

# QuantiFERON Monitor<sup>®</sup>(QFM<sup>®</sup>) ELISA 제품 첨부 설명서 $\nabla_{\Sigma}$ 2 x 96

선천적 및 적응 면역 자극제에 대한 반응을 측정하는 전혈

IFN- $\gamma$  검사

버전 1

**IVD** 체외 진단용

**CE**

**REF** 0650-0201



QIAGEN, 19300 Germantown Road  
Germantown, MD 20874 USA

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

1079024KO 개정 01 판

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





## 목차

용도	4
검사 요약 및 설명	4
분석항목의 원리	5
분석항목을 수행하는 데 필요한 시간	6
구성요소 및 보관	7
필요하지만 제공되지 않는 재료	9
보관 및 취급	9
경고 및 사전 주의사항	11
경고	11
사전 주의사항	12
시료 수집 및 취급	14
계산 및 검사 해석	25
표준 곡선의 생성	25
검사의 품질 관리	26
결과 해석	26
제한 사항	28
성능 특징	28
임상 연구	28
분석항목 성능 특징	33
기술 정보	34
응고된 혈장 검체	34
문제 해결 가이드	35
참고 문헌	38
기호	39
연락처 정보	39
검사 절차 요약	40

## 용도

QuantiFERON Monitor 분석항목(QFM)은 선천적 및 적응 면역 반응 자극제로 헤파린 처리된 전혈을 배양한 후 효소결합면역흡착측정법(Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA)에 의한 인터페론 감마(Interferon Gamma, IFN- $\gamma$ )의 측정을 통해 세포 매개 면역 기능을 탐지하기 위한 체외 진단 검사입니다. 이 분석항목은 면역 반응이 억제된 고형 장기 이식 집단의 세포 매개 면역 반응을 검출하는 데 사용됩니다.

QFM 은 위험 평가 및 기타 의학적 및 진단 평가와 함께 사용하도록 고안되었습니다.

## 검사 요약 및 설명

면역결핍증은 면역 반응을 효과적으로 시작할 수 있는 능력이 저하되는 것이 특징입니다. 이러한 저하 또는 부재 반응은 일차 또는 후천성(이차) 면역결핍증으로 인한 결과일 수 있습니다(1).

일차 면역결핍증은 유전적으로 물려받으며 적응 또는 선천적 면역 체계의 특정 요소가 결핍된 것이 특징입니다(1). 하지만, 대부분의 면역결핍증은 후천성(이차)이며 병원체, 약물(예: 장기 이식 후의 면역억제 치료), 질병 상태(예: 백혈병 및 림프종 등의 암) 또는 환경 오염물질에 의해 유발될 수 있습니다(1).

면역결핍증의 분자 기반은 다양하지만 세포 매개 면역성은 수많은 관찰된 임상적 징후를 유발하는 데 있어 주요한 역할을 합니다. 현재로서는 면역결핍 증후군의 진단 및 관리는 원인의 주체에 따라 다릅니다(2, 3).

예를 들어, 고형 장기 이식(Solid Organ Transplants, SOT)을 받은 후 면역 체계를 억제하는 약물을 처방받은 대상자의 세포 면역결핍 상태를 모니터링하는 하는 경우에는 즉석 관리가 일반적입니다. 대상자의 면역 반응의 상태는 일반적으로 약리학적 약물 수치 및 이식 기능의 임상적/병리적 평가에 의해 측정됩니다(2, 3).

다수의 T 세포 기능 검사는 식물성적혈구응집소(Phytohemagglutinin, PHA), 역새풀 분열제, 콘카나발린 A(Concanavalin A, ConA) 등의 미토겐에 대한 세포 매개 면역을 측정합니다. 그러나 이러한 검사는 T 세포의 기능적 능력을 측정할 뿐이며 세포 매개 면역에 관여하는 세포의 하위 집합입니다. 선천적 면역 기전이 단독 역할을 통해 또는 특정 T 세포 반응을 개선하여 숙주 방어에 크게 기여한다는 사실이 점점 더 명확해지고 있습니다. 따라서 선천적(자연살해 [Natural Killer, NK] 세포) 및 적응(T 세포) 면역 세포의 기능적 반응을 함께 조합하면 세포 매개 면역에 대한 더욱 종합적인 분석항목이 형성됩니다(2, 3).

QFM은 선천적 및 적응 면역 체계 모두에 관여하는 서로 다른 세포 종류를 구체적으로 자극하는 여러 조합의 자극제(LyoSphere™ 펠릿 형태)를 사용하는 체외 진단 검사입니다. 대상자의 기능적 면역 상태는 톨 유사 수용체(Toll Like Receptor, TLR) 및 T 세포 수용체(T-Cell Receptor, TCR) 작용제로 각각 선천적 및 적응 면역 체계의 자극에 대한 반응을 측정하여 평가합니다. ELISA에 의한 인터페론 감마(IFN- $\gamma$ )의 검출은 세포 매개 면역 기능의 정성적 및 정량적 측정을 모두 제공합니다.

## 분석항목의 원리

QFM 분석항목은 헤파린 처리된 전혈에 추가되는 동결건조 자극제(QFM LyoSpheres™)를 사용합니다. 혈액을 16-24 시간 동안 배양한 후, 혈장을 수확하여 자극제에 반응하여 생성된 IFN- $\gamma$ 의 존재 여부에 대해 검사합니다.

QFM 검사는 단계식으로 수행합니다. 첫째, 전혈을 QFM Blood Collection Tubes에 수집합니다. 그 다음, QFM LyoSphere를 튜브에 추가한 후 이를 채혈 8 시간 이내에 최대한 빨리 37°C에서 배양합니다. 16-24 시간의 배양 기간 후, 튜브를 원심분리하고 혈장을 제거한 다음, IFN- $\gamma$ 의 양을 ELISA로 측정하고 (ml 당 국제 단위(IU/ml)로 보고), 예상값의 범위를 비교하여 대상자의 면역 반응을 측정합니다.

QFM은 면역 기능의 정성적 및 정량적 측정을 모두 제공하는 분석항목입니다. QFM 결과는 면역 억제 수준을 직접적으로 정량화하지 않을 수 있습니다.

혈장 검체 내 IFN- $\gamma$ 의 양은 흔히 대부분의 ELISA 리더의 상한보다 높을 수 있으며, 중등도로 면역억제 상태인 개인의 경우에도 마찬가지입니다. 혈장 검체는 그린 희석제로 10 분의 1 및/또는 100 분의 1 로 희석하고, 희석되지 않은 혈장과 함께 ELISA 에서 분석하는 것이 권장됩니다.

참고: QFM 분석항목의 임계값은 대상자의 면역억제 수준 및 개인별 이식 상황에 따라 달라질 수 있습니다.

QFM 결과를 해석하는 방법에 대한 간략한 설명은 이 제품 첨부 설명서 26 페이지의 "결과 해석"을 참고하십시오.

## 분석항목을 수행하는 데 필요한 시간

QFM 분석항목을 수행하는 데 필요한 예상 시간은 아래와 같습니다. 배치로 여러 검체를 검사하는 데 걸리는 시간도 표시되어 있습니다.

혈액 튜브의 37°C 배양: 16-24 시간

ELISA: 하나의 ELISA 플레이트에 대해 약 3 시간(최대 88 개 검체)  
1 시간 미만 노동  
여분의 각 플레이트에 10-15 분 추가

## 구성요소 및 보관

QuantiFERON Monitor LyoSpheres	
카탈로그 번호	0650-0701
준비 수	10
QuantiFERON Monitor LyoSpheres	
	바이알 10 개
<i>QuantiFERON Monitor LyoSpheres 제품 첨부 설명서</i>	
	1
QuantiFERON Monitor Blood Collection Tubes	
카탈로그 번호	0650-0101
준비 수	100
QuantiFERON Monitor Blood Collection Tubes(흰색 캡, 흰색 링)	
	튜브 100 개
<i>QuantiFERON Monitor Blood Collection Tubes 패키지 인서트</i>	
	1

QuantiFERON Monitor 2 Plate Kit ELISA components	2-플레이트 키트 ELISA
카탈로그 번호	0650-0201
Microplate Strips(마이크로플레이트 스트립), 12 x 8 웰 (쥐과 항-인간 IFN- $\gamma$ 단클론 항체로 코팅)	12 x 8 웰 마이크로플레이트 스트립 2 세트
IFN- $\gamma$ Standard, 동결건조 (재조합 인간 IFN- $\gamma$ , 소 카제인, 0.01% w/v 티메로살 함유)	1 x 바이알 (재구성된 경우 8 IU/ml)
Green Diluent(그린 희석제) (소 카제인, 정상 마우스 혈청, 0.01% w/v 티메로살 함유)	1 x 30 ml 바이알
Conjugate 100x Concentrate(접합체 100x 농축액), 동결건조 (쥐과 항-인간 IFN- $\gamma$ HRP, 0.01% w/v 티메로살 함유)	1 x 0.3 ml, 재구성된 경우
Wash Buffer 20x Concentrate(세척 완충액 20x 농축액) (pH 7.2, 0.05% v/v ProClin <sup>®</sup> 300 함유)	1 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution(효소 기질 용액) (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3',5,5'-테트라메틸벤지딘 함유)	1 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution(효소 정지 용액) (0.5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 함유)*	1 x 15 ml
QuantiFERON Monitor ELISA 제품 첨부 설명서	1

\* 내용물: 황산. 사전 주의사항은 11 페이지를 참조하십시오.



