



Tháng 3 năm 2023

# Hướng dẫn Sử dụng Bộ dụng cụ QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold Plus ELISA Kit



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Phiên bản 1

**IVD**

Dùng cho Mục đích Sử dụng Chẩn đoán In Vitro

Để sử dụng với QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold Plus Blood Collection Tubes

**CE**<sub>0197</sub>

**REF**

622120, 622822



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Đức

R4 **MAT**

1123669VI



# Mục lục

Mục đích Sử dụng .....	5
Người dùng Dự định.....	5
Mô tả và Nguyên tắc .....	6
Thông tin về mầm bệnh .....	6
Tóm tắt và giải thích.....	6
Nguyên lý xét nghiệm.....	9
Vật tư được Cung cấp.....	11
Thành phần bộ dụng cụ .....	11
Thành phần của bộ dụng cụ.....	12
Nền tảng và phần mềm.....	12
Vật tư Yêu cầu nhưng Không được Cung cấp .....	13
Thuốc thử bổ sung .....	13
Vật tư tiêu hao.....	13
Thiết bị .....	13
Cảnh báo và Biện pháp Phòng ngừa .....	14
Thông tin an toàn .....	14
Thông tin khẩn cấp.....	15
Các biện pháp phòng ngừa.....	16
Bảo quản và Xử lý Thuốc thử.....	18
Độ ổn định khi sử dụng .....	18
Thuốc thử đã hoàn nguyên và chưa sử dụng .....	18
Bảo quản và Xử lý Bệnh phẩm.....	19

Quy trình: Thực hiện ELISA .....	20
Kết quả (Tính toán) .....	26
Tạo đường chuẩn và giá trị mẫu .....	26
Kiểm soát chất lượng xét nghiệm .....	28
Giải thích Kết quả .....	30
Hạn chế .....	32
Đặc tính Hiệu suất .....	33
Nghiên cứu Lâm sàng .....	33
Độ nhạy .....	35
Giá trị mong muốn .....	43
Tóm tắt về An toàn và Hiệu suất .....	49
Đặc tính Hiệu suất Xét nghiệm .....	50
Hiệu suất phân tích .....	50
Thải bỏ .....	63
Tài liệu tham khảo .....	64
Hướng dẫn Xử lý sự cố .....	66
Biểu tượng .....	69
Phụ lục A: Thông tin Kỹ thuật .....	72
Kết quả không xác định .....	72
Mẫu huyết tương đông tụ .....	72
Mẫu huyết tương lipid máu .....	72
Phụ lục B: Quy trình Xét nghiệm ELISA Rút gọn .....	73
Thông tin Đặt hàng .....	75
Lịch sử Sửa đổi Tài liệu .....	77

## Mục đích Sử dụng

Xét nghiệm QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus) là xét nghiệm chẩn đoán *in vitro* sử dụng một cocktail peptit mô phỏng các protein ESAT-6 và CFP-10 để kích thích các tế bào trong máu toàn phần heparin hóa. Sử dụng phương pháp phát hiện Interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) bằng Xét nghiệm Miễn dịch Hấp thụ Liên kết với Enzym (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) để xác định mức đáp ứng *in vitro* với các kháng nguyên peptit có liên quan đến nhiễm khuẩn *Mycobacterium tuberculosis*.

QFT-Plus là xét nghiệm gián tiếp cho tình trạng nhiễm khuẩn *M. tuberculosis* (bao gồm bệnh) và được dự định sử dụng kết hợp với đánh giá rủi ro, chụp X-quang và các đánh giá y khoa và chẩn đoán khác.

## Người dùng Dự định

Bộ dụng cụ này dành cho chuyên gia sử dụng.

Xét nghiệm QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) dành cho nhân viên được đào tạo trong môi trường phòng thí nghiệm sử dụng.

# Mô tả và Nguyên tắc

## Thông tin về mầm bệnh

Lao là bệnh truyền nhiễm do nhiễm phức hợp khuẩn *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* và *M. caprae*) gây ra, thường lây từ bệnh nhân mắc bệnh lao phổi sang vật chủ mới qua nhân giọt bắn trong không khí. Người mới bị nhiễm có thể bị ốm trong vài tuần đến vài tháng, nhưng hầu hết những người bị nhiễm vẫn khỏe mạnh. Nhiễm lao tiềm ẩn (Latent Tuberculosis Infection, LTBI) là tình trạng bệnh không có triệu chứng, không truyền nhiễm xuất hiện kéo dài ở một số người và có thể phát triển thành bệnh lao vài tháng hoặc vài năm sau đó. Mục đích chính của chẩn đoán LTBI là để xem xét điều trị y tế nhằm phòng tránh bệnh lao. Trong hơn 100 năm, xét nghiệm lao tố (Tuberculin Skin Test, TST) là phương pháp hiện có duy nhất để chẩn đoán LTBI (4). Độ nhạy da với lao tố phát triển từ 2 đến 10 tuần sau khi nhiễm. Tuy nhiên, một số người bị nhiễm, bao gồm những người mắc các bệnh cản trở chức năng miễn dịch, cũng như những người không có các bệnh này, không đáp ứng lao tố. Ngược lại, một số người không có khả năng nhiễm khuẩn *M. tuberculosis* có biểu hiện nhạy với lao tố và có kết quả TST dương tính sau khi tiêm vắc-xin Bacille Calmette-Guérin (BCG) hoặc nhiễm khuẩn mycobacteria không phải là phức hợp *M. tuberculosis* hoặc các yếu tố khác chưa xác định.

Phải phân biệt giữa LTBI và bệnh lao, là bệnh cần được báo cáo lên cơ sở y tế và thường liên quan đến phổi, đường hô hấp dưới nhưng cũng có thể ảnh hưởng đến các hệ cơ quan khác. Việc chẩn đoán bệnh lao sẽ dựa vào tiền sử, kết quả khám thể chất, X-quang và khuẩn mycobacteria.

## Tóm tắt và giải thích

Xét nghiệm QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) là thế hệ thứ tư trong công nghệ xét nghiệm QuantiFERON-TB để đánh giá mức đáp ứng qua trung gian tế bào thông qua phép đo định lượng IFN- $\gamma$  trong mẫu máu toàn phần. QFT-Plus là xét nghiệm định tính đo mức

đáp ứng miễn dịch qua trung gian tế bào (Cell-Mediated Immune, CMI) với các kháng nguyên peptit mô phỏng các protein khuẩn mycobacteria. Các protein ESAT-6 và CFP-10 này không có trong tất cả các chủng BCG và hầu hết các khuẩn mycobacteria không gây bệnh lao, ngoại trừ *M. kansasii*, *M. szulgai* và *M. marinum* (1). Người bị nhiễm phức hợp khuẩn *M. tuberculosis* thường có tế bào bạch huyết trong máu nhận biết những kháng nguyên này và các kháng nguyên khuẩn mycobacteria khác. Quá trình nhận biết này sẽ bao gồm việc sản sinh và tiết ra cytokine, IFN- $\gamma$ . Việc phát hiện và định lượng IFN- $\gamma$  sau đó là cơ sở cho xét nghiệm này.

Xét nghiệm lao tố và xét nghiệm IGRA hữu ích nhưng không đủ để chẩn đoán nhiễm phức hợp *M. tuberculosis* ở bệnh nhân bị ốm – một kết quả dương tính có thể hỗ trợ chẩn đoán bệnh lao; tuy nhiên, việc nhiễm các khuẩn mycobacteria khác (ví dụ: *M. kansasii*) cũng có thể dẫn đến kết quả dương tính. Cần có các đánh giá y tế và chẩn đoán khác để xác nhận hoặc loại trừ bệnh lao.

Các kháng nguyên được sử dụng trong QFT-Plus là cocktail peptit mô phỏng các protein ESAT-6 và CFP-10. Nhiều nghiên cứu đã chứng minh rằng những kháng nguyên peptit này kích thích việc đáp ứng IFN- $\gamma$  ở tế bào T từ những người bị nhiễm khuẩn *M. tuberculosis* nhưng nhìn chung không từ những người không bị nhiễm khuẩn hoặc đã được tiêm vắc-xin BCG không bị bệnh lao hoặc không có nguy cơ bị LTBI (1,2,6,9). Tuy nhiên, các phương pháp điều trị y tế hoặc bệnh trạng làm suy giảm chức năng miễn dịch có thể làm giảm mức đáp ứng IFN- $\gamma$ . Bệnh nhân bị nhiễm một số khuẩn mycobacteria khác cũng có thể đáp ứng với ESAT-6 và CFP-10, vì các gen mã hóa các protein này có trong *M. kansasii*, *M. szulgai* và *M. marinum* (1, 3,7).

Quần thể xét nghiệm QFT-Plus là những bệnh nhân mắc bệnh lao hoạt động đã được xác nhận về mặt lâm sàng và những bệnh nhân có nguy cơ nhiễm bệnh lao hoặc nhiễm lao tiềm ẩn (Latent Tuberculosis Infection, LTBI). Không áp dụng giới hạn độ tuổi, giới tính hoặc các giới hạn khác.

Trong nhiễm Mycobacterium tuberculosis (MTB), tế bào T CD4<sup>+</sup> đóng vai trò quan trọng trong việc kiểm soát miễn dịch thông qua việc tiết cytokine IFN- $\gamma$ . Các bằng chứng hiện nay cho thấy vai trò của các tế bào T CD8<sup>+</sup> trong việc bảo vệ vật chủ đối với MTB bằng cách sản xuất IFN- $\gamma$  và các yếu tố hòa tan khác để kích hoạt đại thực bào nhằm kiểm chế sự phát triển của MTB, tiêu diệt các tế bào nhiễm bệnh hoặc trực tiếp ly giải MTB nội bào. Đã phát hiện các tế bào CD8<sup>+</sup> đặc hiệu với MTB sản xuất IFN- $\gamma$  ở những đối tượng nhiễm LTBI và mắc TB hoạt động. Hơn nữa các tế bào bạch huyết T CD8<sup>+</sup> đặc hiệu với ESAT-6 và CFP-10 cũng được mô tả là có mức tần suất phát hiện nhiều hơn ở đối tượng mắc TB hoạt động so với LTBI và có thể liên quan đến việc phơi nhiễm MTB gần đây (8,10–12). Ngoài ra, cũng phát hiện tế bào T CD8<sup>+</sup> đặc hiệu với MTB sản xuất IFN- $\gamma$  ở đối tượng mắc TB hoạt động đồng nhiễm HIV (13, 14) và ở trẻ nhỏ mắc bệnh TB (15).

QFT-Plus có hai ống kháng nguyên TB riêng biệt: TB Antigen Tube 1 (TB1) và TB Antigen Tube 2 (TB2). Cả hai ống đều chứa các kháng nguyên peptit từ các kháng nguyên liên quan đến phức hợp MTB, ESAT-6 và CFP-10. Cả hai ống TB1 và TB2 đều chứa các peptit từ ESAT-6 và CFP-10 được thiết kế để kích thích đáp ứng CMI từ tế bào lympho T hỗ trợ CD4<sup>+</sup>; ống TB2 chứa một bộ peptit bổ sung được nhắm mục tiêu để dẫn truyền các đáp ứng CMI từ các tế bào lympho T gây độc tế bào CD8<sup>+</sup>.

Các yếu tố nguy cơ đối với nhiễm khuẩn *M. tuberculosis* bao gồm các yếu tố dự đoán về bệnh sử, y tế hoặc dịch tễ học về bệnh lao hoặc phơi nhiễm với bệnh lao. Tham khảo hướng dẫn gần đây nhất của WHO <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment> để biết các khuyến nghị chi tiết về chẩn đoán nhiễm khuẩn *M. tuberculosis* (kể cả bệnh) và chọn người xét nghiệm (16). QFT-Plus đã được xét nghiệm ở một số nhóm bệnh nhân được chỉ định sàng lọc nhiễm TB theo hướng dẫn hiện hành của WHO (16), bao gồm: những người có kết quả xét nghiệm dương tính với vi-rút gây suy giảm miễn dịch ở người (Human Immunodeficiency Virus, HIV), những người tiếp xúc với bệnh nhân TB gần đây và cư dân ở những nơi tập trung đông người có phơi nhiễm với người lớn có nguy cơ mắc TB cao (5).



## Nguyên lý xét nghiệm

QFT-Plus là xét nghiệm định tính sử dụng các Ống Lấy máu chuyên dụng, chứa các kháng nguyên peptit mô phỏng các protein *M. tuberculosis*, được sử dụng để lấy máu toàn phần. Quá trình ủ máu diễn ra trong ống trong 16 đến 24 giờ, sau đó, huyết tương được thu thập và xét nghiệm xem có sự hiện diện của IFN- $\gamma$  được tạo ra để đáp ứng các kháng nguyên peptit hay không.

Đầu tiên, máu toàn phần được lấy vào từng QFT-Plus Blood Collection Tubes, bao gồm ống Nil, ống TB1, ống TB2 và ống Mitogen. Ngoài ra, có thể lấy máu trong một ống lấy máu có chứa lithium hoặc natri heparin làm chất chống đông máu, sau đó được chuyển vào QFT-Plus Blood Collection Tubes.

QFT-Plus Blood Collection Tubes được lắc để trộn kháng nguyên với máu và phải được ủ ở nhiệt độ  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  càng sớm càng tốt và trong vòng 16 giờ sau khi lấy. Sau thời gian ủ từ 16 đến 24 giờ, các ống được ly tâm, huyết tương được xử lý và lượng IFN- $\gamma$  (IU/ml) được đo bằng ELISA. QFT-Plus ELISA sử dụng chất chuẩn IFN- $\gamma$  tái tổ hợp ở người, đã được xét nghiệm dựa trên việc chuẩn bị IFN- $\gamma$  tham chiếu (Tham chiếu NIH: Gxg01-902-535). Kết quả đối với các mẫu xét nghiệm được báo cáo theo Đơn vị Quốc tế trên mỗi ml (IU/ml) so với đường chuẩn được chuẩn bị bằng cách xét nghiệm chất chuẩn pha loãng đi kèm bộ dụng cụ.

Các kháng thể dị ái (ví dụ: kháng chuột ở người) trong huyết thanh hoặc huyết tương của một số cá nhân nhất định được biết là gây cản trở các xét nghiệm miễn dịch. Ảnh hưởng của các kháng thể dị ái trong QFT-Plus ELISA được giảm thiểu bằng cách bổ sung huyết thanh chuột bình thường vào Chất pha loãng Màu xanh lá và sử dụng các đoạn kháng thể đơn dòng F(ab')<sub>2</sub> làm kháng thể thu giữ IFN- $\gamma$  được phủ lên các vị trí khay vi thể.

