

QuantiFERON®-TB Gold Plus ELISA Kit Kullanım Talimatları



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Sürüm 1



İn Vitro Tanı Amaçlı Kullanım İçindir

QuantiFERON®-TB Gold Plus Blood Collection Tubes ile kullanıma
yöneliktir



622120, 622822



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Almanya



1123669TR

İçerik

Kullanım Amacı	5
Planlanmış Kullanıcılar	5
Açıklama ve İlke	6
Patojen bilgileri	6
Özet ve açıklama	7
Tahlil prensipleri	9
Sağlanan Materyaller	11
Kit içeriği	11
Kit bileşenleri	12
Platform ve yazılım	12
Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Malzemeler	13
Ek reaktifler	13
Sarf Malzemeleri	13
Ekipman	13
Uyarılar ve Önlemler	14
Güvenlik bilgileri	14
Acil durum bilgileri	15
Önlemler	16
Reaktif Saklama ve Kullanma	18
Kullanımda stabilite	18
Sulandırılmış ve kullanılmamış reaktifler	18
Numune Saklama ve Kullanma	19

Protokol: ELISA Gerçekleştirme	20
Sonuçlar (Hesaplamalar)	26
Standart eğri ve örnek değerleri oluşturma	26
Testin kalite kontrolü	28
Sonuçların Yorumlanması	30
Sınırlamalar	32
Performans Özellikleri	33
Klinik Çalışmalar	33
Duyarlılık	35
Beklenen Değerler	43
Güvenlik ve Performans Özeti	49
Tahlil Performans Özellikleri	50
Analitik Performans	50
Bertaraf	63
Referanslar	64
Sorun Giderme Kılavuzu	66
Semboller	69
Ek A: Teknik Bilgiler	72
Şüpheli sonuçlar	72
Pıhtılaşmış plazma örnekleri	72
Lipemik plazma örnekleri	72
Ek B: Kısaltılmış ELISA Test Prosedürü	73
Sipariş Bilgileri	75
Belge Revizyon Geçmişi	77

Kullanım Amacı

QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus) tahlili, heparinize tam kandaki hücreleri stimüle etmek için ESAT-6 ve CFP-10 proteinlerini simüle eden bir peptid kokteyli kullanan *in vitro* tanı amaçlı bir testtir. Enzime Bağlı İmmünosorbent Tahlili (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) vasıtasıyla İnterferon- γ (IFN- γ) tespiti, *Mycobacterium tuberculosis* enfeksiyonu ile ilişkili peptid antijenlerine *in vitro* yanıtları belirlemek için kullanılır.

QFT-Plus, *M. tuberculosis* enfeksiyonu için (hastalık dahil) indirekt bir testtir ve risk değerlendirmesi, radyografi ve diğer tıbbi ve tanı amaçlı değerlendirmeler ile birlikte kullanıma yöneliktir.

Planlanmış Kullanıcılar

Bu kit, profesyonel kullanım için üretilmiştir.

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) tahlili, bir laboratuvar ortamında eğitimli personel tarafından kullanıma yöneliktir.

Açıklama ve İlke

Patojen bilgileri

Tüberküloz, genellikle yeni konaklara pulmoner tüberküloz hastalığı olan hastalardan havadan taşınan damlacık nükleusları ile yayılan *M. tuberculosis* kompleks organizmaları (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. Canetti* ve *M. caprae*) enfeksiyonundan kaynaklanan bulaşıcı bir hastalıktır. Yeni enfekte olmuş bir birey haftalar ile aylar içinde tüberküloz nedeniyle hastalanabilir ancak çoğu enfekte birey sağlıklı kalmayı sürdürür. Bulaşıcı olmayan asemptomatik bir durum şeklindeki latent tüberküloz enfeksiyonu (LTBI), tüberküloz hastalığının aylar veya yıllar sonra meydana gelebileceği bazı bireylerde sürer. LTBI tanısının konulmasının başlıca amacı, tüberküloz hastalığını önlemeye yönelik tıbbi tedaviyi değerlendirmektir. 100 yılı aşkın süredir LTBI tanısı koymak için tüberkülin cilt testi (Tuberculin Skin Test, TST) mevcut tek yöntem olmuştur (4). Tüberküline karşı kutanöz duyarlılık enfeksiyondan sonra 2 ila 10 hafta içinde gelişir. Bununla birlikte, immün fonksiyonları engelleyen çok çeşitli hastalıklara sahip bireyler dahil olmak üzere bazı enfekte bireyler ve aynı zamanda bu hastalıkların görülmediği diğer bireyler tüberküline yanıt vermez. Diğer taraftan, *M. tuberculosis* enfeksiyonu olma ihtimali beklenmeyen bazı bireyler tüberküline karşı duyarlılık gösterir ve Bacille Calmette-Guérin (BCG) ile aşılamaı takiben ya da *M. tuberculosis* kompleksinden başka mikobakteriler veya belirlenemeyen diğer faktörlerle enfeksiyon sonrası pozitif TST sonuçlarına sahiptirler.

