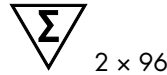


Februari 2018

# QuantiFERON<sup>®</sup>-CMV ELISA

## Bijsluiter



De interferon-gammatest (IFN- $\gamma$ ) voor volbloed die reacties meet op peptide-antigenen van het humaan cytomegalovirus

**IVD** Voor in-vitrodiagnostisch gebruik



**REF** 0350-0201



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

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

1075110NL Rev. 05



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



# Inhoud

Beoogd gebruik.....	5
Samenvatting en uitleg .....	5
Uitgangspunt van de procedure.....	6
Benodigde tijd voor het uitvoeren van de assay .....	7
Meegeleverde materialen .....	8
Inhoud van de kit .....	8
Benodigde maar niet meegeleverde materialen .....	9
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen .....	9
Veiligheidsinformatie .....	11
Opslag en verwerking reagentia .....	12
Specimenafname en -verwerking .....	13
Procedure .....	16
Fase 1: incubatie van bloed en verzamelen van plasma.....	16
Fase 2: QuantiFERON-CMV ELISA voor menselijk IFN- $\gamma$ .....	17
Berekeningen en interpretatie van de test.....	22
Genereren van de standaardcurve (als QF-CMV-analysesoftware niet wordt gebruikt) .....	22
Kwaliteitscontrole van de test .....	23
Interpretatie van de resultaten .....	24
Beperkingen.....	25
Verwachte waarden.....	25
Prestatiekenmerken .....	28

---

Klinische prestaties .....	28
Assaydrempel .....	29
Klinische onderzoeken .....	29
Specificiteit .....	30
Sensitiviteit .....	30
Onderzoek dat klinische bruikbaarheid benadrukt .....	31
Internationale richtlijnen voor consensus over de beheersing van cytomegalovirus bij transplantatie van vaste organen .....	36
Kwaliteitskenmerken assay .....	37
Technische informatie .....	39
Onbepaalde resultaten .....	39
Gestolde plasmamonsters .....	39
Problemen oplossen .....	40
Referenties .....	42
Symbolen .....	44
Contactgegevens .....	45
Verkorte ELISA-testprocedure .....	46
Fase 1: Bloedincubatie .....	46
Fase 2: IFN- $\gamma$ ELISA .....	46
Revisiegeschiedenis handleiding .....	49

# Beoogd gebruik

QuantiFERON-CMV ELISA (QF-CMV) is een in-vitro assay waarbij gebruikgemaakt wordt van een peptidcocktail die proteïnen van het humaan cytomegalovirus (cytomegalovirus, CMV) nabootst voor de stimulatie van cellen in gehepariniseerd volbloed. Detectie van interferon-gamma (interferon-gamma, IFN- $\gamma$ ) met ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) wordt gebruikt om in-vitro reacties te kwantificeren op deze peptide-antigenen, die worden geassocieerd met de immuuncontrole van infectie door CMV. Het verlies van deze immuunfunctie kan verband houden met het ontstaan van cytomegalie. Het gebruik van QF-CMV is bedoeld voor het monitoren van de mate van immuniteit van een patiënt tegen CMV.

QF-CMV is geen test om CMV-infectie vast te stellen en mag niet worden gebruikt om CMV-infectie uit te sluiten.

## Samenvatting en uitleg

CMV is een herpesvirus dat 50–85% van de volwassen populatie besmet. Het is een regelmatig optredende complicatie van immunosuppressie, met name na transplantaties, en kan de morbiditeit en mortaliteit van ontvangers van transplantaten aanzienlijk verhogen. De huidige immunosuppressietherapieën, gebruikt om het afstoten van een getransplanteerd orgaan te voorkomen, hebben schadelijke gevolgen voor de T-lymfocyten en cel-gemedieerde immuunrespons (cell-mediated immune, CMI), wat leidt tot een verhoogde ontvankelijkheid voor virale infecties na de transplantatie. Het belang van de functie van de T-helpercellen bij het onderdrukken van CMV-replicatie wordt gekenmerkt door het feit dat CD8<sup>+</sup> CMV-specifieke cytotoxische T-lymfocyten (cytotoxic T-lymphocytes, CTL's) bescherming kunnen bieden tegen virus-gerelateerde pathogenese. De telling van CD8<sup>+</sup> CMV-specifieke CTL's bij patiënten met immunosuppressie en de productie van IFN- $\gamma$  kunnen een voorspellende waarde hebben voor de kans op het ontwikkelen van CMV-besmetting. IFN- $\gamma$  productie kan een functioneel surrogaat zijn voor het identificeren van CMV-specifieke CTL's.

---

QF-CMV is een assay voor CMI-responsen op peptide-antigenen die CMV-eiwitten nabootsen. De CMV-eiwitten zijn ontworpen om CD8<sup>+</sup> T-helpercellen aan te vallen, inclusief HLA-klasse I haplotypen A1, A2, A3, A11, A23, A24, A26, B7, B8, B27, B35, B40, B41, B44, B51, B52, B57, B58, B60 en Cw6 (A30, B13), waaronder meer dan 98% van de menselijke populatie valt. Het bloed van met CMV geïnfecteerde personen bevat gewoonlijk CD8<sup>+</sup>-lymfocyten, die deze antigenen kunnen herkennen. Bij dit herkenningsproces wordt het cytokine IFN- $\gamma$  geproduceerd en afgescheiden. De detectie en de erop volgende kwantificering van IFN- $\gamma$  vormen de grondslag voor deze test.

## Uitgangspunt van de procedure

De QF-CMV-test wordt in twee stappen uitgevoerd. Eerst wordt bloed verzameld in de QF-CMV-bloedafnamebuisjes, bestaande uit een buisje voor nulcontrole, een buisje voor CMV-antigenen en een mitogeenbuisje.

Het mitogeenbuisje wordt in de QF-CMV-test gebruikt als een positieve controle. Dit kan in het bijzonder gerechtvaardigd zijn als er twijfel bestaat ten aanzien van de immuunstatus van de patiënt. Het mitogeenbuisje kan ook dienen ter controle van de juiste verwerking en incubatie van het bloedmonster.

De buisjes dienen zo snel mogelijk bij 37 °C te worden geïncubeerd, maar uiterlijk binnen 16 uur na de bloedafname. Na een incubatieperiode van 16 tot 24 uur worden de buisjes gecentrifugeerd, wordt het plasma verwijderd en wordt de hoeveelheid IFN- $\gamma$  (IE/ml) gemeten met behulp van de QF-CMV ELISA-methode.

De hoeveelheid IFN- $\gamma$  in plasmamonsters uit de CMV-antigeen- en mitogeenbuisjes kan vaak meer zijn dan de bovengrens voor de meeste ELISA-schalen aangeeft, ook bij personen die gematigd immunosuppressief zijn. Voor kwalitatieve resultaten moeten de waarden worden gebruikt die zijn berekend voor onverdund plasma. Voor kwantitatieve resultaten waarbij feitelijke IE/ml-waarden zijn vereist, moeten de plasmamonsters 1 op 10 worden verdund met groene verdunningsoplossing en samen met onverdund plasma worden getest met ELISA.

---

Opmerking: Voor monsters die zich binnen het bereik van de QF-CMV ELISA bevinden (d.w.z. max. 10 IE/ml), moeten de resultaten worden gebruikt die voor het onverdunde plasma zijn verkregen. Voor dergelijke IFN- $\gamma$ -concentraties kunnen waarden die met een 1:10-verdunding van de plasmamonsters zijn verkregen, onnauwkeurig zijn.

Een test wordt als reactief voor een IFN- $\gamma$  reactie beschouwd als het CMV-antigeenbuisje een waarde te zien geeft die aanzienlijk hoger ligt dan de nulcontrolewaarde IFN- $\gamma$  IE/ml. Het met mitogeen gestimuleerde plasmamonster dient als een positieve controle op IFN- $\gamma$  voor elk getest exemplaar. Een lage reactie op mitogeen duidt op een gemiddeld resultaat wanneer een bloedmonster tevens een niet-reactieve reactie te zien geeft op CMV-antigenen. Dit beeld kan optreden bij onvoldoende lymfocyten, een verminderde lymfocytenactiviteit wegens een onjuiste behandeling van de monsters, onjuist vullen of mengen van het mitogeenbuisje of het feit dat de lymfocyten van de patiënt geen IFN- $\gamma$  kunnen produceren, bijvoorbeeld vlak na een transplantatie. Het nulcontrolemonster dient als ijkingsmonster voor niet-specifieke of achtergrond-IFN- $\gamma$  in bloedmonsters. Het IFN- $\gamma$ -gehalte in het nulcontrolebuisje wordt afgetrokken van het gehalte aan IFN- $\gamma$  in de CMV-antigeen- en mitogeenbuisjes (raadpleeg "Interpretatie van de resultaten" op pagina 24 van deze bijsluiters voor een overzicht van hoe de QF-CMV-resultaten moeten worden geïnterpreteerd).