## 필요하지만 제공되지 않는 재료

- 37°C 배양기\*, CO<sub>2</sub> 필요하지 않음.
- 캘리브레이션한 가변 용량 피펫\*
- 일회용 팁으로 50 µl-100 µl 를 전달할 수 있는 캘리브레이션된 다채널 피펫†
- 마이크로플레이트 셰이커†
- 탈이온수 또는 증류수, 2 리터
- 마이크로플레이트 세척기(자동 세척기 권장)
- 450 nm 필터 및 620 nm-650 nm 기준 필터를 갖춘 마이크로플레이트 리더†
- 눈금 실린더(측정 실린더)
- 보풀이 잘 일어나지 않는 흡수 타올

## 보관 및 취급

### 채혈 튜브

QFM Blood Collection Tubes 는 4°C-25°C 에서 보관합니다. QFM Blood Collection Tubes 는 혈액 주입 및 혼합 시 17°C-25°C 여야 합니다.

### LyoSpheres

QFM LyoSpheres 는 2°C-8°C 에서 보관합니다.

### ELISA 키트 시약

ELISA 키트 시약은 2°C-8°C 에서 보관합니다.

항상 효소 기질 용액을 직사광선으로부터 차광 보호합니다.

\* 제조업체의 권고사항에 따라 기기를 점검 및 캘리브레이션했음을 확인하십시오.

## 재구성 및 미사용된 ELISA 시약

ELISA 시약 재구성 방법에 대한 지침은 19 페이지의 "2 단계 — IFN- $\gamma$  ELISA"를 참고하십시오.

- 재구성된 키트 표준은 2°C–8°C 에 보관할 경우 3 개월까지 보관할 수 있습니다.

키트 표준액을 재구성한 날짜를 기록합니다.

- 재구성한 후, 사용하지 않은 접합체 100x 농축액은 다시 2°C–8°C 에 보관해야 하며 3 개월 이내에 사용해야 합니다.

접합체를 재구성한 날짜를 기록합니다.

- 작업 강도 접합체는 준비 후 6 시간 이내에 사용해야 합니다(표 1 참조).
- 사용 강도 세척 완충액은 실온(22°C  $\pm$  5°C)에서 최대 2 주까지 보관할 수 있습니다.

# 경고 및 사전 주의사항

## 체외 진단용

화학물질로 작업할 때 항상 적합한 실험용 가운, 일회용 장갑 및 보안경을 착용하십시오. 자세한 정보는 적절한 안전 보건 자료(Safety Data Sheet, SDS)를 참조하십시오. 안전 보건 자료는 [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) 에서 적은 용량의 편리한 PDF 형식으로 제공되며, 여기에서 각 QIAGEN 키트 및 키트 구성품에 대한 SDS 를 검색해 보고 인쇄할 수 있습니다.

## 경고

- QFM 은 면역 기능의 정성적 및 정량적 측정을 모두 제공하는 분석항목입니다. QFM 결과는 면역 억제 수준을 직접적으로 정량화하지 않을 수 있습니다.
- QFM 분석항목의 결과는 환자의 면역 상태를 확정할 때 임상적 발현, 병력, 그리고 기타 임상적 지표와 함께 사용해야 합니다.
- QFM 분석항목의 임계값은 대상자의 면역억제 수준 및 개인별 이식 상황에 따라 달라질 수 있습니다.

## 사전 주의사항

체외 진단용으로만 사용.



주의: 사람 혈액과 혈장은 감염 가능성이 있는 것으로 취급하십시오. 관련 혈액 및 혈액 제제 취급 지침을 준수하십시오. 혈액 또는 혈액 제제와 접촉한 검체 및 물질은 연방, 주 및 지역 규정에 따라 폐기하십시오.

다음과 같은 유해 및 예방조치 문구가 QuantiFERON Monitor ELISA 의 구성요소에 적용됩니다.

### 유해 문구



#### QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

내용물: 황산. 경고! 금속이 부식될 수 있습니다. 피부 자극을 일으킵니다. 심각한 눈 자극을 일으킵니다. 보호용 장갑/보호복/보안경/얼굴 보호대를 착용하십시오.

#### QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

경고! 약간의 피부 자극을 일으킵니다. 보호용 장갑/보호복/보안경/얼굴 보호대를 착용하십시오.



#### QuantiFERON Green Diluent

내용물: trisodium 5-hydroxy-1-(4-sulphophenyl)-4-(4-sulphophenylazo)pyrazole-3-carboxylate. 내용물: 타트라진. 경고! 알레르기 피부 반응을 일으킬 수 있습니다. 보호용 장갑/보호복/보안경/얼굴 보호대를 착용하십시오.



#### QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

내용물: 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one 과 2-Methyl-2H -isothiazol-3-one 의 혼합물(3:1). 장기적인 영향으로 수생생물에게 유해함. 환경에 방출되지 않게 하십시오.

## 기타 정보

안전 보건 자료: [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)

- *QuantiFERON Monitor(QFM) ELISA* 제품 첨부 설명서 지침을 따르지 않으면 잘못된 결과를 얻을 수 있습니다. 사용 전에 신중하게 지침을 숙지하십시오.
- **중요:** 사용하기 전에 바이알을 점검하십시오. 손상의 징후가 보이거나 고무 씬이 손상된 경우 접합체, IFN- $\gamma$  표준액 또는 QFM LyoSphere 바이알을 사용하지 마십시오. 깨진 바이알은 취급하지 마십시오. 적절한 안전 예방조치를 취하여 바이알을 안전하게 폐기하십시오. 권장 사항: 금속 크림프 캡으로 인한 부상을 최소화하려면 바이알 크림프 제거기를 사용하여 접합체, IFN- $\gamma$  표준액 또는 QFM LyoSphere 바이알을 여십시오.
- 사용 전에 시약 병에 손상 또는 누출 징후가 보이면 ELISA 키트를 사용하지 마십시오.
- 다른 QFM ELISA 배치의 마이크로플레이트 스트립, IFN- $\gamma$  표준액, 그린 희석제, 또는 접합체 100x 농축액을 혼합하거나 사용하지 마십시오. 다른 시약(세척 완충액 20x 농축액, 효소 기질 용액, 및 효소 정지 용액)은 키트 간에 서로 교환 가능합니다. 단, 시약이 유효 기간 이내이고 로트 세부 사항을 기록해야 합니다.
- 사용하지 않은 시약과 생물학적 검체는 지역, 국가 및 환경 규정에 따라 폐기하십시오.
- 유효 기간이 지난 QFM Blood Collection Tubes, QFM LyoSpheres 또는 QFM ELISA 키트는 사용하지 마십시오.
- 검사실 장비가 사용을 위해 캘리브레이션/검증되었는지 확인하십시오.

## 시료 수집 및 취급

QFM 분석항목은 리튬 헤파린 채혈 튜브에 채혈하거나 QFM Blood Collection Tubes 에 직접 채혈한 전혈을 사용해서만 수행해야 합니다. 검사당 전혈 1 ml 가 필요합니다. 채혈 튜브는 올바르게 라벨을 부착하고 채혈 시간을 포함해야 합니다.

중요: QFM 혈액 검체의 자극(예: 1 ml 혈액 분주액에 QFM LyoSphere 첨가) 및 37°C 에서 후속 배양 모두 채혈 8 시간 이내에 수행해야 합니다.

배양 이전에 혈액 검체를 실온(22°C ± 5°C)으로 유지하십시오.

최적의 결과를 위해 다음 절차를 따라야 합니다:

### 1. 튜브를 적절히 라벨 표기합니다.

각 QFM Blood Collection Tube 에 대상자의 세부 정보 및 채혈 시간을 올바르게 라벨로 부착했는지 확인합니다.

### 2. 각 대상자에 대하여, 정맥천자로 QFM Blood Collection Tube 내에 직접 1 ml 의 혈액을 수집합니다. 교육받은 정맥 채혈사가 이 과정을 수행해야 합니다.

중요한 참고 사항: 혈액 주입 시 튜브는 17°-25°C 여야 합니다.

QFM Blood Collection Tubes 는 해발 810 m 의 고도에서까지 사용할 수 있습니다.

1 ml 튜브는 상태적으로 천천히 채혈하므로, 튜브가 완전히 채워진 것처럼 보인 후 2-3 초간 튜브에 바늘을 유지하십시오. 그러면 반드시 올바른 양이 채혈되도록 할 수 있습니다.

QFM Blood Collection Tube 라벨의 측면에 있는 검은색 표시가 1 ml 주입 용량을 표시합니다. QFM Blood Collection Tubes 는 1 ml ± 10%를 채혈하고 이 범위 내에서 최적으로 기능하도록 제조되었습니다. 혈액 수치가 표시기 선 범위를 벗어난 경우 새 혈액 검체를 얻어야 합니다.

채혈을 위해 "나비형 주사침"을 사용하는 경우 QFM Blood Collection Tubes 를 사용하기 전에 튜브에 혈액이 주입되도록 하기 위해 "퍼지" 채혈 튜브를 사용하십시오.

QFM Blood Collection Tubes 를 810 m 가 넘는 고도에서 사용하는 경우 또는 채혈량이 낮은 경우, 주사기로 채혈하여 즉시 QFM Blood Collection Tube 에 1 ml 혈액을 옮기십시오. 안전상의 이유로, 주사기 바늘을 제거하고, 적절한 안전 절차에 따라, QFM Blood Collection Tube 에서 캡을 제거하고, 튜브에 1 ml 의 혈액을 (튜브 라벨 측면의 검은색 표시 중앙까지) 가하는 것이 최선입니다. 아래에 설명한 대로 캡을 안전하게 교체하고 혼합합니다.

