


Maaliskuu 2018


# QuantiFERON Monitor<sup>®</sup> (QFM<sup>®</sup>) ELISA -pakkauseloste 2 x 96

Kokoveren IFN- $\gamma$ -testin mittausvasteet luonnollisen ja opitun  
immuunivasteen stimulantteille

Versio 1

 In vitro -diagnostiikkaan



 0650-0201



QIAGEN, 19300 Germantown Road

Germantown, MD 20874, USA

 QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1

40724 Hilden, SAKSA

1079024FI Ver. 03

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





# Sisältö

Käyttötarkoitus	4
Tiivistelmä ja testin kuvaus	4
Testin periaatteet	5
Testin suorittamiseen vaadittava aika	6
Komponentit ja säilytys	6
Tarvittavat materiaalit (jotka eivät kuulu toimitukseen)	8
Säilytys ja käsittely	8
Varoitukset ja huomautukset	10
Varoitukset	10
Varotoimet	11
Näytteen ottaminen ja käsittely	13
Käyttöohjeet	16
Laskennat ja testien tulkinta	23
Standardisuoran laatiminen	23
Testin laadunvarmistus	24
Tulosten tulkinta	24
Rajoitukset	26
Suoritusarvot	26
Kliiniset tutkimukset	26
Testin suoritusarvot	31
Teknisiä tietoja	32
Hyytyneet plasmanäytteet	32
Ongelmien ratkaisu	33
Kirjallisuusviitteet	35
Symbolit	36
Yhteystiedot	36
Testimenetelmä lyhyesti	37

## Käyttötarkoitus

QuantiFERON Monitor -testi (QFM) on in vitro -diagnostinen testi, joka on tarkoitettu tunnistamaan soluvälitteinen immuunivaste havaitsemalla gamma-interferoni (IFN- $\gamma$ ) plasmassa entsyymivälitteisellä immunosorbenttimäärityksellä (ELISA), kun heparinisoitua kokoverta on inkuboitu luonnollisen ja opitun immuunivasteen stimulanttien kanssa. Testillä testataan soluvälitteistä immuunivastetta immuunivajeisilla elinsiirtopotilailla.

QFM on tarkoitettu käytettäväksi yhdessä riskin arvioinnin ja muiden lääkinnällisten ja diagnostisten arviointien kanssa.

## Tiivistelmä ja testin kuvaus

Immuunivajavuustilalle on ominaista heikentynyt kyky muodostaa immuunivaste. Heikentynyt tai puuttuva vaste voi johtua primaarisesta tai hankitusta (sekundaarisesta) immuunivajavuustilasta (1).

Primaariset immuunivajavuustilat ovat perinnöllisiä, ja niille on ominaista opitun tai luonnollisen immuunijärjestelmän tiettyjen komponenttien puutteellinen toiminta (1). Useimmat immuunivajavuustilat ovat kuitenkin hankittuja (sekundaarisia), ja niiden laukaisevia tekijöitä saattavat olla esimerkiksi patogeeniset aineet, lääkkeet (kuten elinsiirron jälkeen annettava immunosuppressiolääkitys), sairaudet (kuten syöpä, esim. leukemia ja lymfooma) tai ympäristössä esiintyvät kontaminantit (1).

Vaikka immuunivajavuustilan molekyyliastausta on kirjava, soluvälitteinen immunitetti on merkittävässä roolissa todettujen kliinisten tilojen ilmenemisessä. Immuunivajavuustilan diagnosointi ja hallinta määräytyvät tällä hetkellä tilan aiheuttajan mukaan (2, 3).

Ad hoc -hallintaa käytetään tavanomaisesti esimerkiksi solutason immuunivajavuustilan seurantaan henkilöillä, joille on tehty elinsiirto (SOT) ja jotka saavat immunosuppressiolääkitystä. Immuunivastetta mitataan yleensä seuraamalla potilaan lääkepitoisuuksia ja suorittamalla siirrännäisen toimintaa koskevia kliinisiä/patologisia arviointeja (2, 3).

Lukuisilla T-solun toimintatesteillä mitataan soluvälitteistä immunitettia mitogeneille, joita ovat esimerkiksi phytohemagglutinin (PHA), pokeweed mitogen ja concanavalin A (ConA). Näillä testeillä mitataan kuitenkin T-solujen toimintaa, ja ne ovat osa soluvälitteiseen immunitettiin vaikuttavista soluista. On käynyt yhä selvemmäksi, että luonnollisen immuunijärjestelmän mekanismit vaikuttavat merkittävästi elimistön omaan puolustukseen joko yksin tai vahvistamalla tiettyjä T-solvasteita. Tästä syystä luonnollisen (luonnolliset tappajasolut [NK]) ja opitun

(T-solut) immuunijärjestelmän immuunisolujen toiminnalliset vasteet mahdollistavat soluvälitteisen immunitetin kattavamman analyysin (2, 3).

QFM on diagnostinen in vitro -testi, jossa käytetään useiden stimulanttien yhdistelmää (LyoSphere™-pelletin muodossa), joka stimuloi erityisesti tiettyjä solutyyppejä, jotka ovat osa sekä luonnollista että opittua immuunijärjestelmää. Henkilön immuunijärjestelmän toiminnallista tilaa arvioidaan mittaamalla vaste luonnollisen ja opitun immuunijärjestelmän stimulointiin sekä TLR:n (Toll Like Receptor) että TCR:n (T-cell receptor) agonistien osalta. Gammainterferonin (IFN- $\gamma$ ) tunnistaminen ELISA-testillä mahdollistaa soluvälitteisen immuunitoiminnan sekä kvalitatiivisen että kvantitatiivisen mittauksen.

## Testin periaatteet

QFM-testi perustuu lyofilisoituihin stimulantteihin (QFM LyoSpheres™), joita lisätään heparinisoituun kokovereen. Verta inkuboidaan 16–24 tunnin ajan, minkä jälkeen plasma kerätään ja siitä testataan stimulanteille vasteena tuotettu IFN- $\gamma$ -määrä.

QFM-testi on monivaiheinen. Kokoveri kerätään ensin QFM-verinäyteputkeen. Seuraavaksi QFM LyoSphere lisätään putkeen, joka siirretään tämän jälkeen inkuboitavaksi 37 °C:n lämpötilaan mahdollisimman pian, kuitenkin 8 tunnin kuluessa verinäytteen ottamisesta. 16–24 tunnin inkubointijakson jälkeen putket lingotaan, plasma erotetaan ja IFN- $\gamma$  (IU/ml) mitataan ELISA-menetelmällä ja tulosta verrataan odotettuihin arvoihin henkilön immuunivasteen arvioimiseksi.

QFM on testi, joka mahdollistaa immuunitoiminnan sekä kvalitatiivisen että kvantitatiivisen mittauksen. QFM-testin tulokset eivät ilmaise suoraan immunosuppression tasoa.

Plasmanäytteiden IFN- $\gamma$ -määrä voi usein olla ylärajan yläpuolella useimmissa ELISA-lukijoissa, vaikka potilaan immunosuppressio olisikin vain kohtalainen. Plasmanäytteitä on suositeltavaa laimentaa suhteessa 1/10 ja/tai 1/100 vihreällä laimennusliuksella, ja määrittäminen on tehtävä ELISA-testillä käyttäen myös laimentamatonta plasmaa.

Huomautus: QFM-testin kynnys voi vaihdella riippuen henkilön immunosuppression tasosta ja elinsiirtoon liittyvistä seikoista.

Katso tämän pakkausselosteen kohdasta "Tulosten tulkinta" sivulta 24 ohjeita QFM-testin tulosten tulkintaan.

## Testin suorittamiseen vaadittava aika

Alla on esitetty arvio QFM-testin suorittamiseen vaadittavasta ajasta. Aika-arviot on annettu myös useiden näytteiden testaamiseen erissä.

Verinäyteputkien inkubaatio 37 °C:ssa: 16–24 tuntia

ELISA: Noin 3 tuntia yhdelle ELISA-levylle  
(enintään 88 näytettä)  
< 1 työtunti  
Kutakin levyä kohti lisätään 10–15 minuuttia

## Komponentit ja säilytys

QuantiFERON Monitor LyoSpheres	
Luettelonumero	0650-0701
Preparaatioiden määrä	10
QuantiFERON Monitor LyoSpheres	10 pulloa
<i>QuantiFERON Monitor LyoSpheres -pakkausseloste</i>	1
QuantiFERON Monitor -verinäyteputket	
Luettelonumero	0650-0101
Preparaatioiden määrä	100
QuantiFERON Monitor -verinäyteputket (valkoinen korkki, valkoinen rengas)	100 putkea
<i>QuantiFERON Monitor -verinäyteputkien pakkausseloste</i>	1

QuantiFERON Monitor 2 ELISA-levyn sarja -testin komponentit	2 ELISA-levyn sarja
Luettelonumero	0650-0201
Mikrolevyliuskat, 12 x 8 kuoppaa (päällystetty hiiren monoklonaalaisella anti-ihmis-IFN- $\gamma$ -vasta-aineella)	2 sarjaa 12 x 8 kuopan mikrolevyliuskoja
IFN- $\gamma$ Standard, lyophilized (lyofilisoitu ihmisen gammainterferonistandardi; sisältää ihmisen rekombinanttigammainterferonia (IFN- $\gamma$ ), lehmän kaseiinia, 0,01 % w/v timerosaalia)	1 x pullo (8 IU/ml uudelleenliuotettuna)
Green Diluent (vihreä laimennusliuos; sisältää lehmän kaseiinia, normaalia hiiriseerumia, 0,01 % w/v timerosaalia)	1 x 30 ml pullo
Conjugate 100x Concentrate, lyophilized (konjugaatti 100x tiiviste, lyofilisoitu; hiiren anti-ihmis-IFN- $\gamma$ HRP, sisältää 0,01 % w/v timerosaalia)	1 x 0,3 ml uudelleenliuotettuna
Wash Buffer 20x Concentrate (pesupuskuri 20x tiiviste; pH 7,2; sisältää 0,05 % v/v ProClin <sup>®</sup> 300)	1 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (entsyymisubstraattiliuos; sisältää H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3', 5,5'-tetrametyylibentsidiiniä)	1 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (entsyyminpysäytysliuos; sisältää 0,5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )*	1 x 15 ml
QuantiFERON Monitor ELISA -pakkausseloste	1

\* Sisältää rikkihappoa. Katso varotoimet sivulta 11.

