



Березень 2023 р.

Інструкції з використання набору реагентів КвантіФЕРОН-ТБ Голд Плюс ЕЛІСА Кіт (QuantіFERON[®]-ТБ Gold Plus ELISA Kit)



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Версія 1



Для діагностики in vitro

Для використання з пробірками для забору крові КвантіФЕРОН-ТБ Голд Плюс (QuantіFERON[®]-ТБ Gold Plus)



622120, 622822



КАЙДЖЕН ГмБХ, вул. КАЙДЖЕН 1, 40724, Хільден, Німеччина
QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, GERMANY

Уповноважений представник в Україні:

ТОВ «КРАТІЯ МЕДТЕХНІКА»,
вул. Багговутівська, буд.17-21, м. Київ, 04107, Україна.
Тел.: 0 800 21-52-32

Електронна пошта: uarep@cratia.ua



1123669UK



UA.TR.116

Вміст

Цільове призначення.....	5
Цільовий користувач.....	5
Опис і принцип роботи	6
Інформація про патоген	6
Короткий огляд і пояснювальна інформація.....	7
Принципи аналізу	10
Матеріали в комплекті.....	12
Комплектація набору.....	12
Компоненти набору	13
Платформа та програмне забезпечення	13
Потрібні матеріали, що не входять у комплект	14
Додаткові реагенти.....	14
Витратні матеріали.....	14
Обладнання	14
Попередження й запобіжні заходи	16
Техніка безпеки.....	16
Контакти для зв'язку в разі надзвичайної ситуації	17
Запобіжні заходи	18
Зберігання та обробка реагентів	20
Стабільність під час використання.....	20
Відновлені й невикористані реагенти.....	20
Зберігання та обробка зразків	21

Протокол: проведення аналізу ELISA	22
Результати (розрахунки)	28
Побудова стандартної кривої та значення зразків	28
Контроль якості тесту	30
Інтерпретація результатів	32
Обмеження	34
Робочі характеристики	35
Клінічні дослідження	35
Чутливість	38
Очікувані значення	45
Короткий огляд даних про безпеку та ефективність	51
Робочі характеристики аналізу	52
Аналітичні показники	52
Утилізація	66
Список літератури	67
Посібник з усунення несправностей	69
Символи	72
Додаток А. Технічна інформація	75
Невизначені результати	75
Зразки плазми зі згустками	75
Зразки плазми з ліпемією	75
Додаток Б. Скорочений опис процедури тесту ELISA	76
Інформація для замовлення	78
Історія змін документа	80

Цільове призначення

Аналіз КвантіФЕРОН-ТБ Голд Плюс (КФТ-Плюс) (QuantIFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus)) – це діагностичний тест *in vitro*, що використовує суміш пептидів, яка імітує протеїни ESAT-6 і CFP-10 для стимуляції клітин цільної гепаринізованої крові. Визначення інтерферону- γ (ІФН- γ) шляхом твердофазного імуноферментного аналізу (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) проводять для встановлення *in vitro* відповіді на ці пептидні антигени, що пов'язані з інфекцією *Mycobacterium tuberculosis*.

КФТ-Плюс (QFT-Plus) – це непрямий тест для визначення інфекції *M. tuberculosis* (включно із захворюванням), який призначений для використання разом з оцінкою ризиків, рентгенографією та іншими медико-діагностичними дослідженнями.

Цільовий користувач

Цей набір призначено для професійного використання.

Аналіз КвантіФЕРОН-ТБ Голд Плюс (КФТ-Плюс) (QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)) призначений для використання кваліфікованим персоналом у лабораторних умовах.

Опис і принцип роботи

Інформація про патоген

Туберкульоз – це інфекційне захворювання, спричинене інфікуванням групою мікроорганізмів *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. Africanum*, *M. microti*, *M. Canetti* та *M. caprae*), що зазвичай переносяться повітряно-крапельним шляхом від пацієнтів із туберкульозом легенів. Новоінфікований пацієнт може захворіти на туберкульоз протягом кількох тижнів або місяців, але більшість інфікованих людей не мають симптомів захворювання. Латентна форма туберкульозної інфекції (Latent Tuberculosis Infection, LTBI), що є неінфекційним безсимптомним станом, у деяких пацієнтів продовжує зберігатися й може перейти в захворювання на туберкульоз кілька місяців або років потому. Основною задачею діагностування LTBI є прийняття рішення щодо надання медичної допомоги для запобігання захворювання на туберкульоз. Упродовж понад 100 років туберкулінова шкірна проба (Tuberculin Skin Test, TST) залишалася єдиним доступним методом для діагностування LTBI (4). Шкірна чутливість до туберкуліну розвивається впродовж 2–10 тижнів після інфікування. Проте в деяких інфікованих пацієнтів (включно з тими, у кого імунну функцію пригнічено через низку станів) відсутня реакція на туберкулін. Навпаки, деякі пацієнти з малою ймовірністю інфікування *M. tuberculosis* виявляють чутливість до туберкуліну й мають позитивні результати TST після вакцинації бацилою Кальмета – Герена (БЦЖ) або інфікування мікобактеріями, відмінними від комплексу *M. tuberculosis*, або ж через інші невизначені фактори.

Не слід плутати LTBI із захворюванням на туберкульоз – станом, що підлягає реєстрації і зазвичай вражає легені та нижні дихальні шляхи, але також може вражати й інші системи органів. Захворювання на туберкульоз діагностують на основі даних про перенесені захворювання, фізичних показників, результатів рентгенологічних та мікобактеріологічних досліджень.

Короткий огляд і пояснювальна інформація

Тест КвантіФЕРОН-ТБ Голд Плюс (КФТ-Плюс) (QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)) – це технологія КвантіФЕРОН (QuantIFERON) четвертого покоління для діагностики туберкульозу, яка використовується для оцінки клітинно-опосередкованої імунної відповіді шляхом кількісного вимірювання рівня ІФН- γ у зразку цільної крові. КФТ-Плюс (QFT-Plus) – це якісний тест для оцінки клітинно-опосередкованої імунної (cell-mediated immune, CMI) відповіді на пептидні антигени, що імітують мікобактеріальні протеїни. Ці протеїни, а саме ESAT-6 і CFP-10, відсутні в усіх штаммах БЦЖ та в більшості нетуберкульозних мікобактерій за винятком *M. kansasii*, *M. szulgai* та *M. marinum* (1). Кров пацієнтів, уражених мікроорганізмами комплексу *M. tuberculosis*, зазвичай містить лімфоцити, що визначають ці й інші мікобактеріальні антигени. Цей процес розпізнавання включає утворення й секрецію цитокіну, ІФН- γ . Виявлення та подальше кількісне визначення ІФН- γ є основою цього тесту.

Туберкулінові шкірні проби й гама-інтерферонові тести є корисними, однак недостатніми інструментами для діагностування комплексної інфекції *M. tuberculosis* у хворих пацієнтів – позитивний результат підтверджує діагноз захворювання на туберкульоз, однак позитивні результати можуть бути отримані й у разі інфікування іншими мікобактеріями (наприклад, *M. kansasii*). Для підтвердження або спростування діагнозу захворювання на туберкульоз потрібні також інші медико-діагностичні дослідження.

Антигени, що застосовуються в аналізі КФТ-Плюс (QFT-Plus), є сумішшю пептидів, що імітують протеїни ESAT-6 і CFP-10. Численні дослідження демонструють, що ці пептидні антигени стимулюють відповіді протеїнів ІФН- γ у Т-клітинах у пацієнтів, інфікованих мікроорганізмами *M. tuberculosis*, але зазвичай не в тих, що не є інфікованими, мають щеплення БЦЖ без захворювання або без ризику мати LTBI (1, 2, 6, 9). Однак медикаментозне лікування або розлади здоров'я, які погіршують імунну функцію, можуть потенційно послабляти відповідь ІФН- γ . Пацієнти з певними іншими мікобактеріальними інфекціями також можуть бути чутливими до ESAT-6 і CFP-10, оскільки гени, що кодують ці протеїни, присутні в *M. kansasii*, *M. Szulgai* та *M. marinum* (1, 3, 7).

Населення, у якого може проводитися діагностика туберкульозу за допомогою тесту КФТ-Плюс (QFT-Plus), охоплює пацієнтів із клінічно підтвердженим активним туберкульозом і з ризиком розвитку туберкульозної інфекції або латентною формою туберкульозної інфекції (Latent Tuberculosis Infection, LTBI). Жодних обмежень стосовно віку, статі чи інших характеристик не застосовується.

У разі інфікування мікобактерією туберкульозу (*Mycobacterium tuberculosis*, MTB) Т-клітини CD4⁺ відіграють вирішальну роль в імунологічному контролі шляхом секреції цитокіну ІФН- γ . Сучасні свідчення підтверджують роль участі Т-клітин CD8⁺ у захисті організму від MTB шляхом утворення ІФН- γ та інших розчинних факторів, які активують макрофаги для пригнічення росту MTB, вбивають інфіковані клітини або безпосередньо викликають лізис міжклітинних MTB. MTB-специфічні клітини CD8⁺, що виробляють ІФН- γ , виявлено в пацієнтів із латентною формою туберкульозної інфекції та із захворюванням на туберкульоз в активній фазі. Крім того, вважається, що специфічні щодо ESAT-6 і CFP-10 Т-лімфоцити CD8⁺ можна частіше виявити в пацієнтів із захворюванням на туберкульоз в активній фазі, ніж із LTBI, та їх присутність може бути пов'язана з нещодавнім контактом із джерелом інфекції MTB (8, 10–12). Крім того, MTB-специфічні Т-клітини CD8⁺, що виробляють ІФН- γ , також було виявлено в пацієнтів з активною формою туберкульозу та ВІЛ-інфекцією (13, 14) та в дітей молодшого віку із захворюванням на туберкульоз (15).

Аналіз КФТ-Плюс (QFT-Plus) містить дві окремі пробірки з антигенами туберкульозу (TB): пробірка з антигеном TB1 (TB1) і пробірка з антигеном TB2 (TB2). Обидві пробірки містять пептидні антигени, що входять до комплексно асоційованих антигенів MTB, ESAT-6 і CFP-10. Пробірки TB1 і TB2 містять пептиди від ESAT-6 і CFP-10, призначені для виклику СМІ реакції від лімфоцитів Т-хелперів CD4⁺; пробірки TB2 містять додатковий набір пептидів, призначених для визначення СМІ відповідей від цитотоксичних Т-лімфоцитів CD8⁺.

Фактори ризику інфікування *M. Tuberculosis* включають наявність захворювання в сімейному анамнезі, наявність медичних та епідеміологічних передумов для розвитку захворювання на туберкульоз або контакт із хворим на туберкульоз. Див. найновіші вказівки ВООЗ за посиланням <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment> для ознайомлення з докладними рекомендаціями щодо діагностування інфекції *M. tuberculosis* (включно із захворюванням) і відбору осіб для тестування (16). Аналіз КФТ-Плюс (QFT-Plus) випробовувався в декількох групах пацієнтів, яким було рекомендовано пройти скринінг щодо наявності туберкульозної інфекції відповідно до поточних вказівок ВООЗ (16). Зокрема, це були особи, які отримали позитивний результат аналізу на наявність вірусу імунодефіциту людини (ВІЛ), особи, які контактували з пацієнтами з нещодавно виявленим туберкульозом, а також особи, які мешкали в місцях скупчення дорослих людей із високим ризиком інфікування туберкульозом (5).

Принципи аналізу

Аналіз КФТ-Плюс (QFT-Plus) – це якісний аналіз, під час якого для забору цільної крові використовуються спеціальні пробірки для забору крові, що містять пептидні антигени, які імітують протеїни *M. Tuberculosis*. Інкубація зразків крові виконується в пробірках протягом періоду 16–24 годин, після чого збирають плазму й тестують її на наявність ІФН- γ , який виробляється у відповідь на пептидні антигени.

Спочатку цільну кров збирають у кожну з пробірок для забору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus), зокрема в пробірку з нульовим зразком, пробірку TB1, пробірку TB2 й пробірку з мітогеном. Також зразок крові можна зібрати в одну звичайну пробірку для забору крові, що містить гепарин літію або гепарин натрію як антикоагулянт, і після цього перенести в пробірки для забору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus).

Пробірки для забору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus) струшують, щоб змішати антиген із зразками крові, й інкубують за температури $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ якомога швидше протягом 16 годин після забору крові. Після періоду інкубації, що триває 16–24 годин, пробірки піддають центрифугуванню, обробляють плазму й вимірюють кількість ІФН- γ (МО/мл) за допомогою ELISA. Аналіз КФТ-Плюс ЕЛІСА (QFT-Plus ELISA) використовує як стандарт рекомбінантний ІФН- γ людини, який було проаналізовано, порівнюючи з еталонним препаратом ІФН- γ (код Національного інституту здоров'я (National Institutes of Health, NIH): Gxg01-902-535). Результати для зразків аналізу наведено в міжнародних одиницях на мілілітр (МО/мл) відносно стандартної кривої, побудованої за допомогою аналітичних розчинів стандарту, що міститься в наборі.

Відомо, що гетерофільні антитіла (наприклад, людські антитіла до антигенів мишей) у сироватці або плазмі крові певних пацієнтів можуть впливати на перебіг імунологічних аналізів. Вплив гетерофільних антитіл під час проведення аналізу КФТ-Плюс ЕЛІСА (QFT-Plus ELISA) зведено до мінімуму додаванням звичайної мишачої сироватки крові до зеленого розчинника та використанням фрагментів моноклональних антитіл F(ab')₂ як імобілізованого антитіла ІФН- γ , нанесеного на лунки мікропланшетів.

