



QuantiFERON Monitor[®] (QFM[®]) ELISA Fuljett ta' Tagħrif fil-Pakkett


 2 × 96

It-test tal-IFN- γ tad-demmm sħiħ ikejjeġ ir-risponsi għal stimulant
immuni innati u adattivi

Verżjoni 1

 Għal użu dijanjostiku in vitro

CE

 0650-0201



QIAGEN, 19300 Germantown Road

Germantown, MD 20874, L-ISTATI UNITI

 QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1

40724 Hilden, IL-ĠERMANJA

1079024MT Rev. 03

 www.QuantiFERON.com



Werrej

Użu Maħsub	4
Sommarju u Spjegazzjoni tat-Test	4
Il-Prinċipji tal-Assaġġ	5
Fin Meħtieġ biex Jitwettaq l-Assaġġ	5
Komponenti u Hażna	6
Materjali meħtieġa iżda mhux ipprovduti	8
Hażna u Ġestjoni	8
Twissijiet u Prekawzjonijiet	10
Twissijiet	10
Prekawzjonijiet	11
Ġbir ta' Kampjuni u Ġestjoni	13
Istruzzjonijiet dwar l-Użu	16
Kalkolazzjonijiet u Interpretazzjonijiet tat-Test	22
Ġenerazzjoni tal-Kurva Standard	22
Il-Kontroll tal-Kwalità tat-Test	23
Interpretazzjoni tar-Riżultati	23
Limitazzjonijiet	24
Karatteristiċi tal-Prestazzjoni	25
Studji Kliniċi	25
Karatteristiċi ta' Prestazzjoni tal-Assaġġ	30
Informazzjoni Teknika	31
Kampjuni tal-plażma bl-emboli	31
Gwida għal Troubleshooting	32
Referenzi	34
Simboli	35
Informazzjoni ta' Kuntatt	35
Proċedura tat-Test fil-Qosor	36

Użu Maħsub

L-assaġġ ta' QuantiFERON Monitor (QFM) huwa test djanjostiku in vitro maħsub sabiex jidentifika funzjoni immuni medjata miċ-ċelloli permezz tal-kejl tal-gamma interferon (IFN- γ) fil-plażma bl-assaġġ immunosorbenti marbut mal-enżimi (ELISA) wara l-inkubazzjoni tad-demem sħiħ eparinizzat bi stimulant għar-rispons immuni innati u adattivi L-assaġġ jintuża biex jidentifika rispons immuni medjat miċ-ċelloli fil-popolazzjoni immunosuppressata tat-trapjant ta' organi solidi.

QFM huwa maħsub sabiex jintuża flimkien ma' valutazzjoni tar-riskju u evalwazzjonijiet mediċi u djanjostiċi oħrajn.

Sommarju u Spjegazzjoni tat-Test

L-immunodeficijenza hija kkaratterizzata minn ħila mnaqqsa sabiex jitthejja b'mod effettiv rispons immuni. Dan ir-rispons imxekkel jew nieqes jista' jirriżulta minn immunodeficijenza primarja jew miksuba (sekondarja) (1).

Immunodeficienzi primarji jintirtu ġenetikament u huma kkaratterizzati minn deficienzi ta' komponenti distinti tas-sistema immuni adattiva jew innata (1). Minkejja dan, ħafna mill-immunodeficienzi jinkisbu (sekondarji) u jistgħu jiġu indotti minn aġenti patoġeniċi, mediċini (bħal kura immunosuppressiva wara trapjant tal-organi), kundizzjonijiet ta' mard (bħall-kanċer, eż., il-lewkemija u l-limfoma), jew minn kontaminanti ambjentali (1).

Il-baži molekolari tal-immunodeficijenza hija mifruxa; madankollu, l-immunità medjata miċ-ċelloli għandha rwol importanti fl-induzzjoni ta' ħafna mill-manifestazzjonijiet kliniċi osservati. Bħalissa, id-djanjosi u l-ġestjoni tas-sindromi tal-immunodeficijenza jiddependu mill-aġent li jikkaġunahom (2, 3).

Pereżempju, ġestjoni ad hoc hija n-norma fil-monitoraġġ tal-istatus tal-immunodeficijenza ċellolari ta' suġġetti li sarulhom trapjanti tal-organi solidi (SOT) u li qed jirċievu mediċini li jissuppressaw is-sistema immuni tagħhom. Generalment, l-istatus tar-rispons immuni tas-suġġett jitkejjel bil-monitoraġġ tal-livelli ta' mediċini farmakoloġiċi u b'evalwazzjoni klinika/patoloġika tal-funzjoni tat-trapjant (2, 3).

Hemm għadd ta' testijiet tal-funzjoni taċ-ċelloli-T li jkejlu l-immunità medjata miċ-ċelloli għal mitoġeni bħall-fitoemagglutinina (PHA), mitoġen pokeweed, u konkanavalina A (ConA); madankollu, dawn ikejlu biss il-ħila taċ-ċelloli-T u huma sottosett taċ-ċelloli involuti fl-immunità medjata miċ-ċelloli. Sar dejjem iktar ċar li l-mekkaniżmi immuni innati jikkontribwixxu bil-kbir għad-difiża tal-ospitant, jew billi jaġixxu waħedhom jew billi jsaħħu risponsi speċifiċi taċ-ċelloli-T. Għaldaqstant, ir-risponsi funzjonali taċ-ċelloli immuni innati (ċellola qattielja naturali [NK]) u adattivi (ċellola-T) f'daqqa jagħmlu analiżi iktar komprensiva tal-immunità medjata miċ-ċelloli (2, 3).

QFM huwa test djanjostiku in vitro li juża taħlita ta' stimulant (fil-forma ta' pelit LyoSphere™) li b'mod speċifiku jstimulaw tipi ta' ċelloli differenti involuti kemm

fis-sistema immuni innata kif ukoll dik adattiva. L-istatus immuni funzjonali ta' suġġett huwa vvalutat billi jitkejjel ir-rispons għall-istimulazzjoni tas-sistema immuni innata u dik adattiva bl-agonisti Riċetturi tat-Tip Toll (TLR) u riċetturi taċ-ċelloli-T (TCR), rispettivament. L-identifikazzjoni tal-Gamma interferon (IFN- γ) bl-ELISA tipprovdi kemm kejl kwalitattiv kif ukoll kejl kwantitattiv tal-funzjoni immuni medjata miċ-ċelloli.

II-Prinċipji tal-Assaġġ

L-assaġġ QFM juża stimulanti li jofilizzati (QFM LyoSpheres™), li jiżdedu mademm sħiħ eparinizzat. L-inkubazzjoni tad-demm isseħħ għal 16 sa 24 siegħa, u wara, il-plażma tingabar u tiġi ttestjata għall-preżenza tal-IFN- γ prodotta bħala rispons għall-istimulanti.

It-test QFM isir fi stadji. L-ewwel jingabar id-demm sħiħ fit-Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM. Imbagħad, tiżdied QFM LyoSphere fit-tubu, li mbagħad jiġi inkubat f'37°C malajr kemm jista' jkun u fi żmien 8 sigħat mill-ġbir. Wara perjodu ta' inkubazzjoni ta' 16 sa 24 siegħa, it-tubi jiġu ċcentrifugati, il-plażma titneħħa u l-ammont ta' IFN- γ (irrapportat fl-Unitajiet Internazzjonali għal kull ml; IU/ml) imkejjebl bl-ELISA u mqabbel ma' medda ta' valuri mistennijin sabiex jiġi kkaratterizzat ir-rispons immuni tal-individwu.

QFM huwa assaġġ li jipprovdi kemm kejl kwalitattiv kif ukoll kejl kwantitattiv tal-funzjoni immuni. Ir-riżultati tal-QFM jistgħu ma jikkwantifikawx direttament il-livell ta' suppressjoni immuni.

L-ammont ta' IFN- γ fil-kampjuni tal-plażma spiss jista' jkun ogħla mil-limiti superjuri ta' ħafna mill-qarrejja tal-ELISA, anki meta l-individwi jkunu immunosuppressati b'mod moderat. Huwa rrakkomandat li l-kampjuni tal-plażma jiġu dilwiti 1 f'10 u/jew 1 f'100 f'Dilwent Aħdar u assaġġati fl-ELISA flimkien ma' plażma mhux dilwita.

Nota: Il-limitu tal-assaġġ QFM jista' jvarja skont il-livell ta' immunosuppressjoni ta' suġġett u l-issettjar tat-trapjant individwali.

Ara "Interpretazzjoni tar-Riżultati" fil-paġna 23 ta' dan il-fuljett tal-pakkett għal spjegazzjoni ta' kif inhuma interpretati r-riżultati tal-QFM.

Ħin Meħtieġ biex Jitwettaq l-Assaġġ

Il-ħin meħtieġ biex isir l-assaġġ QFM huwa stmat hawn taħt. Hawn indikat ukoll il-ħin sabiex jiġu ttestjati bosta kampjuni meta jkunu f'lott.

Inkubazzjoni f'37°C tat-tubi tad-demm: 16-il siegħa għal 24 siegħa

ELISA: Madwar 3 sigħat għal platt ELISA wieħed
(sa 88 kampjun)
<1 siegħa xogħol
Żid 10 sa 15-il minuta għal kull platt żejjed

Komponenti u Hażna

QuantiFERON Monitor LyoSpheres	
Nru tal-Katalgu	0650-0701
Numru ta' preparazzjonijiet	10
QuantiFERON Monitor LyoSpheres	10 kunjetti
<i>QuantiFERON Monitor LyoSpheres Fuljett ta' Tagħrif fil-Pakkett</i>	1
QuantiFERON Monitor Blood Collection Tubes (Tubi tal-Ġbir tad-Demm bi QuantiFERON Monitor)	
Nru tal-Katalgu	0650-0101
Numru ta' preparazzjonijiet	100
Tubi tal-Ġbir tad-Demm bi QuantiFERON Monitor (tapp abjad, ċirku abjad)	100 tubu
<i>Fuljett ta' Tagħrif fil-Pakkett tat-Tubi tal-Ġbir tad-Demm QuantiFERON Monitor</i>	1

Komponenti tal-ELISA tal-QuantIFERON Monitor 2 Plate Kit	2 Kitts ta' Platti tal-ELISA
Nru tal-Katalgu	0650-0201
Strippi tal-Microplate, 12 × 8 toqob (miksija b'antikorp IFN- γ murin anti-uman monoklonali)	2 settijiet ta' Strippi Mikroplatt bi 12 × 8- toqob
IFN- γ Standard, lyophilized (Standard IFN- γ , lajofilizzat) (fih IFN- γ umana rikombinanti, kaseina bovina, 0.01% w/v Timerosali)	1 × kunjett (8 IU/ml meta rikostitwit)
Green Diluent (Dilwent Aħdar) (fih kaseina bovina, serum normali tal-ġrieden, 0.01% w/v Timerosali)	1 × 30 ml kunjett
Conjugate 100× Concentrate, lyophilized (Konjugat 100× Konċentrat, lajfolizzat) (IFN- γ HRP murin anti-uman, fih 0.01% w/v Timerosali)	1 × 0.3 ml meta rikostitwit
Wash Buffer 20× Concentrate (Wash Buffer 20× Konċentrat) (pH 7.2, fih 0.05% v/v ProClin® 300)	1 × 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Soluzzjoni ta' Substrat tal-Enzimi) (fiha H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' Tetramethylbenzidine)	1 × 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Soluzzjoni li Twaqqaf ir-Reazzjoni tal-Enzimi) (fiha 0.5 M H ₂ SO ₄)*	1 × 15 ml
QuantIFERON Monitor ELISA Fuljett ta' Tagħrif fil-Pakkett	1

* Fih sulfuric acid. Ara paġna 11 għall-prekawzjonijiet.