## Benodigde tijd voor het uitvoeren van de assay

De geschatte benodigde tijd voor het uitvoeren van de QF-CMV-assay wordt hieronder gegeven. Tevens wordt de tijd aangegeven voor het testen van meerdere gegroepeerde monsters:

Incubatie bij 37 °C van buisjes met bloed:	16 tot 24 uur
ELISA:	Circa 3 uur per ELISA-plaat
	Minder dan 1 uur werk
	10 tot 15 minuten toevoegen voor elke extra plaat

# Meegeleverde materialen

## Inhoud van de kit

Blood Collection Tubes (Single Patient Pack)	
Catalogusnr.	0192-0301
Aantal preparaten	1
QuantiFERON Nil Control (QuantiFERON-nulcontrole) (grijze dop)	1 buisje
QuantiFERON CMV Antigen (QuantiFERON CMV-antigeen) (blauwe dop)	1 buisje
QuantiFERON Mitogen Control (QuantiFERON mitogeencntrole) (paarse dop)	1 buisje
QF-CMV Blood Collection Tubes Package Insert (Bijsluiter QF-CMV-bloedafnamebuisjes)	1

QuantiFERON-CMV ELISA	ELISA-kit met 2 platen
Catalogusnr.	0350-0201
Strips voor microtiterplaten (12 × 8 putjes) voorzien van een laagje murine anti-menselijk IFN- $\gamma$ monokonaal antilichaam	2 sets van strips voor microtiterplaten met 12 × 8 putjes
Human IFN- $\gamma$ Standard, lyophilized (menselijk IFN- $\gamma$ standaard, gelyofiliseerd) (bevat recombinant menselijk IFN- $\gamma$ , bovine caseïne, 0,01% vol. Thimerosal)	1 × flacon (8 IE/ml indien gereconstitueerd)
Green Diluent (groene verdunningsoplossing) (bevat bovine caseïne, normaal muizenserum, 0,01% vol. Thimerosal)	1 × 30 ml
Conjugate 100x Concentrate, lyophilized (conjugaatconcentraat 100x, gelyofiliseerd) (murine anti-menselijk IFN- $\gamma$ HRP, bevat 0,01% vol. Thimerosal)	1 × 0,3 ml
Wash Buffer 20x Concentrate (spoelbuffer 20x geconcentreerd) (pH 7,2 bevat 0,05% vol. ProClin® 300)	1 × 100 ml
Enzyme Substrate Solution (enzymsubstraatoplossing) (bevat H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3', 5,5' Tetramethylbenzidine)	1 × 30 ml
Enzyme Stopping Solution (enzymremmingsoplossing) (bevat 0,5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )*	1 × 15 ml
QF-CMV ELISA Package Insert (Bijsluiter QF-CMV ELISA)	1

\* Bevat zwavelzuur. Zie pagina 9 voor voorzorgsmaatregelen.



# Benodigde maar niet meegeleverde materialen

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (safety data sheets, SDS) die bij de leveranciers van de producten verkrijgbaar zijn.

- 37 °C-incubator; CO<sub>2</sub> niet vereist
- Gekalibreerde pipetten met variabel volume voor toediening van 10 µl tot 1000 µl, met wegwerptips
- Gekalibreerde meerkanaalspipetten voor toedienen van 50 tot 100 µl, met wegwerptips
- Schudapparaat voor microtiterplaten
- Gedeïoniseerd of gedestilleerd water, 2 liter
- Spoelinstallatie voor microtiterplaten (automatische spoeler aanbevolen).
- Microtiterplaatlezer met 450 nm-filter en referentiefilter van 620 tot 650 nm

# Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Voor in-vitrodiagnostisch gebruik

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen. Deze zijn als handige, compacte PDF-bestanden beschikbaar op [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety). Hier kunt u ook de VIB voor elke QIAGEN®-kit en elk onderdeel van de kit vinden, bekijken en afdrukken.

VOORZICHTIG



Behandel menselijk bloed alsof het besmettelijk zou kunnen zijn. Houd u aan de relevante richtlijnen voor verwerking.

De volgende gevarenaanduidingen en voorzorgsmaatregelen zijn van toepassing op de onderdelen van de QuantiFERON-CMV ELISA.

#### QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Bevat: zwavelzuur. Waarschuwing! Kan bijtend zijn voor metalen. Veroorzaakt huidirritatie. Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Beschermende handschoenen/ beschermende kleding/ oogbescherming/ gelaatsbescherming dragen

#### QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Waarschuwing! Veroorzaakt lichte huidirritatie. Beschermende handschoenen/ beschermende kleding/ oogbescherming/ gelaatsbescherming dragen.

#### QuantiFERON Green Diluent



Bevat: trinitrium-5-hydroxy-1-(4-sulfofenyl)-4-(4-sulphophenylazo) pyrazool-3-carboxylaate. Bevat: tartrazine. Waarschuwing! Kan een allergische huidreactie veroorzaken. Beschermende handschoenen/ beschermende kleding/ oogbescherming/ gelaatsbescherming dragen

#### QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Bevat: ProClin 300. Schadelijk voor in het water levende organismen, met langdurige gevolgen. Voorkom lozing in het milieu.

---

## Veiligheidsinformatie

### Overige informatie

- Indien wordt afgeweken van de QF-CMV-bijsluiter kan dit leiden tot foutieve resultaten. Lees voor gebruik zorgvuldig de instructies.
- Gebruik de kit niet als een flesje met reagens vóór gebruik tekenen van schade of lekkage vertoont.
- **Belangrijk:** Controleer de flacons vóór gebruik. Gebruik flacons met conjugaat of IFN- $\gamma$ -standaard niet als deze tekenen van schade vertonen of als de rubberen afsluiting is beschadigd. Pak gebroken flacons niet vast. Neem geschikte veiligheidsmaatregelen om flacons veilig af te voeren.

Advies: Gebruik de flacon-ontdopper om de flacons met conjugaat of IFN- $\gamma$ -standaard te openen om het risico op letsel door de metalen dop te minimaliseren.

- Strips voor microtiterplaten, menselijk IFN- $\gamma$  standaard, groene verdunningsoplossing of conjugaatconcentraat 100x uit verschillende QF-CMV-kitpartijen mogen niet worden gemengd of door elkaar gebruikt. Andere reagentia (spoelbuffer 20x geconcentreerd, enzymsubstraatoplossing en enzymremmingsoplossing) kunnen worden uitgewisseld tussen kits op voorwaarde dat de vervaldatum van de reagentia nog niet is verstreken en dat de partijgegevens worden geregistreerd.
- Werp niet-gebruikte reagentia en biologische monsters weg volgens de plaatselijke of nationale regelgeving.
- Gebruik geen QF-CMV-bloedafnamebuisjes of QF-CMV ELISA-kits waarvan de vervaldatum is verstreken.
- Zorg ervoor dat laboratoriumapparatuur, zoals plaatspoelers en leesapparaten, is gekalibreerd en gevalideerd voor gebruik.

# Opslag en verwerking reagentia

## Bloedafnamebuisjes

- Bewaar QF-CMV-bloedafnamebuisjes bij 4 °C tot 25 °C.
- Tijdens het vullen met bloed moeten de QF-CMV-bloedafnamebuisjes op een temperatuur van 17 °C tot 25 °C worden gehouden.
- De houdbaarheid van de QF-CMV-bloedafnamebuisjes bedraagt maximaal 15 maanden vanaf de productiedatum en indien opgeslagen bij 4 °C tot 25°C.

## Reagentia van ELISA-kit

- Bewaar de kit bij een temperatuur van 2 °C tot 8 °C.
- Sla de enzymsubstraatoplossing nooit in direct zonlicht op.

## Gereconstitueerde en niet-gebruikte reagentia

Zie "Fase 2: QuantiFERON-CMV ELISA voor menselijk IFN- $\gamma$ " (stap 3 en 5 op pagina 17 en 19) voor instructies over het reconstitueren van de reagentia.

- De gereconstitueerde menselijke IFN- $\gamma$ -standaard kan tot 3 maanden bewaard blijven indien opgeslagen bij 2 °C tot 8 °C.  
Let op de datum waarop de menselijke IFN- $\gamma$ -standaard is gereconstitueerd.
- Zodra het niet-gebruikte conjugaatconcentraat 100x is gereconstitueerd, moet het opnieuw worden opgeslagen bij 2 °C tot 8 °C en binnen 3 maanden worden gebruikt.  
Let op de datum waarop het conjugaat is gereconstitueerd.
- Gebruiksklaar conjugaat moet binnen 6 uur na bereiding worden gebruikt.
- Gebruiksklare spoelbuffer kan gedurende 2 weken op kamertemperatuur ( $22 \pm 5$  °C) worden bewaard.

# Specimenafname en -verwerking

Voor QF-CMV worden de volgende bloedafnamebuisjes gebruikt:

- Nil Control (nulcontrole) (grijze dop)
- CMV-antigeen (blauwe dop)
- Mitogeencontrole (paarse dop)

De binnenzijde van de bloedafnamebuisjes is bedekt met gedroogd antigeen. Het is dus van belang dat de inhoud van de buisjes goed met bloed wordt gemengd. De buisjes dienen zo snel mogelijk in een incubator van 37 °C te worden geplaatst, maar uiterlijk binnen 16 uur na de bloedafname.

Voor optimale resultaten dienen de volgende procedures te worden gevolgd:

1. Verzamel door middel van venapunctie van elke proefpersoon 1 ml bloed rechtstreeks in elk van de QF-CMV-bloedafnamebuisjes. Deze procedure moet worden uitgevoerd door een daartoe opgeleid personeel.

Tot een hoogte van 810 meter moet gebruik worden gemaakt van QF-CMV-bloedafnamebuisjes.

Bij gebruik van QF-CMV-bloedafnamebuisjes bij hoogten van meer dan 810 meter of bij lage testvolumes kan het bloed ook worden afgetapt met een spuit; in dat geval wordt in elk van de drie buisjes 1 ml bloed gedaan. Vanwege de veiligheid kan dit het beste geschieden door de injectienaald te verwijderen (met inachtneming van de juiste veiligheidsprocedures), de doppen van de drie QF-CMV-bloedafnamebuisjes te verwijderen en 1 ml bloed aan elk buisje toe te voegen (tot aan het midden van de zwarte markering aan de zijkant van het etiket). Bevestig de doppen weer stevig op de buisjes en meng zoals hieronder beschreven. Het verzamelen van 1 ml bloed gaat

---

relatief langzaam. Houd het buisje daarom gedurende 2-3 seconden op de naald als het buisje helemaal vol lijkt te zijn om er zeker van te zijn dat het juiste volume is bereikt.

De zwarte markering op de zijkant van de buisjes geeft een volume van 1 ml aan. QF-CMV-bloedafnamebuisjes zijn gevalideerd voor volumes van 0,8 tot 1,2 ml. Als het bloedniveau in een buisje niet dichtbij de indicatiemarkering ligt, moet u een nieuw bloedmonster afnemen.

Als voor het verzamelen van het bloed een vliedernaald wordt gebruikt, moet een afnamebuisje worden gebruikt om ervoor te zorgen dat het slangetje met bloed is gevuld voordat de QF-CMV-bloedafnamebuisjes worden gebruikt.