Результат аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) вважається позитивним щодо відповіді ІФН- γ , якщо значення для будь-якої з пробірок з антигеном ТВ значно перевищують значення ІФН- γ (МО/мл) для нульового зразка. Зразок плазми в пробірці з мітогеном грає роль позитивного контрольного зразка на ІФН- γ для всіх зразків, що тестуються. Слабка реакція на мітоген ($< 0,5$ МО/мл) свідчить про невизначений результат, якщо зразок крові також має негативну відповідь на антигени ТВ. Така ситуація може виникнути в разі нестачі лімфоцитів, їхньої зниженої активності через неправильну обробку зразків, заповнення/перемішування пробірки з мітогеном або нездатність лімфоцитів пацієнта виробляти ІФН- γ . Підвищений рівень ІФН- γ у нульовому зразку може проявитися в разі наявності гетерофільних антитіл або внутрішньої секреції ІФН- γ . Пробірка з нульовим зразком робить поправку на фон (наприклад, підвищений рівень ІФН- γ , що циркулює, або наявність гетерофільних антитіл). Значення рівня ІФН- γ у пробірці з нульовим зразком віднімають від значення рівня ІФН- γ для пробірок з антигеном ТВ та мітогеном. Діапазон вимірювання для аналізу КФТ-Плюс ЕЛІСА (QFT-Plus ELISA) становить до 10 МО/мл.

Матеріали в комплекті

Комплектація набору

Компоненти аналізу ELISA	Набір із 2 планшетами	Упаковка для метрологічної лабораторії
Номер за каталогом	622120	622822
Microplate strips (Стрипи мікропланшета) (12 x 8 лунок), вкриті мишачими моноклональними антитілами до ІФН-γ людини	2 набори стрипів мікропланшета, 12 x 8 лунок	20 наборів стрипів мікропланшета, 12 x 8 лунок
IFN-γ Standard (Стандарт ІФН-γ), ліофілізований (містить рекомбінантний ІФН-γ людини, бичачий казеїн, тімеросал 0,01 % (маса/об'єм))	1 флакон (8 МО/мл після відновлення)	10 флаконів (8 МО/мл після відновлення)
Green Diluent (Зелений розчинник) (містить бичачий казеїн, звичайну мишачу сироватку крові, тімеросал 0,01 % (маса/об'єм))	1 x 30 мл	10 x 30 мл
Conjugate 100x Concentrate (Концентрований кон'югат 100x), ліофілізований (мишачі антитіла до ІФН-γ людини з HRP (пероксидаза хрому), містить тімеросал 0,01 %)	1 x 0,3 мл (після відновлення)	10 x 0,3 мл (після відновлення)
Wash Buffer 20x Concentrate (Концентрований промивний буферний розчин 20x) (рН 7,2, містить 0,05 % (об./об.) ProClin® 300)	1 x 100 мл	10 x 100 мл
Enzyme Substrate Solution (Розчин ферментного субстрату) (містить H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5'-тетраметилбензидин)	1 x 30 мл	10 x 30 мл
Enzyme Stopping Solution (Стоп-розчин для ферментного субстрату) (містить 0,5 М H ₂ SO ₄)	1 x 15 мл	10 x 15 мл
<i>Інструкції з використання набору реагентів КвантіФЕРОН-ТБ Голд Плюс ЕЛІСА Kim (QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA Kit)</i>	1	1

Компоненти набору

Елементи керування й калібрувальні стандарти

Аналіз КФТ-Плюс ЕЛІСА (QFT-Plus ELISA) використовує як стандарт рекомбінантний ІФН-γ людини, який було проаналізовано, порівнюючи з еталонним препаратом ІФН-γ (код Національного інституту здоров'я (National Institutes of Health, NIH): Gxg01-902-535).

Платформа та програмне забезпечення

Програмне забезпечення для аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) є обов'язковим. Його можна використовувати для аналізу необроблених даних і розрахунку результатів. Його можна завантажити на сайті www.qiagen.com.

Потрібні матеріали, що не входять у комплект

Додаткові реагенти

- Пробірки для забору крові КвантіФЕРОН-ТБ Голд Плюс (QuantiFERON-TB Gold Plus)
- Деіонізована або дистильована вода, 2 літри

Витратні матеріали

- Кришка планшета для планшета на 96 лунок
- **Необов'язково:** мікропробірки об'ємом 1 мл із кришками в штативі на 96 лунок або мікропланшети з пластиковим ущільненням без покриття для зберігання плазми (22 пацієнти/штатив або планшет)
- Резервуари для реагентів

Обладнання*

- Інкубатор з підтримкою температури $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (з CO_2 або без нього)
- Відкалібровані піпетки змінного об'єму 10–1000 мкл з одноразовими наконечниками
- Відкалібрована багатоканальна піпетка з об'ємом 50 мкл та 100 мкл з одноразовими наконечниками
- Шейкер для мікропланшетів із підтримкою швидкості 500–1000 об./хв
- Пристрій для промивання мікропланшетів (для забезпечення безпеки під час роботи зі зразками плазми рекомендується використовувати автоматичний пристрій для промивання планшетів)

* Перед використанням необхідно переконаватися, що всі прилади перевірено та відкалібровано відповідно до рекомендацій виробника.

- Пристрій для зчитування мікропланшетів у комплекті з фільтром 450 нм та еталонним фільтром від 620 до 650 нм
- Вихровий змішувач із контролем швидкості
- Центрифуга, здатна центрифугувати пробірки для забору крові за відносної відцентрової сили принаймні 3000 (g)
- Градуйований циліндр, 1 л або 2 л

Попередження й запобіжні заходи

Зверніть увагу, що вам може бути необхідно ознайомитися з місцевими нормативними вимогами щодо повідомлення про серйозні інциденти, які сталися стосовно пристрою, виробника та/або його вповноваженого представника, а також регуляторний орган у країні проживання користувача та/або пацієнта.

Для діагностики *in vitro*.

Техніка безпеки

Під час роботи з хімічними речовинами завжди вдягайте лабораторний халат, одноразові рукавички та захисні окуляри. Для отримання детальнішої інформації див. відповідні паспорти безпеки матеріалів. Вони доступні в Інтернеті в зручному та компактному форматі PDF на сайті www.qiagen.com/safety, де ви можете знайти, переглянути й роздрукувати паспорт для кожного комплекту та компонента QIAGEN.

- Зразки та проби є потенційно інфекційними. Утилізуйте зразки та відходи аналізу відповідно до місцевих правил безпеки.
- Негативний результат аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) не виключає можливості інфікування *M. tuberculosis* або захворювання на туберкульоз: хибно негативні результати можуть бути спричинені певною стадією розвитку інфекції (наприклад, зразки було отримано перед розвитком клітинної імунної реакції), неправильним поводженням із пробірками для забору крові після проведення венепункції, неправильним виконанням аналізу або іншими окремими імунологічними змінними факторами, зокрема тими, що пов'язані з будь-якими супутніми захворюваннями. Гетерофільні антитіла або неспецифічна секреція ІФН- γ під дією інших запальних процесів можуть маскувати специфічні відповіді на пептиди ESAT-6 чи CFP-10.


- Позитивний результат аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) не повинен бути єдиною або визначальною підставою для встановлення інфікування *M. tuberculosis*. Неправильне виконання аналізу може призвести до хибно позитивних результатів аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus).
- Після отримання позитивного результату аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) необхідне подальше медичне дослідження для оцінювання захворювання на туберкульоз в активній фазі (наприклад, мазок на наявність кислотостійких бактерій та вирощування в поживному середовищі, рентгенографія легень).
- Хоча ESAT-6 і CFP-10 відсутні в усіх штаммах БЦЖ та в більшості відомих нетуберкульозних мікобактерій, позитивний результат аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) може бути спричинений інфікуванням *M. kansasii*, *M. szulgai* або *M. marinum*. Якщо існує підозра на наявність цих інфекцій, необхідно провести альтернативні тести.
- Хибно негативні результати аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) можуть бути отримані через неправильне взяття зразка крові або неналежне поводження зі зразком, унаслідок чого відбувається зміна функції лімфоцитів. Інформацію про належне поводження зі зразками крові наведено в розділі «Протокол: проведення аналізу ELISA» на сторінці 22. Несвоєчасна інкубація може призвести до отримання хибно негативних або невизначених результатів, а певні інші технічні параметри можуть впливати на спроможність виявлення значущої відповіді з боку ІФН-γ.

Контакти для зв'язку в разі надзвичайної ситуації

CHEMTREC

За межами США та Канади +1 703-527-3887

Запобіжні заходи

<p>ЗАСТЕРЕЖЕННЯ</p> 	<p>Усі зібрані зразки крові пацієнтів необхідно вважати потенційно інфекційними.</p> <p>Дотримуйтеся відповідних правил щодо поводження зі зразками крові. Утилізуйте зразки та матеріали, що мали контакт із кров'ю або продуктами на основі крові, відповідно до федеральних, державних та місцевих нормативних вимог.</p>
--	--

Стоп-розчин для ферментного субстрату КвантіФЕРОН (QuantIFERON)



Містить сульфатну кислоту. Попередження. Може спричинити корозію металів. Спричиняє подразнення шкіри. Спричиняє серйозне подразнення очей. Одягайте захисні рукавички, захисний одяг, засоби захисту очей і обличчя.

Розчин ферментного субстрату КвантіФЕРОН (QuantIFERON)

Попередження. Спричиняє легке подразнення шкіри. Одягайте захисні рукавички, захисний одяг, засоби захисту очей і обличчя.

Зелений розчинник КвантіФЕРОН (QuantIFERON)



Містить тартразин. Попередження. Може спричинити алергічну реакцію шкіри. Одягайте захисні рукавички, захисний одяг, засоби захисту очей і обличчя.

Концентрований промивний буферний розчин 20x, КвантіФЕРОН (QuantIFERON)

Шкідливий для морської флори та фауни з довготривалими наслідками. Уникайте викиду в навколишнє середовище.

Додаткова інформація

Паспорти безпеки: www.qiagen.com/safety

- У деяких реагентах аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) як консервант використовується тімеросал. Він може бути токсичним у разі ковтання, вдихання або контакту зі шкірою.
- Недотримання вказівок, наведених в інструкціях із використання аналізу *КвантіФЕРОН-ТБ Голд Плюс (КФТ-Плюс) (QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus))*, може призвести до отримання хибних результатів. Уважно ознайомтеся з інструкціями перед початком використання.
- Не застосовуйте набір, якщо будь-який із флаконів із реагентами має ознаки пошкодження або протікання до початку використання.
- **Важливо.** Огляньте флакони перед використанням. Не використовуйте флакони з кон'югатом або зі стандартом ІФН-γ, що мають ознаки пошкодження, або якщо було порушено цілісність гумової пломби. Не працюйте з розбитими флаконами. Дотримуйтеся належних заходів безпеки щодо безпечної утилізації флаконів. Для відкриття флаконів із кон'югатом або зі стандартом ІФН-γ рекомендується використовувати щипці для розтискання, щоб зменшити ризик поранення металевими обтискними кришками.
- Не змішуйте та не використовуйте стрипи мікропланшетів, стандарт ІФН-γ, зелений розчинник і концентрований кон'югат 100x із різних партій наборів КФТ-Плюс (QFT-Plus). Інші реагенти (концентрований промивний буферний розчин 20x, розчин ферментного субстрату й стоп-розчин для ферментного субстрату) можуть бути взаємозамінні між наборами за умови, що строк придатності реагентів не вийшов і дані щодо партії записано.
- Утилізуйте невикористані реагенти та біологічні зразки відповідно до місцевих, державних і федеральних нормативних вимог.
- Не використовуйте набір реагентів КФТ-Плюс ЕЛІСА Кіт (QFT-Plus ELISA Kit) після завершення терміну придатності.
- Завжди суворо дотримуйтеся стандартних лабораторних процедур.
- Переконайтеся, що лабораторне обладнання, зокрема пристрої для промивання та зчитування планшетів, відкалібровано та схвалено для використання.

Зберігання та обробка реагентів

Необхідно звернути увагу на терміни придатності та умови зберігання, указані на коробці й етикетках усіх компонентів. Не використовуйте компоненти, термін придатності яких завершився або які неправильно зберігалися.

Стабільність під час використання

- Набір ELISA потрібно зберігати за температури 2–8 °С.
- Розчин ферментного субстрату необхідно тримати в місці, захищеному від прямого сонячного світла.

Відновлені й невикористані реагенти

- Інструкції щодо відновлення реагентів див. в розділі «Протокол: проведення аналізу ELISA» на сторінці 22.
- Стандарт набору після відновлення можна зберігати протягом щонайбільше 3 місяців за температури 2–8 °С.

Занотуйте дату відновлення стандарту набору.

- Після відновлення концентрований кон'югат 100x необхідно повернути в місце зберігання за температури 2–8 °С та використати протягом 3 місяців.

Занотуйте дату відновлення кон'югату.

- Кон'югат робочої концентрації можна використовувати протягом 6 годин після приготування.
- Промивний буферний розчин робочої концентрації можна зберігати за кімнатної температури щонайдовше 2 тижні.
- Стрипи мікропланшета призначені виключно для одноразового використання. Невикористані стрипи можна вийняти з рамки планшета й зберегти для використання в майбутньому.

Зберігання та обробка зразків

Докладну інформацію про робочу процедуру забору крові під час тесту КФТ-Плюс (QFT-Plus) наведено в *Інструкціях із використання пробірок для забору крові КвантіФЕРОН-ТБ Голд Плюс (КФТ-Плюс) (QuantifERON-TB Gold Plus (QFT-Plus))* (1123668).

Протокол: проведення аналізу ELISA

Важливі моменти, на які потрібно звернути увагу перед початком роботи

Налаштування (час, необхідний для проведення аналізу)

- Щоб отримати дійсний результат аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus), оператор повинен виконувати окремі завдання протягом відведеного для них проміжку часу. Перш ніж використовувати аналіз, оператору рекомендується ретельно спланувати кожен етап аналізу так, щоб мати достатньо часу для реалізації кожного етапу. Нижче зазначено розрахований час; також наведено час тестування декількох зразків для пакетної обробки.
 - Приблизно 3 год для одного планшета ELISA
 - < 1 год роботи
 - Додати 10–15 хв на кожний додатковий планшет

Аналіз ELISA ІФН-γ

- Відомості про матеріали, необхідні для проведення аналізу ELISA, див. в розділах «Комплектація набору» на сторінці 12 і «Потрібні матеріали, що не входять у комплект» на сторінці 14.

