



Μάρτιος 2023

# Οδηγίες χρήσης QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold Plus ELISA Kit



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Έκδοση 1



Για in vitro διαγνωστική χρήση

Για χρήση με τα QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold Plus Blood Collection Tubes



622120, 622822



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Γερμανία



R4 1123669EL



# Περιεχόμενα

Προβλεπόμενη χρήση .....	5
Προβλεπόμενος χρήστης .....	5
Περιγραφή και αρχή λειτουργίας.....	6
Πληροφορίες για τους παθογόνους μικροοργανισμούς.....	6
Σύνοψη και επεξήγηση.....	7
Αρχές του προσδιορισμού.....	10
Υλικά που παρέχονται .....	12
Περιεχόμενα του κιτ.....	12
Συστατικά του κιτ.....	13
Πλατφόρμα και λογισμικό.....	13
Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται .....	14
Πρόσθετα αντιδραστήρια.....	14
Αναλώσιμα .....	14
Εξοπλισμός .....	14
Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις.....	16
Πληροφορίες ασφάλειας.....	16
Πληροφορίες σε περίπτωση έκτακτης ανάγκης.....	17
Προφυλάξεις.....	18
Φύλαξη και χειρισμός αντιδραστηρίων .....	20
Σταθερότητα εντός χρήσης.....	20
Ανασυσταθέντα και αχρησιμοποίητα αντιδραστήρια .....	20
Φύλαξη και χειρισμός δοκιμών .....	21

Πρωτόκολλο: Εκτέλεση του ELISA.....	22
Αποτελέσματα (Υπολογισμοί).....	28
Παραγωγή πρότυπης καμπύλης και τιμών δειγμάτων .....	28
Έλεγχος ποιότητας εξέτασης .....	30
Ερμηνεία αποτελεσμάτων .....	32
Περιορισμοί .....	34
Χαρακτηριστικά επιδόσεων .....	35
Κλινικές μελέτες.....	35
Ευαισθησία.....	37
Αναμενόμενες τιμές .....	45
Σύνοψη ασφάλειας και απόδοσης.....	51
Χαρακτηριστικά απόδοσης προσδιορισμού.....	52
Απόδοση ανάλυσης .....	52
Απόρριψη .....	65
Βιβλιογραφία .....	66
Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων.....	68
Σύμβολα .....	72
Παράρτημα Α: Τεχνικές πληροφορίες.....	75
Απροσδιόριστα αποτελέσματα .....	75
Θρομβωμένα δείγματα πλάσματος .....	75
Λιπαιμικά δείγματα πλάσματος .....	75
Παράρτημα Β: Συνοπτική διαδικασία ανάλυσης ELISA .....	76
Πληροφορίες παραγγελίας .....	78
Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου .....	80

## Προβλεπόμενη χρήση

Ο προσδιορισμός QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus) είναι μια *in vitro* διαγνωστική δοκιμασία που χρησιμοποιεί ένα μείγμα πεπτιδίων, το οποίο μιμείται τις πρωτεΐνες ESAT-6 και CFP-10 για τη διέγερση κυττάρων σε ηπαρινισμένο ολικό αίμα. Εκτελείται ανίχνευση ιντερφερόνης- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) μέσω ενός ενζυμικού προσδιορισμού ανοσοπροσρόφησης (ELISA) για τον προσδιορισμό της *in vitro* απάντησης στα εν λόγω πεπτιδικά αντιγόνα, τα οποία σχετίζονται με λοίμωξη από το *Mycobacterium tuberculosis*.

Η QFT-Plus είναι μια έμμεση δοκιμασία για την ανίχνευση λοίμωξης από *M. Tuberculosis* (συμπεριλαμβανομένης και της νόσου) και προορίζεται για χρήση σε συνδυασμό με εκτιμήσεις κινδύνου, ακτινογραφικές εξετάσεις και άλλες ιατρικές και διαγνωστικές αξιολογήσεις.

## Προβλεπόμενος χρήστης

Το kit αυτό προορίζεται για επαγγελματική χρήση.

Ο προσδιορισμός QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) πρέπει να χρησιμοποιείται από εκπαιδευμένο προσωπικό σε εργαστηριακό περιβάλλον.

# Περιγραφή και αρχή λειτουργίας

## Πληροφορίες για τους παθογόνους μικροοργανισμούς

Η φυματίωση είναι μεταδοτική νόσος που οφείλεται σε λοίμωξη από μικροοργανισμούς του συμπλέγματος *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. Africanum*, *M. microti*, *M. Canetti* και *M. caprae*) και η οποία κατά κανόνα μεταδίδεται σε νέους ξενιστές μέσω αερομεταφερόμενων πυρήνων σταγονιδίων από ασθενείς με πνευμονική φυματίωση. Αφού μολυνθεί, ένα άτομο μπορεί να νοσήσει με φυματίωση μέσα σε μερικές εβδομάδες ή μήνες αλλά στις περισσότερες περιπτώσεις θα παραμείνει υγιές. Η λανθάνουσα λοίμωξη φυματίωσης (latent tuberculosis infection, LTBI), μια μη μεταδοτική ασυμπτωματική κατάσταση, επιμένει σε κάποια άτομα τα οποία ενδέχεται να αναπτύξουν ενεργή νόσο μερικούς μήνες ή και χρόνια αργότερα. Η διάγνωση της LTBI χρησιμεύει κυρίως στη λήψη απόφασης σχετικά με ενδεχόμενη χορήγηση φαρμακευτικής θεραπείας ώστε να αποφευχθεί η εκδήλωση ενεργής νόσου. Για περισσότερα από 100 χρόνια, η μοναδική μέθοδος διάγνωσης της LTBI ήταν η δερματική δοκιμασία φυματίνης (tuberculin skin test, TST) (4). Δερματική ευαισθησία στη φυματίνη αναπτύσσεται από 2 έως 10 εβδομάδες μετά τη λοίμωξη. Ορισμένα μολυσμένα άτομα ωστόσο, όπως αυτά που πάσχουν από ένα ευρύ φάσμα παθήσεων οι οποίες διαταράσσουν τις ανοσολογικές λειτουργίες, αλλά και άτομα χωρίς τέτοιες παθήσεις, δεν αντιδρούν στη φυματίνη. Αντιστρόφως, κάποια άτομα με μικρές πιθανότητες λοίμωξης από *M. tuberculosis* παρουσιάζουν ευαισθησία στη φυματίνη και θετικό αποτέλεσμα στη δοκιμασία TST μετά τον εμβολιασμό με τον βάκιλλο Calmette-Guérin (BCG), έπειτα από λοίμωξη από άλλα μυκοβακτηρίδια πλην αυτών του συμπλέγματος *M. tuberculosis*, ή λόγω άλλων απροσδιόριστων παραγόντων.

Η LTBI πρέπει να διακρίνεται από την ενεργή φυματίωση, μια νόσο υποχρεωτικής δήλωσης η οποία προσβάλλει συνήθως τους πνεύμονες και το κατώτερο αναπνευστικό, αλλά μπορεί να προσβάλει και άλλα οργανικά συστήματα. Η διάγνωση ενεργής νόσου φυματίωσης γίνεται με βάση ευρήματα ιστορικού, αντικειμενικής εξέτασης, ακτινολογικά και μυκοβακτηριολογικά.

## Σύνοψη και επεξήγηση

Η δοκιμασία QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) αντιπροσωπεύει την τέταρτη γενιά στην τεχνολογία δοκιμασίας QuantiFERON-TB που αξιολογεί την κυτταρομεσολαβούμενη απόκριση μέσω ποσοτικής μέτρησης IFN- $\gamma$  σε δείγμα ολικού αίματος. Η QFT-Plus είναι μια ποιοτική δοκιμασία που μετρά τις κυτταρομεσολαβούμενες (cell-mediated immunity, CMI) ανοσοαποκρίσεις έναντι πεπτιδικών αντιγόνων που μιμούνται τις μυκοβακτηριδιακές πρωτεΐνες. Αυτές οι πρωτεΐνες (ESAT-6 και CFP-10) απουσιάζουν από όλα τα στελέχη BCG και από τα περισσότερα μη φυματιώδη μυκοβακτηρίδια, εκτός από τα *M. kansasii*, *M. szulgai* και *M. marinum* (1). Το αίμα των ατόμων που έχουν μολυνθεί από μικροοργανισμούς του συμπλέγματος *M. tuberculosis* συνήθως περιέχει λεμφοκύτταρα που αναγνωρίζουν αυτά και άλλα μυκοβακτηριδιακά αντιγόνα. Αυτή η διαδικασία αναγνώρισης περιλαμβάνει την παραγωγή και έκκριση της κυτοκίνης IFN- $\gamma$ . Η ανίχνευση και ο επακόλουθος ποσοτικός προσδιορισμός της IFN- $\gamma$  αποτελούν τη βάση για αυτήν τη δοκιμασία.

Οι δερματικές δοκιμασίες φυματίνης και οι δοκιμασίες IGRA είναι χρήσιμες αλλά ανεπαρκείς για τη διάγνωση λοίμωξης από μικροοργανισμούς του συμπλέγματος *M. tuberculosis* σε ασθενείς με ενεργή νόσο. Ένα θετικό αποτέλεσμα μπορεί να υποστηρίξει τη διάγνωση φυματίωσης. Ωστόσο, τα θετικά αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται σε άλλα μυκοβακτήρια (π.χ. *M. kansasii*). Απαιτούνται και άλλες ιατρικές και διαγνωστικές αξιολογήσεις για να επιβεβαιωθεί ή να αποκλειστεί η ενεργή φυματίωση.

Τα αντιγόνα που χρησιμοποιούνται στη δοκιμασία QFT-Plus είναι ένα μείγμα πεπτιδίων που μίμείται τις πρωτεΐνες ESAT-6 και CFP-10. Πολυάριθμες μελέτες έχουν δείξει ότι αυτά τα πεπτιδικά αντιγόνα διεγείρουν απαντήσεις IFN- $\gamma$  σε T κύτταρα ατόμων με μόλυνση από *M. tuberculosis*, αλλά συνήθως όχι και των ατόμων χωρίς μόλυνση ή των ατόμων που έχουν εμβολιαστεί με τον BCG και δεν εμφανίζουν νόσο ή κίνδυνο LTBI (1,2,6,9). Ωστόσο, ορισμένες φαρμακευτικές αγωγές ή παθήσεις που επηρεάζουν τις ανοσολογικές λειτουργίες ενδέχεται να περιορίσουν τις αποκρίσεις της IFN- $\gamma$ . Οι ασθενείς με ορισμένες άλλες μυκοβακτηριδιακές λοιμώξεις ενδέχεται να παρουσιάσουν και αυτοί αντίδραση στις

πρωτεΐνες ESAT-6 και CFP-10, καθώς τα γονίδια που τις κωδικοποιούν είναι παρόντα και στα *M. kansasii*, *M. szulgai* και *M. marinum* (1, 3,7).

Ο πληθυσμός που υποβάλλεται σε δοκιμασία QFT-Plus είναι ασθενείς με κλινικά επιβεβαιωμένη ενεργή φυματίωση και ασθενείς με κίνδυνο λοίμωξης από φυματίωση ή με λανθάνουσα λοίμωξη φυματίωσης (LTBI). Δεν ισχύουν περιορισμοί ηλικίας, φύλου ή άλλου είδους.

Στη λοίμωξη από *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), τα CD4<sup>+</sup> T κύτταρα διαδραματίζουν καθοριστικό ρόλο στον ανοσολογικό έλεγχο μέσω της έκκρισης της κυτταροκίνης IFN- $\gamma$ . Νέα στοιχεία υποδεικνύουν ότι τα CD8<sup>+</sup> T κύτταρα συμμετέχουν στην άμυνα του ξενιστή έναντι του MTB με παραγωγή IFN- $\gamma$  και άλλων διαλυτών παραγόντων, οι οποίοι ενεργοποιούν τα μακροφάγα ώστε να καταστείλουν την ανάπτυξη του MTB, να φονεύσουν τα μολυσμένα κύτταρα ή να προκαλέσουν απευθείας τη λύση των ενδοκυττάρων MTB. Ειδικά για το MTB κύτταρα CD8<sup>+</sup> που παράγουν IFN- $\gamma$  έχουν ανιχνευθεί τόσο σε άτομα με LTBI όσο και σε άτομα με ενεργή φυματίωση. Επίσης, ειδικά για τις πρωτεΐνες ESAT-6 και CFP-10 CD8<sup>+</sup> T λεμφοκύτταρα περιγράφονται ως συχνότερα ανιχνευόμενα σε άτομα με ενεργή φυματίωση απ' ό,τι σε άτομα με LTBI και ενδέχεται να συνδέονται με πρόσφατη έκθεση σε MTB (8,10–12). Επιπλέον, ειδικά για το MTB CD8<sup>+</sup> T κύτταρα που παράγουν IFN- $\gamma$  έχουν ανιχνευθεί και σε άτομα με ενεργή φυματίωση και συλλοίμωξη από HIV (13, 14), καθώς και σε μικρά παιδιά που νοσούν από φυματίωση (15).

Η δοκιμασία QFT-Plus περιλαμβάνει δύο διαφορετικά σωληνάρια αντιγόνου TB: το σωληνάριο TB Antigen Tube 1 (TB1) και το σωληνάριο TB Antigen Tube 2 (TB2). Και τα δύο σωληνάρια περιέχουν πεπτιδικά αντιγόνα από τα αντιγόνα που σχετίζονται με το σύμπλεγμα MTB και τις πρωτεΐνες ESAT-6 και CFP-10. Τόσο το σωληνάριο TB1 όσο και το σωληνάριο TB2 περιέχουν πεπτιδικά από τις πρωτεΐνες ESAT-6 και CFP-10 σχεδιασμένα ώστε να προκαλέσουν κυτταρομεσολαβούμενες αποκρίσεις από τα CD4<sup>+</sup> T-βοηθητικά λεμφοκύτταρα. Το σωληνάριο TB2 περιέχει ένα επιπλέον σύνολο πεπτιδίων που στοχεύει στην πρόκληση κυτταρομεσολαβούμενων αποκρίσεων από τα CD8<sup>+</sup> κυτταροτοξικά T λεμφοκύτταρα.



Οι παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη από *M. tuberculosis* περιλαμβάνουν ιστορικούς, ιατρικούς ή επιδημιολογικούς προγνωστικούς δείκτες για ενεργή φυματίωση ή έκθεση σε φυματίωση. Ανατρέξτε στις πιο πρόσφατες οδηγίες του ΠΟΥ <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment> για λεπτομερείς συστάσεις σχετικά με τη διάγνωση λοίμωξης από *M. tuberculosis* (συμπεριλαμβανομένης ενεργής νόσου) και την επιλογή των ατόμων που θα υποβληθούν στη δοκιμασία (16). Ο προσδιορισμός QFT-Plus έχει δοκιμαστεί σε ορισμένες ομάδες ασθενών που ενδείκνυται για έλεγχο για πιθανή λοίμωξη TB σύμφωνα με τις τρέχουσες οδηγίες από τον ΠΟΥ (16), συμπεριλαμβανομένων: ατόμων με θετικό αποτέλεσμα για τον ανθρώπινο ιό ανοσοανεπάρκειας (human immunodeficiency virus, HIV), επαφών πρόσφατων ασθενών TB και κατοίκων σε σημεία με μεγάλο συνωστισμό που έχουν εκτεθεί σε ενήλικες με υψηλό κίνδυνο για TB (5).

## Αρχές του προσδιορισμού

Το QFT-Plus είναι ένας ποιοτικός προσδιορισμός που χρησιμοποιεί εξειδικευμένα σωληνάρια αιμοληψίας με πεπτιδικά αντιγόνα, τα οποία μιμούνται τις πρωτεΐνες *M. tuberculosis* που χρησιμοποιούνται για τη συλλογή ολικού αίματος. Το αίμα επωάζεται μέσα στα σωληνάρια επί 16 έως 24 ώρες και, στη συνέχεια, το πλάσμα συλλέγεται και εξετάζεται ως προς την παρουσία IFN- $\gamma$  η οποία παράγεται ως απάντηση στα πεπτιδικά αντιγόνα.

Αρχικά, συλλέγεται ολικό αίμα σε καθένα από τα σωληνάρια QFT-Plus Blood Collection Tubes: ένα σωληνάριο Nil, ένα σωληνάριο αντιγόνου TB1, ένα σωληνάριο αντιγόνου TB2 και ένα σωληνάριο Mitogen. Εναλλακτικά, το αίμα μπορεί να συλλεχθεί σε ένα σωληνάριο με λιθιούχο ή νατριούχο ηπαρίνη ως αντιπηκτικό και κατόπιν να μεταφερθεί σε QFT-Plus Blood Collection Tubes.

Τα QFT-Plus Blood Collection Tubes ανακινούνται ώστε το αντιγόνο να αναμειχθεί με το αίμα και θα πρέπει να επωαστούν στους  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  το συντομότερο δυνατόν και εντός 16 ωρών από τη λήψη. Έπειτα από μια περίοδο επώασης διάρκειας 16 έως 24 ωρών, τα σωληνάρια φυγοκεντρίζονται, το πλάσμα υποβάλλεται σε επεξεργασία και η ποσότητα της IFN- $\gamma$  (IU/ml) μετράται μέσω ELISA. Η δοκιμασία QFT-Plus ELISA χρησιμοποιεί το πρότυπο ανασυνδυασμένης ανθρώπινης IFN- $\gamma$ , το οποίο έχει αναλυθεί έναντι ενός παρασκευάσματος IFN- $\gamma$  αναφοράς (Αρ. αναφ. NIH: Gxg01-902-535). Τα αποτελέσματα για τα δείγματα της εξέτασης αναφέρονται σε διεθνείς μονάδες ανά ml (IU/ml) σε σχέση με μια πρότυπη καμπύλη η οποία παράγεται μέσω εξέτασης της αραίωσης του προτύπου που παρέχεται με το kit.

Τα ετερόφιλα αντισώματα (π.χ. ανθρώπινα αντισώματα έναντι των ποντικών) στον ορό ή το πλάσμα ορισμένων ατόμων είναι γνωστό ότι προκαλούν παρεμβολές στους ανοσοπροσδιορισμούς. Η επίδραση των ετερόφιλων αντισωμάτων στον προσδιορισμό QFT-Plus ELISA ελαχιστοποιείται με την προσθήκη φυσιολογικού ορού ποντικού στο πράσινο αραιωτικό και με τη χρήση τμημάτων μονοκλωνικού αντισώματος F(ab')<sub>2</sub> ως δέσμευσης της IFN- $\gamma$  επικαλύπτει τα βυθίσματα της μικροπλάκας.