Materjali meħtieġa iżda mhux ipprovdu

- Inkubatur ta' 37°C; CO₂ mhux meħtieġ
- Pipetti kkalibrati b'volum varjabbli*
- Pipetti kkalibrati b'aktar minn kanal wieħed li kapaċi jipprovdu minn 50 µl u 100 µl bi truf li jintużaw darba u jintremew
- Shaker għal microplate†
- Ilma deijonizzat jew distillat, 2 litri
- Washer għal microplate (washer awtomatizzat rakkomandat)
- Microplate reader† mgħammar b'filtru ta' 450 nm u filtru ta' referenza ta' 620 sa 650 nm
- Ċilindru ggradwat (ċilindru tat-tkejjil)
- Xugamani assorbenti bi ftit tniyetex

Hażna u Ġestjoni

Tubi tal-Ġbir tad-Demm

Aħżen it-Tubi tal-Ġbir tad-Demm QFM f'4 sa 25°C. It-Tubi tal-Ġbir tad-Demm QFM għandu jkollhom temperatura ta' bejn 17–25°C meta jimtela u jithallat id-demm.

LyoSpheres

Aħżen QFM LyoSpheres f'2 sa 8°C.

Reaġenti għal Kitt ta' ELISA

Aħżen reaġenti tal-ELISA kit f'2 sa 8°C.

Ipproteġi dejjem is-Soluzzjoni li Twaqqaf ir-Reazzjoni tal-Enzimi minn xemx diretta.

* Iżgura li l-istrumenti ġew ivverifikati u kkalibrati skont ir-rakkomandazzjonijiet tal-manifattur.

Reaġenti tal-ELISA rikostitwiti u mhux użati

Għal struzzjonijiet dwar kif tirrikostitwixxi r-reagenti tal-ELISA, jekk jogħġbok ara “Stadju 2 — IFN- γ ELISA”, paġna 17.

- Il-kitt rikostitwit standard jista' jinżamm sa 3 xhur jekk jiġi maħżun f'2 sa 8°C.
Innota d-data li fiha l-kitt standard ġie rikostitwit.
- Ladarba jiġi rikostitwit, Konjugat 100× Konċentrat mhux użat għandu jinħażen mill-ġdid f'2 sa 8°C u għandu jintuża fi żmien 3 xhur.
Innota d-data li fiha l-konjugat ġie rikostitwit.
- Il-konjugat tal-qawwa tal-ħidma jrid jintuża fi żmien 6 sigħat mit-tħejjija (ara t-Tabella 1).
- Il-konjugat ta' qawwa tal-wash buffer jista' jinħażen f'temperatura ambjentali (22 ± 5°C) sa ġimagħtejn.

Twissijiet u Prekawzjonijiet

Għal użu dijanjostiku in vitro

Meta taħdem b'kimiċi, dejjem għandek tilbes ġagaga xierqa, ingwanti li jintremew wara l-użu, u nuċċali ta' protezzjoni. Għal aktar tagħrif, jekk jogħġbok ikkonsulta l-folji x-xierqa dwar tagħrif fuq is-sigurtà (SDS). Dawn huma disponibbli online f'format PDF konvenjenti u kumpatt f'www.qiagen.com/safety, fejn tista' ssib, tara u tipprintja l-SDS għal kull kitt ta' QIAGEN u kull komponent tal-kitt.

Twissijiet

- QFM huwa assaġġ li jipprovdi kemm kejl kwalitattiv kif ukoll kejl kwantitattiv tal-funzjoni immuni. Ir-riżultati tal-QFM jistgħu ma jikkwantifikawx direttament il-livell ta' suppressjoni immuni.
- Ir-riżultati tal-assaġġ QFM għandhom jintużaw flimkien ma' preżentazzjoni klinika, passat mediku, u indikaturi kliniċi oħrajn meta jiġi stabbilit l-istatus immuni ta' pazjent.
- Il-limitu tal-assaġġ QFM jista' jvarja skont il-livell ta' immunosuppressjoni ta' suġġett u l-issettjar tat-trapjant individwali.

Prekawzjonijiet

Għal użu dijanjostiku in vitro biss.



ATTENZJONI: Itratta d-demm tal-bniedem u l-plażma bħala potenzjalment infettivi. Osserva linji gwida rilevanti għat-trattment tad-demm u l-prodotti tad-demm. Armi l-kampjuni u l-materjali f'kuntatt mad-demm jew il-prodotti tad-demm skont ir-regolamenti federali, tal-Istat u lokali.

Id-dikjarazzjonijiet ta' periklu u prekawzjonarji li ġejjin japplikaw għall-komponenti tal-QuantiFERON Monitor ELISA.

Dikjarazzjonijiet ta' Periklu



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution (Soluzzjoni li Twaqqaf l-Enzima ta' QuantiFERON)

Fih: aċidu sulfuriku. Twissija! Jista' jkun korrużiv għall-metalli. Jagħmel irritazzjoni tal-ġilda. Jagħmel irritazzjoni serja lill-għajnejn. Ilbes ingwanti protettivi/ ilbies protettiv/ protezzjoni għall-għajnejn/ protezzjoni għall-wiċċ.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution (Soluzzjoni ta' Sottostrat għall-Enzima ta' QuantiFERON)

Twissija! Jagħmel irritazzjoni ħafifa tal-ġilda. Ilbes ingwanti protettivi/ ilbies protettiv/ protezzjoni għall-għajnejn/ protezzjoni għall-wiċċ.



QuantiFERON Green Diluent (QuantiFERON Dilwent Aħdar)

Fih: trisodium 5-hydroxy-1-(4-sulphophenyl)-4-(4-sulphophenylazo) pyrazole-3-carboxylate. Fih: tartrazine. Twissija! Jista' jikkawża reazzjoni allergika tal-ġilda. Ilbes ingwanti protettivi/ ilbies protettiv/ protezzjoni għall-għajnejn/ protezzjoni għall-wiċċ.



QuantiFERON Wash Buffer 20× Concentrate (Wash Buffer ta' QuantiFERON Konċentrat 20×)

Fih: Taħlita ta' 5-Kloro-2-metil-4-isotjażolin-3-on u 2-Metil-2H-isotjażol-3-one (3:1). Jagħmel ħsara lill-organizmi akwatiċi b'mod li jħalli effetti dejjiema. Evita r-rilaxx fl-ambjent.

Aktar tagħrif

Folji ta' Tagħrif dwar is-Sigurtà: www.qiagen.com/safety

- Tbegħid mill-*Fuljett ta' Tagħrif fil-Pakkett ta' QuantiFERON Monitor (QFM) ELISA* jista' jgħib miegħu riżultati żbaljati. Aqra l-istruzzjonijiet bir-reqqa qabel tużah.
- **Importanti:** Spezzjona l-kunjetti qabel l-użu. Tużax il-kunjetti Conjugate, IFN- γ Standard jew QFM LyoSphere li juru sinjali ta' ħsara jew jekk is-sigill tal-lastiku jkun ġie mbagħbas. Tmissx kunjetti mkissrin. Hu l-prekawzjonijiet ta' sigurtà xierqa biex tarmi l-kunjetti b'mod sigur. Rakkomandazzjoni: Uża de-crimper tal-kunjetti biex tiftaħ il-kunjetti Conjugate, IFN- γ Standard jew QFM LyoSphere sabiex timminimizza r-riskju ta' korriment mill-kappa tal-metall li titgeżwer mal-flixxun.
- Tużax l-ELISA kit jekk xi flixxun tar-reagent ikollu sinjali ta' ħsara jew tnixxija qabel l-użu.
- Tħallatx jew tużax l-istrippi tal-Microplate, Standard IFN- γ , Diluent Aħdar, jew Konjugat 100 \times Konċentrat minn lottijiet tal-kitt ta' QFM ELISA differenti. Reagenti oħrajn (Wash Buffer 20 \times Konċentrat, Soluzzjoni, u Soluzzjoni li Twaqqaf ir-Reazzjoni tal-Enzima) jistgħu jiġu skambjati bejn il-kitts sakemm ir-reagenti jkunu għadhom ma skadewx u d-dettalji tal-lott ikunu ġew irregistrati.
- Armi r-reagenti u l-kampjuni bijoloġiċi li ma ntużawx skont ir-regoli lokali u nazzjonali dwar l-ambjent u s-sikurezza.
- Tużax it-Tubi tal-Ġbir tad-Demm QFM, QFM LyoSpheres, jew QFM ELISA wara d-data ta' skadenza.
- Assigura li t-tagħmir tal-laboratorju jkun ġie kkalibrat/ivvalidat biex jintuża.

Ġbir ta' Kampjuni u Ġestjoni

L-assaġġ tal-QFM għandu jsir biss billi jintuża d-demm sħiħ miġbur jew f'tubi tal-ġbir tad-demmm tal-eparina tal-litju jew direttament f'Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM; huwa meħtieġ 1 ml demm sħiħ għal kull test. It-tubi tal-ġbir tad-demmm iridu jiġu ttikkettati kif xieraq u jinkludu l-ħin tal-ġbir tad-demmm.

Importanti: Kemm l-istimulazzjoni tal-kampjuni tad-demmm tal-QFM (jiġifieri ż-żieda ta' QFM LyoSphere f'alikwot ta' 1 ml demm) kif ukoll l-inkubazzjoni sussegwenti tagħhom f'37°C iridu jsiru fi żmien 8 sigħat mindu jingabar id-demmm.

Qabel l-inkubazzjoni, żomm il-kampjuni tad-demmm f'temperatura ambjentali ($22 \pm 5^\circ\text{C}$).

Il-proċeduri li ġejjin għandhom jiġu segwiti għall-aħjar riżultati:

1. Immarka t-tubi b'mod xieraq.

Ara li kull Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM għandu tikketta xierqa bid-dettalji tal-individwu u l-ħin tal-ġbir tad-demmm.

2. Għal kull individwu, iġbor 1 ml demm permezz ta' venipuntura direttament f'Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM. Din il-proċedura għandha ssir minn flebotomista mħarreg.

Nota importanti: It-tubi għandhom ikunu bejn 17–25°C fil-ħin tal-mili tad-demmm.

It-Tubi ta' Ġbir tad-Demm QFM għandhom jintużaw sa altitudni ta' 810 metru 'l fuq mil-livell tal-baħar.

Peress li t-tubi ta' 1 ml jiġbdu d-demmm relattivament bil-mod, żomm it-tubu fuq il-labra għal 2–3 sekondi ladarba t-tubu jidher li jkun mimli. Dan sejjer jiżgura li jingibed il-volum korrett.