Xét nghiệm QFT-Plus được coi là dương tính với mức đáp ứng IFN- $\gamma$  đối với một trong hai ống kháng nguyên TB cao hơn đáng kể so với giá trị IU/ml của Nil IFN- $\gamma$ . Mẫu huyết tương từ ống Mitogen đóng vai trò là mẫu chứng dương tính với IFN- $\gamma$  cho từng bệnh phẩm được xét nghiệm. Mức đáp ứng thấp với Mitogen ( $<0,5$  IU/ml) cho thấy kết quả không xác định khi mẫu máu cũng có mức đáp ứng âm tính với các kháng nguyên TB. Kiểu mẫu này có thể xảy ra khi không đủ tế bào bạch huyết, hoạt động của tế bào bạch huyết giảm do xử lý bệnh phẩm không đúng cách, đổ đầy/trộn ống Mitogen hoặc tế bào bạch huyết của bệnh nhân không có khả năng tạo ra IFN- $\gamma$ . Nồng độ IFN- $\gamma$  trong mẫu Nil có thể tăng cao khi có sự hiện diện của kháng thể dị ái hoặc do việc tiết IFN- $\gamma$  nội tại. Ống Nil điều chỉnh theo nền (ví dụ: mức IFN- $\gamma$  lưu thông tăng cao hoặc sự hiện diện của kháng thể dị ái). Mức IFN- $\gamma$  của ống Nil được trừ từ mức IFN- $\gamma$  đối với các ống kháng nguyên TB và ống Mitogen. Phạm vi đo của QFT-Plus ELISA lên tới 10 IU/ml.

# Vật tư được Cung cấp

## Thành phần bộ dụng cụ

<b>Thành phần của ELISA</b> <b>Số danh mục</b>	<b>Bộ dụng cụ 2 đĩa</b> <b>622120</b>	<b>Gói Tham chiếu</b> <b>của Phòng thí</b> <b> nghiệm</b> <b>622822</b>
Dãi khay vi thể (12 x 8 vị trí) được phủ kháng thể đơn dòng kháng IFN- $\gamma$ người ở chuột	2 bộ 12 x 8 Dãi Khay vi thể	20 bộ 12 x 8 Dãi Khay vi thể
Chất chuẩn IFN- $\gamma$ , đông khô (chứa IFN- $\gamma$ người tái tổ hợp, casein bò, 0,01% trọng lượng/thể tích Thimerosal)	1 x lọ (8 IU/ml khi đã hoàn nguyên)	10 x lọ (8 IU/ml khi đã hoàn nguyên)
Chất pha loãng Màu xanh lá (chứa casein bò, huyết thanh chuột bình thường, 0,01% trọng lượng/thể tích Thimerosal)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Liên hợp 100x Đậm đặc, đông khô (kháng IFN- $\gamma$ HRP người ở chuột, chứa 0,01% Thimerosal)	1 x 0,3 ml (khi đã hoàn nguyên)	10 x 0,3 ml (khi đã hoàn nguyên)
Chất đệm Rửa 20x Đậm đặc (pH 7,2, chứa 0,05% thể tích/thể tích ProClin® 300)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Dung dịch Chất nền Enzym (chứa H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3',5,5' Tetramethylbenzidine)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Dung dịch Dừng Enzym (chứa 0,5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	1 x 15 ml	10 x 15 ml
<i>Hướng dẫn Sử dụng Bộ dụng cụ QuantiFERON TB-Gold Plus ELISA</i>	1	1

## Thành phần của bộ dụng cụ

### Mẫu chứng và mẫu chuẩn

QFT-Plus ELISA sử dụng chất chuẩn IFN- $\gamma$  tái tổ hợp ở người, đã được xét nghiệm dựa trên việc chuẩn bị IFN- $\gamma$  tham chiếu (Tham chiếu NIH: Gxg01-902-535).

### Nền tảng và phần mềm

Việc sử dụng QFT-Plus Analysis Software là không bắt buộc và có thể sử dụng phần mềm này để phân tích dữ liệu thô và tính toán kết quả. Có thể tải xuống phần mềm này tại [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Vật tư Yêu cầu nhưng Không được Cung cấp

## Thuốc thử bổ sung

- QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes
- Nước khử ion hoặc nước cất, 2 lít

## Vật tư tiêu hao

- Nắp đĩa cho đĩa 96 vị trí
- **Tùy chọn:** Microtube 1 ml có nắp trong giá đỡ định dạng 96 vị trí hoặc khay vi thể không phủ có vòng bít nhựa để lưu trữ huyết tương (22 bệnh nhân/giá đỡ hoặc đĩa)
- Bình chứa thuốc thử

## Thiết bị\*

- Máy ủ  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  (có hoặc không có CO<sub>2</sub>)
- Pipet thể tích thay đổi được hiệu chuẩn để phân phối từ 10 µl đến 1.000 µl với đầu tip dùng một lần
- Pipet đa kênh được hiệu chuẩn để phân phối từ 50 µl đến 100 µl với đầu tip dùng một lần
- Máy lắc khay vi thể có khả năng đạt tốc độ từ 500 đến 1.000 vòng/phút
- Máy rửa khay vi thể (để đảm bảo an toàn trong việc xử lý các mẫu huyết tương, nên sử dụng máy rửa đĩa tự động)
- Đầu đọc khay vi thể được trang bị bộ lọc 450 nm và bộ lọc tham chiếu 620 nm đến 650 nm
- Xoáy biến tốc
- Máy ly tâm có khả năng ly tâm Ống Lấy máu ít nhất đến 3.000 RCF (g)
- Xi lanh chia độ, 1 lít hoặc 2 lít

\* Trước khi sử dụng, đảm bảo rằng các dụng cụ đã được kiểm tra và hiệu chuẩn theo khuyến nghị của nhà sản xuất.

# Cảnh báo và Biện pháp Phòng ngừa

Xin lưu ý rằng bạn có thể được yêu cầu tham khảo các quy định tại địa phương về cách báo cáo các sự cố nghiêm trọng đã xảy ra liên quan đến thiết bị cho nhà sản xuất và/hoặc đại diện được ủy quyền của nhà sản xuất và cơ quan quản lý nơi người dùng và/hoặc bệnh nhân cư trú.

Dùng cho mục đích sử dụng chẩn đoán in vitro.

## Thông tin an toàn

Khi làm việc với hóa chất, luôn mang áo choàng phòng thí nghiệm, găng tay dùng một lần và kính bảo hộ phù hợp. Để biết thêm thông tin, vui lòng tham khảo bảng chỉ dẫn an toàn (Safety Data Sheets, SDS) phù hợp. Các bảng này có sẵn trực tuyến ở định dạng PDF thuận tiện và nhỏ gọn tại [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) nơi bạn có thể tìm, xem và in SDS cho mỗi bộ dụng cụ QIAGEN và thành phần của bộ dụng cụ.

- Các bệnh phẩm và mẫu có khả năng lây nhiễm. Loại bỏ mẫu và chất thải xét nghiệm theo quy trình an toàn tại cửa địa phương của bạn.
- Kết quả QFT-Plus âm tính không loại trừ khả năng nhiễm khuẩn *M. tuberculosis* hoặc bệnh lao: kết quả âm tính giả có thể là do giai đoạn nhiễm bệnh (ví dụ: bệnh phẩm được lấy trước khi phát triển đáp ứng miễn dịch tế bào), việc xử lý Ống Lấy máu không đúng cách sau khi lấy máu qua đường tĩnh mạch, thực hiện xét nghiệm không chính xác hoặc các biến miễn dịch riêng lẻ khác bao gồm các biến liên quan đến bất kỳ bệnh đi kèm nào. Kháng thể dị ái hoặc sản xuất IFN- $\gamma$  không đặc hiệu từ các tình trạng viêm khác có thể che dấu các đáp ứng đặc hiệu đối với peptit ESAT-6 hoặc CFP-10.
- Kết quả QFT-Plus dương tính không nên là cơ sở duy nhất hoặc cuối cùng để xác định việc nhiễm khuẩn *M. tuberculosis*. Việc thực hiện xét nghiệm không chính xác có thể gây ra kết quả QFT-Plus dương tính giả.


- Sau khi có kết quả QFT-Plus dương tính, cần đánh giá y tế sâu hơn cho bệnh lao hoạt động (ví dụ: phết smear và nuôi cấy Acid Fast Bacilli, chụp X-quang ngực).
- Mặc dù ESAT-6 và CFP-10 không hiện diện ở tất cả các chủng BCG và hầu hết các khuẩn lao mycobacteria không gây bệnh lao đã biết, kết quả QFT-Plus dương tính có thể là do nhiễm *M. kansasii*, *M. szulgai* hoặc *M. marinum*. Nếu nghi ngờ nhiễm các khuẩn này, nên thực hiện các xét nghiệm bổ sung.
- Kết quả QFT-Plus âm tính giả có thể do lấy mẫu máu không chính xác hoặc xử lý mẫu bệnh phẩm không đúng cách ảnh hưởng đến chức năng tế bào bạch huyết. Vui lòng tham khảo phần “Quy trình: Thực hiện ELISA”, trang 20, để xử lý mẫu máu đúng cách. Sự chậm trễ trong quá trình ủ có thể gây ra kết quả âm tính giả hoặc không xác định và các thông số kỹ thuật khác có thể ảnh hưởng đến khả năng phát hiện đáp ứng IFN- $\gamma$  đáng kể.

## Thông tin khẩn cấp

CHEMTREC

Bên ngoài Hoa Kỳ & Canada +1 703-527-3887

## Các biện pháp phòng ngừa

<p><b>THẬN TRỌNG</b></p> 	<p>Xử lý máu người giống trường hợp có khả năng lây nhiễm.</p> <p>Tuân thủ các hướng dẫn xử lý máu có liên quan. Thải bỏ các mẫu và vật tư tiếp xúc với máu hoặc sản phẩm máu theo quy định của liên bang, tiểu bang và địa phương.</p>
--	---

### QuantIFERON Enzyme Stopping Solution



Chứa: axit sunfuric. Cảnh báo! Có thể ăn mòn kim loại. Gây kích ứng da. Gây kích ứng mắt nghiêm trọng. Đeo găng tay bảo hộ/ quần áo bảo hộ/ thiết bị bảo vệ mắt/ thiết bị bảo vệ mặt.

### QuantIFERON Enzyme Substrate Solution

Cảnh báo! Gây kích ứng da nhẹ. Đeo găng tay bảo hộ/ quần áo bảo hộ/ thiết bị bảo vệ mắt/ thiết bị bảo vệ mặt.

### QuantIFERON Green Diluent



Chứa: tartrazin. Cảnh báo! Có thể gây ra phản ứng dị ứng da. Đeo găng tay bảo hộ/ quần áo bảo hộ/ thiết bị bảo vệ mắt/ thiết bị bảo vệ mặt.

### QuantIFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Có hại cho đời sống thủy sinh với ảnh hưởng kéo dài. Không xả ra môi trường.



## Thông tin thêm

Bảng chỉ dẫn an toàn (Safety Data Sheets): [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)

- Thimerosal được sử dụng làm chất bảo quản trong một số thuốc thử QFT-Plus. Chất này có thể gây độc khi nuốt phải, hít phải hoặc tiếp xúc với da.
- Việc sử dụng khác với *Hướng dẫn Sử dụng QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)* có thể cho kết quả sai. Vui lòng đọc kỹ hướng dẫn trước khi sử dụng.
- Không sử dụng bộ dụng cụ nếu bất kỳ chai thuốc thử nào có dấu hiệu bị hỏng hoặc rò rỉ trước khi sử dụng.
- **Quan trọng:** Kiểm tra các lọ trước khi sử dụng. Không sử dụng các lọ Liên hợp hoặc Chất chuẩn IFN- $\gamma$  có dấu hiệu bị hỏng hoặc nếu vòng đệm cao su đã bị hỏng. Không xử lý các lọ bị hỏng. Thực hiện các biện pháp phòng ngừa an toàn thích hợp để thải bỏ lọ một cách an toàn. Nên sử dụng dụng cụ bẻ cong lọ để mở lọ Liên hợp hoặc Chất chuẩn IFN- $\gamma$  nhằm giảm thiểu nguy cơ bị thương do nắp kẹp kim loại.
- Không trộn lẫn hoặc sử dụng các dải Khay vi thể, Chất chuẩn IFN- $\gamma$ , Chất pha loãng Màu xanh lá hoặc Liên hợp 100x Đậm đặc từ các lô bộ dụng cụ QFT-Plus khác nhau. Các thuốc thử khác (Chất đệm rửa 20x Đậm đặc, Dung dịch Chất nền Enzym và Dung dịch Dừng Enzym) có thể được hoán đổi giữa các bộ dụng cụ với điều kiện thuốc thử còn hạn sử dụng và chi tiết lô hàng được ghi lại.
- Thải bỏ thuốc thử và mẫu sinh học không sử dụng theo quy định của địa phương, tiểu bang và liên bang.
- Không sử dụng bộ dụng cụ QFT-Plus ELISA kit sau ngày hết hạn.
- Phải luôn tuân thủ các quy trình phòng thí nghiệm chính xác.
- Đảm bảo rằng các thiết bị phòng thí nghiệm như máy rửa đĩa và đầu đọc đã được hiệu chuẩn/xác nhận để sử dụng.

# Bảo quản và Xử lý Thuốc thử

Cần chú ý đến ngày hết hạn và điều kiện bảo quản in trên hộp và nhãn của tất cả các thành phần. Không sử dụng các thành phần đã hết hạn hoặc được bảo quản không đúng cách.

## Độ ổn định khi sử dụng

- Bảo quản bộ dụng cụ ELISA ở nhiệt độ 2–8 °C.
- Luôn bảo vệ Dung dịch Chất nền Enzym khỏi ánh sáng mặt trời trực tiếp.

## Thuốc thử đã hoàn nguyên và chưa sử dụng

- Để biết hướng dẫn về cách hoàn nguyên thuốc thử, hãy tham khảo “Quy trình: Thực hiện ELISA”, trang 20.
- Chất chuẩn bộ dụng cụ đã hoàn nguyên có thể giữ được trong tối đa 3 tháng nếu được bảo quản ở 2–8 °C.

Lưu ý ngày chất chuẩn bộ dụng cụ được hoàn nguyên.

- Liên hợp đã hoàn nguyên 100x đậm đặc phải được đưa trở lại kho bảo quản ở nhiệt độ 2–8 °C và phải được sử dụng trong vòng 3 tháng.

Lưu ý ngày liên hợp được hoàn nguyên.

- Liên hợp độ bền tính toán phải được sử dụng trong vòng 6 giờ sau khi chuẩn bị.
- Có thể bảo quản chất đệm rửa ở nhiệt độ phòng trong tối đa 2 tuần.
- Dải khay vi thể chỉ dành cho sử dụng một lần. Các dải không sử dụng có thể được gỡ bỏ khỏi khung đĩa và bảo quản để sử dụng trong tương lai.

## Bảo quản và Xử lý Bệnh phẩm

Tham khảo *Hướng dẫn Sử dụng QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes* (1123668) để biết chi tiết về quy trình lấy máu cho xét nghiệm QFT-Plus.