Ένα δείγμα που εξετάζεται με τον προσδιορισμό QFT-Plus θεωρείται θετικό για την απάντηση της IFN- $\gamma$  όταν οποιοδήποτε από τα δύο σωληνάρια αντιγόνου TB δίνει αποτέλεσμα σημαντικά μεγαλύτερο από την τιμή IFN- $\gamma$  του Nil σε IU/ml. Το δείγμα πλάσματος από το σωληνάριο Mitogen χρησιμεύει ως θετικός μάρτυρας ιντερφερόνης- $\gamma$  για καθένα από τα εξεταζόμενα δοκίμια. Οι χαμηλές απαντήσεις στο Mitogen ( $< 0,5$  IU/ml) συνιστούν απροσδιόριστο αποτέλεσμα όταν το δείγμα αίματος παρουσιάζει επίσης αρνητική απάντηση στα αντιγόνα TB. Τέτοιος συνδυασμός αποτελεσμάτων μπορεί να προκύψει εάν υπάρχουν ανεπαρκή λεμφοκύτταρα, μειωμένη λεμφοκυτταρική δραστηριότητα λόγω ακατάλληλου χειρισμού του δοκιμίου, πλήρωσης/ανάμειξης του σωληναρίου Mitogen, ή αδυναμίας των λεμφοκυττάρων του ασθενούς να παραγάγουν IFN- $\gamma$ . Αυξημένα επίπεδα IFN- $\gamma$  στο δείγμα Nil ενδέχεται να προκύψουν με την παρουσία ετερόφιλων αντισωμάτων ή λόγω απέκκρισης ενδογενούς IFN- $\gamma$ . Το σωληνάριο Nil χρησιμεύει στη διόρθωση των αποτελεσμάτων ως προς το υπόβαθρο (π.χ. αυξημένα επίπεδα IFN- $\gamma$  στην κυκλοφορία ή παρουσία ετερόφιλων αντισωμάτων). Το επίπεδο IFN- $\gamma$  στο σωληνάριο Nil αφαιρείται από το επίπεδο IFN- $\gamma$  στα σωληνάρια αντιγόνου TB και το σωληνάριο Mitogen. Το εύρος μέτρησης του QFT-Plus ELISA είναι έως 10 IU/ml.

# Υλικά που παρέχονται

## Περιεχόμενα του kit

<b>Συστατικά προσδιορισμού ELISA Αρ. καταλόγου</b>	<b>Kit 2 πλακών 622120</b>	<b>Συσκευασία αναφοράς εργαστηρίου 622822</b>
Microplate strips (Σειρές μικροπιακών) (12 × 8 βυθίσματα) επικαλυμμένες με μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού κατά της ανθρωπίνης IFN- $\gamma$	2 σετ με 12 σειρές μικροπιακών των 8 βυθισμάτων	20 σετ με 12 σειρές μικροπιακών των 8 βυθισμάτων
IFN- $\gamma$ Standard (πρότυπο IFN- $\gamma$ ), λυοφιλοποιημένο (περιέχει ανασυνδυασμένη ανθρωπίνη IFN- $\gamma$ , καζεΐνη βοοειδούς, θιμεροσάλη 0,01% κ.ό.)	1 φιαλίδιο (8 IU/ml μετά την ανασύσταση)	10 φιαλίδια (8 IU/ml μετά την ανασύσταση)
Green Diluent (Πράσινο αραιωτικό) (περιέχει καζεΐνη βοοειδούς, φυσιολογικό ορό ποντικού, θιμεροσάλη 0,01% κ.ό.)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x), λυοφιλοποιημένο (αντίσωμα ποντικού κατά της ανθρωπίνης IFN- $\gamma$ HRP, περιέχει θιμεροσάλη 0,01% κ.ό.)	1 × 0,3 ml (μετά την ανασύσταση)	10 × 0,3 ml (μετά την ανασύσταση)
Wash Buffer 20x Concentrate (Συμπύκνωμα ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 20x) (pH 7,2, περιέχει ProClin® 300 0,05% κ.ό.)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Διάλυμα υποστρώματος ενζύμου) (περιέχει H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3', 5,5' τετραμεθυλοβενζιδίνη)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Διάλυμα διακοπής ενζυμικής αντίδρασης) (περιέχει H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,5 M)	1 x 15 ml	10 x 15 ml
<i>Οδηγίες χρήσης QuantiFERON TB-Gold Plus ELISA Kit</i>	1	1

## Συστατικά του Kit

### Μάρτυρες και βαθμονομητές

Η δοκιμασία QFT-Plus ELISA χρησιμοποιεί το πρότυπο ανασυνδυασμένης ανθρώπινης IFN- $\gamma$ , το οποίο έχει αναλυθεί έναντι ενός παρασκευάσματος IFN- $\gamma$  αναφοράς (Αρ. αναφ. NIH: Gxg01-902-535).

### Πλατφόρμα και λογισμικό

Το QFT-Plus Analysis Software είναι προαιρετικό και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση πρωτογενών δεδομένων και τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων. Είναι διαθέσιμο για λήψη στον ιστότοπο [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

## Πρόσθετα αντιδραστήρια

- QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes
- Απιονισμένο ή απεσταγμένο νερό, 2 λίτρα

## Αναλώσιμα

- Καπάκι για πλάκα 96 βυθισμάτων
- Προαιρετικά: Μικροσωληνάρια 1 ml με πώματα σε θήκες 96 βυθισμάτων ή μικροπλάκες χωρίς επικάλυψη με πλαστική σφράγιση για την αποθήκευση πλάσματος (22 ασθενείς/θήκη ή πλάκα)
- Δοχεία αντιδραστηρίων

## Εξοπλισμός\*

- Επωαστήρας  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  (με ή χωρίς  $\text{CO}_2$ )
- Βαθμονομημένες πιπέτες ρυθμιζόμενου όγκου για χορήγηση 10  $\mu\text{l}$  έως 1.000  $\mu\text{l}$  με ρύγχη μίας χρήσης
- Βαθμονομημένη πολυκάναλη πιπέτα με δυνατότητα χορήγησης 50  $\mu\text{l}$  και 100  $\mu\text{l}$ , με ρύγχη μίας χρήσης
- Συσκευή ανακίνησης μικροπλακών με δυνατότητα ταχυτήτων μεταξύ 500 και 1.000 rpm
- Μονάδα πλύσης πλακών (για λόγους ασφάλειας κατά τον χειρισμό δειγμάτων πλάσματος, συνιστάται η χρήση αυτόματης συσκευής πλύσης πλακών)
- Συσκευή ανάγνωσης μικροπλακών με φίλτρο 450 nm και φίλτρο αναφοράς 620 nm έως 650 nm
- Αναδευτήρας τύπου vortex μεταβαλλόμενης ταχύτητας

\* Πριν από τη χρήση, βεβαιωθείτε ότι τα όργανα έχουν ελεγχθεί και βαθμονομηθεί σύμφωνα με τις συστάσεις του κατασκευαστή.

- Φυγόκεντρος με δυνατότητα φυγοκέντρισης των σωληναρίων αιμοληψίας με τουλάχιστον 3000 RCF (g)
- Ογκομετρικός κύλινδρος, 1 λίτρο έως 2 λίτρα

## Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Λάβετε υπόψη ότι ενδέχεται να χρειαστεί να ανατρέξετε στους τοπικούς κανονισμούς για την αναφορά σοβαρών συμβάντων που σχετίζονται με το προϊόν στον κατασκευαστή ή/και στον εξουσιοδοτημένο αντιπρόσωπό του και στη ρυθμιστική αρχή στην οποία υπάγεται ο χρήστης ή/και ο ασθενής.

Για in vitro διαγνωστική χρήση.

### Πληροφορίες ασφάλειας

Κατά την εργασία με χημικές ουσίες, φοράτε πάντα κατάλληλη προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας (Safety Data Sheets, SDS). Διατίθενται στο διαδίκτυο σε εύχρηστη και συμπιεσμένη μορφή PDF, στον ιστότοπο [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), όπου μπορείτε να βρείτε, να προβάλετε και να εκτυπώσετε τα SDS για κάθε κιτ της QIAGEN, καθώς και για το περιεχόμενό του.

- Τα δοκίμια και τα δείγματα είναι δυνητικώς μολυσματικά. Τα απόβλητα των δειγμάτων και των προσδιορισμών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες ασφαλείας.
- Η λήψη αρνητικού αποτελέσματος στη δοκιμασία QFT-Plus δεν αποκλείει την πιθανότητα λοίμωξης από *M. tuberculosis* ή ενεργής νόσου φυματίωσης: ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα ενδέχεται να οφείλονται στο στάδιο της μόλυνσης (π.χ. εάν το δοκίμιο ληφθεί προτού αναπτυχθεί η κυτταρομεσολαβούμενη ανοσοαπόκριση), σε λανθασμένο χειρισμό των σωληναρίων αιμοληψίας μετά τη φλεβοκέντηση, σε λανθασμένη εκτέλεση του προσδιορισμού ή σε άλλες ανοσολογικές μεταβλητές. Τα ετερόφιλα αντισώματα ή η παραγωγή μη ειδικής IFN- $\gamma$  λόγω άλλων φλεγμονωδών παθήσεων μπορεί να αποκρύψει ειδικές αποκρίσεις στα πεπτιδία ESAT-6 ή CFP-10.




- Ένα θετικό αποτέλεσμα στον προσδιορισμό QFT-Plus δεν θα πρέπει να αποτελεί το μοναδικό ή το καθοριστικό πειστήριο για την ανεύρεση λοίμωξης από *M. tuberculosis*. Η εσφαλμένη εκτέλεση του προσδιορισμού μπορεί να οδηγήσει σε ψευδώς θετικά αποτελέσματα QFT-Plus.
- Τυχόν θετικό αποτέλεσμα στη δοκιμασία QFT-Plus θα πρέπει να ακολουθείται από περαιτέρω ιατρική αξιολόγηση για ενεργή νόσο φυματίωσης (π.χ. επίχρισμα και καλλιέργεια οξεάντοχων βακίλλων, ακτινογραφία θώρακα).
- Οι πρωτεΐνες ESAT-6 και CFP-10 απουσιάζουν από όλα τα στελέχη BCG και από τα περισσότερα γνωστά μη φυματιώδη μυκοβακτηρίδια, αλλά ένα θετικό αποτέλεσμα στη δοκιμασία QFT-Plus δεν αποκλείεται να οφείλεται σε λοίμωξη από *M. kansasii*, *M. szulgai* ή *M. marinum*. Εάν υποψιάζεστε το ενδεχόμενο τέτοιας μόλυνσης, ίσως θα πρέπει να χρησιμοποιηθούν άλλες εναλλακτικές δοκιμασίες.
- Ένα ψευδώς αρνητικό αποτέλεσμα στη δοκιμασία QFT-Plus μπορεί να προκληθεί από εσφαλμένη αιμοληψία ή ακατάλληλο χειρισμό του δοκιμίου, που επηρεάζει τη λειτουργία των λεμφοκυττάρων. Για τον ορθό χειρισμό των δοκιμίων αίματος, ανατρέξτε στην ενότητα «Πρωτόκολλο: Εκτέλεση του ELISA», σελίδα 22. Η καθυστέρηση στην επώαση μπορεί να προκαλέσει ψευδώς αρνητικά αποτελέσματα ή απροσδιόριστα αποτελέσματα, ενώ η δυνατότητα ανίχνευσης σημαντικής απόκρισης στην IFN- $\gamma$  μπορεί να επηρεαστεί και από άλλες τεχνικές παραμέτρους.

## Πληροφορίες σε περίπτωση έκτακτης ανάγκης

CHEMTREC

Εκτός ΗΠΑ και Καναδά +1 703-527-3887

## Προφυλάξεις

<p><b>ΠΡΟΣΟΧΗ</b></p> 	<p>Να χειρίζεστε το ανθρώπινο αίμα ως δυνητικά μολυσματικό υλικό.</p> <p>Τηρήστε τις σχετικές κατευθυντήριες οδηγίες περί χειρισμού δειγμάτων αίματος. Απορρίψτε τα δείγματα και τα υλικά που ήρθαν σε επαφή με αίμα ή παράγωγα αίματος όπως προβλέπουν οι διεθνείς, κρατικοί και τοπικοί κανονισμοί.</p>
---	---

### QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Περιέχει: θειικό οξύ. Προειδοποίηση! Μπορεί να διαβρώσει μέταλλα. Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος. Προκαλεί σοβαρό ερεθισμό των ματιών. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.

### QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Προειδοποίηση! Προκαλεί ήπιο ερεθισμό του δέρματος. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.

### QuantiFERON Green Diluent



Περιέχει: ταρτραζίνη. Προειδοποίηση! Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.

### QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Επιβλαβές για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις. Αποφύγετε την ελευθέρωσή του στο περιβάλλον.

## Περαιτέρω πληροφορίες

Δελτία δεδομένων ασφάλειας: [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)

- Σε μερικά αντιδραστήρια QFT-Plus χρησιμοποιείται ως συντηρητικό θιμεροσάλη, η οποία μπορεί να είναι τοξική κατά την κατάποση, εισπνοή ή επαφή με το δέρμα.
- Οι αποκλίσεις από τις *Οδηγίες χρήσης του QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)* ενδέχεται να οδηγήσουν σε εσφαλμένα αποτελέσματα. Διαβάστε προσεκτικά τις οδηγίες πριν από τη χρήση.
- Μη χρησιμοποιήσετε το κιτ εάν κάποιο φιαλίδιο αντιδραστηρίου παρουσιάζει ενδείξεις ζημιάς ή διαρροής πριν από τη χρήση.
- Σημαντικό: Επιθεωρήστε τα φιαλίδια πριν από τη χρήση. Μη χρησιμοποιείτε φιαλίδια συζευγμένου μορίου ή προτύπου IFN- $\gamma$  με ενδείξεις ζημιάς ή εάν το σφράγισμα από καουτσούκ έχει παραβιαστεί. Μην πιάνετε σπασμένα φιαλίδια. Λάβετε τις απαραίτητες προφυλάξεις για την ασφαλή απόρριψη των φιαλιδίων. Συνιστάται να χρησιμοποιείτε ένα εργαλείο εκπωματισμού φιαλιδίων για να ανοίξετε τα φιαλίδια συζευγμένου μορίου ή προτύπου IFN- $\gamma$ , προκειμένου να ελαχιστοποιήσετε τον κίνδυνο τραυματισμού από το μεταλλικό πτυχωτό πώμα.
- Μην αναμειγνύετε και μη χρησιμοποιείτε σειρές μικροπλάκας, πρότυπο IFN- $\gamma$ , πράσινο αραιωτικό ή συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x από κιτ QFT-Plus διαφορετικών παρτίδων. Για τα υπόλοιπα αντιδραστήρια (Συμπύκνωμα ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 20x, Διάλυμα υποστρώματος ενζύμου και διάλυμα διακοπής ενζυμικής αντίδρασης) μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαλύματα από άλλα κιτ εφόσον δεν έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης και εφόσον καταγραφούν τα στοιχεία των παρτίδων.
- Απορρίψτε τα αχρησιμοποιήτητα αντιδραστήρια και τα βιολογικά δείγματα όπως ορίζουν οι τοπικοί και οι εθνικοί κανονισμοί.
- Μη χρησιμοποιείτε το QFT-Plus ELISA Kit μετά την ημερομηνία λήξης.
- Θα πρέπει να εφαρμόζονται πάντα ορθές εργαστηριακές διαδικασίες.
- Βεβαιωθείτε ότι ο εργαστηριακός εξοπλισμός, όπως οι συσκευές έκπτυξης και ανάγνωσης πλακών, έχει βαθμονομηθεί και επικυρωθεί για χρήση.

# Φύλαξη και χειρισμός αντιδραστηρίων

Πρέπει να δίδεται προσοχή στις ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στα κουτιά και τις ετικέτες όλων των συστατικών. Μη χρησιμοποιείτε το περιεχόμενο της συσκευασίας εάν έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης ή δεν έχουν ληφθεί τα σωστά μέτρα αποθήκευσης.

## Σταθερότητα εντός χρήσης

- Αποθηκεύετε το κιτ ELISA στους 2–8 °C.
- Προστατεύετε διαρκώς το διάλυμα υποστρώματος ενζύμου από το άμεσο ηλιακό φως.

## Ανασυσταθέντα και αχρησιμοποίητα αντιδραστήρια

- Για οδηγίες σχετικά με την ανασύσταση των αντιδραστηρίων, ανατρέξτε στην ενότητα «Πρωτόκολλο: Εκτέλεση του ELISA», σελίδα 22.
- Το ανασυσταθέν πρότυπο του κιτ μπορεί να διατηρηθεί μέχρι και για 3 μήνες εφόσον φυλάσσεται σε θερμοκρασία 2–8 °C.

Σημειώστε την ημερομηνία ανασύστασης του προτύπου του κιτ.

- Το ανασυσταθέν συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x πρέπει να επιστραφεί σε χώρο φύλαξης με θερμοκρασία 2–8 °C και πρέπει επίσης να χρησιμοποιηθεί εντός 3 μηνών.

Σημειώστε την ημερομηνία ανασύστασης του διαλύματος συζευγμένου μορίου.

- Το διάλυμα εργασίας του συζευγμένου μορίου πρέπει να χρησιμοποιηθεί εντός 6 ωρών από την παρασκευή του.
- Το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης σε συγκέντρωση εργασίας μπορεί να φυλαχτεί σε θερμοκρασία δωματίου για έως και 2 εβδομάδες.
- Οι σειρές μικροπλάκας προορίζονται μόνο για μία χρήση. Οι μη χρησιμοποιημένες σειρές μπορούν να αφαιρεθούν από το πλαίσιο της πλάκας και να φυλαχθούν για μελλοντική χρήση.

## Φύλαξη και χειρισμός δοκιμίων

Για λεπτομέρειες σχετικά με τη ροή εργασιών αιμοληψίας για τη δοκιμασία QFT-Plus, ανατρέξτε στις *Οδηγίες χρήσης των QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes* (1123668).

# Πρωτόκολλο: Εκτέλεση του ELISA

Σημαντικά σημεία πριν ξεκινήσετε

## Προετοιμασία (απαιτούμενος χρόνος για την εκτέλεση του προσδιορισμού)

- Για τη λήψη έγκυρων αποτελεσμάτων από τον προσδιορισμό QFT-Plus, ο χειριστής πρέπει να εκτελεί συγκεκριμένα καθήκοντα εντός καθορισμένων χρονικών πλαισίων. Πριν από τη χρήση του προσδιορισμού, συνιστάται ο χειριστής να σχεδιάσει προσεκτικά κάθε στάδιο του προσδιορισμού, ώστε να διατίθεται επαρκής χρόνος για την εκτέλεση κάθε σταδίου. Παρακάτω υπολογίζεται ο απαιτούμενος χρόνος. Αναφέρεται επίσης ο χρόνος για την εξέταση πολλαπλών δειγμάτων.
  - Περίπου 3 ώρες για μία πλάκα ELISA
  - <1 ώρα εργασίας
  - Υπολογίστε άλλα 10 έως 15 λεπτά για κάθε επιπλέον πλάκα

## Ανάλυση ELISA για την IFN- $\gamma$

- Για τα υλικά που απαιτούνται για την εκτέλεση του ELISA, ανατρέξτε στις ενότητες «Περιεχόμενα του κιτ», σελίδα 12 και «Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται», σελίδα 14.