Akciğerleri ve alt solunum yolunu tutan ancak diğer organ sistemlerini de etkileyebilen bildirilmesi zorunlu bir durum olan LTBI, tüberkülozdan ayırt edilmelidir. Tüberküloz hastalığı tanısı geçmiş, fiziksel, radyolojik, histolojik ve mikrobakteriyolojik bulgularla konur.

Özet ve açıklama

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) testi, hücre aracılı yanıtı bir tam kan örneğindeki kantitatif IFN- γ ölçümü aracılığıyla değerlendiren QuantiFERON-TB test teknolojisinde dördüncü nesildir. QFT-Plus, mikobakteriyel proteinleri simüle eden peptid antijenlere verilen hücre aracılı immün (cell-mediated immune, CMI) yanıtları ölçen kantitatif bir testtir. ESAT-6 ve CFP-10 adlı bu proteinler, tüm BCG suşlarında ve *M. kansasii*, *M. szulgai* ve *M. marinum* hariç birçok nontüberküloz mikobakteride bulunmaz (1). *M. tuberculosis* kompleks organizmaları ile enfekte bireylerin kanında genellikle bu ve diğer mikobakteriyel antijenleri tanıyan lenfositler bulunur. Bu tanıma işlemi, sitokin, IFN- γ oluşumu ve sekresyonunu içerir. IFN- γ tespiti ve sonrasında kantifikasyon, bu testin temelini oluşturur.

Tüberkülin cilt testleri ve IGRA testleri, hasta kişilere *M. Tuberculosis* kompleks enfeksiyonu tanısı koymak için faydalı olmuştur ancak yetersizdir, pozitif bir sonuç tüberküloz hastalığı tanısını destekleyebilir ancak diğer mikobakterilerle (ör. *M. kansasii*) olan enfeksiyonlar da pozitif sonuçlara yol açabilir. Tüberküloz hastalığını doğrulamak veya hariç tutmak için başka tıbbi ve tanı amaçlı değerlendirmeler gereklidir.

QFT-Plus'ta kullanılan antijenler, ESAT-6 ve CFP-10 proteinlerini simüle eden bir peptid kokteyldir. Çok sayıda çalışma, bu peptid antijenlerin *M. tuberculosis* ile enfekte olan, ancak genellikle enfekte olmamış veya LTBI hastalığı veya riski olmayan BCG aşısı yapılmış bireylerden T hücrelerindeki IFN- γ yanıtlarını stimüle eder (1,2,6,9). Bununla birlikte, immün işlevselliği bozan tıbbi tedaviler veya durumlar IFN- γ yanıtlarını potansiyel olarak azaltabilir. Bazı diğer mikobakteriyel enfeksiyonların olduğu hastalar da ESAT-6 ve CFP-10'a yanıt verebilir çünkü bu proteinleri kodlayan genler *M. kansasii*, *M. szulgai* ve *M. marinum*'da bulunur (1,3,7).

QFT-Plus testinin test popülasyonu, klinik olarak doğrulanmış aktif tüberkülozu olan hastalar ile tüberküloz enfeksiyonu veya latent tüberküloz enfeksiyonu (LTBI) riski bulunan hastalardır. Yaş, cinsiyet veya diğer sınırlandırmalar geçerli değildir.