# Quy trình: Thực hiện ELISA

Những điểm quan trọng trước khi bắt đầu

## Thiết lập (Thời gian cần thiết để thực hiện xét nghiệm)

- Để thu được kết quả hợp lệ từ xét nghiệm QFT-Plus, người vận hành cần thực hiện các tác vụ cụ thể trong khoảng thời gian đã đặt. Trước khi sử dụng xét nghiệm, người vận hành nên lập kế hoạch cẩn thận cho từng giai đoạn của xét nghiệm để có đủ thời gian thực hiện từng giai đoạn. Thời gian cần thiết được ước tính dưới đây; thời gian xét nghiệm nhiều mẫu theo lô cũng được chỉ rõ.
  - Khoảng 3 giờ cho một đĩa ELISA
  - <1 giờ nhân công
  - Thêm 10 đến 15 phút cho mỗi đĩa phụ

## IFN- $\gamma$ ELISA

- Tham khảo “Thành phần bộ dụng cụ”, trang 11 và “Vật tư Yêu cầu nhưng Không được Cung cấp”, trang 13 để biết các tài liệu cần thiết cho việc thực hiện ELISA.

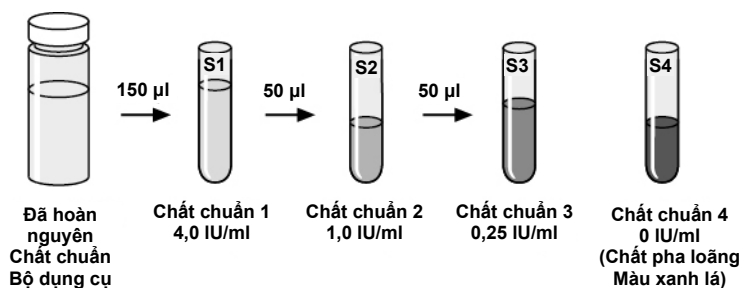
## Quy trình thực hiện

1. Tất cả các mẫu huyết tương và thuốc thử, ngoại trừ Liên hợp 100x Đậm đặc, phải được đưa về nhiệt độ phòng ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) trước khi sử dụng. Cân bằng trong ít nhất 60 phút.
2. Lấy các dải đĩa ELISA không cần thiết ra khỏi khung, đóng lại trong túi kim loại và cho vào tủ lạnh để bảo quản cho đến khi cần.

3. Cho phép ít nhất 1 dải đối với các chất chuẩn QFT-Plus và đủ dải đối với số lượng đối tượng được xét nghiệm (tham khảo Hình 2 để biết định dạng đĩa được khuyến nghị). Sau khi sử dụng, giữ lại khung và nắp để sử dụng với các dải còn lại.
- 3a. Hoàn nguyên Chất chuẩn IFN- $\gamma$  với thể tích nước khử ion hoặc nước cất được ghi trên nhãn của lọ. Trộn nhẹ nhàng để giảm thiểu bọt và đảm bảo rằng toàn bộ thành phần trong lọ được hòa tan hoàn toàn. Hoàn nguyên chất chuẩn IFN- $\gamma$  về thể tích chính xác sẽ tạo ra dung dịch có nồng độ 8,0 IU/ml.
- 3b. Sử dụng chất chuẩn đã hoàn nguyên, chuẩn bị một chuỗi pha loãng gồm 4 nồng độ IFN- $\gamma$  (tham khảo Hình 1).
- 3c. Cần tạo một đường chuẩn với các nồng độ IFN- $\gamma$  sau:
- S1 (Chất chuẩn 1) chứa 4,0 IU/ml
  - S2 (Chất chuẩn 2) chứa 1,0 IU/ml
  - S3 (Chất chuẩn 3) chứa 0,25 IU/ml
  - S4 (Chất chuẩn 4) chứa 0 IU/ml (chỉ riêng Chất pha loãng Màu xanh lá [Green Diluent, GD]).
- 3d. Các chất chuẩn phải được xét nghiệm ít nhất hai lần.
- 3e. Chuẩn bị độ pha loãng mới của chất chuẩn bộ dụng cụ cho mỗi phiên ELISA.

#### Quy trình thực hiện

A	Dán nhãn 4 ống: S1, S2, S3, S4
B	Thêm 150 $\mu$ l GD vào S1, S2, S3, S4
C	Thêm 150 $\mu$ l chất chuẩn bộ dụng cụ vào S1 và trộn kỹ
D	Chuyển 50 $\mu$ l từ S1 sang S2 và trộn kỹ
E	Chuyển 50 $\mu$ l từ S2 sang S3 và trộn kỹ
F	Chỉ riêng GD đóng vai trò là chất chuẩn 0 (S4)



**Hình 1. Chuẩn bị chuỗi pha loãng đường chuẩn**

4. Hoàn nguyên Liên hợp 100x Đậm đặc đông khô với 0,3 ml nước khử ion hoặc nước cất. Trộn nhẹ nhàng để giảm thiểu bọt và đảm bảo rằng toàn bộ thành phần trong lọ được hòa tan hoàn toàn.
  - 4a. Liên hợp độ bền tính toán được chuẩn bị bằng cách pha loãng lượng Liên hợp 100x Đậm đặc đã hoàn nguyên cần thiết trong Chất pha loãng Màu xanh lá (Bảng 1).
  - 4b. Liên hợp độ bền tính toán nên được sử dụng trong vòng 6 giờ sau khi chuẩn bị.
  - 4c. Trả bất kỳ Liên hợp 100x Đậm đặc chưa sử dụng nào về 2 °C đến 8 °C ngay sau khi sử dụng.

**Bảng 1. Chuẩn bị liên hợp (độ bền tính toán)**

Số dài	Thể tích liên hợp (100x đậm đặc)	Thể tích Chất pha loãng Màu xanh lá
2	10 µl	1,0 ml
3	15 µl	1,5 ml
4	20 µl	2,0 ml
5	25 µl	2,5 ml
6	30 µl	3,0 ml
7	35 µl	3,5 ml
8	40 µl	4,0 ml
9	45 µl	4,5 ml
10	50 µl	5,0 ml
11	55 µl	5,5 ml
12	60 µl	6,0 ml

5. Đối với các mẫu huyết tương được lấy từ Ống Lấy máu và sau đó được bảo quản (làm lạnh hoặc đông lạnh), hãy trộn kỹ mẫu được bảo quản trước khi thêm vào lọ ELISA. Có thể bảo quản các mẫu huyết tương trong QFT-Plus Blood Collection Tubes ly tâm trong tối đa 28 ngày ở 2–8 °C. Hoặc có thể bảo quản các mẫu huyết tương đã thu trong tối đa 28 ngày ở 2–8 °C. Cũng có thể bảo quản các mẫu huyết tương đã thu dưới –20 °C (tốt nhất là dưới –70 °C) trong thời gian dài.

Có thể nạp/sử dụng các mẫu huyết tương trực tiếp từ Ống Lấy máu ly tâm để đo trong đĩa QFT-Plus ELISA.

**Quan trọng:** Nếu các mẫu huyết tương được chuyển trực tiếp từ QFT-Plus Blood Collection Tubes ly tâm, thì nên tránh trộn lẫn huyết tương. Luôn chú ý không khuấy động vật liệu trên bề mặt gel.

6. Thêm 50 µl liên hợp độ bền tính toán được chuẩn bị mới vào mỗi lọ của đĩa ELISA.
7. Thêm 50 µl mẫu huyết tương xét nghiệm vào các lọ thích hợp (tham khảo cách đặt đĩa ELISA được khuyến nghị trong Hình 2).

8. Cuối cùng, thêm 50 µl mỗi Chất chuẩn từ 1 đến 4 vào các lọ của đĩa thích hợp (tham khảo cách đặt đĩa ELISA được khuyến nghị trong Hình 2). Các chất chuẩn nên được xét nghiệm ít nhất hai lần.

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

**Hình 2. Cách đặt đĩa ELISA được khuyến nghị.** S1 (Chất chuẩn 1), S2 (Chất chuẩn 2), S3 (Chất chuẩn 3), S4 (Chất chuẩn 4). 1N (Mẫu 1. Huyết tương mẫu chứng Nil), 1 TB1 (Mẫu 1. Huyết tương TB1), 1 TB2 (Mẫu 1. Huyết tương TB2), 1M (Mẫu 1. Huyết tương Mitogen).

- Đậy đĩa ELISA và trộn kỹ các mẫu/chất chuẩn liên hợp và huyết tương bằng cách sử dụng máy lắc khay vi thể trong 1 phút ở tốc độ 500 đến 1.000 vòng/phút. Tránh bắn tóe.
- Đậy đĩa ELISA và ủ ở nhiệt độ phòng ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) trong  $120 \pm 5$  phút. Đĩa ELISA không được tiếp xúc với ánh sáng mặt trời trực tiếp trong quá trình ủ. Độ lệch so với phạm vi nhiệt độ được chỉ định có thể dẫn đến kết quả sai.
- Trong quá trình ủ đĩa ELISA, chuẩn bị chất đệm rửa độ bền tính toán. Pha loãng một phần Chất đệm rửa 20x Đậm đặc với 19 phần nước khử ion hoặc nước cất và trộn kỹ. Đã cung cấp đủ Chất đệm rửa 20x Đậm đặc để chuẩn bị 2 lít chất đệm rửa độ bền tính toán.
- Khi quá trình ủ đĩa ELISA hoàn tất, rửa các lọ của đĩa ELISA với 400 µl chất đệm rửa độ bền tính toán. Thực hiện bước rửa ít nhất 6 lần. Nên sử dụng máy rửa đĩa tự động vì lý do an toàn khi xử lý các mẫu huyết tương.



Rửa kỹ là rất quan trọng đối với hiệu suất của xét nghiệm. Đảm bảo mỗi lọ được đổ đầy chất đệm rửa lên đến miệng lọ cho mỗi chu kỳ rửa. Khuyến nghị ngâm ít nhất 5 giây giữa mỗi chu kỳ.

Chất khử trùng phòng thí nghiệm tiêu chuẩn nên được thêm vào bình chứa nước thải và tuân theo các quy trình đã thiết lập để khử nhiễm vật liệu có khả năng lây nhiễm.

13. Đặt đĩa ELISA úp xuống khăn thấm nước (ít xơ vải) để loại bỏ chất đệm rửa còn sót lại. Thêm 100 µl Dung dịch Chất nền Enzym vào từng đĩa, đậy nắp đĩa và trộn kỹ trong 1 phút với tốc độ 500–1.000 vòng/phút bằng máy lắc khay vi thể.
14. Đậy đĩa ELISA và ủ ở nhiệt độ phòng ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) trong 30 phút. Đĩa ELISA không được tiếp xúc với ánh sáng mặt trời trực tiếp trong quá trình ủ.
15. Sau khi ủ 30 phút, thêm 50 µl Dung dịch Chất nền Enzym vào từng lọ theo thứ tự như khi chất nền được thêm vào và trộn kỹ ở tốc độ 500 đến 1.000 vòng/phút bằng máy lắc khay vi thể.
16. Đo Mật độ quang (Optical Density, OD) của các lọ của đĩa ELISA trong vòng 5 phút sau khi dừng phản ứng bằng cách sử dụng đầu đọc khay vi thể được trang bị bộ lọc 450 nm và với bộ lọc tham chiếu từ 620 nm đến 650 nm. Giá trị OD được sử dụng để tính kết quả.

# Kết quả (Tính toán)

Có thể sử dụng QFT-Plus Analysis Software để phân tích dữ liệu thô và tính toán kết quả. Phần mềm này có sẵn tại [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Vui lòng đảm bảo rằng phiên bản mới nhất của QFT-Plus Analysis Software được sử dụng.

Phần mềm thực hiện đánh giá Kiểm soát Chất lượng xét nghiệm, tạo đường chuẩn và cung cấp kết quả xét nghiệm cho từng đối tượng, như chi tiết trong phần “Giải thích Kết quả”, trang 30. Phần mềm báo cáo tất cả các nồng độ lớn hơn 10 IU/ml là “>10” vì các giá trị như vậy nằm ngoài phạm vi tuyến tính đã được xác thực của ELISA.

Là một giải pháp thay thế cho QFT-Plus Analysis Software, kết quả có thể được xác định theo phương pháp sau.

## Tạo đường chuẩn và giá trị mẫu

### Nếu QFT-Plus Analysis Software không được sử dụng

Cần có chương trình bảng tính, chẳng hạn như Microsoft® Excel® để xác định đường chuẩn và xác định giá trị IU/ml mẫu, nếu không sử dụng QFT-Plus Analysis Software.

### Sử dụng chương trình bảng tính

1. Xác định giá trị OD trung bình của các bản sao chất chuẩn bộ dụng cụ trên mỗi đĩa.
2. Dựng đường chuẩn  $\log_{(e)}-\log_{(e)}$  bằng cách vẽ đồ thị  $\log_{(e)}$  của OD trung bình (trục y) so với  $\log_{(e)}$  của nồng độ IFN- $\gamma$  của các chất chuẩn tính bằng IU/ml (trục x), bỏ qua chất chuẩn 0 từ các tính toán này. Tính toán dòng phù hợp nhất cho đường chuẩn bằng phân tích hồi quy.
3. Sử dụng đường chuẩn để xác định nồng độ IFN- $\gamma$  (IU/ml) cho từng mẫu huyết tương xét nghiệm, sử dụng giá trị OD của từng mẫu.

4. Có thể thực hiện những tính toán này bằng cách sử dụng các gói phần mềm có sẵn với đầu đọc khay vi thể và phần mềm thống kê hoặc bảng tính tiêu chuẩn (chẳng hạn như Microsoft Excel). Bạn nên sử dụng các gói này để tính toán phân tích hồi quy, hệ số biến thiên (%CV) cho các tiêu chuẩn và hệ số tương quan ( $r$ ) của đường chuẩn.

## Tính toán mẫu

Nếu thu được các chỉ số OD sau đây cho các chất chuẩn, các phép tính sử dụng  $-\log(e)$  sẽ tuân theo các phép tính trong Bảng 2.

**Bảng 2. Đường chuẩn**

Chất chuẩn	IU/ml	Giá trị OD a và b	OD Trung bình	%CV	Log <sub>(e)</sub> IU/ml	Log <sub>(e)</sub> Trung bình (OD)
Chất chuẩn 1	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
Chất chuẩn 2	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
Chất chuẩn 3	0,25	0,114, 0,136	0,125	Không áp dụng	-1,386	-2,079
Chất chuẩn 4	0	0,034, 0,037	0,036	Không áp dụng	Không áp dụng	Không áp dụng

Phương trình của đường cong là  $y = 0,7885(X) - 0,9837$ , trong đó “m” = 0,7885 và “c” = -0,9837. Các giá trị này được sử dụng trong phương trình  $X = (Y-c)/m$  để tìm X. Dựa trên đường chuẩn, hệ số tương quan được tính toán ( $r$ ) = 1.000. Không áp dụng: Không áp dụng.

Sử dụng các tiêu chí được chỉ định trong “Kiểm soát chất lượng xét nghiệm”, trang 28, tính hợp lệ của xét nghiệm được xác định.

Đường chuẩn (Bảng 2) được sử dụng để chuyển đổi các phản ứng OD Kháng nguyên sang Đơn vị Quốc tế (IU/ml).