## Διαδικασία

1. Όλα τα δείγματα πλάσματος και τα αντιδραστήρια, εκτός από το Συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x, πρέπει να φθάσουν σε θερμοκρασία δωματίου ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) πριν από τη χρήση. Αφήστε να περάσουν τουλάχιστον 60 λεπτά για εξισορρόπηση.
2. Αφαιρέστε τις περιπτώσεις σειρές πλακών ELISA από το πλαίσιο, σφραγίστε ξανά τη θήκη αλουμινίου, και τοποθετήστε την ξανά στο ψυγείο για φύλαξη μέχρι την επόμενη χρήση.

3. Χρησιμοποιήστε τουλάχιστον 1 σειρά για τα πρότυπα QFT-Plus και επαρκή αριθμό σειρών για τον αριθμό των εξεταζόμενων ατόμων (για τη συνιστώμενη μορφή πλακών, ανατρέξτε στην Εικόνα 2). Μετά τη χρήση, φυλάξτε το πλαίσιο και το καπάκι για χρήση με τις υπόλοιπες σειρές.

3a. Ανασυστήστε το Πρότυπο IFN- $\gamma$  με τον όγκο απιονισμένου ή απεσταγμένου νερού που αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου. Αναμείξτε ήπια ώστε να περιοριστεί στο ελάχιστο ο σχηματισμός αφρού και βεβαιωθείτε ότι έχει διαλυθεί πλήρως ολόκληρο το περιεχόμενο του φιαλιδίου. Η ανασύσταση του προτύπου IFN- $\gamma$  μέχρι τον σωστό όγκο θα δώσει ένα διάλυμα με συγκέντρωση 8,0 IU/ml.

3b. Χρησιμοποιώντας το ανασυσταθέν πρότυπο, παρασκευάστε μια σειρά αραιώσεων 4 συγκεντρώσεων IFN- $\gamma$  (ανατρέξτε στην Εικόνα 1).

3c. Θα πρέπει να δημιουργηθεί μια πρότυπη καμπύλη με τις ακόλουθες συγκεντρώσεις IFN- $\gamma$ :

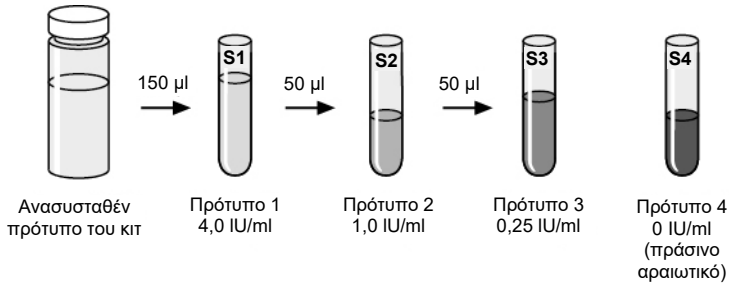
- Το S1 (πρότυπο 1) περιέχει 4,0 IU/ml
- Το S2 (πρότυπο 2) περιέχει 1,0 IU/ml
- Το S3 (πρότυπο 3) περιέχει 0,25 IU/ml
- Το S4 (πρότυπο 4) περιέχει 0 IU/ml [μόνο πράσινο αραιωτικό (GD)].

3d. Τα πρότυπα πρέπει να αναλύονται τουλάχιστον εις διπλούν.

3e. Παρασκευάστε νέες αραιώσεις του προτύπου του κιτ για κάθε περίοδο εργασίας ELISA.

#### Διαδικασία

A	Επισημάνετε 4 σωληνάρια: S1, S2, S3, S4
B	Προσθέστε 150 $\mu$ l GD στα S1, S2, S3, S4
C	Προσθέστε 150 $\mu$ l του προτύπου του κιτ στο S1 και αναμείξτε καλά
D	Μεταφέρετε 50 $\mu$ l από το S1 στο S2 και αναμείξτε καλά
E	Μεταφέρετε 50 $\mu$ l από το S2 στο S3 και αναμείξτε καλά
F	Ένα σωληνάριο με GD μόνο θα χρησιμοποιηθεί ως μηδενικό πρότυπο (S4)



**Εικόνα 1. Προετοιμασία σειράς αραιώσεων πρότυπης καμπύλης.**

4. Ανασυστήστε το λυοφιλοποιημένο Συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x με 0,3 ml αποιονισμένου ή απεσταγμένου νερού. Αναμείξτε ήπια ώστε να περιοριστεί στο ελάχιστο ο σχηματισμός αφρού και βεβαιωθείτε ότι έχει διαλυθεί πλήρως ολόκληρο το περιεχόμενο του φιαλιδίου.
  - 4a. Η συγκέντρωση εργασίας του συζευγμένου μορίου παρασκευάζεται με αραιώση της απαιτούμενης ποσότητας ανασυσταθέντος συμπυκνώματος συζευγμένου μορίου 100x σε πράσινο αραιωτικό (Πίνακας 1).
  - 4b. Το διάλυμα εργασίας του συζευγμένου μορίου θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί εντός 6 ωρών από την παρασκευή του.
  - 4c. Επιστρέψτε το αχρησιμοποίητο συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x στους 2 °C έως 8 °C αμέσως μετά τη χρήση.



**Πίνακας 1. Παρασκευή συζευγμένου μορίου (συγκέντρωση εργασίας)**

<b>Αριθμός σειρών</b>	<b>Όγκος συζευγμένου μορίου (συμπύκνωμα 100x)</b>	<b>Όγκος πράσινου αραιωτικού</b>
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. Το αποθηκευμένο δείγμα πλάσματος που λαμβάνεται από σωληνάρια αιμοληψίας και κατόπιν φυλάσσεται (σε ψύξη ή κατάψυξη) πρέπει να αναμειγνύεται σχολαστικά προτού προστεθεί στο βύθισμα ELISA. Τα δείγματα πλάσματος μπορούν να φυλαχθούν σε QFT-Plus Blood Collection Tubes που έχουν υποβληθεί σε φυγοκέντριση, για έως και 28 ημέρες στους 2–8 °C. Εναλλακτικά, τα δείγματα συλλεχθέντος πλάσματος μπορούν να φυλαχθούν για έως και 28 ημέρες στους 2–8 °C. Τα δείγματα συλλεχθέντος πλάσματος μπορούν επίσης να φυλαχθούν σε θερμοκρασία κάτω των –20 °C (κατά προτίμηση κάτω των –70 °C) για παρατεταμένη χρονική περίοδο.

Τα δείγματα πλάσματος μπορούν να φορτωθούν/χρησιμοποιηθούν απευθείας από τα σωληνάρια αιμοληψίας που έχουν υποβληθεί σε φυγοκέντριση για μέτρηση στην πλάκα QFT-Plus ELISA.

Σημαντικό: Εάν τα δείγματα πλάσματος πρόκειται να μεταφερθούν απευθείας από τα QFT-Plus Blood Collection Tubes που έχουν φυγοκεντριστεί, θα πρέπει να αποφευχθεί οποιαδήποτε ανακίνηση του πλάσματος. Να φροντίζετε πάντοτε να μη διαταράσσετε το υλικό που βρίσκεται στην επιφάνεια της γέλης.

6. Προσθέστε 50 µl πρόσφατα παρασκευασμένου διαλύματος συζευγμένου μορίου σε συγκέντρωση εργασίας σε κάθε βύθισμα της πλάκας ELISA.
7. Προσθέστε 50 µl από το εξεταζόμενο δείγμα πλάσματος στα κατάλληλα βυθίσματα (ανατρέξτε στη συνιστώμενη διάταξη πλάκας ELISA της Εικόνας 2).
8. Τέλος, προσθέστε 50 µl από τα πρότυπα 1 έως 4 στα κατάλληλα βυθίσματα της πλάκας (ανατρέξτε στη συνιστώμενη διάταξη πλάκας ELISA της Εικόνας 2). Τα πρότυπα θα πρέπει να αναλύονται τουλάχιστον εις διπλούν.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1 N	3 N	5 N	7 N	9 N	S1	S1	13 N	15 N	17 N	19 N	21 N
B	1 TB1	3 TB1	5 TB1	7 TB1	9 TB1	S2	S2	13 TB1	15 TB1	17 TB1	19 TB1	21 TB1
C	1 TB2	3 TB2	5 TB2	7 TB2	9 TB2	S3	S3	13 TB2	15 TB2	17 TB2	19 TB2	21 TB2
D	1 M	3 M	5 M	7 M	9 M	S4	S4	13 M	15 M	17 M	19 M	21 M
E	2 N	4 N	6 N	8 N	10 N	11 N	12 N	14 N	16 N	18 N	20 N	22 N
F	2 TB1	4 TB1	6 TB1	8 TB1	10 TB1	11 TB1	12 TB1	14 TB1	16 TB1	18 TB1	20 TB1	22 TB1
G	2 TB2	4 TB2	6 TB2	8 TB2	10 TB2	11 TB2	12 TB2	14 TB2	16 TB2	18 TB2	20 TB2	22 TB2
H	2 M	4 M	6 M	8 M	10 M	11 M	12 M	14 M	16 M	18 M	20 M	22 M

**Εικόνα 2. Συνιστώμενη διάταξη πλάκας ELISA.** S1 (Πρότυπο 1), S2 (Πρότυπο 2), S3 (Πρότυπο 3), S4 (Πρότυπο 4). 1N (Δείγμα 1. Πλάσμα ελέγχου Nil), 1 TB1 (Δείγμα 1. Πλάσμα TB1), 1 TB2 (Δείγμα 1. Πλάσμα TB2), 1M (Δείγμα 1. Πλάσμα Mitogen).

9. Καλύψτε την πλάκα ELISA και αναμειξτε σχολαστικά το συζευγμένο μόριο και τα δείγματα πλάσματος/πρότυπα χρησιμοποιώντας συσκευή ανακίνησης μικροπλακών επί 1 λεπτό στις 500 έως 1.000 rpm. Αποφύγετε την εκτίναξη υγρού.
10. Καλύψτε την πλάκα ELISA και επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) επί  $120 \pm 5$  λεπτά. Η πλάκα ELISA δεν θα πρέπει να εκτεθεί σε άμεσο ηλιακό φως κατά τη διάρκεια της επώασης. Τυχόν αποκλίσεις από το καθορισμένο θερμοκρασιακό εύρος μπορούν να οδηγήσουν σε εσφαλμένα αποτελέσματα.
11. Κατά τη διάρκεια της επώασης της πλάκας ELISA παρασκευάστε ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης σε συγκέντρωση εργασίας. Αραιώστε ένα μέρος συμπυκνώματος ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 20x με 19 μέρη απιονισμένου ή απεσταγμένου νερού και αναμειξτε σχολαστικά. Παρέχεται επαρκές συμπύκνωμα ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 20x για να παρασκευαστούν 2 λίτρα ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης σε συγκέντρωση εργασίας.

12. Όταν η επώαση της πλάκας ELISA ολοκληρωθεί, πλύνετε τα βυθίσματα της πλάκας ELISA με 400 μl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης σε συγκέντρωση εργασίας. Εκτελέστε το βήμα πλύσης τουλάχιστον 6 φορές. Κατά τον χειρισμό δειγμάτων πλάσματος, συνιστάται η χρήση αυτόματης συσκευής έκπλυσης πλακών, για λόγους ασφάλειας.

Η σχολαστική πλύση είναι πολύ σημαντική για την εκτέλεση του προσδιορισμού. Βεβαιωθείτε ότι όλα τα βυθίσματα γεμίζουν εντελώς με ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης μέχρι το χείλος του βυθίσματος για κάθε κύκλο πλύσης. Συνιστάται η εκτέλεση διαβροχής διάρκειας τουλάχιστον 5 δευτερολέπτων μεταξύ των κύκλων.

Θα πρέπει να προστίθεται τυπικό απολυμαντικό εργαστηρίου στη δεξαμενή εκροής και θα πρέπει να εφαρμόζονται οι καθιερωμένες διαδικασίες για την απολύμανση των δυναμικών λοιμογόνων υλικών.

13. Χτυπήστε την πλάκα ELISA ανάποδα πάνω σε απορροφητικό χαρτί που δεν αφήνει χνούδι για να απομακρυνθεί το εναπομένον ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης. Προσθέστε 100 μl διαλύματος υποστρώματος ενζύμου σε κάθε βύθισμα της πλάκας, καλύψτε την πλάκα και αναμείξτε σχολαστικά επί 1 λεπτό στις 500–1.000 rpm σε μια συσκευή ανακίνησης μικροπλακών.

14. Καλύψτε την πλάκα ELISA και επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) επί 30 λεπτά. Η πλάκα ELISA δεν θα πρέπει να εκτεθεί σε άμεσο ηλιακό φως κατά τη διάρκεια της επώασης.

15. Μετά από 30 λεπτά επώασης, προσθέστε 50 μl διαλύματος διακοπής ενζυμικής αντίδρασης σε κάθε βύθισμα της πλάκας, με την ίδια σειρά με την οποία προστέθηκε το υπόστρωμα και αναμείξτε σχολαστικά στις 500 έως 1.000 rpm σε μια συσκευή ανακίνησης μικροπλακών.

16. Μετρήστε την οπτική πυκνότητα (Optical Density, OD) των βυθισμάτων της πλάκας ELISA εντός 5 λεπτών από τη διακοπή της αντίδρασης, χρησιμοποιώντας συσκευή ανάγνωσης μικροπλακών που διαθέτει φίλτρο 450 nm και φίλτρο αναφοράς 620 nm έως 650 nm. Οι τιμές OD χρησιμοποιούνται για να υπολογιστούν τα αποτελέσματα.

## Αποτελέσματα (Υπολογισμοί)

Το QFT-Plus Analysis Software μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση πρωτογενών δεδομένων και τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων. Είναι διαθέσιμο στον ιστότοπο [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Φροντίστε να χρησιμοποιήσετε την τελευταία έκδοση του QFT-Plus Analysis Software.

Το λογισμικό εκτελεί εκτίμηση ελέγχου ποιότητας του προσδιορισμού, σχεδιάζει την πρότυπη καμπύλη και δίνει ένα αποτέλεσμα δοκιμασίας για κάθε εξεταζόμενο άτομο, όπως περιγράφεται στην ενότητα «Ερμηνεία αποτελεσμάτων» στη σελίδα 32. Το λογισμικό αναφέρει όλες τις συγκεντρώσεις άνω των 10 IU/ml ως «> 10». καθώς αυτές οι τιμές εμπίπτουν πέραν του επικυρωμένου γραμμικού εύρους του ELISA.

Εναλλακτικά, αντί για τη χρήση του QFT-Plus Analysis Software, ο προσδιορισμός των αποτελεσμάτων μπορεί να γίνει με την εξής μέθοδο.

### Παραγωγή πρότυπης καμπύλης και τιμών δειγμάτων

#### Εάν δεν χρησιμοποιείται το QFT-Plus Analysis Software

Για τον καθορισμό της πρότυπης καμπύλης και τον καθορισμό των τιμών IU/ml των δειγμάτων απαιτείται ένα πρόγραμμα υπολογιστικών φύλλων, όπως το Microsoft® Excel®, εάν δεν χρησιμοποιείται το QFT-Plus Analysis Software.

#### Χρήση προγράμματος υπολογιστικών φύλλων

1. Προσδιορίστε τις μέσες τιμές OD από τις επαναλήψεις του προτύπου του kit σε κάθε πλάκα.
2. Κατασκευάστε μια πρότυπη καμπύλη  $\log_{(e)} - \log_{(e)}$ , σχεδιάζοντας τις τιμές  $\log_{(e)}$  της μέσης OD (άξονας y) έναντι των τιμών  $\log_{(e)}$  της συγκέντρωσης IFN- $\gamma$  των προτύπων, σε IU/ml (άξονας x), παραλείποντας το μηδενικό πρότυπο από τους υπολογισμούς αυτούς. Μέσω ανάλυσης παλινδρόμησης, υπολογίστε την καμπύλη καλύτερης προσαρμογής για την πρότυπη καμπύλη.

- Χρησιμοποιήστε την πρότυπη καμπύλη για να προσδιορίσετε τη συγκέντρωση της IFN- $\gamma$  (IU/ml) για καθένα από τα εξεταζόμενα δείγματα πλάσματος, με βάση την τιμή OD κάθε δείγματος.
- Αυτοί οι υπολογισμοί μπορούν να εκτελεστούν με τα πακέτα λογισμικού που συνοδεύουν τις συσκευές ανάγνωσης μικροπιακών ή με κοινό λογισμικό υπολογιστικών φύλλων ή στατιστικής επεξεργασίας (όπως το Microsoft Excel). Συνιστάται η χρήση αυτών των πακέτων για την εκτέλεση της ανάλυσης παλινδρόμησης και για τον υπολογισμό του συντελεστή διακύμανσης (%CV) για τα πρότυπα και του συντελεστή συσχέτισης ( $r$ ) για την πρότυπη καμπύλη.

## Υπολογισμός δείγματος

Εάν για τα πρότυπα προέκυπταν οι ακόλουθες μετρήσεις OD, οι υπολογισμοί με χρήση της  $-\log(e) -$  θα ακολουθούσαν τις τιμές του Πίνακα 2.

**Πίνακας 2. Πρότυπη καμπύλη**

Πρότυπο	IU/ml	Τιμές OD α και β	Μέση OD	%CV	Log <sub>(e)</sub> IU/ml	Μέση Log <sub>(e)</sub> (OD)
Πρότυπο 1	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
Πρότυπο 2	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
Πρότυπο 3	0,25	0,114, 0,136	0,125	Δ/Ε	-1,386	-2,079
Πρότυπο 4	0	0,034, 0,037	0,036	Δ/Ε	Δ/Ε	Δ/Ε

Η εξίσωση της καμπύλης είναι  $y = 0,7885(X) - 0,9837$ , όπου «m» = 0,7885 και «c» = -0,9837. Αυτές οι τιμές χρησιμοποιούνται στην εξίσωση  $X = (Y-c)/m$  για την εύρεση του X. Βάσει της πρότυπης καμπύλης, ο υπολογιζόμενος συντελεστής συσχέτισης ( $r$ ) = 1,000. Δ/Ε: Δεν εφαρμόζεται.

Με τη χρήση των κριτηρίων που καθορίζονται στην ενότητα «Έλεγχος ποιότητας εξέτασης», σελίδα 30, καθορίζεται η εγκυρότητα του προσδιορισμού.

Η πρότυπη καμπύλη (Πίνακας 2) χρησιμοποιείται για τη μετατροπή των ανταποκρίσεων OD στο αντιγόνο σε διεθνείς μονάδες (IU/ml).