U kunt ook bloed afnemen in één generiek bloedafnamebuisje dat lithiumheparine als antistollingsmiddel bevat en dit vervolgens overbrengen naar QF-CMV-bloedafnamebuisjes. Gebruik alleen lithiumheparine als antistollingsmiddel voor het bloed aangezien andere antistollingsmiddelen de assay kunnen verstoren. Vul een bloedafnamebuisje (minimaal volume 5 ml) en meng dit voorzichtig door het buisje meerdere keren om te draaien zodat de heparine oplost. Deze procedure moet worden uitgevoerd door een daartoe opgeleid personeel. Bloed moet op kamertemperatuur ( $22 \pm 5$  °C) worden bewaard alvorens te worden overgebracht naar QF-CMV-bloedafnamebuisjes voor de incubatie, die binnen 16 uur na de bloedafname moet worden ingeleid.

2. Zodra de QF-CMV-bloedafnamebuisjes zijn gevuld, moeten deze 10 maal net krachtig genoeg worden geschud om ervoor te zorgen dat de gehele binnenwand van de buisjes met bloed wordt bedekt en het antigeen op de binnenwand is opgelost.

Tijdens het vullen met bloed moeten de buisjes op een temperatuur van 17 °C tot 25 °C worden gehouden.

Te krachtig schudden kan tot afbraak van de gel en derhalve afwijkende resultaten leiden.

Als bloed is afgetapt in een lithiumheparinebuisje, moeten monsters gelijkmatig worden vermengd voordat zij via pipetteren naar QF-CMV-bloedafnamebuisjes worden overgebracht. Zorg ervoor dat het bloed goed gemengd wordt via zachte inversie direct

---

voorafgaand aan de pipettering. Pipetteer aliquots van 1 ml (één per QF-CMV-bloedafnamebuisje) naar een geschikt nulcontrole-, CMV-antigeen- en mitogeenbuisje. Dit moet aseptisch geschieden door, met inachtneming van de juiste veiligheidsprocedures, de doppen van de drie QF-CMV-bloedafnamebuisjes te verwijderen en 1 ml bloed aan elk buisje toe te voegen (tot aan de zwarte markering aan de zijkant van het etiket). Bevestig de doppen weer stevig op de buisjes en meng zoals hierboven beschreven.

3. Voorzie de buisjes van passende etiketten.

Zorg ervoor dat elk buisje (nulcontrole, CMV-antigeen en mitogeen) herkenbaar is aan het etiket of andere middelen.

4. Na het vullen, schudden en etiketteren moeten de buisjes zo snel mogelijk, maar uiterlijk binnen 16 uur na de bloedafname, in een incubator van  $37 \pm 1$  °C te worden geplaatst. Bewaar de buisjes vóór de incubatie op kamertemperatuur ( $22 \pm 5$  °C). Zet de bloedmonsters niet in de koelkast en vries ze niet in.

# Procedure

## Fase 1 : incubatie van bloed en verzamelen van plasma

1. Incubeer de buisjes RECHTOPSTAAND gedurende 16 tot 24 uur bij  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ .  $\text{CO}_2$  of bevochtiging is hierbij niet vereist.

Belangrijk: Als de bloedmonsters niet onmiddellijk na de bloedafname worden geïncubeerd, moeten de buisjes vlak voor de incubatie opnieuw worden gemengd door ze 10 maal om te keren.

Na de incubatie kunnen de bloedafnamebuisjes maximaal 3 dagen bij  $4\text{ °C}$  tot  $27\text{ °C}$  worden bewaard voorafgaand aan de centrifugering.

2. Na de incubatie van de buisjes bij  $37\text{ °C}$  worden deze voor het eenvoudiger extraheren van het plasma gedurende 15 minuten bij 2000 tot 3000 g (RCF) gecentrifugeerd. De cellen worden door een gelprop van het plasma gescheiden. Als de gelprop niet verschijnt, moeten de buisjes opnieuw worden gecentrifugeerd.

Het is mogelijk het plasma zonder centrifugeren te verzamelen, maar extra zorg is geboden om het plasma te scheiden zonder de cellen te verstoren.

3. Na het centrifugeren en voorafgaand aan het verzamelen moet op en neer bewegen van de pipet of mengen van het plasma te allen tijde worden vermeden. Zorg er altijd voor dat het materiaal aan het oppervlak van de gel niet wordt verstoord.

Belangrijk: Plasmamonsters mogen alleen met een pipet worden verzameld.

Plasmamonsters kunnen rechtstreeks vanuit de gecentrifugeerde bloedafnamebuisjes worden overgebracht op de QF-CMV ELISA-plaat, ook als geautomatiseerde ELISA-werkstations worden gebruikt.

Plasmamonsters kunnen maximaal 28 dagen bij  $2\text{ °C}$  tot  $8\text{ °C}$  in gecentrifugeerde bloedafnamebuisjes worden bewaard. Na extractie van het plasma kunnen ze bij  $-20\text{ °C}$  of lager (het liefst lager dan  $-70\text{ °C}$ ) nog langer worden bewaard.

Extraheer ten minste 150  $\mu\text{l}$  plasma om zeker te zijn van voldoende testmonsters.



## Fase 2: QuantiFERON-CMV ELISA voor menselijk IFN- $\gamma$

Raadpleeg "Inhoud van de kit", pagina 8 en "Benodigde maar niet meegeleverde materialen", pagina 9, voor de materialen die zijn vereist om ELISA uit te voeren.

1. Alle plasmamonsters en reagentia, behalve conjugaatconcentraat 100x, dienen vóór gebruik op kamertemperatuur ( $22 \pm 5$  °C) te worden gebracht. Laat minimaal 60 minuten staan om evenwicht te bereiken.
2. Verwijder ELISA-plaatstrips die niet nodig zijn van het frame, verzegel ze opnieuw in de folieverpakking en zet deze terug in de koelkast voor later gebruik.

Reserveer ten minste één strip voor de QF-CMV ELISA-standaarden en voldoende strips voor het aantal te testen patiënten. Bewaar na gebruik het frame en het deksel om later met de resterende strips te gebruiken.

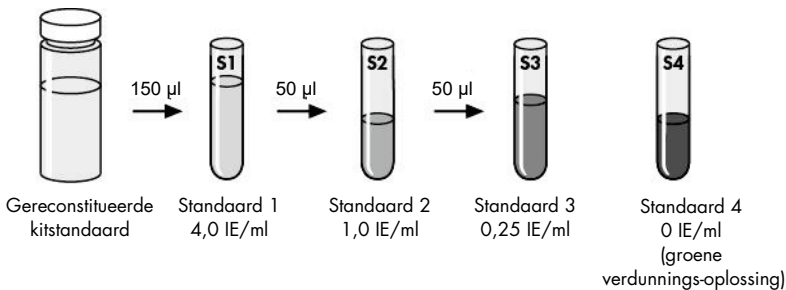
3. Reconstitueer de menselijke IFN- $\gamma$ -standaard met de hoeveelheid gedeïoniseerd of gedestilleerd water zoals aangegeven op het etiket van de flacon. Meng voorzichtig om schuimvorming zoveel mogelijk tegen te gaan en zorg dat volledige heroplossing plaatsvindt. Reconstitutie van de IFN- $\gamma$ -standaard naar het correcte volume geeft een oplossing met een concentratie van 8,0 IE/ml.

Opmerking: Het reconstitutievolume van de menselijke IFN- $\gamma$ -standaard (kitstandaard) verschilt van partij tot partij.

Bereid, met behulp van de gereconstitueerde standaard, een verdunningsreeks voor, bestaande vier IFN- $\gamma$ -concentraties in groene verdunningsoplossing (Green Diluent, GD) (Afbeelding 1, volgende pagina). S1 (standaard 1) bevat 4,0 IE/ml, S2 (standaard 2) bevat 1,0 IE/ml, S3 (standaard 3) bevat 0,25 IE/ml en S4 (standaard 4) bevat 0 IE/ml (alleen GD). De standaarden moeten minstens dubbel worden getest. Maak voor elke ELISA-bewerking nieuwe verdunningen van de kitstandaard.

Voorbeeld van procedure voor dubbele standaarden

Voorbeeld van procedure voor dubbele standaarden	
A	Voorzie vier buisjes van een etiket: S1, S2, S3, S4
B	Voeg 150 µl GD toe aan S1, S2, S3 en S4
C	Voeg 150 µl kitstandaard toe aan S1 en meng goed
D	Breng 50 µl uit S1 over in S2 en meng goed
E	Breng 50 µl uit S2 over in S3 en meng goed
F	GD alleen dient als de nulstandaard (S4)



Afbeelding 1. Maken van de standaardcurve met seriële verdunning.

4. Reconstitueer gelyofiliseerd conjugaatconcentraat 100x met 0,3 ml gedeïoniseerd of gedestilleerd water. Meng voorzichtig om schuimvorming zoveel mogelijk tegen te gaan en zorg dat volledige oplossing van het conjugaat plaatsvindt.

Gebruiksklaar conjugaat wordt bereid door de vereiste hoeveelheid gereconstitueerd conjugaatconcentraat 100x te verdunnen met groene verdunningsoplossing (zie Tabel 1, volgende pagina).

Meng goed maar voorzichtig om schuimvorming tegen te gaan.

Sla onmiddellijk na gebruik eventueel niet-gebruikt conjugaatconcentraat 100x weer op bij een temperatuur van 2 °C tot 8 °C.

Gebruik alleen groene verdunningsoplossing.

Tabel 1. Bereiding gebruiksklaar conjugaat

Aantal strips	Hoeveelheid conjugaatconcentraat 100x	Hoeveelheid groene verdunningsoplossing
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. Plasmamonsters die zijn verkregen uit bloedafnamebuisjes en vervolgens gedurende meer dan 24 uur vóór de assay zijn bevroren of opgeslagen, moeten worden gemengd alvorens te worden toegevoegd aan het ELISA-putje.

**Belangrijk:** Als plasmamonsters rechtstreeks vanuit de gecentrifugeerde QF-CMV-bloedafnamebuisjes moeten worden toegevoegd, dient vermenging van het plasma te worden vermeden. Zorg er altijd voor dat het materiaal aan het oppervlak van de gel niet wordt verstoord.