압박띠를 사용하는 경우, 바늘을 정맥에 삽입한 후 바로 압박띠를 풀어 혈액량에 영향을 미칠 수 있는 압력의 변동을 방지하십시오.

또는, 리튬 헤파린을 항응고제로 포함하는 유전자 채혈 튜브에서 혈액을 채취한 다음 QFM Blood Collection Tube 로 옮길 수 있습니다. 다른 항응고제는 이 분석항목과 간섭 현상이 있기 때문에 리튬 헤파린만 항응고제로 사용해야 합니다. 채혈 튜브를 채우고(최소 용량 3 ml) 튜브를 여러 번 거꾸로 하여 부드럽게 혼합하여 헤파린을 용해시킵니다. QFM LyoSphere 로 자극을 주기 위해 QFM Blood Collection Tubes 로 옮기기 전에 혈액을 실온( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ )으로 유지합니다. 주입하기 직전에 부드럽게 거꾸로 하여 혈액을 균일하게 혼합시켜야 합니다. 혈액의 분주액 1 ml 를 QFM Blood Collection Tube 에 주입합니다. 적절한 안전 절차를 따르면서 QFM Blood Collection Tube 에서 캡을 제거하고, 1 ml 의 혈액을 첨가(튜브 라벨 측면의 검은색 표시 중앙까지)하여 무균 상태로 주입합니다. 아래에 설명한 대로 캡을 안전하게 교체하고 혼합합니다.

**3. 튜브를 채운 직후 튜브를 서서히 여러번 거꾸로 하여 헤파린을 용해시킵니다.**

중요: 너무 심하게 흔들면 젤 분열이 일어나서 비정상적인 결과가 나올 수 있습니다.

**4. 사용하기 직전에 QFM LyoSpheres 가 실온( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ )에 이르도록 합니다.**

5. QFM LyoSphere 1 개를 혈액 1 ml 에 무균 상태로 추가합니다.

채혈 튜브의 캡을 제거합니다.

QFM LyoSphere 바이알을 단단한 표면 위에서 살짝 두드려 QFM LyoSphere 가 바이알의 밑면에 오도록 합니다. 먼저 금속 크림프 캡을 제거하고 고무 마개를 제거하여 QFM LyoSphere 바이알의 캡을 제거합니다.

유리 바이알의 가장자리를 QFM Blood Collection Tube 의 가장자리에 맞춰 QFM LyoSphere 를 혈액 검체 1 ml 에 조심스럽게 떨어뜨린 다음, 바이알을 부드럽게 거꾸로 하여 QFM LyoSphere 를 QFM Blood Collection Tube 로 옮깁니다(그림 1 참조).

중요: QFM LyoSphere 가 QFM Blood Collection Tube 밖으로 떨어질 경우 이를 폐기하고 새 QFM LyoSphere 바이알을 개봉하십시오.

중요: QFM LyoSphere 바이알을 장시간 개봉된 상태로 방치하지 마십시오. QFM LyoSphere 는 바이알의 캡을 제거한 즉시 혈액에 첨가해야 합니다.

QFM LyoSpheres 를 QFM Blood Collection Tube 에 수집된 혈액에 첨가하는 경우, 올바른 검체에 튜브 캡을 다시 닫았는지 확인하십시오.

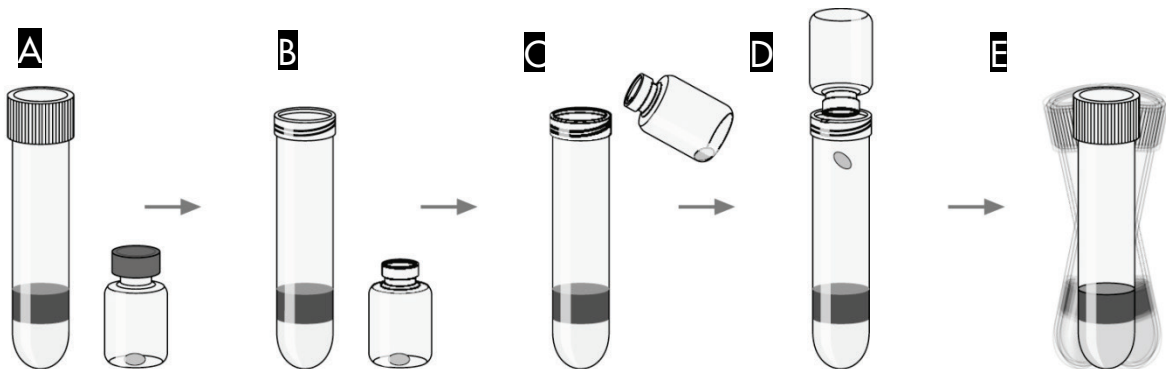


그림 1. QFM LyoSphere 첨가. **A** QFM Blood Collection Tube 및 QFM LyoSphere 바이알. **B** QFM Blood Collection Tube 의 캡을 제거하고 QFM LyoSphere 바이알의 금속 크림프와 고무 마개를 제거합니다. **C** 유리 바이알의 가장자리를 채집 튜브의 가장자리에 맞춰 QFM LyoSphere 를 혈액에 즉시 첨가합니다. **D** 그 다음, 바이알을 천천히 거꾸로 하여 LyoSphere 를 채집 튜브로 옮깁니다. **E** QFM Blood Collection Tube 의 캡을 다시 닫고 5-10 번 흔듭니다.



6. QFM Blood Collection Tube **캡을 닫은 후 QFM LyoSphere 가 완전히 용해되기에 충분한 정도의 세기로 5-10 번 흔들니다.**

QFM LyoSphere 가 안쪽 튜브 표면에 붙은 경우, 튜브를 거꾸로 하는 동안 혈액에 LyoSphere 를 코팅하여 용해시킬 수 있습니다.

QFM LyoSphere 를 첨가한 후 튜브를 캡으로 닫아서 같은 튜브에 LyoSphere 를 두 번 첨가하는 실수를 방지합니다.

참고: QFM LyoSphere 는 흰색이므로 용해되면 혈액 내에서 더 이상 보이지 않습니다.

중요: 너무 심하게 흔들면 젤 분열이 일어나서 비정상적인 결과가 나올 수 있습니다.

7. QFM LyoSphere 를 첨가하고 용해시킨 후에는 **채혈 8 시간 이내에 최대한 빨리 QFM Blood Collection Tube 를  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  배양기로 옮겨야 합니다.**

# 사용 지침

## 1 단계 — 혈액 배양 및 혈장 수확

### 제공되는 재료

- QFM Blood Collection Tube(7 페이지, “구성요소 및 보관” 참조)

### 필요하지만 제공되지 않는 재료

- 9 페이지의 “필요하지만 제공되지 않는 재료”를 참조하십시오.

### 절차

1. QFM LyoSphere 를 첨가한 혈액 분주액 1 ml 가 들어 있는 QFM Blood Collection Tube 를  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  에서 16–24 시간 동안 똑바로 세워 배양합니다.

참고: 배양기는 CO<sub>2</sub> 또는 가슴이 필요하지 않습니다.

배양한 후, QFM Blood Collection Tube 를 원심분리 전 최대 3 일간 4°C–27°C 로 유지할 수 있습니다.

2. 배양한 후에, 혈장 수확이 용이하도록 QFM Blood Collection Tube 를 2000–3000 x g(RCF)에서 15 분간 원심분리합니다. 겔 플러그는 혈장에서 세포를 분리합니다. 분리되지 않을 경우 튜브를 다시 원심분리합니다.

원심분리 없이 혈장을 수확할 수는 있지만, 세포를 건드리지 않으면서 혈장을 제거하기 위해 추가적인 주의가 필요합니다.

3. 피펫을 이용하여 혈장 검체만 수확해야 합니다.

중요: 원심분리 후 수확 전에는 위아래로 피펫팅하거나 어떤 식으로든 혈장을 혼합하지 마십시오. 겔 표면의 물질을 교란시키지 않도록 항상 주의하십시오.

자동화된 ELISA 워크스테이션을 사용하는 경우를 포함하여, 혈장 검체를 원심분리된 QFM Blood Collection Tube 에서 QFM ELISA 플레이트 내로 직접 로드할 수 있습니다.

혈장 검체는 2°C–8°C 에서 28 일간, 또는 수확한 경우 -20°C 미만에서 더 오랜 기간 동안 보관할 수 있습니다. 수확된 혈장 검체의 분주액은 보관 전에 밀봉해야 합니다.

혈장 검체를 수확할 경우, 필요 시 반복 검사를 수행할 수 있도록 최소 150  $\mu$ l 의 혈장을 수확합니다.

혈장 검체 내 IFN- $\gamma$ 의 양은 흔히 대부분의 ELISA 리더의 상한보다 높을 수 있으며, 중등도로 면역억제 상태인 개인의 경우에도 마찬가지입니다. 혈장 검체는 그린 희석제로 1:10 및/또는 1:100 으로 희석하고, 희석되지 않은 혈장과 함께 ELISA 에서 분석을 실시하는 것이 권장됩니다(2 단계 – IFN- $\gamma$  ELISA 수행 참조).

