim, ārsts var nolemt atkārtot testu.

Ierobežojumi

QFM testā iegūtie rezultāti ir izvērtējami saistībā ar katras atsevišķas personas slimības vēsturi, pašreizējo veselības stāvokli un citiem diagnostiskiem izmeklējumiem. Laboratorijas var noteikt savus testa rezultātu diapazonus.

Laboratorijas paralēli pacienta paraugiem var arī veikt no veselām personām ņemtu paraugu papildu kontroles testu.

Neuzticamu un neprecīzu rezultātu iemesli var būt šādi:

- nepareiza asins antikoagulanta izmantošana — drīkst lietot tikai litija heparīnu, jo citi antikoagulanti traucē testa veikšanai;
- šajā iepakojuma ieliktnī aprakstīto procedūru neievērošana;

- pārāk augsts cirkulējošā IFN- γ vai heterofilo antivielu klātbūtnes līmenis;
- no asins parauga paņemšanas līdz inkubēšanai 37 °C temperatūrā pagājušas vairāk nekā 8 stundas;
- nepareiza QFM asins analīžu stobriņu uzpilde — pārāk zems vai pārāk augsts līmenis ārpus 0,9–1,1 ml diapazona.

Darbības raksturojums

Klīniskie pētījumi

Lai novērtētu acīmredzami veselu personu (n=114) atbildes reakciju un tādu personu atbildes reakciju, kam ir veikta transplantācija (n=30), tika veikti divi klīniskie pētījumi. No visiem pētījuma dalībniekiem, kam bija veikta transplantācija, 18 personas bija pirms neilga laika veiktas transplantācijas grupā (nesena transplantācija — transplantācija veikta pēdējo 3 mēnešu laikā), bet 12 pētījuma dalībnieki bija pirms ilga laika veiktas transplantācijas jeb stabila veselības stāvokļa grupā (sena transplantācija — kopš transplantācijas pagājuši vairāk nekā 12 mēneši).

- No katras personas nesenas transplantācijas grupā tika paņemti paraugi līdz pat 5 laika atskaites punktos (grupa, kur transplantācija veikta pēdējo 3 mēnešu laikā, n=64 paraugi).
- No katras personas senas transplantācijas grupā tika paņemts 1 paraugs (grupa, kur transplantācija veikta pirms ilga laika, n=12 paraugi).
- Acīmredzami veselu personu grupā paraugs tika paņemts 1 reizi (n=114).

Nesenas un senas transplantācijas grupās paņemto paraugu QFM testa atbildes reakcijas rādītāji svārstījās no vājas līdz vidējai. Nesenas transplantācijas grupā bija augstāks vājas atbildes reakcijas diapazona procentuālais īpatsvars (93,8%) un zemāks vidējas atbildes reakcijas diapazona procentuālais īpatsvars (6,3%), salīdzinot ar senas transplantācijas grupas atbildes reakcijas rādītājiem, kur vājas atbildes reakcijas bija 25% gadījumu, bet vidējas atbildes reakcijas — 66,7% gadījumu (sk. 3. tabulu). Nesenas transplantācijas grupā netika konstatēta neviena augsta diapazona atbildes reakcija, bet senas transplantācijas grupā tika novērota tikai 1 augsta diapazona atbildes reakcija (8,3%). Acīmredzami veselu pētījuma dalībnieku grupā QFM testa atbildes reakcijas rādītāji galvenokārt bija vidējā (83,3%) un augstā atbildes reakcijas diapazonā (15,8%) (sk. 3. tabulu).