Il-marka sewda fuq il-ġenb tat-tikketta tat-Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM tindika volum ta' mili ta' 1 ml. It-Tubi tal-Ġbir tad-Demm QFM huma mmanifatturati sabiex jieħdu $1 \text{ ml} \pm 10\%$ u jaħdmu l-aħjar f'din il-medda. Jekk il-livell ta' demm ikun jaqa' barra mill-medda tal-linja indikatriċi, għandu jittieħed kampjun tad-demmm ġdid.

Jekk qed tintuża labra “farfett” biex jingabar id-demmm, għandu jintuża tubu “porga” tal-ġbir tad-demmm sabiex jiġi żgurat li s-sistema ta' tubi hija mimlija bid-demmm qabel ma jintużaw it-Tubi tal-Ġbir tad-Demm QFM.

Jekk it-Tubi tal-Ġbir tad-Demm QFM jintużaw f'altitudni oġhla minn 810 metri, jew jekk il-volum ta' ġbir tad-demmm ikun baxx, iġbor id-demmm b'siringa u ttrasferixxi 1 ml demm fit-Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM mill-ewwel. Għal raġunijiet ta' sikurezza, dan isir l-aħjar billi titneħħa l-labra tas-siringa, filwaqt li jintużaw il-proċeduri ta' sikurezza xierqa, jitneħħa t-tapp mit-Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM, u jiżdied 1 ml demm (maċ-ċentru tal-marka sewda fuq il-ġenb tat-tikketta tat-tubu). Ibdel it-tapp b'mod sikur u ħallat kif spjegat hawn taħt.

Jekk tuża turnikett, illaxka t-turnikett malli l-labra tiddaħħal ġol-vina biex tevita ċaqliq fil-pressjoni li jista' jħalli impatt fuq il-volum ta' demm.

Inkella, id-demm jista' jingabar f'tubu ġeneriku tal-ġbir tad-demm li fih eparina tal-litju bħala l-antikoagulant u mbagħad jiġi ttrasferit f'Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM. Uża biss lithium heparin bħala antikoagulant tad-demm peress li antikoagulanti oħrajn jinterferixxu mal-assaġġ. Imla tubu tal-ġbir tad-demm (volum minimu 3 ml) u ħallat bil-mod billi taqleb it-tubu diversi drabi rasu 'l isfel biex tinħall il-ħeparina. Żomm id-demm f'temperatura ambjentali ($22 \pm 5^\circ\text{C}$) qabel tittrasferixxi f'Tubi tal-Ġbir tad-Demm QFM għall-istimulazzjoni bi QFM LyoSphere. Kun żgur li d-demm jiġi ħallat sew billi taqleb it-tubu rasu 'l isfel bil-mod immedjatament qabel tiddistribwih. Qassam alikwota ta' 1 ml demm f'Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM. Qassam b'mod asettiku, billi tiżgura li jiġu segwiti l-proċeduri xierqa tas-sikurezza filwaqt li tneħħi t-tapp mit-Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM u żżid 1 ml demm (maċ-ċentru tal-marka sewda fuq il-ġenb tat-tikketta tat-tubu). Issostitwixxi t-tappijiet tat-tubi b'mod sikur u ħallat kif deskritt hawn isfel.

3. Malli timla t-tubi, aqleb it-tubu bil-galbu bosta drabi biex tinħall l-eparina.

Importanti: Jekk tħawwadhom iżżejjed, dan jista' jikkawża tfixkil tal-ġel u li jista' jwassal għal riżultati anormali.

4. Eżatt qabel ma tużahom, ekwilibra l-QFM LyoSpheres għat-temperatura ambjentali ($22 \pm 5^\circ\text{C}$).

5. Żid QFM LyoSphere waħda b'mod asettiku ma' 1 ml demm.

Neħħi t-tapp mit-tubu tal-ġbir tad-demm.

Taptap bil-galbu fuq il-kunjett ta' QFM LyoSphere fuq wiċċ iebes biex tkun żgur li l-QFM LyoSphere tinsab f'qiegħ il-kunjett. Neħħi t-tapp tal-kunjett ta' QFM LyoSphere billi l-ewwel tneħħi t-tapp issiġillat tal-metall u mbagħad tneħħi t-tapp tal-lasktu.

Itfa l-pelit ta' QFM LyoSphere bir-reqqa fil-kampjun ta' 1 ml demm billi tallinja x-xoffa tal-kunjett tal-ħġieġ max-xoffa tat-Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM, u mbagħad aqleb il-kunjett bil-galbu biex tittrasferixxi QFM LyoSphere fit-Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM (Figura 1).

Importanti: Jekk QFM LyoSphere taqa' barra t-Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM, armiha u iftaħ kunjett ieħor ta' QFM LyoSphere.

Importanti: Thallix il-kunjett ta' QFM LyoSphere miftuħ għal perjodi twal ta' żmien. QFM LyoSphere għandha tiżdied mad-demm malli tneħħi t-tapp tal-kunjett.

Jekk QFM LyoSphere tiżdied mad-demm li jkun ingabar fit-Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM, ara li t-tappijiet tat-tubu jitregġgħu lura għall-kampjuni t-tajbin.

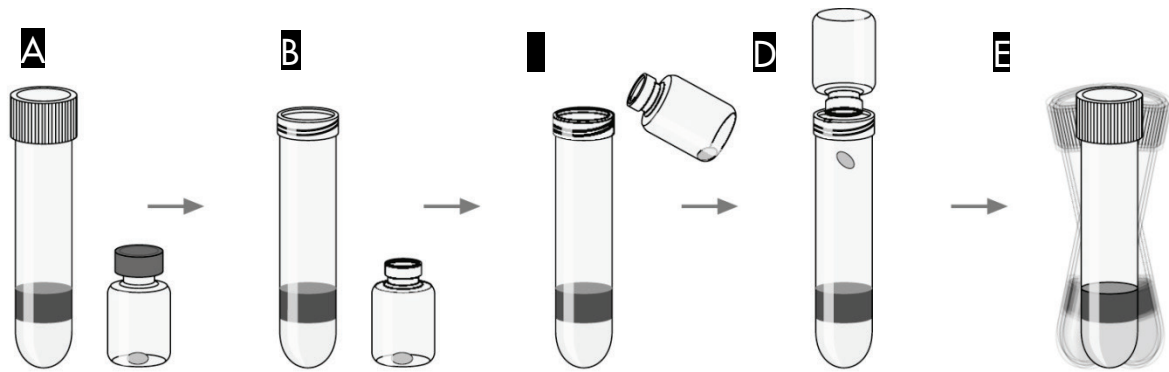


Figura 1. Tidħil ta' QFM LyoSphere. **A** Tubi tal-Ġbir tad-Demm QFM u kunjett ta' QFM LyoSphere. **B** Neħni t-tapp mit-Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM u neħni s-siġill tal-metall u t-tapp tal-lasktu mill-kunjett ta' QFM LyoSphere. **C** Mill-ewwel žid QFM LyoSphere fid-demm billi tallinja x-xoffa tal-kunjett tal-ħgieġ max-xoffa tat-tubu tal-ġbir. **D** Imbagħad, aqleb il-kunjett bil-galbu biex tittrasferixxi LyoSphere fit-tubu tal-ġbir. **E** Erga' aghlaq it-Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM u ħawdu 5 sa 10 darbiet.

6. Aghlaq it-tapp tat-Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM u ħawdu 5–10 darbiet, b'galbu u saħħa biżżejjed biex LyoSphere QFM tinħall għal kollox.

Jekk QFM LyoSphere teħel mal-wiċċ ta' ġewwa tat-tubu, din tista' tinħall billi jingħadda d-demm minn fuq il-LyoSphere waqt li taqleb it-tubu.

Ara li t-tubu jerga' jingħalaq bit-tapp ladarba tiddaħħal QFM LyoSphere sabiex tevita milli tiddaħħal LyoSphere oħra fl-istess tubu bi żball.

Nota: Peress li QFM LyoSphere hija bajda, ma tibqax tidher fid-demm ladarba tinħall.

Importanti: Jekk tħawwadhom iżżejjed, dan jista' jikkawża tfixkil tal-ġel u li jista' jwassal għal riżultati anormali.

7. Wara li tiżdied u tinħall QFM LyoSphere, it-Tubi tal-Ġbir tad-Demm QFM iridu jiġu ttrasferiti f'inkubatur ta' $37 \pm 1^\circ\text{C}$ malajr kemm jista' jkun u fi żmien 8 sigħat mill-ġbir tad-dem.

Istruzzjonijiet dwar I-Użu

Stadju 1 — inkubazzjoni tad-demem u ħsad tal-plażma

Materjali pprovduti

- Tubi tal-Ġbir tad-Demm QFM (irreferi għal “Komponenti u Flażna”, paġna 6)

Materjali meħtieġa (iżda mhux ipprovduti)

- Irreferi għal “Materjali meħtieġa iżda mhux ipprovduti”, paġna 8

Proċedura

- 1. Inkuba t-Tubi tal-Ġbir tad-Demm QFM li fihom alikwoti ta' 1 ml demm bi QFM LyoSphere WIQFIN f'37 ± 1°C għal 16 sa 24 siegħa.**

Nota: L-inkubatur ma għandux bżonn ta' CO₂ jew ta' umidifikazzjoni.

Wara l-inkubazzjoni, it-Tubi tal-Ġbir tad-Demm QFM jistgħu jinżammu bejn 4°C–27°C sa mhux iktar minn 3 ijiem qabel iċ-ċentrifugazzjoni.

- 2. Wara l-inkubazzjoni, il-ġbir tal-plażma jithaffef biċ-ċentrifugazzjoni tat-Tubi tal-Ġbir tad-Demm QFM għal 15-il minuta f'2000 sa 3000 × g (RCF). Il-plagg tal-ġell se jissepara ċ-ċelluli mill-plażma. Jekk dan ma jseħħx, erġa' ċ-ċentrifuga t-tubi.**

Huwa possibbli li l-plażma tinħasad mingħajr ċentrifugazzjoni, imma hemm bżonn ta' kura addizzjonali sabiex il-plażma titneħħa mingħajr ma tiddisturba ċ-ċelluli.

- 3. Kampjuni tal-plażma għandhom jinħasdu biss permezz ta' pipetta.**

Importanti: Wara ċ-ċentrifugazzjoni, evita li tippipetta 'l fuq jew 'l isfel jew tħallat il-plażma b'xi mod ieħor qabel il-ħsad. Fi kwalunkwe ħin, oqgħod attent/a li ma tiddisturbax materjal fuq il-wiċċ tal-ġell.

Il-kampjuni tal-plażma jistgħu jittellgħu direttament mit-Tubi tal-Ġbir tad-Demm QFM iċ-ċentrifugati fil-platt QFM ELISA, inkluż meta jintużaw ELISA workstations awtomatizzati.