Mikobakteriyum tüberküloz (*Mycobacterium tuberculosis*, MTB) enfeksiyonunda, CD4⁺ T hücreleri sitokin IFN- γ sekresyonları aracılığıyla immünolojik kontrolde önemli bir rol oynar. Kanıtlar artık CD8⁺ T hücrelerinin, MTB'nin çoğalmasını baskılamak, enfekte hücreleri öldürmek veya hücre içi MTB'yi doğrudan parçalamak için makrofajları aktive eden IFN- γ ve diğer çözümler faktörleri üreterek, MTB'ye karşı konak savunmasına katıldıklarını desteklemektedir. LTBI ve aktif TB hastalığı görülen kişilerde IFN- γ üreten MTB'ye özgü CD8⁺ hücreleri tespit edilmiştir. Ayrıca, ESAT-6 ve CFP-10'a özgü CD8⁺ T lenfositlerinin, LTBI'ya kıyasla aktif TB hastalığı olan kişilerde daha sık saptanmakta olduğu ve yakın geçmişte MTB'ye maruz kalma ile ilişkili olabileceği tanımlanmıştır (8,10-12). Bunun yanı sıra, IFN- γ üreten MTB'ye özgü CD8⁺ T hücreleri, HIV koenfeksiyonu olan aktif TB hastalarında (13, 14) ve TB hastalığı olan küçük çocuklarda da (15) saptanmıştır.

QFT-Plus'ın iki ayrı TB antijen tüpü mevcuttur: TB Antigen Tube 1 (TB1) ve TB Antigen Tube 2 (TB2). Her iki tüp, MTB kompleksi ile ilişkili antijenler ESAT-6 ve CFP-10'dan peptid antijenleri içerir. TB1 ve TB2 tüpleri, CD4⁺ T-yardımcı lenfositlerinden CMI yanıtlarını almak için tasarlanmış ESAT-6 ve CFP-10'dan peptidleri içerirken, TB2 tüpü CD8⁺ sitotoksik T lenfositlerinden CMI yanıtlarının indüksiyonunu hedefleyen ek bir peptid seti içerir.

M. tuberculosis enfeksiyonuna ilişkin risk faktörleri arasında, tüberküloz hastalığına veya tüberküloza maruz kalmaya yönelik geçmiş, tıbbi veya epidemiyolojik öngörücüler bulunur. *M. tuberculosis* enfeksiyonunun (hastalık dahil) tanısı ve test edilecek kişilerin seçilmesi konusunda ayrıntılı öneriler için en güncel DSÖ kılavuzuna bakın: <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment> (16). QFT-Plus, güncel DSÖ kılavuzuna (16) göre TB enfeksiyonuna yönelik tarama için belirlenen bazı hasta gruplarında test edilmiştir, bunlara şu kişiler dahildir: insan immünyetmezlik virüsü (HIV) testi pozitif çıkan kişiler, yakın zamanda TB olmuş hastalara temas eden kişiler ve yüksek TB riskine sahip yetişkinlerin bulunduğu yoğun alanlarda yaşayan kişiler (5).

Tahlil prensipleri

QFT-Plus, tam kan toplamak için kullanılan, *M. tuberculosis* proteinlerini simüle eden peptid antijenler içeren özel Kan Toplama Tüplerinden yararlanan kalitatif bir tahlildir. Tüpler içinde 16 ila 24 saatte meydana gelen kan inkübasyonundan sonra plazma toplanır ve peptid antijenlerine yanıt olarak üretilen IFN- γ varlığı bakımından test edilir.

Öncelikle, bir Nil tüpü, TB1 tüpü, TB2 tüpü ve bir Mitogen tüpünden oluşan QFT-Plus Blood Collection Tube'ların her birine tam kan alınır. Alternatif olarak kan, antikoagülan olarak lityum veya sodyum heparin içeren tek bir kan toplama tüpüne toplanabilir ve ardından QFT-Plus Blood Collection Tube'lara aktarılabilir.