**Bảng 3. Tính toán mẫu**

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

Giá trị IFN- $\gamma$  (tính bằng IU/ml) cho TB1, TB2 và Mitogen được hiệu chỉnh cho nền bằng cách trừ đi giá trị IU/ml thu được cho mẫu chứng Nil tương ứng. Các giá trị đã hiệu chỉnh này được sử dụng để giải thích kết quả xét nghiệm.

## Kiểm soát chất lượng xét nghiệm

Độ chính xác của kết quả xét nghiệm phụ thuộc vào việc tạo ra một đường chuẩn chính xác. Do đó, kết quả thu được từ các chất chuẩn phải được kiểm tra trước khi có thể diễn giải kết quả của mẫu xét nghiệm.

Để ELISA hợp lệ:

- Giá trị OD trung bình cho Chất chuẩn 1 phải  $\geq 0,600$ .
- %CV cho các giá trị lặp lại của Chất chuẩn 1 và Chất chuẩn 2 phải  $\leq 15\%$ .
- Các giá trị OD lặp lại cho Chất chuẩn 3 và Chất chuẩn 4 không được thay đổi quá 0,040 đơn vị mật độ quang so với giá trị trung bình của chúng.
- Hệ số tương quan ( $r$ ) tính được từ giá trị độ hấp thụ trung bình của các chất chuẩn phải  $\geq 0,98$ .
- Nếu các tiêu chí trên không được đáp ứng, lần chạy không hợp lệ và phải được lặp lại.
- Giá trị OD trung bình cho Chất chuẩn 0 (Chất pha loãng Màu xanh lá) phải  $\leq 0,150$ . Nếu giá trị OD trung bình  $> 0,150$ , quy trình rửa đĩa nên được nghiên cứu.

QFT-Plus Analysis Software tính toán và báo cáo các thông số kiểm soát chất lượng này.

Mỗi phòng thí nghiệm nên xác định các loại vật liệu mẫu chứng thích hợp và tần suất xét nghiệm theo quy định của địa phương, tiểu bang, liên bang hoặc các tổ chức kiểm định hiện hành khác. Đánh giá chất lượng bên ngoài và các quy trình xác nhận thay thế nên được xem xét.

**Lưu ý:** Các huyết tương được pha với IFN- $\gamma$  tái tổ hợp đã cho thấy nồng độ giảm tới 50% khi được bảo quản ở 2–8 °C và –20 °C. IFN- $\gamma$  tái tổ hợp không được khuyến nghị để thiết lập các tiêu chuẩn mẫu chứng.

# Giải thích Kết quả

Kết quả của QFT-Plus được giải thích bằng cách sử dụng các tiêu chí sau Bảng 4.

**Quan trọng:** Chẩn đoán hoặc loại trừ bệnh lao và đánh giá xác suất LTBI đòi hỏi phải kết hợp các phát hiện dịch tễ học, bệnh sử, bệnh lý và chẩn đoán cần được tính đến khi giải thích kết quả của QFT-Plus. Xem hướng dẫn chung về chẩn đoán và điều trị TB và LTBI: (<https://www.cdc.gov/tb/publications/guidelines/default.htm>).

**Bảng 4. Giải thích Kết quả Xét nghiệm QFT-Plus**

Nil (IU/ml)	TB1 trừ Nil (IU/ml)	TB2 trừ Nil (IU/ml)	Mitogen trừ Nil (IU/ml)*	Kết quả QFT-Plus	Báo cáo/Giải thích
≤8,0	≥0,35 và ≥25% của Nil	Bất kỳ	Bất kỳ	Dương tính†	Có khả năng nhiễm khuẩn <i>M. tuberculosis</i>
	Bất kỳ	≥0,35 và ≥25% của Nil			
	<0,35 hoặc ≥0,35 và <25% của Nil	<0,35 hoặc ≥0,35 và <25% của Nil	≥0,50	Âm tính	KHÔNG có khả năng nhiễm khuẩn <i>M. tuberculosis</i>
	<0,35 hoặc ≥0,35 và <25% của Nil	<0,35 hoặc <0,35 và <25% của Nil	<0,50	Không xác định‡	Không xác định được khả năng nhiễm khuẩn <i>M. tuberculosis</i>
>8,0§	Bất kỳ				

\* Các phản ứng với mẫu chứng dương tính với Mitogen (và đôi khi là Kháng nguyên TB) có thể nằm ngoài phạm vi của đầu đọc khay vi thể. Điều này không ảnh hưởng đến kết quả xét nghiệm. Các giá trị >10 IU/ml được phần mềm QFT-Plus báo cáo là >10 IU/ml.

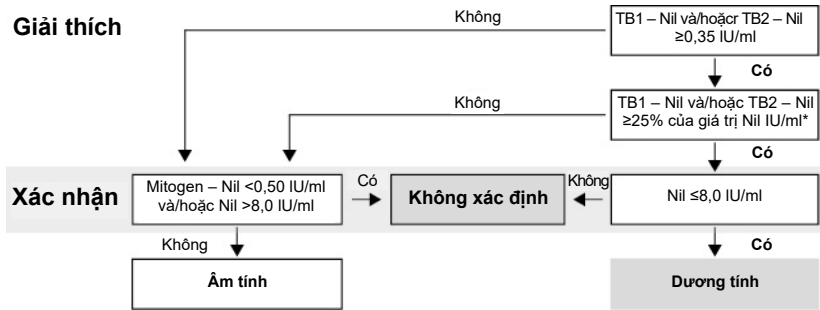
† Trong trường hợp không nghi ngờ nhiễm khuẩn *M. tuberculosis*, có thể xác nhận kết quả dương tính ban đầu bằng cách xét nghiệm lại các mẫu huyết tương ban đầu trong QFT-Plus ELISA. Nếu xét nghiệm lặp lại một hoặc cả hai lần đều dương tính, thì kết quả xét nghiệm được coi là dương tính.

‡ Tham khảo “Hướng dẫn Xử lý sự cố”, trang 66 để biết các nguyên nhân có thể xảy ra.

§ Trong các nghiên cứu lâm sàng, ít hơn 0,25% đối tượng có mức IFN-γ >8,0 IU/ml đối với giá trị Nil.

Độ lớn của mức IFN-γ đo được không thể tương quan với giai đoạn hoặc mức độ nhiễm, mức độ đáp ứng miễn dịch hoặc khả năng tiến triển thành bệnh hoạt động. Đáp ứng TB dương tính ở những người âm tính với Mitogen là rất hiếm nhưng đã được thấy ở những bệnh nhân mắc TB. Điều này cho thấy phản hồi IFN-γ với các kháng nguyên TB lớn hơn với

Mitogen, điều này có thể xảy ra do mức Mitogen không kích thích tối đa việc sản xuất IFN- $\gamma$  bởi các tế bào bạch huyết.



**Hình 3. Giải thích xét nghiệm QFT-Plus.** \*Để giá trị TB1 trừ Nil hoặc TB2 trừ Nil hợp lệ,  $\geq 25\%$  giá trị Nil IU/ml phải từ cùng một ống với kết quả  $\geq 0,35$  IU/ml ban đầu.

# Hạn chế

Kết quả từ xét nghiệm QFT-Plus phải được sử dụng cùng với bệnh sử dịch tễ, bệnh lý hiện tại và các đánh giá chẩn đoán khác của mỗi người.

Các cá nhân có giá trị Nil lớn hơn 8 IU/ml được phân loại là “Indeterminate” (Không xác định) vì mức đáp ứng cao hơn 25% đối với Kháng nguyên TB có thể nằm ngoài phạm vi đo lường của xét nghiệm.

- Giá trị tiên đoán của kết quả QFT-Plus dương tính trong chẩn đoán nhiễm khuẩn *M. tuberculosis* phụ thuộc vào khả năng nhiễm, được đánh giá bằng các phát hiện lịch sử, dịch tễ học, chẩn đoán và các phát hiện khác.
- Chẩn đoán LTBI đòi hỏi phải loại trừ bệnh lao bằng cách đánh giá y tế bao gồm đánh giá các xét nghiệm y tế và chẩn đoán bệnh hiện tại theo chỉ định.
- Kết quả âm tính phải được xem xét với dữ liệu lịch sử và y tế của cá nhân liên quan đến khả năng nhiễm khuẩn *M. tuberculosis* và nguy cơ tiềm ẩn tiến triển thành bệnh lao, đặc biệt đối với những người bị suy giảm chức năng miễn dịch.

Có thể xảy ra kết quả không đáng tin cậy hoặc không xác định do:

- Sai lệch so với quy trình được mô tả trong Hướng dẫn Sử dụng
- Vận chuyển/xử lý mẫu máu không đúng cách
- Nồng độ IFN- $\gamma$  lưu thông tăng cao hoặc xuất hiện các kháng thể heterophile
- Vượt quá thời gian lấy máu đã được xác nhận từ khi lấy mẫu máu đến khi ủ.  
Tham khảo *Hướng dẫn Sử dụng QFT-Plus Blood Collection Tubes* (1123668).



# Đặc tính Hiệu suất

## Nghiên cứu Lâm sàng

Vì không có xét nghiệm mẫu chuẩn đáng tin cậy nào để xác nhận hoặc loại trừ chẩn đoán LTBI nên không thể đánh giá ước tính độ nhạy và tính đặc hiệu của QFT-Plus trên thực tế. Tính đặc hiệu của QFT-Plus được ước tính bằng cách đánh giá tỷ lệ dương tính giả ở những người có nguy cơ nhiễm lao thấp (không có yếu tố nguy cơ đã biết). Độ nhạy được ước tính bằng cách đánh giá các nhóm đối tượng nghiên cứu mắc TB hoạt động được xác nhận bằng nuôi cấy. Ngoài ra, hiệu suất của xét nghiệm được đánh giá về tỷ lệ dương tính và âm tính trong một nhóm đối tượng khỏe mạnh với các yếu tố nguy cơ nhiễm lao đã được xác định (nhóm nguy cơ hỗn hợp).

## Tính đặc hiệu

Một nghiên cứu đa trung tâm đánh giá tính đặc hiệu lâm sàng của QFT-Plus đã được thực hiện bao gồm 733 đối tượng nghiên cứu được coi là có nguy cơ nhiễm khuẩn *M. tuberculosis* thấp hoặc không có yếu tố nguy cơ nhiễm hoặc bị bệnh. Thông tin nhân khẩu học và các yếu tố nguy cơ khi phơi nhiễm TB được xác định bằng cách sử dụng một cuộc khảo sát tiêu chuẩn tại thời điểm xét nghiệm. Nghiên cứu được thực hiện tại bốn địa điểm độc lập, bao gồm một ở Hoa Kỳ, hai ở Nhật Bản và một ở Úc. Xét nghiệm QFT-Plus được so sánh với xét nghiệm QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT). Bản tóm tắt về dữ liệu hiệu suất đặc hiệu lâm sàng, được phân tầng theo địa điểm nghiên cứu và khu vực, được cung cấp trong Bảng 5. Kết quả thực hiện dựa trên tổng số xét nghiệm hợp lệ. Không có kết quả không xác định.

**Bảng 5. Tính đặc hiệu của QFT-Plus trong nhóm có nguy cơ thấp**

Địa điểm	N	Dương tính		Âm tính		Không xác định		Tính đặc hiệu (CI 95%)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
<b>Hoa Kỳ</b>									
(#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)
<b>Nhật Bản</b>									
(#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)
Tổng số Nhật Bản	322	4	7	318	315	0	0	98,76% (318/322) (96,85– 99,52)	97,83% (315/322) (95,6– 98,9)
<b>Australia</b>									
(#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)

Tính đặc hiệu của QFT-Plus là 98,11% ở Hoa Kỳ, 97,83% ở Nhật Bản và 95,48% ở Úc. Tính đặc hiệu chung của QFT-Plus là 97,27% (713/733). Tính đặc hiệu của QFT là 99,06% ở Mỹ, 98,76% ở Nhật Bản và 95,98% ở Úc. Tính đặc hiệu tổng thể của QFT là 98,09% (719/733).

Phân tích kết quả theo loại TB antigen tube và tổ hợp kết quả được hiển thị để cung cấp một ví dụ về kết quả mong đợi trong nhóm có nguy cơ thấp (Bảng 6).

**Bảng 6. Kết quả Nghiên cứu Tính đặc hiệu của QFT-Plus bằng TB Antigen Tube**

Giải thích dựa trên Kháng nguyên TB-Nil			QFT-Plus (dương tính với TB1 và/hoặc TB2)*	TB1 và TB2 dương tính phù hợp (phân tích thay thể) <sup>†</sup>
	IU/ml trong	TB1		
Dương tính	10	18	20	8
Âm tính	723	715	713	725
Không xác định	0	0	0	0
Tính đặc hiệu (CI 95%)	–	–	97,3% (713/733) (95,8–98,2)	–
Tỷ lệ âm tính (CI 95%)	98,6% (723/733) (97,5–99,3)	97,5% (715/733) (96,2–98,4)	–	98,9% (725/733) (97,9–99,5)

\* Giải thích dựa trên kháng nguyên TB – Giá trị Nil  $\geq 0,35$  IU/ml ở cả hai (TB1 và TB2) hoặc một trong hai ống TB để phù hợp với tiêu chí giải thích đối với QFT-Plus (TB1 hoặc TB2) được xác định là dương tính.

<sup>†</sup> Phân tích thay thế chỉ được cung cấp cho mục đích thông tin.

Ở đối tượng có nguy cơ nhiễm TB thấp, có 20/733 đối tượng cho kết quả dương tính. Trong số này, chỉ có 8 đối tượng trả về giá trị  $>0,35$  IU/ml ở cả hai ống TB1 và TB2. So sánh giữa xét nghiệm QFT với xét nghiệm QFT-Plus đã được thực hiện trong nhóm nghiên cứu nguy cơ thấp và cho thấy độ tương hợp tổng thể là 97,5% (715/733) và định chuẩn tỷ lệ phần trăm âm tính là 98,3% (707/719).

## Độ nhạy

Mặc dù không có xét nghiệm mẫu chuẩn đáng tin cậy cho LTBI, nhưng một phương pháp thay thế phù hợp là nuôi cấy vi sinh *M. tuberculosis* vì nhiễm TB là tiền đề cần thiết của bệnh.

Một nghiên cứu đa trung tâm đánh giá độ nhạy lâm sàng của QFT-Plus đã được thực hiện bao gồm 434 đối tượng nghiên cứu có các dấu hiệu và triệu chứng của bệnh *M. tuberculosis* hoạt động được xác nhận bằng nuôi cấy và/hoặc PCR và không được điều trị TB hoặc đang điều trị  $\leq 14$  ngày điều trị trước khi lấy máu. Nghiên cứu được thực hiện tại 7 địa điểm độc lập bao gồm ba địa điểm ở Hoa Kỳ, ba địa điểm ở Nhật Bản và một địa điểm ở Úc.

Xét nghiệm QFT-Plus được so sánh với xét nghiệm QuantiFERON-TB Gold in Tube (QFT). Bản tóm tắt về dữ liệu hiệu suất độ nhạy lâm sàng, được phân tầng theo địa điểm nghiên cứu và quốc gia, được cung cấp trong Bảng 7. Kết quả thực hiện dựa trên tổng số xét nghiệm hợp lệ. Tần suất của kết quả không xác định đối với QFT và QFT-Plus lần lượt là 2,3% (10/434) và 2,5% (11/434).