Процедура

1. Усі зразки плазми та реагенти, за винятком концентрованого кон'югату 100x, перед використанням необхідно довести до кімнатної температури (22 ± 5 °C). Залиште їх принаймні на 60 хвилин для доведення до цієї температури.
2. Видаліть із рамки зайві стрипи планшетів ELISA, повторно запакуйте в герметичний мішечок із фольги та поверніть у холодильник для зберігання до наступного разу.

3. Залиште принаймні 1 стрип для стандартів аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) і достатню кількість стрипів відповідно до кількості пацієнтів, для яких виконується тестування (див. рис. 2 для ознайомлення з рекомендаціями щодо формату планшета). Після використання залиште рамку й кришку для застосування разом із рештою стрипів.
- 3а. Відновіть стандарт ІФН-γ за допомогою дистильованої або деіонізованої води в об'ємі, зазначеному на етикетці флакона. Перемішайте обережно, щоб мінімізувати піноутворення, та забезпечте повне розчинення вмісту флакона. Відновлення стандарту ІФН-γ людини до правильного об'єму призведе до утворення розчину з концентрацією 8,0 МО/мл.
- 3б. Використовуючи відновлений стандарт, приготуйте серію розчинів ІФН-γ у 4 концентраціях (див. рис. 1).
- 3с. Для побудови стандартної кривої використовуються такі концентрації ІФН-γ:
- S1 (Standard 1) містить 4,0 МО/мл;
 - S2 (Standard 2) містить 1,0 МО/мл;
 - S3 (Standard3) містить 0,25 МО/мл;
 - S4 (Standard 4) містить 0 МО/мл (лише зелений розчинник).
- 3д. Для стандартів необхідно виконувати принаймні два паралельні аналізи.
- 3е. Для кожного сеансу аналізу ELISA приготуйте свіже розведення стандартів набору.

Процедура

А	Наклейте етикетки на 4 пробірки: S1, S2, S3, S4
Б	Додайте 150 мкл GD до S1, S2, S3, S4
В	Додайте 150 мкл стандарту набору до S1 та ретельно перемішайте
Г	Перенесіть 50 мкл із S1 до S2 та ретельно перемішайте
Ґ	Перенесіть 50 мкл із S2 до S3 та ретельно перемішайте
Д	Сам лише GD слугує нульовим стандартом (S4)



Рис. 1. Приготування серії розчинів для побудови стандартної кривої.

4. Відновіть ліофілізований концентрований кон'югат 100x за допомогою 0,3 мл деіонізованої або дистильованої води. Перемішайте обережно, щоб мінімізувати піноутворення, та забезпечте повне розчинення вмісту флакона.
 - 4а. Кон'югат робочої концентрації готують шляхом розведення в зеленому розчиннику необхідної кількості відновленого концентрованого кон'югату 100x (таблиця 1).
 - 4б. Кон'югат робочої концентрації можна використовувати протягом 6 годин після приготування.
 - 4с. Відразу після використання поверніть невикористаний концентрований кон'югат 100x в місце зберігання з температурою 2–8 °С.

Таблиця 1. Приготування кон'югату (робоча концентрація)

Кількість стрипів	Об'єм кон'югату (концентрат 100х)	Об'єм зеленого розчинника
2	10 мкл	1,0 мл
3	15 мкл	1,5 мл
4	20 мкл	2,0 мл
5	25 мкл	2,5 мл
6	30 мкл	3,0 мл
7	35 мкл	3,5 мл
8	40 мкл	4,0 мл
9	45 мкл	4,5 мл
10	50 мкл	5,0 мл
11	55 мкл	5,5 мл
12	60 мкл	6,0 мл

5. Зразки плазми, зібрані з пробірок для забору крові, які в подальшому зберігалися (охолодженими або замороженими), необхідно ретельно перемішати перед додаванням у лунку ELISA. Зразки плазми можуть зберігатися в оброблених у центрифугі пробірках для забору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus) щонайбільше протягом 28 днів за температури 2–8 °С. Зібрані зразки плазми можуть зберігатися щонайбільше протягом 28 днів за температури 2–8 °С. Крім того, зібрані зразки плазми можуть зберігатися протягом довшого періоду часу за температури нижче –20 °С (бажано забезпечити температуру вище –70 °С). Зразки плазми можна завантажувати/використовувати на планшеті КФТ-Плюс ЕЛІСА (QFT-Plus ELISA) безпосередньо з пробірок для забору крові після центрифугування.

Важливо. Якщо зразки плазми потрібно перенести безпосередньо з пробірок для забору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus) після центрифугування, слід уникати будь-якого перемішування. Будьте обережні, щоб не зачепити матеріал на поверхні гелю.

6. Додайте 50 мкл щойно приготованого кон'югату робочої концентрації в кожну лунку планшета для аналізу ELISA.
7. Додайте 50 мкл тестового зразка плазми у відповідні лунки (див. рекомендовану схему планшетів ELISA на рис. 2).
8. Нарешті, додайте по 50 мкл кожного зі стандартів від 1 до 4 у відповідні лунки планшета (див. рекомендовану схему планшетів ELISA на рис. 2). Для стандартів потрібно виконати принаймні два паралельні аналізи.

	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
Б	1 TB1	3 TB1	5 TB1	7 TB1	9 TB1	S2	S2	13 TB1	15 TB1	17 TB1	19 TB1	21 TB1
В	1 TB2	3 TB2	5 TB2	7 TB2	9 TB2	S3	S3	13 TB2	15 TB2	17 TB2	19 TB2	21 TB2
Г	1 M	3 M	5 M	7 M	9 M	S4	S4	13 M	15 M	17 M	19 M	21 M
Г	2 N	4 N	6 N	8 N	10 N	11 N	12 N	14 N	16 N	18 N	20 N	22 N
Д	2 TB1	4 TB1	6 TB1	8 TB1	10 TB1	11 TB1	12 TB1	14 TB1	16 TB1	18 TB1	20 TB1	22 TB1
Е	2 TB2	4 TB2	6 TB2	8 TB2	10 TB2	11 TB2	12 TB2	14 TB2	16 TB2	18 TB2	20 TB2	22 TB2
Є	2 M	4 M	6 M	8 M	10 M	11 M	12 M	14 M	16 M	18 M	20 M	22 M

Рис. 2. Рекомендована схема планшетів ELISA. S1 (Standard 1), S2 (Standard 2), S3 (Standard 3), S4 (Standard 4). 1N (зразок 1. Плазма нульового контрольного зразка), 1 TB1 (зразок 1. Плазма TB1), 1 TB2 (зразок 1. Плазма TB2), 1M (зразок 1. Плазма з мітогеном).

9. Накрийте планшет ELISA й ретельно перемішайте кон'югат і зразків плазми / стандарти за допомогою шейкера для мікропланшетів протягом 1 хвилини зі швидкістю від 500 до 1000 об./хв. Уникайте розбризкування.
10. Накрийте планшет ELISA та інкубуйте за кімнатної температури (22 ± 5 °C) протягом 120 ± 5 хвилин. Уникайте потрапляння прямого сонячного світла на планшет ELISA під час інкубації. Відхилення від зазначених температурних діапазонів може призвести до отримання хибних результатів.
11. Під час інкубації планшета ELISA приготуйте промивний буферний розчин робочої концентрації. Розведіть одну частину концентрованого промивного буферного розчину 20x у 19 частинах деіонізованої або дистильованої води й ретельно перемішайте. Концентрований промивний буферний розчин 20x постачається в кількості, достатній для приготування 2 літрів промивного буферного розчину робочої концентрації.

12. Після завершення інкубації планшета ELISA промийте лунки планшета ELISA з використанням 400 мкл промивного буферного розчину робочої концентрації. Повторіть етап промивання принаймні 6 разів. Для роботи зі зразками плазми рекомендується використовувати автоматичний пристрій для промивання планшетів.

Для проведення аналізу дуже важливим є ретельне промивання. Переконайтеся, що під час кожного циклу промивання кожна лунку доверху заповнено промивним буферним розчином. Рекомендовано, щоб час замочування між циклами становив принаймні 5 секунд.

Для знезаражування потенційно інфікованого матеріалу необхідно додати в стічний резервуар стандартний лабораторний дезінфекційний засіб та дотримуватись установлених процедур.

13. Для видалення залишків промивного буферного розчину постукайте перевернутим планшетом ELISA по безворсовому вологопоглинальному рушнику. Додайте в кожна лунку 100 мкл розчину ферментного субстрату, накрийте планшет та ретельно перемішайте за допомогою шейкера для мікропланшетів протягом 1 хвилини зі швидкістю 500–1000 об./хв.
14. Накрийте планшет ELISA та інкубуйте за кімнатної температури (22 ± 5 °C) протягом 30 хвилин. Уникайте потрапляння прямого сонячного світла на планшет ELISA під час інкубації.
15. Після 30-хвилинної інкубації додайте 50 мкл стоп-розчину для ферментного субстрату, до кожної лунки планшета в такому самому порядку, як під час додавання субстрату, та ретельно перемішайте за допомогою шейкера для мікропланшетів зі швидкістю від 500 до 1000 об./хв.
16. Протягом 5 хвилин після зупинення реакції для лунок планшета ELISA виміряйте оптичну густину за допомогою пристрою для зчитування мікропланшетів, оснащеного фільтром 450 нм та еталонним фільтром 620–650 нм. Значення оптичної густини використовуються для розрахунку результатів.

Результати (розрахунки)

Програмне забезпечення для аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) можна використовувати для аналізу первинних даних і розрахунку результатів. Його можна завантажити за посиланням: www.qiagen.com. Обов'язково використовуйте найновішу версію програмного забезпечення для аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus).

Програмне забезпечення виконує оцінювання для контролю якості аналізу, буде стандартну криву й надає результат для кожного об'єкта тесту, як описано в розділі «Інтерпретація результатів» на сторінці 32. Програмне забезпечення позначає всі концентрації понад 10 МО/мл як «>10», оскільки ці значення виходять за межі валідованого лінійного діапазону, встановленого для аналізу ELISA.

Замість використання програмного забезпечення для аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) результати можна розраховувати наведеним нижче способом.

Побудова стандартної кривої та значення зразків

Якщо не використовується програмне забезпечення для аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus)

Якщо не використовується програмне забезпечення для аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus), для побудови стандартної кривої та визначення для зразків значень в МО/мл необхідно використовувати програму для роботи з електронними таблицями, як-от Microsoft® Excel®.

Використання програми для роботи з електронними таблицями

1. Визначте середні значення оптичної густини для паралельних аналізів зі стандартами набору на кожному планшеті.

2. Побудуйте стандартну криву в координатах $\log_{(e)} - \log_{(e)}$, на якій відобразатиметься залежність $\log_{(e)}$ середнього значення оптичної густини (вісь y) від $\log_{(e)}$ значення концентрації ІФН- γ для стандартів у МО/мл (вісь x) без урахування в розрахунках значення для нульового стандарту. За допомогою регресивного аналізу визначте лінію, що найкращим чином апроксимує стандартну криву.
3. Скористайтеся стандартною кривою для визначення концентрації ІФН- γ (МО/мл) для зразків плазми, що тестуються, за допомогою значення оптичної густини кожного зразка.
4. Ці розрахунки можна виконувати за допомогою пакетів програмного забезпечення, що надаються в комплекті з пристроями для зчитування мікропланшетів, а також стандартного програмного забезпечення для роботи з електронними таблицями або для статистичної обробки (наприклад, Microsoft Excel). Рекомендовано за допомогою цих пакетів проводити розрахунки регресивного аналізу, коефіцієнта варіації (%КВ) для стандартів та коефіцієнта кореляції (r) стандартної кривої.

Розрахунки для зразків

У разі отримання для стандартів значень оптичної густини, що вказані нижче, розрахунки з використанням $\log_{(e)}$ проводяться так, як це визначено в таблиці 2.

Таблиця 2. Стандартна крива

Стандарт	МО/мл	Значення оптичної густини, а та b	Середнє значення оптичної густини	%КВ	$\log_{(e)}$, МО/мл	$\log_{(e)}$, середнє значення (оптична густина)
Standard 1	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
Standard 2	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
Standard 3	0,25	0,114, 0,136	0,125	НЗ	-1,386	-2,079
Standard 4	0	0,034, 0,037	0,036	НЗ	НЗ	НЗ

Рівняння, що описує криву, виглядає таким чином: $y = 0,7885(X) - 0,9837$, де « m » = 0,7885 і « c » = -0,9837. Ці значення застосовуються в рівнянні $X = (Y-c)/m$ для обчислення значення X . З урахуванням стандартної кривої, розрахований коефіцієнт кореляції (r) = 1,000. НЗ: не застосовується.

Дійсність аналізу визначається на підставі критеріїв, що викладені в розділі «Контроль якості тесту» на сторінці 30.

Стандартна крива (таблиця 2) використовується для конвертації відповідей оптичної густини на антиген у міжнародні одиниці (МО/мл).

Таблиця 3. Розрахунки для зразків

Антиген	Значення оптичної густини	Log _(e) , значення оптичної густини	X	e ^X (МО/мл)	Антиген – нульовий зразок (МО/мл)
Нульовий зразок	0,037	-3,297	-2,934	0,05	–
ТВ1	1,161	0,149	1,437	4,21	4,16
ТВ2	1,356	0,305	1,634	5,12	5,07
Мітоген	1,783	0,578	1,981	7,25	7,20

Значення ІФН-γ (в МО/мл) для зразків ТВ1, ТВ2 та мітогену коригуються з урахуванням фону через віднімання значення в МО/мл, отриманого для відповідного контрольного нульового зразка. Ці кориговані значення використовуються для інтерпретації результатів тесту.

Контроль якості тесту

Точність результатів тесту залежить від побудови точної стандартної кривої. Таким чином, отримані для стандартів результати необхідно перевіряти до того, як можна буде інтерпретувати результати аналізу зразків.

Щоб результати аналізу ELISA вважалися дійсними, мають виконуватися наведені нижче умови.