QFT-Plus Blood Collection Tube'lar, antijeni kanla karıştırmak için çalkalanır ve mümkün olan en kısa zamanda, kanın toplanmasından sonraki 16 saat içinde $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilmesi gerekir. 16 ila 24 saatlik bir inkübasyon süresinin ardından tüpler santrifüjlenir, plazma işlenir ve ELISA aracılığıyla IFN- γ (IU/ml) miktarı ölçülür. QFT-Plus ELISA, referans IFN- γ hazırlığına göre tahlil edilmiş rekombinant insan IFN- γ standardı kullanır (NIH Ref: Gxg01-902-535). Test örneklerinin sonuçları, kitle birlikte verilen standardın test dilüsyonlarında hazırlanan standart eğriye göre ml başına Uluslararası Birimlerde (International Units, IU/ml) raporlanır.

Bazı kişilerin serumunda veya plazmasında bulunan heterofil (ör. insan antifare) antikörlerin bağışıklık tahlilleriyle etkileşime neden olduğu bilinmektedir. QFT-Plus ELISA'da heterofil antikörlerin etkisi, Yeşil Seyreltilmiş normal fare serumu eklenmesiyle ve F(ab')₂ monoklonal antikor parçalarının mikropilaya kuyularına kaplanan IFN- γ yakalama antikoru olarak kullanılmasıyla minimum düzeye düşürülür.

QFT-Plus tahlili, Nil IFN- γ IU/ml değerinin çok üzerinde olan herhangi bir TB antijen tüpüne verilen IFN- γ yanıtı için pozitif olarak kabul edilir. Mitogen tüpündeki plazma örneği, test edilen her numune için bir IFN- γ pozitif kontrolü olarak işlev görür. Mitogen'e düşük yanıt alınması (<0,5 IU/ml), kan örneği aynı zamanda TB antijenlerine negatif bir yanıt veriyorsa şüpheli bir sonuca işaret eder. Bu durum, yetersiz lenfosit, hatalı numune kullanımına bağlı düşük lenfosit aktivitesi, Mitogen tüpünün doldurulması/karıştırılması veya hastanın lenfositlerinin IFN- γ üretememesi halinde görülebilir. Heterofil antikörlerin varlığında veya intrensek IFN- γ sekresyonu durumunda Nil örneğinde yüksek IFN- γ seviyeleri görülebilir. Nil tüpü arka plana göre ayarlanır (ör. yüksek seviyelerde IFN- γ dolaşımı veya heterofil antikörlerin varlığı). Nil tüpünün IFN- γ seviyesi TB antijen tüpleri ve Mitogen tüpü için IFN- γ seviyesinden çıkarılır. QFT-Plus ELISA ölçüm aralığı 10 IU/ml'dir.

Sağlanan Materyaller

Kit içeriği

ELISA bileşenleri	2 plakalı kit	Referans Laboratuvar Paketi
Katalog no.	622120	622822
Murin anti-insan IFN- γ monoklonal antikoru kaplı Microplate strips (Mikroplaka stripleri) (12 x 8 kuyulu)	2 set 12 x 8 Mikroplaka Stripleri	20 set 12 x 8 Mikroplaka Stripleri
IFN- γ Standard (IFN- γ Standardı), liyofilize (rekombinant insan IFN- γ , bovin kazein, %0,01 a/h Timerosal içerir)	1 x şişe (sulandırıldığında 8 IU/ml)	10 x şişe (sulandırıldığında 8 IU/ml)
Green Diluent (Yeşil Seyreltici) (bovin kazein, normal fare serumu, %0,01 a/h Timerosal içerir)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Konjugat 100x Konsantre), liyofilize (murin anti-insan IFN- γ HRP, %0,01 Timerosal içerir)	1 x 0,3 ml (sulandırıldığında)	10 x 0,3 ml (sulandırıldığında)
Wash Buffer 20x Concentrate (Yıkama Tamponu 20x Konsantre) (pH 7,2, %0,05 h/h ProClin® 300 içerir)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Enzim Substrat Solüsyonu) (H ₂ O ₂ , 3,3',5,5' Tetrametilbenzidin içerir)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Enzim Durdurma Solüsyonu) (0,5 M H ₂ SO ₄ içerir)	1 x 15 ml	10 x 15 ml
<i>QuantiFERON TB-Gold Plus ELISA Kit Kullanım Talimatları</i>	1	1

Kit bileşenleri

Kontroller ve kalibratörler

QFT-Plus ELISA, referans IFN- γ hazırlığına göre tahlil edilmiş rekombinant insan IFN- γ standardı kullanır (NIH Ref: Gxg01-902-535).