**Bảng 7. Tóm tắt hiệu suất của nghiên cứu độ nhạy lâm sàng được phân tầng theo địa điểm, quốc gia và tổng thể**

Địa điểm	N	Dương tính		Âm tính		Không xác định		Độ nhạy (CI 95%)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
<b>Hoa Kỳ</b>									
(#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)
Tổng số Hoa Kỳ	53	47	47	6	6	0	0	88,7% (47/53) (77,4–94,7)	88,7% (47/53) (77,4–94,7)
<b>Nhật Bản</b>									
(#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)

Bảng tiếp tục ở trang sau

Bảng tiếp tục từ trang trước

**Bảng 7. Tóm tắt hiệu suất của nghiên cứu độ nhạy lâm sàng được phân tầng theo địa điểm, quốc gia và tổng thể (tiếp)**

Địa điểm	N	Dương tính		Âm tính		Không xác định		Độ nhạy (CI 95%)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
(#6) JPN-1	177	159	157	12	15	6	5	92,98% (159/171) (88,14– 95,94)	91,28% (157/172) (86,11– 94,64)
Tổng số Nhật Bản	352	328	322	15	19	9	11	95,63% (328/343) (92,91– 97,33)	94,43% (322/341) (91,5–96,4)
<b>Australia</b>									
(#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)

Phân tích trong bảng trên không bao gồm các kết quả không xác định.

Độ nhạy của QFT-Plus là 88,7% ở Hoa Kỳ, 94,43% ở Nhật Bản và 100,0% ở Úc. Độ nhạy tổng thể của QFT-Plus là 94,09% (398/423). Độ nhạy của QFT là 88,7% ở Mỹ, 95,63% ở Nhật Bản và 96,43% ở Úc. Độ nhạy tổng thể của QFT là 94,81% (402/424).

Phân tích kết quả theo loại TB antigen tube và tổ hợp các ống được hiển thị để cung cấp một ví dụ về kết quả mong đợi trong nhóm nhiễm lao được xác nhận (Bảng 8).

**Bảng 8. Kết quả nghiên cứu độ nhạy của QFT-Plus bằng TB antigen tube**

<b>Giải thích dựa trên Kháng nguyên TB-Nil tính bằng IU/ml</b>	<b>TB1</b>	<b>TB2</b>	<b>QFT-Plus (dương tính với TB1 và/hoặc TB2)</b>
Dương tính	388	397	398
Âm tính	32	26	25
Không xác định	14	11	11
Độ nhạy* (CI 95%)	–	–	94% (398/423) (91,4–96,0)
Tỷ lệ dương tính* (CI 95%)	92,4% (388/420) (89,4–94,6)	93,9% (397/423) (91,1–95,8)	–

\* Không bao gồm các giá trị không xác định.

So sánh xét nghiệm QFT và xét nghiệm QFT-Plus được đánh giá trong nhóm nhiễm TB hoạt động được xác nhận bằng nuôi cấy (nhóm nghiên cứu độ nhạy) và cho thấy độ tương hợp tổng thể là 95,9% và định chuẩn tỷ lệ phần trăm dương tính là 97,3% (391/402).

**Bảng 9. Tỷ lệ khả năng QFT-Plus**

<b>Địa điểm*</b>	<b>Độ nhạy</b>	<b>Tính đặc hiệu</b>	<b>LR+</b>	<b>LR-</b>
Australia	100,00%	95,48%	22,11	0,00
Nhật Bản	94,43%	97,83%	43,44	0,06
Hoa Kỳ	88,68%	98,11%	47,00	0,12

\* Tổng

## Hiệu suất ở những đối tượng có các yếu tố nguy cơ đã xác định đối với nhiễm MTB (những người có nguy cơ hỗn hợp)

Một nhóm gồm 601 người có nhiều yếu tố nguy cơ nhiễm lao khác nhau (ví dụ: dương tính với HIV, tiền sử điều trị TB hoạt động hoặc tiềm ẩn, phơi nhiễm với ca bệnh TB hoạt động, tình trạng HCW, v.v.) được đánh giá bằng cả xét nghiệm QFT và QFT-Plus. Các yếu tố nguy cơ được xác định bằng một cuộc khảo sát tiêu chuẩn và các cá nhân không có triệu chứng nào liên quan đến TB hoạt động tại thời điểm tuyển chọn. Nhân khẩu học và các yếu tố nguy cơ được báo cáo trong Bảng 10. Trong nhóm này, 68/601 (11,3%) đối tượng cho kết quả QFT-Plus dương tính, với định chuẩn tỷ lệ phần trăm dương tính (Positive Percent Agreement, PPA) và định chuẩn tỷ lệ phần trăm âm tính (Negative Percent Agreement, NPA) lần lượt là 98,44% và 99,07% (Bảng 11). Trong nhóm gồm 68 đối tượng dương tính với QFT-Plus này, tổng cộng 62 đối tượng dương tính với cả ống TB1 và TB2, 2 đối tượng chỉ dương tính với TB1 và 4 đối tượng dương tính với chỉ TB2. Không quan sát được kết quả không xác định (0/601).



**Bảng 10. Nhân khẩu học và các yếu tố liên quan đến nguy cơ nhiễm TB trong một nhóm hỗn hợp**

<b>Tổng số đối tượng (601)</b>		<b>Số lượng</b>	<b>Tỷ lệ phần trăm</b>
Giới tính	Nam giới	539	89,7%
	Nữ giới	62	10,3%
Độ tuổi	Phạm vi	18-70	–
	Trung bình	46,7	–
Đã tiêm vắc-xin BCG	Có	15	2,5%
	Không	586	97,5%
Dương tính với HIV hoặc xét nghiệm dương tính với vi-rút HTLV	Có	12	2,0%
	Không	589	98%
Trước đây được chẩn đoán mắc TB hoạt động	Có	11	1,8%
	Không	590	98,2%
Có xét nghiệm lao tố (Tuberculin Skin Test, TST)/Mantoux dương tính để tìm TB	Có	47	7,8%
	Không	554	92,2%
Đã từng được điều trị TB hoạt động hoặc tiềm ẩn	Có	35	5,8%
	Không	566	94,2%
Đã sống, làm việc hoặc làm tình nguyện (> 1 tháng) trong nhà giam hoặc nhà tù	Có	373	62,1%
	Không	228	37,9%
Đã sống, làm việc hoặc làm tình nguyện (> 1 tháng) tại trại vô gia cư	Có	525	87,4%
	Không	76	12,6%
Nhân viên y tế	Có	8	1,3%
	Không	593	98,7%
Tiếp xúc gần với người mắc hoặc nghi mắc TB hoạt động	Có	9	1,5%
	Không	592	98,5%

**Bảng 11. Hiệu suất tóm tắt của QFT-Plus so với QFT ở những đối tượng có các yếu tố nguy cơ nhiễm TB tiềm ẩn đã biết**

		QFT		
		Dương tính (+)	Âm tính (-)	Tổng
QFT-Plus	Dương tính (+)	63	5*	68
	Âm tính (-)	1*	532	533
	Tổng	64	537	601

\*Tất cả 6 mẫu trái ngược đều có mức IFN- $\gamma$  của TB Antigen tube gần với ngưỡng xét nghiệm.

Định chuẩn phần trăm dương tính (Positive Percent Agreement, PPA) và định chuẩn phần trăm âm tính (Negative Percent Agreement, NPA) giữa các kết quả của QFT và QFT- Plus như sau:

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

Bảng 12 dưới đây minh họa hiệu suất của QFT-Plus so với xét nghiệm QFT ở các đối tượng nghiên cứu đã tiêm vắc-xin BCG.

**Bảng 12. Hiệu suất của QFT-Plus so với Xét nghiệm QFT ở các đối tượng nghiên cứu đã tiêm vắc-xin BCG (dữ liệu tổng hợp từ các đối tượng nghiên cứu về độ nhạy, tính đặc hiệu và LTBI)**

		QFT		
		Dương tính (+)	Âm tính (-)	Tổng
QFT-Plus	Dương tính (+)	66	5	71
	Âm tính (-)	3	268	271
	Tổng	69	273	342*

\* Hai đối tượng nghiên cứu độ nhạy đã bị loại khỏi phân tích do kết quả không xác định

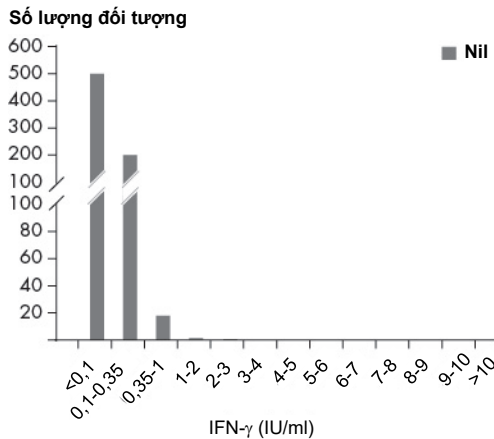
- PPA = 95,6% (66/69), CI 95% (87,98, 98,51)
- NPA = 98,2% (268/273), CI 95% (95,79, 99,22)

## Giá trị mong muốn

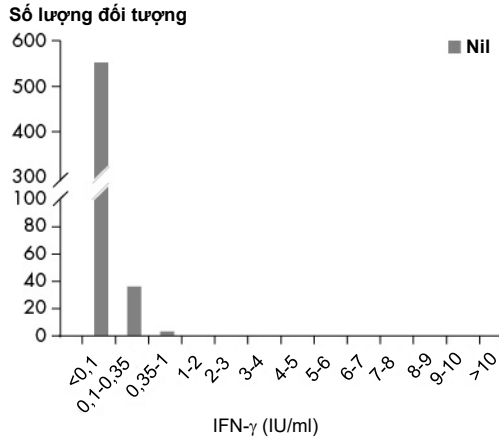
### Phân phối phản hồi quan sát được — phân tầng nguy cơ

Đã quan sát thấy một loạt các phản hồi IFN- $\gamma$  với TB1, TB2 và ống mẫu chứng trong các thử nghiệm lâm sàng và được phân tầng theo nguy cơ nhiễm lao khuẩn *M. tuberculosis* (Hình 4 đến Hình 7). Nhóm nguy cơ hỗn hợp bao gồm các đối tượng đại diện cho nhóm xét nghiệm chung, bao gồm các đối tượng có và không có các yếu tố nguy cơ phơi nhiễm TB và không có khả năng nhiễm TB hoạt động (tức là LTBI).

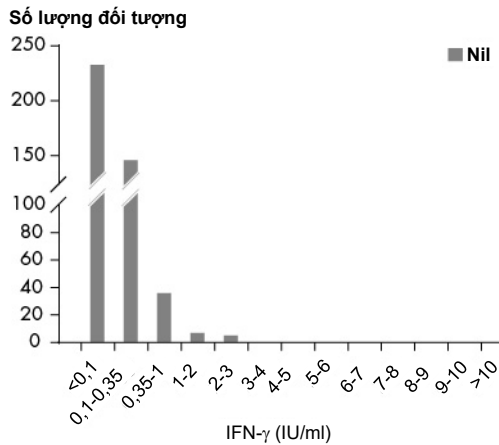
A



B

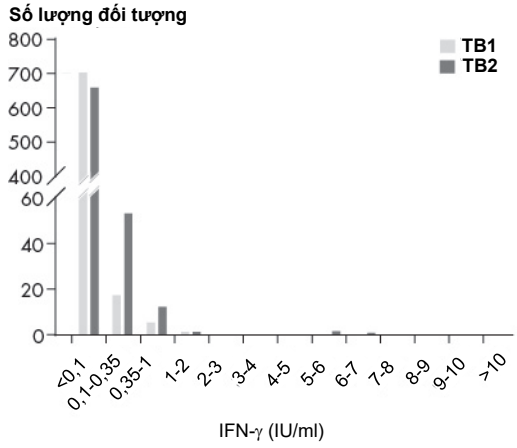


C

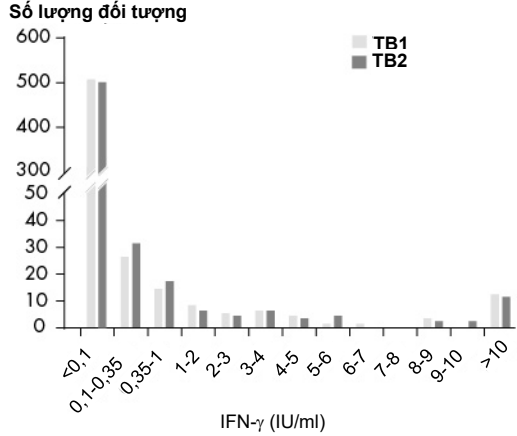


**Hình 4. Phân phối Nil.** A Phân phối giá trị Nil trong nhóm có nguy cơ thấp (n=744). B Phân phối giá trị Nil trong nhóm có nguy cơ hỗn hợp (n=601). C Phân phối giá trị Nil trong nhóm nhiễm khuẩn *M. tuberculosis* được xác nhận bằng nuôi cấy (n=416).

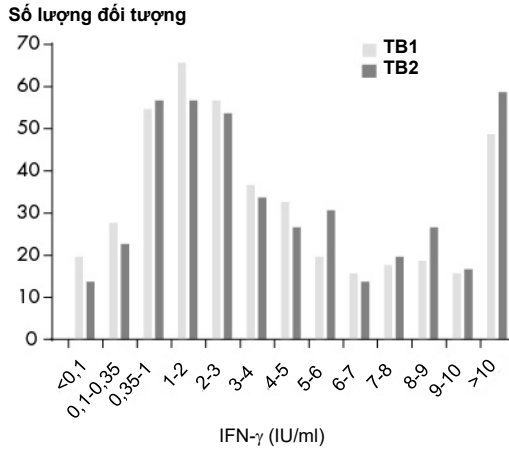
A



B

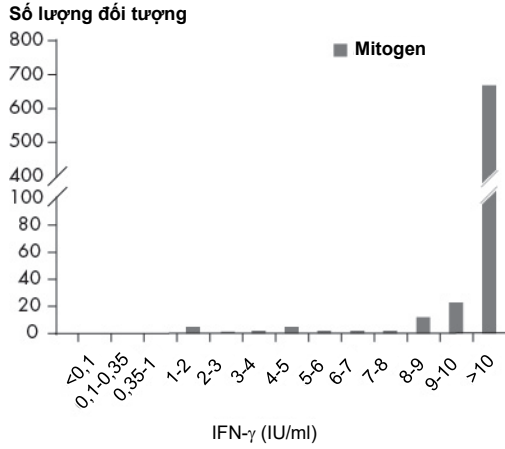


C

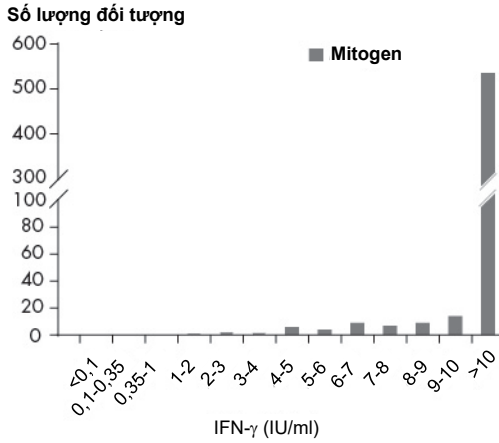


**Hình 5. Phân phối TB1 và TB2 (đã trừ Nil).** A Phân phối các giá trị TB1 và TB2 (đã trừ Nil) trong nhóm có nguy cơ thấp (n=744). B Phân phối các giá trị TB1 và TB2 (đã trừ Nil) trong nhóm có nguy cơ hỗn hợp (n=601). C Phân phối các giá trị TB1 và TB2 (đã trừ Nil) trong nhóm nhiễm khuẩn *M. tuberculosis* được xác nhận bằng nuôi cấy (n=416).