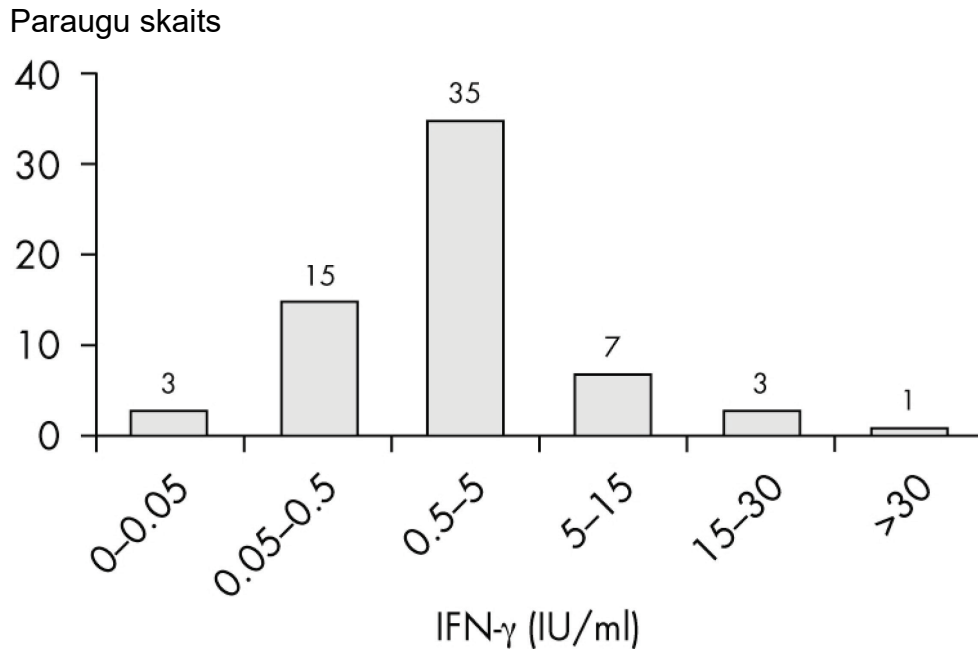
3. tabula. QFM testa atbildes reakcijas diapazons acīmredzami veseliem pētījuma dalībniekiem salīdzinājumā ar tādiem pētījuma dalībniekiem, kam veikta transplantācija

IFN- γ (SV/ml)	Rezultātu kategorija	Nesena transplan- tācija, %*	Sena transplan- tācija, %*	Acīmredzami veseli dalībnieki, %*	Kopējais rezultāts
		95% TI n	95% TI n	95% TI n	
<15	Vāja	93,8% 85,0–97,5 n=60	25,0% 8,9–53,2 n=3	0,9% 0,2–4,8 n=1	64
15–1000	Vidēja	6,3% 2,5–15,0 n=4	66,7% 39,1–86,2 n=8	83,3% 75,4–89,1 n=95	107
>1000	Augsta	0,0% 0–5,7 n=0	8,3% 1,5–35,4 n=1	15,8% 10,2–23,6 n=18	19
Kopējais paraugu skaits		64	12	114	190

* Procenti norāda to paraugu proporcionālo vērtību katrā pētījuma dalībnieku grupā, kas iekļaujas konkrētajā atbildes reakcijas rādītāja diapazonā.