### Πίνακας 3. Υπολογισμός δείγματος

Αντιγόνο	Τιμή OD	Τιμή OD Log <sub>(e)</sub>	X	e <sup>X</sup> (IU/ml)	Αντιγόνο –Nil (IU/ml)
Nil	0,037	-3,297	-2,934	0,05	–
TB1	1,161	0,149	1,437	4,21	4,16
TB2	1,356	0,305	1,634	5,12	5,07
Mitogen	1,783	0,578	1,981	7,25	7,20

Οι τιμές IFN- $\gamma$  (σε IU/ml) για τα TB1, TB2 και Mitogen διορθώνονται ως προς την τιμή υποβάθρου με αφαίρεση της τιμής IU/ml που έχει προκύψει για τον αντίστοιχο μάρτυρα Nil. Αυτές οι διορθωμένες τιμές χρησιμοποιούνται για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της εξέτασης.

### Έλεγχος ποιότητας εξέτασης

Η ορθότητα των αποτελεσμάτων της εξέτασης εξαρτάται από την παραγωγή μιας ορθής πρότυπης καμπύλης. Συνεπώς, τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τα πρότυπα πρέπει να εξετάζονται προτού ερμηνευτούν τα αποτελέσματα των εξεταζόμενων δειγμάτων.

Για μια έγκυρη ανάλυση ELISA:

- Η μέση τιμή OD για το πρότυπο 1 πρέπει να είναι  $\geq 0,600$ .
- Ο συντελεστής %CV για τις τιμές των επαναληπτικών μετρήσεων του προτύπου 1 και του προτύπου 2 πρέπει να είναι  $\leq 15\%$ .
- Οι τιμές OD των επαναληπτικών μετρήσεων του προτύπου 3 και του προτύπου 4 δεν πρέπει να διαφέρουν από τη μέση τιμή κατά περισσότερες από 0,040 μονάδες οπτικής πυκνότητας.
- Ο συντελεστής συσχέτισης ( $r$ ) που υπολογίζεται από τις μέσες τιμές απορρόφησης των προτύπων πρέπει να είναι  $\geq 0,98$ .
- Εάν δεν πληρούνται τα παραπάνω κριτήρια, η ανάλυση είναι άκυρη και πρέπει να επαναληφθεί.

- Η μέση τιμή OD για το μηδενικό πρότυπο (πράσινο αραιωτικό) πρέπει να είναι  $\leq 0,150$ . Εάν οι μέσες τιμές OD είναι  $> 0,150$  τότε θα πρέπει να ελεγχθεί η διαδικασία έκπτυξης των πλακών.

Το QFT-Plus Analysis Software υπολογίζει και αναφέρει αυτές τις παραμέτρους ελέγχου ποιότητας.

Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να ορίζει τους κατάλληλους τύπους μαρτύρων και τη συχνότητα εξετάσεων σύμφωνα με τους τοπικούς και κρατικούς ή άλλους αρμόδιους οργανισμούς πιστοποίησης. Θα πρέπει να εξετάζεται το ενδεχόμενο εξωτερικής αξιολόγησης ποιότητας και εναλλακτικών διαδικασιών επικύρωσης.

Σημείωση: Τα δείγματα πλάσματος που εμβολιάζονται με ανασυνδυασμένη IFN- $\gamma$  έχουν επιδείξει μειώσεις έως και 50% στη συγκέντρωση όταν φυλάσσονται στους 2–8 °C και στους –20 °C. Η ανασυνδυασμένη IFN- $\gamma$  δεν συνιστάται για την τεκμηρίωση προτύπων ελέγχου.

# Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα του QFT-Plus ερμηνεύονται με βάση τα ακόλουθα κριτήρια (Πίνακας 4).

Σημαντικό: Για τη διάγνωση ή τον αποκλεισμό της ενεργής νόσου φυματίωσης, καθώς και για την εκτίμηση της πιθανότητας ύπαρξης LTBI, απαιτείται ένας συνδυασμός επιδημιολογικών, ιστορικών, ιατρικών και διαγνωστικών ευρημάτων που θα πρέπει να λαμβάνονται υπόψη κατά την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της QFT-Plus. Βλ. γενικές οδηγίες για τη διάγνωση και θεραπεία της νόσου TB και της LTBI: (<https://www.cdc.gov/tb/publications/guidelines/default.htm>).

**Πίνακας 4. Ερμηνεία αποτελεσμάτων της δοκιμασίας QFT-Plus Test**

Nil (IU/ml)	TB1 μείον Nil (IU/ml)	TB2 μείον Nil (IU/ml)	Mitogen μείον Nil (IU/ml)*	Αποτέλεσμα QFT-Plus	Αναφορά/Ερμηνεία
≤ 8,0	≥ 0,35 και ≥ 25% του Nil	Οποιοδήποτε	Οποιοδήποτε	Θετικό <sup>†</sup>	Μόλυνση από <i>M. tuberculosis</i> πιθανή
	Οποιοδήποτε	≥ 0,35 και ≥ 25% του Nil			
	< 0,35 ή ≥ 0,35 και < 25% του Nil	< 0,35 ή < 0,35 και < 25% του Nil	≥ 0,50	Αρνητικό	Λοίμωξη από <i>M. tuberculosis</i> ΜΗ πιθανή
	< 0,35 ή ≥ 0,35 και < 25% του Nil	< 0,35 ή ≥ 0,35 και < 25% του Nil	< 0,50	Απροσδιόριστο <sup>‡</sup>	Η πιθανότητα μόλυνσης από <i>M. tuberculosis</i> δεν μπορεί να προσδιοριστεί
> 8,0 <sup>§</sup>	Οποιοδήποτε				

\* Οι αποκρίσεις στον θετικό μάρτυρα Mitogen (και ενίοτε στο αντιγόνο TB) βρίσκονται εκτός της κλίμακας της συσκευής ανάγνωσης μικροπλακών. Αυτό δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα της εξέτασης. Οι τιμές > 10 IU/ml αναφέρονται από το λογισμικό QFT-Plus ως > 10 IU/ml.

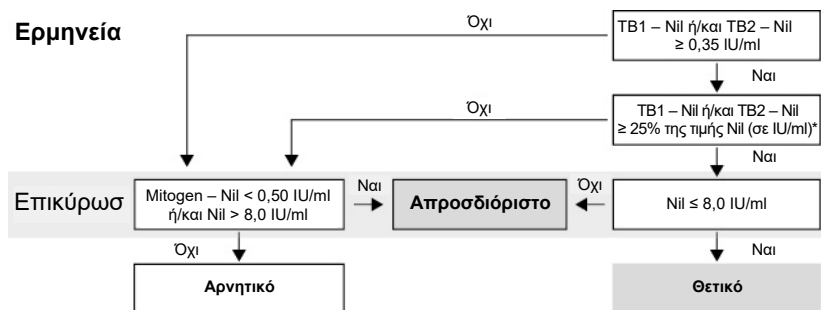
<sup>†</sup> Όταν δεν υπάρχουν υποψίες για λοίμωξη από *M. tuberculosis*, ένα αρχικά θετικό αποτέλεσμα μπορεί να επιβεβαιωθεί με επανεξέταση των αρχικών δειγμάτων πλάσματος εις διπλούν με τη δοκιμασία QFT-Plus ELISA. Εάν η μία ή και οι δύο επαναλήψεις δώσουν θετικό αποτέλεσμα στην επανεξέταση, το αποτέλεσμα της δοκιμασίας θεωρείται θετικό.

<sup>‡</sup> Ανατρέξτε στην ενότητα «Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων» (σελίδα 68) για να βρείτε τις πιθανές αιτίες.

<sup>§</sup> Σε κλινικές μελέτες, λιγότερο από το 0,25% των ασθενών έδωσαν επίπεδα IFN-γ > 8,0 IU/ml για την τιμή του Nil.



Το μέγεθος του μετρούμενου επιπέδου IFN- $\gamma$  δεν συσχετίζεται με το στάδιο ή τον βαθμό της λοίμωξης, το επίπεδο ανοσολογικής απάντησης ή την πιθανότητα εξέλιξης σε ενεργή νόσο. Οι θετικές αποκρίσεις TB σε άτομα που είναι αρνητικά στο Mitogen είναι σπάνιες ωστόσο έχουν διαπιστωθεί σε ασθενείς που νοσούν από φυματίωση. Αυτό υποδεικνύει ότι η απόκριση της IFN- $\gamma$  στα αντιγόνα TB είναι μεγαλύτερη από την απόκριση στο Mitogen, κάτι που είναι πιθανό καθώς το επίπεδο Mitogen δεν διεγείρει στον μέγιστο βαθμό την παραγωγή IFN- $\gamma$  από τα λεμφοκύτταρα.



**Εικόνα 3. Ερμηνεία δοκιμασιών QFT-Plus.** \*Για να είναι έγκυρη η τιμή TB1 μείον Nil ή TB2 μείον Nil, η ποσότητα  $\geq 25\%$  της τιμής Nil σε IU/ml πρέπει να προέρχεται από το ίδιο σωληνάριο όπως το αρχικό αποτέλεσμα  $\geq 0,35$  IU/ml.

## Περιορισμοί

Τα αποτελέσματα της δοκιμασίας QFT-Plus πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με πληροφορίες από το επιδημιολογικό ιστορικό, την υφιστάμενη κατάσταση της υγείας και άλλες διαγνωστικές αξιολογήσεις του ατόμου.

Τα άτομα με τιμές Nil μεγαλύτερες από 8 IU/ml χαρακτηρίζονται «απροσδιόριστα» επειδή μια απόκριση κατά 25% υψηλότερη στα αντιγόνα TB ενδέχεται να είναι εκτός της κλίμακας μέτρησης του προσδιορισμού.

- Η προγνωστική αξία ενός θετικού αποτελέσματος στη δοκιμασία QFT-Plus στη διάγνωση λοίμωξης από *M. tuberculosis* εξαρτάται από την πιθανότητα λοίμωξης, η οποία αξιολογείται από ιστορικά, επιδημιολογικά, διαγνωστικά και άλλα ευρήματα.
- Για τη διάγνωση LTBI, απαιτείται να έχει αποκλειστεί η ενεργή νόσος φυματίωσης κατόπιν ιατρικής αξιολόγησης που περιλαμβάνει εκτίμηση των τρεχουσών ιατρικών και διαγνωστικών δοκιμασιών για τη νόσο, όπως ενδείκνυται.
- Για ένα αρνητικό αποτέλεσμα, πρέπει να ληφθούν υπόψη τα ιατρικά και ιστορικά δεδομένα του ατόμου που σχετίζονται με την πιθανότητα λοίμωξης από *M. tuberculosis* και του πιθανού κινδύνου εξέλιξης της λοίμωξης σε ενεργή φυματίωση, ιδιαίτερα για άτομα με διαταραχές της λειτουργίας του ανοσοποιητικού.

Αναξιόπιστα ή απροσδιόριστα αποτελέσματα ενδέχεται να ληφθούν λόγω:

- Αποκλίσεων από τη διαδικασία που περιγράφονται στις Οδηγίες χρήσης
- Εσφαλμένης μεταφοράς/χειρισμού του δοκιμίου αίματος
- Αυξημένων επιπέδων IFN- $\gamma$  στην κυκλοφορία ή παρουσίας ετερόφιλων αντισωμάτων
- Υπέρβασης των επικυρωμένων χρόνων διατήρησης του δείγματος αίματος από την αιμοληψία έως την επώαση. Ανατρέξτε στις *Οδηγίες χρήσης των QFT-Plus Blood Collection Tubes* (1123668).

# Χαρακτηριστικά επιδόσεων

## Κλινικές μελέτες

Καθώς δεν υπάρχει καθορισμένη πρότυπη δοκιμασία για την επιβεβαίωση ή τον αποκλεισμό της διάγνωσης της LTBI, δεν είναι πρακτικά εφικτό να αξιολογηθεί η ευαισθησία και η ειδικότητα της μεθόδου QFT-Plus. Η ειδικότητα της δοκιμασίας QFT-Plus προσδιορίστηκε κατά προσέγγιση μέσω αξιολόγησης των ποσοστών ψευδώς θετικών αποτελεσμάτων σε άτομα με χαμηλό κίνδυνο λοίμωξης φυματίωσης (χωρίς γνωστούς παράγοντες κινδύνου). Η ευαισθησία προσδιορίστηκε κατά προσέγγιση μέσω αξιολόγησης ομάδων συμμετεχόντων στη σχετική μελέτη με ενεργή νόσο φυματίωσης επιβεβαιωμένη με καλλιέργεια. Επιπλέον, η απόδοση του προσδιορισμού αξιολογήθηκε ως προς το ποσοστό θετικών και αρνητικών σε έναν πληθυσμό υγιών ατόμων με προσδιορισμένους παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη φυματίωσης (πληθυσμός μικτού κινδύνου).

## Ειδικότητα

Διεξήχθη μια πολυκεντρική μελέτη αξιολόγησης της κλινικής ειδικότητας της δοκιμασίας QFT-Plus, στην οποία συμμετείχαν 733 άτομα που θεωρήθηκε ότι παρουσίαζαν χαμηλό κίνδυνο λοίμωξης από *M. tuberculosis* ή δεν παρουσίαζαν παράγοντες κινδύνου για έκθεση σε λοίμωξη ή εμφάνιση της νόσου. Δημογραφικά στοιχεία και παράγοντες κινδύνου για την έκθεση στη φυματίωση προσδιορίστηκαν με ένα τυποποιημένο ερωτηματολόγιο κατά τη διάρκεια της εξέτασης. Η μελέτη διεξήχθη σε τέσσερα ανεξάρτητα ερευνητικά κέντρα: ένα στις Ηνωμένες Πολιτείες, δύο στην Ιαπωνία και ένα στην Αυστραλία. Η δοκιμασία QFT-Plus συγκρίθηκε με τη δοκιμασία QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT). Στον Πίνακα 5, παρέχεται μια σύνοψη των δεδομένων απόδοσης κλινικής ειδικότητας, στρωματοποιημένων ανά ερευνητικό κέντρο μελέτης και περιοχή μελέτης. Τα αποτελέσματα της απόδοσης βασίζονται στον συνολικό αριθμό των έγκυρων δοκιμασιών. Δεν υπήρξαν απροσδιόριστα αποτελέσματα.

**Πίνακας 5. Ειδικότητα δοκιμασίας QFT-Plus σε πληθυσμό χαμηλού κινδύνου**

Κέντρο	Αρ.	Θετικό		Αρνητικό		Απροσδιόριστο		Ειδικότητα (95% CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
Ηνωμένες Πολιτείες									
(#1) USA-4	212	2	4	210	208	0	0	99,06% (210/212) (96,63–99,74)	98,11% (208/212) (95,25–99,26)
Ιαπωνία									
(#2) JPN-3	106	1	2	105	104	0	0	99,06% (105/106) (94,85–99,83)	98,11% (104/106) (93,38–99,48)
(#3) JPN-1	216	3	5	213	211	0	0	98,61% (213/216) (96,00–99,53)	97,69% (211/216) (94,70–99,01)
Σύνολο Ιαπωνίας	322	4	7	318	315	0	0	98,76% (318/322) (96,85–99,52)	97,83% (315/322) (95,6–98,9)
Αυστραλία									
(#4) AU-3	199	8	9	191	190	0	0	95,98% (191/199) (92,27–97,95)	95,48% (190/199) (91,63–97,60)

Η ειδικότητα της δοκιμασίας QFT-Plus ήταν 98,11% στις ΗΠΑ, 97,83% στην Ιαπωνία και 95,48% στην Αυστραλία. Η συνολική ειδικότητα της δοκιμασίας QFT-Plus ήταν 97,27% (713/733). Η ειδικότητα της δοκιμασίας QFT ήταν 99,06% στις ΗΠΑ, 98,76% στην Ιαπωνία και 95,98% στην Αυστραλία. Η συνολική ειδικότητα της δοκιμασίας QFT ήταν 98,09% (719/733).

Τα αποτελέσματα αναλύονται ανά τύπο σωληναρίου αντιγόνου TB και σε συνδυασμούς σωληναρίων για να παρουσιαστούν ενδεικτικά τα αναμενόμενα αποτελέσματα σε έναν πληθυσμό χαμηλού κινδύνου (Πίνακας 6).

**Πίνακας 6. Αποτελέσματα μελέτης ειδικότητας της δοκιμασίας QFT-Plus ανά σωληνάριο αντιγόνου TB**

<b>Ερμηνεία βάσει αντιγόνου TB - Nil</b>				
<b>IU/ml σε</b>	<b>TB1</b>	<b>TB2</b>	<b>QFT-Plus (θετικά ανά TB1 ή/και TB2)*</b>	<b>Συμφωνία θετικών για TB1 και TB2 (ανάλυση εναλλάξ)†</b>
Θετικό	10	18	20	8
Αρνητικό	723	715	713	725
Απροσδιόριστο	0	0	0	0
Ειδικότητα (95% CI)	–	–	97,3% (713/733) (95,8 – 98,2)	–
Ποσοστό αρνητικότητας (95% CI)	98,6% (723/733) (97,5 – 99,3)	97,5% (715/733) (96,2 – 98,4)	–	98,9% (725/733) (97,9 – 99,5)

\* Ερμηνεία βάσει αντιγόνου TB – τιμές Nil  $\geq 0,35$  IU/ml και στα δύο (TB1 και TB2) ή σε οποιοδήποτε σωληνάριο TB για την ικανοποίηση των κριτηρίων ερμηνείας και τον προσδιορισμό της δοκιμασίας QFT-Plus (TB1 ή TB2) ως θετικής.

† Η ανάλυση εναλλάξ παρέχεται μόνο για σκοπούς πληροφόρησης.

Στα άτομα με χαμηλό κίνδυνο λοίμωξης TB, συνολικά 20/733 άτομα έδωσαν θετικό αποτέλεσμα. Εξ αυτών, μόνο 8 άτομα έδωσαν τιμή  $> 0,35$  IU/ml και στα δύο σωληνάκια, TB1 και TB2. Διεξήχθη σύγκριση των προσδιορισμών QFT και QFT-Plus στο πλαίσιο της κοόρτης της μελέτης χαμηλού κινδύνου και καταδείχθηκε συνολική συμφωνία 97,5% (715/733) και ποσοστιαία συμφωνία αρνητικών 98,3% (707/719).

## Ευαισθησία

Δεν υπάρχει καθοριστική πρότυπη δοκιμασία για την LTBI, αλλά ένα κατάλληλο υποκατάστατο είναι η μικροβιολογική καλλιέργεια του *M. tuberculosis*, καθώς η λοίμωξη TB αποτελεί απαραίτητο πρόδρομο της νόσου.