Platform ve yazılım

QFT-Plus Analysis Software isteğe bağlıdır ve ham verilerin analizi ve sonuçların hesaplanmasında kullanılabilir. www.qiagen.com adresinden indirilebilir.

Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Malzemeler

Ek reaktifler

- QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes
- 2 litre deiyonize veya damıtılmış su

Sarf Malzemeleri

- 96 kuyulu bir plaka için plaka kapağı
- **İsteğe bağlı:** 96 kuyu formatlı askılarda 1 ml'lik kapaklı mikrotüpler veya plazma saklama işlemi için plastik mühürlü, kaplanmamış mikroplakalar (22 hasta/askı veya plaka)
- Reaktif rezervuarları

Ekipman*

- 37°C ± 1°C inkübatör (CO₂ olan veya olmayan)
- 10 µl ila 1000 µl uygulama için kalibre edilmiş değişken hacimli pipetler ve tek kullanımlık uçları
- 50 µl ve 100 µl uygulama kapasiteli, kalibre edilmiş çok kanallı pipet ve tek kullanımlık uçları
- 500 ile 1000 rpm arasında hız kapasiteli mikrolaka çalkalayıcı
- Mikrolaka yıkayıcı (plazma örneklerini kullanırken güvenlik amaçlı, otomatik bir plaka yıkayıcı önerilir)
- 450 nm filtreli ve 620 nm ila 650 nm referans filtreli mikrolaka okuyucu
- Değişken hızlı vorteks
- Kan Toplama Tüplerini en az 3000 RCF'ye (g) kadar santrifüjleme kapasitesine sahip santrifüj
- Dereceli silindir, 1 litre veya 2 litre

* Kullanım öncesinde cihazların üreticinin önerilerine göre kontrol edildiği ve kalibre edildiğinden emin olun.

Uyarılar ve Önlemler

Cihazla ilgili olarak meydana gelen ciddi olayları üreticiye ve/veya yetkili temsilcisine ve kullanıcının ve/veya hastanın bulunduğu ülkenin düzenleyici makamına rapor etmek için yerel düzenlemelerinize başvurmanız gerekebileceğini lütfen dikkate alın.

İn vitro tanı amaçlı kullanım içindir.

Güvenlik bilgileri

Kimyasallar ile çalışırken her zaman uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (Safety Data Sheets, SDS'ler) başvurun. Bunlar, her bir QIAGEN kiti ve kit bileşenlerine ait SDS'yi bulabileceğiniz, görüntüleyebileceğiniz ve yazdırabileceğiniz www.qiagen.com/safety adresinde çevrimiçi olarak uygun ve kompakt PDF biçiminde mevcuttur.

- Numuneler ve örnekler potansiyel olarak enfeksiyözdür. Örneği ve tahlil atıklarını, yerel güvenlik prosedürlerinize uygun olarak imha edin.
- Negatif QFT-Plus sonucu, *M. tuberculosis* enfeksiyonu veya tüberküloz hastalığını olasılık dışında bırakmaz. Yanlış negatif sonuçlar; enfeksiyon aşaması (ör. hücresel immün yanıt gelişiminden önce alınan numune), venipunktür sonrası Kan Toplama Tüplerinin yanlış kullanılması, hatalı tahlil performansı veya herhangi bir komorbiditeye bağlı olanlar da dahil diğer bireysel immünolojik değişkenlerden kaynaklanabilir. Diğer inflamatuvar rahatsızlıklardan kaynaklanan heterofil antikorlar veya spesifik olmayan IFN- γ üretimi, ESAT-6 veya CFP-10 peptidlerine verilen spesifik yanıtları maskeleyebilir.
- Pozitif QFT-Plus sonucu, *M. tuberculosis* enfeksiyonunun tayininde tek veya kesin dayanak olmamalıdır. Hatalı tahlil performansı, yanlış pozitif QFT-Plus sonuçlarına neden olabilir.