- Середнє значення оптичної густини для стандарту 1 має бути $\geq 0,600$.
- Для значень у паралельних аналізах стандартів 1 і 2 значення %КВ має бути $\leq 15\%$.

- У паралельних аналізах значення оптичної густини для стандартів 3 й 4 не повинні відрізнятись від середнього значення більше ніж на 0,040 одиниці оптичної густини.
- Коефіцієнт кореляції (r), розрахований для середніх значень поглинання для стандартів, має бути $\geq 0,98$.
- Якщо не виконано вказані вище критерії, цикл вважається недійсним і його необхідно повторити.
- Середнє значення оптичної густини для нульового стандарту (зелений розчинник) має бути $\leq 0,150$. Якщо середнє значення оптичної густини $> 0,150$, необхідно переглянути процедуру промивання планшета.

Програмне забезпечення для аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) розраховує та відображає ці параметри контролю якості.

Кожна лабораторія визначає типи матеріалів для контролю та частоту проведення тестування відповідно до вимог місцевих, державних, федеральних або інших відповідних організацій, що займаються питаннями акредитації. Слід розглядати доцільність проведення зовнішніх оцінок якості та використання альтернативних процедур валідації.

Примітка. Після додавання рекомбінантного ІФН- γ у зразки плазми, що зберігалися за температури 2–8 °С та -20 °С, спостерігалось зменшення концентрацій, що становило до 50 %. Рекомбінантний ІФН- γ не рекомендується для підготовки контрольних стандартів.

Інтерпретація результатів

Результати аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) інтерпретують за допомогою наведених нижче критеріїв (таблиця 4).

Важливо. Під час інтерпретації результатів аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) для встановлення або спростування діагнозу захворювання на туберкульоз, а також оцінки ймовірності LTBI необхідно брати до уваги сукупність даних історії хвороби, а також епідеміологічних, медичних та діагностичних досліджень. Див. загальні вказівки щодо діагностування та лікування туберкульозу й LTBI:

<https://www.cdc.gov/tb/publications/guidelines/default.htm>

Таблиця 4. Інтерпретація результатів тесту КФТ-Плюс (QFT-Plus)

Нульовий зразок (МО/мл)	TB1 за вирахуванням нульового зразка (МО/мл)	TB2 за вирахуванням нульового зразка (МО/мл)	Мітоген за вирахуванням нульового зразка (МО/мл)*	Результати аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus)	Результат/інтерпретація
≤ 8,0	≥ 0,35 і ≥ 25 % нульового зразка	Будь-який	Будь-який	Позитивний [†]	Інфікування <i>M. tuberculosis</i> імовірне
	Будь-який	≥ 0,35 і ≥ 25 % нульового зразка			
	< 0,35 або ≥ 0,35 і < 25 % нульового зразка	< 0,35 або ≥ 0,35 і < 25 % нульового зразка	≥ 0,50	Негативний	Інфікування <i>M. Tuberculosis</i> МАЛОЙМОВІРНЕ
	< 0,35 або ≥ 0,35 і < 25 % нульового зразка	< 0,35 або ≥ 0,35 і < 25 % нульового зразка	< 0,50	Невизначений [‡]	Неможливо визначити ймовірність інфікування <i>M. tuberculosis</i>
> 8,0 [§]	Будь-який				

- * Відповіді на позитивний контрольний зразок мітогену (та в деяких випадках на антигени ТВ) можуть виходити за межі робочого діапазону пристрою для зчитування мікропланшетів. Це не впливає на результати тесту. Значення > 10 МО/мл у звіті програмного забезпечення КФТ-Плюс (QFT-Plus) зазначаються як > 10 МО/мл.
- † Якщо немає підозри на інфікування *M. tuberculosis*, первинні позитивні результати можна перевірити повторним тестуванням вихідних зразків плазми у двох паралельних аналізах КФТ-Плюс ЕЛІСА (QFT-Plus ELISA). Якщо повторний тест для одного або обох паралельних аналізів є позитивним, результат тесту вважається позитивним.
- ‡ Інформацію про можливі причини див. в розділі «Посібник з усунення несправностей» на сторінці 69.
- § У клінічних дослідженнях менше за 0,25 % пацієнтів мали рівень ІФН- γ > 8,0 МО/мл для значення нульового зразка.

Значення виміряного рівня ІФН- γ не може корелювати зі стадією або ступенем інфікування, рівнем імунної реактивності або ймовірністю прогресії активної форми захворювання. Позитивна відповідь на туберкульоз (ТВ) у пацієнтів, які мають негативну реакцію на мітоген, зустрічається рідко, але спостерігалася для пацієнтів із захворюванням на туберкульоз. Це свідчить про те, що відповідь ІФН- γ на антигени туберкульозу (ТВ) є сильнішою, ніж відповідь на мітоген, що є цілком можливим, оскільки рівень мітогену не стимулює утворення ІФН- γ лімфоцитами в повну силу.

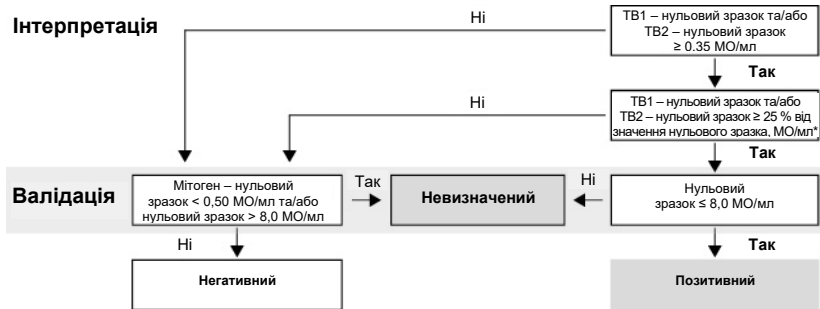


Рис. 3. Інтерпретація результатів тесту КФТ-Плюс (QFT-Plus). *Щоб значення ТВ1 за вирахуванням значення нульового зразка або ТВ2 за вирахуванням нульового зразка були дійсними, $\geq 25\%$ від значення нульового зразка (МО/мл) має бути отримано для тієї самої пробірки, що й вихідний результат $\geq 0,35$ МО/мл.

Обмеження

Результати тесту КФТ-Плюс (QFT-Plus) необхідно використовувати в поєднанні з історією епідеміологічних захворювань, поточним станом здоров'я та іншими даними діагностичних досліджень конкретного пацієнта.

Результати тестів пацієнтів зі значеннями нульового зразка, більшими за 8 МО/мл, вважаються «невизначеними», оскільки відповідь на антигени ТВ, більша на 25 %, може бути за межами діапазону вимірювання аналізу.

- Прогностична цінність позитивного результату аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) для діагностування інфекції *M. tuberculosis* залежить від імовірності виникнення інфекції, яка оцінюється на підставі даних анамнезу, а також епідеміологічних, діагностичних та інших даних.
- Для встановлення діагнозу LTBI необхідно виключити туберкульоз через медичну оцінку, зокрема оцінку результатів поточних медичних і діагностичних тестів, спрямованих на виявлення захворювання, згідно з показаннями.
- Негативний результат потрібно розглядати в разі отримання медичних даних та даних анамнезу, які вказують на ймовірність інфікування *M. tuberculosis* та потенційний ризик прогресування інфекції до туберкульозу, зокрема для осіб із порушеною імунною функцією.

Можливі причини ненадійних або невизначених результатів наведені нижче.

- Відхилення від процедури, описаної в інструкціях із використання.
- Неправильне транспортування зразків крові чи поводження з ними.
- Підвищені рівні ІФН- γ , що циркулює, або наявність гетерофільних антитіл.
- Перевищення валідованих часових проміжків між забором зразків крові та їх інкубуванням. Див. *Інструкції з використання пробірок для забору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus)* (1123668).

Робочі характеристики

Клінічні дослідження

Оскільки немає прийнятого стандартного тесту для підтвердження або виключення діагнозу LTBI, неможливо практично оцінити чутливість і специфічність аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus). Специфічність аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) приблизно визначали шляхом оцінювання частоти хибно позитивних результатів у пацієнтів із низьким ризиком (у яких немає відомих факторів ризику) інфікування туберкульозом. Чутливість приблизно визначали шляхом оцінювання груп досліджуваних пацієнтів з активною формою захворювання на туберкульоз, підтвердженою посівом бактерій. Крім того, оцінювали ефективність аналізу щодо частоти позитивних і негативних результатів у популяції здорових пацієнтів із визначеними факторами ризику інфікування туберкульозом (популяція зі змішаними ризиками).

Специфічність

У багатоцентровому дослідженні з оцінки клінічної специфічності аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) взяли участь 733 досліджувані пацієнти, які були кваліфіковані як такі, що мають низький ризик інфікування *M. tuberculosis* або не мають факторів ризику для контакту з джерелом інфекції чи хворою людиною. За допомогою стандартизованого опитування під час тестування було визначено демографічну інформацію та дані про фактори ризику стосовно контакту з джерелом інфікування туберкульозом. Дослідження проводилося в чотирьох незалежних дослідницьких центрах, один із яких розташований у США, два – в Японії і один – в Австралії. Тест КФТ-Плюс (QFT-Plus) було порівняно з тестом КвантіФЕРОН-ТБ Голд-ін-Т'юб (КФТ) (QuantIFERON-TB Gold-In-Tube (QFT)). Короткий огляд даних ефективності щодо клінічної специфічності з розподілом за дослідницькими центрами та регіонами наведено в таблиці 5. Результати ефективності охоплюють усі дійсні тести. Про жодні невизначені результати не повідомлялося.

Таблиця 5. Специфічність аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) у популяції з низьким ризиком

Дослідницький центр	N	Позитивний		Негативний		Невизначений		Специфічність (ДІ 95 %)	
		КФТ (QFT)	КФТ-Плюс (QFT-Plus)	КФТ (QFT)	КФТ-Плюс (QFT-Plus)	КФТ (QFT)	КФТ-Плюс (QFT-Plus)	КФТ (QFT)	КФТ-Плюс (QFT-Plus)
США									
(№ 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)
Японія									
(№ 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)
Усього в Японії	322	4	7	318	315	0	0	98,76 % (318/322) (96,85–99,52)	97,83 % (315/322) (95,6–98,9)
Австралія									
(№ 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)

Специфічність аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) склала 98,11 % у США, 97,83 % у Японії і 95,48 % в Австралії. Загальна специфічність аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) склала 97,27 % (713/733). Специфічність аналізу КФТ (QFT) склала 99,06 % у США, 98,76 % у Японії і 95,98 % в Австралії. Загальна специфічність аналізу КФТ (QFT) склала 98,09 % (719/733).

Розбиття результатів за типом пробірки з антигеном ТВ та комбінаціями цих пробірок представлено як приклад очікуваних результатів для популяції з низьким ризиком (таблиця 6).

Таблиця 6. Результати дослідження специфічності аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) за типом пробірки з антигеном ТВ

Інтерпретація виконана на підставі результатів для антигена ТВ й нульового зразка			КФТ-Плюс (QFT-Plus) (позитивні результати для ТВ1 та/або ТВ2)*	Узгоджені позитивні результати для ТВ1 і ТВ2 (альтернативний аналіз)†
	МО/мл у	ТВ1		
Позитивний	10	18	20	8
Негативний	723	715	713	725
Невизначений	0	0	0	0
Специфічність (ДІ 95 %)	–	–	97,3 % (713/733) (95,8–98,2)	–
Частота негативних результатів (95 % ДІ)	98,6 % (723/733) (97,5–99,3)	97,5 % (715/733) (96,2–98,4)	–	98,9 % (725/733) (97,9–99,5)

* Інтерпретація виконана на основі вимоги (антиген ТВ – значення для нульового зразка $\geq 0,35$ МО/мл) для обох пробірок (ТВ1 та ТВ2) або будь-якої з них для забезпечення відповідності критеріям інтерпретації результату аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) (ТВ1 або ТВ2) як позитивного.

† Альтернативний аналіз наведено лише для інформації.

3-поміж пацієнтів із низьким ризиком інфікування туберкульозом позитивний результат отримали загалом 20/733 пацієнтів. З них лише для 8 пацієнтів були значення $> 0,35$ МО/мл в обох пробірках ТВ1 і ТВ2. Порівняння аналізів КФТ (QFT) та КФТ-Плюс (QFT-Plus) було проведено в групі пацієнтів із низьким ризиком і показало узгодженість результатів на рівні 97,5 % (715/733) та загальний відсоток збігів негативних результатів на рівні 98,3 % (707/719).

Чутливість

Хоча немає прийнятого стандартного тесту для визначення LTBI, придатним заміником є посів бактерій *M. tuberculosis*, оскільки інфікування цими бактеріями є передвісником захворювання.

Багатоцентрове дослідження з оцінки клінічної чутливості аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) було проведене за участі 434 досліджуваних пацієнтів із типовими проявами й симптомами активної форми захворювання *M. tuberculosis*, що було підтверджено за результатами посіву бактерій та/або ПЛР-тесту. До моменту забору крові пацієнти не отримували протитуберкульозних препаратів або отримували їх упродовж ≤ 14 днів. Дослідження проводилося в 7 незалежних дослідницьких центрах, три з яких розташовано в США, три – в Японії і один – в Австралії. Тест КФТ-Плюс (QFT-Plus) було порівняно з тестом КвантіФЕРОН-ТБ Голд-ін-Т'юб (КФТ) (QuantiferON-TB Gold-In-Tube (QFT)). Короткий огляд даних ефективності щодо клінічної чутливості з розподілом за дослідницькими центрами й країнами наведено в таблиці 7. Результати ефективності охоплюють усі дійсні тести. Частота невизначених результатів для аналізів КФТ (QFT) і КФТ-Плюс (QFT-Plus) становила 2,3 % (10/434) і 2,5 % (11/434) відповідно.