Διεξήχθη μια πολυκεντρική μελέτη αξιολόγησης της κλινικής ευαισθησίας της δοκιμασίας QFT-Plus, στην οποία συμμετείχαν 434 άτομα που παρουσίαζαν σημεία και συμπτώματα ενεργής νόσου *M. tuberculosis* επιβεβαιωμένης με καλλιέργεια ή/και PCR και που δεν λάμβαναν θεραπεία για την TB ή είχαν ολοκληρώσει τη θεραπεία  $\leq 14$  ημέρες πριν από την αιμοληψία. Η μελέτη διεξήχθη σε 7 ανεξάρτητα ερευνητικά κέντρα: τρία στις Ηνωμένες Πολιτείες, τρία στην Ιαπωνία και ένα στην Αυστραλία. Η δοκιμασία QFT-Plus συγκρίθηκε με τη δοκιμασία QuantiFERON-TB Gold in Tube (QFT). Στον Πίνακα 7, παρέχεται μια σύνοψη των δεδομένων απόδοσης κλινικής ευαισθησίας, στρωματοποιημένα ανά ερευνητικό κέντρο μελέτης και χώρα. Τα αποτελέσματα της απόδοσης βασίζονται στον συνολικό αριθμό των έγκυρων δοκιμασιών. Η συχνότητα των απροσδιόριστων αποτελεσμάτων για τις QFT και QFT-Plus ήταν 2,3% (10/434) και 2,5% (11/434), αντίστοιχα.

**Πίνακας 7. Σύνοψη απόδοσης μελέτης κλινικής ευαισθησίας στρωματοποιημένης ανά κέντρο, χώρα και σύνολο**

Κέντρο	Αρ.	Θετικό		Αρνητικό		Απροσδιόριστο		Ευαισθησία (95% CI)		
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	
Ηνωμένες Πολιτείες										
(#1) USA-5	15	13	13	2	2	0	0	86,67% (13/15) (62,12– 96,26)	86,67% (13/15) (62,12– 96,26)	
(#2) USA-1	33	29	29	4	4	0	0	87,88% (29/33) (72,67– 95,18)	87,88% (29/33) (72,67– 95,18)	
(#3) USA-4	5	5	5	0	0	0	0	100,0% (5/5) (56,55– 100,0)	100,0% (5/5) (56,55– 100,0)	
Σύνολο Ηνωμένων Πολιτειών	53	47	47	6	6	0	0	88,7% (47/53) (77,4– 94,7)	88,7% (47/53) (77,4–94,7)	
Ιαπωνία										
(#4) JPN-2	76	72	67	1	3	3	6	98,63% (72/73) (92,64– 99,76)	95,71% (67/70) (88,14– 98,53)	
(#5) JPN-3	99	97	98	2	1	0	0	97,98% (97/99) (92,93– 99,44)	98,99% (98/99) (94,50– 99,82)	

Συνέχεια πίνακα στην επόμενη σελίδα

Συνέχεια πίνακα από την προηγούμενη σελίδα

**Πίνακας 7. Σύνοψη απόδοσης μελέτης κλινικής ευαισθησίας στρωματοποιημένης ανά κέντρο, χώρα και σύνολο (συνέχεια)**

Κέντρο	Αρ.	Θετικό		Αρνητικό		Απροσδιόριστο		Ευαισθησία (95% CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
(#6) JPN-1	177	159	157	12	15	6	5	92,98% (159/171) (88,14– 95,94)	91,28% (157/172) (86,11– 94,64)
Σύνολο Ιαπωνίας	352	328	322	15	19	9	11	95,63% (328/343) (92,91– 97,33)	94,43% (322/341) (91,5–96,4)
Αυστραλία									
(#7) AU-2	29	27	29	1	0	1	0	96,43% (27/28) (82,29– 99,37)	100,0% (29/29) (88,30– 100,0)

Η ανάλυση στον παραπάνω πίνακα δεν περιλαμβάνει απροσδιόριστα αποτελέσματα.

Η ευαισθησία της δοκιμασίας QFT-Plus ήταν 88,7% στις ΗΠΑ, 94,43% στην Ιαπωνία και 100,0% στην Αυστραλία. Η συνολική ευαισθησία της δοκιμασίας QFT-Plus ήταν 94,09% (398/423). Η ευαισθησία της δοκιμασίας QFT ήταν 88,7% στις ΗΠΑ, 95,63% στην Ιαπωνία και 96,43% στην Αυστραλία. Η συνολική ευαισθησία της δοκιμασίας QFT ήταν 94,81% (402/424).

Τα αποτελέσματα αναλύονται ανά τύπο σωληναρίου αντιγόνου TB και σε συνδυασμούς σωληναρίων για να παρουσιαστούν ενδεικτικά τα αναμενόμενα αποτελέσματα σε έναν πληθυσμό με λοίμωξη TB (Πίνακας 8).



**Πίνακας 8. Αποτελέσματα μελέτης ευαισθησίας της μεθόδου QFT-Plus ανά σωληνάριο αντιγόνου TB**

<b>Ερμηνεία βάσει αντιγόνου TB – Nil σε IU/ml</b>	<b>TB1</b>	<b>TB2</b>	<b>QFT-Plus (θετικά ανά TB1 ή/και TB2)</b>
Θετικό	388	397	398
Αρνητικό	32	26	25
Απροσδιόριστο	14	11	11
Ευαισθησία* (95% CI)	–	–	94% (398/423) (91,4 – 96,0)
Ποσοστό θετικότητας* (95% CI)	92,4% (388/420) (89,4 – 94,6)	93,9% (397/423) (91,1 – 95,8)	–

\* Εξαιρουμένων απροσδιόριστων τιμών.

Διεξήχθη σύγκριση των προσδιορισμών QFT και QFT-Plus στο πλαίσιο της κοόρτης ενεργής TB επιβεβαιωμένης με καλλιέργεια (κοόρτες μελέτης ευαισθησίας) και καταδείχθηκε συνολική συμφωνία 95,9% και ποσοστιαία συμφωνία θετικών 97,3% (391/402).

**Πίνακας 9. Αναλογίες πιθανοτήτων QFT-Plus**

<b>Κέντρο*</b>	<b>Ευαισθησία</b>	<b>Ειδικότητα</b>	<b>LR+</b>	<b>LR-</b>
Αυστραλία	100,00%	95,48%	22,11	0,00
Ιαπωνία	94,43%	97,83%	43,44	0,06
Ηνωμένες Πολιτείες	88,68%	98,11%	47,00	0,12

\* Σύνολο

## Απόδοση σε άτομα με προσδιορισμένους παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη με MTB (άτομα μικτού κινδύνου)

Διεξήχθη μια κοόρτη 601 ατόμων με μικτούς παράγοντες κινδύνου για λοίμωξη TB (π.χ. θετικό αποτέλεσμα για HIV, ιστορικό θεραπείας για ενεργή ή λανθάνουσα TB, έκθεση σε περιστατικό ενεργής TB, κατάσταση HCW κ.λπ.) με αμφότερες τις δοκιμασίες QFT και QFT-Plus. Προσδιορίστηκαν παράγοντες κινδύνου με χρήση τυποποιημένου ερωτηματολογίου και οι συμμετέχοντες δεν παρουσίαζαν συμπτώματα σχετικά με ενεργή φυματίωση κατά την ένταξη στη μελέτη. Τα δημογραφικά στοιχεία και οι παράγοντες κινδύνου αναφέρονται στον Πίνακα 10. Σε αυτόν τον πληθυσμό, 68/601 (11,3%) άτομα έδωσαν θετικό αποτέλεσμα QFT-Plus, με ποσοστιαία συμφωνία θετικών (Positive Percent Agreement, PPA) και ποσοστιαία συμφωνία αρνητικών (Negative Percent Agreement, NPA) 98,44% και 99,07%, αντίστοιχα (Πίνακας 11). Σε αυτήν την κοόρτη των 68 ατόμων με θετικό αποτέλεσμα QFT-Plus, συνολικά 62 άτομα βρέθηκαν θετικά και με τα δύο σωληνάρια (TB1 και TB2), 2 άτομα βρέθηκαν θετικά μόνο με το TB1 και 4 άτομα βρέθηκαν θετικά μόνο με το TB2. Δεν παρατηρήθηκαν απροσδιόριστα αποτελέσματα (0/601).

**Πίνακας 10. Δημογραφικά στοιχεία και παράγοντες που συσχετίζονται με τον κίνδυνο λοίμωξης TB σε μια μικτή κούρτη**

<b>Σύνολο συμμετεχόντων (601)</b>		<b>Αριθμός</b>	<b>Ποσοστό</b>
Φύλο	Άνδρες	539	89,7%
	Γυναίκες	62	10,3%
Ηλικία (έτη)	Εύρος	18–70	–
	Μέση τιμή	46,7	
Εμβολιασμός με BCG	Ναι	15	2,5%
	Όχι	586	97,5%
HIV–θετικό ή θετικό σε έλεγχο για HTLV άτομο	Ναι	12	2,0%
	Όχι	589	98%
Προηγούμενη διάγνωση ενεργής TB	Ναι	11	1,8%
	Όχι	590	98,2%
Θετική δερματική δοκιμασία φυματίνης (TST)/Mantoux για TB	Ναι	47	7,8%
	Όχι	554	92,2%
Προηγούμενη λήψη θεραπείας για ενεργή ή λανθάνουσα TB	Ναι	35	5,8%
	Όχι	566	94,2%
Διαμονή, εργασία ή εθελοντική εργασία (> 1 μήνα) σε σωφρονιστικό ίδρυμα	Ναι	373	62,1%
	Όχι	228	37,9%
Διαμονή, εργασία ή εθελοντική εργασία (> 1 μήνα) σε άσυλο αστέγων	Ναι	525	87,4%
	Όχι	76	12,6%
Άτομο εργαζόμενο στον τομέα της υγείας	Ναι	8	1,3%
	Όχι	593	98,7%
Στενή επαφή με πιθανό ή επιβεβαιωμένο κρούσμα ενεργής φυματίωσης	Ναι	9	1,5%
	Όχι	592	98,5%

**Πίνακας 11. Σύνοψη απόδοσης δοκιμασίας QFT-Plus έναντι δοκιμασίας QFT σε άτομα με γνωστούς παράγοντες κινδύνου για λανθάνουσα λοίμωξη TB**

		QFT		
		Θετικό (+)	Αρνητικό (-)	Σύνολο
QFT-Plus	Θετικό (+)	63	5*	68
	Αρνητικό (-)	1*	532	533
	Σύνολο	64	537	601

\*Και στα 6 ασύμφωνα δείγματα, τα επίπεδα IFN- $\gamma$  των σωληναρίων αντιγόνου TB ήταν κοντά στην τιμή αποκοπής προσδιορισμού.

Η ποσοστιαία συμφωνία θετικών (Positive Percent Agreement, PPA) και η ποσοστιαία συμφωνία αρνητικών (Negative Percent Agreement, NPA) μεταξύ των αποτελεσμάτων της δοκιμασίας QFT και της δοκιμασίας QFT-Plus είχαν ως εξής:

- PPA: 98,44% (63/64), 95% CI (91,67, 99,72)
- NPA: 99,07% (532/537), 95% CI (97,84, 99,60)

Ο Πίνακας 12 παρακάτω απεικονίζει την απόδοση της δοκιμασίας QFT-Plus συγκριτικά με τη δοκιμασία QFT σε συμμετέχοντες της μελέτης εμβολιασμένους με BCG.

**Πίνακας 12. Απόδοση δοκιμασίας QFT-Plus συγκριτικά με τη δοκιμασία QFT σε συμμετέχοντες μελέτης εμβολιασμένους με BCG (συνδυασμένα δεδομένα από άτομα των μελετών ευαισθησίας, ειδικότητας και LTBI)**

		QFT		
		Θετικό (+)	Αρνητικό (-)	Σύνολο
QFT-Plus	Θετικό (+)	66	5	71
	Αρνητικό (-)	3	268	271
	Σύνολο	69	273	342*

\* Δύο συμμετέχοντες της μελέτης ευαισθησίας εξαιρέθηκαν από την ανάλυση λόγω απροσδιόριστων αποτελεσμάτων

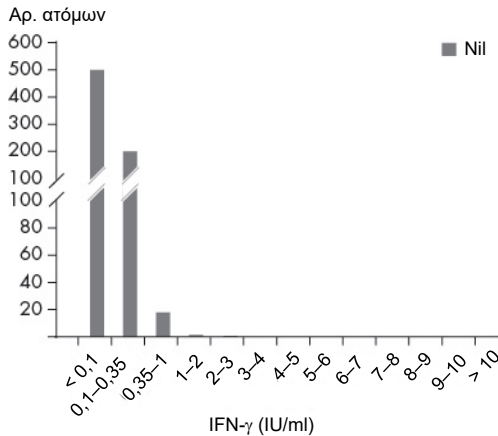
- PPA = 95,6% (66/69), 95% CI (87,98, 98,51)
- NPA = 98,2% (268/273), 95% CI (95,79, 99,22)

## Αναμενόμενες τιμές

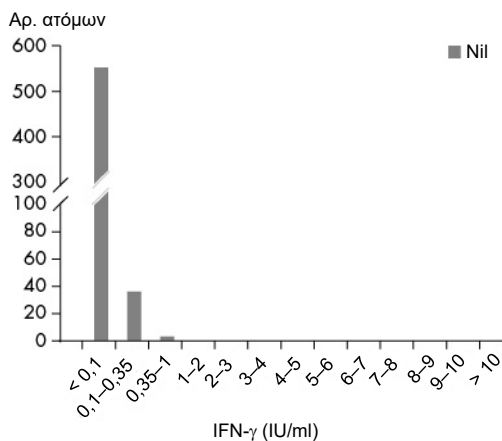
### Παρατηρηθείσες κατανομές απαντήσεων — στρωματοποιημένες ανάλογα με τον κίνδυνο

Σε κλινικές δοκιμές, παρατηρήθηκε ένα εύρος αποκρίσεων της IFN- $\gamma$  στα σωληνάρια TB1, TB2 και μάρτυρα, που στρωματοποιήθηκαν ανάλογα με τον κίνδυνο για λοίμωξη από *M. tuberculosis* (Εικόνα 4 έως Εικόνα 7). Η ομάδα μικτού κινδύνου αποτελείται από άτομα αντιπροσωπευτικά ενός γενικού εξεταζόμενου πληθυσμού και συμπεριλαμβάνει άτομα με και χωρίς παράγοντες κινδύνου για έκθεση στη φυματίωση και άτομα με μικρές πιθανότητες ενεργής φυματίωσης (π.χ. LTBI).

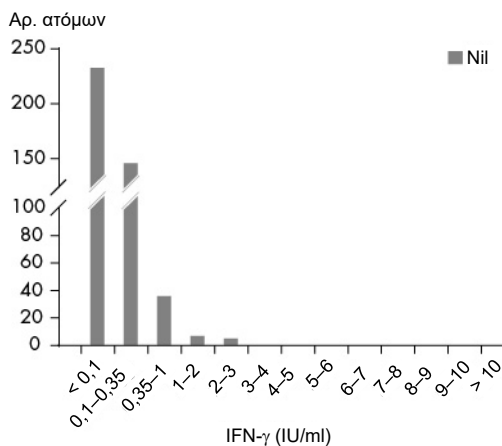
A



B

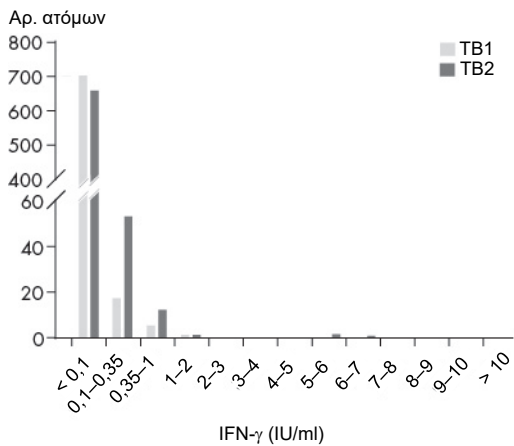


C

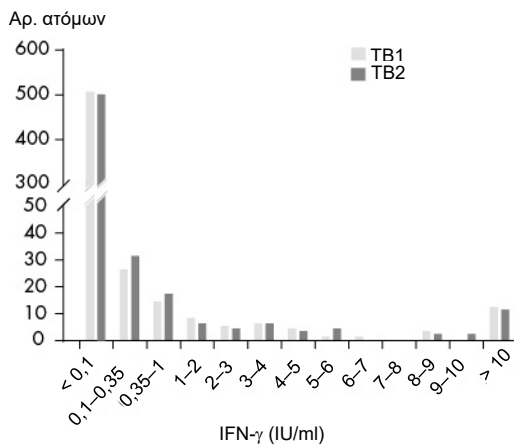


**Εικόνα 4. Κατανομή αποτελεσμάτων Nil.** Α Κατανομή τιμών Nil σε πληθυσμό χαμηλού κινδύνου (n = 744). Β Κατανομή τιμών Nil σε πληθυσμό μικτού κινδύνου (n = 601). Γ Κατανομή τιμών Nil σε πληθυσμό επιβεβαιωμένη μέσω καλλιέργειας για λοίμωξη *M. tuberculosis* (n = 416).

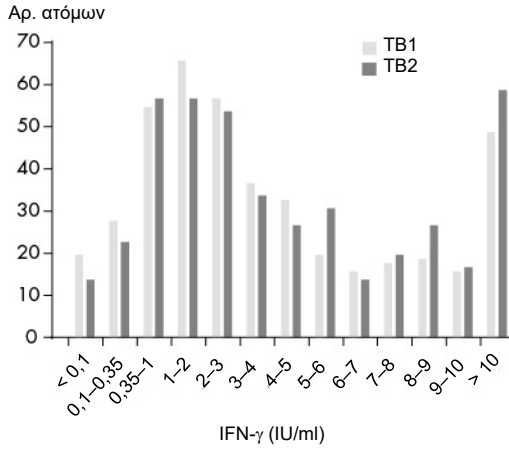
A



B



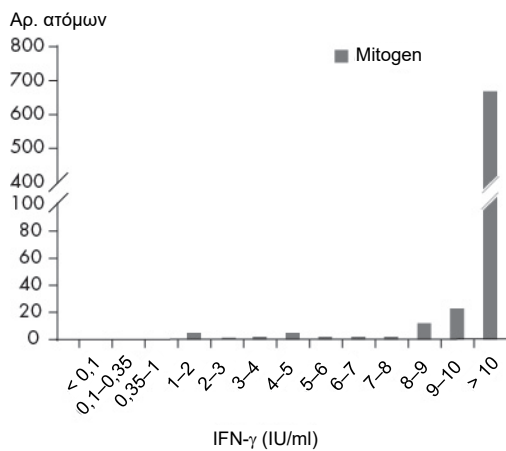
C



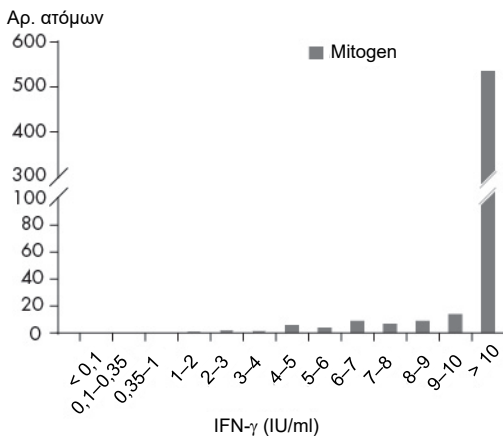
**Εικόνα 5. Κατανομή αποτελεσμάτων TB1 και TB2 (μετά την αφαίρεση του Nil).** Α Κατανομή τιμών TB1 και TB2 (μετά την αφαίρεση του Nil) σε πληθυσμό χαμηλού κινδύνου (n = 744). Β Κατανομή τιμών TB1 και TB2 (μετά την αφαίρεση του Nil) σε πληθυσμό μικτού κινδύνου (n = 601). Γ Κατανομή τιμών TB1 και TB2 (μετά την αφαίρεση του Nil) σε πληθυσμό με λοίμωξη από *M. tuberculosis* (n = 416).