- Pozitif QFT-Plus sonucunu, aktif tüberküloz hastalığı için daha ileri tıbbi değerlendirme izlemelidir (ör. Aside Dirençli Basil (Acid Fast Bacilli, AFB) simiri ve kültürü, göğüs röntgeni).
- ESAT-6 ve CFP-10 tüm BCG suşlarında ve bilinen nontüberküloz mikobakterilerin birçoğunda bulunmazken, pozitif bir QFT-Plus sonucu *M. kansasii*, *M. szulgai* veya *M. marinum* enfeksiyonundan kaynaklanabilir. Bu tür enfeksiyonlardan şüphelenilirse alternatif testler gerçekleştirilmelidir.
- Yanlış negatif QFT-Plus sonucu, hatalı kan örneği alımından veya lenfosit fonksiyonunu etkileyen hatalı numune kullanımından kaynaklanabilir. Kan numunelerinin doğru kullanımı için lütfen bkz. "Protokol: ELISA Gerçekleştirme" bölümü, sayfa 20. İnkübasyonda gecikme yanlış negatif veya şüpheli sonuçlara neden olabilir ve diğer teknik parametreler anlamlı bir IFN- γ yanıtını saptama kapasitesini etkileyebilir.

Acil durum bilgileri

CHEMTREC

ABD ve Kanada Dışı +1 703-527-3887

Önlemler

<p>DİKKAT</p> 	<p>İnsan kanını kullanırken potansiyel enfeksiyöz olarak değerlendirin.</p> <p>İlgili kan kullanımı yönergelerine uyun. Kan veya kan ürünleri ile temas eden örnekleri ve materyalleri federal, ulusal ve yerel düzenlemelere uygun şekilde imha edin.</p>
--	--

QuantIFERON Enzyme Stopping Solution



İçerik: sülfürik asit. Uyarı! Metaller için aşındırıcı olabilir. Cilt tahrişine neden olur. Ciddi göz tahrişine neden olur. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın.

QuantIFERON Enzyme Substrate Solution

Uyarı! Hafif derecede cilt tahrişine neden olur. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın.

QuantIFERON Green Diluent



İçerik: tartrazin. Uyarı! Alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın.

QuantIFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Sudaki organizmalar üzerinde uzun dönemli etkilere sahiptir ve zararlıdır. Çevreye salınımından kaçının.

Daha fazla bilgi

Güvenlik Veri Sayfaları: www.qiagen.com/safety

- Timerosal, bazı QFT-Plus reaktiflerinde koruyucu olarak kullanılır. Yutma, soluma veya ciltle temas durumunda toksik olabilir.
- *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Kullanım Talimatları* dışına çıkma hatalı sonuçlar verebilir. Lütfen kullanmadan önce talimatları dikkatlice okuyun.
- Kullanım öncesinde bir reaktif şişesinde hasar veya akma ibaresi görülüyorsa, kiti kullanmayın.
- **Önemli:** Şişeleri kullanmadan önce inceleyin. Konjugat veya IFN- γ Standardı şişelerinde hasar belirtileri görülüyorsa veya kauçuk mühür bozulmuş durumdaysa şişeleri kullanmayın. Kırık şişeleri işleme koymayın. Şişeleri güvenli biçimde bertaraf etmek için güvenlik önlemlerini alın. Metal kıvrımlı kapak nedeniyle yaralanma riskini en aza indirmek için Konjugat veya IFN- γ Standardı şişelerini açmak üzere şişe kıvrım açıcı kullanmanız önerilir.
- Farklı QFT-Plus kit gruplarından alınan Mikroplaka striplerini, IFN- γ Standardını, Yeşil Seyrelticiyi veya Konjugat 100x Konsantreyi karıştırmayın veya kullanmayın. Reaktiflerin son kullanma tarihleri içinde kullanılması ve lot ayrıntılarının kaydedilmesi şartıyla, diğer reaktifler (Yıkama Tamponu 20x Konsantre, Enzim Substrat Solüsyonu ve Enzim Durdurma Solüsyonu) kitler arasında değiştirilebilir.
- Kullanılmamış reaktifleri ve biyolojik örnekleri yerel, ulusal ve federal düzenlemelere uygun şekilde atın.
- QFT-Plus ELISA kitini son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
- Daima doğru laboratuvar prosedürlerine daima uyulmalıdır.
- Plaka yıkayıcıları ve okuyucuları gibi laboratuvar ekipmanlarının kullanım için kalibre edildiğinden/doğrulandığından emin olun.