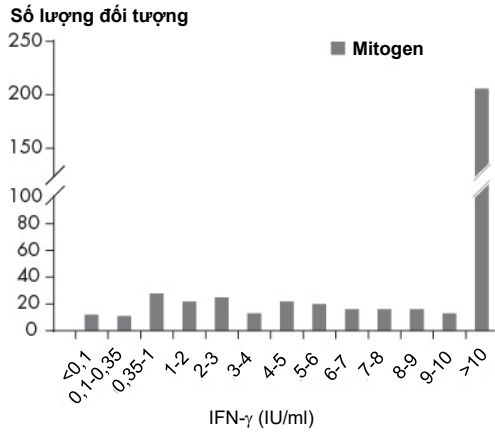
A



B

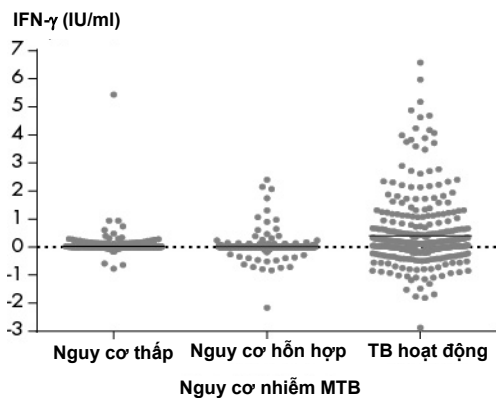


C



**Hình 6. Phân phối Mitogen (đã trừ Nil).** A Phân phối giá trị Mitogen (đã trừ Nil) trong nhóm có nguy cơ thấp (n=744). B Phân phối giá trị Mitogen (đã trừ Nil) trong nhóm có nguy cơ hỗn hợp (n=601). C Phân phối các giá trị Mitogen (đã trừ Nil) trong nhóm nhiễm khuẩn *M. tuberculosis* được xác nhận bằng nuôi cấy (n=415).





**Hình 7. Chênh lệch quan sát được giữa các giá trị TB1 và TB2 (Đã trừ Nil), được phân tầng theo nguy cơ.** Bao gồm dữ liệu từ nghiên cứu nhóm nguy cơ hỗn hợp để chỉ ra chênh lệch giữa các nhóm nguy cơ thấp, nguy cơ hoạt động và nguy cơ hỗn hợp. Phân tích dữ liệu này bao gồm một nhóm nguy cơ hỗn hợp với các yếu tố nguy cơ đã biết. Do đó, từ nhóm nguy cơ thấp n=733, từ nhóm nguy cơ hỗn hợp n=588 và từ nhóm nhiễm TB hoạt động n=357. Chênh lệch định lượng tính bằng IU/ml đối với mỗi đối tượng thu được bằng cách lấy giá trị TB2 trừ đi giá trị TB1.

## Tóm tắt về An toàn và Hiệu suất

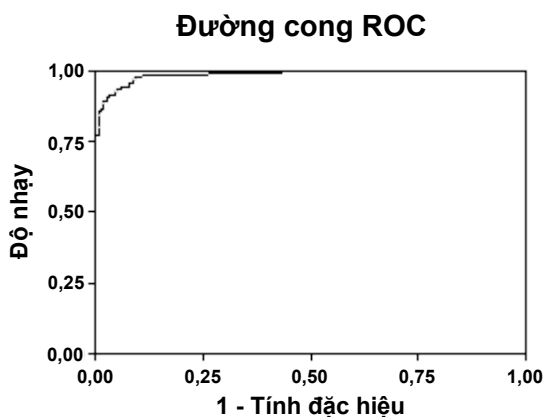
Có thể tìm thấy bản tóm tắt về an toàn và hiệu suất trên trang web EUDAMED.

# Đặc tính Hiệu suất Xét nghiệm

## Hiệu suất phân tích

### Ngưỡng xét nghiệm

Ngưỡng xét nghiệm QFT-Plus được xác định bằng cách sử dụng dữ liệu từ 216 đối tượng không có yếu tố nguy cơ phơi nhiễm TB đã được xác định, những người đã tiêm vắc-xin BCG và được cho là không bị nhiễm bệnh và 118 đối tượng nhiễm khuẩn *M. tuberculosis* được xác nhận bằng nuôi cấy. Dữ liệu về độ nhạy và tính đặc hiệu được kết hợp và phân tích bằng phân tích đường cong Đặc tính của Người vận hành Máy thu (Receiver Operator Characteristic, ROC). Dữ liệu về độ nhạy và tính đặc hiệu được phân tích bằng phân tích ROC đã chứng minh rằng ngưỡng ELISA tối ưu là 0,35 IU/ml (xem Hình 8).



**Hình 8. Đường cong ROC cho các Phản hồi ESAT-6 và CFP-10.**

**Bảng 13. Giá trị Độ nhạy và Tính đặc hiệu cho ELISA ở Các ngưỡng Khác nhau**

Ngưỡng IU/ml IFN- $\gamma$	Độ nhạy %	CI 95%	Tính đặc hiệu %	CI 95%	Độ nhạy + Tính đặc hiệu
0,20	91,53	84,97% đến 95,86%	96,31	92,87% đến 98,40%	187,84
0,23	91,53	84,97% đến 95,86%	96,77	93,47% đến 98,69%	188,30
0,26	90,68	83,93% đến 95,25%	96,77	93,47% đến 98,69%	187,45
0,28	90,68	83,93% đến 95,25%	97,24	94,08% đến 98,98%	187,92
0,30	89,83	82,91% đến 94,63%	97,24	94,08% đến 98,98%	187,07
0,31	88,98	81,90% đến 94,00%	97,24	94,08% đến 98,98%	186,22
0,33	88,98	81,90% đến 94,00%	97,70	94,71% đến 99,25%	186,68
0,35	88,98	81,90% đến 94,00%	98,16	95,35% đến 99,50%	187,14
0,39	88,14	80,90% đến 93,36%	98,16	95,35% đến 99,50%	186,3
0,42	87,29	79,90% đến 92,71%	98,16	95,35% đến 99,50%	185,45
0,43	86,44	78,92% đến 92,05%	98,16	95,35% đến 99,50%	184,6
0,45	86,44	78,92% đến 92,05%	98,62	96,01% đến 99,71%	185,06

Bảng tiếp tục ở trang sau

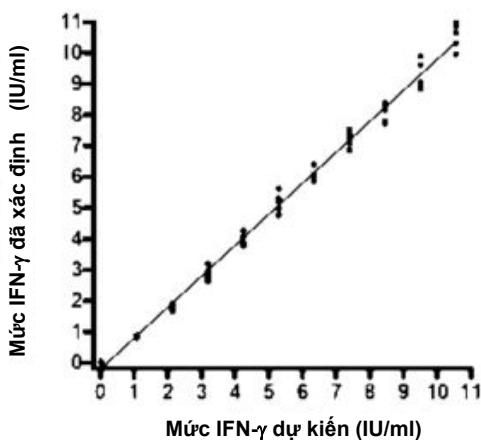
Bảng tiếp tục từ trang trước

**Bảng 13. Giá trị Độ nhạy và Tính đặc hiệu cho ELISA ở Các ngưỡng Khác nhau**

Ngưỡng IU/ml IFN- $\gamma$	Độ nhạy %	CI 95%	Tính đặc hiệu %	CI 95%	Độ nhạy + Tính đặc hiệu
0,47	85,59	77,94% đến 91,38%	99,08	96,71% đến 99,89%	184,67
0,48	84,75	76,97% đến 90,70%	99,08	96,71% đến 99,89%	183,83
0,50	83,90	76,00% đến 90,02%	99,08	96,71% đến 99,89%	182,98

## Độ tuyến tính

QFT-Plus ELISA đã được chứng minh là tuyến tính bằng cách đặt ngẫu nhiên 5 bản sao của 11 nhóm huyết tương có nồng độ IFN- $\gamma$  đã biết trên đĩa ELISA. Đường hồi quy tuyến tính có độ dốc là  $1,002 \pm 0,011$  và hệ số tương quan là 0,99 (Hình 9).



**Hình 9. Minh họa Phân tích Hồi quy Nghiệm cứu Tuyến tính – Trung bình Nhóm Cao = -0,24 +0,9964 •Dự kiến.**

## Khả năng tái lập

Một nghiên cứu về khả năng tái lập của nghiên cứu đa trung tâm đã được tiến hành để đánh giá hiệu suất của QFT-Plus trên các địa điểm nghiên cứu với nhiều người vận hành. Đây là một nghiên cứu tiến cứu được thực hiện tại ba địa điểm xét nghiệm bên ngoài và một địa điểm thu thập. Tổng cộng có 32 đối tượng nghiên cứu dương tính và 34 đối tượng nghiên cứu âm tính (được xác định bằng xét nghiệm QFT) đã được đăng ký. Đối tượng nghiên cứu bao gồm các nhân viên y tế tại Hoa Kỳ. Các đối tượng nghiên cứu đại diện cho các nhóm có nguy cơ phơi nhiễm TB hỗn hợp do nghề nghiệp của họ hoặc là nhân viên y tế sinh ra ở nước ngoài đến từ một địa điểm có tỷ lệ mắc bệnh lao vượt quá 50/100.000.

Ba Ống Lấy máu lithium-heparin được lấy từ mỗi đối tượng nghiên cứu tại địa điểm thu thập. Sau đó, các Ống Lấy máu lithium-heparin được chuyển đến từng địa điểm trong số ba địa điểm xét nghiệm, tại đó chúng được chia thành hai bộ QFT-Plus Blood Collection Tubes (QFT-Plus TB1, TB2, Mitogen và Nil) rồi được xét nghiệm theo quy trình xét nghiệm QFT-Plus. Tại mỗi địa điểm, ít nhất hai người vận hành đã chạy hai xét nghiệm độc lập cho mỗi đối tượng nghiên cứu. Mỗi người vận hành không được biết các kết quả mà người vận hành khác thu được và không được biết kết quả xét nghiệm QFT của đối tượng nghiên cứu.

Có sáu kết quả được tạo trên cả ba địa điểm xét nghiệm cho mỗi đối tượng trong số 66 đối tượng nghiên cứu, dẫn đến tổng cộng 396 điểm dữ liệu. Bản tóm tắt các kết quả tóm tắt khả năng tái lập được cung cấp trong Bảng 14.

**Bảng 14. Tóm tắt kết quả nghiên cứu khả năng tái lập – trong phạm vi định chuẩn % kết quả định tính của địa điểm giữa những người vận hành; N = 66 mẫu bệnh nhân**

Địa điểm 1 – 2 Người vận hành	Địa điểm 2 – 2 Người vận hành	Địa điểm 3 – 3 Người vận hành
64/66 = 96,97%	64/66 = 96,97%	59/66 = 89,39%
Định chuẩn Kết quả Định tính của Bộ ống 1 và Bộ ống 2	Định chuẩn Kết quả Định tính của Bộ ống 1 và Bộ ống 2	Định chuẩn Kết quả Định tính của Bộ ống 1 và Bộ ống 2

Định chuẩn tỷ lệ phần trăm định tính trên tất cả các địa điểm nghiên cứu là 94,7% (375/396). Trong tính toán này, tổng số kết quả xét nghiệm trong định chuẩn (375) bao gồm các trường hợp có định chuẩn của tất cả 6 kết quả, định chuẩn 5 trên 6 kết quả, định chuẩn 4 trên 6 kết quả và định chuẩn 3 trên 6 kết quả, cộng lại.

## Khả năng lặp lại giữa các lô

Một nghiên cứu đã được tiến hành để xác định độ biến thiên giữa các lô của QFT-Plus Blood Collection Tubes khi so sánh với ống QFT. Tổng cộng có 30 đối tượng (15 đối tượng được xác nhận dương tính với TB và 15 đối tượng được xác nhận âm tính với TB được xác định bằng xét nghiệm QFT) đã được xét nghiệm. Ba lô riêng biệt của mỗi QFT-Plus TB1, TB2, and QFT TB Blood Collection Tubes được đưa vào nghiên cứu này. Ba lần lặp lại cho mỗi người hiến trên mỗi lô ống lấy máu đã được xét nghiệm. Các ống Nil và Mitogen đã được xét nghiệm với mỗi lần lặp lại một ống.

Máu từ mỗi đối tượng được lấy vào các Ống Lấy máu lithium-heparin, sau đó 1 ml máu được chuyển vào từng QFT-Plus và QFT Blood Collection Tubes và được xét nghiệm theo quy trình xét nghiệm. Đối với mỗi nhóm mẫu dương tính và âm tính, phương sai toàn phần của kết quả ống QFT-Plus không được lớn hơn đáng kể so với phương sai toàn phần của kết quả ống QFT. Điều này được xác định từ giá trị p được đem lại bởi kiểm định Khác biệt Phương sai (Homogeneity of Variance, HOV) của Levene. Nếu giá trị p không có ý nghĩa ( $p > 0,05$ ) và/hoặc độ biến thiên của QFT-Plus TB tubes thấp hơn so với độ biến thiên của ống QFT TB, thì có sự khác biệt giữa các ống QFT-Plus và QFT TB.

**Bảng 15. So sánh Khác biệt giữa QFT-Plus và QFT TB Blood Collection Tubes bằng cách sử dụng Kiểm định HOV của Levene**

Loại mẫu	Độ chênh lệch	Ảnh hưởng	Phụ thuộc	Giá trị P	Đáng kể
Dương tính	TB2 so với QFT	Loại phụ	Số dư	0,0378	Có
Dương tính	TB2 so với QFT	Loại phụ	Số dư	0,0540	Không
Âm tính	TB2 so với QFT	Loại phụ	Số dư	0,1025	Không
Âm tính	TB2 so với QFT	Loại phụ	Số dư	0,6344	Không

Độ biến thiên giữa QFT-Plus và QFT TB Blood Collection Tubes là không đáng kể, ngoại trừ ống QFT-Plus TB2 khi xét nghiệm với các đối tượng dương tính. Khi ước tính độ lệch chuẩn được phân tích, độ biến thiên nhìn thấy ở ống QFT-Plus TB2 nhỏ hơn (0,06089) so với ống QFT TB (0,07641) như minh họa trong Bảng 16. Do đó, phương sai của QFT-Plus TB1 và TB2 Blood Collection Tubes không lớn hơn QFT TB Blood Collection Tube.