## Tarvittavat materiaalit (jotka eivät kuulu toimitukseen)

- 37 °C:n inkubaattori\*, CO<sub>2</sub> ei tarvita
- Kalibroituja tilavuudeltaan vaihtelevia pipettejä\*
- Kalibroituja monikanavaisia pipettejä†, joilla voidaan annostella 50 µl ja 100 µl, kertakäyttöiset kärjet.
- Levyn ravistelijat
- Deionisoitua tai tislattua vettä, 2 litraa
- Levyn pesin (suosittelemme automaattista pesintä)
- Mikrolevyn lukulaite†, johon on kiinnitetty 450 nm:n suodatin ja 620–650 nm:n referenssisuodatin.
- Asteikolla varustettu sylinteri (mittasylinteri)
- Nukkaamattomia imukykyisiä liinoja

## Säilytys ja käsittely

### Verinäyteputket

QFM-verinäyteputkia on säilytettävä 4–25 °C:n lämpötilassa. QFM-verinäyteputkien lämpötilan on oltava 17–25 °C veren täytön ja sekoituksen aikana.

### LyoSpheres

QFM LyoSphere -pellettejä on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa.

### ELISA-reagenssarjat

ELISA-reagenssarjoja on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa.

Suojaa entsyymisubstraattiliuos suoralta auringonvalolta.

\* Varmista, että välineet on tarkastettu ja kalibroitu valmistajan ohjeiden mukaan.



## Käyttövalmiit ja käytetyt ELISA-reagenssit

Katso ELISA-reagenssien käyttökuntoon saattamista koskevat ohjeet kohdasta "Vaihe 2 – IFN- $\gamma$  ELISA", sivulta 17.

- Uudelleenliuotettua standardisarjaa voidaan säilyttää enintään kolme kuukautta, jos säilytys tapahtuu 2–8 °C:n lämpötilassa.

Merkitse standardisarjan uudelleenliuotuspäivämäärä muistiin.

- Uudelleenliuotuksen jälkeen käyttämätön konjugaatti 100× tiiviste on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa ja käytettävä kolmen kuukauden kuluessa.

Merkitse konjugaatin uudelleenliuotuspäivä muistiin.

- Käyttöpitoinen konjugaatti on käytettävä kuuden tunnin kuluessa sen valmistuksesta (katso taulukko 1).
- Käyttövahvuinen pesupuskuri voidaan varastoida huoneenlämpöön (22 ± 5 °C) enintään 2 viikoksi.

# Varoitukset ja huomautukset

## In vitro -diagnostiikkaan

Työskenneltäessä kemikaalien kanssa on aina käytettävä asianmukaista laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoa saa tuotekohtaisista käyttöturvatiiedoista. Ne ovat saatavilla kätevässä ja kompaktissa PDF-muodossa osoitteessa [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), jossa voidaan tarkastella ja tulostaa kaikkien QIAGEN-sarjan ja sarjakomponentin käyttöturvallisuustiedotteet.

## Varoitukset

- QFM on testi, joka mahdollistaa immuunitoiminnan sekä kvalitatiivisen että kvantitatiivisen mittauksen. QFM-testin tulokset eivät ilmaise suoraan immunosuppression tasoa.
- QFM-testin tuloksia on käytettävä yhdessä kliinisen tilanteen, aikaisempien sairauksien ja muiden kliinisten indikaattoreiden arvioinnin kanssa arvioitaessa potilaan immunologista tilaa.
- QFM-testin kynnyks voi vaihdella riippuen henkilön immunosuppression tasosta ja elinsiirtoon liittyvistä seikoista.

## Varotoimet

Vain in vitro -diagnostiikkaan.



**HUOMIO:** Käsittele ihmisverta ja -plasmaa mahdollisesti infektoituneena. Noudata asianmukaisia verta ja verituotteita koskevia käsittelyohjeita. Hävitä veren tai verituotteiden kanssa kosketuksissa olleet näytteet ja materiaalit kansallisten, alueellisten ja paikallisten säädösten mukaisesti.

Seuraavat varoitukset ja varotoimet koskevat QuantiFERON Monitor ELISA -komponentteja.

### Varoitus



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution  
(QuantiFERON-entsyyminpysäytysliuos)

Sisältää: sulfuric acid. Varoitus! Voi syövyttää metalleja. Ärsyttää ihoa. Ärsyttää voimakkaasti silmiä. Käytä suojakäsineitä/ suojavaatetusta/ silmiensuojainta/ kasvonsuojainta.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution  
(QuantiFERON-entsyymisubstraattiliuos)

Varoitus! Ärsyttää ihoa lievästi. Käytä suojakäsineitä/ suojavaatetusta/ silmiensuojainta/ kasvonsuojainta.



QuantiFERON Green Diluent  
(QuantiFERON vihreä laimennusliuos)

Sisältää: trisodium 5-hydroxy-1-(4-sulphophenyl)-4-(4-sulphophenylazo) pyrazole-3-carboxylate. Sisältää: tartrazine. Varoitus! Voi aiheuttaa allergisen ihoreaktion. Käytä suojakäsineitä/ suojavaatetusta/ silmiensuojainta/ kasvonsuojainta.



QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate  
(QuantiFERON pesupuskuri 20x-tiiviste)

Sisältää: Mixture of 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one and 2-Methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia haittavaikutuksia. Vältettävä päästämistä ympäristöön.

## Lisätietoja

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

- *QuantiFERON Monitor (QFM) ELISA -pakkauselosteen* ohjeista poikkeaminen saattaa tuottaa virheellisiä tuloksia. Lue ohjeet huolellisesti ennen käyttöä.
- **Tärkeää:** Tarkista pullot ennen käyttöä. Älä käytä konjugaatti-, IFN- $\gamma$  Standard- tai QFM LyoSphere -pulloja, joissa on havaittavissa vaurioita tai joiden kumitiiviste näyttää vaurioituneelta. Älä käsittele rikkoutuneita pulloja. Hävitä pullot turvallisesti asianmukaisia varotoimia noudattaen. Suositus: avaa konjugaatti-, IFN- $\gamma$  Standard- ja QFM LyoSphere -pullot pullopihdeillä, jotta voit välttää korkin metallisuojuksen mahdollisesti aiheuttamat vahingot.
- Älä käytä ELISA-sarjaa, jos missään reagenssipullossa on merkkejä vaurioista tai vuodosta ennen käyttöä.
- Älä sekoita tai käytä eri QFM ELISA-sarjaeristä peräisin olevia mikrolevyliuskoja, gammainterferonistandardia (IFN- $\gamma$ ), vihreää laimennusliuosta tai konjugaatti 100 $\times$  tiivistettä. Muita eri sarjaeristä peräisin olevia reagensseja (pesupuskuri 20 $\times$  konsentraatti, entsyymi-substraattiliuos ja entsyyminpysäytysliuos) voidaan käyttää yhdessä edellyttäen, että reagenssien viimeinen käyttöpäivämäärä ei ole umpeutunut ja että erän tiedot on merkitty muistiin.
- Hävitä käyttämättömät reagenssit ja biologiset näytteet paikallisten ja kansallisten turvallisuus- ja ympäristömääräysten mukaisesti.
- QFM-verinäyteputkia, QFM LyoSphere -pellettejä tai QFM ELISA -sarjaa ei saa käyttää viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.
- Varmista, että laboratoriolaitteisto on kalibroitu/tarkastettu käyttöä varten.

## Näytteen ottaminen ja käsittely

QFM-testissä on käytettävä ainoastaan kokoverta, joka on kerätty joko litiumhepariiniputkeen tai suoraan QFM-verinäyteputkeen; yhtä testiä kohti tarvitaan 1 ml kokoverta. Verinäyteputkiin on merkittävä tarvittavat tiedot näytteenottoaika mukaan lukien.

Tärkeää: sekä QFM-verinäytteiden stimulointi (eli QFM LyoSphere -pelletin lisääminen 1 ml:aan verta) että näytteille suoritettava inkubointi 37 °C:n lämpötilassa on tehtävä 8 tunnin kuluessa verinäytteen ottamisesta.

Pidä verinäytteitä huoneenlämpötilassa ennen inkubointia (22 ± 5 °C).

Seuraavia toimenpideohjeita on noudatettava optimaalisten tulosten saavuttamiseksi:

1. Putket on merkittävä asianmukaisesti.  
Varmista, että jokaiseen QFM-verinäyteputkeen on kiinnitetty henkilön tarvittavat tiedot ja näytteenottoaika.
2. Ota jokaiselta potilaalta 1 ml verta laskimopunktiolla suoraan QFM-verinäyteputkeen. Tämä toimenpide on annettava flebotomiaan erikoistuneen pätevän henkilön suoritettavaksi.

Tärkeä ilmoitus: putkien lämpötilan pitäisi olla täytön aikana 17–25 °C.

QFM-verinäyteputkia voidaan käyttää korkeintaan 810 metrin korkeudella merenpinnasta.

Koska veren ottaminen 1 ml:n putkella käy suhteellisen hitaasti, pidä putkea neulalla 2–3 sekuntia, kun putki näyttää olevan täynnä. Näin varmistat, että putkeen saadaan oikea määrä verta.

QFM-verinäyteputken sivulla oleva musta merkki osoittaa 1 ml:n täyttömäärän. QFM-verinäyteputkien täyttömäärä optimaalisen toiminnan takaamiseksi on 1 ml ± 10 %. Jos verimäärä missä tahansa putkessa ei ole sallitun alueen sisäpuolella, on otettava uusi verinäyte.