## 2 단계 — IFN- $\gamma$ ELISA

### 제공되는 재료

- QuantiFERON Monitor 2 Plate Kit ELISA(7 페이지, "구성요소 및 보관" 참조)

### 필요하지만 제공되지 않는 재료

- 9 페이지의 "필요하지만 제공되지 않는 재료"를 참조하십시오.

### 준비

혈장 내 IFN- $\gamma$ 의 양은 흔히 대부분의 ELISA 리더의 상한보다 높을 수 있으며, 중등도로 면역억제 상태인 개인의 경우에도 마찬가지입니다. 권장 사항: 혈장 검체는 그린 희석제로 1:10 및/또는 1:100 으로 희석하고, 희석되지 않은 혈장과 함께 ELISA 에서 분석을 실시하는 것이 권장됩니다.

환자가 심하게 면역이 억제되었을 수 있는 경우, 희석되지 않은 혈장 검체만 준비하고 분석을 수행해도 정량 결과를 얻기에 충분할 수 있습니다.

참고: QFM ELISA 의 범위 내에 있는 검체 결과(예: 최대 10 IU/ml)를 결과 해석에 사용해야 합니다. 희석되지 않은 혈장이 QFM ELISA 범위보다 높을 경우에는 QFM ELISA 범위 내의 결과를 생성하는 최저 희석액을 보고된 결과로서 사용해야 합니다(희석 배수 고려).

## 절차

1. 접합체 100x 농축액을 제외한 모든 혈장 검체 및 시약은 사용 전에 실온( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ )에 이르도록 해야 합니다. 실온이 되도록 최소 60 분간 둡니다.

2. 마이크로플레이트 프레임에서 필요하지 않은 스트립을 제거하고, 포일 파우치로 재밀봉하고 필요할 때까지 냉장고에 다시 보관합니다.

QFM 표준에 대한 최소 1 개의 스트립과 검사를 받는 일련의 대상자를 위해 충분한 수의 스트립을 준비합니다. 사용 후에는, 나머지 스트립에 사용하도록 프레임과 뚜껑을 보관합니다.

3. 표준액 바이알 라벨에 표시한 탈이온수 또는 증류수의 양으로 동결건조된 IFN- $\gamma$  표준을 재구성합니다. 거품 발생을 최소화하도록 부드럽게 혼합하여 완전히 용해되도록 합니다. 명시된 용량으로 표준액을 재구성하면 농도 8.0 IU/ml 의 용액이 생성됩니다.

중요: 재구성된 IFN- $\gamma$  표준액의 용량은 배치별로 다릅니다. 표준액 바이알의 라벨을 참조하여 올바른 양의 탈이온수 또는 증류수를 사용하고 있는지 확인하십시오.

재구성된 키트 표준액을 사용하여 그린 희석제(Green Diluent, GD)로 1/2 희석액을 생성한 다음 IFN- $\gamma$ 의 1/4 희석 시리즈를 생성합니다(그림 2 참조). S1(표준액 1)은 4.0 IU/ml, S2(표준액 2)는 1.0 IU/ml, S3(표준액 3)은 0.25 IU/ml, S4(표준액 4)는 0 IU/ml(GD 단독)를 포함합니다. 표준액은 2 회 반복 분석해야 합니다. 각 ELISA 세션에 대한 키트 표준액의 희석액을 새로 준비합니다.

### 표준액 2 회 반복에 대한 권장 절차

- a. 4 개의 튜브에 "S1", "S2", "S3", "S4"를 라벨 표기합니다.
- b. GD 150  $\mu$ l 를 S1, S2, S3, S4 에 첨가합니다.
- c. 키트 표준액 150  $\mu$ l 를 S1 에 첨가하고 완전히 혼합합니다.
- d. S1 에서 50  $\mu$ l 를 S2 로 옮긴 후 완전히 혼합합니다.
- e. S2 에서 50  $\mu$ l 를 S3 으로 옮긴 후 완전히 혼합합니다.
- f. 그린 희석액(Green Diluent, GD)이 단독으로 영점 표준액(S4) 역할을 합니다.

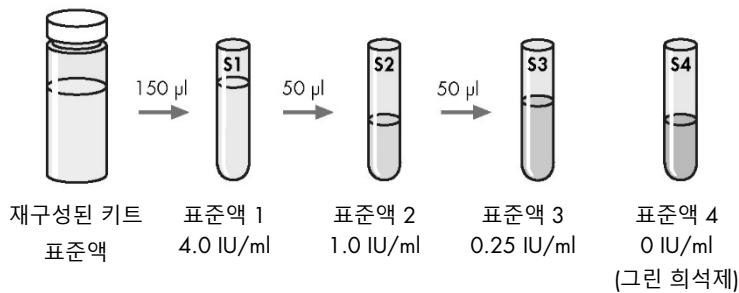


그림 2. 표준 곡선 준비

4. 동결건조된 접합체 100x 농축액을 0.3 ml 탈이온수 또는 증류수로 재구성합니다. 거품 발생을 최소화하도록 부드럽게 혼합하여 접합체가 완전히 용해되도록 합니다.

필요한 양의 재구성된 접합체 100x 농축액을 그린 희석제로 희석하여 사용 강도 접합체를 준비합니다(표 1. 접합체 준비) 사용 직후에 사용하지 않은 접합체 100x 농축액은 2°C-8°C 에 다시 보관합니다. 그린 희석제만 사용합니다.

**표 1. 접합체 준비**

스트립 수	접합체 100x 농축액 용량	그린 희석제 용량
2	10 $\mu$ l	1.0 ml
3	15 $\mu$ l	1.5 ml
4	20 $\mu$ l	2.0 ml
5	25 $\mu$ l	2.5 ml
6	30 $\mu$ l	3.0 ml
7	35 $\mu$ l	3.5 ml
8	40 $\mu$ l	4.0 ml
9	45 $\mu$ l	4.5 ml
10	50 $\mu$ l	5.0 ml
11	55 $\mu$ l	5.5 ml
12	60 $\mu$ l	6.0 ml

**5. 채혈 튜브에서 수확된 후 보관 또는 동결된 혈장 검체의 경우, ELISA 웰에 첨가하기 전에 검체를 혼합합니다.**

중요: 혈장 검체를 원심분리된 QFM 튜브로부터 직접 첨가할 경우, 혈장이 혼합되지 않도록 해야 합니다. 겔 표면의 물질을 교란시키지 않도록 항상 주의하십시오.

**6. 권장 사항: 혈장 검체를 1:10 으로 희석합니다.**

- 그린 희석제(Green Diluent, GD) 90  $\mu$ l 를 환자 세부 정보 및 "1:10"이라는 라벨이 부착된 튜브에 첨가합니다.
- 그 다음, 혼합된 혈장 검체 10  $\mu$ l 를 첨가합니다(혼합된 혈장 검체 및 원심분리한 QFM 튜브로부터 직접 첨가하는 검체에 대한 자세한 내용은 5 단계 참조).
- 거품 발생을 최소화하면서 피펫으로 완전히 혼합합니다.

7. **권장 사항: 혈장 검체를 1:100 으로 희석합니다.**

- 1:10 희석액을 준비합니다(위의 6 단계 참조).
- 그린 희석제 90  $\mu$ l 를 환자 세부 정보 및 "1:100"이라는 라벨이 부착된 튜브에 첨가합니다.
- 1:10 희석액 10  $\mu$ l 를 첨가합니다.
- 거품 발생을 최소화하면서 피펫으로 완전히 혼합합니다.

권장 사항: 다음 검체를 아래 순서대로 병행하여 검사합니다:

- 희석되지 않음, 1:10, 1:100

QFM 분석항목 소프트웨어에서는 다음과 같은 대상자 검체 옵션 또한 지원합니다:

- 희석되지 않음
- 1:10
- 1:100
- 1:10, 1:100
- 희석되지 않음, 1:10

8. **멀티채널 피펫을 이용하여 새로 준비한, 사용 강도 접합체 50  $\mu$ l 를 필요한 ELISA 웰에 첨가합니다.**

9. **멀티채널 피펫을 이용하여 검사 혈장 검체 50  $\mu$ l 를 해당 웰에 첨가합니다. 그런 다음 50  $\mu$ l 를 각 표준액 1-4 에 첨가합니다. 표준액을 2 회 반복 분석합니다.**

10. **각 플레이트에 뚜껑을 덮고 마이크로플레이트 셰이커로 1 분간 접합체와 혈장 검체/표준액을 완전히 혼합합니다. 튀지 않도록 합니다.**

11. **실온( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ )에서  $120 \pm 5$  분간 배양합니다.**

배양 중 플레이트가 직사광선에 노출되어서는 안 됩니다.

12. **배양 중에 세척 완충액 20x 농축액과 탈이온수 또는 증류수로 1:19 로 희석하여 완전히 혼합합니다. 2 리터의 사용 강도 세척 완충액을 준비하기에 충분한 세척 완충액 20x 농축액이 제공되었습니다.**

400  $\mu$ l 사용 강도 세척 완충액으로 웰을 마이크로플레이트 세척기에서 최소 6 주기동안 세척합니다. 자동 플레이트 세척기를 권장합니다.

분석항목의 성능을 위해 완전히 세척하는 것이 매우 중요합니다. 각 세척 주기에서 각 웰에 세척 완충액이 충분히 채워지는지 확인합니다. 권장 사항: 최상의 결과를 위해서는 각 주기 사이에 웰을 최소 5 초간 담급니다.