6. Verdun de CMV- en mitogeenplasma's 1 op 10 in groene verdunningsoplossing (10 µl plasma met 90 µl GD) als kwantitatieve resultaten nodig zijn. Het nulcontroleplasma mag niet worden verdund.

Het wordt aanbevolen de volgende monsters tegelijkertijd te testen:

Nulcontrole, CMV-antigeen, mitogeen, CMV-antigeen (1:10), mitogeen (1:10)

De volgende opties voor patiëntmonsters worden echter ook ondersteund door de analysesoftware van QuantiFERON-CMV:

Nulcontrole, CMV-antigeen, mitogeen

Nulcontrole, CMV-antigeen (1:10), mitogeen (1:10)

Nulcontrole, CMV-antigeen, mitogeen, CMV-antigeen (1:10)

Nulcontrole, CMV-antigeen (1:10), mitogeen

7. Voeg met behulp van een meerkanaalspipet 50 µl vers bereid, gebruiksklaar conjugaat toe aan de betreffende ELISA-putjes.
8. Voeg 50 µl testplasmamonsters aan de betreffende putjes toe. Voeg ten slotte 50 µl van elk van de standaarden 1 t/m 4 aan de betreffende putjes toe. De standaarden moeten minstens dubbel worden getest.
9. Dek de ELISA-plaat af met een deksel en meng het conjugaat met de plasmamengsels/standaarden gedurende 1 minuut goed met behulp van een schudapparaat voor microtiterplaten bij 500 tot 1000 trillingen per minuut. Vermijd spatten.
10. Dek de ELISA-plaat af met een deksel en incubeer gedurende  $120 \pm 5$  minuten op kamertemperatuur ( $22 \pm 5$  °C).  
Tijdens het incuberen mogen de platen niet aan direct zonlicht worden blootgesteld. Wanneer wordt afgeweken van het gespecificeerde temperatuurbereik, kan dit tot foutieve resultaten leiden.
11. Tijdens het incuberen bereidt u de gebruiksklare spoelbuffer voor. Verdun één deel spoelbuffer, concentraat 20x, met 19 delen gedeïoniseerd of gedestilleerd water en meng goed. Er is voldoende spoelbuffer, concentraat 20x, aanwezig om 2 liter gebruiksklare spoelbuffer te maken.
12. Wanneer het incuberen van de ELISA-plaat is voltooid, wast u de putjes met 400 µl gebruiksklare wasbuffer gedurende minstens zes cycli. Er wordt een geautomatiseerde plaatspoeler aanbevolen.  
Belangrijk: Zorgvuldig spoelen is erg belangrijk voor het uitvoeren van de assay. Zorg dat elk putje voor elke spoelcyclus tot aan de rand volledig is gevuld met spoelbuffer. Er wordt een inweektijd van minstens 5 seconden tussen de cycli aanbevolen.

---

Er dient een standaard desinfecterend middel voor laboratoria te worden toegevoegd aan het uitstroomreservoir en er moeten algemeen aanvaarde procedures worden gevolgd voor het ontsmetten van potentieel besmettelijk materiaal.

13. Houd de platen omgekeerd boven een absorberende, niet-pluizende doek en tik erop om resterende spoelbuffer te verwijderen. Voeg 100 µl enzymsubstraatoplossing toe aan elk putje, dek de plaat af met een deksel en meng goed met behulp van een schudapparaat voor microtiterplaten gedurende 1 minuut bij 500 tot 1000 trillingen per minuut.
14. Dek elke plaat af en incubeer gedurende 30 minuten op kamertemperatuur ( $22 \pm 5$  °C). Tijdens het incuberen mogen de platen niet aan direct zonlicht worden blootgesteld.
15. Na afloop van het incuberen gedurende 30 minuten, voegt u 50 µl enzymremmingsoplossing aan elk putje, in dezelfde volgorde als waarin het substraat was toegevoegd, en mengt u deze goed met behulp van een schudapparaat voor microtiterplaten bij 500 tot 1000 trillingen per minuut.
16. Meet binnen 5 minuten na het stoppen van de reactie de absorptie of optische dichtheid (Optical Density, OD) van elk putje met een microtiterplaatlezer die is voorzien van een 450 nm-filter en een referentiefilter van 620 tot 650 nm. OD-waarden worden gebruikt om de resultaten te berekenen.

# Berekeningen en interpretatie van de test

QuantiFERON-CMV-analysesoftware, voor de analyse van oorspronkelijke gegevens en de berekening van resultaten, is verkrijgbaar bij QIAGEN op [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Zorg ervoor dat de meest recente versie van de QF-CMV-analysesoftware wordt gebruikt.

De software voert een kwaliteitscontrole voor de assay uit, genereert een standaardcurve en geeft voor elke proefpersoon een testresultaat, zoals verder is uitgewerkt in "Interpretatie van de resultaten" op pagina 24. De software rapporteert het minst verdunde monster dat een resultaat genereert binnen het bereik van de QF-CMV ELISA, waarbij rekening wordt gehouden met de verdunningsfactor.

In plaats van met de analysesoftware van QF-CMV kunnen de resultaten ook worden bepaald met de volgende methode:

## Genereren van de standaardcurve (als QF-CMV-analysesoftware niet wordt gebruikt)

Bepaald de gemiddelde OD-waarden van de Kit-standaardreplicaten op elke plaat.

Construeer een dubbellogaritmische standaardcurve door de  $\log_{(e)}$  van de gemiddelde OD (y-as) af te zetten tegen de  $\log_{(e)}$  van de IFN- $\gamma$ -concentratie van de standaarden in IE/ml (x-as), waarbij de nulstandaard niet bij deze berekeningen moet worden betrokken. Bereken de best passende lijn voor de standaardcurve met behulp van regressieanalyse.

Gebruik de standaardcurve om de IFN- $\gamma$ -concentratie (IE/ml) vast te stellen voor elk testplasmamonster met behulp van de OD-waarde van elk monster.

Deze berekeningen kunnen worden uitgevoerd met softwarepakketten die bij microtiterplaatlezers worden geleverd en een standaardspreadsheet of statistische software (zoals Microsoft® Excel®). Het wordt aanbevolen deze pakketten te gebruiken voor het berekenen van de regressieanalyse, de variatiecoëfficiënt (coefficient of variation, %CV) van de standaarden en de correlatiecoëfficiënt (r) van de standaardcurve.

---

Het gerapporteerde resultaat dient het minst verdunde monster te zijn dat een resultaat genereert binnen het bereik van de QF-CMV ELISA. Daarbij dient, waar van toepassing, rekening te worden gehouden met de verdunningsfactor.

## Kwaliteitscontrole van de test

De nauwkeurigheid van de testresultaten hangt af van het genereren van een accurate standaardcurve. Resultaten die van de standaarden worden afgeleid, dienen dus nader te worden bekeken voordat de resultaten van de testmonsters kunnen worden geïnterpreteerd.

De ELISA is geldig als aan het volgende is voldaan:

- De gemiddelde OD-waarde voor standaard 1 moet  $\geq 0,600$  zijn.
- De %CV voor de OD-waarden van de replicaten van standaard 1 en standaard 2 dienen  $< 15\%$  te zijn.
- De OD-waarden van de replicaten van standaard 3 en standaard 4 mogen niet meer dan  $0,040$  eenheden optische dichtheid van het gemiddelde afwijken.
- De correlatiecoëfficiënt ( $r$ ) van de gemiddelde absorptiewaarden van de standaarden dient  $\geq 0,98$  te zijn.

De QF-CMV-analysesoftware berekent deze parameters voor kwaliteitscontrole en rapporteert deze. Als niet aan bovenstaande criteria wordt voldaan, is de run ongeldig en moet deze worden herhaald.

De gemiddelde OD-waarde van de nulstandaard (groene verdunningsoplossing) dient  $\leq 0,150$  te zijn. Als de gemiddelde OD-waarde  $> 0,150$  is, dient de plaatspoelprocedure te worden gecontroleerd.

# Interpretatie van de resultaten

QuantiFERON-CMV-resultaten worden geïnterpreteerd aan de hand van de criteria in Tabel 2.

Tabel 2. Interpretatie van QuantiFERON-CMV-resultaten

Nulcontrole (IE/ml)	CMV minus nulcontrole (IE/ml)	Mitogeen minus nulcontrole (IE/ml)*	QF-CMV-resultaat	Rapport/interpretatie
≤ 8,0	≥ 0,20 en ≥ 25% van nulcontrole	Elke waarde	Reactief <sup>†</sup>	Anti-CMV-immuniteit gedetecteerd
	< 0,20 OF ≥ 0,20 en < 25% van nulcontrole	≥ 0,5	Niet-reactief	Anti-CMV-immuniteit NIET gedetecteerd
		< 0,5	Onbepaald <sup>‡</sup>	Resultaten zijn onbepaald voor CMV-activiteit
> 8,0 <sup>§</sup>	Elke waarde	Elke waarde	Onbepaald <sup>‡</sup>	Resultaten zijn onbepaald voor CMV-activiteit

\* Reacties op de mitogeenpositieve controle (en soms CMV-antigenen) kunnen zich gewoonlijk buiten het bereik van de microtiterplaatlezer bevinden. Dit is niet van invloed op de testresultaten.

<sup>†</sup> Als er geen vermoeden van een cytomegalovirus-infectie bestaat, kunnen aanvankelijk reactieve resultaten worden bevestigd door de originele plasmamonsters in de QF-CMV ELISA opnieuw dubbel te testen. Als de herhaalde test bij een of beide replicaten een positief resultaat oplevert, moet het testresultaat als reactief worden beoordeeld.

<sup>‡</sup> Raadpleeg "Problemen oplossen" (pagina 40) voor mogelijke oorzaken.

Uit klinisch onderzoek (1) is gebleken dat een onbepaald resultaat bij patiënten die vaste organen kregen, waarbij een donor reactief is voor CMV, maar de mitogeencontrole onder 0,5 IE/ml lag, klinisch relevant was. Dergelijke patiënten lopen het hoogste risico op CMV-ontwikkeling.

<sup>§</sup> In klinische onderzoeken had minder dan 0,25% van de proefpersonen IFN- $\gamma$ -waarden van > 8,0 IE/ml bij de nulcontrole.