Jos näytteen ottoon käytetään siipineulaa, on käytettävä ”tyhjennysputkea” sen varmistamiseksi, että putki on täytetty verellä ennen QFM-verinäyteputkien käyttöä.

Jos QFM-verinäyteputkia käytetään yli 810 metrin korkeudessa tai jos otettu verinäyte on liian pieni, käyttäjä voi ottaa verta ruiskulla ja siirtää sitä välittömästi 1 ml:n QFM-verinäyteputkeen. Turvallisuussyistä tämä on paras tehdä irrottamalla ruiskun neula noudattaen asianmukaisia varotoimia, irrottamalla QFM-verinäyteputken korkki ja lisäämällä 1 ml verta näyteputkeen (putken sivulla olevan mustan merkin tasolle). Laita korkki tiukasti takaisin paikalleen ja sekoita alla kuvatulla tavalla.

Jos käytetään kiristyssidettä, se on löysättävä heti, kun neula viedään suoneen, jotta mahdolliset painevaihtelut eivät vaikuta veritilavuuteen.

Verinäyte voidaan ottaa vaihtoehtoisesti myös geneerisellä verinäyteputkella, joka sisältää antikoagulanttina litiumhepariinia, ja siirtää veri sitten QFM-verinäyteputkeen. Käytä veren hyytymisen estoaineena ainoastaan litiumhepariinia, sillä muut antikoagulantit aiheuttavat testissä häiriöitä. Täytä verinäytteen keräysputki (vähimmäistilavuus 3 ml) ja sekoita varovasti kääntelemällä putkea useita kertoja, jotta hepariini liukenee. Verinäytettä on säilytettävä huoneenlämpötilassa ( $22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ ) ennen sen siirtämistä QFM-verinäyteputkeen stimuloitavaksi QFM LyoSphere -pelletillä. Varmista juuri ennen siirtoa varovasti kääntelemällä, että veri on sekoittunut hyvin. Annostele 1 ml alikvoottia QFM-verinäyteputkeen. Annostelu on suoritettava aseptisesti ja asianmukaisia turvatoimenpiteitä noudattaen. Poista korkki QFM-verinäyteputkesta ja lisää putkeen 1 ml verta (putken etiketin sivulla olevaan mustaan merkkiin saakka). Kiinnitä putkien korkit kunnolla ja sekoita alla annettujen ohjeiden mukaan.

3. Kääntele putkia välittömästi täytön jälkeen useita kertoja, jotta hepariini liukenee.

Tärkeää: liian voimakas sekoittaminen saattaa aiheuttaa geelin vaurioitumisen ja johtaa poikkeaviin tuloksiin.

4. Anna QFM LyoSphere -pullojen lämpötilan tasaantua huoneenlämpöön ( $22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ ) juuri ennen käyttöä.
5. Lisää aseptisesti yksi QFM LyoSphere 1 ml:aan verta.  
Irrota verinäyteputken korkki.

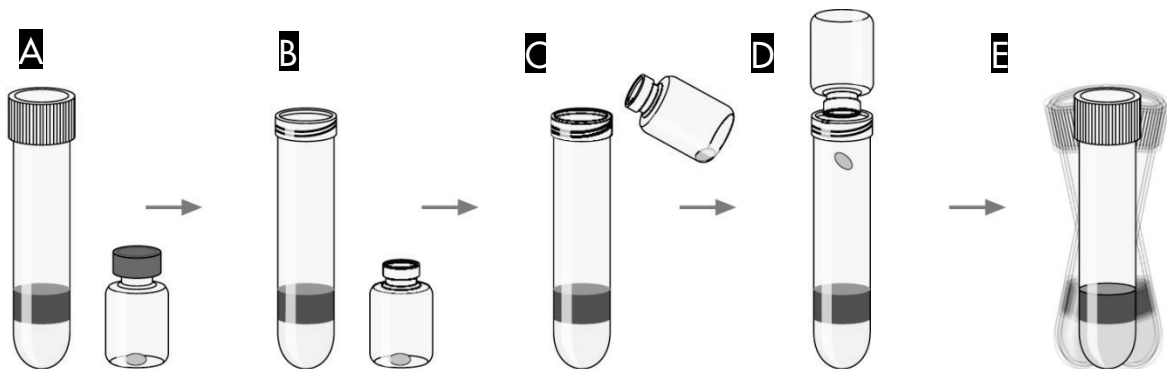
Napauta QFM LyoSphere -pullon kovaa pintaa kevyesti, jotta voit varmistaa, että QFM LyoSphere -pelletti on pullon pohjaosassa. Avaa seuraavaksi QFM LyoSphere -pullo irrottamalla ensin metallisuojaus ja sen jälkeen kumitulppa.

Pudota QFM LyoSphere -pelletti varovasti 1 ml:aan verta kohdistamalla lasipullon suu QFM-verinäyteputken suuhun ja kääntämällä pulloa varovasti QFM LyoSphere -pelletin siirtämiseksi QFM-verinäyteputkeen (katso kuva 1).

Tärkeää: jos QFM LyoSphere -pelletti putoaa QFM-verinäyteputken ulkopuolelle, hävitä se ja avaa uusi QFM LyoSphere -pullo.

Tärkeää: Älä jätä QFM LyoSphere -pulloa auki pitkäksi aikaa. QFM LyoSphere -pullon sisältö on lisättävä verinäytteeseen välittömästi pullon avaamisen jälkeen.

Jos QFM LyoSphere -pelletti lisätään verinäytteeseen, joka on otettu QFM-verinäyteputkea käyttäen, varmista, että putkien korkit asetetaan takaisin paikoilleen oikeisiin näyteputkiin.



Kuva 1. QFM LyoSphere -pelletin lisääminen. **A** QFM-verinäyteputki ja QFM LyoSphere -pullo. **B** Irrota QFM-verinäyteputken korkki ja irrota QFM LyoSphere -pullon metallisuojaus ja kumitulppa. **C** Lisää QFM LyoSphere välittömästi verinäytteeseen kohdistamalla lasipullon suu verinäyteputken suuhun. **D** Kallista pulloa varovasti LyoSphere-pelletin siirtämiseksi putkeen. **E** Aseta QFM-verinäyteputken korkki takaisin paikalleen ja käännä putki ylösalaisin 5–10 kertaa.

6. Aseta QFM-verinäyteputken korkki takaisin paikalleen ja käännä putki ylösalaisin 5–10 kertaa ja varmista, että QFM LyoSphere -pelletti on liennut kokonaan.

Jos QFM LyoSphere -pelletti on tarttunut putken sisäpintaan, se voidaan liuottaa vereen putkea kääntelemällä.

Varmista, että asetat putken korkin takaisin paikalleen välittömästi QFM LyoSphere -pelletin lisäämisen jälkeen, jotta samaan putkeen ei vahingossa lisätä toista LyoSphere-pellettiä.

Huomautus: koska QFM LyoSphere -pelletti on valkoinen, se ei erotu verestä liukemisen jälkeen.

Tärkeää: liian voimakas sekoittaminen saattaa aiheuttaa geelin vaurioitumisen ja johtaa poikkeaviin tuloksiin.

7. Kun QFM LyoSphere -pelletti on lisätty ja se on liennut, QFM-verinäyteputket on siirrettävä  $37 \pm 1$  °C:n lämpötilaan inkubaattoriin mahdollisimman pian, kuitenkin 8 tunnin kuluessa verinäytteen ottamisesta.

# Käyttöohjeet

## Vaihe 1 – veren inkubointi ja plasman kerääminen

### Toimitetut materiaalit

- QFM-verinäyteputket (katso kohta "Komponentit ja säilytys", sivulla 6)

### Tarvittavat materiaalit (jotka eivät kuulu toimitukseen)

- Katso kohta "Tarvittavat materiaalit (jotka eivät kuulu toimitukseen)", sivulla 8

### Toimenpide

1. Inkuboi QFM-verinäyteputkia, joissa on 1 ml verta ja QFM LyoSphere -pelletti PYSTYASENNOSSA  $37 \pm 1$  °C:n lämpötilassa 16–24 tunnin ajan. Huomautus: inkubaattorissa ei tarvita hiilidioksidia (CO<sub>2</sub>) tai kostutusta.

Kun inkubointi on suoritettu, QFM-verinäyteputkia voidaan säilyttää enintään kolme vuorokautta 4–27 °C:n lämpötilassa ennen linkousta.

2. Plasman talteenottoa (inkuboinnin jälkeen) edistetään linkoamalla QFM-verinäyteputkia 15 minuutin ajan 2 000–3 000 *g*.n (RCF) voimalla. Geelitulppa erottelee solut plasmasta. Jos näin ei tapahdu, linkoa putket uudelleen.

Plasman talteenotto on mahdollista ilman linkoamista, mutta tällöin plasman keräämisessä on oltava erityisen huolellinen, etteivät solut rikkoudu.

3. Plasmanäytteitä voidaan kerätä ainoastaan pipetin avulla.

Tärkeää: Kun linkous on tehty, varo pipetin ylös ja alas suuntautuvaa liikettä tai plasman sekoittumista millään tavoin ennen sen talteenottoa. Varo aina rikkomasta geelin pinnalla olevaa materiaalia.

Plasmanäytteet voidaan ladata suoraan lingotuista QFM-verinäyteputkista QFM ELISA -levylle myös silloin, kun käytetään automatisoituja ELISA-työasemia.

Plasmanäytteitä voidaan säilyttää enintään 28 vuorokautta 2–8 °C:n lämpötilassa, tai keräämisen jälkeen pitkiä aikoja alle -20 °C:n lämpötilassa. Kerättyjen plasmanäytteiden alikvootit on suljettava ennen säilytykseen siirtämistä.

Plasmanäytteitä otettaessa plasmaa on otettava vähintään 150 µl, jotta testi voidaan suorittaa tarvittaessa uudelleen.



Plasmanäytteiden IFN- $\gamma$ -määrä voi usein olla ylärajan yläpuolella useimmissa ELISA-lukijoissa, vaikka potilaan immunosuppressio olisikin vain kohtalainen. Plasmanäytteitä on suositeltavaa laimentaa suhteessa 1/10 ja/tai 1/100 vihreällä laimennusliuoksella, ja määrittäminen on tehtävä ELISA-testillä käyttäen myös laimentamatonta plasmaa (katso Vaihe 2 – IFN- $\gamma$  ELISA).