표준 검사실 소독제를 배출액 용기에 첨가하고 잠재적 감염성 물질의 오염 제거를 위해 확립된 절차를 따릅니다.

13. 흡수성, 저발진성 타올 위에 플레이트 면을 뒤집어 놓고 두드려서 남은 세척 완충액을 제거합니다. 100  $\mu$ l 효소 기질 용액을 각 웰에 첨가하고 각 플레이트 뚜껑을 덮고 마이크로플레이트 셰이커를 사용하여 완전히 혼합합니다.

14. 실온( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ )에서 30 분간 배양합니다.

배양 중 플레이트가 직사광선에 노출되어서는 안 됩니다.

15. 배양 후에는 효소 정지 용액 50  $\mu$ l 를 각각의 웰에 첨가하고 마이크로피펫 셰이커를 이용하여 완전히 혼합합니다.

효소 정지 용액은 13 단계에서 효소 기질 용액을 첨가할 때와 같은 순서 및 대략 같은 속도로 웰에 첨가해야 합니다.

16. 450 nm 필터 및 620 nm–650 nm 기준 필터를 갖춘 마이크로플레이트 리더를 이용하여 반응 정지 5 분 내에 광학 밀도(Optical Density, OD)를 측정합니다. OD 값을 사용하여 결과를 계산합니다.



## 계산 및 검사 해석

QuantiFERON Monitor 분석항목 소프트웨어를 사용하여 원시 데이터를 분석하고 결과를 계산합니다. [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com)에서 이를 사용할 수 있습니다. QuantiFERON Monitor 분석항목 소프트웨어의 가장 최신 버전을 사용하도록 하십시오.

결과 해석 섹션에서 자세히 설명한 대로, 소프트웨어는 분석항목의 품질 관리 평가를 수행하고, 표준 곡선을 생성하고, 각 대상자에 대한 검사 결과를 제공합니다.

희석되지 않은 혈장이 QFM ELISA의 상한 범위보다 높을 경우(예: >10 IU/ml), QuantiFERON Monitor 분석항목 소프트웨어는 희석 배수를 고려하여 QFM ELISA의 범위 내에서 결과를 생성하는 최저 희석액을 보고합니다.

QuantiFERON Monitor 분석항목 소프트웨어 사용의 대안으로 다음과 같은 방법에 따라 결과를 판별할 수 있습니다.

### 표준 곡선의 생성

(QuantiFERON Monitor 분석항목 소프트웨어를 사용하지 않는 경우)

각 플레이트에서 키트 표준 복제물의 평균 OD 값을 판별합니다.

IU/ml 단위 표준액의 IFN- $\gamma$  농도의  $\log_{(e)}(x$  축)에 대하여 평균 OD의  $\log_{(e)}(y$  축) 그래프를 그려  $\log_{(e)}-\log_{(e)}$  표준 곡선을 구성하되 이 계산에서 영점 표준액은 생략합니다. 회귀 분석항목으로 표준 곡선에 가장 적합한 선을 계산합니다.

각 검체의 OD 값을 이용하여 각 검사 혈장 검체에 대하여 IFN- $\gamma$  농도(IU/ml)를 판별하기 위해 표준 곡선을 이용합니다.

마이크로플레이트 리더, 표준 스프레드시트 또는 통계 소프트웨어(Microsoft® Excel® 소프트웨어 등)와 함께 사용할 수 있는 소프트웨어 패키지를 이용하여 이러한 계산을 할 수 있습니다. 회귀 분석항목, 표준액에 대한 변동 계수(%CV) 및 표준 곡선의 상관 계수( $r$ )를 계산하는 데 이 패키지를 사용할 것을 권장합니다.

희석되지 않은 혈장이 QFM ELISA 의 범위보다 높은 경우, QFM ELISA 의 범위 내에서 결과를 생성하는 최저 희석액(희석 배수 고려)에서 보고된 결과를 취해야 합니다.

## 검사의 품질 관리

검사 결과의 정확성은 정확한 표준 곡선의 생성에 달려 있습니다. 그러므로 검사 검체 결과를 해석하기 전에 표준액으로부터 나온 결과를 조사해야 합니다.

ELISA 가 유효하려면:

- 표준액 1 의 평균 OD 값이  $\geq 0.600$  이어야 합니다.
- 표준액 1 및 표준액 2 복제물 OD 값에 대한 %CV 는  $\leq 15\%$ 여야 합니다.
- 표준액 3 및 표준액 4 에 대한 복제물 OD 값은 평균에서 0.040 광학 밀도 단위를 벗어나지 않아야 합니다.
- 표준액의 평균 흡광도 값에서 계산한 상관 계수( $r$ )가  $\geq 0.98$  이어야 합니다.

QuantiFERON Monitor 분석항목 소프트웨어는 이러한 품질 관리 매개변수를 계산하여 보고합니다.

위의 기준에 부합하지 않으면 실행이 유효하지 않아 다시 실행해야 합니다.

영점 표준액(그린 희석제)의 평균 OD 값은  $\leq 0.150$  이어야 합니다. 평균 OD 값이 0.150 를 초과한 경우 플레이트 세척 절차를 조사해야 합니다.

## 결과 해석

QFM 결과는 선천적 및 적응 면역 자극제에 대한 IFN- $\gamma$  반응에 따라 해석됩니다. QFM 분석항목은 면역 기능의 정성적 및 정량적 측정을 모두 제공합니다. QFM 결과는 면역 억제 수준을 직접적으로 정량화하지 않을 수 있습니다.

중요: 대상자의 면역 상태를 결정할 때, 측정된 IFN- $\gamma$  수치를 임상적 발현, 병력, 그리고 기타 진단 평가와 함께 사용해야 합니다(표 2). QFM 검사의 임계값은 대상자의 면역억제 수준 및 개별 이식 설정에 따라 달라질 수 있습니다.

표 2. 결과 해석

QFM 결과 IFN- $\gamma$ (IU/ml)	분류	해석
<15	낮음	대상자가 선천적 및 적응 면역 자극제에 대한 IFN- $\gamma$ 반응이 낮음
15-1000	중간	대상자가 선천적 및 적응 면역 자극제에 대한 IFN- $\gamma$ 반응이 중간임
>1000	높음	대상자가 선천적 및 적응 면역 자극제에 대한 IFN- $\gamma$ 반응이 높음

희석되지 않은 혈장 검체의 측정된 IFN- $\gamma$  수치가 0.1 IU/ml 이하인 경우:

- QFM LyoSphere 를 혈액 검체에 첨가하고 이 제품 첨부 설명서의 지침에 따라 튜브를 배양했는지 확인하십시오.
- IFN- $\gamma$  결과가 대상자의 현재 임상적 상태와 일치하는지 확인하십시오.

채혈 또는 혈액 검체의 취급에 대하여 기술적인 문제가 의심되는 경우 새로운 혈액 검체로 전체 QFM 분석항목을 반복하십시오. 원래 검사가 이 제품 첨부 설명서에 설명된 절차를 벗어나는 것으로 의심될 경우 자극제가 첨가된 혈장 검체의 ELISA 검사를 반복하십시오(자세한 내용은 검사의 품질 관리 절 참고).

의사는 결과가 대상자의 현재 임상적 상태와 일치하지 않을 경우 검사를 반복할 수 있습니다.

## 제한 사항

QFM 검사 결과는 각 개인의 병력, 현재 의학적 상태 및 기타 진단 평가와 연계하여 사용해야 합니다. 실험실에서는 분석항목에 대한 고유한 범위를 설정하도록 선택할 수 있습니다.

또한, 실험실에서는 건강한 대상자에서 채취한 외부 대조물질 시료를 환자 시료와 병행하여 실행하도록 선택할 수 있습니다.

신뢰할 수 없거나 부정확한 결과가 일어날 수 있는 이유는 다음과 같습니다:

- 올바르지 않은 혈액 항응고제 — 다른 항응고제는 분석항목을 방해하므로 리튬 헤파린만 사용하십시오.
- 본 제품 첨부 설명서에서 설명한 절차에서 이탈함.
- 순환 IFN- $\gamma$ 의 과도한 수치 또는 이중친화 항체의 존재.
- 혈액 시료 채취부터 37°C 배양까지 8 시간 이상 걸림.
- QFM Blood Collection Tube 가 0.9–1.1 ml 범위를 벗어나는 범위로 덜 채워지거나 지나치게 채워짐.

## 성능 특징

### 임상 연구

건강한 일반인(n=114)과 이식 수혜자(n=30)의 반응을 비교 평가하기 위해 두 건의 임상 연구를 실시했습니다. 이식 수혜자 중 18 명은 이식 후 초기 단계의 코호트(이식 후 초기, 이식 후 3 개월 이내)였고 12 명은 이식 후 후기 또는 안정된 단계의 코호트(이식 후 후기, 이식 후 12 개월 이상)였습니다

- 이식 후 초기 단계의 대상자로부터 최대 5 회 시점에서 검체를 채취하였습니다(이식 후 3 개월차 코호트, 검체 n=64).
- 이식 후 후기 단계의 각 대상자에게서 검체를 1 번 채취하였습니다(이식 후 후기 단계 코호트, 검체 n=12).

■ 건강한 코호트에 속하는 각 개인에게서 검체를 1 번 채취하였습니다 (n=114).