Таблиця 7. Короткий огляд даних про клінічну чутливість із розподілом за дослідницькими центрами й країнами та сукупні результати

Дослідницький центр	N	Позитивний		Негативний		Невизначений		Чутливість (ДІ 95 %)	
		КФТ (QFT)	КФТ-Плюс (QFT-Plus)	КФТ (QFT)	КФТ-Плюс (QFT-Plus)	КФТ (QFT)	КФТ-Плюс (QFT-Plus)	КФТ (QFT)	КФТ-Плюс (QFT-Plus)
США									
(№ 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)
Всього в США	53	47	47	6	6	0	0	88,7 % (47/53) (77,4–94,7)	88,7 % (47/53) (77,4–94,7)
Японія									
(№ 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)

Продовження таблиці на наступній сторінці

Продовження таблиці з попередньої сторінки

Таблиця 7. Короткий огляд даних про клінічну чутливість із розподілом за дослідницькими центрами й країнами та сукупні результати

Дослідницький центр	N	Позитивний		Негативний		Невизначений		Чутливість (ДІ 95 %)	
		КФТ (QFT)	КФТ-Плюс (QFT-Plus)	КФТ (QFT)	КФТ-Плюс (QFT-Plus)	КФТ (QFT)	КФТ-Плюс (QFT-Plus)	КФТ (QFT)	КФТ-Плюс (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)
Усього в Японії	352	328	322	15	19	9	11	95,63 % (328/343) (92,91– 97,33)	94,43 % (322/341) (91,5– 96,4)
Австралія									
(№ 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)

Аналіз, представлений у таблиці вище, не включає невизначені результати.

Чутливість аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) склала 88,7 % у США, 94,43 % у Японії і 100,0 % в Австралії. Загальна чутливість аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) склала 94,09 % (398/423). Чутливість аналізу КФТ (QFT) склала 88,7 % у США, 95,63 % у Японії і 96,43 % в Австралії. Загальна чутливість аналізу КФТ (QFT) склала 94,81 % (402/424).

Розбиття результатів за типом пробірки з антигеном ТВ та комбінаціями цих пробірок представлено як приклад очікуваних результатів для популяції з підтвердженим інфікуванням туберкульозом (таблиця 8).

Таблиця 8. Результати дослідження чутливості аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) за типом пробірки з антигеном ТВ

Інтерпретація виконана на підставі результатів для антигена ТВ й нульового зразка в МО/мл	ТВ1	ТВ2	КФТ-Плюс (QFT-Plus) (позитивні результати для ТВ1 та/або ТВ2)
Позитивний	388	397	398
Негативний	32	26	25
Невизначений	14	11	11
Чутливість* (ДІ 95 %)	–	–	94 % (398/423) (91,4–96,0)
Частота позитивних результатів* (ДІ 95 %)	92,4 % (388/420) (89,4–94,6)	93,9 % (397/423) (91,1–95,8)	–

* Не враховуючи невизначені значення.

Порівняння аналізів КФТ (QFT) та КФТ-Плюс (QFT-Plus) було проведене в групі пацієнтів з активною формою туберкульозу, підтвердженою за результатами посіву бактерій (група досліджуваних пацієнтів для оцінки чутливості) і продемонструвало загальну узгодженість результатів 95,9 % та загальний відсоток збігів позитивних результатів 97,3 % (391/402).

Таблиця 9. Коефіцієнт імовірності для аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus)

Дослідницький центр*	Чутливість	Специфічність	LR+	LR-
Австралія	100,00 %	95,48 %	22,11	0,00
Японія	94,43 %	97,83 %	43,44	0,06
США	88,68 %	98,11 %	47,00	0,12

* Усього

Результати, отримані для пацієнтів із визначеними факторами ризику щодо інфікування МТВ (особи зі змішаним ризиком)

У групі із 601 особи зі змішаними факторами ризику щодо інфікування туберкульозом (наприклад, ВІЛ-позитивний статус, лікування від активної чи латентної форми туберкульозу в анамнезі, контакт з особою, хворою на активну форму туберкульозу, робота в медичній установі тощо) було оцінено обидва аналізи КФТ (QFT) і КФТ-Плюс (QFT-Plus). Фактори ризику були визначені за допомогою стандартизованого опитування. Станом на момент включення в дослідження в пацієнтів не було жодних симптомів, пов'язаних з активною формою туберкульозу. Демографічні дані та фактори ризику наведені в таблиці 10. У цій популяції 68/601 (11,3 %) пацієнтів мали позитивний результат аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus), а відсоток збігів позитивних результатів (Positive Percent Agreement, PPA) і відсоток збігів негативних результатів (Negative Percent Agreement, NPA) склали 98,44 % і 99,07 %, відповідно (таблиця 11). У цій групі із 68 пацієнтів, які мали позитивні результати аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus), загалом 62 пацієнти мали позитивні результати як для пробірки з антигеном TB1, так і для пробірки з антигеном TB2, 2 пацієнти мали позитивні результати лише для пробірки з антигеном TB1, і 4 пацієнти мали позитивні результати лише для пробірки з антигеном TB2. Не зафіксовано жодних невизначених результатів (0/601).

Таблиця 10. Демографічні дані та фактори, пов'язані з ризиком інфікування туберкульозом у змішаній групі

Загальна кількість пацієнтів (601)		Кількість	Відсоток
Стать	Чоловіки	539	89,7 %
	Жінки	62	10,3 %
Вік (роки)	Діапазон	18–70	–
	Середнє значення	46,7	–
Щеплення БЦЖ	Так	15	2,5 %
	Ні	586	97,5 %
ВІЛ-позитивний чи позитивний результат тесту на Т-лімфотропні віруси людини	Так	12	2,0 %
	Ні	589	98 %
Попередньо діагностовано активну форму туберкульозу	Так	11	1,8 %
	Ні	590	98,2 %
Позитивний результат туберкулінової шкірної проби (ТШП)/реакції Манту на туберкульоз	Так	47	7,8 %
	Ні	554	92,2 %
Колись було лікування від активної або латентної форми туберкульозу	Так	35	5,8 %
	Ні	566	94,2 %
Проживання, робота або волонтерство (> 1 місяця) у в'язниці	Так	373	62,1 %
	Ні	228	37,9 %
Проживання, робота або волонтерство (> 1 місяця) у притулку для людей без визначеного місця проживання	Так	525	87,4 %
	Ні	76	12,6 %
Медичний працівник	Так	8	1,3 %
	Ні	593	98,7 %
Тісний контакт із будь-ким, хто має активну форму туберкульозу або підозру на неї	Так	9	1,5 %
	Ні	592	98,5 %

Таблиця 11. Короткий огляд результатів аналізів КФТ-Плюс (QFT-Plus) і КФТ (QFT) у пацієнтів із відомими факторами ризику щодо латентного туберкульозу

		КФТ (QFT)		
		Позитивний (+)	Негативний (-)	Усього
КФТ-Плюс (QFT-Plus)	Позитивний (+)	63	5*	68
	Негативний (-)	1*	532	533
	Усього	64	537	601

*Рівні ІФН-γ у пробірках з антигеном ТВ в усіх 6 зразках, для яких були отримані неузгоджені результати, були близькі до граничного значення аналізу.

Відсоток збігів позитивних результатів (Positive Percent Agreement, PPA) і відсоток збігів негативних результатів (Negative Percent Agreement, NPA) для результатів аналізів КФТ (QFT) і КФТ-Плюс (QFT-Plus) були такими:

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

Наведена нижче таблиця 12 містить результати аналізів КФТ-Плюс (QFT-Plus) і КФТ (QFT), що були проведені в досліджуваних пацієнтів, які отримали щеплення БЦЖ.

Таблиця 12. Порівняння результатів аналізів КФТ-Плюс (QFT-Plus) і КФТ (QFT), що були проведені в досліджуваних пацієнтів, які отримали щеплення БЦЖ (комбіновані дані, отримані для досліджуваних пацієнтів, відібраних для оцінки чутливості й специфічності, а також у досліджуваних пацієнтів із LTBI)

		КФТ (QFT)		
		Позитивний (+)	Негативний (-)	Усього
КФТ-Плюс (QFT-Plus)	Позитивний (+)	66	5	71
	Негативний (-)	3	268	271
	Усього	69	273	342*

* Два пацієнти з дослідження чутливості були виключені з аналізу з огляду на невизначені результати

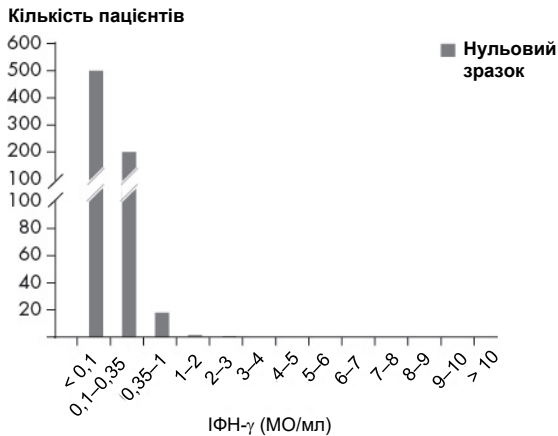
- PPA = 95,6 % (66/69), ДІ 95 % (87,98, 98,51)
- NPA = 98,2 % (268/273), ДІ 95 % (95,79, 99,22)

Очікувані значення

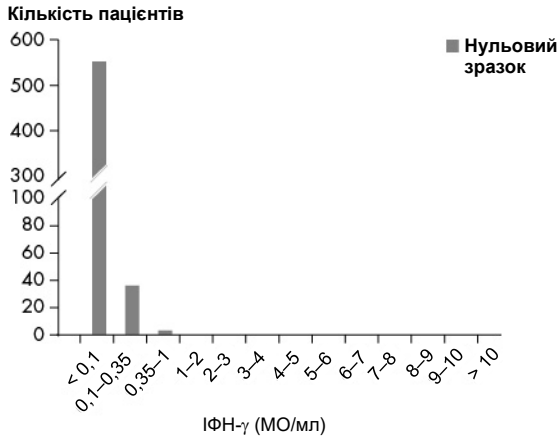
Розподіл спостережених відповідей за групами ризику

У клінічних дослідженнях спостерігався діапазон відповідей ІФН- γ на вміст пробірок ТВ1, ТВ2 та контрольних пробірок, розподілений за ризиком інфікування *M. tuberculosis* (рис. 4 – рис. 7). У змішану групу ризику потрапляють результати пацієнтів, що належать до загальної досліджуваної популяції, включно з пацієнтами з факторами ризику та без факторів ризику щодо контактів із джерелом інфікування туберкульозом, та для яких активна форма туберкульозу є малоімовірною (тобто LTBI).

А



Б



В

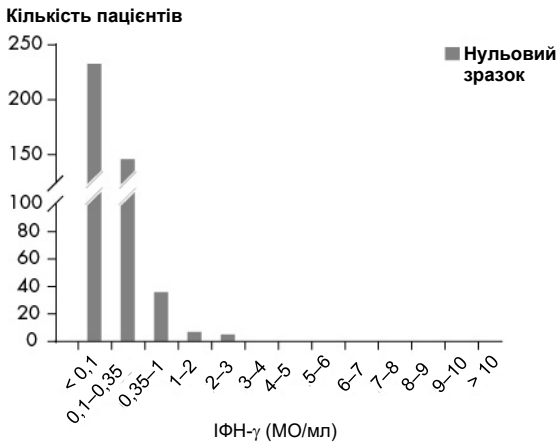
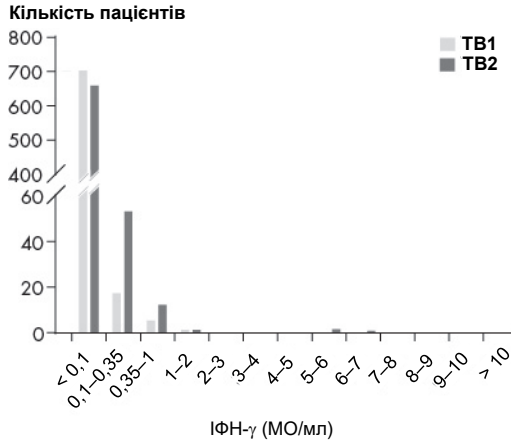
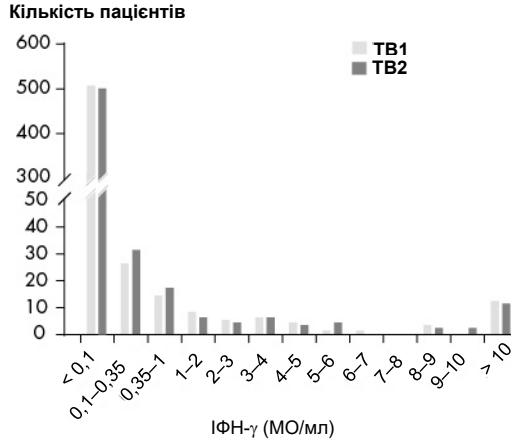


Рис. 4. Розподіл значень для нульового зразка. А – розподіл значень нульового зразка в популяції з низьким ризиком (n = 744). Б – розподіл значень нульового зразка в популяції зі змішаним ризиком (n = 601). В – розподіл значень нульового зразка в популяції з інфікуванням *M. tuberculosis*, підтвердженим бактеріальним посівом (n = 416).