## Vaihe 2 – IFN- $\gamma$ ELISA

### Toimitetut materiaalit

- QuantiFERON Monitor 2 ELISA -levyn sarja (katso kohta "Komponentit ja säilytys", sivulla 6)

### Tarvittavat materiaalit (jotka eivät kuulu toimitukseen)

- Katso kohta "Tarvittavat materiaalit (jotka eivät kuulu toimitukseen)", sivulla 8

### Valmistaminen

Plasmanäytteiden IFN- $\gamma$ -määrä voi usein olla ylärajan yläpuolella useimmissa ELISA-lukijoissa, vaikka potilaan immunosuppressio olisikin vain vähäinen. Plasmanäytteitä on suositeltavaa laimentaa suhteessa 1/10 ja/tai 1/100 vihreällä laimennusliuoksella, ja määrittäminen on tehtävä ELISA-testillä käyttäen myös laimentamatonta plasmaa.

Tilanteissa, joissa potilaan immunosuppressio voi olla huomattava, kvantitatiiviseen tulokseen saattaa riittää laimentamattoman plasmanäytteen valmistaminen ja testaus.

Huomautus: Tulosten tulkinnassa on käytettävä testituloksia, jotka ovat QFM ELISA -testin sallitulla alueella (eli enintään 10 IU/ml). Raportoitavana tuloksena on käytettävä miedointa liuosta, jolla saadaan tulos, joka on QFM ELISA -testin sallitulla alueella (laimennussuhde huomioituna), jos laimentamaton plasma on QFM ELISA -testin sallitun alueen yläpuolella.

## Toimenpide

1. Kaikki plasmanäytteet ja reagenssit, paitsi konjugaatti 100x tiiviste, on tuotava huoneenlämpötilaan ( $22 \pm 5$  °C) ennen käyttöä. Tasaantumiselle on jätettävä aikaa vähintään 60 minuuttia.
2. Irrota ylimääräiset liuskat mikrolevykehystä, sulje ne takaisin foliopussiin ja vie jääkaappiin myöhempää tarvetta varten.

Varaa ainakin yksi liuska QFM-standardeille ja riittävästi liuskoja testattaville näytteille. Palauta kehys ja kansi käytön jälkeen jäljellä olevien liuskojen käyttöön.

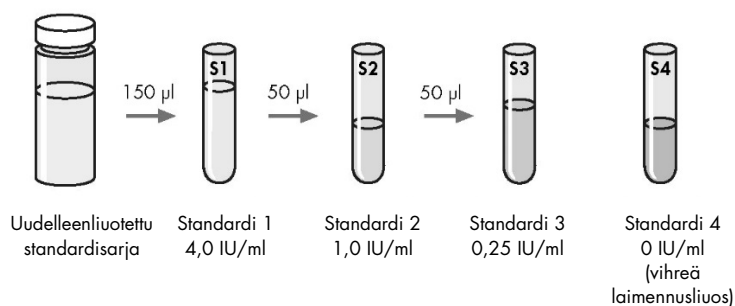
3. Saata lyofilisoitu IFN- $\gamma$ -standardi käyttökuntoon laimentamalla sitä standardipulloon merkityllä määrällä deionisoitua tai tislattua vettä. Vähennä vaahtaminen minimiin ja varmista täydellinen liukeneminen sekoittamalla varovasti. Ilmoitetun määrän sekoittaminen standardiin saa aikaan liuoksen, jonka pitoisuus on 8,0 IU/ml.

Tärkeää: IFN- $\gamma$ -standardin uudelleenliuotustilavuus vaihtelee erän mukaan. Tarkista standardipullosta käytettävän deionisoidun tai tislattun veden oikea määrä.

Käytä laimennettua standardisarjaa IFN- $\gamma$  1/2-liuotussarjan ja sitten 1/4-liuotussarjan muodostamiseen vihreällä laimennusliuksella (GD, katso kuva 2). S1 (standardi 1) sisältää 4,0 IU/ml, S2 (standardi 2) sisältää 1,0 IU/ml, S3 (standardi 3) sisältää 0,25 IU/ml ja S4 (standardi 4) sisältää 0 IU/ml (vain vihreää laimennusliuosta). Standardit on testattava kahtena otoksena. Valmistele kutakin ELISA-testiä varten standardisarjasta vasta laimennetut liuokset.

### Toistotestisarjan suositeltu toimintatapa

- Merkitse 4 putkea merkinnöin "S1", "S2", "S3", "S4".
- Lisätään 150 µl vihreää laimennusliuosta putkeen S1, S2, S3 ja S4.
- Lisätään 150 µl standardisarjaa putkeen S1 ja sekoitetaan huolellisesti.
- Siirretään 50 µl putkesta S1 putkeen S2 ja sekoitetaan huolellisesti.
- Siirretään 50 µl putkesta S2 putkeen S3 ja sekoitetaan huolellisesti.
- Pelkkä vihreä laimennusliuos (GD) toimii nollastandardina (S4).



Kuva 2. Standardisuoran valmistelu.

- Sekoita lyofilisoitua konjugaatti 100x -tiivistettä 0,3 millilitraan deionisoitua tai tislattua vettä. Sekoitetaan varovasti vahtoamisen minimoimiseksi ja konjugaatin täydellisen liukenemisen varmistamiseksi.

Konjugaatin työskentelyvoimakkuus valmistetaan laimentamalla riittävä määrä käyttövalmiiksi saatettua konjugaatti 100x -tiivistettä vihreään laimennusliuokseen (taulukko 1: Konjugaatin valmistaminen). Palauta käyttämätön Conjugate 100x Concentrate (konjugaatti 100x tiiviste) välittömästi käytön jälkeen 2–8 °C:n lämpötilaan. Käytä vain vihreää laimennusliuosta.

Taulukko 1. Konjugaatin valmistaminen

Liuskojen määrä	Konjugaatti 100x tiivisteen määrä	Vihreän laimennusliuoksen määrä
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. Verinäyteputkista kootut plasmanäytteet, jotka on kokoamisen jälkeen varastoitu tai pakastettu, on sekoitettava ennen kuin ne lisätään ELISA-kuoppaan.

Tärkeää: Jos plasmanäytteet lisätään suoraan lingotuista QFM-putkista, plasman sekoittumista on vältettävä. Varo aina rikkomasta geelin pinnalla olevaa materiaalia.

6. Suositus: laimenna plasmanäytteitä suhteessa 1:10.
- Lisää 90 µl vihreää laimennusliuosta (GD) putkeen, johon on merkitty potilaan tiedot ja "1:10".
  - Lisää seuraavaksi 10 µl sekoitettuja plasmanäytteitä (katso vaiheesta 5 yksityiskohtaiset tiedot koskien sekoitettujen plasmanäytteiden eroja suoraan lingotuista QFM-putkista lisättäviin näytteisiin).
  - Sekoita huolellisesti pipetin avulla, mutta varo vaahtoamista.

7. Suositus: laimenna plasmanäytteitä suhteessa 1:100.
  - Valmista 1:10-liuos (katso vaihe 6 edellä).
  - Lisää 90 µl vihreää laimennusliuosta (GD) putkeen, johon on merkitty potilaan tiedot ja "1:100".
  - Lisää 10 µl 1:10-liuksesta.
  - Sekoita huolellisesti pipetin avulla, mutta varo vaahtoamista.

Suositus: testaa seuraavat näytteet rinnakkain tässä järjestyksessä:

- Laimentamaton, 1:10, 1:100

QFM-analyysiohjelmisto tukee kuitenkin myös seuraavia potilasnäytteitä:

- Laimentamaton
- 1:10
- 1:100
- 1:10, 1:100
- Laimentamaton, 1:10

8. Lisää 50 µl tuoretta käyttöpitoista konjugaattia vaadittuihin ELISA-kuoppiin monikanavaisen pipetin avulla.
9. Lisää 50 µl testiplasmaa asianmukaisesti kaivoihin käyttämällä monikanavapipettiä. Lisää 50 µl standardeista 1–4. Suorita testit kahtena otoksena.
10. Peitä kukin levy kannella ja sekoita konjugaattia sekä plasmanäytteitä/standardeja huolellisesti 1 minuutin ajan käyttämällä mikrolevyn ravistelijaa. Vältä läikyttämistä.
11. Inkuboi huoneenlämpötilassa ( $22 \pm 5$  °C)  $120 \pm 5$  minuutin ajan. Levyt eivät saa olla suorassa auringonvalossa inkuboinnin aikana.
12. Laimenna inkuboinnin aikana 1 osa pesupuskurin 20x konsentraattia 19 osaan deionisoitua tai tislattua vettä ja sekoita huolellisesti. Pesupuskuri 20x konsentraattia on toimitettu riittävä määrä, jotta voidaan valmistaa kaksi litraa käyttöpitoista pesupuskuria.

Pese kuoppia 400 µl:lla käyttöpitoista pesupuskuria vähintään kuuden jakson ajan levyn pesimessä. Suosittelemme automaattista levyn pesintä.

Huolellinen peseminen on erittäin tärkeää testin onnistumisen kannalta. Varmista, että jokainen kuoppa täytetään kokonaan pesupuskurilla kunkin pesujakson aikana. Suositus: liuota kuoppia vähintään 5 sekunnin ajan jokaisen jakson välillä parhaan mahdollisen pesutuloksen takaamiseksi.

Lisää jätevesisäiliöön laboratoriodesinfiointiaainetta, ja noudata vakiintuneita käytäntöjä koskien mahdollisesti infektoivan materiaalin dekontaminaatiota.