QFM 에 대한 반응의 범위는 이식 후 초기 단계 검체 및 이식 후 후기 단계 검체 모두에서 낮음 - 중간 범위로 설정되었습니다. 이식 후 초기 단계는 낮은 범위 내의 반응 비율이 높았으며(93.8%), 이식 후 후기 단계(낮은 범위의 반응 25%, 중간 범위의 반응 66.7%)와 비교했을 때 중간 범위 내의 반응 비율은 낮았습니다(6.3%)(표 3). 이식 후 초기 단계의 경우 반응 높음 범위에 속하는 반응은 없었으며, 이식 후 후기 단계 검체는 1 개(8.3%)만 반응 높음 범위에 속했습니다. 건강한 코호트에서 QFM 반응은 주로 중간 범위(83.3%) 및 반응 높음 범위(15.8%)였습니다(표 3).

표 3. 건강한 대상자와 이식 수혜자의 QFM 반응 범위 비교

IFN- $\gamma$ (IU/ml)	결과 범주	이식 전 후기 %* 95% CI n	이식 후 후기 %* 95% CI n	건강한 대상자 %* 95% CI n	총 결과
<15	낮음	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	중간	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	높음	0.0% 0-5.7 n=0	8.3% 1.5-35.4 n=1	15.8% 10.2-23.6 n=18	19
총 검체 수		64	12	114	190

\* 백분율은 특정 반응 범위에 속하는 각 공여자 코호트 내의 검체 비율을 나타냅니다.

## 예상값

이식 후 초기 단계(이식 후 최대 3개월) 환자의 QFM에 대한 IFN- $\gamma$  반응의 분포는 QFM ELISA를 사용하여 이식 수혜자 18명에게서 채취한 검체 64개를 토대로 산출했습니다(그림 3).

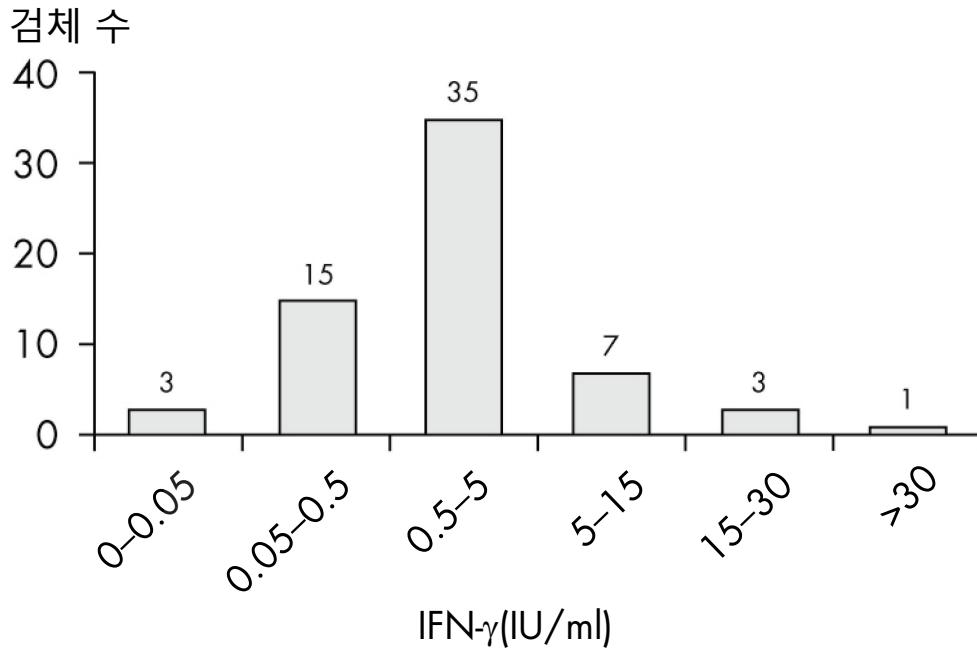


그림 3. 이식 후 초기 단계 환자의 QFM IFN- $\gamma$  반응 분포(n=64, 중앙값=1.5 IU/ml).

이식 후 후기 단계(이식 후 12개월 초과) 환자의 QFM에 대한 IFN- $\gamma$  반응의 분포는 QFM ELISA를 사용하여 검체 12개를 토대로 산출했습니다(그림 4).

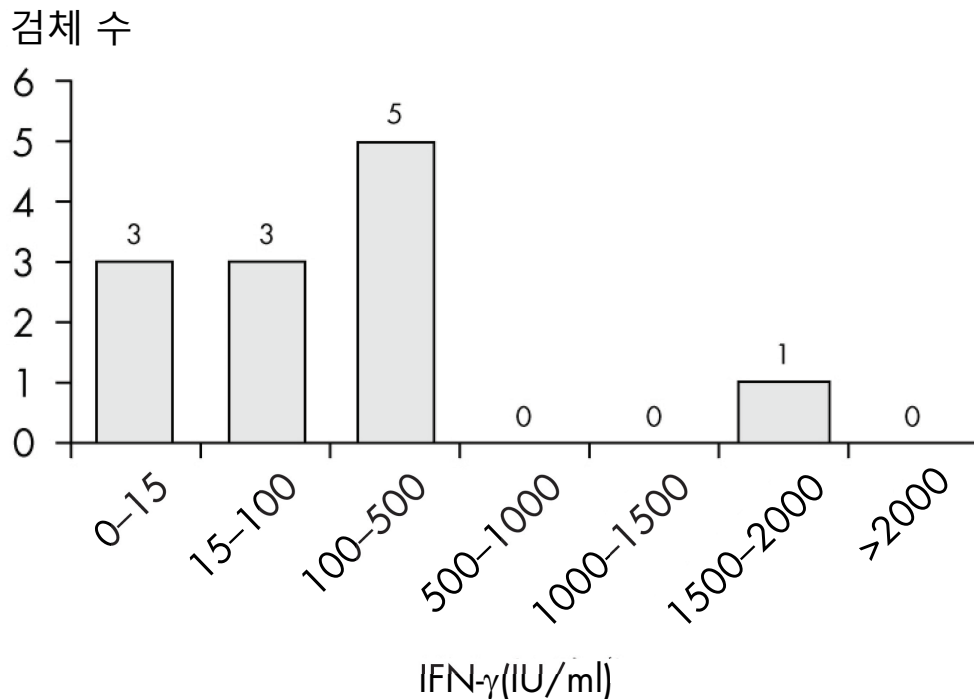


그림 4. 이식 후 후기 단계 환자의 QFM IFN- $\gamma$  반응 분포(n=12, 중앙값=98.8 IU/ml).

건강한 대상자의 QuantiFERON Monitor 에 대한 IFN- $\gamma$  반응의 분포는 QFM ELISA 를 사용하여 검체 114 개를 토대로 산출했습니다(그림 5).

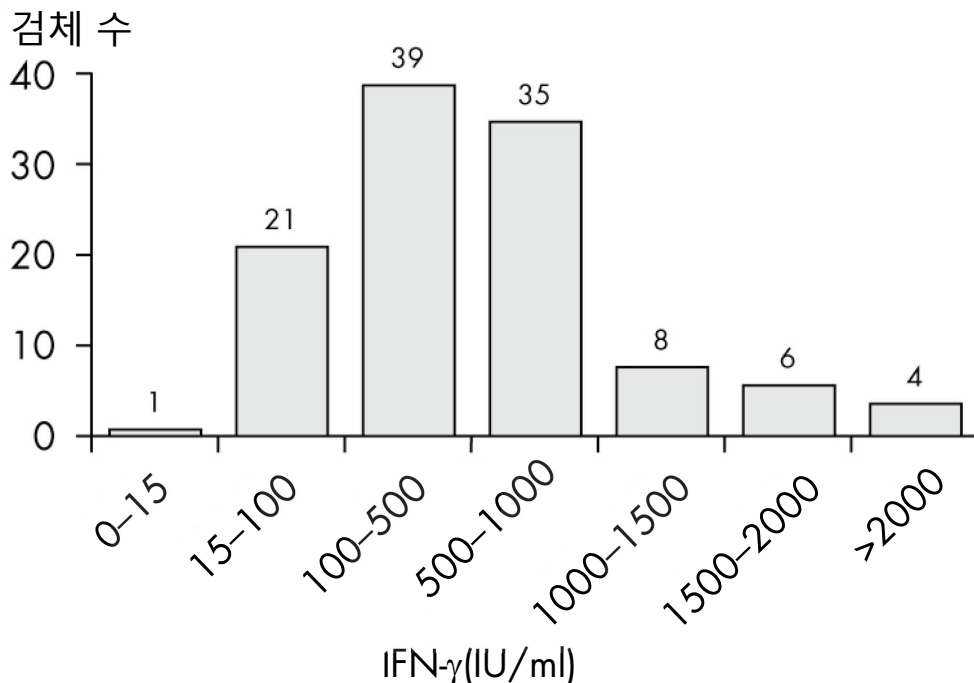


그림 5. 건강한 대상자의 QFM IFN- $\gamma$  반응 분포(n=114, 중앙값=400.5 IU/ml).