А



Б



В

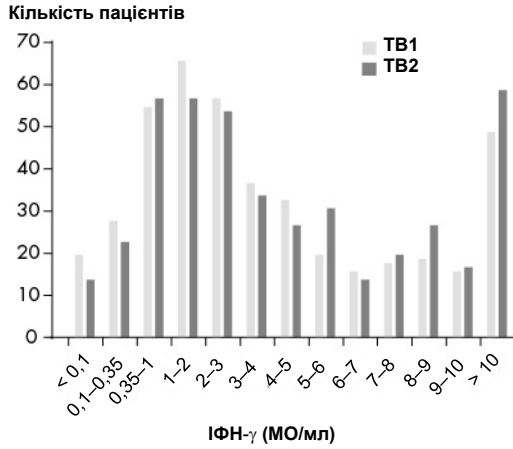
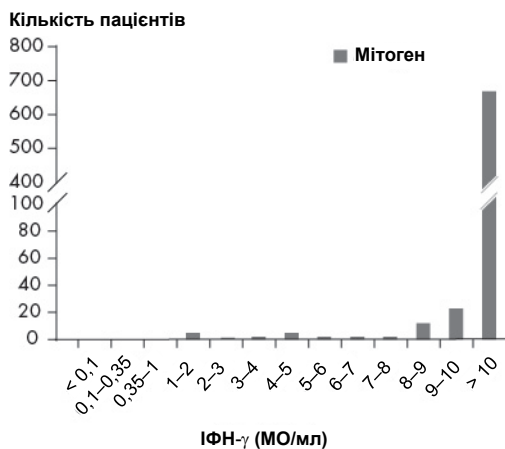
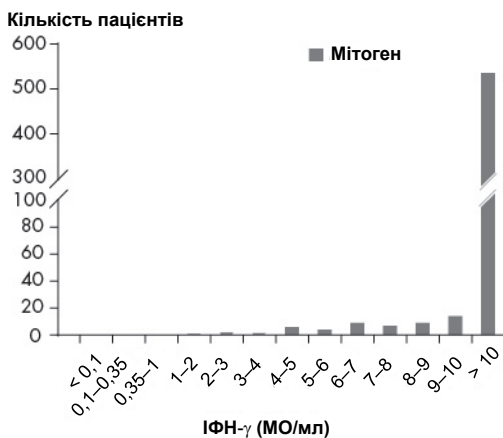


Рис. 5. Розподіл значень TB1 і TB2 (за вирахуванням нульового зразка). **А** – розподіл значень TB1 і TB2 (за вирахуванням нульового зразка) у популяції з низьким ризиком (n = 744). **Б** – розподіл значень TB1 і TB2 (за вирахуванням нульового зразка) у популяції зі змішаним ризиком (n = 601). **В** – розподіл значень TB1 і TB2 (за вирахуванням нульового зразка) у популяції з інфікуванням *M. tuberculosis*, підтвердженим бактеріальним посівом (n = 416).

А



Б



В

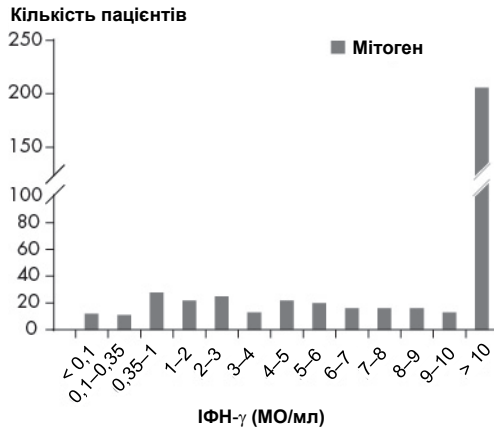


Рис. 6. Розподіл значень мітогену (за вирахуванням нульового зразка). **А** – розподіл значень мітогену (за вирахуванням нульового зразка) у популяції з низьким ризиком (n = 744). **Б** – розподіл значень мітогену (за вирахуванням нульового зразка) у популяції зі змішаним ризиком (n = 601). **В** – розподіл значень мітогену (за вирахуванням нульового зразка) у популяції з інфікуванням *M. tuberculosis*, підтвердженим бактеріальним посівом (n = 415).

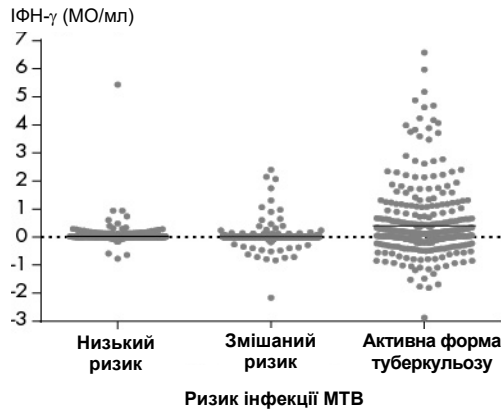


Рис. 7. Спостережена різниця між значеннями TB1 і TB2 (за вирахуванням нульового зразка) із розподілом за групами ризику. Включає дані, отримані в межах дослідження за участі групи зі змішаним ризиком, для демонстрації різниці між групами з низьким і змішаним ризиком та активною формою туберкульозу. Цей аналіз даних включав групу зі змішаним ризиком із відомими факторами ризику. Таким чином, у групі з низьким ризиком нараховувалося $n = 733$ пацієнти, у групі зі змішаним ризиком $n = 588$ пацієнтів, а в групі з активною формою туберкульозу $n = 357$ пацієнтів. Кількісна різниця в МО/мл для кожного пацієнта була отримана за допомогою вирахування значення TB1 зі значення TB2.

Короткий огляд даних про безпеку та ефективність

Короткий огляд даних про безпеку та ефективність наведено на вебсайті EUDAMED.

Робочі характеристики аналізу

Аналітичні показники

Граничне значення аналізу

Граничне значення аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) було визначене на основі даних 216 пацієнтів без визначених факторів ризику щодо контакту з хворим на туберкульоз, які отримали щеплення БЦЖ та вважалися неінфікованими, і даних 118 пацієнтів з інфекцією *M. tuberculosis*, підтвердженою за результатами бактеріального посіву. Дані про чутливість та специфічність були об'єднані й проаналізовані в межах аналізу кривої, що відображає інформацію про робочі характеристики приймача (Receiver Operator Characteristic, ROC). Дані про чутливість та специфічність, проаналізовані під час ROC-аналізу, продемонстрували, що оптимальним граничним значенням для ELISA було 0,35 МО/мл (див. рис. 8).

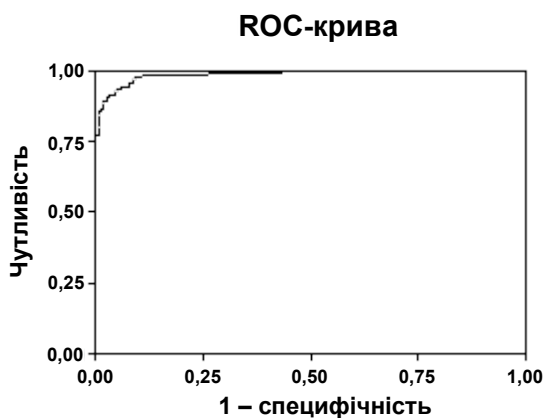


Рис. 8. ROC-крива для реакцій на ESAT-6 і CFP-10.

Таблиця 13. Значення чутливості та специфічності аналізу ELISA для різних граничних значень

Граничне значення МО/мл ІФН-γ	Чутливість %	ДІ 95 %	Специфічність %	ДІ 95 %	Чутливість + специфічність
0,20	91,53	84,97–95,86 %	96,31	92,87–98,40 %	187,84
0,23	91,53	84,97–95,86 %	96,77	93,47–98,69 %	188,30
0,26	90,68	83,93–95,25 %	96,77	93,47–98,69 %	187,45
0,28	90,68	83,93–95,25 %	97,24	94,08–98,98 %	187,92
0,30	89,83	82,91–94,63 %	97,24	94,08–98,98 %	187,07
0,31	88,98	81,90–94,00 %	97,24	94,08–98,98 %	186,22
0,33	88,98	81,90–94,00 %	97,70	94,71–99,25 %	186,68
0,35	88,98	81,90–94,00 %	98,16	95,35–99,50 %	187,14
0,39	88,14	80,90–93,36 %	98,16	95,35–99,50 %	186,3
0,42	87,29	79,90–92,71 %	98,16	95,35–99,50 %	185,45
0,43	86,44	78,92–92,05 %	98,16	95,35–99,50 %	184,6
0,45	86,44	78,92–92,05 %	98,62	96,01–99,71 %	185,06

Продовження таблиці на наступній сторінці

Продовження таблиці з попередньої сторінки

Таблиця 13. Значення чутливості та специфічності аналізу ELISA для різних граничних значень

Граничне значення МО/мл ІФН-γ	Чутливість %	ДІ 95 %	Специфічність %	ДІ 95 %	Чутливість + специфічність
0,47	85,59	77,94–91,38 %	99,08	96,71–99,89 %	184,67
0,48	84,75	76,97–90,70 %	99,08	96,71–99,89 %	183,83
0,50	83,90	76,00–90,02 %	99,08	96,71–99,89 %	182,98

Лінійність

Показано, що аналіз КФТ-Плюс ЕЛІСА (QFT-Plus ELISA) є лінійним, шляхом розміщення 5 паралельних аналізів з 11 пулів плазми відомих концентрацій ІФН-γ у довільному положенні на планшеті ELISA. Лінія лінійної регресії має нахил $1,002 \pm 0,011$ і коефіцієнт кореляції 0,99 (рис. 9).

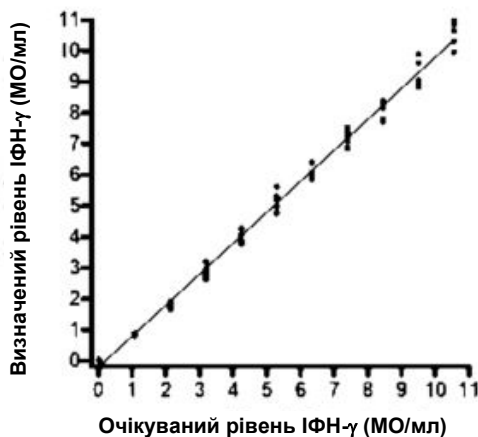


Рис. 9. Регресивний аналіз, проведений в ході дослідження лінійності – очікуване середнє значення для високого пулу = $-0,24 + 0,9964$.

Відтворюваність

Для оцінки ефективності аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus) у дослідницьких центрах було проведено багатоцентрове дослідження відтворюваності за участі кількох операторів. Це проспективне дослідження, що проводилося в трьох зовнішніх центрах тестування та одному центрі забору крові. Усього в дослідження було включено 32 пацієнти з позитивним результатом тесту КФТ (QFT) і 34 пацієнти з негативним результатом. Досліджувані пацієнти були медичними працівниками в США. Досліджувані пацієнти були віднесені до груп зі змішаним ризиком з огляду на ймовірність контакту з хворими на туберкульоз пацієнтами під час професійної діяльності або з огляду на їхнє походження з країн, у яких поширеність туберкульозу перевищує 50/100 000 осіб.

Працівники центру забору крові взяли в кожного пацієнта по три пробірки для забору крові з гепарином літію. Після цього пробірки для забору крові з гепарином літію були перевезені в кожен із трьох зовнішніх центрів тестування, де вони були поділені на аліквоти в пробірки для забору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus) (пробірки КФТ-Плюс (QFT-Plus) з антигеном TB1, антигеном TB2, мітогеном та нульовим зразком), а потім проаналізовані відповідно до процедури проведення аналізу з використанням пробірок КФТ-Плюс (QFT-Plus). У кожному дослідницькому центрі принаймні два оператори проводили два тести для кожного досліджуваного пацієнта в незалежному режимі. Дані, отримані одним оператором, були засліплені для іншого оператора. Аналогічним чином, оператори не знали, які результати тесту КФТ (QFT) отримали досліджувані пацієнти.

Для кожного з 66 пацієнтів у трьох центрах тестування було отримано по шість результатів, тобто загальна кількість точок даних склала 396. Короткий огляд результатів дослідження відтворюваності наведено в таблиці 14.

Таблиця 14. Короткий огляд результатів дослідження відтворюваності – % збігів якісних результатів, отриманих операторами одного центру; N = 66 зразків пацієнтів

Центр 1 – 2 оператори	Центр 2 – 2 оператори	Центр 3 – 3 оператори
64/66 = 96,97 %	64/66 = 96,97 %	59/66 = 89,39 %
Збіги якісних результатів для набору пробірок 1 і набору пробірок 2	Збіги якісних результатів для набору пробірок 1 і набору пробірок 2	Збіги якісних результатів для набору пробірок 1 і набору пробірок 2

Відсоток збігів якісних результатів між усіма дослідницькими центрами складає 94,7 % (375/396). У цих обчисленнях загальна кількість результатів аналізу, що збіглися (375), включає випадки збігу всіх 6 результатів, випадки збігу 5 з 6 результатів, випадки збігу 4 із 6 результатів, а також випадки збігу 3 із 6 результатів (комбіновані дані).

Повторюваність між партіями пробірок

Було проведено дослідження для оцінки варіативності між партіями пробірок для забору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus) із порівнянням із партіями пробірок КФТ (QFT). Загалом було досліджено зразки 30 пацієнтів (15 із яких мали позитивний результат тесту КФТ (QFT) на туберкульоз і 15 мали негативний результат). У дослідження було включено по три окремі партії пробірок для забору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus) з антигеном TB1, КФТ-Плюс (QFT-Plus) з антигеном TB2 і КФТ (QFT) з антигеном TB. Для кожного пацієнта було проведено по три паралельні аналізи кожної пробірки для забору крові. Пробірки з нульовим зразком і мітогеном були проаналізовані однократно.

Кожен пацієнт надав свою кров у пробірки для забору крові з гепарином літію. Після цього по 1 мл крові було перенесено в пробірки для забору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus) і КФТ (QFT), які були проаналізовані відповідно до процедури проведення аналізу. У групах, що отримали позитивний і негативний результат тесту на туберкульоз, показники загальної дисперсії для результатів аналізу пробірок КФТ-Плюс (QFT-Plus) не повинні суттєво перевищувати показники загальної дисперсії для результатів аналізу пробірок КФТ (QFT). Це було визначено на підставі р-значення, отриманого за допомогою тесту Левене на однорідність дисперсії (Homogeneity of Variance, HOV). Якщо р-значення було незначущим ($p > 0,05$) та/або показники дисперсії для пробірок КФТ-Плюс (QFT-Plus) з антигеном TB були нижчими за показники дисперсії для пробірок QFT з антигеном TB, це вважалось підтвердженням наявності дисперсії між пробірками КФТ-Плюс (QFT-Plus) і КФТ (QFT) з антигеном TB.