13. Taputa levyjä alaspäin käännettyinä imukykyisen, vähänukkaisten liinan päällä pesupuskurijäämien poistamiseksi. Lisää 100 µl entsyymisubstraattiliuosta kuhunkin kuoppaan, peitä jokainen levy kannella ja sekoita huolellisesti mikrolevyn ravistelijalla.
14. Inkuboi huoneenlämpötilassa ( $22 \pm 5$  °C) 30 minuutin ajan.  
Levyt eivät saa olla suorassa auringonvalossa inkuboinnin aikana.
15. Lisää 50 µl entsyymipysäytysliuosta kuhunkin kuoppaan ja sekoita huolellisesti mikrolevyn ravistelijalla.  
Entsyymipysäytysliuosta on lisättävä kuoppiin samassa järjestyksessä ja arviolta samalla nopeudella kuin entsyymisubstraattiliuosta vaiheessa 13.
16. Mittaa optinen tiheys (OD) 5 minuutin kuluessa reaktion pysäytyksestä mikrolevyn lukulaitteella, johon on asennettu 450 nm:n suodatin ja 620–650 nm:n referenssisuodatin. Optisen tiheyden arvoja käytetään tulosten laskennassa.

## Laskennat ja testien tulkinta

QuantiFERON Monitor-analyysiohjelmistoa käytetään raakadatan analysointiin ja tulosten laskentaan. Se on saatavilla osoitteesta [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Varmista, että käytössä on QuantiFERON Monitor-analyysiohjelmiston uusin versio.

Ohjelmisto suorittaa testin laadunvarmistusarvion, luo standardisuoran ja antaa kunkin potilaan testituloksen Tulosten tulkinta -luvussa kuvatulla tavalla.

Jos laimentamaton plasma on QFM ELISA -testin sallitun alueen yläpuolella (eli  $> 10$  IU/ml), QuantiFERON Monitor -analyysiohjelma raportoi miedoimman liuoksen, jolla on saatu aikaan QFM ELISA -testin sallitulla alueella oleva tulos ottaen huomioon laimennussuhteen.

Vaihtoehtona QuantiFERON Monitor-analyysiohjelmistolla tehtävälle analyysille tulokset voidaan määrittää seuraavan menetelmän mukaisesti.

## Standardisuoran laatiminen

(Jos QuantiFERON Monitor-analyysiohjelmistoa ei käytetä)

Määritetään standardisarjojen toisintojen optisen tiheyden arvot kussakin levyssä.

Laaditaan  $\log_{(e)}$ - $\log_{(e)}$  standardisuora muodostamalla keskiarvoisen optisen tiheyden (y-akseli)  $\log_{(e)}$  suhteessa standardien IFN- $\gamma$  konsentraatioon IU/ml:ina (x-akseli)  $\log_{(e)}$  jättäen nollastandardi pois näistä laskelmista. Laske standardisuora regressioanalyysillä.

Standardisuoraa käytetään määrittäessä IFN- $\gamma$ -konsentraatiopitoisuutta (IU/ml) kussakin testiplasmanäytteessä käyttämällä apuna kunkin näytteen optisen tiheyden arvoa.

Nämä laskelmat voidaan tehdä mikrolevyn lukulaitteiden mukana toimitettavilla ohjelmistoilla tai esimerkiksi standarditaulukkolaskennalla tai tilastointiohjelmistolla (esim. Microsoft® Excel®). Suosituksena on, että näitä ohjelmistoja käytetään regressioanalyysin, standardien variaatiokerrointen (%CV) ja standardisuoran korrelaatiokerroimen ( $r$ ) laskentaan.

Raportoitavana tuloksena on käytettävä miedointa liuosta, jolla saadaan tulos, joka on QFM ELISA -testin sallitulla alueella (laimennussuhde huomioon otettuna), jos laimentamaton plasma on QFM ELISA -testin sallitun alueen yläpuolella.

## Testin laadunvarmistus

Testin tarkkuus riippuu standardisuoran tarkkuudesta. Tästä syystä standardeista saadut tulokset on tarkastettava ennen kuin testituloksia voidaan tulkita.

ELISAA koskee seuraava:

- Standardin 1 keskimääräisen optisen tiheyden on oltava  $\geq 0,600$ .
- Standardin 1 ja 2 toistettujen optisten tiheyksien arvojen %CV on oltava  $\leq 15\%$ .
- Standardien 3 ja 4 rinnakkaisotosten optisten tiheyksien arvo ei saa poiketa yli 0,040 optisen tiheyden yksikköä niiden keskiarvosta.
- Keskimääräisistä imeytymisarvoista laskettujen korrelaatiokerrointen ( $r$ ) on oltava  $\geq 0,98$ .

QuantiFERON Monitor-analyysiohjelmisto laskee ja raportoi nämä laadunvalvontaparametrit.

Jos yllä mainitut kriteerit eivät täyty, ajo on virheellinen ja testi on tehtävä uudelleen.

Nollastandardin (vihreän laimennusliuoksen) keskimääräisen optisen tiheyden on oltava  $\leq 0,150$ . Jos keskimääräinen optisen tiheyden arvo on  $> 0,150$  levyjen pesuprosessi on tarkastettava.

## Tulosten tulkinta

QFM-testin tulosten tulkinnassa käytetään IFN- $\gamma$ -vastetta luonnollisen ja opitun immuunivasteen stimulanteille. QFM on testi, joka mahdollistaa immuunitoiminnan sekä kvalitatiivisen että kvantitatiivisen mittauksen. QFM-testin tulokset eivät ilmaise suoraan immunosuppression tasoa.

Tärkeää: Arvioitaessa potilaan immunologista tilaa mitattua IFN- $\gamma$ -tasoa on käytettävä yhdessä potilaan kliinisen tilanteen, aikaisempien sairauksien ja muiden diagnostisten arvioiden kanssa (taulukko 2). QFM-testin kynnys voi vaihdella riippuen henkilön immunosuppression tasosta ja elinsiirtoon liittyvistä seikoista.



## Taulukko 2. Tulosten tulkinta

QFM-tulos IFN- $\gamma$ (IU/ml)	Luokitus	Tulkinta
< 15	Heikko	Henkilöllä on heikko IFN- $\gamma$ -vaste luonnollisen ja opitun immuunivasteen stimulanteille.
15–1 000	Kohtalainen	Henkilöllä on kohtalainen IFN- $\gamma$ -vaste luonnollisen ja opitun immuunivasteen stimulanteille.
> 1 000	Voimakas	Henkilöllä on voimakas IFN- $\gamma$ -vaste luonnollisen ja opitun immuunivasteen stimulanteille.

Jos laimentamattoman plasmanäytteen mitattu IFN- $\gamma$ -taso on alle 0,1 IU/ml:

- Varmista, että QFM LyoSphere on lisätty verinäytteeseen ja että putki on inkuboitu tässä pakkausselosteessa esitettyjen ohjeiden mukaisesti.
- Varmista, että IFN- $\gamma$ -tulos vastaa henkilön tämänhetkistä kliinistä tilaa.

Jos epäillään teknisiä ongelmia verinäytteiden ottamisessa tai käsittelyssä, koko QFM-testi on toistettava uudella verinäytteellä. Toista ELISA-testaus stimuloituilla plasmanäytteillä, jos alkuperäisen testin epäillään suoritettuna tässä pakkausselosteessa esitettyistä ohjeista poikkeavalla tavalla (katso tarkemmat tiedot testin laadunvarmistusta käsittelevästä kohdasta).

Lääkäri voi haluta suorittaa testin uudelleen, jos testitulokset eivät vastaa potilaan nykyistä kliinistä tilaa.

## Rajoitukset

QFM-testissä saatuja tuloksia on käytettävä yhdessä kunkin henkilön epidemiologisen historian, nykyisen lääketieteellisen tilan ja muiden diagnostisten arviointien kanssa. Laboratoriot voivat halutessaan suorittaa lisäksi omia testejiään.

Laboratoriot voivat myös halutessaan suorittaa testin tutkittavan henkilön lisäksi terveeltä koehenkilöltä otetulla näytteellä.

Epäluotettavat tai epätarkat tulokset voivat johtua seuraavasta:

- Väärä veren antikoagulantti — käytä ainoastaan litiumhepariinia, koska muut antikoagulantit eivät sovellu tähän testaukseen.
- Prosessi poikkeaa tämän pakkausselosteen ohjeista.
- Verenkierrossa on liian suuria määriä gammainterferonia (IFN- $\gamma$ ) tai kehossa on heterofiilisiä vasta-aineita.
- Verinäytteen ottamisesta on kulunut yli 8 tuntia ennen inkubointia 37 °C:n lämpötilassa.
- QFM-veriputkien täyttäminen 0,9–1,1 ml:n alueen ulkopuoliseen arvoon.

## Suoritusarvot

### Kliiniset tutkimukset

Kaksi kliinistä tutkimusta suoritettiin terveiksi arvioitujen henkilöiden (n = 114) vasteiden arvioimiseksi verrattuna elinsiirtopotilaisiin (n = 30). Elinsiirtopotilaista 18:lle oli tehty elinsiirto äskettäin (elinsiirrosta enintään 3 kuukautta) ja 12 oli saanut elinsiirron aikaisemmin (elinsiirrosta yli 12 kuukautta).

- Näytteet kerättiin enintään 5 ajankohtana kullakin yksilöltä enintään kolme kuukautta sitten operoitujen potilaiden ryhmässä (elinsiirrosta enintään 3 kuukautta, n = 64 näytettä).
- Näytteet kerättiin 1 kerran kullakin yksilöltä yli 12 kuukautta sitten operoitujen potilaiden ryhmässä (elinsiirrosta yli 12 kuukautta, n = 12 näytettä).
- Näytteet kerättiin 1 kerran kullakin yksilöltä terveeksi arvioitujen henkilöiden ryhmässä (n = 114 näytettä).