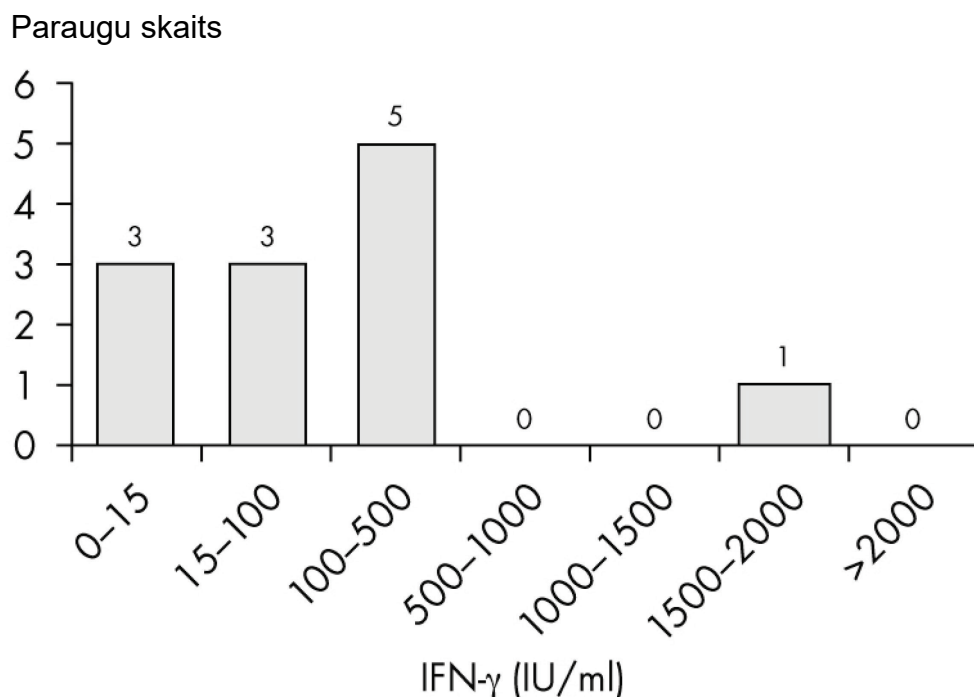
Sagaidāmās vērtības

Nesenas transplantācijas pacientu (ne vairāk kā 3 mēneši pēc transplantācijas) QFM testa IFN- γ atbildes reakciju sadalījums tika noteikts, veicot QFM ELISA testu 64 paraugiem, kas paņemti 18 pētījuma dalībniekiem (3. att.).



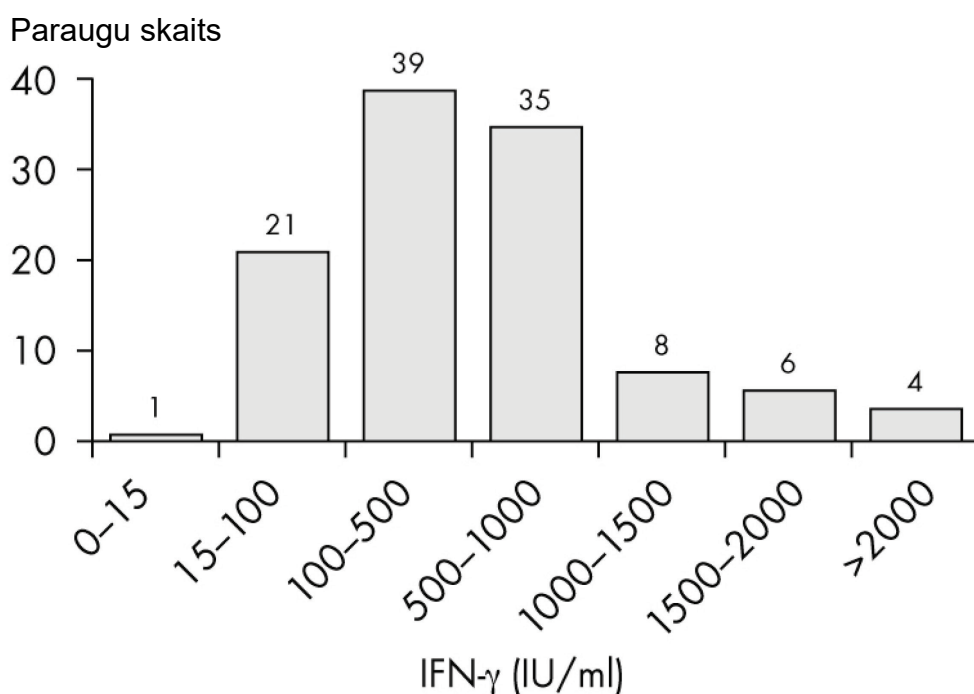
3. attēls. Nesenas transplantācijas pacientu QFM testa IFN- γ atbildes reakciju sadalījums (n=64; vidējais=1,5 SV/ml).

QFM testa IFN- γ atbildes reakciju sadalījums senas transplantācijas pacientiem (>12 mēneši pēc transplantācijas) tika noteikts, veicot QFM ELISA testu 12 paraugiem (4. att.).



4. attēls. Senas transplantācijas pacientu QFM testa IFN- γ atbildes reakciju sadalījums (n=12; vidējais=98,8 SV/ml).

QuantiFERON Monitor testa IFN- γ atbildes reakciju sadalījums acīmredzami veseliem pētījuma dalībniekiem tika noteikts, veicot QFM ELISA testu 114 paraugiem (5. att.).



5. attēls. Acīmredzami veselo pētījuma dalībnieku QFM testa IFN- γ atbildes reakciju sadalījums (n=114; vidējais=400,5 SV/ml).