**Bảng 16. Độ lệch Chuẩn cho Số dư và Khoảng tin cậy 95% đối với Đối tượng Dương tính**

Loại mẫu	Loại phụ	Ước tính Độ lệch Chuẩn	LCL 95%	UCL 95%
Dương tính	QFT	0,07641	0,06826	0,08680
Dương tính	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Dương tính	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

### Khả năng lặp lại trong lô

Một nghiên cứu đã được tiến hành để đánh giá khả năng tái lập trong lô của QFT-Plus Blood Collection Tubes bằng cách so sánh nồng độ IFN- $\gamma$  từ các bản sao của QFT-Plus TB Blood Collection Tubes.

Sáu phần của cùng một mẫu máu từ cùng các đối tượng đã xác nhận nhiễm TB được chạy trong 6 Ống Lấy máu lặp lại từ một lô mỗi ống trong số hai ống QFT-Plus (TB1 và TB2). Xét nghiệm được thực hiện trên 13 đối tượng. %CV đã được tính toán cho từng người hiến và trên tất cả người hiến để tạo ra %CV trung bình như thể hiện trong Bảng 17.

**Bảng 17. %CV cho Trung bình, Độ lệch chuẩn, Tối thiểu, Trung vị và Tối đa trong mỗi QFT-Plus TB Blood Collection Tube ở Đối tượng Dương tính với bệnh lao**

Ống QFT-Plus	Cỡ mẫu	Trung bình (%CV)	Độ lệch chuẩn	Tối thiểu	Trung vị	Tối đa
TB1	13	13,31	6,88	4,17	12,87	29,56
TB2	13	13,04	7,48	4,86	10,75	29,44

Kết quả đã chứng minh rằng %CV trung bình cho TB1 và TB2 là ~13%, đáp ứng tiêu chí chấp nhận  $\leq 30\%$  và thể hiện khả năng lặp lại trong lô.

### Giới hạn trống (Limit of Blank, LoB)

Giới hạn trống (Limit of Blank, LoB) được đánh giá cho xét nghiệm QFT-Plus. Hai lần lặp lại, mỗi mẫu trong số 14 mẫu huyết tương người bình thường riêng lẻ (dưới dạng mẫu trống) đã được xét nghiệm với 2 lô QFT-Plus ELISA bởi 3 người vận hành trong 3 ngày xét nghiệm, một người vận hành mỗi ngày xét nghiệm với tổng số 84 lần lặp lại từ mỗi lô bộ dụng cụ ELISA.

Các giá trị LoB (IU/ml) cho 2 lô bộ dụng cụ ELISA được tính riêng như minh họa trong Bảng 18.

**Bảng 18. Giá trị LoB (IU/ml) cho 2 Lô QFT-Plus ELISA Kit**

QFT-Plus ELISA Kit	LoB ước tính (IU/ml)
Bộ dụng cụ 1	0,030
Bộ dụng cụ 2	0,040

Giá trị LoB lớn hơn, 0,040 IU/ml, trên cả hai lô QFT-Plus ELISA kit, được báo cáo là giá trị LoB cuối cùng.



## Giới hạn Phát hiện (Limit of Detection, LoD)

Giới hạn Phát hiện (Limit of Phát hiện, LoD) được đánh giá cho xét nghiệm QFT-Plus. Nhóm huyết tương người âm tính với TB được tạo ra bằng cách kết hợp 14 mẫu huyết tương riêng lẻ. Mỗi người trong số 3 người vận hành đã chuẩn bị một lượng gốc mẫu chuẩn tham chiếu IFN- $\gamma$  ở mức 1,0 IU/ml được pha loãng trong chất đệm. Một chuỗi pha loãng gồm 8 nồng độ đã được thực hiện. Nghiên cứu được tiến hành trong 3 ngày, bởi 3 người vận hành luân phiên sử dụng 2 lô QFT-Plus ELISA kit. Đối với mỗi ngày xét nghiệm, 5 lần lặp lại của mỗi nồng độ trong mỗi bộ chuỗi pha loãng nối tiếp đã được xét nghiệm với tổng số 45 lần lặp lại cho mỗi độ pha loãng của nồng độ IFN- $\gamma$  cho mỗi lô QFT-Plus ELISA kit.

Giá trị LoD cho từng lô QFT-Plus ELISA kit đã xét nghiệm được tính riêng như trong Bảng 19.

**Bảng 19. Giá trị LoD Ước tính (IU/ml) cho 2 Lô QFT-Plus ELISA Kit**

QFT-Plus ELISA Kit	Xác suất	Nồng độ ước tính (IU/ml)	Giới hạn Tin cậy 95% Dưới Ước tính	Giới hạn Tin cậy 95% Trên Ước tính
Bộ dụng cụ 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Bộ dụng cụ 2	0,95	0,065	0,060	0,073

Giá trị LoD lớn hơn được tính trên cả hai lô QFT-Plus ELISA kit, 0,065 IU/ml, được báo cáo là giá trị LoD cuối cùng.

### Các chất gây nhiễu

Một nghiên cứu đã được tiến hành để xác định tác động của các chất có khả năng gây nhiễu đối với hiệu suất phát hiện IFN- $\gamma$  của QFT-Plus ELISA. Các chất gây nhiễu có trong xét nghiệm này là: triglycerid (Tổng), huyết sắc tố, protein (huyết thanh toàn phần), bilirubin (liên hợp), bilirubin (không liên hợp), Abacavir sulfat, Cyclosporin và Prednisolone. Năm nhóm huyết tương có nồng độ IFN- $\gamma$  đã biết được chuẩn bị bằng cách sử dụng các nồng độ chất gây nhiễu khác nhau. Mức IFN- $\gamma$  của nhóm cơ sở đã được chuẩn bị trước đó với lượng IFN- $\gamma$  có mặt được xác định trước (khoảng 0,21, 0,45 và 1,4 IU/ml). Sau đó, nhóm này được sử dụng để chuẩn bị cho các nhóm chất gây nhiễu. Nồng độ chất gây nhiễu được xét nghiệm là 0 mg/dL, 5 mg/dL, 10 mg/dL, 15 mg/dL và 20 mg/dL. Nồng độ chất gây nhiễu đích được dựa trên các khoảng tham chiếu, giá trị bệnh lý, phạm vi điều trị và phạm vi độc hại hoặc theo khuyến nghị của nhà cung cấp hoặc mức độ lâm sàng chung. Sáu lần lặp lại đã được xét nghiệm cho từng mức nồng độ mẫu chất gây nhiễu.

Đối với mỗi nồng độ mẫu, kiểm định t hai mẫu được thực hiện, so sánh độ chênh lệch về log<sub>10</sub> trung bình (IU/ml) của mức gây nhiễu chính so với mẫu chứng (tức là mức không có chất gây nhiễu) như trình bày trong Bảng 20 và 21. Độ chênh lệch ước tính trong phản hồi trung bình, cùng với giới hạn độ tin cậy 95% hai phía tương ứng và giá trị p cũng được báo cáo.

**Bảng 20. Log10 IU/ml: Bảng Tóm tắt Kiểm định T cho Độ chênh lệch về Giá trị Trung bình giữa Mẫu chứng và Mức Chất gây nhiễu Chính cho mỗi Chất gây nhiễu và Mức Nồng độ IFN- $\gamma$**

Chất gây nhiễu	Mức chất gây nhiễu	Nồng độ mẫu (IU/ml)	Phương sai	Chênh lệch trung bình	CI 95% dưới	CI 95% trên	Giá trị P	Pass (Đạt)
Triglyceride	Cao	1,4	Bằng	0,019	-0,040	0,077	0,491	Có
		0,45	Bằng	0,004	-0,022	0,030	0,732	Có
		0,21	Bằng	0,006	-0,035	0,047	0,759	Có
Hemoglobin	Cao	1,4	Bằng	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Có
		0,45	Bằng	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Có
		0,21	Bằng	0,000	-0,034	0,035	0,980	Có
Protein	Cao	1,4	Bằng	0,004	-0,034	0,042	0,836	Có
		0,45	Bằng	0,001	-0,38	0,040	0,962	Có
		0,21	Bằng	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Có
Bilirubin Tiếp hợp	Cao	1,4	Bằng	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Có
		0,45	Bằng	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Có
		0,21	Bằng	-0,014	0,074	0,046	0,625	Có
Bilirubin Không tiếp hợp	Cao	1,4	Bằng	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Có
		0,45	Bằng	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Có
		0,21	Bằng	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Có
Abacavir	Cao	1,4	Bằng	0,008	-0,025	0,041	0,601	Có
		0,45	Bằng	0,012	-0,019	0,044	0,412	Có
		0,21	Bằng	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Có

Bảng tiếp tục ở trang sau

Bảng tiếp tục từ trang trước

**Bảng 20. Log10 IU/ml: Bảng Tóm tắt Kiểm định T cho Độ chênh lệch về Giá trị Trung bình giữa Mẫu chứng và Mức Chất gây nhiễu Chính cho mỗi Chất gây nhiễu và Mức Nồng độ IFN- $\gamma$**

Chất gây nhiễu	Mức chất gây nhiễu	Nồng độ mẫu (IU/ml)	Phương sai	Chênh lệch trung bình	CI 95% dưới	CI 95% trên	Giá trị P	Pass (Đạt)
Cyclosporin	Cao	1,4	Bằng	0,014	-0,020	0,047	0,383	Có
		0,45	Bằng	0,005	-0,035	0,045	0,773	Có
		0,21	Bằng	0,024	-0,008	0,056	0,131	Có
Prednisolone	Cao	1,4	Bằng	0,017	-0,017	0,050	0,293	Có
		0,45	Bằng	0,000	-0,036	0,036	0,979	Có
		0,21	Bằng	0,015	-0,035	0,065	0,524	Có

**Bảng 21. Log10 IU/ml: Bảng Tóm tắt Kiểm định T cho Độ chênh lệch về Giá trị Trung bình giữa Mẫu chứng và Mức Chất gây nhiễu Cao cho mỗi Chất gây nhiễu và Mức Năng độ IFN- $\gamma$**

Chất gây nhiễu	Mức chất gây nhiễu	Nồng độ mẫu (IU/ml)	Phương sai	Chênh lệch trung bình	CI 95% dưới	CI 95% trên	Giá trị P	Pass (Đạt)
Triglyceride	Cao	1,4	Bằng	0,053	-0,004	0,110	0,063	Có
		0,45	Bằng	0,039	-0,021	0,058	<,001	Có
		0,21	Bằng	0,034	-0,002	0,071	0,061	Có
Hemoglobin	Cao	1,4	Bằng	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Có
		0,45	Bằng	0,016	-0,007	0,040	0,152	Có
		0,21	Bằng	0,014	-0,030	0,059	0,489	Có
Protein	Cao	1,4	Bằng	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Có
		0,45	Bằng	0,000	-0,046	0,046	0,992	Có
		0,21	Bằng	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Có
Bilirubin Tiếp hợp	Cao	1,4	Bằng	0,001	-0,046	0,048	0,961	Có
		0,45	Bằng	0,012	-0,043	0,067	0,639	Có
		0,21	Bằng	0,015	-0,044	0,074	0,586	Có
Bilirubin Không tiếp hợp	Cao	1,4	Bằng	0,015	-0,011	0,042	0,231	Có
		0,45	Bằng	0,015	-0,023	0,052	0,411	Có
		0,21	Bằng	0,012	-0,033	0,057	0,566	Có
Abacavir	Cao	1,4	Bằng	0,013	-0,015	0,040	0,322	Có
		0,45	Bằng	0,015	-0,014	0,044	0,283	Có
		0,21	Bằng	0,008	-0,034	0,050	0,677	Có

Bảng tiếp tục ở trang sau

Bảng tiếp tục từ trang trước

**Bảng 21. Log<sub>10</sub> IU/ml: Bảng Tóm tắt Kiểm định T cho Độ chênh lệch về Giá trị Trung bình giữa Mẫu chứng và Mức Chất gây nhiễu Cao cho mỗi Chất gây nhiễu và Mức Nồng độ IFN- $\gamma$**

Chất gây nhiễu	Mức chất gây nhiễu	Nồng độ mẫu (IU/ml)	Phương sai	Chênh lệch trung bình	CI 95% dưới	CI 95% trên	Giá trị P	Pass (Đạt)
Cyclosporin	Cao	1,4	Bằng	0,002	-0,019	0,024	0,816	Có
		0,45	Bằng	0,007	-0,030	0,043	0,682	Có
		0,21	Bằng	0,015	-0,007	0,038	0,155	Có
Prednisolone	Cao	1,4	Bằng	0,007	-0,016	0,030	0,518	Có
		0,45	Bằng	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Có
		0,21	Bằng	0,021	-0,025	0,068	0,334	Có

Kết quả cho thấy không có chênh lệch đáng kể giữa mức gây nhiễu chính và mẫu chứng (mức không có chất gây nhiễu) và đối với mức chất gây nhiễu cao ngoại trừ mức nồng độ Triglyceride 0,45 IU/ml. Độ chênh lệch trung bình được xác định nằm trong phạm vi độ lệch chuẩn +/- 2. Điều này chứng tỏ rằng độ chênh lệch nằm trong độ biến thiên dự kiến của xét nghiệm và Triglyceride không có tác động gây nhiễu đối với QFT-Plus ELISA.

## Thải bỏ

Tuân thủ các hướng dẫn xử lý máu có liên quan. Thải bỏ các mẫu và vật tư tiếp xúc với máu hoặc sản phẩm máu theo quy định của liên bang, tiểu bang và địa phương.

## Tài liệu tham khảo

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.