QFM-vasteet vaihtelivat heikosta kohtalaiseen sekä enintään kolme kuukautta sitten operoitujen potilaiden että yli 12 kuukautta sitten operoitujen potilaiden kohdalla. Enintään kolme kuukautta sitten operoitujen potilaiden ryhmässä

heikko vaste todettiin 93,8 prosentilla potilaista ja kohtalainen vaste 6,3 prosentilla. Yli 12 kuukautta sitten operoitujen potilaiden ryhmässä luvut olivat pienemmät; heikko vaste todettiin 25 prosentilla potilaista ja kohtalainen vaste 66,7 prosentilla (taulukko 3). Enintään kolme kuukautta sitten elinsiirron saaneiden potilaiden ryhmässä ei havaittu voimakasta vastetta, ja yli 12 kuukautta sitten elinsiirron saaneiden potilaiden ryhmässä voimakas vaste havaittiin ainoastaan yhdellä potilaalla (8,3 %). QFM-vaste terveiksi arvioitujen henkilöiden ryhmässä oli useimmissa tapauksissa kohtalainen (83,3 %) tai voimakas (15,8 %) (taulukko 3).

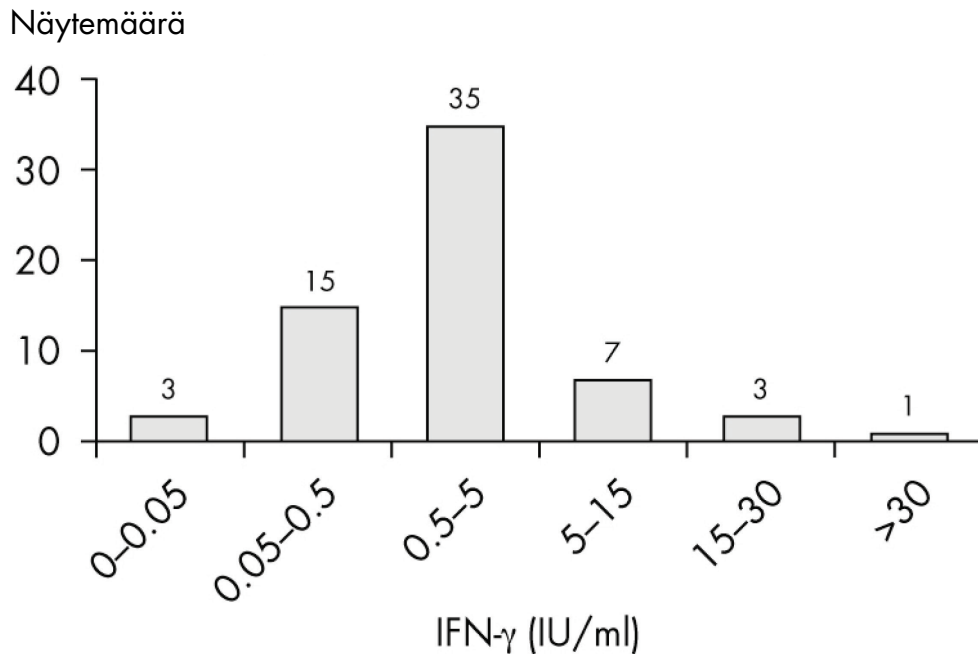
Taulukko 3. QFM-vaste terveeksi arvioituilla henkilöillä verrattuna elinsiirtopotilaisiin

IFN- $\gamma$ (IU/ml)	Vaste	Elinsiirrosta enintään 3 kk (%*) 95 % CI n	Elinsiirrosta yli 12 kk (%*) 95 % CI n	Terveeksi arvioidut henkilöt (%*) 95 % CI n	Luvut yhteensä
< 15	Heikko	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
15–1 000	Kohtalainen	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
> 1 000	Voimakas	0,0 % 0–5,7 n = 0	8,3 % 1,5–35,4 n = 1	15,8 % 10,2–23,6 n = 18	19
Näytteitä yhteensä		64	12	114	190

\* Prosenttiluvut viittaavat ryhmän kyseisellä vastealueella oleviin näytteisiin.

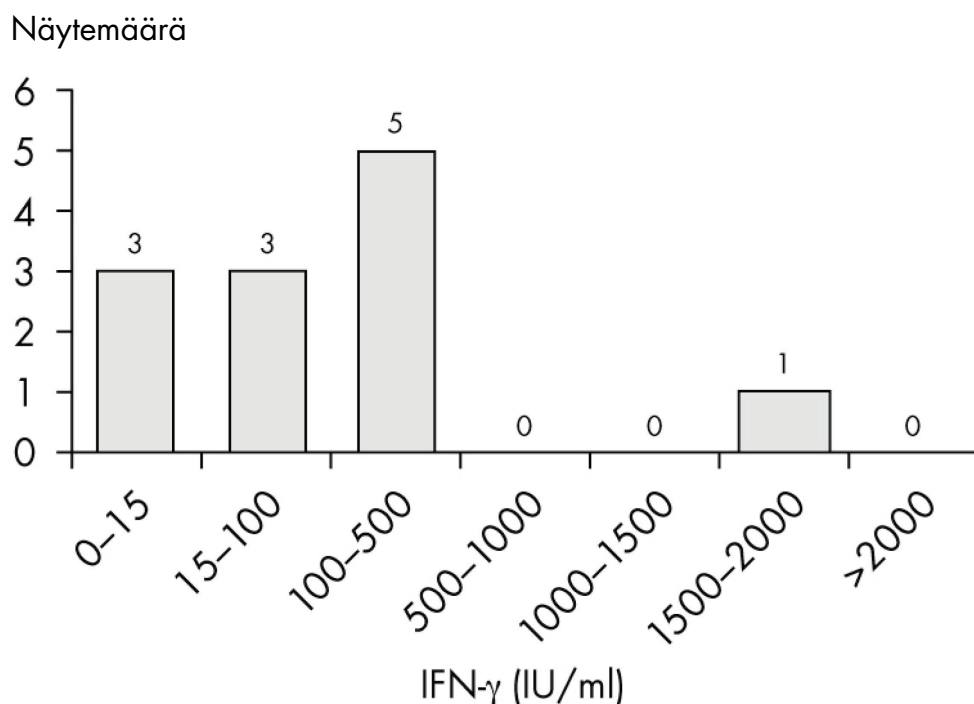
## Odotusarvot

IFN- $\gamma$ -vasteet enintään kolme kuukautta sitten elinsiirron saaneiden potilaiden ryhmässä määritettiin 64 näytteen perusteella, jotka kerättiin 18 elinsiirron saaneelta potilaalta ja testattiin QFM ELISA -testiä käyttäen (kuva 3).



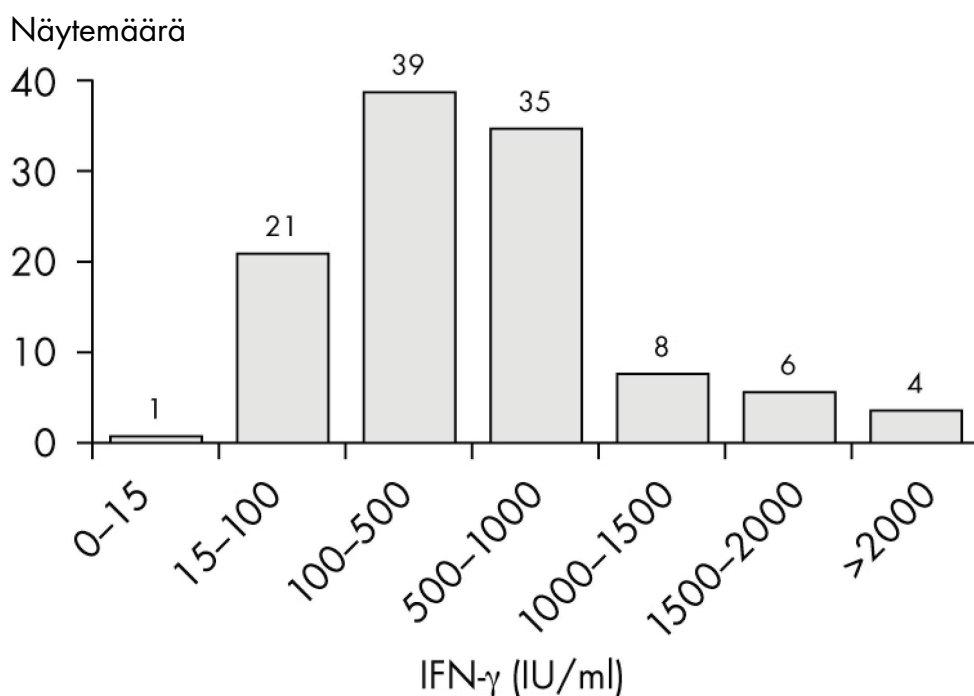
Kuva 3. QFM IFN- $\gamma$  -vasteet enintään kolme kuukautta sitten elinsiirron saaneiden potilaiden ryhmässä (n = 64; mediaani = 1,5 IU/ml).

QFM IFN- $\gamma$  -vasteet yli 12 kuukautta sitten elinsiirron saaneiden potilaiden ryhmässä määritettiin 12 näytteen perusteella, jotka testattiin QFM ELISA -testiä käyttäen (kuva 4).



Kuva 4. QFM IFN- $\gamma$  -vasteet yli 12 kuukautta sitten elinsiirron saaneiden potilaiden ryhmässä (n = 12; mediaani = 98,8 IU/ml).

IFN- $\gamma$  -vasteet QuantiFERON Monitor -testissä terveeksi arvioitujen henkilöiden ryhmässä määritettiin 114 näytteen perusteella, jotka testattiin QFM ELISA -testiä käyttäen (kuva 5).



Kuva 5. QFM IFN- $\gamma$  -vasteet terveeksi arvioitujen henkilöiden ryhmässä (n = 114; mediaani = 400,5 IU/ml).