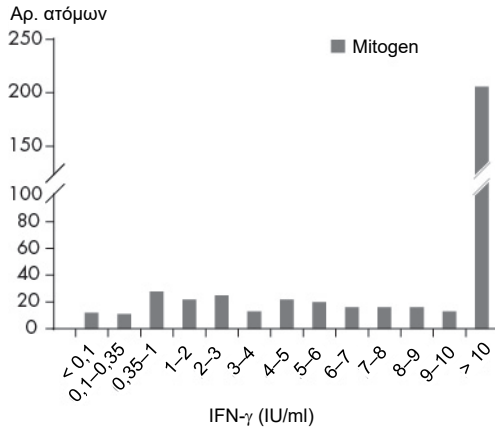
A



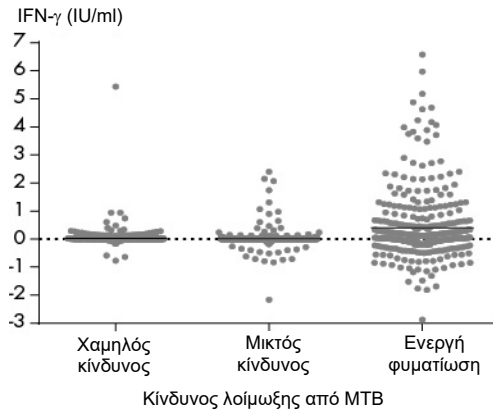
B



C



**Εικόνα 6. Κατανομή αποτελεσμάτων Mitogen (μετά την αφαίρεση του Nil).** Α Κατανομή τιμών Mitogen (μετά την αφαίρεση του Nil) σε πληθυσμό χαμηλού κινδύνου (n = 744). Β Κατανομή τιμών Mitogen (μετά την αφαίρεση του Nil) σε πληθυσμό μικτού κινδύνου (n = 601). Γ Κατανομή τιμών Mitogen (μετά την αφαίρεση του Nil) σε πληθυσμό με λοίμωξη από *M. tuberculosis* (n = 415).



**Εικόνα 7. Παρατηρηθείσα διαφορά μεταξύ των τιμών TB1 και TB2 (μετά την αφαίρεση του Nil), στρωματοποιημένη ανάλογα με τον κίνδυνο.** Περιλαμβάνει δεδομένα από τη μελέτη κοόρτης μικτού κινδύνου για να καταδείξει τις διαφορές μεταξύ των κοορτών χαμηλού κινδύνου, ενεργού κινδύνου και

μικτού κινδύνου. Στην ανάλυση δεδομένων, συμπεριλήφθηκε μια κοόρτη μικτού κινδύνου με γνωστούς παράγοντες κινδύνου. Συνεπώς, από την κοόρτη χαμηλού κινδύνου  $n = 733$ , από την κοόρτη μικτού κινδύνου  $n = 588$  και από την κοόρτη ενεργής φυματίωσης  $n = 357$ . Η ποσοτική διαφορά σε IU/ml για κάθε άτομο προέκυψε με αφαίρεση της τιμής TB1 από την τιμή TB2.

## Σύνοψη ασφάλειας και απόδοσης

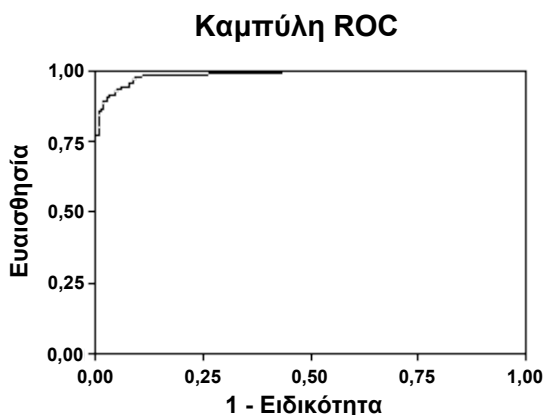
Μπορείτε να βρείτε τη σύνοψη ασφάλειας και απόδοσης στον ιστότοπο EUDAMED.

# Χαρακτηριστικά απόδοσης προσδιορισμού

## Απόδοση ανάλυσης

### Τιμή αποκοπής προσδιορισμού

Η τιμή αποκοπής του προσδιορισμού QFT-Plus καθορίστηκε με τη χρήση δεδομένων από 216 άτομα χωρίς προσδιορισμένους παράγοντες κινδύνου για έκθεση σε TB, τα οποία είχαν εμβολιαστεί με BCG και θεωρήθηκε ότι δεν είχαν λοίμωξη, καθώς και 118 άτομα με λοίμωξη από *M. tuberculosis* επιβεβαιωμένη μέσω καλλιέργειας. Τα δεδομένα ευαισθησίας και ειδικότητας συνδυάστηκαν και αναλύθηκαν μέσω ανάλυσης χαρακτηριστικής καμπύλης λειτουργίας δέκτη (Receiver Operator Characteristic, ROC). Τα δεδομένα ευαισθησίας και ειδικότητας που αναλύθηκαν μέσω ανάλυσης ROC κατέδειξαν ότι η βέλτιστη τιμή αποκοπής της δοκιμασίας ELISA ήταν 0,35 IU/ml (βλ. Εικόνα 8).



Εικόνα 8. Καμπύλη ROC για τις αποκρίσεις ESAT-6 και CFP-10.

**Πίνακας 13. Τιμές ευαισθησίας και ειδικότητας για τη δοκιμασία ELISA σε διάφορες τιμές αποκοπής**

<b>Τιμή αποκοπής IU/ml IFN-γ</b>	<b>% ευαισθησίας</b>	<b>95% CI</b>	<b>% ειδικότητας</b>	<b>95% CI</b>	<b>Ευαισθησία + Ειδικότητα</b>
0,20	91,53	84,97% έως 95,86%	96,31	92,87% έως 98,40%	187,84
0,23	91,53	84,97% έως 95,86%	96,77	93,47% έως 98,69%	188,30
0,26	90,68	83,93% έως 95,25%	96,77	93,47% έως 98,69%	187,45
0,28	90,68	83,93% έως 95,25%	97,24	94,08% έως 98,98%	187,92
0,30	89,83	82,91% έως 94,63%	97,24	94,08% έως 98,98%	187,07
0,31	88,98	81,90% έως 94,00%	97,24	94,08% έως 98,98%	186,22
0,33	88,98	81,90% έως 94,00%	97,70	94,71% έως 99,25%	186,68
0,35	88,98	81,90% έως 94,00%	98,16	95,35% έως 99,50%	187,14
0,39	88,14	80,90% έως 93,36%	98,16	95,35% έως 99,50%	186,3
0,42	87,29	79,90% έως 92,71%	98,16	95,35% έως 99,50%	185,45
0,43	86,44	78,92% έως 92,05%	98,16	95,35% έως 99,50%	184,6
0,45	86,44	78,92% έως 92,05%	98,62	96,01% έως 99,71%	185,06

Συνέχεια πίνακα στην επόμενη σελίδα

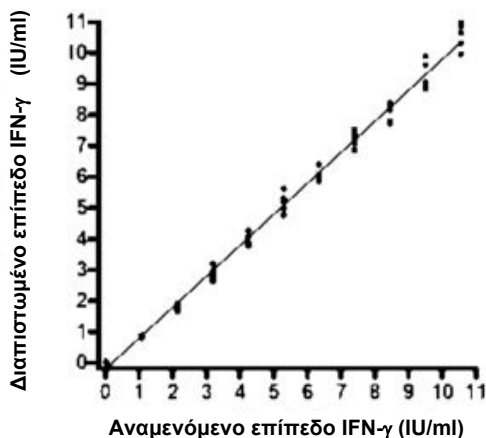
Συνέχεια πίνακα από την προηγούμενη σελίδα

**Πίνακας 13. Τιμές ευαισθησίας και ειδικότητας για τη δοκιμασία ELISA σε διάφορες τιμές αποκοπής**

Τιμή αποκοπής IU/ml IFN- $\gamma$	% ευαισθησίας	95% CI	% ειδικότητας	95% CI	Ευαισθησία + Ειδικότητα
0,47	85,59	77,94% έως 91,38%	99,08	96,71% έως 99,89%	184,67
0,48	84,75	76,97% έως 90,70%	99,08	96,71% έως 99,89%	183,83
0,50	83,90	76,00% έως 90,02%	99,08	96,71% έως 99,89%	182,98

## Γραμμικότητα

Η γραμμικότητα του προσδιορισμού QFT-Plus ELISA αποδείχτηκε με τυχαία τοποθέτηση 5 επαναληπτικών δειγμάτων από 11 δεξαμενές πλάσματος με γνωστές συγκεντρώσεις IFN- $\gamma$  στην πλάκα ELISA. Η καμπύλη γραμμικής παλινδρόμησης έχει κλίση  $1,002 \pm 0,011$  και συντελεστή συσχέτισης 0,99 (Εικόνα 9).



**Εικόνα 9. Απεικόνιση ανάλυσης παλινδρόμησης μελέτης γραμμικότητας – Υψηλή μέση τιμή δεξαμενής =  $-0,24 + 0,9964 \cdot \text{Αναμενόμενη}$ .**

## Αναπαραγωγιμότητα

Διεξήχθη μια πολυκεντρική μελέτη αναπαραγωγιμότητας για την εκτίμηση της απόδοσης της δοκιμασίας QFT-Plus μεταξύ κέντρων μελέτης με πολλαπλούς χειριστές. Η μελέτη αυτή ήταν προοπτική και πραγματοποιήθηκε σε τρία εξωτερικά κέντρα εξέτασης και ένα κέντρο συλλογής. Συνολικά, εντάχθηκαν στη μελέτη 32 θετικά και 34 αρνητικά άτομα (επιβεβαιωμένα βάσει της δοκιμασίας QFT). Οι συμμετέχοντες στη μελέτη ήταν εργαζόμενοι στον τομέα της υγείας στις Ηνωμένες Πολιτείες. Οι συμμετέχοντες στη μελέτη αντιπροσώπευαν τις ομάδες μικτού κινδύνου για έκθεση σε TB λόγω του επαγγέλματός τους ή ως αλλοδαποί εργαζόμενοι στον τομέα της υγείας με καταγωγή από περιοχή με ποσοστό νόσησης από TB πάνω από 50/100.000.

Από κάθε συμμετέχοντα στη μελέτη παρασχέθηκαν τρία σωληνάρια αιμοληψίας με λιθιούχο ηπαρίνη. Τα σωληνάρια αιμοληψίας με λιθιούχο ηπαρίνη μεταφέρθηκαν σε καθένα από τα τρία κέντρα εξέτασης όπου κλασματοποιήθηκαν σε δύο σετ QFT-Plus Blood Collection Tubes (QFT-Plus TB1, TB2, Mitogen και Nil) και, στη συνέχεια, εξετάστηκαν σύμφωνα με τη διαδικασία του προσδιορισμού QFT-Plus. Σε κάθε κέντρο, τουλάχιστον δύο χειριστές εκτέλεσαν από δύο δοκιμασίες ανεξάρτητα για κάθε συμμετέχοντα στη μελέτη. Κάθε χειριστής ήταν τυφλοποιημένος ως προς τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τον άλλο χειριστή και τυφλοποιημένος ως προς το αποτέλεσμα της δοκιμασίας QFT του συμμετέχοντα στη μελέτη.

Παρήχθησαν έξι αποτελέσματα και στα τρία κέντρα εξέτασης για καθέναν από τους 66 συμμετέχοντες στη μελέτη, για συνολικά 396 σημεία δεδομένων. Η σύνοψη των αποτελεσμάτων της μελέτης αναπαραγωγιμότητας φαίνεται στον Πίνακα 14.

**Πίνακας 14. Σύνοψη αποτελεσμάτων μελέτης αναπαραγωγιμότητας – ποσοστό συμφωνίας εντός κέντρου των ποιοτικών αποτελεσμάτων μεταξύ χειριστών, N = 66 δείγματα ασθενών**

<b>Κέντρο 1 – 2 χειριστές</b>	<b>Κέντρο 2 – 2 χειριστές</b>	<b>Κέντρο 3 – 3 χειριστές</b>
64/66 = 96,97%	64/66 = 96,97%	59/66 = 89,39%
Συμφωνία ποιοτικών αποτελεσμάτων για το σετ σωληναρίων 1 και το σετ σωληναρίων 2	Συμφωνία ποιοτικών αποτελεσμάτων για το σετ σωληναρίων 1 και το σετ σωληναρίων 2	Συμφωνία ποιοτικών αποτελεσμάτων για το σετ σωληναρίων 1 και το σετ σωληναρίων 2

Η ποσοστιαία συμφωνία ποιοτικών αποτελεσμάτων σε όλα τα κέντρα της μελέτης είναι 94,7% (375/396). Σε αυτόν τον υπολογισμό, ο συνολικός αριθμός των αποτελεσμάτων της δοκιμασίας (375) περιλαμβάνει τις περιπτώσεις με συμφωνία και στα 6 αποτελέσματα, στα 5 από τα 6 αποτελέσματα, στα 4 από τα 6 αποτελέσματα και στα 3 από τα 6 αποτελέσματα.

## Επαναληψιμότητα μεταξύ παρτίδων

Διεξήχθη μια μελέτη για τον καθορισμό της μεταβλητότητας μεταξύ παρτίδων των QFT-Plus Blood Collection Tubes συγκριτικά με τα σωληνάρια QFT. Συνολικά, εντάχθηκαν στη μελέτη 30 άτομα (15 θετικά για TB και 15 αρνητικά για TB, με επιβεβαίωση μέσω της δοκιμασίας QFT). Σε αυτήν τη μελέτη, συμπεριλήφθηκαν τρεις χωριστές παρτίδες QFT-Plus TB1, TB2 και QFT TB Blood Collection Tubes. Εξετάστηκαν τρία επαναληπτικά δείγματα ανά δόση ανά παρτίδα σωληναρίων αιμοληψίας. Εξετάστηκαν σωληνάρια Nil και Mitogen με ένα επαναληπτικό δείγμα το καθένα.

Συλλέχθηκε αίμα από κάθε συμμετέχοντα σε σωληνάρια αιμοληψίας με λιθιούχο ηπαρίνη και, στη συνέχεια, 1 ml αίματος μεταφέρθηκε σε καθένα από τα QFT-Plus και QFT Blood Collection Tubes και εξετάστηκε σύμφωνα με τη διαδικασία του προσδιορισμού. Για κάθε ομάδα θετικών και αρνητικών δειγμάτων, η συνολική διασπορά των αποτελεσμάτων των σωληναρίων QFT-Plus δεν πρέπει να ήταν σημαντικά μεγαλύτερη από τη συνολική διασπορά των αποτελεσμάτων των σωληναρίων QFT. Αυτό διαπιστώθηκε από την τιμή  $p$  που προέκυψε από τον έλεγχο της Ομοιογένειας των Διασπορών (HOV) του Levene. Εάν η τιμή  $p$  δεν ήταν σημαντική ( $p > 0,05$ ) ή/και η διασπορά των σωληναρίων QFT-Plus TB ήταν μικρότερη από τη διασπορά του σωληναρίου QFT TB, τότε υπήρχε διασπορά μεταξύ των σωληναρίων QFT-Plus και QFT TB.



**Πίνακας 15. Σύγκριση διασπορών μεταξύ QFT-Plus και QFT TB Blood Collection Tubes με χρήση του ελέγχου HOV του Levene**

Τύπος δείγματος	Διαφορά	Επίδραση	Εξαρτώμενο	Τιμή p	Σημαντικό
Θετικό	TB2 έναντι QFT	Sub_Type (Υποτύπος)	Υπολειπόμενο	0,0378	Ναι
Θετικό	TB2 έναντι QFT	Sub_Type (Υποτύπος)	Υπολειπόμενο	0,0540	Όχι
Αρνητικό	TB2 έναντι QFT	Sub_Type (Υποτύπος)	Υπολειπόμενο	0,1025	Όχι
Αρνητικό	TB2 έναντι QFT	Sub_Type (Υποτύπος)	Υπολειπόμενο	0,6344	Όχι

Η διασπορά μεταξύ των QFT-Plus και QFT TB Blood Collection Tubes δεν ήταν σημαντική, εξαιρουμένου του σωληναρίου QFT-Plus TB2 κατά τη δοκιμασία των θετικών συμμετεχόντων. Όταν αναλύθηκε η εκτίμηση της τυπικής απόκλισης, η διασπορά που παρατηρήθηκε στο σωληνάριο QFT-Plus TB2 ήταν μικρότερη (0,06089) από το σωληνάριο QFT TB (0,07641), όπως φαίνεται στον Πίνακα 16. Συνεπώς, η διασπορά των QFT-Plus TB1 και TB2 Blood Collection Tubes δεν ήταν μεγαλύτερη από τη διασπορά του QFT TB Blood Collection Tube.

**Πίνακας 16. Τυπική απόκλιση για το υπόλοιπο και το διάστημα εμπιστοσύνης 95% για τους θετικούς συμμετέχοντες θετικούς συμμετέχοντες**

Τύπος δείγματος	Υποτύπος	Εκτίμηση τυπικής απόκλισης	95% LCL	95% UCL
Θετικό	QFT	0,07641	0,06826	0,08680
Θετικό	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Θετικό	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

## Επαναληψιμότητα εντός της ίδιας παρτίδας

Διεξήχθη μια μελέτη αξιολόγησης της αναπαραγωγιμότητας εντός της ίδιας παρτίδας για τα QFT-Plus Blood Collection Tubes μέσω σύγκρισης της συγκέντρωσης IFN- $\gamma$  από επαναληπτικά δείγματα αίματος σε σωληνάρια αιμοληψίας QFT-Plus TB Blood Collection Tubes.

Έξι κλάσματα από ένα δείγμα αίματος που προήλθε από τους ίδιους συμμετέχοντες με επιβεβαιωμένη λοίμωξη TB υποβλήθηκαν σε ανάλυση σε 6 επαναλαμβανόμενα σωληνάρια αιμοληψίας από μία παρτίδα καθενός από τα σωληνάρια QFT-Plus tubes (TB1 και TB2). Η δοκιμασία πραγματοποιήθηκε σε 13 συμμετέχοντες. Ο συντελεστής %CV υπολογίστηκε για κάθε δότη και για το σύνολο των δοτών, ώστε να προκύψει ο μέσος συντελεστής %CV, όπως φαίνεται στον Πίνακα 17.