Il-kampjuni tal-plażma jistgħu jinħażnu sa 28 ġurnata f'temperatura ta' 2 sa 8°C jew, jekk jinġabru, f'temperatura ta' inqas minn -20°C għal perjodi estiżi. L-alikwoti tal-kampjuni tal-plażma miġburin iridu jiġu ssiġillati qabel ma jinħażnu.

Jekk tiġbor kampjuni tal-plażma, iġbor tal-inqas 150 µl ta' plażma biex it-testijiet ikunu jistgħu jerġgħu jsiru jekk ikun meħtieġ.

L-ammont ta' IFN-γ fil-kampjuni tal-plażma spiss jista' jkun ogħla mil-limiti superjuri ta' ħafna mill-qarrejja tal-ELISA, anki meta l-individwi jkunu immunosuppressati b'mod moderat. Huwa rrakkomandat li l-kampjuni

tal-plażma jiġu dilwiti 1:10 u/jew 1:100 f'Dilwent Aħdar u jiġu assaġġati fl-ELISA flimkien mal-plażma mhux dilwita (ara Stadju 2 — IFN- γ ELISA).

Stadju 2 — IFN- γ ELISA

Materjali pprovduti

- QuantiFERON Monitor 2 Plate Kit ELISA (irreferi għal “Komponenti u Ħażna”, paġna 6)

Materjali meħtieġa (iżda mhux ipprovduti)

- Irreferi għal “Materjali meħtieġa iżda mhux ipprovduti”, paġna 8

Thejjija

IFN- γ fil-plażma spiss tista' tkun ogħla mil-limiti superjuri ta' ħafna mill-qarrejja ELISA, anki meta l-individwi jkunu immunosuppressati b'mod moderat. Rakkomandazzjoni: iddilwixxi l-kampjuni tal-plażma 1:10 u/jew 1:100 f'Dilwent Aħdar u assaġġa fl-ELISA flimkien ma' plażma mhux dilwita.

F'sitwazzjonijiet li fihom il-pazjent jista' jkun ferm immunosuppressat, it-tnejn u l-assaġġ ta' kampjun ta' plażma mhux dilwita biss jista' jkun biżżejjed biex jinkiseb riżultat kwantitattiv.

Nota: Ir-riżultati tal-kampjuni li jaqgħu fi ħdan il-medda tal-QFM ELISA (jiġifieri sa 10 IU/ml) għandhom jintużaw għall-Interpretazzjoni tar-Riżultati. L-inqas dilwizzjoni li tiġġenera riżultat fi ħdan il-medda tal-QFM ELISA għandha tintuża bħala r-riżultat irrapportat (filwaqt li jitqies il-fattur ta' dilwizzjoni) jekk il-plażma mhux dilwita tkun ogħla mill-medda tal-QFM ELISA.

Proċedura

1. **Il-kampjuni kollha tal-plażma u r-reagenti, minbarra Konjugat 100 \times Konċentrat, għandhom jingiebu f'temperatura ambjentali ($22 \pm 5^\circ\text{C}$) qabel jintużaw. Ħalli mill-inqas 60 minuta għall-ekwilibrazzjoni.**
2. **Neħhi l-istrippi li mhumiex meħtieġa mill-qafas tal-mikroplatti, erġa' ssiġillahom fil-pakkett tal-fojl, u erġa' itfagħhom fil-frigġ għall-ħżin sakemm ikollok bżonnhom.**

Ħalli tal-inqas strippa waħda għall-istandards QFM u strippi biżżejjed għan-numru ta' individwi li qed jiġu ttestjati. Wara l-użu, żomm il-frejms u l-ghatu biex tużahom mal-istrixxi li fadal.

3. **Irrikostitwixxi l-Istandard tal-IFN- γ lijo filizzata bil-volum ta' ilma dejonizzata jew distillat indikat fuq it-tikketta tal-kunjett Standard. **Ħallat bil-mod biex timminimizza r-ragħwa u tiżgura solubilizzazzjoni kompleta. Ir-rikostituzzjoni tal-istandard għall-volum iddikjarat se tipproduċi soluzzjoni b'konċentrazzjoni ta' 8.0 IU/ml.****

Importanti: Il-volum ta' rikostituzzjoni tal-Istandard tal-IFN- γ ivarja bejn il-lottijiet. Ikkonsulta t-tikketta tal-kunjett standard biex tkun żgur li tuża l-volum it-tajjeb ta' ilma dejonizzata jew distillat.

Uża l-kitt standard rikostitwit biex tipproduċi serje ta' dilwizzjoni 1 minn 2 ta' segwita minn serje ta' dilwizzjoni 1 minn 4 ta' IFN- γ f'Dilwent Aħdar (GD) (ara l-Figura 2). S1 (Standard 1) fih 4.0 IU/ml, S2 (Standard 2) fih 1.0 IU/ml, S3 (Standard 3) fih 0.25 IU/ml, u S4 (Standard 4) fih 0 IU/ml (GD waħdu). L-istandards għandhom jiġu assaġġati f'duplikat. Ipprepara dilwizzjonijiet friski tal-kitt standard għal kull sessjoni ta' ELISA.

Proċedura rakkomandata għal standards dupplikati

- Immarka 4 tubi "S1", "S2", "S3", "S4".
- Žid 150 μ l of GD to S1, S2, S3, u S4.
- Žid 150 μ l tal-kitt standard ma' S1 u ħallat sew.
- Ittrasferixxi 50 μ l minn S1 għal S2 u ħallat sew.
- Ittrasferixxi 50 μ l minn S2 għal S3 u ħallat sew.
- Dilwent Aħdar (GD) waħdu jservi bħala l-istandard żero (S4).

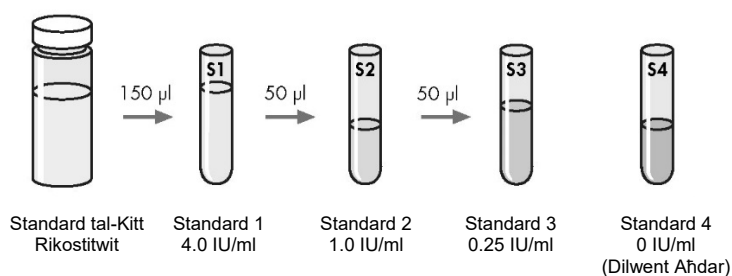


Figura 2. Preparazzjoni tal-kurva standard.

4. **Irrikostitwixxi Konjugat 100 \times Konċentrat lijo filizzat b'0.3 ml ta' ilma dejonizzata jew distillat. **Ħallat bil-mod biex timminimizza l-formazzjoni ta' ragħwa u żgura solubilizzazzjoni totali tal-konjugat.****

Il-konjugat tal-qawwa li ser jintuża jiġi preparat billi jiġi dilwit l-ammont meħtieġ ta' Konjugat 100 \times Konċentrat rikostitwit f'Dilwent Aħdar (Tabella 1. Preparazzjoni tal-Konjugat). Irritorna kull Konjugat 100 \times Konċentrat li ma

jkunx intuża lura għal temperatura ta' 2 sa 8°C wara l-użu. Uża biss Dilwent Aħdar.

Tabella 1. Preparazzjoni tal-konjugat

Għadd ta' strixxi	Volum tal-Konjugat 100× Konċentrat	Volum tad-Dilwent Aħdar
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. Għal kampjuni tal-plażma miġbura minn tubi tal-ġbir tad-dem u sussegwentement maħżuna jew iffriżati, ħawwad sew qabel ma żżidhom mat-toqob tal-ELISA.

Importanti: Jekk il-kampjuni tal-plażma jżiedu direttament mit-tubi tal-QFM iċċentrifugati, għandu jiġi evitat kwalunkwe tħallit tal-plażma. Fi kwalunkwe ħin, oqgħod attent/a li ma tiddisturbax materjal fuq il-wiċċ tal-ġell.

6. Rakkomandazzjonijiet: Iddilwixxi l-kampjuni tal-plażma 1:10.

- Żid 90 µl Dilwent Aħdar (GD) f'tubu ttikkettat bid-dettalji tal-pazjent u "1:10".
- Imbagħad, żid 10 µl kampjuni tal-plażma mħalltin (ara l-pass 5 għal dettalji dwar il-kampjuni tal-plażma mħalltin meta mqabbel ma' daww miżjudin direttament mit-tubi QFM iċċentrifugati).
- Ħawwad sew b'pipetta, filwaqt li tnaqqas ir-ragħwa kemm tista'.

7. Rakkomandazzjonijiet: Iddilwixxi l-kampjuni tal-plażma 1:100.

- Fejji dilwizzjoni 1:10 (ara l-pass 6 iktar 'il fuq).
- Żid 90 µl Dilwent Aħdar (GD) f'tubu ttikkettat bid-dettalji tal-pazjent u "1:100".
- Żid 10 µl mid-dilwizzjoni 1:10.
- Hawwad sew b'pipetta, filwaqt li tnaqqas ir-ragħwa kemm tista'.

Rakkomandazzjonijiet: Ittestja l-kampjuni li ġejjin b'mod parallel, u f'din l-ordni:

- Mhux dilwiti, 1:10, 1:100

L-għażliet tal-kampjuni ta' individwi li ġejjin huma appoġġjati wkoll mis-Software ta' Analizi QFM:

- Mhux dilwiti
- 1:10
- 1:100
- 1:10, 1:100
- Mhux dilwiti, 1:10

8. **Żid 50 µl ta' konjugat ta' qawwa li ser taħdem biha li jkun għadu kif ġie preparat għal got-toqob ta' ELISA meħtieġa b'pipetta b'aktar minn kanal wieħed.**

9. **Żid 50 µl tal-kampjun tal-plażma tat-test fit-toqob xierqa billi tuża pipetta b'ħafna kanali. Imbagħad żid 50 µl ta' kull wieħed mill-istandards 1 sa 4. Assaġġa l-istandards fid-duplikat.**

10. **Għatti kull plejt b'għatu u ħallat il-konjugat u tal-plażma/standards sew permezz ta' microplate shaker għal minuta. Evita li ttajjar.**

11. **Inkuba f'temperatura ambjentali ($22 \pm 5^\circ\text{C}$) għal 120 ± 5 minuti.**

Il-plejts m'għandhomx ikunu esposti għal xemx diretta waqt l-inkubazzjoni.

12. **Matul l-inkubazzjoni, iddilwixxi parti waħda ta' Wash Buffer 20x Konċentrat ma' 19-il parti ilma dejonizzat jew distillat u hawwad sew. Biżżejjed Wash Buffer 20x Konċentrat ġie pprovdut biex jithejjew 2 litri ta' wash buffer ta' qawwa biex taħdem bih.**

Aħsel it-toqob b'400 µl ta' wash buffer tas-saħħa tax-xogħol għal tal-inqas 6 ċikli f'ħassiel tal-mikroplatti. Huwa rakkomandat li tuża plate washer awtomatizzat.

Ħasil sew huwa importanti ħafna għall-prestazzjoni tal-assaġġ. Ara li kull toqba hija **mimlija kompletament** b'wash buffer għal kull ċiklu tal-ħasil. Rakkomandazzjonijiet: Lahlaħ it-toqob għal perjodu ta' mill-inqas 5 sekondi bejn kull ċiklu għall-aħjar riżultati.