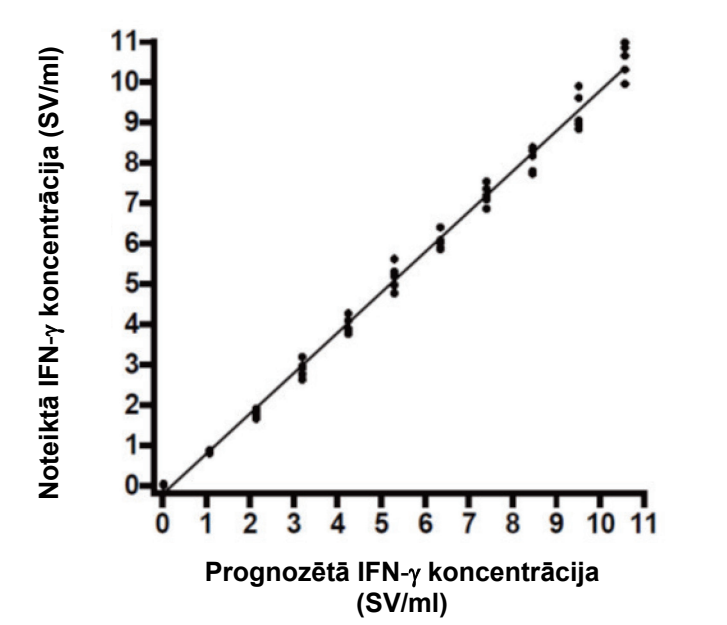
QFM testa atbildes reakcijas pacientiem, kam veikta parenhimatozo orgānu transplantācija

QFM iedarbība tika novērtēta novērošanas šķērsgriezuma pētījumā, kurā iesaistījās pacienti, kam veikta parenhimatozo orgānu transplantācija (4). Pētījumā tika iesaistītas šādas personas: 212 veselu pētāmo personu ar apakšgrupu, kur tika veiktas 30 ar vecumu un dzimumu saistītas pārbaudes, 30 pacientu, kam bija jāveic transplantācija, 18 pacientu, kam transplantācija bija veikta nesen (66 paraugi; vidējais laiks pēc transplantācijas = 21 diena), un 11 pacienti, kam transplantācija bija veikta sen (vidējais laiks pēc transplantācijas = 2290 dienas). Veselu pētāmo personu kontroles materiālā vidēji tika konstatēta IFN- γ veidošanās 555,2 SV/ml, bet no vecuma un dzimuma atkarīgajos kontroles materiālos — 614,6 SV/ml. Tika konstatēts, ka vidējā IFN- γ veidošanās vērtība bija ievērojami zemāka gan tādu pacientu grupā, kam bija jāveic transplantācija, (IFN- γ =89,3 SV/ml), gan arī tādu pacientu grupā, kam transplantācija bija veikta nesen, (IFN- γ =3,76 SV/ml), salīdzinot ar tādiem kontroles materiālu rādītājiem, kas ir atkarīgi no vecuma un dzimuma ($p<0,001$). To pacientu grupā, kam transplantācija bija veikta sen, tika novērota imūnreakcijas atjaunošanās (vidēji IFN- γ =256,1 SV/ml), uzrādot būtiski augstāku rādītāju nekā to pacientu grupā, kam transplantācija bija veikta nesen ($p<0,05$). Šis pētījums apliecina, ka QFM testu var izmantot, lai novērtētu šūnu imūnreakciju pacientiem, kam ir veikta parenhimatozo orgānu transplantācija un ir novērojama imūnsupresija.

Testa veikspējas raksturojums

Ir pierādīts, ka QFM ELISA testa rezultāti ir lineāri, uz ELISA plates nejauši novietojot 11 plazmas pūlu 5 atkārtojumus ar zināmām IFN- γ koncentrācijām. Lineārās regresijas līnijai ir $1,002 \pm 0,011$ slīpums un korelācijas koeficients 0,99 (6. attēls).

QFM ELISA testa noteikšanas ierobežojums ir 0,065 SV/ml, un nav pierādījumu par augstas devas āķa (prozona) efektu ar IFN- γ koncentrācijām līdz 10 000 SV/ml.



6. attēls. QFM ELISA testa linearitātes profils, kuru nosaka, testējot 11 plazmas paraugu 5 atkārtojumus ar zināmām IFN- γ koncentrācijām.