# Hướng dẫn Xử lý sự cố

Hướng dẫn xử lý sự cố này có thể hữu ích trong việc giải quyết bất kỳ vấn đề nào có thể phát sinh. Để được hỗ trợ kỹ thuật và biết thêm thông tin, vui lòng xem Trung tâm Hỗ trợ Kỹ thuật của chúng tôi tại [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) (để biết thông tin liên hệ, hãy truy cập [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Nhận xét và gợi ý

---

### Xử lý sự cố ELISA

#### Phát triển màu không đặc hiệu

- |   |   |
|---|---|
| a) Rửa tám đĩa chưa hoàn chỉnh  | Rửa đĩa ít nhất 6 lần với chất đệm rửa 400 µl/lọ. Có thể cần nhiều hơn 6 chu kỳ rửa tùy thuộc vào máy rửa đang được sử dụng. Thời gian ngâm giữa các chu kỳ nên ít nhất 5 giây. |
| b) Nhiễm bẩn chéo các lọ ELISA  | Cẩn thận trong khi hút pipet và trộn mẫu để giảm thiểu rủi ro.  |
| c) Bộ dụng cụ/thành phần đã hết hạn                                     | Đảm bảo bộ dụng cụ được sử dụng trước ngày hết hạn. Đảm bảo chất chuẩn đã hoàn nguyên và Liên hợp 100x Đậm đặc được sử dụng trong vòng ba tháng kể từ ngày hoàn nguyên.         |
| d) Dung dịch Chất nền Enzym bị nhiễm bẩn                                | Thải bỏ chất nền nếu có màu xanh dương. Đảm bảo sử dụng bình chứa thuốc thử sạch.   |
| e) Trộn huyết tương trong QFT-Plus Blood Collection Tubes trước khi thu | Sau khi ly tâm, tránh hút pipet lên xuống hoặc trộn huyết tương bằng bất kỳ cách nào trước khi lấy. Luôn chú ý không khuấy động vật liệu trên bề mặt gel.                       |

## Nhận xét và gợi ý

### Chỉ số mật độ quang thấp cho các chất chuẩn

- |                                     |  |
|-------------------------------------|--|
| a) Lỗi pha loãng chất chuẩn         | Đảm bảo độ pha loãng của Chất chuẩn Bộ dụng cụ được chuẩn bị chính xác theo Hướng dẫn Sử dụng này.   |
| b) Lỗi hút pipet                    | Đảm bảo pipet được hiệu chuẩn và sử dụng theo hướng dẫn của nhà sản xuất.  |
| c) Nhiệt độ ủ quá thấp              | Việc ủ ELISA nên được thực hiện ở nhiệt độ phòng ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).   |
| d) Thời gian ủ quá ngắn             | Ủ đĩa với chất liên hợp, chất chuẩn và mẫu phải trong $120 \pm 5$ phút. Dung dịch Chất nền Enzym nên được ủ trên đĩa trong 30 phút.  |
| e) Sử dụng sai bộ lọc đầu đọc đĩa   | Đĩa nên được đọc ở bước sóng 450 nm với bộ lọc tham chiếu trong khoảng từ 620 đến 650 nm.  |
| f) Thuốc thử quá lạnh               | Tất cả thuốc thử, ngoại trừ Liên hợp 100x Đậm đặc, phải được đưa về nhiệt độ phòng trước khi bắt đầu xét nghiệm. Quá trình này mất khoảng 1 giờ.                                 |
| g) Bộ dụng cụ/thành phần đã hết hạn | Đảm bảo rằng bộ dụng cụ được sử dụng trước ngày hết hạn. Đảm bảo rằng Chất chuẩn đã hoàn nguyên và Liên hợp 100x Đậm đặc được sử dụng trong vòng 3 tháng kể từ ngày hoàn nguyên. |

### Nền cao

- |                                     |  |
|-------------------------------------|--|
| a) Rửa tấm đĩa chưa hoàn chỉnh      | Rửa đĩa ít nhất 6 lần với chất đệm rửa 400 $\mu\text{l}$ /lọ. Có thể cần nhiều hơn 6 chu trình rửa. Thời gian ngâm giữa các chu kỳ nên ít nhất 5 giây.                       |
| b) Nhiệt độ ủ quá cao               | Việc ủ ELISA nên được thực hiện ở nhiệt độ phòng ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).   |
| c) Bộ dụng cụ/thành phần đã hết hạn | Đảm bảo rằng bộ dụng cụ được sử dụng trong ngày hết hạn. Đảm bảo chất chuẩn đã hoàn nguyên và Liên hợp 100x Đậm đặc được sử dụng trong vòng ba tháng kể từ ngày hoàn nguyên. |

### Nhận xét và gợi ý

---














- d) Dung dịch Chất nền Enzym bị nhiễm bẩn      Thải bỏ chất nền nếu có màu xanh dương. Đảm bảo sử dụng bình chứa thuốc thử sạch.

### Đường chuẩn phi tuyến tính và độ biến thiên trùng lặp

- a) Rửa tấm đĩa chưa hoàn chỉnh      Rửa đĩa ít nhất 6 lần với chất đệm rửa 400 µl/lọ. Có thể cần nhiều hơn 6 chu trình rửa. Thời gian ngâm giữa các chu kỳ nên ít nhất 5 giây.
- b) Lỗi pha loãng chất chuẩn      Đảm bảo độ pha loãng của chất chuẩn được chuẩn bị chính xác theo Hướng dẫn Sử dụng này.
- c) Trộn không kỹ      Trộn kỹ thuốc thử bằng cách đảo ngược hoặc lắc nhẹ trước khi thêm vào đĩa.
- d) Kỹ thuật hút pipet không nhất quán hoặc gián đoạn trong quá trình thiết lập xét nghiệm      Việc thêm mẫu và chất chuẩn nên được thực hiện một cách liên tục. Tất cả thuốc thử phải được chuẩn bị trước khi bắt đầu xét nghiệm.

# Biểu tượng

Các biểu tượng sau đây xuất hiện trong các hướng dẫn sử dụng hoặc trên bao bì và nhãn dán:

Biểu tượng	Định nghĩa biểu tượng
 <N>	Chứa thuốc thử đủ cho <N> phản ứng
	Hạn sử dụng
 0197	Sản phẩm này đáp ứng các yêu cầu của Quy định Châu Âu 2017/746 đối với các thiết bị y tế chẩn đoán in vitro.
	Đại diện được ủy quyền tại Cộng đồng Châu Âu/Liên minh Châu Âu
	Thiết bị y tế chẩn đoán in vitro
	Số danh mục
	Số lô
	Số vật liệu (nghĩa là nhãn thành phần)
	Thành phần
	Chứa
	Số
	Mã số Thương phẩm Toàn cầu
Rn	R là lần sửa đổi Hướng dẫn Sử dụng và n là số sửa đổi
	Giới hạn nhiệt độ

## Biểu tượng

## Định nghĩa biểu tượng



Nhà sản xuất



Tham khảo hướng dẫn sử dụng



Bảo vệ khỏi ánh sáng



Cảnh báo/thận trọng hoặc Thận trọng, tham khảo tài liệu đi kèm

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

Xét nghiệm chẩn đoán in vitro sử dụng một cocktail peptit mô phỏng các protein ESAT-6 và CFP-10 để kích thích các tế bào trong máu toàn phần heparin hóa



Chứa vật liệu sinh học có nguồn gốc động vật



Chứa vật liệu sinh học có nguồn gốc con người



Mã định danh Thiết bị duy nhất

**Biểu tượng****Định nghĩa biểu tượng**

---

**tartrazine**

Chứa Tartrazin

**sulfuric acid**

Chứa axit sunfuric

# Phụ lục A: Thông tin Kỹ thuật

## Kết quả không xác định

Kết quả không xác định là không phổ biến và có thể liên quan đến tình trạng miễn dịch của cá nhân được xét nghiệm (5) nhưng cũng có thể liên quan đến một số yếu tố kỹ thuật (ví dụ: xử lý/bảo quản Ống Lấy máu không phù hợp, rửa đĩa ELISA chưa hoàn chỉnh) nếu những hướng dẫn sử dụng ở trên không được tuân theo.

Nếu nghi ngờ có vấn đề kỹ thuật với việc bảo quản thuốc thử, lấy máu hoặc xử lý mẫu máu, hãy lập lại toàn bộ xét nghiệm QFT-Plus với các mẫu máu mới. Có thể thực hiện lập lại xét nghiệm ELISA đối với huyết tương kích thích nếu nghi ngờ rửa không đủ hoặc sai lệch khác trong quy trình với xét nghiệm ELISA. Các bác sĩ có thể chọn hút lại mẫu bệnh phẩm hoặc thực hiện các quy trình khác nếu thích hợp.

## Mẫu huyết tương đông tụ

Nếu xảy ra tình trạng đông tụ fibrin khi bảo quản mẫu huyết tương lâu dài, hãy ly tâm mẫu để lắng cặn vật liệu đông tụ và tạo điều kiện cho việc hút pipet huyết tương.

## Mẫu huyết tương lipid máu

Cần thận trọng khi hút pipet các mẫu lipid máu vì chất béo lắng đọng có thể làm tắc các đầu tip pipet.



## Phụ lục B: Quy trình Xét nghiệm ELISA Rút gọn

1. Cân bằng các thành phần của ELISA, ngoại trừ Liên hợp 100x Đậm đặc, ở nhiệt độ phòng trong ít nhất 60 phút.



2. Hoàn nguyên Chất chuẩn Bộ dụng cụ thành 8,0 IU/ml bằng nước cất hoặc nước khử ion. Chuẩn bị bốn (4) pha loãng tiêu chuẩn.

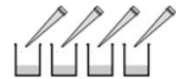


3. Hoàn nguyên Liên hợp 100x Đậm đặc đông khô bằng nước cất hoặc nước khử ion.

4. Chuẩn bị liên hợp độ bền tính toán trong Chất pha loãng Màu xanh lá và thêm 50 µl vào tất cả các lọ.



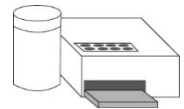
5. Thêm 50 µl mẫu huyết tương xét nghiệm và 50 µl chất chuẩn vào các lọ thích hợp. Trộn bằng máy lắc.



6. Ủ trong 120 phút ở nhiệt độ phòng.



7. Rửa lọ ít nhất 6 lần với chất đệm rửa 400 µl/lọ.



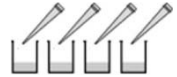
8. Thêm 100 µl Dung dịch Chất nền Enzym vào các lọ. Trộn bằng máy lắc.



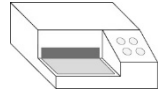
9. Ủ trong 30 phút ở nhiệt độ phòng.



10. Thêm 50 µl Dung dịch Chất nền Enzym vào tất cả các lọ. Trộn bằng máy lắc.



11. Đọc kết quả ở bước sóng 450 nm với bộ lọc tham chiếu từ 620 đến 650 nm



12. Phân tích kết quả.



# Thông tin Đặt hàng

Sản phẩm	Mục lục	Số danh mục
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit	Bộ dụng cụ ELISA 2 đĩa	622120
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Reference Lab Pack	Bộ dụng cụ ELISA 20 đĩa	622822
<b>Related products</b>		
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes	200 ống (50 ống cho mỗi Nil, TB1, TB2 và Mitogen)	622526
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 ống (25 ống cho mỗi Nil, TB1, TB2 và Mitogen)	622423
QuantiFERON-TB Gold Plus Single Patient Pack	40 ống (1 gói cho mỗi Nil, TB1, TB2 và Mitogen), một gói gồm 10 ống	622222
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes	200 ống (50 ống cho mỗi Nil, TB1, TB2 và Mitogen)	623526
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 ống (50 ống cho mỗi Nil, TB1, TB2 và Mitogen)	623423
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Single Patient Pack	40 ống (1 gói cho mỗi Nil, TB1, TB2 và Mitogen), một gói gồm 10 ống	623222

Để biết thông tin cập nhật về cấp phép và tuyên bố từ bỏ trách nhiệm cụ thể theo sản phẩm, xem Hướng dẫn Sử dụng bộ dụng cụ QIAGEN tương ứng. Hướng dẫn Sử dụng bộ dụng cụ QIAGEN có sẵn tại [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) hoặc có thể được yêu cầu từ bộ phận Dịch vụ Kỹ thuật QIAGEN hoặc nhà phân phối tại địa phương của bạn.

# Lịch sử Sửa đổi Tài liệu

<b>Ngày</b>	<b>Sửa đổi</b>
R2, tháng 6 năm 2021	Bao gồm thông tin về Gói Một Bệnh nhân Sửa đổi Bảng 10 và 11 để phân biệt dữ liệu QFT-GIT và QFT-Plus Cập nhật phần Mô tả và Nguyên tắc để thêm thông tin về quản thể xét nghiệm và phạm vi đo Thêm Bảng 9 vào dữ liệu về tỷ lệ khả năng QFT-Plus
R3, tháng 10 năm 2021	Đưa số danh mục trở lại số danh mục ban đầu Thêm tuyên bố sử dụng một lần cho các dải Khay vi thể trong thành phần Bộ dụng cụ
R4, tháng 3 năm 2023	Sửa lỗi định dạng

Trang này được để trống có chủ ý

### **Thỏa thuận Cấp phép Hạn chế cho QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit**

Việc sử dụng sản phẩm này biểu thị thỏa thuận của bất kỳ người mua hoặc người dùng sản phẩm nào với các điều khoản sau:

1. Sản phẩm chỉ có thể được sử dụng theo các quy trình được cung cấp kèm theo sản phẩm và hướng dẫn sử dụng này và chỉ được sử dụng với các thành phần có trong bộ xét nghiệm. QIAGEN không cấp giấy phép theo bất kỳ tài sản sở hữu trí tuệ nào để sử dụng hoặc kết hợp các thành phần kèm theo của bộ xét nghiệm này với bất kỳ thành phần nào không có trong bộ xét nghiệm này trừ khi được mô tả trong các quy trình được cung cấp cùng với sản phẩm, hướng dẫn sử dụng này và các quy trình bổ sung có sẵn tại [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Một số quy trình bổ sung này đã được người dùng QIAGEN cung cấp cho người dùng QIAGEN. Các quy trình này chưa được QIAGEN kiểm tra kỹ lưỡng hoặc tối ưu hóa. QIAGEN không bảo đảm chúng cũng không đảm bảo rằng chúng không vi phạm các quyền của bên thứ ba.
2. Ngoài các giấy phép được nêu rõ ràng, QIAGEN không bảo đảm rằng bộ xét nghiệm này và/hoặc (các) công dụng của bộ xét nghiệm không vi phạm các quyền của bên thứ ba.
3. Bộ xét nghiệm này và các thành phần của bộ xét nghiệm được cấp phép sử dụng một lần và không được tái sử dụng, tân trang hoặc bán lại.
4. QIAGEN đặc biệt từ chối bất kỳ giấy phép nào khác, được thể hiện rõ ràng hoặc ngụ ý ngoài những giấy phép được nêu.
5. Người mua và người dùng bộ xét nghiệm này đồng ý không thực hiện hoặc cho phép bất kỳ ai khác thực hiện các bước có thể dẫn đến hoặc tạo điều kiện cho bất kỳ hành vi nào bị cấm ở trên. QIAGEN có thể thực thi các lệnh cấm của Thỏa thuận Cấp phép Hạn chế này tại bất kỳ Tòa án nào và sẽ thu hồi tất cả các chi phí điều tra và Tòa án, bao gồm phí luật sư, trong bất kỳ hành động nào để thực thi Thỏa thuận Cấp phép Hạn chế này hoặc bất kỳ quyền sở hữu trí tuệ nào liên quan đến bộ xét nghiệm và/hoặc các thành phần của bộ xét nghiệm.

Để biết các điều khoản cấp phép được cập nhật, hãy truy cập [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Nhãn hiệu: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (Tập đoàn QIAGEN) Proclin®. Các tên, nhãn hiệu, v.v. đã đăng ký được sử dụng trong tài liệu này, kể cả khi không được đánh dấu cụ thể như vậy được coi là được bảo vệ về pháp lý.

03/2023 L1123669 1123669V1 © 2023 QIAGEN, tất cả quyền được bảo lưu.

Đặt hàng [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Hỗ trợ Kỹ thuật [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Trang web  
[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)