Żid diżinfettant standard tal-laboratorju fir-riżerva tal-effluent u segwi l-proċeduri stabbiliti għad-dekontaminazzjoni ta' materjal potenzjalment infettiv.

13. Taptap il-plejts wiċċhom 'l isfel fuq xugaman assorbenti bi tniex biex tneħħi l-wash buffer li jkun fadal. Żid 100 µl Enzyme Substrate Solution f'kull toqba, għatti kull plejt b'għatu u ħallat sew bl-użu ta' microplate shaker.

14. Inkuba f'temperatura ambjentali ($22 \pm 5^{\circ}\text{C}$) għal 30 minuta.

Il-plejts m'għandhomx ikunu esposti għal xemx diretta waqt l-inkubazzjoni.

15. Wara l-inkubazzjoni, żid 50 µl ta' Enzyme Stopping Solution f'kull toqba u ħawwad sew billi tuża xejker tal-mikroplatti.

L-Enzyme Stopping Solution għandha tiddaħħal fit-toqob bl-istess mod u b'bejn wieħed u ieħor l-istess veloċità bħal dik użata meta żdiedet l-Enzyme Stopping Solution fil-pass 13.

16. Kejjel id-Densità Ottika (OD) fi żmien 5 minuti mill-waqfien tar-reazzjoni billi tuża qarrej tal-mikroplatti mgħammar b'filtru ta' 450 nm kif ukoll filtru ta' referenza ta' 620 sa 650 nm. Il-valuri OD jintużaw biex jiġu kkalkulati r-riżultati.

Kalkolazzjonijiet u Interpretazzjonijiet tat-Test

Il-QuantIFERON Monitor Analysis Software jintuża għall-analiżi tad-dejta mhux ipproċessata u l-kalkulazzjoni tar-riżultati. Dan huwa disponibbli minn www.QuantiFERON.com. Jekk jogħġbok iżgura li tuża l-verżjoni l-aktar reċenti tas-Softwer ta' Analizi tal-QuantIFERON Monitor.

Is-softwer iwettaq valutazzjoni ta' kontroll tal-kwalità tal-assaġġ, jiġġenera kurva standard, u jagħti riżultat tat-test għal kull suġġett, kif mogħti fid-dettall fis-sezzjoni Interpretazzjoni tar-Riżultati.

Jekk il-plażma mhux dilwita hija ogħla mill-medda superjuri (jiġifieri, >10 IU/ml) tal-QFM ELISA, is-Software ta' Analizi tal-QuantIFERON Monitor jirrapporta l-inqas dilwizzjoni li tiġġenera riżultat fi ħdan il-medda tal-QFM ELISA, filwaqt li jqis il-fattur ta' dilwizzjoni.

Bħala alternattiva għall-użu tal-QuantIFERON Monitor Analysis Software, ir-riżultati jistgħu jiġu stabbiliti skont il-metodu li ġej.

Ġenerazzjoni tal-Kurva Standard

(Jekk ma jintużax il-QuantIFERON Monitor Analysis Software)

Stabilixxi l-valuri medji OD tar-repliki tal-kit standard fuq kull plejt.

Fassal kurva standard $\log_{(e)}-\log_{(e)}$ billi tipplottja l- $\log_{(e)}$ tal-OD medji (y-axis) kontra l- $\log_{(e)}$ tal-konċentrazzjoni IFN- γ tal-istandards f'IU/ml (x-axis), u ħalli barra l-istandard żero minn dawn il-kalkulazzjonijiet. Ikkalkula l-linja li toqgħod l-aħjar għall-kurva standard permezz tal-analiżi tar-rigressjoni.

Uża l-kurva standard biex tiddetermina l-konċentrazzjoni tal-IFN- γ (IU/ml) għal kull kampjun tal-plażma tat-test, bl-użu tal-valur OD ta' kull kampjun.

Dawn il-kalkulazzjonijiet jistgħu jitwettqu bl-użu tal-pakketti ta' softwer disponibbli mal-microplate readers, u software standard tal-ispreadsheets jew statistiku (bħal Microsoft® Excel®). Huwa rrakkomandat li dawn il-pakketti jintużaw biex tikkalkula l-analiżi tar-rigressjoni, il-koeffiċjent tal-varjazzjoni (%CV) għall-istandards, u l-koeffiċjent ta' korrelazzjoni (r) tal-kurva standard.

Ir-riżultat irrapportat għandu jittieħed mill-inqas dilwizzjoni li tiġġenera riżultat fi ħdan il-medda tal-QFM ELISA (filwaqt li jitqies il-fattur ta' dilwizzjoni) jekk il-plażma mhux dilwita hija ogħla mill-medda tal-QFM ELISA.

Il-Kontroll tal-Kwalità tat-Test

Il-preċiżjoni tar-riżultati tat-test hija dipendenti fuq il-ġenerazzjoni ta' kurva standard preċiża. Għalhekk, ir-riżultati dderivati mill-istandards iridu jiġu eżaminati qabel ma r-riżultati tal-kampjuni tat-test jkunu jistgħu jiġu interpretati.

Sabiex ELISA tkun valida

- Il-valur medju OD għal Standard 1 għandu jkun ≥ 0.600 .
- Il-%CV għall-valuri OD replikati ta' Standard 1 u Standard 2 għandu jkun $\leq 15\%$.
- Il-valuri OD replikati għal Standard 3 u Standard 4 ma għandhomx ivarjaw b'aktar minn 0.040 unitajiet ta' densità ottika mill-medja tagħhom.
- Il-koeffiċjent ta' korrelazzjoni (r) ikkalkulat mill-valuri ta' assorbenza medji tal-istandards għandu jkun ≥ 0.98 .

Il-QuantIFERON Monitor Analysis Software jikkalkula u jirrapporta dawn il-parametri ta' kontroll tal-kwalità.

Jekk il-kriterji msemmija hawn fuq ma jintlaħqux, it-test ma jkunx validu u jrid jiġi ripetut.

Il-valur medju OD għall-Istandard Żero (Dilwent Aħdar) għandu jkun ≤ 0.150 . Jekk il-valur OD medju huwa > 0.150 , il-proċedura ta' ħasil tal-platti għandha tiġi investigata.

Interpretazzjoni tar-Riżultati

Ir-riżultati tal-QFM huma interpretati skont ir-rispons tal-IFN- γ għall-istimulanti immuni innati u adattivi. L-assaġġ QFM jipprovdi kemm kejl kwalitattiv kif ukoll kejl kwantitattiv tal-funzjoni immuni. Ir-riżultati tal-QFM jistgħu ma jikkwantifikawx direttament il-livell ta' suppressjoni immuni.

Importanti: Sabiex jiġi stabbilit l-istatus immuni ta' individwu, il-livell imkejjel ta' IFN- γ għandu jintuża flimkien mal-preżentazzjoni klinika, il-passat mediku, u evalwazzjonijiet djanjostiċi oħrajn (Tabella 2). Il-limitu tat-test tal-QFM jista' jvarja skont il-livell ta' immunosuppressjoni ta' suġġett u l-issettjar tat-trapjant individwali.

Tabella 2. Interpretazzjoni tar-Riżultati

IFN-γ (IU/ml) tar-riżultat tal-QFM	Klassifikazzjoni	Interpretazzjoni
< 15	Baxx	L-individwu għandu rispons baxx tal-IFN- γ għal stimulanti immuni innati u adattivi
15–1000	Moderat	L-individwu għandu rispons moderat tal-IFN- γ għal stimulanti immuni innati u adattivi
> 1000	Għoli	L-individwu għandu rispons għoli tal-IFN- γ għal stimulanti immuni innati u adattivi

Jekk il-livell imkejjel tal-IFN- γ ta' kampjun tal-plażma mhux dilwit huwa inqas minn 0.1 IU/ml:

- Ara li l-QFM LyoSphere żdiedet mal-kampjun tad-demem u li t-tubu ġie inkubat kif spjegat f'dan il-fuljett ta' tagħrif.
- Ara li r-riżultat tal-IFN- γ jikkorrispondi għall-istatus kliniku attwali tal-individwu.

Jekk ikollok suspett ta' problemi tekniċi fil-ġbir jew l-immanigġar tal-kampjuni tad-demem, erġa' ibda l-assaġġ tal-QFM s'ih b'kampjun ta' demem ġdid. Erġa' aġmel l-ittestjar ELISA tal-kampjuni tal-plażma stimolata jekk ikun hemm suspett li t-test oriġinali tbiegħed mill-proċedura spjegata f'dan il-fuljett ta' tagħrif (ara s-sezzjoni dwar il-Kontroll tal-Kwalità tat-Test għal iktar dettalji).

It-tabib jaf ikun jixtieq jerġa' jaġmel it-test jekk ir-riżultati ma jkunux konsistenti mal-istatus kliniku attwali tal-individwu.

Limitazzjonijiet

Ir-riżultati mill-ittestjar QFM iridu jintużaw flimkien mal-passat kliniku ta' kull individwu, l-istatus mediku attwali, u evalwazzjonijiet djanjostiċi oħrajn. Il-laboratorji jistgħu jagħzlu li jstabbilixxu l-meded tagħhom stess għall-assaġġ.

Il-laboratorji jistgħu jagħzlu wkoll li jużaw kampjun ta' kontroll estern miġbur minn individwu b'saħħtu b'mod parallel mal-kampjuni tal-pazjent.

Riżultati mhux affidabbli jew mhux preċiżi jistgħu jseħħu minħabba:

- Antikoagulant ħazin tad-demem — uża biss eparina tal-litju għaliex antikoagulanti oħrajn jinterferixxu mal-assaġġ.
- Devjazzjonijiet mill-proċedura deskritta fil-fuljett tal-pakkett.

- Livelli eċċessivi ta' IFN- γ li jiċċirkolaw jew il-preżenza ta' antikorpi eterofili.
- Aktar minn 8-il siegħa bejn it-teħid tal-kampjun tad-demmi u l-inkubazzjoni f'37°C.
- Mili nieqes jew żejjed tat-tubi tad-demmi QFM lil hinn mill-medda ta' 0.9 sa 1.1 ml.

Karatteristiċi tal-Prestazzjoni

Studji Kliniċi

Saru żewġ studji kliniċi biex jiġu evalwati r-risponsi tal-individwi li jidhru b'saħħithom (n = 114) meta mqabbel mar-reċipjenti ta' trapjant (n = 30). Mir-reċipjenti ta' trapjant, 18 kienu fil-koorta f'fażi bikrija ta' wara trapjant (f'Fażi Bikrija ta' Wara Tx, fi żmien 3 xhur mit-trapjant) u 12 kienu fil-koorta f'fażi tardiva ta' wara trapjant jew stabbli (f'Fażi Tardiva ta' Wara Tx, > 12-il xhur mit-trapjant).