Reaktif Saklama ve Kullanma

Tüm bileşenlerin kutusunda ve etiketlerinin üstünde yazılı olan son kullanma tarihlerine ve saklama koşullarına dikkat edilmelidir. Süresi dolmuş veya hatalı saklanmış bileşenleri kullanmayın.

Kullanımda stabilite

- ELISA kitini 2-8°C'de (36-46°F) saklayın.
- Enzim Substrat Solüsyonunu daima doğrudan güneş ışığından koruyun.

Sulandırılmış ve kullanılmamış reaktifler

- Reaktiflerin sulandırılmasına yönelik talimatlar için bkz. "Protokol: ELISA Gerçekleştirme", sayfa 20.
- Sulandırılan kit standardı, 2-8°C'de saklandığı takdirde 3 aya kadar muhafaza edilebilir.

Kit standardının sulandırıldığı tarihi kaydedin.

- Sulandırılan Konjugat 100x Konsantre 2-8°C'de saklanmaya devam edilmeli ve 3 ay içinde kullanılmalıdır.

Konjugatın sulandırıldığı tarihi kaydedin.

- Kullanıma hazır konjugat, hazırlanmasından itibaren 6 saat içinde kullanılmalıdır.
- Kullanıma hazır yıkama tamponu oda sıcaklığında 2 haftaya kadar saklanabilir.
- Mikroplaka stripleri yalnızca tek kullanımlıktır. Kullanılmamış stripler, plaka çerçevesinden çıkarılabilir ve ileride kullanılmak üzere saklanabilir.

Numune Saklama ve Kullanma

QFT-Plus testinin kan toplama iş akışı hakkında bilgi için bkz. *QuantiferON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes Kullanım Talimatları* (1123668).

Protokol: ELISA Gerçekleştirme

Başlamadan önce önemli noktalar

Ayarlama (Tahlili gerçekleştirmek için gereken süre)

- QFT-Plus tahlilinden geçerli sonuçlar elde etmek için kullanıcının spesifik görevleri belirlenen süre dahilinde gerçekleştirmesi gerekir. Tahlil kullanılmadan önce kullanıcının her aşamayı gerçekleştirmek için yeterli zaman ayırmak üzere tahlilin her aşamasını dikkatle planlaması önerilir. Gereken tahmini süre aşağıda belirtilmiştir; gruplandırılmış birden fazla örneğin test süresi de ayrıca gösterilmiştir.
 - Bir ELISA Plakası için yaklaşık 3 saat
 - <1 saat işçilik
 - Her bir ekstra plaka için 10 ila 15 dakika eklenmelidir

IFN- γ ELISA

- ELISA gerçekleştirmek için gerekli materyaller için bkz. "Kit içeriği", sayfa 11 ve "Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Malzemeler", sayfa 13.

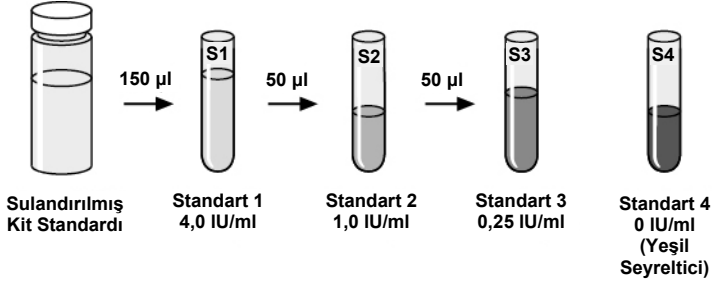
Prosedür

1. Konjugat 100x Konsantre hariç olmak üzere tüm plazma örnekleri ve reaktifler, kullanılmadan önce oda sıcaklığına ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) getirilmelidir. Dengeleme için en az 60 dakika bekletilmelidir.
2. Kullanılmayacak ELISA plakası striplerini çerçeveden çıkarın, ambalajına geri koyun ve gerektiğinde kullanılmak üzere saklamak için buzdolabına geri koyun.