**Opmerking:** De gemeten IFN- $\gamma$ -waarde moet samen met klinische symptomen, medische voorgeschiedenis en andere diagnostische evaluaties worden gebruikt bij het vaststellen van de immunrespons op CMV-antigenen. QF-CMV is geen test om CMV-infectie vast te stellen en mag niet worden gebruikt om CMV-infectie uit te sluiten.



---

# Beperkingen

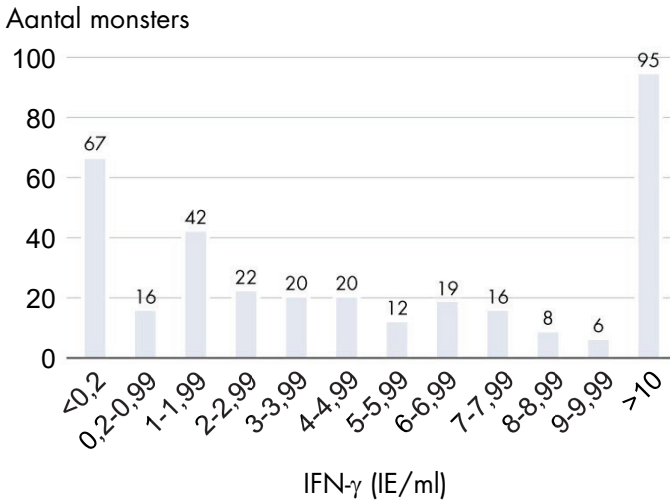
De resultaten van de QuantiFERON-CMV-test dienen te worden gebruikt in combinatie met de epidemiologische voorgeschiedenis, de huidige medische status en andere diagnostische evaluaties van elke proefpersoon.

Onbetrouwbare of onbepaalde resultaten kunnen het gevolg zijn van:

- Afwijkingen van de procedure beschreven in de bijsluiters van QuantiFERON-CMV ELISA
- Buitensporige IFN- $\gamma$ -niveaus in het nulcontrolebuisje
- Overschrijding van de termijn van 16 uur tussen bloedafname en incubatie bij 37 °C.

# Verwachte waarden

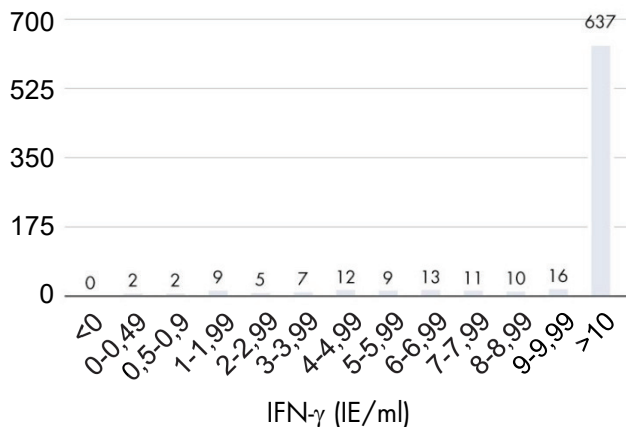
Verwachte IFN- $\gamma$ -waarden afkomstig van QuantiFERON-CMV zijn verkregen uit het testen van 591 monsters van gezonde proefpersonen. 343 monsters zijn seropositief getest en 248 monsters zijn seronegatief getest op CMV IgG. CMV-serologiestatus was onbekend op het moment van de QF-CMV-test. In de 248 monsters van CMV-seronegatieve proefpersonen was 100% (248/248) van de geteste monsters niet-reactief bij QF-CMV ELISA, waarbij IFN- $\gamma$ -reacties van < 0,2 IE/ml op het CMV-antigeenbuisje (na aftrek van nulcontrole) werden geproduceerd. De verdeling van IFN- $\gamma$ -reacties op het CMV-antigeenbuisje (na aftrek van nulcontrole) voor de 343 CMV-seropositieve proefpersonen wordt weergegeven (Afbeelding 2).



Afbeelding 2. Verdeling van de QF-CMV IFN- $\gamma$ -reacties (na aftrek van nulcontrole) bij seroposatieve, gezonde proefpersonen (n = 343).

De verdeling van IFN- $\gamma$ -reacties op mitogeen (na aftrek van nulcontrole) is bepaald aan de hand van 733 monsters van gezonde, volwassen proefpersonen met behulp van de QF-CMV ELISA, ongeacht CMV IgG-serologie (Afbeelding 3). Een resultaat van minder dan 0,5 IE/ml mitogeen (na aftrek van nulcontrole) duidt ofwel op een mislukte test, ofwel dat de proefpersoon immunogecompromitteerd is. Bij een gezonde populatie valt slechts 2/733 deel in deze categorie.

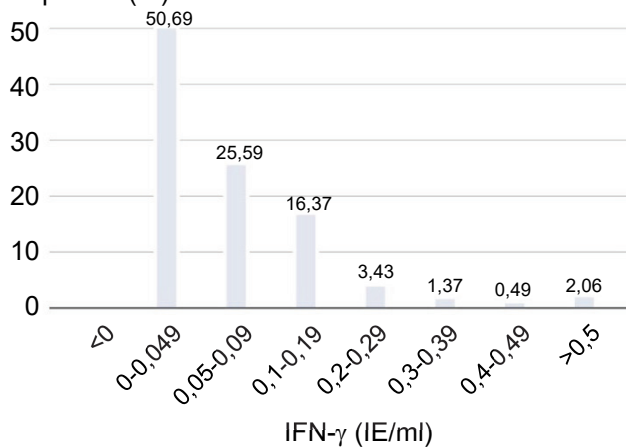
### Aantal monsters



Afbeelding 3. Verdeling van de mitogeen-IFN- $\gamma$ -reacties (na aftrek van nulcontrole) bij gezonde proefpersonen (n = 733).

De verdeling van IFN- $\gamma$ -reacties op nulcontrolebuisjes is bepaald aan de hand van 1020 plasmamonsters van gezonde proefpersonen met behulp van de QF-CMV ELISA, ongeacht CMV IgG-serologie (Afbeelding 4).

### Populatie (%)



Afbeelding 4. Verdeling van nulcontrole-IFN- $\gamma$ -reacties bij gezonde proefpersonen (n = 1020), uitgedrukt als percentage van de populatie.

# Prestatiekenmerken

## Klinische prestaties

Een testdrempel voor de detectie van eerdere blootstelling aan CMV met behulp van QF-CMV werd bepaald na analyse van de resultaten van een groep gezonde proefpersonen (n = 223), waarbij de QF-CMV-resultaten werden vergeleken met de serologische resultaten voor CMV IgG. Een ROC-analyse heeft vastgesteld dat een testdrempel van 0,04 IE/ml (na aftrek van nulcontrole) optimale positieve en negatieve voorspellende waarden opleverde voor QF-CMV (gebied onder de curve = 0,9679 [95%CI: 0,9442 – 0,9915, p < 0,0001]) en daardoor de drempelwaarde vertegenwoordigde waarop deze assay zijn beoogde gebruik het effectiefst heeft uitgevoerd in een gezonde bevolkingsgroep.

De prestaties van de QF-CMV-assay werden vergeleken met de SeraQuest™ CMV IgG-serologietest (Quest International). De QF-CMV-assay was voor 95% (294/310 personen) in overeenstemming met de CMV IgG-serologietest bij gezonde proefpersonen, waarbij geen van 149 seronegatieve donoren reactiviteit vertoonden met QF-CMV. 145 van de 161 seropositieve donoren vertoonden een positieve reactieve respons met QF-CMV. Er was een algemene positieve overeenstemming van 90%, met een negatieve overeenstemmingswaarde van 100%. De mate van overeenstemming tussen QF-CMV-reacties en de CMV IgG-serologiestatus wordt weergegeven in Tabel 3.

Tabel 3. Overeenstemming tussen QuantiFERON-CMV- en CMV IgG-serologietest bij gezonde proefpersonen

		CMV-serologie		Totaal
		Positief	Negatief	
QuantiFERON-CMV	Reactief	145	0	145 (46,8%)
	Niet-reactief	16	149	165 (53,2%)
	Totaal	161 (51,9%)	149 (48,1%)	310 (100%)

---

## Assaydrempel

De aanbevolen klinische testdrempelwaarde voor deze assay is 0,2 IE/ml voor het CMV-antigeenbuisje (na aftrek van nulcontrole), hoewel er verschillende drempelwaarden kunnen worden gevalideerd onder andere klinische omstandigheden.

## Klinische onderzoeken

Aangezien er geen definitieve standaard is om een infectie met cytomegalovirus te bevestigen of uit te sluiten, kan een schatting van de spoelbuffer en specificiteit van QF-CMV feitelijk niet worden geëvalueerd. De specificiteit en sensitiviteit van QF-CMV werd geschat door de mate van overeenkomst te evalueren tussen QF-CMV-reacties en de CMV IgG-serologiestatus van gezonde proefpersonen.

De specificiteit van QF-CMV werd geschat door de fout-positieven (reactie met QF-CMV) te evalueren bij monsters van gezonde donoren waarvan niet bekend was dat ze eerder aan CMV waren blootgesteld (CMV IgG-seronegatieve personen). De sensitiviteit werd geschat door QF-CMV-reactiviteit in monsters van gezonde donoren waarvan wel bekend was dat ze eerder aan CMV waren blootgesteld (CMV IgG-seropositieve personen), te evalueren. QF-CMV maakt gebruik van een groot aantal CMV-specifieke epitopen van verschillende CMV-eiwitten en biedt zodoende een brede dekkingsgraad van de populatie met diverse haplotypen van HLA-klasse I (ongeveer 98% van de populatie). Omdat de HLA-haplotypen van de tegen CMV-serologie geteste proefpersonen onbekend waren, wordt van een klein percentage seropositieve personen verwacht dat ze niet reageren op de QF-CMV-bloedafnamebuisjes.