- Il-kampjuni ngabru f'sa 5 punti taż-żmien minn kull individwu f'Fażi Bikrija ta' Wara Tx (koorta ta' 3 xhur wara trapjant, n = 64 kampjun).
- Il-kampjuni ngabru darba minn kull individwu f'Fażi Bikrija ta' Wara Tx (koorta f'fażi tardiva ta' Wara Tx, n = 12-il kampjun)
- Il-kampjuni ngabru darba minn kull individwu fil-koorta li tidher b'saħħitha (n = 114)

Ir-risponsi għall-QFM varjaw bejn baxxi u moderati kemm fil-kampjuni f'Fażi Bikrija ta' Wara Tx kif ukoll fil-kampjuni f'Fażi Tardiva ta' Wara Tx. Il-pazjenti f'Fażi Bikrija ta' Wara Tx kellhom perċentwal ogħla (93.8%) ta' risponsi fil-medda baxxa, u perċentwal inqas ta' risponsi (6.3%) fi ħdan il-medda moderata meta mqabblin mar-risponsi mill-Fażi Tardiva ta' Wara Tx, b'25% tar-risponsi fil-medda baxxa u 66.7% fil-medda moderata (Tabella 3). Ma kien hemm ebda rispons mill-Fażi Bikrija ta' Wara Tx fil-medda ta' rispons għoli, filwaqt li 1 biss (8.3%) fil-Fażi Tardiva ta' Wara Tx kien fil-medda ta' rispons għoli. Ir-risponsi tal-QFM fil-koorta li tidher b'saħħitha kienu primarjament fil-medda moderata (83.3%) u l-medda ta' rispons għoli (15.8%) (Tabella 3).

Tabella 3. Medda ta' rispons tal-QFM f'individwi li jidhru b'saħħithom meta mqabbel ma' pazjenti li jkunu rċevew trapjant

IFN- γ (IU/ml)	Kategorija tar-rizultati	-fil-Faži Bikrija ta' Wara Tx %* 95% CI n	-fil-Faži Tardiva ta' Wara Tx %* 95% CI n	Jidhru b'Saħħithom %* 95% CI n	Rizultati totali
< 15	Baxx	93.8% 85.0–97.5 n = 60	25.0% 8.9–53.2 n = 3	0.9% 0.2–4.8 n = 1	64
15–1000	Moderat	6.3% 2.5–15.0 n = 4	66.7% 39.1–86.2 n = 8	83.3% 75.4–89.1 n = 95	107
> 1000	Għoli	0.0% 0–5.7 n = 0	8.3% 1.5–35.4 n = 1	15.8% 10.2–23.6 n = 18	19
Kampjuni totali		64	12	114	190

* Il-perċentwali jindikaw is-sehem ta' kampjuni fi ħdan kull koorta donatrici li jaqa' fi ħdan il-medda ta' risponsi partikolari.

Valuri Mistennija

Id-distribuzzjoni tar-risponsi tal-IFN- γ għal QFM f'pazjenti fil-fażi bikrija ta' wara trapjant (sa 3 xhur wara trapjant) ġiet stabbilita minn 64 kampjun miġbur minn 18-il reċipjent ta' trapjant bl-użu tal-QFM ELISA (Figura 3).

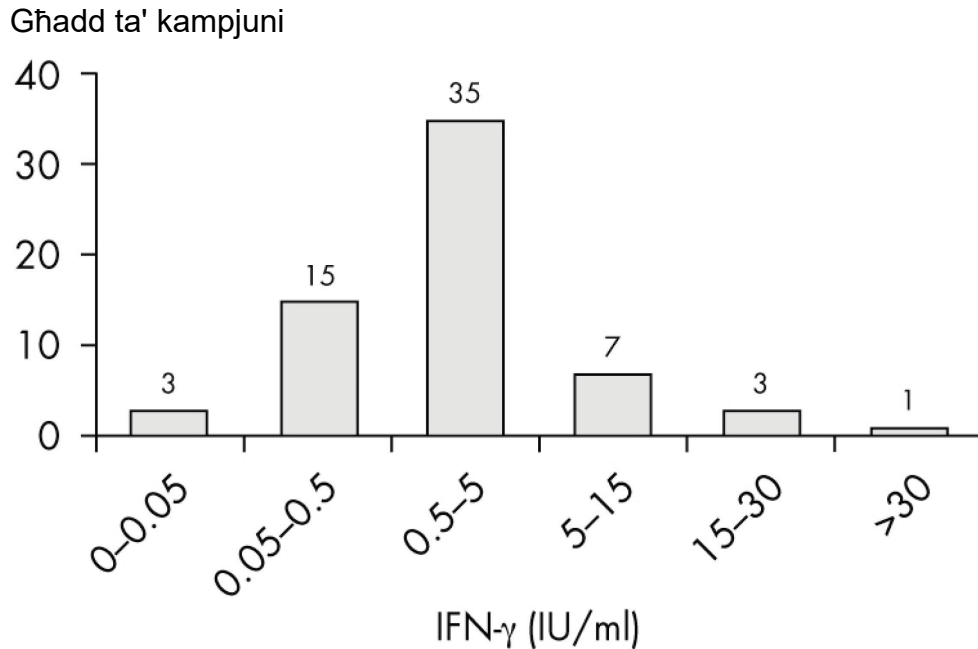


Figura 3. Distribuzzjoni tar-risponsi tal-IFN- γ għal QFM f'pazjenti fil-fażi bikrija ta' wara trapjant (n = 64; medjana = 1.5 IU/ml).

Id-distribuzzjoni tar-risponsi tal-IFN- γ għal QFM f'pazjenti fil-fażi tardiva ta' wara trapjant (> 12-il xhur wara trapjant) ġiet stabbilita minn 12-il kampjun bl-użu tal-QFM ELISA (Figura 4).

Għadd ta' kampjuni

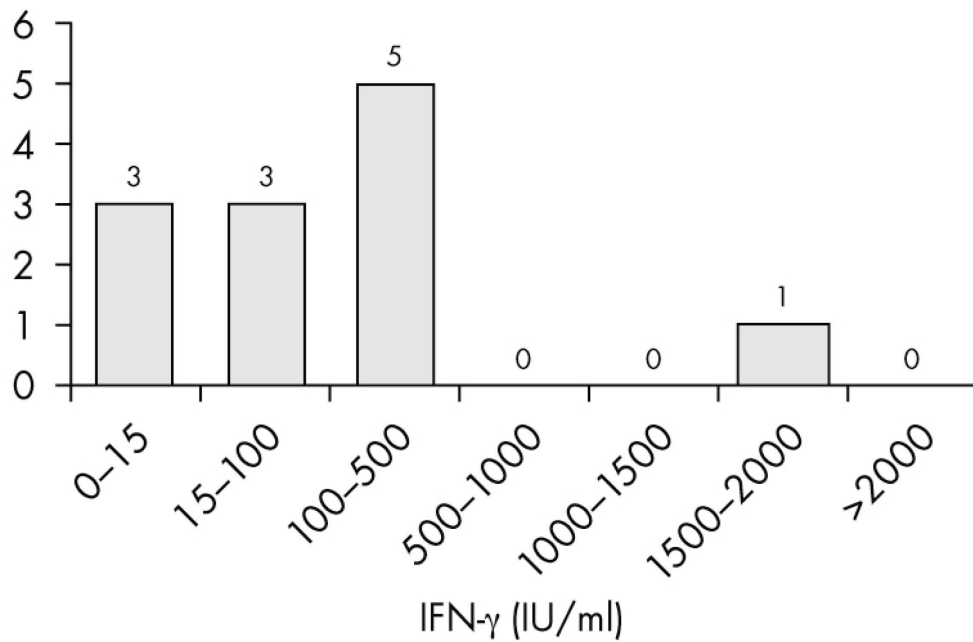


Figura 4. Id-distribuzzjoni tar-risponsi tal-IFN- γ għal QFM f'pazjenti fil-fażi tardiva ta' wara trapjant (n = 12; medjana = 98.8 IU/ml).

Id-distribuzzjoni tar-risponsi tal-IFN- γ għal QuantiFERON Monitor f'individwii li jidhru b'saħħithom giet stabbilita minn 114-il kampjun bl-użu tal-QFM ELISA (Figura 5).

Għadd ta' kampjuni

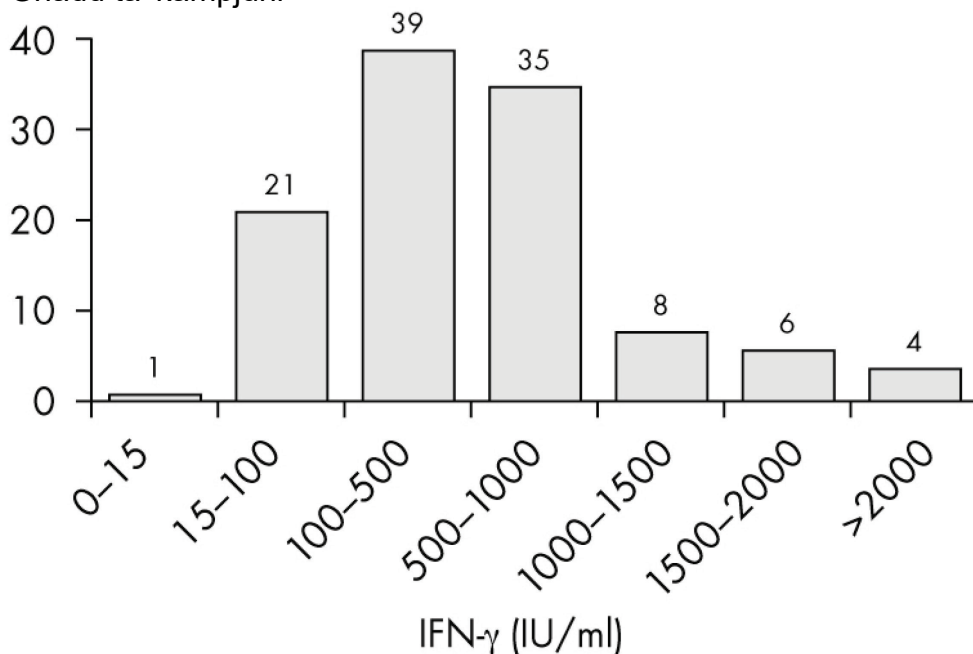


Figura 5. Distribuzzjoni tar-risponsi tal-IFN- γ għall-QFM f'individwii li jidhru b'saħħithom (n = 114; medjana = 400.5 IU/ml).

Ir-risponsi għall-QFM f'pazjenti tat-trapjant ta' organi solidi

Il-QFM ġie evalwat fi studju trażversali osservazzjonali ta' pazjenti tat-trapjant ta' organi solidi (4). L-istudju inkluda: 212-il individwu b'saħħithom b'sottogrupp ta' 30 kontroll imqabblin skont l-età u s-sess, 30 pazjent qabel trapjant, 18-il pazjent f'fażi bikrija ta' wara trapjant (66 kampjun; żmien medju wara trapjant = 21 jum), u 11-il pazjent f'fażi tardiva ta' wara trapjant (żmien medjan wara trapjant = 2290 jum). Il-produzzjoni medjana tal-IFN- γ kienet ta' 555.2 IU/ml f'kontrolli b'saħħithom, u 614.6 IU/ml f'kontrolli mqabblin skont l-età u s-sess. Intwera li l-produzzjoni medjana ta' IFN- γ kienet ferm inqas kemm fil-pazjenti qabel trapjant (IFN- γ = 89.3 IU/ml) kif ukoll f'dawk f'fażi bikrija ta' wara trapjant (IFN- γ = 3.76 IU/ml) meta mqabbel mal-kontrolli mqabblin skont l-età u s-sess ($p < 0.001$). Ġie osservat restawr tal-funzjoni immuni fil-pazjenti f'fażi tardiva ta' wara trapjant (IFN- γ medjana = 256.1 IU/ml) u ntweraw li dan huwa ferm ogħla milli fil-pazjenti f'fażi bikrija ta' wara trapjant ($p < 0.05$). Dan l-istudju jindika li QFM jista' jintuża biex tiġi vvalutata l-funzjoni immuni medjata miċ-ċelloli fil-popolazzjoni immunosuppressata tat-trapjant ta' organi solidi.