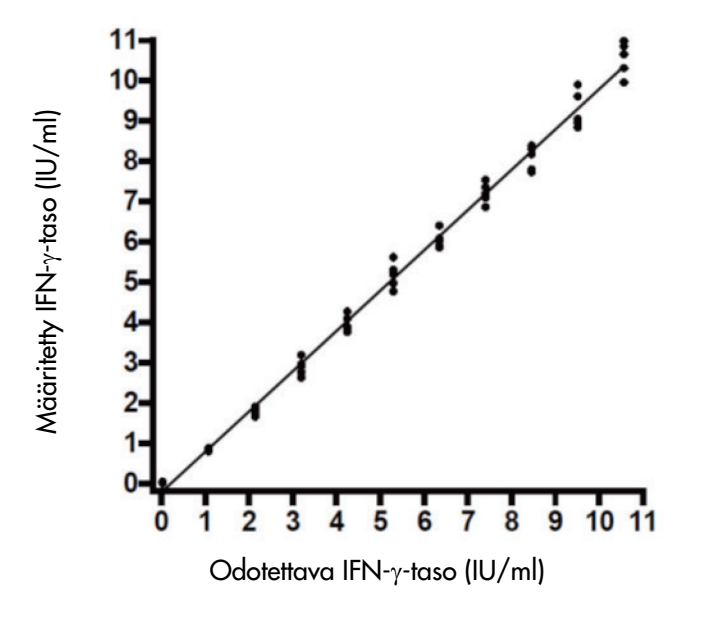
## QFM-vasteet elinsiirtopotilailla

QFM-vastetta arvioitiin elinsiirtopotilaita tarkastelevassa havainnoivassa poikittaistutkimuksessa (4). Tutkimuksessa oli mukana seuraavat ryhmät: 212 tervettä henkilöä, joiden alaryhmänä oli 30 ikä- ja sukupuolivakioitua kontrollihenkilöä, 30 elinsiirtoa odottavaa potilasta, 18 enintään kolme kuukautta siten elinsiirron saanutta potilasta (66 näytettä; mediaaniaika elinsiirrosta = 21 päivää) ja 11 yli 12 kuukautta sitten elinsiirron saanutta potilasta (mediaaniaika elinsiirrosta = 2 290 päivää). Keskimääräinen IFN- $\gamma$ -tuotanto oli 555,2 IU/ml terveillä henkilöillä ja 614,6 IU/ml ikä- ja sukupuolivakioidulla kontrollihenkilöllä. Keskimääräisen IFN- $\gamma$ -tuotannon havaittiin olevan merkittävästi heikompi sekä elinsiirtoa odottavien (IFN- $\gamma$  = 89,3 IU/ml) että enintään kolme kuukautta sitten elinsiirron saaneiden potilaiden ryhmässä (IFN- $\gamma$  = 3,76 IU/ml) verrattuna ikä- ja sukupuolivakioituihin kontrollihenkilöihin ( $p < 0,001$ ). Immuunitoiminnan palautumista havaittiin yli 12 kuukautta sitten elinsiirron saaneiden potilaiden ryhmässä (keskimääräinen IFN- $\gamma$  = 256,1 IU/ml), ja sen todettiin olevan merkittävästi suurempaa heidän keskuudessaan kuin enintään kolme kuukautta sitten elinsiirron saaneiden potilaiden ryhmässä ( $p < 0,05$ ). Tutkimuksen tulokset viittaavat siihen, että QFM soveltuu soluvälitteisen immuunivasteen arviointiin immuunivajeisilla elinsiirtopotilailla.

## Testin suoritusarvot

QFM ELISAn lineaarisuus on todistettu asettamalla ELISA-levylle sattumanvaraisesti 5 toisintoa 11 plasmapoolista, joiden IFN- $\gamma$ -pitoisuus tunnetaan. Linearisessa regressiolinjassa on  $1,002 \pm 0,011$  pudotus, ja korrelaatiokerroin on 0,99 (kuva 6).

QFM ELISA-testin tunnistusraja on 0,065 IU/ml, eikä testi ole osoittanut merkkejä suurten annosten (protsooni) vaikutuksesta IFN- $\gamma$ -pitoisuuteen 10 000 IU/millilitraan asti.



Kuva 6. QFM ELISAn lineaarisuusprofiili määriteltiin testaamalla 5 plasmanäytettä 11 joukosta, joiden IFN- $\gamma$ -pitoisuus oli tiedossa.

QFM-testin toistettavuus (vaihe 1) määritettiin 20 terveeltä tutkimushenkilöltä otettuja verinäytteitä käyttäen. Kolme eri testajaa, QFM LyoSphere -erää ja laitesarjaa arvioitiin. IFN- $\gamma$ -vasteiden keskimääräinen variaatiokerroin määritettiin QFM ELISA -testillä kaikissa kolmessa QFM LyoSphere -erässä, joiden kaikkien kohdalla tulos oli 22,22 % (95 % CI: 17,20–27,25).

QFM-testin toistettavuus (vaihe 1) arvioitiin mittaamalla 5–6 toistetun QFM LyoSphere -stimuloinnin vaihtelu samalla luovuttajalla 14 henkilön joukossa. Keskimääräinen variaatiokerroin 14 testatulla henkilöllä oli 14,7 % (95 % CI: 10,2–19,2). Yksittäisten tutkimushenkilöiden %CV oli alle 30 %.

QFM ELISA -testin (vaihe 2) toistettavuus arvioitiin testaamalla 20 plasmanäytettä, joiden IFN- $\gamma$ -pitoisuus vaihteli (kolme näytettä, kolme laboratoriota, kolme ei-peräkkäistä päivää ja kolme tekijää). Jokainen näyte testattiin 27 kertaa 9 riippumattomassa testiajossa. Yksi näytteistä oli nollakontrolli,

ja sen laskennallinen IFN- $\gamma$ -pitoisuus oli 0,08 IU/ml (95 % CI 0,07–0,09). Muiden 19 plasmanäytteen pitoisuudet olivat välillä 0,33 (95 % CI: 0,31–0,34) – 7,7 IU/ml (95 % CI 7,48–7,92).

Eräkohtainen tai testinsisäinen epätarkkuus arvioitiin määrittämällä jokaisen IFN- $\gamma$ :a sisältävän testiplasman % CV -keskiarvo kultakin levyerältä (n = 9). Tulokseksi saatu epätarkkuus vaihteli välillä 4,1–9,1 % CV. Erän keskiarvo %CV ( $\pm$  95 % CI) oli  $6,6 \pm 0,6$  %. Nolla-IFN- $\gamma$ -plasman keskiarvo oli 14,1 % CV.

Kokonais- tai testienvälinen epätarkkuus määritettiin vertaamalla 27:ää laskettua IFN- $\gamma$ -pitoisuutta jokaisesta plasmanäytteestä. Testienvälinen epätarkkuus oli 6,6–12,3 % CV. Kokonaiskeskiarvo %CV ( $\pm$  95 % CI) oli  $8,7 \pm 0,7$  %. Nolla IFN- $\gamma$  -plasman keskiarvo oli 26,1 % CV. Tätä vaihtelutasoa voidaan odottaa, koska laskettu IFN- $\gamma$ -pitoisuus on alhainen ja vaihtelu alhaisen arvion ympärillä on suurempi kuin suuremmissa pitoisuuksissa.

## Teknisiä tietoja

### Hyytyneet plasmanäytteet

Jos plasmanäytteitä kauan säilytettäessä syntyy fibriinihiyytymiä, näytteet on lingottava hyytyneen aineksen saostamiseksi ja plasman pipetoinnin helpottamiseksi.



# Ongelmien ratkaisu

Tämä ongelmien ratkaisuopas voi auttaa mahdollisissa esiin tulevissa ongelmissa. Lisätietoja on myös seuraavassa osoitteessa olevissa teknisissä tiedoissa: [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Katso yhteystiedot takakannesta.

## ELISAn ongelmien ratkaisu

---

### Epämääräinen värin kehittyminen

Mahdollinen syy	Ratkaisu
a) Levy ei ole täysin pesty	Pese levy pesupuskurilla 400 µl / kuoppa vähintään 6 kertaa. Käytettävän pesimen mukaan saatetaan tarvita enemmän kuin 6 pesujaksoa. Jokaisen pesujakson välissä on suoritettava vähintään 5 sekunnin liuotusjakso.
b) ELISA-kuoppien ristikontaminaatio	Pipetoinnissa ja näytteen sekoituksessa on oltava huolellinen riskin vähentämiseksi minimiin.
c) Sarja/komponentit ovat vanhentuneet	Varmista, että sarja käytetään ennen viimeistä käyttöpäivää. Varmista, että standardi ja konjugaatti 100x tiiviste käytetään 3 kuukauden kuluessa uudelleenliuotuspäivämäärästä.
d) Entsyymisubstraattiliuos on likaantunut	Heitä substraatti pois, jos sinistä väriä on havaittavissa. Varmista, että käytössä olevat reagenssisäiliöt ovat puhtaat.
e) Plasma on sekoittunut lingon QFM-putkissa ennen keräämistä	Kun linkous on tehty, varo pipetin ylös ja alas suuntautuvaa liikettä tai plasman sekoittumista millään tavoin ennen sen talteenottoa. Varo aina rikkomasta geelin pinnalla olevaa materiaalia.

### Standardien lukemien alhainen optinen tiheys

Mahdollinen syy	Ratkaisu
a) Standardin laimennusvirhe	Varmista, että standardisarjan laimennukset on tehty oikein tämän pakkausselosteen ohjeiden mukaan.
b) Pipetointivirhe	Varmista, että pipetit on kalibroitu ja niitä käytetään valmistajan ohjeiden mukaan.
c) Inkubointilämpötila on liian alhainen	ELISAn inkubointi on tehtävä huoneenlämpötilassa (17–27 °C).