QFM testa atkārtojamība (1. stadija) tika noteikta, izmantojot no 20 veselām personām paņemtus asins paraugus. Novērtēšanas procesā tika iesaistīti trīs dažādi operatori, QFM LyoSphere partijas un aprīkojuma komplekti. IFN- γ atbildes reakcijas līmeņu vidējais variācijas koeficients, kas tika noteikts, izmantojot QFM ELISA testu ar visām trim QFM LyoSpheres partijām un visos trīs testēšanas apstākļos, bija 22,22% (95% TI: 17,20–27,25).

QFM testa atkārtojamība (1. stadija) tika novērtēta, 5–6 reizes nosakot atkārtotas asins paraugu stimulācijas ar QFM LyoSphere mainīgumu. Testiem tika izmantoti vieni un tie paši paraugi, kas paņemti no 14 pētāmām personām. Testēto 14 pētāmo personu vidējais variācijas koeficients bija 14,7% (95% TI: 10,2–19,2). Atsevišķu pētāmo personu %VK bija mazāks nekā 30%.

QFM ELISA testa atkārtojamība (2. stadija) tika novērtēta, testējot 20 plazmas paraugus ar mainīgām IFN- γ koncentrācijām 3 atkārtojumos, ko veikuši 3 dažādi operatori 3 dažādās laboratorijās 3 dienās, kas nebija secīgas. Tādējādi katrs paraugs tika testēts 27 reizes 9 neatkarīgos testos. Viens paraugs bija nulles kontrole, un tam tika aprēķināta IFN- γ koncentrācija

0,08 SV/ml (95% TI: 0,07–0,09). 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- γ no katras plates testa (n=9). Neprecizitātes diapazons bija no 4,1 līdz 9,1% VK. Vidējais testa %VK ($\pm 95\%$ TI) bija $6,6 \pm 0,6\%$. Nulles IFN- γ plazmas parauga vidējais VK bija 14,1%.

Tika noteikta kopējā starptestu neprecizitāte, salīdzinot 27 aprēķinātās IFN- γ koncentrācijas katram plazmas paraugam. Starptestu neprecizitātes VK diapazons bija no 6,6 līdz 12,3%. Kopējais vidējais %VK ($\pm 95\%$ TI) bija $8,7 \pm 0,7\%$. Nulles IFN- γ plazmas parauga vidējais VK bija 26,1%. Šāds variāciju līmenis ir prognozējams, jo aprēķinātā IFN- γ koncentrācija ir zema un zemām prognozētajām koncentrācijām variācijas ir lielākas nekā augstākām koncentrācijām.

Tehniskā informācija

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. Kontaktinformāciju skatiet uz aizmugurējā vāka.

ELISA problēmu novēršana

Nespecifiskas krāsas rašanās

Iespējamie iemesli	Risinājums
a) Nepietiekama plates skalošana	Plate jāskalo vismaz 6 reizes ar 400 µl skalošanas buferšķīduma uz katru iedobīti. Atkarībā no izmantotās skalošanas ierīces var būt nepieciešami vairāk nekā 6 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.
e) Plazmas maisīšana QFM stobriņos pirms tās iegūšanas	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.

Zemas optiskā blīvuma vērtības standartiem

Iespējamie iemesli	Risinājums
a) Kļūda, sagatavojot standarta atšķaidījumu	Nodrošiniet, lai komplekta standarta atšķaidījumi tiktu sagatavoti, precīzi ievērojot šajā iepakojuma ieliktnī sniegtos norādījumus.
b) Pipetēšanas kļūda	Nodrošiniet, lai pipetes būtu kalibrētas un tiktu lietotas atbilstoši ražotāja norādījumiem.

ELISA problēmu novēršana

- | | |
|---|--|
| c) Pārāk zema inkubācijas temperatūra | ELISA testu inkubācija jāveic istabas temperatūrā (17–27 °C). |
| d) Pārāk īss inkubācijas laiks | Plati ar konjugātu, standarta šķīdumus un paraugus jāinkubē 120±5 minūtes. Enzīmu substrāta šķīdumu uz plates jāinkubē 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 viena stunda. |
| g) Beidzies komplekta/sastāvdaļu derīguma termiņš | Nodrošini, lai komplekts tiktu izlietots pirms derīguma termiņa beigām. Nodrošini, lai pagatavotais standarta šķīdums un konjugāta 100× koncentrāts tiktu izlietots 3 mēnešu laikā pēc pagatavošanas datuma. |