**Πίνακας 17. Ο συντελεστής %CV για τη μέση τιμή, την τυπική απόκλιση, την ελάχιστη τιμή, τη διάμεση τιμή και τη μέγιστη τιμή σε κάθε σωληνάριο αιμοληψίας QFT-Plus TB σε συμμετέχοντες θετικούς για TB**

Σωληνάριο QFT-Plus	Όγκος δείγματος	Μέση (%CV)	Τυπική απόκλιση	Ελάχιστη τιμή	Διάμεση τιμή	Μέγιστη τιμή
TB1	13	13,31	6,88	4,17	12,87	29,56
TB2	13	13,04	7,48	4,86	10,75	29,44

Τα αποτελέσματα κατέδειξαν ότι ο μέσος συντελεστής %CV για τα TB1 και TB2 ήταν ~13%, ικανοποιώντας τα κριτήρια αποδοχής  $\leq 30\%$  και παρουσιάζοντας επαναληψιμότητα εντός της ίδιας παρτίδας.

### Όριο τυφλού (Limit of Blank, LoB)

Το όριο τυφλού (Limit of Blank, LoB) εκτιμήθηκε για τον προσδιορισμό QFT-Plus. Δύο επαναληπτικά δείγματα καθενός από τα 14 μεμονωμένα δείγματα φυσιολογικού ανθρώπινου πλάσματος (όπως τα τυφλά) εξετάστηκαν με 2 παρτίδες QFT-Plus ELISA από 3 χειριστές σε 3 ημέρες εξέτασης, ένας χειριστής ανά ημέρα εξέτασης για συνολικά 84 επαναληπτικά δείγματα από κάθε παρτίδα κιτ ELISA.

Οι τιμές LoB (IU/ml) για τις 2 παρτίδες κιτ ELISA υπολογίστηκαν χωριστά, όπως φαίνεται στον Πίνακα 18.

**Πίνακας 18. Τιμές LoB (IU/ml) για τις 2 παρτίδες QFT-Plus ELISA Kit**

QFT-Plus ELISA Kit	Εκτιμώμενο LoB (IU/ml)
Κιτ 1	0,030
Κιτ 2	0,040

Η μεγαλύτερη τιμή LoB, 0,040 IU/ml, και στις δύο παρτίδες QFT-Plus ELISA Kit, αναφέρθηκε ως η τελική τιμή LoB.

## Όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, LoD)

Το όριο ανίχνευσης (Limit of Detection, LoD) εκτιμήθηκε για τον προσδιορισμό QFT-Plus. Δημιουργήθηκε μια δεξαμενή ανθρώπινου πλάσματος αρνητικού για TB από τον συνδυασμό 14 μεμονωμένων δειγμάτων πλάσματος. Καθένας από τους 3 χειριστές παρασκεύασε ένα πρότυπο πυκνό διάλυμα αναφοράς IFN- $\gamma$  1,0 IU/ml αραιωμένο σε ρυθμιστικό διάλυμα. Πραγματοποιήθηκε μια σειρά αραιώσεων 8 συγκεντρώσεων. Η μελέτη διεξήχθη σε διάστημα 3 ημερών, από 3 εναλλασσόμενους χειριστές και με τη χρήση 2 παρτίδων QFT-Plus ELISA Kit. Για κάθε ημέρα εξέτασης, εξετάστηκαν 5 επαναληπτικά δείγματα κάθε συγκέντρωσης εντός κάθε συνόλου των σειρών αραιώσης για συνολικά 45 επαναληπτικά δείγματα για κάθε αραιώση συγκέντρωσης IFN- $\gamma$  για κάθε παρτίδα QFT-Plus ELISA Kit.

Η τιμή LoD για καθεμία από τις παρτίδες QFT-Plus ELISA Kit που εξετάστηκαν υπολογίστηκε χωριστά, όπως φαίνεται στον Πίνακα 19.

**Πίνακας 19. Εκτιμώμενες τιμές LoD (IU/ml) για τις 2 παρτίδες QFT-Plus ELISA Kit**

QFT-Plus ELISA Kit	Πιθανότητα	Εκτιμώμενη συγκέντρωση (IU/ml)	Κατώτερο όριο εμπιστοσύνης 95% για την εκτίμηση	Ανώτερο όριο εμπιστοσύνης 95% για την εκτίμηση
Kit 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Kit 2	0,95	0,065	0,060	0,073

Η μεγαλύτερη τιμή LoD που υπολογίστηκε και για τις δύο παρτίδες QFT-Plus ELISA Kit, 0,065 IU/ml, αναφέρθηκε ως η τελική τιμή LoD.

## Παρεμβαλλόμενες ουσίες

Διεξήχθη μια μελέτη για τον καθορισμό των επιδράσεων δυνητικά παρεμβαλλόμενων ουσιών στην απόδοση της ανίχνευσης IFN- $\gamma$  από το QFT-Plus ELISA. Οι παρεμποδιστές που συμπεριλήφθηκαν σε αυτήν την εξέταση ήταν: τριγλυκερίδια (ολικά), αιμοσφαιρίνη, πρωτεΐνη (ολική ορού), χολερυθρίνη (συζευγμένη), χολερυθρίνη (μη συζευγμένη), θειική αβακαβίρη, κυκλοσπορίνη και πρεδνιζολόνη. Παρασκευάστηκαν πέντε δεξαμενές

πλάσματος με γνωστές συγκεντρώσεις IFN- $\gamma$  με τη χρήση διαφορετικών συγκεντρώσεων παρεμποδιστών. Το βασικό επίπεδο IFN- $\gamma$  της δεξαμενής παρασκευάστηκε προηγουμένως με μια προκαθορισμένη ποσότητα IFN- $\gamma$  (περίπου 0,21, 0,45 και 1,4 IU/ml). Αυτή η δεξαμενή χρησιμοποιήθηκε στη συνέχεια για την παρασκευή των δεξαμενών παρεμποδιστών. Οι συγκεντρώσεις παρεμποδιστών που εξετάστηκαν ήταν 0 mg/dl, 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl και 20 mg/dl. Οι στοχευόμενες συγκεντρώσεις παρεμποδιστών βασίστηκαν σε διαστήματα αναφοράς, παθολογικές τιμές, θεραπευτικά εύρη και τοξικά εύρη, ή στις συστάσεις ανά προμηθευτή ή τα γενικά κλινικά επίπεδα. Εξετάστηκαν έξι επαναληπτικά δείγματα για κάθε επίπεδο συγκέντρωσης δείγματος παρεμποδιστή.

Για κάθε συγκέντρωση δείγματος, διεξήχθη μια εξέταση T δύο δειγμάτων, με σύγκριση της διαφοράς στη μέση τιμή  $\log_{10}$  (IU/ml) του επιπέδου του κύριου παρεμποδιστή ως προς τον μάρτυρα (δηλ. επίπεδο χωρίς παρεμποδιστή), όπως φαίνεται στον Πίνακα 20 και στον Πίνακα 21. Αναφέρθηκαν επίσης η εκτιμώμενη διαφορά στη μέση απόκριση, μαζί με τα αντίστοιχα όρια αμφίπλευρου διαστήματος εμπιστοσύνης 95%, καθώς και η τιμή p.

**Πίνακας 20. Log10 IU/ml: Συνοπτικός πίνακας εξέτασης T για τις διαφορές στις μέσες τιμές μεταξύ του επιπέδου μάρτυρα και του κύριου επιπέδου παρεμποδιστή για κάθε παρεμποδιστή και επίπεδο συγκέντρωσης IFN-γ**

Παρεμπο- διστής	Επίπεδο παρεμπο- διστή	Συγκέντρωση δείγματος (IU/ml)	Διασπορές	Μέση διαφορά	Κατώτερο 95% CI	Ανώτερο 95% CI	Τιμή p	Επι- χές
Τριγλυκερίδια	Υψηλή τιμή	1,4	1σο	0,019	-0,040	0,077	0,491	Ναι
		0,45	1σο	0,004	-0,022	0,030	0,732	Ναι
		0,21	1σο	0,006	-0,035	0,047	0,759	Ναι
Αιμοσφαιρίνη	Υψηλή τιμή	1,4	1σο	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Ναι
		0,45	1σο	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Ναι
		0,21	1σο	0,000	-0,034	0,035	0,980	Ναι
Πρωτεΐνη	Υψηλή τιμή	1,4	1σο	0,004	-0,034	0,042	0,836	Ναι
		0,45	1σο	0,001	-0,38	0,040	0,962	Ναι
		0,21	1σο	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Ναι
Συζευγμένη χολερυθρίνη	Υψηλή τιμή	1,4	1σο	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Ναι
		0,45	1σο	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Ναι
		0,21	1σο	-0,014	0,074	0,046	0,625	Ναι
Μη συζευγμένη χολερυθρίνη	Υψηλή τιμή	1,4	1σο	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Ναι
		0,45	1σο	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Ναι
		0,21	1σο	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Ναι
Αβακαβίρη	Υψηλή τιμή	1,4	1σο	0,008	-0,025	0,041	0,601	Ναι
		0,45	1σο	0,012	-0,019	0,044	0,412	Ναι
		0,21	1σο	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Ναι

Συνέχεια πίνακα στην επόμενη σελίδα

Συνέχεια πίνακα από την προηγούμενη σελίδα

**Πίνακας 20. Log<sub>10</sub> IU/ml: Συνοπτικός πίνακας εξέτασης T για τις διαφορές στις μέσες τιμές μεταξύ του επιπέδου μάρτυρα και του κύριου επιπέδου παρεμποδιστή για κάθε παρεμποδιστή και επίπεδο συγκέντρωσης IFN- $\gamma$**

Παρεμπο- διστής	Επίπεδο παρεμπο- διστή	Συγκέντρωση δείγματος (IU/ml)	Διασπορές	Μέση διαφορά	Κατώτερο 95% CI	Ανώτερο 95% CI	Τιμή p	Επι- χές
Κυκλοσπορίνη	Υψηλή τιμή	1,4	1σο	0,014	-0,020	0,047	0,383	Ναι
		0,45	1σο	0,005	-0,035	0,045	0,773	Ναι
		0,21	1σο	0,024	-0,008	0,056	0,131	Ναι
Πρεδνιζολόνη	Υψηλή τιμή	1,4	1σο	0,017	-0,017	0,050	0,293	Ναι
		0,45	1σο	0,000	-0,036	0,036	0,979	Ναι
		0,21	1σο	0,015	-0,035	0,065	0,524	Ναι

**Πίνακας 21. Log10 IU/ml: Συνοπτικός πίνακας εξέτασης T για τις διαφορές στις μέσες τιμές μεταξύ του επιπέδου μάρτυρα και του υψηλού επιπέδου παρεμποδιστή για κάθε παρεμποδιστή και επίπεδο συγκέντρωσης IFN-γ**

Παρεμπο- διστής	Επίπεδο παρεμπο- διστή	Συγκέντρωση δείγματος (IU/ml)	Διασπορές	Μέση διαφορά	Κατώτερο 95% CI	Ανώτερο 95% CI	Τιμή p	Επιτυ- χές
Τριγλυκερίδια	Υψηλή τιμή	1,4	1σο	0,053	-0,004	0,110	0,063	Ναι
		0,45	1σο	0,039	-0,021	0,058	< 0,001	Ναι
		0,21	1σο	0,034	-0,002	0,071	0,061	Ναι
Αιμοσφαιρίνη	Υψηλή τιμή	1,4	1σο	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Ναι
		0,45	1σο	0,016	-0,007	0,040	0,152	Ναι
		0,21	1σο	0,014	-0,030	0,059	0,489	Ναι
Πρωτεΐνη	Υψηλή τιμή	1,4	1σο	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Ναι
		0,45	1σο	0,000	-0,046	0,046	0,992	Ναι
		0,21	1σο	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Ναι
Συζευγμένη χολερυθρίνη	Υψηλή τιμή	1,4	1σο	0,001	-0,046	0,048	0,961	Ναι
		0,45	1σο	0,012	-0,043	0,067	0,639	Ναι
		0,21	1σο	0,015	-0,044	0,074	0,586	Ναι
Μη συζευγμένη χολερυθρίνη	Υψηλή τιμή	1,4	1σο	0,015	-0,011	0,042	0,231	Ναι
		0,45	1σο	0,015	-0,023	0,052	0,411	Ναι
		0,21	1σο	0,012	-0,033	0,057	0,566	Ναι
Αβακαβίρη	Υψηλή τιμή	1,4	1σο	0,013	-0,015	0,040	0,322	Ναι
		0,45	1σο	0,015	-0,014	0,044	0,283	Ναι
		0,21	1σο	0,008	-0,034	0,050	0,677	Ναι

Συνέχεια πίνακα στην επόμενη σελίδα

Συνέχεια πίνακα από την προηγούμενη σελίδα

**Πίνακας 21. Log<sub>10</sub> IU/ml: Συνοπτικός πίνακας εξέτασης T για τις διαφορές στις μέσες τιμές μεταξύ του επιπέδου μάρτυρα και του υψηλού επιπέδου παρεμποδιστή για κάθε παρεμποδιστή και επίπεδο συγκέντρωσης IFN-γ**

Παρεμποδιστής	Επίπεδο παρεμποδιστή	Συγκέντρωση δείγματος (IU/ml)	Διασπορές	Μέση διαφορά	Κατώτερο 95% CI	Ανώτερο 95% CI	Τιμή p	Επιτυχές
Κυκλοσπορίνη	Υψηλή τιμή	1,4	1σο	0,002	-0,019	0,024	0,816	Ναι
		0,45	1σο	0,007	-0,030	0,043	0,682	Ναι
		0,21	1σο	0,015	-0,007	0,038	0,155	Ναι
Πρεδνιζολόνη	Υψηλή τιμή	1,4	1σο	0,007	-0,016	0,030	0,518	Ναι
		0,45	1σο	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Ναι
		0,21	1σο	0,021	-0,025	0,068	0,334	Ναι

Τα αποτελέσματα δεν έδειξαν σημαντικές διαφορές μεταξύ του κύριου επιπέδου παρεμποδιστή και του επιπέδου μάρτυρα (επίπεδο χωρίς παρεμποδιστή), καθώς και για το υψηλό επίπεδο παρεμποδιστή, εκτός από το επίπεδο συγκέντρωσης τριγλυκεριδίων 0,45 IU/ml. Η μέση διαφορά προσδιορίστηκε εντός του εύρους +/- 2 τυπικών αποκλίσεων. Αυτό καταδεικνύει ότι η διαφορά βρίσκεται εντός της αναμενόμενης μεταβλητότητας του προσδιορισμού και ότι τα τριγλυκερίδια δεν επηρέασαν τον προσδιορισμό QFT-Plus ELISA.



## Απόρριψη

Τηρήστε τις σχετικές κατευθυντήριες οδηγίες περί χειρισμού δειγμάτων αίματος. Απορρίψτε τα δείγματα και τα υλικά που ήρθαν σε επαφή με αίμα ή παράγωγα αίματος όπως προβλέπουν οι διεθνείς, κρατικοί και τοπικοί κανονισμοί.

# Βιβλιογραφία

1. Andersen, P. et al. (2000) Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 356, 1099.
2. Balcells, M.E. et al. (2008) A comparative study of two different methods for the detection of latent tuberculosis in HIV-positive individuals in Chile. *Int. J. Infect. Dis.* 12, 645.
3. Matulis, G. et al. (2007) Detection of latent tuberculosis in immunosuppressed patients with autoimmune diseases performance of a *Mycobacterium tuberculosis* antigen specific IFN-gamma assay. *Ann. Rheum. Dis.* 67, 84.
4. Rothel, J.S., Andersen, P. (2005) Diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: Is the demise of the Mantoux test imminent? *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 3, 981.
5. Stebler, A. et al. (2008) Whole-blood interferon-gamma release assay for baseline tuberculosis screening of healthcare workers at a Swiss university hospital. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 29, 681.
6. Lewinsohn, D.M. et al. (2001) Classically restricted human CD8+ T lymphocytes derived from *Mycobacterium tuberculosis*-infected cells: definition of antigenic specificity. *J. Immunol.* 166, 439.
7. Lewinsohn, D.A. et al. (2007) Immunodominant tuberculosis CD8 antigens preferentially restricted by HLA-B. *PLoS Pathol.* 3, 1240.
8. Barcellini, L. et al. (2016) First independent evaluation of QuantiFERON-TB Plus performance. *Eur. Respir. J.* 47, 1587.
9. Day, C.L. et al. (2011) Functional capacity of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cell responses in humans is associated with mycobacterial load. *J. Immunol.* 187, 2222.

10. Rozot, V. et al. (2013) Mycobacterium tuberculosis-specific CD8+ T cells are functionally and phenotypically different between latent infection and active disease. Eur. J. Immunol. 43, 1568.
11. Nikolava, M. et al. (2013) Antigen-specific CD4- and CD8-positive signatures in different phases of Mycobacterium tuberculosis infection. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 75, 277.
12. Chicchio, T. et al. (2014) Polyfunctional T-cells and effector memory phenotype are associated with active TB in HIV-infected patients. J. Infect. 69, 533.
13. Ongaya, A. et al. (2013) Mycobacterium tuberculosis-specific CD8+ T cell recall in convalescing TB subjects with HIV co-infection. Tuberculosis 93, S60.
14. Lanicioni, C. et al. (2012) CD8+ T cells provide an immunologic signature of tuberculosis in young children. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 185, 206.
15. Mazurek, G.H., et al.; IGRA Expert Committee; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2010) Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection – United States, 2010. MMWR Recomm. Rep. 59, 1.
16. WHO consolidated guidelines on tuberculosis: tuberculosis preventive treatment. Geneva: World Health Organization; 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

# Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων

Αυτός ο οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων μπορεί να σας βοηθήσει στην επίλυση ενδεχόμενων προβλημάτων. Για θέματα τεχνικής υποστήριξης και περισσότερες πληροφορίες, επισκεφθείτε το Κέντρο Τεχνικής Υποστήριξης στη διεύθυνση [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) (για τα στοιχεία επικοινωνίας, επισκεφτείτε τη διεύθυνση [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Παρατηρήσεις και προτάσεις

---

### Αντιμέτωπιση προβλημάτων με την ανάλυση ELISA

#### Μη ειδική ανάπτυξη χρώματος

- |   |  |
|---|--|
| α) Ατελής πλύση της πλάκας                        | Πλύνετε την πλάκα τουλάχιστον 6 φορές με 400 μl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης ανά βύθισμα. Πιθανόν να χρειαστούν περισσότεροι από 6 κύκλοι έκπλυσης, ανάλογα με τη χρησιμοποιούμενη συσκευή πλύσης. Συνιστάται η εκτέλεση διαβροχής διάρκειας 5 δευτερολέπτων τουλάχιστον μεταξύ των κύκλων. |
| β) Διασταυρούμενη μόλυνση των βυθισμάτων ELISA    | Απαιτείται προσοχή κατά τη διανομή με πιπέτα και την ανάμειξη των δειγμάτων ώστε να ελαχιστοποιηθούν οι κίνδυνοι.  |
| γ) Το κιτ ή τα συστατικά του έχουν λήξει          | Βεβαιωθείτε ότι το κιτ χρησιμοποιείται πριν από την ημερομηνία λήξης. Βεβαιωθείτε ότι το ανασυσταθέν πρότυπο και το συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x χρησιμοποιούνται εντός τριών μηνών από την ημερομηνία ανασύστασης.  |
| δ) Το διάλυμα υποστρώματος-ενζύμου είναι ακάθαρτο | Απορρίψτε το υπόστρωμα εάν παρουσιάζει μπλε χρωματισμό. Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιούνται καθαρά δοχεία αντιδραστηρίων.   |

## Παρατηρήσεις και προτάσεις

- ε) Ανάμειξη του πλάσματος στα QFT-Plus Blood Collection Tubes πριν από τη συλλογή
- Μετά τη φυγοκέντριση, αποφύγετε την παλινδρόμηση του υγρού κατά τη διανομή με πιπέτα και γενικά την ανάδευση του πλάσματος κατ' οποιονδήποτε τρόπο πριν από τη συλλογή. Να φροντίζετε πάντοτε να μη διαταράσσετε το υλικό που βρίσκεται στην επιφάνεια της γέλης.