Karatteristiċi ta' Prestazzjoni tal-Assaġġ

Il-QFM ELISA ntweriet li hija lineari billi tqiegħed 5 replikati ta' 11-il kollezzjoni ta' plażma ta' konċentrazzjonijiet magħrufa ta' IFN- γ b'mod każwali fuq il-plejt tal-ELISA. Il-linja ta' rigressjoni lineari għandha inklinazzjoni ta' 1.002 ± 0.011 u koeffiċjent ta' korelazzjoni ta' 0.99 (Figura 6).

Il-limitu tad-detezzjoni tal-QFM ELISA huwa ta' 0.065 IU/ml, u m'hemm ebda evidenza ta' effett ganċ minħabba doża għolja (prozone) b'konċentrazzjonijiet ta' IFN- γ sa 10,000 IU/ml.

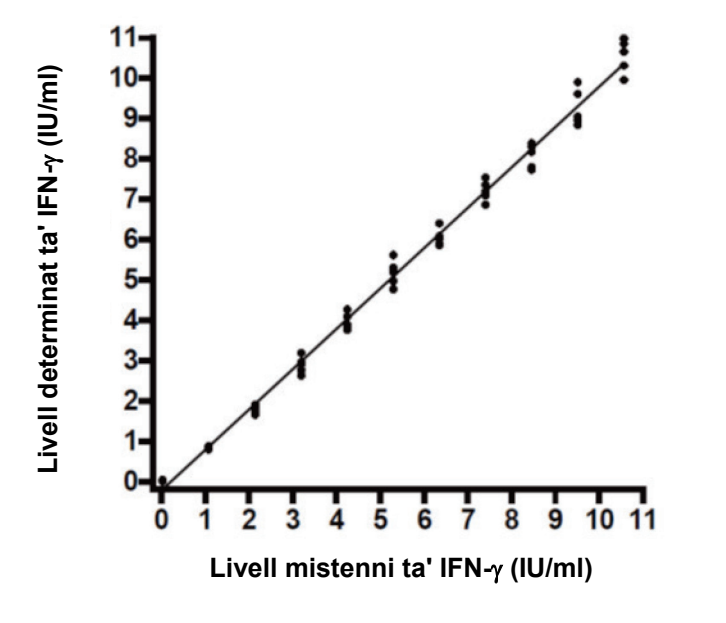


Figura 6. Profil ta' linearità ta' QFM ELISA li sar billi ġew testjati 5 replikati ta' 11-il kollezzjoni ta' plażma ta' konċentrazzjonijiet magħrufa ta' IFN- γ .

Ir-riproducibbiltà tal-assaġġ QFM (Stadju 1) ġiet stabbilita billi ntuzaw kampjuni tad-demmm minn 20 individwu b'saħħithom. Ġew ivvalutati tliet operaturi, lottijiet ta' QFM LyoSphere, u settijiet ta' tagħmir differenti. Il-koeffiċjent medju ta' varjazzjoni tal-livelli ta' rispons tal-IFN- γ stabbilit bl-użu tal-QFM ELISA fost it-tliet lottijiet kollha tal-QFM LyoSpheres u t-tliet kundizzjonijiet kollha ttestjati kien ta' 22.22% (95% CI: 17.20–27.25).

Ir-repetibbiltà tal-assaġġ QFM (Stadju 1) ġiet ivvalutata bil-kejl tal-varjabbiltà ta' 5–6 stimolazzjonijiet ripetuti tad-demmm bi QFM LyoSphere fl-istess donatur fost 14-il individwu. Il-koeffiċjent medju ta' varjazzjoni fost l-14-il individwu ttestjati kien ta' 14.7% (95% CI: 10.2–19.2). Il-%CV tal-pazjenti individwali kien inqas minn 30%.

Ir-riproducibbiltà tal-QFM ELISA (Stadju 2) ġie stmat billi ġew ittestjati 20 kampjun tal-plażma b'konċentrazzjonijiet tal-IFN- γ li varjaw f'replikati ta' 3, fi 3 laboratorji, fi 3 ijiem mhux konsekuttivi, minn 3 operaturi. Għalhekk kull kampjun kien ittestjat 27 darba, f'9 ċikli ta' analiżi indipendenti. Kampjun wieħed kien kontroll nil u kellu konċentrazzjoni kkalkulata ta' IFN- γ ta'

0.08 IU/ml (95% CI: 0.07–0.09). Mid-19-il kampjun tal-plażma li jifdal, il-medda ta' konċentrazzjonijiet kienet ta' 0.33 (95% CI: 0.31–0.34) sa 7.7 IU/ml (95% CI: 7.48–7.92).

Impreċiżjoni fi ħdan ċiklu jew fi ħdan assaġġ kienet stmata billi ttieħdet il-medja tal-%CVs għal kull plażma tat-test li kien fih IFN- γ minn kull ċiklu tal-plejt (n = 9), u l-impreċiżjoni kienet tvarja minn 4.1 sa 9.1 %CV. Il-medja fi ħdan ċiklu ta' %CV (\pm 95% CI) kienet $6.6 \pm 0.6\%$. Il-medja tal-IFN- γ fil-plażma żero kienet 14.1 %CV.

L-impreċiżjoni totali jew bejn l-assaġġi ġiet stabbilita billi tqabblu s-27 konċentrazzjoni kkalkolata tal-IFN- γ għal kull kampjun ta' plażma. L-impreċiżjoni bejn assaġġi varjat minn 6.6 sa 12.3 %CV. Il-medja globali ta' %CV (\pm 95% CI) kienet ta' $8.7 \pm 0.7\%$. L-IFN- γ fil-plażma żero kellha medja ta' 26.1 %CV. Dan il-livell ta' varjazzjoni għandu jkun mistenni minħabba li l-konċentrazzjoni kkalkolata ta' IFN- γ hija baxxa u l-varjazzjoni madwar stima baxxa ta' konċentrazzjoni tkun akbar minn dik għal konċentrazzjonijiet ogħla.

Informazzjoni Teknika

Kampjuni tal-plażma bl-emboli

Jekk iseħħu emboli tal-fibrina mal-ħżin fit-tul tal-kampjuni tal-plażma, iċċentrifuga l-kampjuni sabiex twaqqa' l-emboli u tiffaċilita l-ippipettar tal-plażma.

Gwida għal Troubleshooting

Din il-gwida ta' meta jinqalgħu problemi tista' tkun utli biex issolvi problemi li jistgħu jinholqu. Għal aktar tagħrif, ara wkoll l-informazzjoni teknika pprovduta fuq: www.QuantiFERON.com. Għal informazzjoni tal-kuntatt, ara l-qoxra ta' wara.

Problemi li Jistgħu Jinqalgħu b'ELISA

Żvilupp ta' kulur mhux speċifiku

Kawża possibbli	Soluzzjoni
a) Hasil mhux komplut tal-plejt	Aħsel il-plejt tal-anqas 6 darbiet b'400 µl/toqba ta' bafer ta' tlaħliħ. Aktar minn 6 ċikli ta' tlaħliħ jistgħu jkunu meħtieġa skont il-washer li jkun qed jintuża. Huwa rrakkomandat perjodu ta' tlaħliħ ta' mill-inqas 5 sekondi bejn kull ċiklu.
b) Kontaminazzjoni inkroċjata tat-toqob ta' ELISA	Oqgħod attent meta tippipetta u tħallat il-kampjun sabiex tnaqqas ir-riskji.
ċ) Il-kitt/komponenti huma skaduti	Iżgura li l-kitt jintuża qabel id-data ta' skadenza. Iżgura li l-istandard rikostitwit u l-Konjugat 100× Konċentrat jintużaw fi żmien 3 xhur mid-data ta' rikostituzzjoni.
d) Is-Soluzzjoni tas-Substrat tal-Enzima hija kkontaminata	Armi s-substrat jekk ikun hemm kolorazzjoni blu. Iżgura li jintużaw reċipjenti tar-reagenti nodfa.
e) Taħlit tal-plażma fit-tubi tal-QFM qabel il-ħsad	Wara ċ-ċentrifugazzjoni, evita li tippipetta 'l fuq jew 'l isfel jew tħallat il-plażma b'xi mod ieħor qabel il-ħsad. Fi kwalunkwe ħin, oqgħod attent/a li ma tiddisturbax materjal fuq il-wiċċ tal-ġell.

Standards b'valuri baxxi għad-densità ottika

Kawża possibbli	Soluzzjoni
a) Żball fid-dilwizzjoni tal-Istandard	Iżgura li d-dilwazzjonijiet tal-kitt standard jiġu preparati korrettament skont dan il-fuljett tal-pakkett.
b) Żball fl-ippipettar	Iżgura li l-pippetti jkunu kkalibrati u jintużaw skont l-istruzzjonijiet tal-manifattur.
ċ) Temperatura tal-inkubazzjoni baxxa wisq	L-inkubazzjoni ta' ELISA għandu jsir f'temperatura ambjentali tal-kamra (17°C sa 27°C).

Problemi li Jistgħu Jinqalġu b'ELISA

- d) Perjodu ta' inkubazzjoni qasir wisq Inkuba l-platt bil-konjugat, l-istandards u l-kampjuni għal 120 ± 5 minuti. Inkuba s-Soluzzjoni tas-Substrat tal-Enżima fuq il-platt għal 30 minuta.
- e) Intuża filtru tal-plate reader żbaljat Il-plejt għandu jinqara f'450 nm b'filtru ta' referenza ta' bejn 620 u 650 nm.
- f) Ir-reagenti huma keshin wisq Ir-reagenti kollha, bl-eċċezzjoni tal-Konjugat 100× Konċentrat, għandhom jinġibu f'temperatura ambjentali qabel jinbeda l-assaġġ. Dan jieħu madwar siegħa.
- g) Il-kitt/komponenti huma skaduti Iżgura li l-kitt jintuża qabel id-data ta' skadenza. Iżgura li l-istandard rikostitwit u l-Konjugat 100× Konċentrat jintużaw fi żmien 3 xhur mid-data ta' rikostituzzjoni.