Spilgts fons

- | | |
|---|---|
| Iespējamie iemesli | Risinājums |
| a) Nepietiekama plates skalošana | Plate jāskalo vismaz 6 reizes ar 400 µl skalošanas buferšķīduma uz katru iedobīti. Atkarībā no izmantotās skalošanas ierīces var būt nepieciešami vairāk nekā 6 skalošanas cikli. Starp cikliem jānodrošina vismaz 5 sekunžu ilgs mērcēšanas laiks. |
| b) Pārāk augsta inkubācijas temperatūra | ELISA testu inkubācija jāveic istabas temperatūrā (17–27 °C). |
| c) Beidzies komplekta/sastāvdaļu derīguma termiņš | Nodrošini, lai komplekts tiktu izlietots pirms derīguma termiņa beigām. Nodrošini, lai pagatavotais standarta šķīdums un konjugāta 100× koncentrāts tiktu izlietots trīs mēnešu laikā pēc pagatavošanas datuma. |
| d) Enzīmu substrāta šķīduma kontaminācija | Izmetiet substrātu, ja tam ir zilgana nokrāsa. Nodrošini, lai reaģentiem tiktu izmantotas tīras tvertnes. |

ELISA problēmu novēršana

Nelineāra standarta līkne un dublikātu mainīgums

Iespējamie iemesli	Risinājums
a) Nepietiekama plates skalošana	Plate jāskalo vismaz 6 reizes ar 400 µl skalošanas buferšķīduma uz katru iedobīti. Atkarībā no izmantotās skalošanas ierīces var būt nepieciešami vairāk nekā 6 skalošanas cikli. Starp cikliem jānodrošina vismaz 5 sekunžu ilgs mērcēšanas laiks.
b) Kļūda, sagatavojot standarta atšķaidījumu	Nodrošiniet, lai 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) Nekonsekventa 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.

Atsauces

Plašs QFM uzziņas materiālu saraksts tiek piedāvāts pakalpojumā Gnowee — QuantiFERON uzziņas materiālu bibliotēkā, kas pieejama vietnē www.gnowee.net.

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

Simboli

 2×96	Pietiekams daudzums 2×96 paraugu sagatavošanai
	Likumīgais ražotājs
	CE-IVD marķējuma simbols
	Lietošanai <i>in vitro</i> diagnostikā
	Sērijas kods
	Kataloga numurs
	Derīguma termiņš
	Temperatūras ierobežojumi
	Skatīt lietošanas norādījumus
	Nelietot atkārtoti
	Neuzglabāt saules gaismā
	Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā

Kontaktinformācija

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

Saīsināta testa procedūra

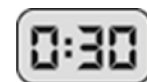
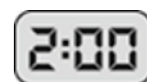
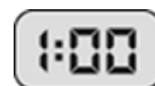
1. posms — asins parauga inkubācija

1. Paņemiet pacienta asinis vai nu QFM asins analīžu stobriņā, vai asins analīžu stobriņā ar litija heparīnu. Marķējiet stobriņus, norādot pacienta datus un asins parauga paņemšanas laiku. Pēc tam 8 stundu laikā pēc paraugu paņemšanas nogādājiet tos uz laboratoriju istabas temperatūrā.
 - a. Ja asins paraugs ir paņemts asins analīžu stobriņā ar litija heparīnu, dozējiet 1 ml asiņu QFM asins analīžu stobriņā un marķējiet to, norādot pacienta datus un asins parauga paņemšanas laiku.
2. Katrā QFM asins analīžu stobriņā ar 1 ml asiņu pievienojiet vienu (1) QFM LyoSphere granulu, izšķīdiniet LyoSphere granulu un tad pēc iespējas drīzāk (8 stundu laikā pēc asins parauga paņemšanas) inkubējiet stobriņus 16–24 stundas **vertikālā** stāvoklī 37 °C temperatūrā.
3. Pēc inkubācijas centrifugējiet stobriņus 15 minūtes ar ātrumu 2000–3000×g (RCF), lai atdalītu plazmu no sarkanajiem asins ķermeņiem.
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. posms — IFN- γ noteikšana ar 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 4 standarta atšķaidījumus.
3. Pagatavojiet liofilizētā konjugāta 100 \times koncentrāta atšķaidījumu, izmantojot destilētu vai dejonizētu ūdeni.
4. Sagatavojiet konjugāta darba šķīdumu zaļajā atšķaidītājā un pievienojiet 50 μ l visās iedobītēs.
5. Attiecīgajās iedobītēs pievienojiet pa 50 μ l no katra testa plazmas parauga (kā nepieciešams — neatšķaidītus, 1:10 un 1:100) un pa 50 μ l no katra standarta šķīduma. Samaisiet ar kratītāju.
6. Inkubējiet 120 \pm 5 minūtes istabas temperatūrā.
7. Skalojiet iedobītes vismaz 6 reizes ar 400 μ l skalošanas buferšķīduma uz iedobīti.
8. Pievienojiet iedobītēs 100 μ l enzīmu substrāta šķīduma. Samaisiet ar kratītāju.
9. Inkubējiet 30 minūtes istabas temperatūrā.
10. Pievienojiet visās iedobītēs 50 μ l enzīmu darbības pārtraukšanas šķīduma. Samaisiet ar kratītāju.
11. Nolasiet rezultātus pie 450 nm ar 620–650 nm references filtru.
12. Analizējiet rezultātus.