## 고형 장기 이식 환자에서의 QFM 반응

고형 장기 이식 환자에 대한 관찰 횡단 연구를 통해 QFM 을 평가했습니다(4). 이 연구에는 다음 대상자가 포함되었습니다: 연령과 성별이 일치하는 대조군당 30 명의 하위 집단으로 이루어진 건강한 대상자 212 명, 이식 전 단계 환자 30 명, 이식 후 초기 단계 환자 18 명(검체 66 개, 이식 후 중간값 기간=21 일), 이식 후 후기 단계 환자 11 명(이식 후 중간값 기간=2290 일). 평균 IFN- $\gamma$  생성량은 건강한 대조군의 경우 555.2 IU/ml 였고, 연령과 성별이 일치하는 대조군의 경우 614.6 IU/ml 였습니다. 평균 IFN- $\gamma$  생성량은 연령과 성별이 일치하는 대조군과 비교했을 때 이식 전 단계(IFN- $\gamma$ =89.3 IU/ml) 및 이식 후 초기 단계(IFN- $\gamma$ =3.76 IU/ml) 환자에서 모두 현저하게 낮게 나타났습니다 ( $p<0.001$ ). 이식 후 후기 단계 환자(평균 IFN- $\gamma$ =256.1 IU/ml)의 면역 기능 회복력은 이식 후 초기 단계 환자보다 현저하게 높은 것으로 관찰되고 입증되었습니다( $p<0.05$ ). 이 연구는 QFM 을 사용하여 면역 반응이 억제된 고형 장기 이식 모집단의 세포 매개 면역 기능을 평가할 수 있음을 보여줍니다.



## 분석항목 성능 특징

알려진 IFN- $\gamma$  농도의 11 개 혈장 풀의 5 개 복제물을 ELISA 플레이트에 무작위로 배치하여 QFM ELISA 의 선형성을 입증했습니다. 선형 회귀선의 기울기는  $1.002 \pm 0.011$  이고 상관 계수는 0.99 입니다(그림 6).

QFM ELISA 의 검출 한계는 0.065 IU/ml 이며, 최대 10,000 IU/ml 의 IFN- $\gamma$  농도로 고용량 후크(항체과잉구역) 효과의 증거가 나타나지 않았습니다.

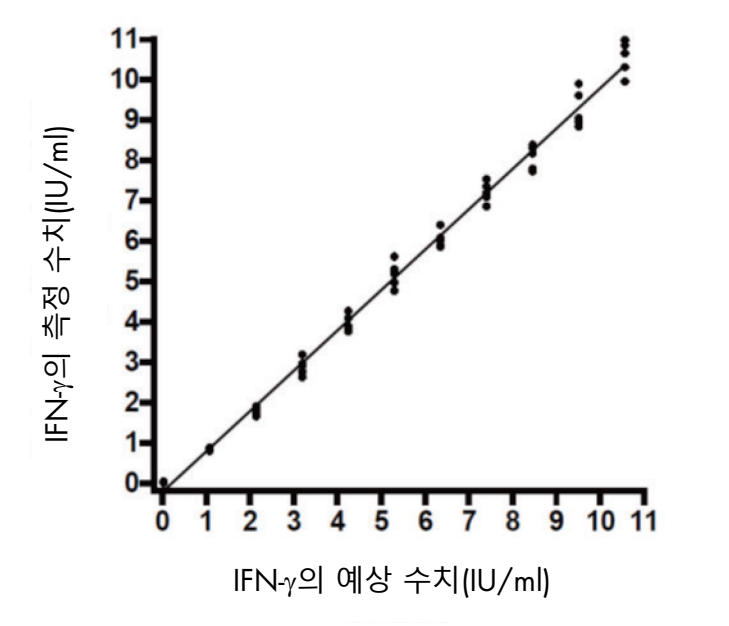


그림 6. QFM ELISA 의 선형성 프로파일은 알려진 IFN- $\gamma$  농도의 혈장 검체 11 개 중 복제물 5 개를 검사하여 확인했습니다.

QFM 분석항목의 재현성(1 단계)은 건강한 대상자 20 명의 혈액 검체를 사용하여 확인했습니다. 3 명의 다른 사용자, QFM LyoSphere 로트, 장비 세트를 평가했습니다. IFN- $\gamma$  반응 수치의 평균 변동 계수는 QFM LyoSpheres 의 모든 세 로트 전체에 걸쳐 QFM ELISA 를 사용하여 확인했으며, 검사한 모든 세 가지 조건은 22.22%(95% CI: 17.20–27.25)였습니다.

QFM 분석항목의 반복성(1 단계)은 대상자 14 명 전체에 걸쳐 동일한 공여자 내에서 QFM LyoSphere 혈액 자극을 5–6 회 반복 시 변동성을 측정하여 평가했습니다. 대상자 14 명 전체에 걸쳐 검사한 평균 변동 계수는 14.7%(95% CI 10.2–19.2)였습니다. 개별 대상자의 %CV 는 30% 미만이었습니다.

QFM ELISA 의 재현성(2 단계)은 3 곳의 검사실에서 3 일 연속 3 명의 사용자가 3 가지 복제물의 IFN- $\gamma$  농도를 달리해서 20 개 혈장 검체를 검사하여 추정했습니다. 따라서 각 검체는 9 가지 독립적인 분석항목 실행으로 27 회 검사했습니다. 한 검체는 음성 대조군이었으며 계산된 IFN- $\gamma$  농도는 0.08 IU/ml(95% CI: 0.07–0.09)였습니다. 나머지 19 개 혈장 검체의 농도 범위는 0.33(95% CI: 0.31–0.34)–7.7 IU/ml (95% CI: 7.48–7.92)였습니다.

실행 내 또는 내부 분석 비정밀도는 각 플레이트 실행(n=9)에서 IFN- $\gamma$ 를 포함하는 각 검사 혈장에 대한 %CV 의 평균을 내서 추정하였으며, 이 비정밀도의 범위는 4.1–9.1%CV 였습니다. 실행 내 %CV 의 평균( $\pm$ 95% CI)은 6.6%  $\pm$  0.6%였습니다. 영점 IFN- $\gamma$  혈장의 평균은 14.1% CV 였습니다.

전체 또는 분석항목 간 비정밀도는 각 혈장 검체에 대한 IFN- $\gamma$ 의 계산된 농도 27 개를 비교하여 측정했습니다. 분석항목 간 비정밀도 범위는 6.6–12.3% CV 였습니다. 전체 평균 % CV( $\pm$ 95% CI)는 8.7%  $\pm$  0.7%였습니다. 영점 IFN- $\gamma$  혈장은 26.1% CV 를 보였습니다. 계산된 IFN- $\gamma$  농도가 낮고 낮은 농도 추정치 주위의 변동이 높은 농도에 대한 변동보다 크기 때문에 이러한 변동 수치가 예상됩니다.

## 기술 정보

### 응고된 혈장 검체

혈장 검체의 장기 보관 시 피브린 응고가 발생하는 경우, 검체를 원심분리하여 응고 물질을 침전시켜 혈장의 피펫팅을 용이하게 합니다.

# 문제 해결 가이드

이 문제 해결 가이드는 발생 가능한 문제를 해결하는 데 도움을 줄 수 있습니다. 자세한 내용을 알아보려면 [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com) 에 제공되는 기술 정보 또한 참조하십시오. 연락처 정보는 뒷면 표지를 참조하십시오.

## ELISA 문제 해결

---

### 비특이성의 발색 현상

가능한 원인	해결책
a) 플레이트의 불완전한 세척	400 $\mu$ l/well 의 세척 완충액으로 플레이트를 최소 6 회 이상 씻어냅니다. 사용되는 세척기에 따라 6 회를 초과하는 세척 주기가 필요할 수도 있습니다. 각 주기 사이에 5 초 이상의 담금 시간이 있어야 합니다.
b) ELISA 웰의 교차 오염	검체를 피펫팅 및 혼합할 때 주의하여 위험을 최소화합니다.
c) 키트/구성요소의 유효 기한이 만료됨	키트가 유통기한 전에 사용되는지 확인합니다. 재구성된 표준액 및 접합체 100x 농축액을 재구성일로부터 3 개월 내에 사용하도록 합니다.
d) 효소 기질 용액이 오염됨	청색으로 착색된 경우 기질을 폐기합니다. 반드시 깨끗한 시약 용기를 사용합니다.
e) 수확 전 QFM 튜브 내 혈장의 혼합	원심분리 후 수확 전에는 위아래로 피펫팅하거나 어떤 식으로든 혈장을 혼합하지 마십시오. 겔 표면의 물질을 교란시키지 않도록 항상 주의하십시오.

### 표준액에 대한 낮은 광학 밀도 판독치

가능한 원인	해결책
--------	-----

## ELISA 문제 해결

- |                        |  |
|------------------------|--|
| a) 표준액 희석 오류           | 본 제품 첨부 설명서에 따라 키트 표준의 희석이 올바르게 준비되도록 합니다.                                   |
| b) 피펫팅 오류              | 피펫이 제조업체의 지침에 따라 캘리브레이션 및 사용되도록 합니다.   |
| c) 배양 온도가 너무 낮음        | ELISA 배양은 실온(17°C-27°C)에서 수행해야 합니다.  |
| d) 배양 시간이 너무 짧음        | 접합체, 표준액 및 검체의 플레이트에서 120 ± 5 분 동안 배양합니다. 효소 기질 용액은 플레이트 상에 30 분간 배양합니다.     |
| e) 잘못된 플레이트 리더 필터 사용   | 기준 필터를 620 nm 에서 650 nm 사이에 두고 450 nm 에서 플레이트를 판독합니다.                        |
| f) 시약이 너무 차가움          | 접합체 100x 농축액을 제외한 모든 시약은 분석항목 시작 전에 실온에 이르도록 해야 합니다. 이에는 약 1 시간이 걸립니다.       |
| g) 키트/구성요소의 유효 기한이 만료됨 | 키트가 유통기한 전에 사용되는지 확인합니다. 재구성된 표준액 및 접합체 100x 농축액을 재구성일로부터 3 개월 내에 사용하도록 합니다. |

## 높은 배경

가능한 원인

해결책

- |                  |   |
|------------------|---|
| a) 플레이트의 불완전한 세척 | 400 µl/well 의 세척 완충액으로 플레이트를 최소 6 회 이상 씻어냅니다. 사용되는 세척기에 따라 6 회를 초과하는 세척 주기가 필요할 수도 있습니다. 각 주기 사이에 5 초 이상의 담금 시간이 있어야 합니다. |
|------------------|---|

## ELISA 문제 해결

---

- b) 배양 온도가 너무 높음 ELISA 배양은 실온(17°C–27°C)에서 수행해야 합니다.
- c) 키트/구성요소의 유효 기한이 만료됨 키트가 유통기한 전에 사용되는지 확인합니다. 재구성된 표준액 및 접합체 100X 농축액을 재구성일로부터 3 개월 내에 사용하도록 합니다.
- d) 효소 기질 용액이 오염됨 청색으로 착색된 경우 기질을 폐기합니다. 반드시 깨끗한 시약 용기를 사용합니다.