### Χαμηλές μετρήσεις οπτικής πυκνότητας με τα πρότυπα

- α) Σφάλμα αραιώσης προτύπου
- Βεβαιωθείτε ότι οι αραιώσεις του προτύπου του κιτ παρασκευάζονται σωστά, σύμφωνα με αυτές τις Οδηγίες χρήσης.
- β) Σφάλμα διανομής με πιπέτα
- Βεβαιωθείτε ότι οι πιπέτες βαθμονομούνται και χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.
- γ) Πολύ χαμηλή θερμοκρασία επώασης
- Η επώαση του ELISA θα πρέπει να εκτελείται σε θερμοκρασία δωματίου ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).
- δ) Πολύ μικρός χρόνος επώασης
- Η επώαση της πλάκας με το συζευγμένο μόριο, τα πρότυπα και τα δείγματα θα πρέπει να διαρκεί  $120 \pm 5$  λεπτά. Το διάλυμα υποστρώματος-ενζύμου θα πρέπει να επωάζεται στην πλάκα επί 30 λεπτά.
- ε) Δεν χρησιμοποιήθηκε το σωστό φίλτρο στη συσκευή ανάγνωσης πλακών
- Η ανάγνωση της πλάκας θα πρέπει να γίνεται στα 450 nm με φίλτρο αναφοράς μεταξύ 620 και 650 nm.
- στ) Υπερβολικά ψυχρά αντιδραστήρια
- Όλα τα αντιδραστήρια, εκτός από το Συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x, πρέπει να φθάσουν σε θερμοκρασία δωματίου προτού ξεκινήσει ο προσδιορισμός. Για να γίνει αυτό χρειάζεται περίπου 1 ώρα.
- ζ) Το κιτ ή τα συστατικά του έχουν λήξει
- Βεβαιωθείτε ότι το κιτ θα χρησιμοποιηθεί πριν από την ημερομηνία λήξης. Βεβαιωθείτε ότι το ανασυσταθέν πρότυπο και το συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x χρησιμοποιούνται εντός 3 μηνών από την ημερομηνία ανασύστασης.

## Παρατηρήσεις και προτάσεις

### Υψηλό υπόβαθρο

- α) Ατελής πλύση της πλάκας Πλύνετε την πλάκα τουλάχιστον 6 φορές με 400 μl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης ανά βύθισμα. Ενδέχεται να απαιτούνται περισσότεροι από 6 κύκλοι πλύσης. Συνιστάται η εκτέλεση διαβροχής διάρκειας 5 δευτερολέπτων τουλάχιστον μεταξύ των κύκλων.
- β) Πολύ υψηλή θερμοκρασία επώασης Η επώαση του ELISA θα πρέπει να εκτελείται σε θερμοκρασία δωματίου ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).
- γ) Το κιτ ή τα συστατικά του έχουν λήξει Βεβαιωθείτε ότι το κιτ χρησιμοποιείται πριν από την ημερομηνία λήξης. Βεβαιωθείτε ότι το ανασυσταθέν πρότυπο και το συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x χρησιμοποιούνται εντός τριών μηνών από την ημερομηνία ανασύστασης.
- δ) Το διάλυμα υποστρώματος-ενζύμου είναι ακάθαρτο Απορρίψτε το υπόστρωμα εάν παρουσιάζει μπλε χρωματισμό. Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιούνται καθαρά δοχεία αντιδραστηρίων.

### Μη γραμμική πρότυπη καμπύλη και μεταβλητότητα επαναλήψεων

- α) Ατελής πλύση της πλάκας Πλύνετε την πλάκα τουλάχιστον 6 φορές με 400 μl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης ανά βύθισμα. Ενδέχεται να απαιτούνται περισσότεροι από 6 κύκλοι πλύσης. Συνιστάται η εκτέλεση διαβροχής διάρκειας 5 δευτερολέπτων τουλάχιστον μεταξύ των κύκλων.
- β) Σφάλμα αραιώσης προτύπου Βεβαιωθείτε ότι οι αραιώσεις του προτύπου παρασκευάζονται σωστά, σύμφωνα με αυτές τις Οδηγίες χρήσης.
- γ) Κακή ανάμειξη Αναμείξτε σχολαστικά τα αντιδραστήρια με αναστροφή ή μαλακή περιδίνηση προτού τα προσθέσετε στην πλάκα.

## Παρατηρήσεις και προτάσεις

---

- δ) Ανομοιόμορφη τεχνική αναρρόφησης με πιπέτα ή διακοπή κατά την προετοιμασία του προσδιορισμού
- Η προσθήκη δειγμάτων και προτύπων θα πρέπει να γίνεται με συνεχή τρόπο. Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να παρασκευάζονται πριν από την έναρξη του προσδιορισμού.

# Σύμβολα

Τα παρακάτω σύμβολα εμφανίζονται στις οδηγίες χρήσης ή στη συσκευασία και την επισήμανση:

## Σύμβολο

## Ορισμός συμβόλου



<N>

Περιέχει αντιδραστήρια που επαρκούν για <N> αντιδράσεις



Ημερομηνία λήξης



Το προϊόν πληροί τις απαιτήσεις του Ευρωπαϊκού Κανονισμού 2017/746 για τα in vitro διαγνωστικά ιατροτεχνολογικά προϊόντα.

EC

REP

Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος στην Ευρωπαϊκή Κοινότητα/ Ευρωπαϊκή Ένωση

IVD

In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν

REF

Αριθμός καταλόγου

LOT

Αριθμός παρτίδας

MAT

Αριθμός υλικού (δηλ. επισήμανση στοιχείου)

COMP

Συστατικά

CONT

Περιεχόμενα

NUM

Αριθμός

GTIN

Διεθνής κωδικός μονάδων εμπορίας

Rn

Η ένδειξη R αφορά την αναθεώρηση των οδηγιών χρήσης και n είναι ο αριθμός αναθεώρησης



Περιορισμός θερμοκρασίας



## Σύμβολο

## Ορισμός συμβόλου



Κατασκευαστής



Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης



Φυλάσσεται προστατευμένο από το φως



Προειδοποίηση/προσοχή ή Συστάσεις προσοχής, συμβουλευτείτε τα συνοδευτικά έγγραφα

An in vitro diagnostic test using a peptide cocktail simulating ESAT-6 and CFP-10 proteins to stimulate cells in heparinized whole blood.

Μια in vitro διαγνωστική δοκιμασία που χρησιμοποιεί ένα μείγμα πεπτιδίων το οποίο μιμείται τις πρωτεΐνες ESAT-6 και CFP-10, προκειμένου να διεγείρει κύτταρα ηπαρινισμένου ολικού αίματος



Περιέχει βιολογικό υλικό ζωικής προέλευσης



Περιέχει βιολογικό υλικό ανθρώπινης προέλευσης



Μοναδικό αναγνωριστικό συσκευής

## Σύμβολο

## Ορισμός συμβόλου

---

**tartrazine**

Περιέχει ταρτραζίνη

**sulfuric acid**

Περιέχει θειικό οξύ

# Παράρτημα Α: Τεχνικές πληροφορίες

## Απροσδιόριστα αποτελέσματα

Η λήψη απροσδιόριστων αποτελεσμάτων είναι σπάνια και ενδέχεται να οφείλεται στην κατάσταση ανοσίας του υπό δοκιμασία ατόμου (5), αλλά μπορεί να συνδέεται και με μια σειρά τεχνικών παραγόντων (π.χ. ακατάλληλος χειρισμός/αποθήκευση σωληναρίων αιμοληψίας, ατελής πλήση πλακών ELISA) σε περίπτωση που δεν τηρηθούν οι παραπάνω οδηγίες χρήσης.

Εάν υποψιάζεστε τεχνικά προβλήματα κατά τη φύλαξη των αντιδραστηρίων, την αιμοληψία ή τον χειρισμό των δειγμάτων αίματος, επαναλάβετε ολόκληρη τη δοκιμασία QFT-Plus με νέο δείγμα αίματος. Μπορείτε να επαναλάβετε τη δοκιμασία ELISA σε διεγερμένα δείγματα πλάσματος εάν υποψιάζεστε ανεπαρκή πλήση ή άλλη διαδικαστική απόκλιση στη δοκιμασία ELISA. Οι ιατροί μπορούν να επιλέξουν να λάβουν εκ νέου δείγμα ή να εκτελέσουν άλλες διαδικασίες ανάλογα με την περίπτωση.

## Θρομβωμένα δείγματα πλάσματος

Εάν σχηματιστούν θρόμβοι ινώδους κατά τη μακροχρόνια φύλαξη των δειγμάτων πλάσματος, φυγοκεντρίστε τα δείγματα ώστε να κατακρημνιστεί το θρομβωμένο υλικό και να διευκολυνθεί η αναρρόφηση του πλάσματος.

## Λιπαιμικά δείγματα πλάσματος

Θα πρέπει να επιδεικνύεται προσοχή κατά τη διανομή με πιπέτα λιπαιμικών δειγμάτων, καθώς οι λιπώδεις εναποθέσεις μπορούν να προκαλέσουν απόφραξη των ρυγχών της πιπέτας.

## Παράρτημα Β: Συνοπτική διαδικασία ανάλυσης ELISA

1. Αφήστε τα συστατικά του ELISA, εκτός του συμπυκνώματος συζευγμένου μορίου 100x, να ισορροπήσουν σε θερμοκρασία δωματίου επί 60 λεπτά τουλάχιστον.



2. Ανασυστήστε το πρότυπο του kit μέχρι μια συγκέντρωση 8,0 IU/ml με απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό. Παρασκευάστε τέσσερις (4) τυπικές αραιώσεις.



3. Ανασυστήστε το λυοφιλοποιημένο συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x με απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό.

4. Παρασκευάστε ένα διάλυμα εργασίας συζευγμένου μορίου σε πράσινο αραιωτικό και προσθέστε 50 μl σε όλα τα βυθίσματα.



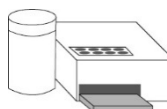
5. Προσθέστε 50 μl των εξεταζόμενων δειγμάτων πλάσματος και 50 μl προτύπων στα κατάλληλα βυθίσματα. Αναμείξτε με συσκευή ανακίνησης.



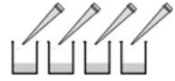
6. Επώαστε επί 120 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.



7. Πλύνετε τα βυθίσματα τουλάχιστον 6 φορές με 400 μl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης ανά βύθισμα.



8. Προσθέστε 100 μl διαλύματος υποστρώματος-ενζύμου στα βυθίσματα. Αναμείξτε με συσκευή ανακίνησης.



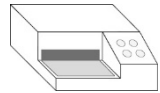
9. Επώαστε επί 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.



10. Προσθέστε 50 μl διαλύματος διακοπής ενζυμικής αντίδρασης στα βυθίσματα. Αναμείξτε με συσκευή ανακίνησης.



11. Διαβάστε τα αποτελέσματα στα 450 nm, με φίλτρο αναφοράς στα 620 έως 650 nm.



12. Αναλύστε τα αποτελέσματα.



# Πληροφορίες παραγγελίας

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. κατ.
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit	Κιτ ELISA 2 πλακών	622120
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Reference Lab Pack	Κιτ ELISA 20 πλακών	622822
<b>Related products</b>		
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes	200 σωληνάρια (50 για έκαστο εκ των Nil, TB1, TB2 και Mitogen)	622526
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 σωληνάρια (25 για έκαστο εκ των Nil, TB1, TB2 και Mitogen)	622423
QuantiFERON-TB Gold Plus Single Patient Pack	40 σωληνάρια (1 για έκαστο εκ των Nil, TB1, TB2 και Mitogen/ συσκευασία), συσκευασία των 10	622222
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes	200 σωληνάρια (50 για έκαστο εκ των Nil, TB1, TB2 και Mitogen)	623526
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 σωληνάρια (50 για έκαστο εκ των Nil, TB1, TB2 και Mitogen)	623423
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Single Patient Pack	40 σωληνάρια (1 για έκαστο εκ των Nil, TB1, TB2 και Mitogen/ συσκευασία), συσκευασία των 10	623222

Για ενημερωμένες πληροφορίες σχετικά με τις άδειες χρήσης και για δηλώσεις αποποίησης ευθύνης σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, βλ. τις οδηγίες χρήσης του αντίστοιχου kit της QIAGEN. Οι οδηγίες χρήσης των kit της QIAGEN διατίθενται στη διεύθυνση [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Μπορείτε επίσης να τις ζητήσετε από το τμήμα τεχνικής εξυπηρέτησης της QIAGEN ή τον τοπικό σας αντιπρόσωπο.

# Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου

Ημερομηνία	Αλλαγές
R2, Ιούνιος 2021	<p>Συμπεριλήφθηκαν πληροφορίες σχετικά με τη συσκευασία για έναν ασθενή</p> <p>Αναθεωρήθηκαν οι Πίνακες 10 και 11 για να γίνει διάκριση μεταξύ των δεδομένων QFT-GIT έναντι των δεδομένων QFT-Plus</p> <p>Ενημερώθηκε η ενότητα «Περιγραφή και αρχή λειτουργίας» για να προστεθούν πληροφορίες σχετικά με τον υπό δοκιμασία πληθυσμό και το εύρος μέτρησης</p> <p>Προστέθηκε ο Πίνακας 9 για να συμπεριληφθούν δεδομένα σχετικά με την αναλογία πιθανοτήτων του QFT-Plus</p>
R3, Οκτώβριος 2021	<p>Έγινε επαναφορά του αριθμού καταλόγου στους αρχικούς αριθμούς καταλόγου</p> <p>Προστέθηκε η δήλωση περί μίας χρήσης για τις σειρές μικροπλάκας στην ενότητα «Περιεχόμενα του κιτ»</p>
R4, Μάρτιος 2023	Διορθώσεις μορφοποίησης



Η σελίδα αυτή είναι σκόπιμα κενή

#### **Άδεια περιορισμένης χρήσης για τη δοκιμασία QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit**

Η χρήση αυτού του προϊόντος συνεπάγεται την αποδοχή εκ μέρους του αγοραστή ή του χρήστη του προϊόντος των παρακάτω όρων:

1. Το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποκλειστικά όπως ορίζεται στα πρωτόκολλα που παρέχονται μαζί με το προϊόν και όπως ορίζεται σε αυτές τις οδηγίες χρήσης με τα συστατικά που περιλαμβάνονται στο σετ. Η QIAGEN δεν παρέχει άδεια χρήσης υπό οποιαδήποτε πνευματική ιδιοκτησία της για τη χρήση ή ενσωμάτωση των παρεχόμενων συστατικών αυτού του σετ σε οποιαδήποτε στοιχεία που δεν περιλαμβάνονται σε αυτό το σετ, παρά μόνον όπως περιγράφεται στα πρωτόκολλα που παρέχονται μαζί με το προϊόν, σε αυτές τις οδηγίες χρήσης και τα συμπληρωματικά πρωτόκολλα που διατίθενται στη διεύθυνση [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Ορισμένα από αυτά τα επιπλέον πρωτόκολλα έχουν παρασχεθεί από χρήστες της QIAGEN για χρήστες της QIAGEN. Αυτά τα πρωτόκολλα δεν έχουν ελεγχθεί διεξοδικά ή βελτιστοποιηθεί από την QIAGEN. Η QIAGEN δεν παρέχει εγγυήσεις για αυτά και δεν παρέχει καμία διασφάλιση ότι δεν παραβιάζουν δικαιώματα τρίτων.
2. Εκτός από τις άδειες που αναφέρονται ρητά, η QIAGEN δεν εγγυάται ότι αυτό το σετ ή/και η χρήση(εις) του δεν παραβιάζουν δικαιώματα τρίτων.
3. Αυτό το σετ και τα συστατικά του παραχωρούνται με άδεια για μία μόνο χρήση και δεν επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση, η επανεπεξεργασία, η ανακατασκευή ή η μεταπώλησή τους.
4. Η QIAGEN αποποιείται ειδικά κάθε άλλη άδεια, ρητή ή σιωπηρή, εκτός από αυτές που αναφέρονται ρητά.
5. Ο αγοραστής και ο χρήστης του σετ συμφωνούν να μην προβούν και να μην επιτρέψουν σε άλλο πρόσωπο να προβεί σε ενέργειες οι οποίες θα μπορούσαν να προκαλέσουν ή να διευκολύνουν τυχόν ενέργειες που απαγορεύονται σύμφωνα με τα προαναφερθέντα. Η QIAGEN διατηρεί το δικαίωμα να επιβάλει τις απαγορεύσεις της παρούσας Συμφωνίας άδειας περιορισμένης χρήσης σε οποιοδήποτε δικαστήριο και πρέπει να αποζημιώνεται για όλες τις ερευνητικές και δικαστικές δαπάνες της, συμπεριλαμβανομένων των δικηγορικών αμοιβών, στο πλαίσιο οποιασδήποτε ενέργειας για την επιβολή της παρούσας Συμφωνίας άδειας περιορισμένης χρήσης ή οποιοδήποτε εκ των δικαιωμάτων πνευματικής της ιδιοκτησίας σχετικά με το σετ ή/και τα συστατικά του.

Για τους ενημερωμένους όρους της άδειας, βλ. [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (Όμιλος QIAGEN), Proclin®, Οι καταχωρισμένες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα, κ.λπ., που χρησιμοποιούνται στο παρόν έγγραφο, δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευόμενα από τον νόμο, ακόμα και αν αυτό δεν υποδεικνύεται ρητώς.

03/2023 L1123669 1123669EL © 2023 QIAGEN, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.

Παραγγελίες [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Τεχνική υποστήριξη [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) |  
Ιστότοπος [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)