Таблиця 15. Порівняння значень дисперсії між пробірками для забору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus) і КФТ (QFT) з антигеном TB за допомогою тесту Левене NOV

Тип зразка	Різниця	Ефект	Залежність	P-значення	Значущість
Позитивний	TB2 і КФТ (QFT)	Sub_Type	Залишковий продукт	0,0378	Так
Позитивний	TB2 і КФТ (QFT)	Sub_Type	Залишковий продукт	0,0540	Hi
Негативний	TB2 і КФТ (QFT)	Sub_Type	Залишковий продукт	0,1025	Hi
Негативний	TB2 і КФТ (QFT)	Sub_Type	Залишковий продукт	0,6344	Hi

Дисперсія між пробірками для забору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus) і КФТ (QFT) з антигеном TB не була значущою, за винятком пробірок КФТ-Плюс (QFT-Plus) з антигеном TB2 з позитивним результатом аналізу на туберкульоз. Після розрахунку стандартного відхилення виявилось, що показники дисперсії для пробірки КФТ-Плюс (QFT-Plus) з антигеном TB2 були нижчими (0,06089) за показники дисперсії для пробірки КФТ (QFT) з антигеном TB (0,07641), як це показано в таблиці 16. Отже, показники дисперсії пробірок для забору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus) з антигенами TB1 і TB2 не були вищими за показники дисперсії пробірок для забору крові КФТ (QFT) з антигеном TB.

Таблиця 16. Стандартне відхилення для залишків та 95 % довірчий інтервал для пацієнтів із позитивним результатом аналізу на туберкульоз

Тип зразка	Підтип	Оцінка стандартного відхилення	95 % LCL	95 % UCL
Позитивний	КФТ (QFT)	0,07641	0,06826	0,08680
Позитивний	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Позитивний	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

Повторюваність між різними партіями пробірок

Було проведено дослідження для оцінки відтворюваності між різними партіями пробірок для забору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus) за допомогою порівняння концентрації ІФН- γ у крові в реплікатах пробірок для забору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus) з антигеном ТВ.

Шість аліквот зразків крові, узятих у тих самих пацієнтів із підтвердженою туберкульозною інфекцією, були поміщені в 6 пробірок для забору крові, кожна з яких була взята з окремої партії двох видів пробірок КФТ-Плюс (QFT-Plus) (ТВ1 і ТВ2). Для аналізу було використано зразки 13 пацієнтів. %КВ було розраховано для кожного донора окремо та для всіх донорів разом із метою отримання середнього значення %КВ, як це показано в таблиці 17.

Таблиця 17. %КВ для середнього значення, стандартного відхилення, мінімального значення, медіани й максимального значення в кожній пробірці для забору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus) з антигеном ТВ в пацієнтів із позитивним результатом аналізу на туберкульоз

Пробірка КФТ-Плюс (QFT-Plus)	Розмір зразка	Середнє значення (%КВ)	Стандартне відхилення	Мінімальне значення	Медіана	Максимальне значення
ТВ1	13	13,31	6,88	4,17	12,87	29,56
ТВ2	13	13,04	7,48	4,86	10,75	29,44

Результати продемонстрували, що середнє значення %КВ для ТВ1 і ТВ2 становило ~ 13 %, що відповідає критерію прийнятності ≤ 30 % і підтверджує повторюваність між різними партіями пробірок.

Межа холостої проби

Межа холостої проби була оцінена для аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus). Два паралельних аналізи кожного з 14 зразків звичайної плазми людини (що використовувалися як холості проби) виконані з використанням 2 партій КФТ-Плюс ЕЛІСА (QFT-Plus ELISA). Для цього було залучено 3 операторів і відведено 3 дні, тобто один оператор мав для проведення аналізу один день. Загалом виконано 84 паралельних аналізи з кожної партії набору для аналізу ELISA.

Межі холостої проби (МО/мл) для 2 партій набору для аналізу ELISA були розраховані окремо, як це показано в таблиці 18.

Таблиця 18. Межі холостої проби (МО/мл) для 2 партій набору КФТ-Плюс ЕЛІСА Кіт (QFT-Plus ELISA Kit)

Набір КФТ-Плюс ЕЛІСА Кіт (QFT-Plus ELISA Kit)	Орієнтовна межа холостої проби (МО/мл)
Kit 1	0,030
Kit 2	0,040

Більша межа холостої проби, отримана для обох партій набору для аналізу КФТ-Плюс ЕЛІСА Кіт (QFT-Plus ELISA Kit) (0,040 МО/мл), була прийнята як остаточна межа холостої проби.

Межа виявлення

Межа виявлення була оцінена для аналізу КФТ-Плюс (QFT-Plus). Пул плазми пацієнтів із негативним результатом аналізу на туберкульоз було отримано за допомогою поєднання 14 окремих зразків плазми. Кожен із 3 операторів приготував базовий еталонний розчин ІФН- γ із концентрацією 1,0 МО/мл і розводив його в буферному розчині. Було виконано серію розведень з отриманням 8 концентрацій. Дослідження 2 партій набору для аналізу КФТ-Плюс ЕЛІСА Кіт (QFT-Plus ELISA Kit) тривало 3 дні й проходилося 3 операторами, які змінювали один одного. Протягом кожного дня дослідження виконувалося по 5 паралельних аналізів кожної концентрації для кожної серій розведень, загалом 45 паралельних аналізів на кожне розведення концентрації ІФН- γ на кожну партію набору для аналізу КФТ-Плюс ЕЛІСА Кіт (QFT-Plus ELISA Kit).

Межа виявлення кожної досліджуваної партії набору для аналізу КФТ-Плюс ЕЛІСА Кіт (QFT-Plus ELISA Kit) була розрахована окремо, як це показано в таблиці 19.

Таблиця 19. Розрахункові межі виявлення (МО/мл) для 2 партій набору для аналізу КФТ-Плюс ЕЛІСА Кіт (QFT-Plus ELISA Kit)

Набір КФТ-Плюс ЕЛІСА Кіт (QFT-Plus ELISA Kit)	Імовірність	Орієнтовна концентрація (МО/мл)	Нижній довірчий інтервал 95 % для оцінки	Верхній довірчий інтервал 95 % для оцінки
Kit 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Kit 2	0,95	0,065	0,060	0,073

Більша межа виявлення, отримана для обох партій набору для аналізу КФТ-Плюс ЕЛІСА Кіт (QFT-Plus ELISA Kit) (0,065 МО/мл), була прийнята як остаточна межа виявлення.

Інтерферуючі речовини

За допомогою аналізу КФТ-Плюс ЕЛІСА (QFT-Plus ELISA) було проведено дослідження для визначення впливу потенційних інтерферуючих речовин на виявлення ІФН- γ . У дослідженні були використані такі інтерференти: тригліцериди (загальні), гемоглобін, білок (загальний у сироватці крові), білірубін (кон'югований), білірубін (некон'югований), абакавіру сульфат, циклоспорин і преднізолон. Було приготовано п'ять пулів плазми з відомими концентраціями ІФН- γ та різними концентраціями інтерферентів. Базовий пул ІФН- γ був попередньо приготований з використанням визначеної кількості ІФН- γ (приблизно 0,21, 0,45 і 1,4 МО/мл). Цей пул використовувався для подальшого приготування пулів інтерферентів. Концентрації досліджуваних інтерферентів становили 0 мг/дл, 5 мг/дл, 10 мг/дл, 15 мг/дл і 20 мг/дл. Цільові концентрації інтерферентів залежали від референтних інтервалів, показників стимулювання патологічних процесів, терапевтичних і токсичних діапазонів або визначалися згідно з рекомендаціями постачальника чи загальноприйнятими клінічними рекомендаціями. Для кожного рівня концентрації зразка інтерферента було проведено по шість паралельних аналізів.

Для кожної концентрації зразка було проведено двовибіркову перевірку за t -критерієм, під час якої було порівняно різницю між середнім значенням \log_{10} (МО/мл) для первинного рівня інтерферента та для контролю (тобто для рівня без інтерферента), як це показано в таблицях 20 і 21. Також було зафіксовано різницю в показниках середньої відповіді та відповідні довірчі межі 95 % і p -значення.

Таблиця 20. Log10 МО/мл: таблиця, отримана за підсумками перевірки за t-критерієм, що містить інформацію про різницю в середніх значеннях, розрахованих для контролю та первинного рівня інтерферента, за кожною концентрацією інтерферента й ІФН-γ.

Інтерферент	Рівень інтерферента	Концентрація зразка (МО/мл)	Значення дисперсії	Середня різниця	Нижній ДІ 95 %	Верхній ДІ 95 %	P-значення	Відповідність вимогам
Тригліцериди	Високий	1,4	Однакові	0,019	-0,040	0,077	0,491	Так
		0,45	Однакові	0,004	-0,022	0,030	0,732	Так
		0,21	Однакові	0,006	-0,035	0,047	0,759	Так
Гемоглобін	Високий	1,4	Однакові	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Так
		0,45	Однакові	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Так
		0,21	Однакові	0,000	-0,034	0,035	0,980	Так
Білок	Високий	1,4	Однакові	0,004	-0,034	0,042	0,836	Так
		0,45	Однакові	0,001	-0,38	0,040	0,962	Так
		0,21	Однакові	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Так
Білірубін, кон'югований	Високий	1,4	Однакові	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Так
		0,45	Однакові	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Так
		0,21	Однакові	-0,014	0,074	0,046	0,625	Так
Білірубін, некон'югований	Високий	1,4	Однакові	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Так
		0,45	Однакові	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Так
		0,21	Однакові	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Так
Абакавір	Високий	1,4	Однакові	0,008	-0,025	0,041	0,601	Так
		0,45	Однакові	0,012	-0,019	0,044	0,412	Так
		0,21	Однакові	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Так

Продовження таблиці на наступній сторінці

Продовження таблиці з попередньої сторінки

Таблиця 20. Log₁₀ МО/мл: таблиця, отримана за підсумками перевірки за t-критерієм, що містить інформацію про різницю в середніх значеннях, розрахованих для контролю та первинного рівня інтерферента, за кожною концентрацією інтерферента й ІФН-γ.

Інтерферент	Рівень інтерферента	Концентрація зразка (МО/мл)	Значення дисперсії	Середня різниця	Нижній ДІ 95 %	Верхній ДІ 95 %	P-значення	Відповідність вимогам
Циклоспорин	Високий	1,4	Однакові	0,014	-0,020	0,047	0,383	Так
		0,45	Однакові	0,005	-0,035	0,045	0,773	Так
		0,21	Однакові	0,024	-0,008	0,056	0,131	Так
Преднізолон	Високий	1,4	Однакові	0,017	-0,017	0,050	0,293	Так
		0,45	Однакові	0,000	-0,036	0,036	0,979	Так
		0,21	Однакові	0,015	-0,035	0,065	0,524	Так

Таблиця 21. Log₁₀ МО/мл: таблиця, отримана за підсумками перевірки за t-критерієм, що містить інформацію про різницю в середніх значеннях, розрахованих для контролю та високого рівня інтерферента, за кожною концентрацією інтерферента й ІФН-γ.

Інтерферент	Рівень інтерферента	Концентрація зразка (МО/мл)	Значення дисперсії	Середня різниця	Нижній ДІ 95 %	Верхній ДІ 95 %	P-значення	Відповідність вимогам
Тригліцериди	Високий	1,4	Однакові	0,053	-0,004	0,110	0,063	Так
		0,45	Однакові	0,039	-0,021	0,058	< 0,001	Так
		0,21	Однакові	0,034	-0,002	0,071	0,061	Так
Гемоглобін	Високий	1,4	Однакові	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Так
		0,45	Однакові	0,016	-0,007	0,040	0,152	Так
		0,21	Однакові	0,014	-0,030	0,059	0,489	Так
Білок	Високий	1,4	Однакові	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Так
		0,45	Однакові	0,000	-0,046	0,046	0,992	Так
		0,21	Однакові	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Так
Білірубін, кон'югований	Високий	1,4	Однакові	0,001	-0,046	0,048	0,961	Так
		0,45	Однакові	0,012	-0,043	0,067	0,639	Так
		0,21	Однакові	0,015	-0,044	0,074	0,586	Так
Білірубін, некон'югований	Високий	1,4	Однакові	0,015	-0,011	0,042	0,231	Так
		0,45	Однакові	0,015	-0,023	0,052	0,411	Так
		0,21	Однакові	0,012	-0,033	0,057	0,566	Так
Абакавір	Високий	1,4	Однакові	0,013	-0,015	0,040	0,322	Так
		0,45	Однакові	0,015	-0,014	0,044	0,283	Так
		0,21	Однакові	0,008	-0,034	0,050	0,677	Так

Продовження таблиці на наступній сторінці

Продовження таблиці з попередньої сторінки

Таблиця 21. Log₁₀ МО/мл: таблиця, отримана за підсумками перевірки за t-критерієм, що містить інформацію про різницю в середніх значеннях, розрахованих для контролю та високого рівня інтерферента, за кожною концентрацією інтерферента й ІФН-γ.

Інтерферент	Рівень інтерферента	Концентрація зразка (МО/мл)	Значення дисперсії	Середня різниця	Нижній ДІ 95 %	Верхній ДІ 95 %	P-значення	Відповідність вимогам
Циклоспорин	Високий	1,4	Однакові	0,002	-0,019	0,024	0,816	Так
		0,45	Однакові	0,007	-0,030	0,043	0,682	Так
		0,21	Однакові	0,015	-0,007	0,038	0,155	Так
Преднізолон	Високий	1,4	Однакові	0,007	-0,016	0,030	0,518	Так
		0,45	Однакові	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Так
		0,21	Однакові	0,021	-0,025	0,068	0,334	Так

Результати не показали значущої різниці між первинним рівнем інтерферента та контролем (рівень без інтерферента), а також різниці для високого рівня інтерферента, за винятком тригліцеридів у концентрації 0,45 МО/мл. Середню різницю було визначено в діапазоні стандартного відхилення +/- 2. Ці дані демонструють той факт, що різниця перебуває в межах очікуваної варіативності аналізу та що тригліцериди не здійснюють інтерферуючого впливу на КФТ-Плюс ЕЛІСА (QFT-Plus ELISA).