Piezīmes

Būtiskas izmaiņas

Šajā tabulā ir apkopotas būtiskās izmaiņas šajā QuantiFERON Monitor® (QFM®) ELISA lietošanas pamācības izdevumā.

Sadaļa	Lappuse	Izmaiņa(s)
Piesardzības pasākumi	11	Jauna GHS informācija
Piesardzības pasākumi	12	Pievienoti drošības norādījumi par flakoniem ar aptverošajiem metāla vāciņiem.

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

Ierobežots licences līgums QuantiFERON Monitor komplektam

Šīs preces izmantošana liecina par katra preces pircēja un tās lietotāja piekrišanu šādiem nosacījumiem:

1. Šo precī drīkst lietot tikai saskaņā ar protokoliem, kas nodrošināti kopā ar precī, un šo rokasgrāmatu, un to drīkst lietot tikai kopā ar sastāvdaļām, kas ietvertas 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 nav ietvertas šajā komplektā, vai ar tām apvienotu, izņemot gadījumus, kas aprakstīti kopā ar precī piegādātajos protokolos un šajā rokasgrāmatā, kā arī papildu protokolos, kas pieejami tīmekļa vietnē 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 nodrošina, nedz garantē, ka tie nepārkāpj trešo personu tiesības.
2. Uzņēmums QIAGEN negarantē, ka šis komplekts, un/vai tā lietošana neaizskar trešo personu tiesības, izņemot attiecībā uz skaidri norādītām licencēm.
3. Šis komplekts un tā sastāvdaļas ir licencētas vienreizējai lietošanai un nevar tikt izmantotas atkārtoti, atjaunotas vai pārdotas tālāk.
4. Uzņēmums QIAGEN īpaši atsakās no jebkādas citas tiešas vai netiešas licences, kas nav skaidri norādīta.
5. Komplekta pircējs un lietotājs piekrīt neveikt un neatļaut citiem veikt jebkādas 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.

© 2014 QIAGEN, visas tiesības aizsargātas.

www.qiagen.com

Australia ■ techservice-au@qiagen.com

Austria ■ techservice-at@qiagen.com

Belgium ■ techservice-bnl@qiagen.com

Brazil ■ suportetecnico.brasil@qiagen.com

Canada ■ techservice-ca@qiagen.com

China ■ techservice-cn@qiagen.com

Denmark ■ techservice-nordic@qiagen.com

Finland ■ techservice-nordic@qiagen.com

France ■ techservice-fr@qiagen.com

Germany ■ techservice-de@qiagen.com

Hong Kong ■ techservice-hk@qiagen.com

India ■ techservice-india@qiagen.com

Ireland ■ techservice-uk@qiagen.com

Italy ■ techservice-it@qiagen.com

Japan ■ techservice-jp@qiagen.com

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

Luxembourg ■ techservice-bnl@qiagen.com

Mexico ■ techservice-mx@qiagen.com

The Netherlands ■ techservice-bnl@qiagen.com

Norway ■ techservice-nordic@qiagen.com

Singapore ■ techservice-sg@qiagen.com

Sweden ■ techservice-nordic@qiagen.com

Switzerland ■ techservice-ch@qiagen.com

UK ■ techservice-uk@qiagen.com