## ELISAn ongelmien ratkaisu

---

- |  |  |
|--|--|
| d) Inkubointiaika on liian lyhyt                                 | Inkuboi levyä ja konjugaattia, standardia ja näytteitä $120 \pm 5$ minuuttia. Inkuboi entsyymi-substraattiliuosta levyssä 30 minuutin ajan.                                      |
| e) On käytetty virheellistä levyn lukulaitteen suodatinta        | Levy on luettava 450 nm:n suodattimella, ja referenssisuodattimen on oltava 620–650 nm.  |
| f) Reagenssit ovat liian kylmiä                                  | Kaikki reagenssit lukuun ottamatta konjugaatti 100x tiiviste -reagenssia on tuotava huoneenlämpöön ennen testin aloittamista. Tähän menee aikaan noin yksi tunti.                |
| g) Sarjan/komponenttien viimeinen käyttöpäivämäärä on umpeutunut | Varmista, että sarja käytetään ennen viimeistä käyttöpäivää. Varmista, että standardi ja konjugaatti 100x tiiviste käytetään 3 kuukauden kuluessa uudelleenliuotuspäivämäärästä. |

### Korkea tausta

#### Mahdollinen syy

#### Ratkaisu

- |  |   |
|--|---|
| a) Levy ei ole täysin pesty                | Pese levy pesupuskurilla 400 µl/kuoppa vähintään 6 kertaa. Käytettävän pesimen mukaan saatetaan tarvita enemmän kuin 6 pesujaksoa. Jokaisen pesujakson välissä on suoritettava vähintään 5 sekunnin liuotusjakso. |
| b) Inkubointilämpötila on liian korkea     | ELISAn inkubointi on tehtävä huoneenlämpötilassa (17–27 °C).  |
| c) Sarja/komponentit ovat vanhentuneet     | Varmista, että sarja käytetään ennen viimeistä käyttöpäivää. Varmista, että standardi ja konjugaatti 100x tiiviste käytetään kolmen kuukauden kuluessa uudelleenliuotuspäivämäärästä.                             |
| d) Entsyymisubstraattiliuos on likaantunut | Heitä substraatti pois, jos sinistä väriä on havaittavissa. Varmista, että käytössä olevat reagenssisäiliöt ovat puhtaat.   |

## ELISAn ongelmien ratkaisu

---

### Epälineaarinen standardisuora ja rinnakkaisotoksen vaihtelu

Mahdollinen syy	Ratkaisu
a) Levy ei ole täysin pesty	Pese levy pesupuskurilla 400 µl/kuoppa vähintään 6 kertaa. Käytettävän pesimen mukaan saatetaan tarvita enemmän kuin 6 pesujaksoa. Jokaisen pesujakson välissä on suoritettava vähintään 5 sekunnin liuotusjakso.
b) Standardin liuotusvirhe	Varmista, että standardien laimennukset on tehty oikein tämän pakkausselosteen ohjeiden mukaan.
c) Huono sekoitus	Sekoita reagenssit huolellisesti kääntelemällä putkia tai pyöräyttämällä niitä kevyesti ennen niiden lisäämistä levyille.
d) Epäjohdonmukainen pipetointitekniikka tai keskeytys testin suorituksessa	Näytteen ja standardin lisääminen on suoritettava yhtäjaksoisesti. Kaikki reagenssit on valmistettava ennen testin aloittamista.

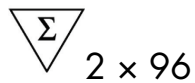
Tuotetiedot ja tekniset oppaat ovat saatavilla veloitusetta QIAGEN-yhtiöltä jälleenmyyjän välityksellä tai vieraillemalla osoitteessa [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com).

## Kirjallisuusviitteet

Täydellinen luettelo QFM-viitteistä on QuantiFERON-viitekirjastossa (Gnowee), joka on saatavilla osoitteessa [www.gnowee.net](http://www.gnowee.net).

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.

## Symbolit



Riittävä 2 x 96 -näytteen valmisteluihin



Laillinen valmistaja



CE-IVD-merkitty symboli



In vitro -diagnostiikkaan



Eräkoodi



Luettelonumero



Viimeinen käyttöpäivämäärä



Lämpötilarajoitus



Katso käyttöohjeet



Ei saa käyttää uudelleen



Säilytettävä auringonvalolta suojattuna



Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä

## Yhteystiedot

Jos tarvitset teknistä neuvontaa tai lisätietoja, soita ilmaisnumeroomme 00800-22-44-6000, käy teknisen tukemme sivuilla osoitteessa [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) tai ota yhteyttä johonkin QIAGENin teknisen palvelun osastoon (ks. takakansi tai käy osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).








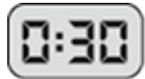



# Testimenetelmä lyhyesti

## Vaihe 1 – veren inkubointi

1. Ota potilaalta verinäyte joko QFM-verinäyteputkeen tai litiumhepariiniputkeen. Merkitse putkeen potilaan tiedot ja näytteenottoaika ja toimita putki laboratorioon huoneenlämpöisenä 8 tunnin kuluessa näytteen ottamisesta.
  - a. Jos verinäyte otettiin litiumhepariiniputkeen, siirrä 1 ml verta QFM-verinäyteputkeen ja merkitse putkeen potilaan tiedot ja näytteenottoaika.
2. Lisää yksi QFM LyoSphere -pelletti kuhunkin QFM-verinäyteputkeen, jossa on 1 ml verta, liuota LyoSphere ja inkuboi putkia mahdollisimman nopeasti (8 tunnin kuluessa näytteen ottamisesta) pystyasennossa 16–24 tunnin ajan 37 °C:n lämpötilassa.
3. Linkoa putkia inkuboinnin jälkeen 15 minuutin ajan 2 000–3 000 g:n (RCF) voimalla plasman erottamiseksi punasoluista.
4. Kun linkous on tehty, varo pipetin ylös ja alas suuntautuvaa liikettä tai plasman sekoittumista millään tavoin ennen sen talteenottoa. Varo aina rikkomasta geelin pinnalla olevaa materiaalia.



## Vaihe 2 – IFN- $\gamma$ ELISA

1. Anna ELISA-komponenttien Conjugate 100 $\times$  Concentrate (konjugaatti 100 $\times$  tiivistetty) lukuun ottamatta tasaantua huoneenlämpöön vähintään 60 minuuttia. 
2. Liuota standardisarja uudelleen 8,0 IU/ml:n vahvuuteen tislattulla tai deionisoidulla vedellä. Valmista 4 standardiliuosta. 
3. Sekoita kylmäkuivattu konjugaatti 100 $\times$  tiiviste sekä tislattu tai deionisoitu vesi. 
4. Valmista käyttöpitoinen liuos konjugaattia vihreään laimennusliuokseen ja lisää sitä 50  $\mu$ l kaikkiin kuoppiin. 
5. Lisää 50  $\mu$ l testiplasmanäytettä (laimentamaton, 1:10 ja 1:100 tarpeen mukaan) ja 50  $\mu$ l standardeja asianmukaisesti kuoppiin. Sekoita käyttämällä ravistelijaa. 
6. Inkuboi huoneenlämpötilassa 120  $\pm$  5 minuuttia. 
7. Pese kuopat pesupuskurilla 400  $\mu$ l/kuoppa vähintään kuusi kertaa. 
8. Lisää 100  $\mu$ l entsyymisubstraattiliuosta kuoppiin. Sekoita käyttämällä ravistelijaa. 
9. Inkuboi huoneenlämpötilassa 30 minuuttia. 
10. Lisää 50  $\mu$ l entsyyminpysäytysliuosta kaikkiin kuoppiin. Sekoita käyttämällä ravistelijaa. 
11. Lue tulokset 450 nm:n suodattimella ja 620–650 nm:n referenssisuodattimella. 
12. Analysoi tulokset.

## Huomautukset

## Merkittävät muutokset

Tämän painoksen merkittävät muutokset QuantiFERON Monitor® (QFM®) ELISA -pakkausselosteeseen on esitetty lyhyesti alla olevassa taulukossa:

Luku	Sivu	Muutokset
Varotoimet	11	Uudet GHS-tiedot
Varotoimet	12	Lisätty turvallisuusohje metallisuojuksisten pullojen käsittelyyn.



Tavaramerkit: QIAGEN®, QFM®, QuantiFERON®, QuantiFERON Monitor® (QIAGEN-ryhmä); LyoSphere™, LyoSpheres™ (BioLyph); Excel®, Microsoft® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.).

QuantiFERON Monitor Kit -testin rajoitettu lisenssisopimus.

Tämän tuotteen käyttö tarkoittaa ostajan tai käyttäjän suostumusta noudattaa seuraavia ehtoja:

1. Tuotetta saa käyttää ainoastaan tuotteen mukana toimitettujen asiakirjojen ja tämän käyttöoppaan ohjeiden mukaan, ja sen kanssa saa käyttää vain sarjan sisältämiä komponentteja. QIAGEN ei myönnä lisenssiä mihinkään aineettomaan omaisuuteensa, eikä tämän sarjan oheisia komponentteja saa käyttää tai liittää muihin komponentteihin, jotka eivät sisälly tähän sarjaan, kuten tuotteen mukana toimitetuissa asiakirjoissa, tässä käyttöoppaassa ja lisämateriaalissa mainitaan. Ne ovat saatavilla osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Osa lisämateriaalista on QIAGEN-käyttäjien toisille QIAGEN-käyttäjille laatimaa. QIAGEN ei ole testannut tai tarkistanut kyseistä materiaalia. QIAGEN ei anna takuuta lisämateriaalille eikä takaa, ettei se loukkaa kolmannen tahon oikeuksia.
2. QIAGEN ei takaa kuin nimenomaisissa lisensseissään, että tämä sarja ja/tai sen käyttäjä(t) eivät loukkaa kolmannen tahon oikeuksia.
3. Tämä sarja ja sen komponentit on lisensoitu kertakäyttöön, eikä niitä saa käyttää uudelleen, kunnostaa tai myydä eteenpäin.
4. QIAGEN sanoutuu irti muista suorista ja epäsuorista lisensseistä.
5. Sarjan ostaja ja käyttäjä suostuvat siihen, että he eivät ryhdy tai anna kenellekään toiselle lupaa ryhtyä toimenpiteisiin, jotka saattavat aiheuttaa tai edistää mitään yllä kiellettyä toimintaa. QIAGEN voi panna vireille tämän rajoitetun lisenssisopimuksen purkamisen missä tahansa tuomioistuimessa, ja vaatii korvattavaksi kaikki valmistelu- ja oikeuskulut mukaan lukien asianajopalkkiot, jos tämän lisenssisopimuksen tai minkään sen immateriaalioikeuksia koskevaa saa koskien tätä sarjaa ja/tai sen komponentteja rikotaan.

Päivitetyt lisenssiehdot saa osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2014 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.

---

[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)