Утилізація

Дотримуйтеся відповідних правил щодо поводження зі зразками крові. Утилізуйте зразки та матеріали, що мали контакт із кров'ю або продуктами на основі крові, відповідно до федеральних, державних та місцевих нормативних вимог.

Список літератури

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.

Посібник з усунення несправностей

Цей посібник з усунення несправностей може знадобитись під час вирішення можливих проблем. Для отримання технічної допомоги та додаткової інформації відвідайте наш центр технічної підтримки за посиланням www.qiagen.com/Support (для отримання контактної інформації відвідайте сайт www.qiagen.com).

Коментарі та пропозиції

Усунення несправностей в аналізі ELISA

Поява неспецифічного кольору

- | | |
|--|--|
| а) Неповне промивання планшета | Промийте планшет принаймні 6 разів, використовуючи 400 мкл промивного буферного розчину на лунку. Залежно від пристрою для промивання, що використовується, може знадобитися більше 6 циклів промивання. Між циклами промивання необхідно дотримуватися часу замочування принаймні 5 секунд. |
| б) Перехресне забруднення лунок ELISA | Будьте обережні під час піпетування та перемішування зразка, щоб звести ризик до мінімуму. |
| в) Закінчився термін придатності набору та/або компонентів | Переконайтеся, що для набору не закінчився термін придатності. Відновлений стандарт і концентрований кон'югат 100x необхідно використати протягом трьох місяців від дати розчинення. |
| г) Забруднено розчин ферментного субстрату | Утилізуйте субстрат у разі появи синього забарвлення. Переконайтеся, що використовуються чисті резервуари для реагентів. |
| г) Перемішування плазми в пробірках для збору крові КФТ-Плюс (QFT-Plus) перед збором | Після центрифугування уникайте переміщення піпетки вниз і вгору та жодним чином не перемішуйте плазму перед збором. Будьте обережні, щоб не зачепити матеріал на поверхні гелю. |

Коментарі та пропозиції

Низькі показники оптичної густини для стандартів

- | | |
|--|--|
| а) Помилка в розведенні стандарту | Переконайтеся, що розведення стандарту набору приготовано правильно, відповідно до цих інструкцій із використання. |
| б) Помилка під час піпетування | Переконайтеся, що піпетки відкалібровано й вони використовуються відповідно до інструкцій виробника. |
| в) Температура інкубації занизька | Інкубацію аналізу ELISA необхідно проводити за кімнатної температури (22 ± 5 °C). |
| г) Час інкубації закороткий | Інкубація планшета з кон'югатом, стандартами й зразками має тривати 120 ± 5 хвилин. Розчин ферментного субстрату слід інкубувати на планшеті протягом 30 хвилин. |
| г') Використовується неправильний фільтр пристрою для зчитування планшетів | Планшет потрібно зчитувати з фільтром 450 нм та еталонним фільтром від 620 до 650 нм. |
| д) Температура реагентів занизька | Усі реагенти, за винятком концентрованого кон'югату 100x, до початку проведення аналізу необхідно довести до кімнатної температури. Це потребує приблизно 1 години. |
| е) Закінчився термін придатності набору та/або компонентів | Переконайтеся, що набір використовується до закінчення терміну придатності. Переконайтеся, що відновлений стандарт і концентрований кон'югат 100x використовуються протягом 3 місяців від дати розчинення. |

Високий фоновий рівень

- | | |
|--------------------------------|--|
| а) Неповне промивання планшета | Промийте планшет принаймні 6 разів, використовуючи 400 мкл промивного буферного розчину на лунку. Може знадобитися більше 6 циклів промивання. Між циклами промивання необхідно дотримуватися часу замочування принаймні 5 секунд. |
|--------------------------------|--|

Коментарі та пропозиції

- | | |
|--|--|
| б) Зависока температура інкубації | Інкубацію аналізу ELISA необхідно проводити за кімнатної температури (22 ± 5 °C). |
| в) Закінчився термін придатності набору та/або компонентів | Переконайтеся, що для набору не закінчився термін придатності. Відновлений стандарт і концентрований кон'югат 100x необхідно використати протягом трьох місяців від дати розчинення. |
| г) Забруднено розчин ферментного субстрату | Утилізуйте субстрат у разі появи синього забарвлення. Переконайтеся, що використовуються чисті резервуари для реагентів. |

Нелінійна стандартна крива та варіативність результатів паралельних аналізів

- | | |
|--|--|
| а) Неповне промивання планшета | Промийте планшет принаймні 6 разів, використовуючи 400 мкл промивного буферного розчину на лунку. Може знадобитися більше 6 циклів промивання. Між циклами промивання необхідно дотримуватися часу замочування принаймні 5 секунд. |
| б) Помилка в розведенні стандарту | Переконайтеся, що розведення стандарту приготувані правильно, відповідно до цих інструкцій із використання. |
| в) Незадовільне перемішування | Перед додаванням на планшет ретельно перемішайте реагенти шляхом перевертання пробірки або обережного перемішування вихровим способом. |
| г) Непослідовність у методі піпетування або втручання під час налаштування аналізу | Зразок і стандарт необхідно додавати неперервним способом. Усі реагенти має бути приготовано до початку проведення аналізу. |

СИМВОЛИ

В інструкції з використання або на упаковках та етикетках зустрічаються наведені нижче символи.

Символ

Визначення символу



<N>

Містить реагенти, достатні для такої кількості реакцій: <N>



Термін придатності



Цей виріб відповідає вимогам Регламенту ЄС 2017/746 щодо медичних виробів для діагностики in vitro.

EC

REP

Уповноважений представник у Європейському співтоваристві / Європейському Союзі

IVD

Медичний виріб для діагностики in vitro

REF

Номер за каталогом

LOT

Номер партії

MAT

Номер артикула (тобто маркування компонентів)

COMP

Компоненти

CONT

Містить

NUM

Номер

GTIN

Глобальний ідентифікаційний номер одиниці товару

Rn

R означає редакцію інструкції з використання, а n – номер редакції



Обмеження температури

Символ

Визначення символу



Виробник



Див. інструкції з використання



Зберігати в захищеному від світла місці



Попередження/застереження; див. супровідні документи

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

Діагностичний тест in vitro, що використовує суміш пептидів, яка імітує протеїни ESAT-6 і CFP-10 для стимуляції клітин цільної гепаринізованої крові



Містить біологічний матеріал тваринного походження



Містить біологічний матеріал людини



Унікальний ідентифікатор виробу

Символ**Визначення символу**

tartrazine

Містить тартразин

sulfuric acid

Містить сульфатну кислоту

Додаток А. Технічна інформація

Невизначені результати

Невизначені результати трапляються рідко, і їх поява може бути пов'язана як зі станом імунітету досліджуваного пацієнта (5), так і з низкою технічних факторів (наприклад, неправильне поводження з пробірками для забору крові чи їх зберігання, недостатнє промивання планшетів ELISA) у разі невиконання наведених вище інструкцій.

У разі підозри на технічні проблеми щодо зберігання реагентів, взяття або підготовки зразків крові необхідно повторити повністю весь тест КФТ-Плюс (QFT-Plus) із новими зразками крові. У разі підозри щодо неправильного промивання або будь-яких інших відхилень від процедури під час проведення тесту ELISA можна повторити тест ELISA стимульованої плазми. Медичні працівники можуть на свій розсуд призначити повторне взяття зразків або виконання інших процедур.

Зразки плазми зі згустками

У разі появи згустків фібрину в зразках плазми після довготривалого зберігання проведіть центрифугування зразків для відділення матеріалу згустків та забезпечення можливості піпетування плазми.

Зразки плазми з ліпемією

Слід бути обережними під час піпетування зразків із ліпемією, оскільки жири включення можуть заблокувати наконечник піпетки.

Додаток Б. Скорочений опис процедури тесту ELISA

1. Доведіть температуру всіх компонентів ELISA, за винятком концентрованого кон'югату 100x, до кімнатної температури протягом щонайменше 60 хвилин.



2. Відновіть стандарт набору до 8,0 МО/мл за допомогою дистильованої або деіонізованої води. Приготуйте чотири (4) стандартні розведення.



3. Відновіть ліофілізований концентрований кон'югат 100x за допомогою дистильованої або деіонізованої води.

4. Приготуйте кон'югат робочої концентрації в зеленому розчиннику й додайте по 50 мкл у кожен лунку.



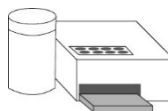
5. Додайте у відповідні лунки по 50 мкл зразків плазми, що аналізуються, та по 50 мкл стандартів. Перемішайте за допомогою шейкера.



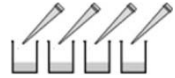
6. Інкубуйте протягом 120 хв за кімнатної температури.



7. Промийте лунки принаймні 6 разів, використовуючи 400 мкл промивного буферного розчину на лунку.



8. Додайте в лунки по 100 мкл розчину ферментного субстрату.
Перемішайте за допомогою шейкера.



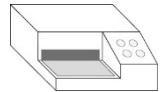
9. Інкубуйте протягом 30 хв за кімнатної температури.



10. Додайте в лунки по 50 мкл стоп-розчину для ферментного субстрату. Перемішайте за допомогою шейкера.



11. Виконайте зчитування результатів із довжиною хвилі 450 нм з еталонними фільтрами від 620 до 650 нм.



12. Проаналізуйте результати.



Інформація для замовлення

Продукт	Вміст	№ за кат.
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit	Набір для аналізу ELISA з 2 планшетами	622120
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Reference Lab Pack	Набір для аналізу ELISA з 20 планшетами	622822
Related products		
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes	200 пробірок (по 50 нульових зразків, TB1, TB2 та мітогену)	622526
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 пробірок (по 25 нульових зразків, TB1, TB2 та мітогену)	622423
QuantiFERON-TB Gold Plus Single Patient Pack	40 пробірок (по 1 нульовому зразку, TB1, TB2 та мітогену в упаковці), по 10 штук в упаковці	622222
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes	200 пробірок (по 50 нульових зразків, TB1, TB2 та мітогену)	623526
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 пробірок (по 50 нульових зразків, TB1, TB2 та мітогену)	623423
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Single Patient Pack	40 пробірок (по 1 нульовому зразку, TB1, TB2 та мітогену в упаковці), по 10 штук в упаковці	623222

Оновлену інформацію про ліцензії та застереження щодо конкретних продуктів див. у відповідній інструкції з використання для набору QIAGEN. Інструкцію з використання набору QIAGEN можна завантажити на сайті www.qiagen.com або замовити через службу технічної підтримки чи в місцевого дистриб'ютора QIAGEN.

Історія змін документа

Дата	Зміни
R2, червень 2021 р.	<p>Включено інформацію про упаковку для одного пацієнта.</p> <p>Виправлено таблиці 10 та 11 для розрізнення даних стосовно КФТ-ГІТ (QFT-GIT) і КФТ-Плюс (QFT-Plus).</p> <p>Оновлено розділ «Опис і принцип роботи» для включення інформації про досліджувану популяцію та діапазон вимірювання.</p> <p>Додано таблицю 9 для включення даних про коефіцієнт імовірності для КФТ-Плюс (QFT-Plus).</p>
R3, жовтень 2021 року	<p>Номер за каталогом повернуто до оригінального формату.</p> <p>Додано заяву про одноразове використання стрипів мікропланшета, що входять у набір.</p>
R4, березень 2023 р.	<p>Внесено зміни у форматування.</p>

Цю сторінку навмисно залишено порожньою

Обмежена ліцензійна угода для набору реагентів для аналізу КвантіФЕРОН-ТБ Голд Плюс (КФТ-Плюс) ЕЛІСА Кіт (QuantIFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit)

Використання цього продукту означає згоду покупця або користувача продукту з наведеними нижче умовами.

1. Продукт може використовуватися виключно відповідно до протоколів, що входять до його комплекту, і цієї інструкції з використання, а також лише з компонентами, що входять до складу панелі. Компанія QIAGEN не надає жодних ліцензій щодо будь-якої своєї інтелектуальної власності на використання вбудованих компонентів цієї панелі з будь-якими компонентами, які не входять до цієї панелі (або включення до них), за винятком випадків, описаних у протоколах, що надаються з продуктом, у цій інструкції з використання й додаткових протоколах, доступних на сайті www.qiagen.com. Деякі з цих додаткових протоколів передавалися між користувачами QIAGEN. Ці протоколи не проходили ретельної перевірки та не оптимізовані компанією QIAGEN. Компанія QIAGEN не гарантує, що ці протоколи не порушують права третіх сторін.
2. За винятком чітко визначених ліцензій компанія QIAGEN не гарантує, що ця панель і/або її використання не порушують права третіх сторін.
3. Ця панель і її компоненти мають ліцензію на одноразове використання й не підлягають повторному використанню, ремонту або перепродажу.
4. Компанія QIAGEN прямо відмовляється від будь-яких інших ліцензій, прямих або непрямих, крім тих, які прямо зазначені.
5. Покупець і користувач панелі погоджуються не виконувати та не дозволити іншим виконувати будь-які дії, які можуть призвести до порушення наведених вище умов, або сприяти цьому. Компанія QIAGEN може застосовувати заборони цієї Обмеженої ліцензійної угоди в будь-якому суді та зобов'язана відшкодувати всі свої слідчі й судові витрати, включно з витратами на адвоката, на будь-які дії із забезпечення виконання цієї Обмеженої ліцензійної угоди або будь-яких прав інтелектуальної власності, пов'язаних із панеллю та/або її компонентами.

Оновлені ліцензійні умови див. на сайті www.qiagen.com.

Товарні знаки: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantIFERON® (QIAGEN Group) Proclip®. Зареєстровані назви, товарні знаки тощо, які використовуються в цьому документі, навіть якщо вони спеціально не позначені як такі, не мають розглядатися як не захищені законом.

03/2023 L1123669 1123669UK © QIAGEN, 2023 р. Усі права захищено.

Замовлення на сайті www.qiagen.com/shop | Технічна підтримка support.qiagen.com |
Вебсайт www.qiagen.com