Sfond għoli

Kawża possibbli

Soluzzjoni

- a) Fasil mhux komplut tal-plejt Aħsel il-plejt tal-anqas 6 darbiet b'400 µl/toqba ta' bafer ta' tlaħliħ. Aktar minn 6 ċikli ta' tlaħliħ jistgħu jkunu meħtieġa skont il-washer li jkun qed jintuża. Huwa rrakkomandat perjodu ta' tlaħliħ ta' mill-inqas 5 sekondi bejn kull ċiklu.
- b) Temperatura tal-inkubazzjoni għolja wisq L-inkubazzjoni tal-ELISA għandu jsir f'temperatura ambjentali tal-kamra (17 sa 27°C).
- ċ) Il-kitt/komponenti huma skaduti Iżgura li l-kitt jintuża qabel id-data ta' skadenza. Iżgura li l-istandard rikostitwit u l-Konjugat 100× Konċentrat jintużaw fi żmien tliet xhur mid-data ta' rikostituzzjoni.
- d) Is-Soluzzjoni tas-Substrat tal-Enzima hija kkontaminata Armi s-substrat jekk ikun hemm kolorazzjoni blu. Iżgura li jintużaw reċipjenti tar-reagenti nodfa.

Problemi li Jistgħu Jinqalghu b'ELISA

Kurva standard mhux lineari u varjabilità fid-duplikati

Kawża possibbli	Soluzzjoni
a) Hasil mhux komplut tal-plejt	Aħsel il-plejt tal-anqas 6 darbiet b'400 µl/toqba ta' bafer ta' tlaħliħ. Aktar minn 6 ċikli ta' tlaħliħ jistgħu jkunu meħtieġa skont il-washer li jkun qed jintuża. Huwa rrakkomandat perjodu ta' tlaħliħ ta' mill-inqas 5 sekondi bejn kull ċiklu.
b) Żball fid-dilwizzjoni tal-istandard	Iżgura li d-dilwazzjonijiet tal-istandard jiġu preparati korrettament skont dan il-fuljett tal-pakkett.
ċ) Taħlit mhux tajjeb	Ħallat ir-reagenti sew billi taqlibhom rashom 'l isfel jew b'movimenti qosra rotatorji qabel ma żżidhom mal-plejt.
d) Teknika ta' pippettar inkonsistenti jew interruzzjoni matul il-preparazzjoni tal-assaġġ	Iż-żieda tal-kampjuni u l-istandard għandha titwettaq f'mod kontinwu. Ir-reagenti kollha għandhom jithejjew qabel jinbeda l-assaġġ.

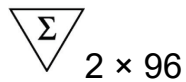
L-informazzjoni dwar il-prodott u l-gwidi tekniċi huma disponibbli mingħajr ħlas minn QIAGEN, permezz tad-distributur tiegħek, jew billi żżur www.QuantiFERON.com.

Referenzi

Lista komprensiva tar-referenzi għall-QFM tinsab fuq Gnowee — il-librerija ta' referenza ta' QuantiFERON, disponibbli fuq 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



Suffiċjenti għal 2 × 96 preparazzjoni



Manifattur legali



Simbolu mmarkat b'CE-IVD



Għal użu dijanjostiku in vitro



Kodiċi tal-lott



Numru tal-katalogu



Uża sad-data



Limitazzjoni tat-temperatura



Ikkonsulta l-istruzzjonijiet għall-użu



Tergax tuża



Żomm 'il bogħod mid-dawl tax-xemx



Rappreżentant awtorizzat fil-Komunità Ewropea

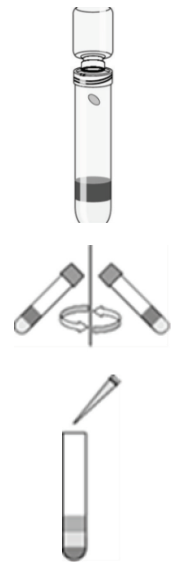
Informazzjoni ta' Kuntatt

Għal assistenza teknika u aktar informazzjoni, jekk jogħġbok ċempel fuq in-numru tat-telefown bla ħlas 00800-22-44-6000, żur iċ-Ċentru ta' Appoġġ Tekniku tagħna www.qiagen.com/contact jew ikkuntattja wieħed mid-Dipartimenti ta' Servizz Tekniku ta' QIAGEN (ara l-qoxra ta' wara jew żur www.qiagen.com).

Proċedura tat-Test fil-Qosor

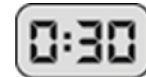
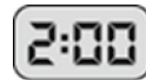
Stadju 1 — inkubazzjoni tad-demm

1. Iġbor id-demm tal-pazjent f'Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM jew f'tubu tal-ġbir tad-demm tal-eparina tal-litju. Waħħal tikketta fuq it-tubi bid-dettalji tal-pazjent u l-ħin tal-ġbir tad-demm, u mbagħad ħudhom fil-laboratorju f'temperatura ambjentali fi żmien 8 sigħat mill-ġbir.
 - a. Jekk id-demm inġabar f'tubu tad-demm tal-eparina tal-litju, 1 ml ta' demm tal-alikwota f'Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM u waħħal tikketta fuq it-tubi bid-dettalji tal-pazjent u l-ħin tal-ġbir tad-demm
2. Żid QFM LyoSphere waħda f'kull Tubu tal-Ġbir tad-Demm QFM li fih 1 ml ta' demm, ħalli LyoSphere tinħall, u mbagħad inkuba t-tubi malajr kemm jista' jkun (fi żmien 8 sigħat mill-ġbir tad-demm) **wiqfin** għal 16–24 siegħa f'37°C.
3. Wara l-inkubazzjoni, iċċentrifuga t-tubi għal 15-il minuta f'2000 sa 3000 × g (RCF) biex tissepara l-plażma u ċ-ċelloli ħomor.
4. Wara ċ-ċentrifugazzjoni, evita li tippipetta 'l fuq jew 'l isfel jew tħallat il-plażma b'xi mod ieħor qabel il-ħsad. Fi kwalunkwe ħin, oqgħod attent/a li ma tiddisturbax materjal fuq il-wiċċ tal-ġell.



Stadju 2 — IFN- γ ELISA

1. Ekwilibra l-komponenti ta' ELISA, minbarra l-Konjugat 100 \times Konċentrat, f'temperatura ambjentali għal mill-inqas 60 minuta.
2. Ikkostitwixxi mill-ġdid l-istandard tal-kitt għal 8.0 IU/ml b'ilma distillat jew dejonizzat. Ipprepara 4 dilwizzjonijiet tal-istandard.
3. Irrikostitwixxi l-Konjugat 100 \times Konċentrat imnixxef bl-iffriżar b'ilma distillat jew dejonizzat.
4. Ipprepara l-konjugat b'qawwa li s-soltu taħdem biha fid-Dilwent Aħdar u žid 50 μ l fit-toqob kollha.
5. Žid 50 μ l kampjuni tal-plażma tat-test (dilwizzjonijiet mhux dilwiti ta' 1:10 u 1:100 kif xieraq) u 50 μ l standards fit-toqob xierqa. Ħallat bix-shaker.
6. Inkuba f'temperatura ambjentali għal 120 ± 5 minuti.
7. Aħsel il-plejt tal-anqas 6 darbiet b'400 μ l/toqba tal-wash buffer.
8. Žid 100 μ l Soluzzjoni ta' Substrat tal-Enzimi ġot-toqob. Ħallat bix-shaker.
9. Inkuba għal 30 minuta f'temperatura ambjentali.
10. Žid 50 μ l Soluzzjoni li Twaqqaf l-Enzima fit-toqob kollha. Ħallat bix-shaker.
11. Aqra r-riżultati f'450 nm b'filtru ta' referenza ta' bejn 620 u 650 nm.
12. Analizza r-riżultati.



Noti

Bidliet Konsiderevoli

Il-bidliet konsiderevoli f'din l-edizzjoni tal-QuantIFERON Monitor® (QFM®) ELISA Fuljett ta' Tagħrif fil-Pakkett huma miġbura fil-qosor fit-tabella ta' hawn taħt:

Taqsuma	Paġna	Bidla(iet)
Prekawzjonijiet	11	Informazzjoni ġdida dwar GHS
Prekawzjonijiet	12	Istruzzjonijiet dwar is-sigurtà miżjuda relatati ma' kunjetti li għandhom kapep li jitgeżwru mal-flixxun.

Marki kummerċjali: QIAGEN®, QFM®, QuantiFERON®, QuantiFERON Monitor® (Grupp QIAGEN); LyoSphere™, LyoSpheres™ (BioLymph); Excel®, Microsoft® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.).

Ftehim fuq Liċenzja Limitata għal QuantiFERON Monitor Kit

L-użu ta' dan il-prodott ifisser il-qbil ta' kull xerrej jew utent tal-prodott għall-patti li ġejjin:

1. Il-prodott jista' jintuża biss b'mod konformi mal-protokollu provduti mal-prodott u dan il-manwal u għall-użu b'komponenti li jinsabu fil-kitt biss. QIAGEN ma tippovdi l-ebda liċenzja taht l-ebda proprjetà intelletwali tagħha għall-użu jew inkorporazzjoni tal-komponenti meħmuża f'dan il-kitt ma' komponenti oħra mhux inkluzi fi h'dan dan il-kitt kif deskritt fil-protokollu provduti mal-prodott, dan il-manwal, u protokollu addizzjonali provduti disponibbli fuq www.qiagen.com. Xi wħud minn dawn il-protokollu addizzjonali ġew provduti minn utenti ta' QIAGEN għal utenti ta' QIAGEN. Dawn il-protokollu ġew ittestjati b'mod sħiħ jew ġew ottimizzati minn QIAGEN. QIAGEN la tigarantihom u lanqas ma tigarantixxi li ma jiksru id-drittijiet ta' terzi.
2. Għajr għal liċenzji ddikjarati b'mod espliċitu, QIAGEN ma tigarantixxi li dan il-kitt u/jew l-utent(i) tiegħu ma jiksru id-drittijiet ta' terzi.
3. Dan il-kitt u l-komponenti tiegħu huma liċenzjati għal użu ta' darba biss u ma jstgħix jiġu użati mill-ġdid, jiġu arrangati mill-ġdid jew mibjugħa mill-ġdid.
4. QIAGEN tiċhad speċifikament kwalunkwe liċenzja oħra, espressa jew impliċita minbarra dawk iddikjarati espressament.
5. Ix-xerrej u l-utent tal-kitt jaqblu li ma jiħdux u ma jippermettux lil haddieħor jieħu passi li jstgħu jwasslu għal jew jiffacilitaw kwalunkwe att li huwa pprobit hawn fuq. QIAGEN tista' tinforza l-projbizzjonijiet ta' dan il-Ftehim dwar Liċenzja Limitata fi kwalunkwe Qorti, u għandha tirkupra kull spiża investigattiva u tal-Qorti, li tinkludi l-hlasijiet għal avukati fi kwalunkwe azzjoni sabiex jiġi inforzat dan il-Ftehim dwar il-Liċenzja Limitata jew kwalunkwe wieħed mid-drittijiet ta' proprjetà intelletwali marbuta mal-kitt u/jew xi komponent minn tiegħu.

Għal patti aġġornati tal-liċenzja, ara www.qiagen.com.

© 2014 QIAGEN, id-drittijiet kollha riservati.

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