---

## Specificiteit

In een onderzoek met 591 monsters van gezonde proefpersonen werden geen fout-positieve QF-CMV-resultaten gedetecteerd bij personen die seronegatief testten voor CMV IgG, waarbij 248/248 monsters niet-reactief werden getest door QF-CMV ELISA en negatief door de CMV IgG-serologietest. Daarom vertoonden de resultaten die werden verkregen met behulp van QF-CMV en de CMV IgG-serologietest een overeenstemming van 100%.

In alle andere evaluaties op specificiteit, uitgevoerd bij ontvangers van vaste organen (1-8), ontvangers van hematopoëtische stamceltransplantaten (9,10) en met hiv geïnfecteerde patiënten (11), is een overeenstemming vastgesteld van 100% tussen QF-CMV en CMV IgG-serologie.

## Sensitiviteit

In een onderzoek uitgevoerd op 343 monsters van gezonde proefpersonen die seropositief testten voor CMV IgG, was de mate van overeenstemming tussen QF-CMV-reacties en CMV IgG-serologieresultaten 80,5%, waarbij 276/343 monsters reactief testten op QF-CMV en positief op de CMV IgG-serologietest. Het waargenomen verschil kan worden geweten aan fout-positieve CMV-serologie of de afwezigheid van reactieve HLA-typen bij de geteste personen.

De mate van overeenstemming bij evaluaties op gevoeligheid, uitgevoerd bij ontvangers van vaste organen (1-8), ontvangers van hematopoëtische stamceltransplantaten (9, 10) en met hiv geïnfecteerde patiënten (11), is lager en kan geweten worden aan fout-positieve CMV-serologie, de afwezigheid van reactieve HLA-typen bij de geteste personen of de afwezigheid van reactieve T-helpercellen in deze patiënten vanwege het feit dat ze immunosuppressief waren.

---

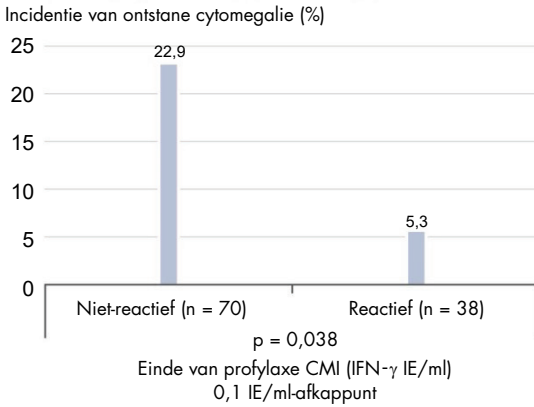
## Onderzoek dat klinische bruikbaarheid benadrukt

Het beoogd gebruik van zowel CMV IgG-serologie als QF-CMV is het detecteren van immuniteit voor CMV. Bij transplantaties wordt CMV-serologie op grote schaal gebruikt voorafgaand aan de transplantatie om het risico op complicaties met CMV voor de ontvanger na de transplantatie vast te stellen. De waarde na de transplantatie op zich is beperkt. QF-CMV kan ook worden gebruikt bij ontvangers van transplantaten om de mate van CMV-immuniteit vast te stellen bij die patiënten die kans lopen op symptomatische CMV-infectie en/of ziek worden omdat ze immunosuppressief zijn (12-15).

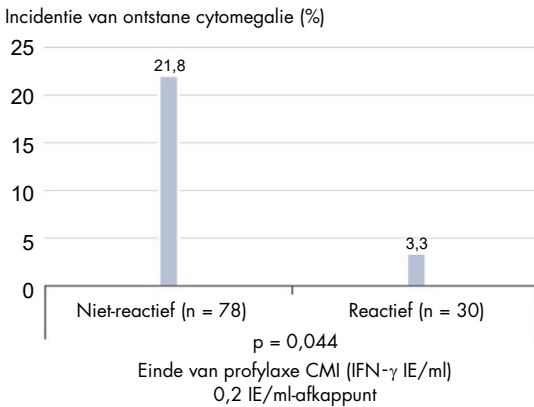
In een aantal gepubliceerde klinische onderzoeken met diverse transplantatiecohorten is de bruikbaarheid van QuantiFERON-CMV aangetoond (1–11, 15, 16).

In een groot onderzoek onder 108 ontvangers van vaste organen (4), bleken patiënten met een reactief QF-CMV-resultaat na voltooiing van anti-CMV-profylaxe, een significant lagere kans te hebben op het ontwikkelen van cytomegalie (3,3%, ofwel 1/30; m.b.v. een drempel van 0,2 IE/ml) in vergelijking met patiënten met een niet-reactief QF-CMV-resultaat (21,8%, ofwel 17/78,  $p = 0,044$ ) (Afbeelding 5).

**A**



**B**



Afbeelding 5. Voorkomen van cytomegalie op latere leeftijd bij patiënten met een reactief QuantiFERON-CMV-resultaat versus een niet-reactief QuantiFERON-CMV-resultaat na profylaxe. Onderliggende gegevens afkomstig uit Kumar et al. (4).



---

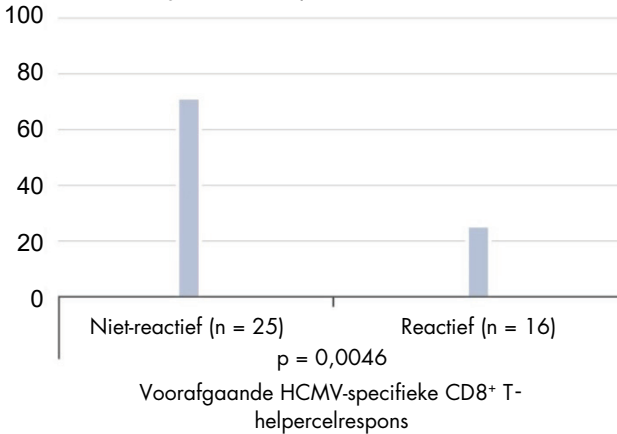
Verder bleken CMV-seronegatieve ontvangers van transplantaten die een orgaan ontvangen van een CMV-positieve donor (D+R-) met een QF-CMV-reactief na voltooiing van de profylaxe vaker gevrijwaard van cytomegalie, en gedurende langere tijd, wat erop wijst dat QF-CMV kan worden gebruikt om personen te identificeren met een risico op het ontwikkelen van cytomegalie op latere leeftijd.

Het onderzoek toonde bovendien aan dat in dit cohort transplantatiepatiënten met de hoogste kans op het ontwikkelen van cytomegalie (D+/R-) een reactief resultaat op een willekeurig tijdstip na profylaxe, was geassocieerd met een grotere kans dat ze gevrijwaard bleven van cytomegalie.

In een onderzoek bij 37 patiënten die vaste organen kregen (6), was het vaststellen van CMV-specifieke CD8<sup>+</sup> T-helpercelreacties door QF-CMV behulpzaam bij het voorspellen van het spontaan verdwijnen van virus in vergelijking met de progressie van cytomegalie, na verhoogde CMV-viremie. In dit onderzoek verdween bij 24 van de 26 patiënten (92,3%) met een reactief QF-CMV-resultaat (m.b.v een testdrempel van IFN- $\gamma$   $\geq$  0,2 IE/ml) het CMV-virus spontaan, terwijl hetzelfde resultaat optrad bij slechts 5 van de 11 patiënten (45,5%) met een niet-reactief QF-CMV-resultaat.

In een onderzoek bij 67 ontvangers van longtransplantaten om na de transplantatie CMV-viremia-episoden vast te stellen (7), werd waargenomen dat 18 van de 25 (72%) CMV-viremia-episoden vooraf werden gegaan door een QF-CMV-niet-reactief resultaat, versus 4 van de 16 (25%) episodes die vooraf werden gegaan door een QF-CMV-reactieve reactie (Fisher's exact-toets,  $p = 0,0046$ , Afbeelding 6).

Percentage HCMV DNAemia-episodes met een virale lading > 1000 kopieën/ml



Afbeelding 6. Statistische analyse van CMV-specifieke CD8<sup>+</sup> T-helpercelreacties, zoals gedetecteerd met QuantiFERON-CMV en de ontwikkeling van CMV-viremie (Fisher's exact-toets, p = 0,0046). Onderliggende gegevens afkomstig uit Weseslindtner et al (7).

In een prospectief, multicenter onderzoek bij 127 CMV-seropositieve recipiënten van solide-organtransplantaten van CMV-positieve donoren (8), waarvan allen antivirale profylaxe hadden gekregen, hadden patiënten met een reactief QF-CMV-resultaat (met een testdrempel van 0,1 IE/ml) op enig tijdstip na de voltooiing van anti-CMV-profylaxe een significant lagere kans op het ontwikkelen van ziekte 12 maanden na de transplantatie (6,4%) in vergelijking met degenen met een niet-reactief QF-CMV-resultaat (22,2%) en een onbepaald resultaat (58,3%, p < 0,001). Als onbepaalde resultaten ook als "niet-reactief" worden geclassificeerd, is het optreden van cytomegalie 6,4% versus 26,8%; p = 0,024. De positieve en negatieve voorspellende waarden van QF-CMV voor bescherming tegen cytomegalie werden respectievelijk gerapporteerd op 0,90 (95% CI 0,74–0,98) en 0,27 (95% CI 0,18–0,37). In het onderzoek is gevonden dat QF-CMV gebruikt kan worden om te voorspellen dat patiënten een laag, gemiddeld of hoog risico hebben om na profylaxe cytomegalie te ontwikkelen.

---

In een prospectief onderzoek bij 55 ontvangers van vaste organen (8), waar de relatie tussen QF-CMV-resultaten vóór de transplantatie en de CMV-replicatie-episoden na transplantatie werden geanalyseerd, werd gevonden dat een hogere incidentie van CMV-replicatie na transplantatie werd gevonden in CMV-seropositieve ontvangers met een niet-reactief (m.b.v. een testdrempel van 0,2 IE/ml) QF-CMV-resultaat vóór transplantatie (7/14, ofwel 50%), in vergelijking met CMV-seropositieve ontvangers met een reactief QF-CMV-resultaat (4/30, ofwel 13,3%,  $p = 0,021$ ).