## 비선형 표준 곡선 및 중복 변동성

가능한 원인

해결책

- a) 플레이트의 불완전한 세척 400 µl/well 의 세척 완충액으로 플레이트를 최소 6 회 이상 씻어냅니다. 사용되는 세척기에 따라 6 회를 초과하는 세척 주기가 필요할 수도 있습니다. 각 주기 사이에 5 초 이상의 담금 시간이 있어야 합니다.
- b) 표준액 희석 오류 본 제품 첨부 설명서에 따라 표준품의 희석이 올바르게 준비되도록 합니다.
- c) 불량한 혼합 시약을 거꾸로 하여 또는 서서히 불텍싱하여 완전히 혼합시킨 후에 플레이트에 첨가합니다.
- d) 분석항목 설정 중에 일정하지 않은 피펫팅 기법 또는 간섭 발생 검체 및 표준액 첨가는 연속적인 방식으로 수행해야 합니다. 분석항목을 시작하기 전에 모든 시약을 준비해야 합니다.













제품 정보 및 기술 지침은 유통업체를 통해 QIAGEN 에서 또는 [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com) 을 방문하여 무료로 이용할 수 있습니다.

## 참고 문헌

QFM 참고 문헌의 포괄적인 목록은 Gnowee(QuantiFERON 참고 자료실)에 나와 있으며 [www.gnowee.net](http://www.gnowee.net) 에서 찾아보실 수 있습니다.

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

## 기호

 2 x 96	2 x 96 개 검체 준비에 충분함
	법적 제조업체
	CE-IVD 표시 기호
	체외 진단용
	배치 코드
	카탈로그 번호
	사용 기한
	온도 제한
	사용 지침 참조
	재사용하지 말 것
	직사광선을 피할 것
	유럽 공동체의 공인 대리인

## 연락처 정보

기술 지원 및 자세한 정보에 대해서는 무료 전화 00800-22-44-6000 을 이용하거나, [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) 에서 기술 지원 센터를 찾으시거나 QIAGEN 기술 서비스부(뒷표지를 참조하거나 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 방문)에 문의하십시오.

# 검사 절차 요약

## 1 단계 — 혈액 배양

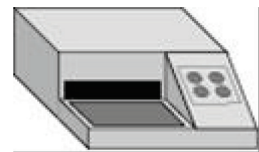
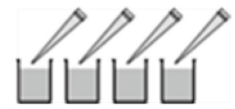
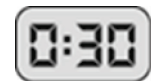
1. 환자의 혈액을 QFM Blood Collection Tube 또는 리튬 헤파린 채혈 튜브에 채혈합니다. 튜브에 환자의 세부 정보 및 채혈 시간을 적은 라벨을 부착한 다음, 채혈 8 시간 이내에 상온에서 실험실로 옮깁니다.
  - a. 혈액을 리튬 헤파린 혈액 튜브에 채혈한 경우, 혈액 1 ml 를 QFM Blood Collection Tube 에 분주하고, 환자 세부 정보 및 채혈 시간을 적은 라벨을 튜브에 부착합니다.
2. QFM LyoSphere 1 개를 혈액 1 ml 가 포함된 각 QFM Blood Collection Tube 에 첨가하고, LyoSphere 를 용해시킨 다음, 최대한 빨리(채혈 8 시간 이내) 튜브를 37°C 에서 16–24 시간 동안 **똑바로 세워** 배양합니다.
3. 배양 후에 튜브를 2000–3000 x g(RCF)에서 15 분 동안 원심분리하여 혈장과 적혈구를 분리합니다.
4. 원심분리 후 수확 전에는 위아래로 피펫팅하거나 어떤 식으로든 혈장을 혼합하지 마십시오. 겔 표면의 물질을 교란시키지 않도록 항상 주의하십시오.





## 2 단계 — IFN- $\gamma$ ELISA

1. 접합체 100x 농축액을 제외한 ELISA 구성요소를 최소 60 분 동안 실온에 이르도록 합니다.
2. 증류수 또는 탈이온수로 키트 표준액을 8.0 IU/ml 로 재구성합니다. 4 개의 표준 희석액을 준비합니다.
3. 동결건조된 접합체 100x 농축액을 탈이온수 또는 증류수로 재구성합니다.
4. 그린 희석제 내에 사용 강도 접합체를 준비하여 모든 웰에 50  $\mu$ l 를 첨가합니다.
5. 검사 혈장 검체 50  $\mu$ l(희석되지 않음, 적절한 경우 1:10 및 1:100 희석액), 그리고 표준 50  $\mu$ l 를 해당 웰에 첨가합니다. 셰이커로 혼합합니다.
6. 실온에서 120  $\pm$  5 분 동안 배양합니다.
7. 400  $\mu$ l/well 의 세척 완충액으로 웰을 최소 6 회 이상 씻어냅니다.
8. 웰에 100  $\mu$ l 의 효소 기질 용액을 첨가합니다. 셰이커로 혼합합니다.
9. 실온에서 30 분 동안 배양합니다.
10. 모든 웰에 50  $\mu$ l 의 효소 정지 용액을 첨가합니다. 셰이커로 혼합합니다.
11. 기준 필터를 620–650 nm 에 두고 450 nm 에서 결과를 판독합니다.
12. 결과를 분석합니다.



## 참고

## 중요한 변경 사항

이 QuantiFERON Monitor®(QFM®) ELISA 제품 첨부 설명서 개정본의 중요한 변경 사항이 아래 표에 요약되어 있습니다:

절	페이지	변경 사항
사전 주의사항	12	새 GHS 정보
사전 주의사항	13	크림프 캡이 있는 바이알과 관련된 안전 지침을 추가함.

## 참고

상표: QIAGEN®, QFM®, QuantiFERON®, QuantiFERON Monitor®(QIAGEN Group), LyoSphere™, LyoSpheres™(BioLymph), Excel®, Microsoft®(Microsoft), ProClin®(Rohm and Haas Co.).

#### QuantiFERON Monitor Kit 에 대한 제한적인 라이선스 계약.

본 제품을 사용하는 것은 제품의 구매자 또는 사용자가 다음의 조건에 동의함을 나타냅니다:

1. 이 제품은 제품과 함께 제공된 프로토콜과 안내서에 따라서만 사용할 수 있으며 키트에 포함되어 있는 구성품과만 사용할 수 있습니다. QIAGEN 은 제품과 함께 제공된 프로토콜 및 본 안내서, [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 에 제공된 추가 프로토콜에서 설명한 경우를 제외하고 지적 재산권에 따라 본 키트에 동봉된 구성품을 본 키트에 포함되지 않은 구성품과 통합하거나 사용하도록 라이선스를 부여하지 않습니다. QIAGEN 사용자를 위해 QIAGEN 사용자가 이 추가 프로토콜의 일부를 제공하였습니다. QIAGEN 에서 이 프로토콜을 철저히 검사하거나 최적화하지 않았습니다. QIAGEN 은 이를 보장하지 않으며 제 3 자의 권한을 침해하지 않는다는 것도 보증하지 않습니다.
2. 명시적으로 설명한 라이선스 이외에 QIAGEN 은 본 키트 및/또는 본 키트의 사용이 제 3 자의 권한을 침해하지 않음을 보증하지 않습니다.
3. 본 키트 및 해당 구성품은 일회용으로 라이선스가 부여되며 재사용, 재정비 또는 재판매할 수 없습니다.
4. QIAGEN 은 명시적으로 설명한 경우 이외에 명시적 또는 묵시적으로 다른 라이선스를 명확히 부인합니다.
5. 키트 구입자 및 사용자는 위에서 금지한 행위를 유도하거나 조장할 수 있는 조치를 취하거나 이를 허용하지 않는 데 동의합니다. QIAGEN 은 모든 법정에서 이와 같은 제한된 라이선스 협약의 금지를 시행할 수 있으며, 키트 및/또는 해당 구성요소에 관련하여 본 제한된 라이선스 협약 또는 지적 재산권을 시행하기 위한 모든 행동에서 변호사 비용을 포함하여 조사 및 법정 비용을 회수할 수 있습니다.

라이선스 조항의 업데이트는 [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) 을 참조합니다.

© 2014 QIAGEN, 모든 권한 보유.

## 참고

## 참고

---

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

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