In dit onderzoek werd gevonden dat ontvangers met niet-reactieve QF-CMV-resultaten vóór transplantatie die een orgaan hadden ontvangen van een CMV-seropositieve donor, een tienvoudig verhoogde kans hadden op CMV-replicatie in vergelijking met ontvangers met reactieve QF-CMV-resultaten vóór transplantatie (aangepaste odds ratio 10,49, 95% CI 1,88–58,46). Daarom kan een QF-CMV-assay vóór transplantatie gebruikt worden voor het voorspellen van het risico op CMV-replicatie na transplantatie en maakt de assay dus infectiebeheersing van CMV op individuele basis mogelijk na transplantatie van vaste organen.

Er zijn een aantal onderzoeken voltooid naar het detecteren van CMV-specifieke CD8<sup>+</sup> T-helpercelreacties door QF-CMV in een cohort ontvangers van orgaantransplantaten (2, 3, 5, 9, 10, 15, 16) of deze zijn momenteel gaande.

---

## Internationale richtlijnen voor consensus over de beheersing van cytomegalovirus bij transplantatie van vaste organen

Het belang van CMV-specifieke immuuncontrole is onderkend en gepubliceerd in de *Updated International Consensus Guidelines on the Management of Cytomegalovirus in Solid Organ Transplantation* (12). Deze internationale richtlijnen, ontwikkeld door een panel van deskundigen op het gebied van CMV en transplantatie van vaste organen, in een vergadering van de "The Infectious Diseases Section" van "The Transplantation Society", ontwikkelen bewijs en deskundige richtlijnen voor consensus over beheersing van CMV, waaronder diagnostiek, immunologie, preventie en behandeling.

In deze richtlijnen wordt geconcludeerd dat "Immune monitoring of CMV-specific T-cell responses may predict individuals at risk of CMV disease posttransplant and may be useful in guiding prophylaxis and pre-emptive therapies" (Immuuncontrole van CMV-specifieke T-celreacties kan voorspellen welke personen risico lopen op cytomegalie na transplantatie en kan gebruikt worden als richtlijn voor profylaxe en preventieve therapieën) (12).

De richtlijnen bieden tevens aanbevelingen betreffende de eigenschappen van de ideale immuuncontroleassay. Hieronder vallen:

- Mogelijkheid tot vaststellen van de kwantiteit en functie van de CD4<sup>+</sup> en CD8<sup>+</sup> T-helpercellen van de ontvanger van een transplantaat
  - Mogelijkheid tot het meten van IFN- $\gamma$
  - Eenvoudig uit te voeren, kosten-efficiënt en reproduceerbaar
  - Hebben een snelle doorlooptijd
  - Mogelijkheid tot exemplaren gemakkelijk verzenden naar gespecialiseerde laboratoria
- QF-CMV voldoet aan nagenoeg alle criteria die door deze richtlijnen worden gespecificeerd en is de enige gestandaardiseerde immuuncontroleassay die in staat is IFN- $\gamma$  te detecteren, specifiek voor CMV.

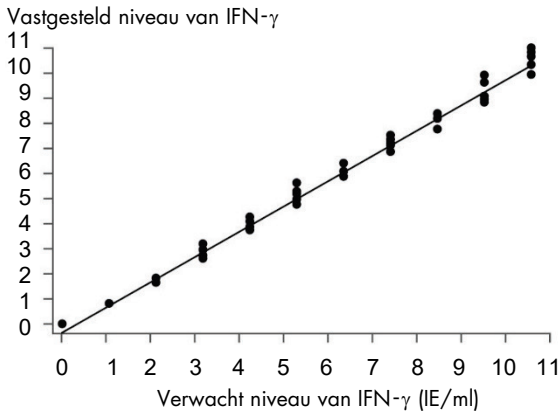
# Kwaliteitskenmerken assay

De QF-CMV ELISA maakt gebruik van recombinante menselijke IFN- $\gamma$ -standaard, waarvan een assay is uitgevoerd tegen een IFN- $\gamma$ -referentiebereiding (NIH-ref: Gxg01-902-535). Resultaten voor testmonsters worden gerapporteerd in internationale eenheden (IE) ten opzichte van een standaardcurve die is voorbereid door verdunning van de secundaire standaard uit de kit te testen.

Van heterofiele antilichamen (bijvoorbeeld human-anti-mouse) in het serum of plasma van bepaalde personen is bekend dat deze immunoassays verstoren. Het effect van heterofiele antilichamen in de QF-CMV ELISA wordt geminimaliseerd door toevoeging van normaal muisserum aan de groene verdunningsoplossing en het gebruik van fragmenten van monokonaal F(ab')<sub>2</sub>-antilichaam als het IFN- $\gamma$ -bindingsantilichaam waarvan de putjes van de microtiterplaten zijn voorzien.

De detectielimiet van de QF-CMV ELISA is 0,065 IE/ml en er wordt geen "high-dose hook" (prozone)-effect met IFN- $\gamma$ -concentraties van maximaal 10.000 IE/ml vertoond. Van de QF-CMV ELISA-antilichamen is aangetoond dat deze niet kruisreageren met geteste cytokinen, met inbegrip van IL2, IL3, IL4, IL5, IL6, IL10 en IL12.

Er is aangetoond dat de QF-CMV ELISA lineair is door vijf replicaten uit 11 plasmagroepen van bekende IFN- $\gamma$ -concentraties willekeurig over de ELISA-plaat te verdelen. De lineaire regressielijn heeft een helling van  $1,002 \pm 0,011$  en een correlatiecoëfficiënt van 0,99 (afbeelding 7).



Afbeelding 7. Lineariteitsprofiel van QF-CMV ELISA vastgesteld door testen van vijf replicaten uit 11 plasmamonsters van bekende IFN- $\gamma$  concentraties.

De reproduceerbaarheid van QF-CMV ELISA werd geschat door 20 plasmamonsters te testen met variërende IFN- $\gamma$  concentraties in replicaten van drie, in drie verschillende laboratoria, op drie niet-opeenvolgende dagen en door drie verschillende operators. Elk monster werd zodoende 27 maal getest in negen onafhankelijke uitvoeringen van de assay. Eén monster was een nulcontrole waarvoor een IFN- $\gamma$  concentratie van 0,08 (95% CI: 0,07–0,09) IE/ml werd bepaald. Van de resterende 19 plasmamonsters bedroeg het concentratiebereik 0,33 (95% CI 0,31–0,34) tot 7,7 IE/ml (95% CI 7,48–7,92).

De intra-assay-variatie werd geschat door het gemiddelde te nemen van de %CV's voor elk testplasma met IFN- $\gamma$  voor elke plaat ( $n = 9$ ), en liep uiteen van 4,1 tot 9,1% CV. De gemiddelde intra-assay %CV ( $\pm 95\%$  CI) bedroeg 6,6%  $\pm$  0,6%. De nulwaarde voor IFN- $\gamma$  plasma was gemiddeld 14,1 %CV.

De totale of inter-assay-variatie werd bepaald door de 27 berekende IFN- $\gamma$  concentraties voor elk plasmamonster te vergelijken. Deze variatie liep uiteen van 6,6 tot 12,3 %CV. De totale gemiddelde %CV ( $\pm 95\%$  CI) was 8,7%  $\pm$  0,7%. De nulwaarde voor IFN- $\gamma$  plasma liet

---

een %CV zien van 26,1. Deze mate van variatie is te verwachten omdat de berekende concentratie van IFN- $\gamma$  laag is en de variatie rond een lage schatting van de concentratie groter zal zijn dan die bij hogere concentraties.

## Technische informatie

### Onbepaalde resultaten

Onbepaalde resultaten kunnen verband houden met de immuniteitsstatus van de geteste proefpersoon, maar kunnen ook verband houden met enkele technische factoren:

- Een periode van meer dan 16 uur tussen het afnemen van het bloed en de incubatie bij 37 °C
- Opslag van bloed buiten het aanbevolen temperatuurbereik ( $22 \pm 5$  °C)
- Onvoldoende mengen van het bloed in de afnamebuisjes
- Onvolledige spoeling van de ELISA-plaat

Indien technische problemen worden vermoed bij het verzamelen of verwerken van bloedmonsters, dient de gehele QF-CMV-test te worden herhaald met nieuwe bloedmonsters. Herhaling van de ELISA-test van gestimuleerde plasma's kan worden uitgevoerd als procedurele afwijkingen van de ELISA-test worden vermoed. Onbepaalde resultaten (van lage mitogeenwaarden) zullen naar verwachting bij herhaling niet wijzigen, tenzij er een fout met de ELISA-test is opgetreden.

### Gestolde plasmamonsters

Indien bij een langduriger opslag van de plasmamonsters fibrinestolsels optreden, moeten de monsters worden gecentrifugeerd totdat sedimentatie heeft plaatsgevonden. Dit vereenvoudigt het pipetteren van plasma.

# Problemen oplossen

Dit gedeelte kan nuttig zijn bij het oplossen van eventuele problemen. Raadpleeg voor meer informatie tevens de technische informatie op [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Zie de achterzijde voor contactgegevens.

## Opmerkingen en suggesties

---

### Aflezingen van lage optische dichtheden voor standaarden

- |   |  |
|---|--|
| a) Fout met standaardverduunning            | Zorg dat de verdunningen van de kitstandaard volgens de QF-CMV ELISA-bijsluiter worden gemaakt.  |
| b) Pipetteerfout                            | Zorg dat pipetten worden gekalibreerd conform de instructies van de fabrikant.   |
| c) Te lage incubatietemperatuur             | Incubatie van de ELISA moet worden uitgevoerd op kamertemperatuur ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).  |
| d) Te korte incubatietijd                   | De incubatietijd van de plaat met het conjugaat, de standaarden en monsters bedraagt $120 \pm 5$ minuten. De enzymsubstraatoplossing wordt gedurende 30 minuten op de plaat geïncubeerd. |
| e) Verkeerd filter voor plaatlezer gebruikt | De plaat moet bij 450 nm worden afgelezen met een referentiefilter tussen 620 en 650 nm.   |
| f) Reagentia zijn te koud                   | Alle reagentia, met uitzondering van het conjugaatconcentraat 100x moeten voor het begin van de assay op kamertemperatuur worden gebracht. Dit duurt ongeveer 1 uur.                     |
| g) Kit/onderdelen over de vervaldatum       | Zorg dat de kit vóór de vervaldatum wordt gebruikt. Zorg dat gereconstitueerde standaard en conjugaatconcentraat 100x binnen 3 maanden na de reconstitutedatum worden gebruikt.          |

### Niet-specifieke kleurreactie

- |                                      |   |
|--------------------------------------|---|
| a) Onvolledige spoeling van de plaat | Spoel de plaat minstens zesmaal met 400 $\mu\text{l}$ spoelbuffer per putje. Er kunnen meer dan zes spoelcycli nodig zijn, afhankelijk van de gebruikte spoeler. Er dient een inweektijd van minstens 5 seconden tussen de cycli te worden aangehouden. |
| b) Kruisbesmetting van ELISA-putjes  | Wees voorzichtig bij pipetteren en mengen van het monster om risico's te minimaliseren.   |



## Opmerkingen en suggesties

- |  |   |
|--|---|
| c) Kit/onderdelen over de vervaldatum                              | Zorg dat de kit vóór de vervaldatum wordt gebruikt. Zorg dat gereconstitueerde standaard en conjugaatconcentraat 100x binnen 3 maanden na de reconstitutedatum worden gebruikt. |
| d) Enzysubstraatoplossing is verontreinigd                         | Gooi het substraat weg indien blauwkleuring optreedt. Zorg voor schone reservoirs voor de reagentia.  |
| e) Plasma in centrifugebuisjes is gemengd voordat het is verzameld | Zorg dat de plasmamonsters voorzichtig worden verzameld van boven de gel zonder de pipet op en neer te bewegen en dat het materiaal aan het geloppervlak niet wordt verstoord.  |

### Sterke achtergrondkleuring

- |  |  |
|--|--|
| a) Onvolledige spoeling van de plaat       | Spoel de plaat minstens zesmaal met 400 µl spoelbuffer per putje. Er kunnen meer dan zes spoelcycli nodig zijn, afhankelijk van de gebruikte spoeler. Er dient een inweektijd van minstens 5 seconden tussen de cycli te worden aangehouden. |
| b) Te hoge incubatietemperatuur            | Incubatie van de ELISA moet worden uitgevoerd bij kamertemperatuur ( $22 \pm 5$ °C).   |
| c) Kit/onderdelen over de vervaldatum      | Zorg dat de kit vóór de vervaldatum wordt gebruikt. Zorg dat gereconstitueerde standaard en conjugaatconcentraat 100x binnen 3 maanden na de reconstitutedatum worden gebruikt.  |
| d) Enzysubstraatoplossing is verontreinigd | Gooi het substraat weg indien blauwkleuring optreedt. Zorg voor schone reservoirs voor de reagentia.   |

### Niet-lineaire standaardcurve en dubbele variabiliteit

- |  |  |
|--|--|
| a) Onvolledige spoeling van de plaat   | Spoel de plaat minstens zesmaal met 400 µl spoelbuffer per putje. Er kunnen meer dan zes spoelcycli nodig zijn, afhankelijk van de gebruikte spoeler. Er dient een inweektijd van minstens 5 seconden tussen de cycli te worden aangehouden. |
| b) Fout met standaardverdunding  | Zorg dat de verdundingen van de kitstandaard volgens deze bijsluiters worden gemaakt.  |
| c) Slecht mengen   | Meng de reagentia grondig door ze meermaals om te keren of licht te schudden voordat ze op de plaat worden aangebracht.  |
| d) Inconsistente pipetteertechniek of onderbreking tijdens het opzetten van de assay | Het toevoegen van monsters en standaarden moet op constante wijze gebeuren. Alle reagentia moeten worden voorbereid voorafgaand aan het begin van de assay.  |

Productinformatie en technische gidsen zijn gratis verkrijgbaar bij QIAGEN of uw leverancier, of via [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com).















# Referenties

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

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

# Symbolen

De volgende symbolen kunnen op de verpakking en etiketten zijn weergegeven:

Symbol	Definitie van symbolen
 <N>	Bevat voldoende reagentia voor <N> reacties
	Uiterste gebruiksdatum
	CE-markering
	Medisch hulpmiddel voor in-vitrodiagnostiek
	Catalogusnummer
	Partijnummer
	Materiaalnummer
	Global Trade Item Number
	Temperatuurbepering
	Niet hergebruiken
	Weghouden van zonlicht
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	Fabrikant
	Erkende vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap

---

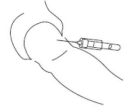
## Contactgegevens

Neem voor technische ondersteuning en aanvullende informatie contact op met ons centrum voor technische ondersteuning via [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support). Ook kunt u bellen naar 00800-22-44-6000 of contact opnemen met een van de afdelingen voor technische services van QIAGEN of de plaatselijke distributeur (zie achterzijde of ga naar [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

# Verkorte ELISA-testprocedure

## Fase 1: Bloedincubatie

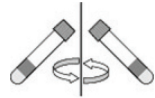
1. Verzamel bloed van patiënt in bloedafnamebuisjes en meng door ze minstens tien (10) maal net krachtig genoeg te schudden om te zorgen dat de gehele binnenwand van de buisjes met bloed wordt bedekt en het antigeen op de binnenwand is opgelost.



2. Incubeer de buisjes rechtop gedurende 16 tot 24 uur bij  $37 \pm 1$  °C.



3. Centrifugeer de buisjes na incubatie gedurende 15 minuten bij een RCF van 2000 tot 3000 g om het plasma en de rode bloedcellen te scheiden.



4. Na het centrifugeren en voorafgaand aan het verzamelen moet op en neer bewegen van de pipet of mengen van het plasma te allen tijde worden vermeden. Zorg er altijd voor dat het materiaal aan het oppervlak van de gel niet wordt verstoord.

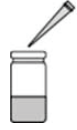


## Fase 2: IFN- $\gamma$ ELISA

1. Laat de ELISA-onderdelen, met uitzondering van het conjugaatconcentraat 100x, minstens 60 minuten op kamertemperatuur komen.



2. Reconstitueer de kitstandaard naar 8,0 IE/ml met gedestilleerd of gedeïoniseerd water. Bereid vier (4) standaardverduunningen voor.

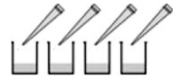


3. Reconstitueer gelyofiliseerd conjugaatconcentraat 100x met gedestilleerd of gedeïoniseerd water.

4. Bereid gebruiksklare conjugaat in groene verdunningsoplossing voor en voeg 50 µl aan alle putjes toe.



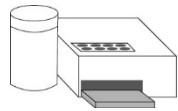
5. Voeg 50 µl testplasmamonsters en 50 µl standaard aan de betreffende putjes toe. Meng met behulp van het schudapparaat.



6. Incubeer gedurende 120 minuten op kamertemperatuur.



7. Spoel de putjes minstens 6 maal met 400 µl spoelbuffer per putje.



8. Voeg 100 µl enzymsubstraatoplossing aan alle putjes toe. Meng met behulp van het schudapparaat.



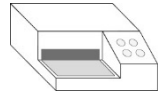
9. Incubeer gedurende 30 minuten op kamertemperatuur.



10. Voeg 50  $\mu$ l enzymremmingsoplossing aan alle putjes toe. Meng met behulp van het schudapparaat.



11. Lees de resultaten af bij 450 nm met een referentiefilter van 620 tot 650 nm.



12. Analyseer de resultaten.





# Revisiegeschiedenis handleiding

Document	Wijzigingen	Datum
L1075110-R5	Toevoeging van veiligheidsinformatie betreffende gebroken flacons Update van tabel 2, interpretatie van QF-CMV-resultaten, pagina 24.	Februari 2018
L1075110-R5	Bijgewerkte GHS-informatie, pagina 10.	Februari 2018

---

Deze pagina is met opzet leeg gelaten.

---

Deze pagina is met opzet leeg gelaten.

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

#### Beperkte licentieovereenkomst voor de QuantiFERON-CMV ELISA

Door dit product te gebruiken, verklaart de koper of gebruiker zich akkoord met de volgende voorwaarden:

1. Het product mag uitsluitend worden gebruikt in overeenstemming met de protocollen die bij het product en deze handleiding zijn meegeleverd en mag alleen worden gebruikt met onderdelen die zich in het paneel bevinden. QIAGEN geeft onder haar intellectuele eigendom geen licentie om de bijgesloten onderdelen van dit paneel te gebruiken of samen te stellen met onderdelen die niet bij het paneel zijn meegeleverd, behalve zoals beschreven in de protocollen die bij het product en deze handleiding zijn meegeleverd en in aanvullende protocollen die beschikbaar zijn op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Enkele van deze aanvullende protocollen zijn door QIAGEN-gebruikers geleverd aan QIAGEN-gebruikers. Deze protocollen zijn niet grondig door QIAGEN getest of geoptimaliseerd. QIAGEN garandeert deze protocollen niet en garandeert evenmin dat ze geen rechten van derden schenden.
2. Anders dan uitdrukkelijk gesteld in licenties, garandeert QIAGEN niet dat dit paneel en/of het gebruik ervan geen rechten van derden schenden.
3. Dit paneel en de onderdelen ervan worden in licentie gegeven voor eenmalig gebruik en mogen niet worden hergebruikt, opgeknapt of doorverkocht.
4. QIAGEN doet in het bijzonder afstand van enige andere licenties die worden genoemd of geïmpliceerd, anders dan de uitdrukkelijk gestelde.
5. De koper en gebruiker van het paneel gaan ermee akkoord dat zij geen stappen ondernemen en niemand anders toestaan stappen te ondernemen die tot bovenstaande verboden handelingen kunnen leiden of deze vergemakkelijken. QIAGEN mag de verbodsbepalingen in deze Beperkte licentieovereenkomst afdwingen bij de rechter en zal alle onderzoekskosten en gerechtelijke kosten, inclusief advocaatkosten, verhalen bij elke handeling om deze Beperkte licentieovereenkomst of een intellectueel eigendomsrecht in verband met het paneel en/of de onderdelen ervan af te dwingen.

Zie voor bijgewerkte licentievoorwaarden [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Feb-18 © 2018 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

---

Bestellen [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Technische ondersteuning [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Website [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)