3. QFT-Plus standartları için en az 1 şerit ve test edilecek gönüllü sayısı için yeterli sayıda şerit bulundurun (önerilen plaka formatı için bkz. Şekil 2). Kullanımdan sonra, kalan şeritlerin kullanımı için plak çerçevesini ve kapağı saklayın.
- 3a. IFN- γ Standardını, şişe etiketinde belirtilen hacimde deiyonize veya distile suyla sulandırın. Köpürmesini azaltmak ve tüm şişe içeriğinin tamamen çözündüğünden emin olmak için hafifçe karıştırın. IFN- γ standardının doğru hacme ulaşıncaya kadar sulandırılması ile 8,0 IU/ml konsantrasyonda solüsyon elde edilir.
- 3b. Sulandırılmış standardı kullanarak 4 IFN- γ konsantrasyonundan oluşan bir dilüsyon serisi hazırlayın (bkz. Şekil 1).
- 3c. Aşağıdaki IFN- γ konsantrasyonları ile bir standart eğri oluşturulmalıdır:
- S1 (Standart 1) 4,0 IU/ml içerir
 - S2 (Standart 2) 1,0 IU/ml içerir
 - S3 (Standart 3) 0,25 IU/ml içerir
 - S4 (Standart 4) 0 IU/ml içerir (Tek başına Yeşil Seyreltici [Green Diluent, GD]).
- 3d. Standartlar en azından çift olarak test edilmelidir.
- 3e. Her ELISA seansı için kit standardının dilüsyonlarını taze olarak hazırlayın.

Prosedür

A	4 tüpü etiketleyin: S1, S2, S3, S4
B	S1, S2, S3, S4'e 150 μ l GD ekleyin
C	S1'e 150 μ l kit standardı ekleyin ve iyice karıştırın
D	S1'den 50 μ l alıp S2'ye koyun ve iyice karıştırın
E	S2'den 50 μ l alıp S3'e koyun ve iyice karıştırın
F	GD tek başına sıfır standardı olarak işlev görür (S4)



Şekil 1. Standart eğri dilüsyon serilerinin hazırlanması.

4. Liyofilize Konjugat 100x Konsantre'yi 0,3 ml deiyonize veya distile suyla sulandırın. Köpürmesini azaltmak ve tüm şişe içeriğinin tamamen çözüldüğünden emin olmak için hafifçe karıştırın.
 - 4a. Kullanıma hazır konjugat, gereken miktarda sulandırılmış Konjugat 100x Konsantre'nin Yeşil Seyreltici içinde seyreltilmesiyle hazırlanır (Tablo 1).
 - 4b. Kullanıma hazır konjugat, hazırlanmasından itibaren 6 saat içinde kullanılmalıdır.
 - 4c. Kullanımdan hemen sonra, kalan açılmamış Konjugat 100x Konsantre'yi 2°C ila 8°C'de muhafaza etmek üzere kaldırın.

Tablo 1. Konjugat hazırlama (kullanıma hazır)

Strip sayısı	Konjugat hacmi (100x konsantre)	Yeşil Seyreltici hacmi
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. Kan Toplama Tüplerinden toplanan ve sonrasında saklanan (soğutulmuş veya dondurulmuş halde) plazma örneklerinde, saklanan örneği ELISA kuyusuna eklemeyen önce iyice karıştırın. Plazma örnekleri, santrifüjlenmiş QFT-Plus Blood Collection Tube'larda 2-8°C'de 28 güne kadar saklanabilir veya toplanan plazma örnekleri 2-8°C'de 28 güne kadar saklanabilir. Ayrıca toplanan plazma örnekleri -20°C'nin altında (tercihen -70°C'nin altında) uzun süre saklanabilir.

Plazma örnekleri ölçüm için doğrudan santrifüjlenmiş Kan Toplama Tüplerinden QFT-Plus ELISA plakasına yüklenebilir/kullanılabilir.

Önemli: Plazma örnekleri santrifüjlenmiş QFT-Plus Blood Collection Tube'lardan doğrudan aktarılacaksa plazmanın karıştırılmasından kaçınılmalıdır. İşlemin her aşamasında jel üzerindeki materyali bozmamaya dikkat edin.

6. Her ELISA plakası kuyusuna 50 µl yeni hazırlanmış kullanıma hazır konjugat ekleyin.
7. Uygun kuyulara 50 µl test plazma örneği ekleyin (Şekil 2'de önerilen ELISA plaka düzenine bakın).

8. Son olarak, uygun plaka kuyularına Standart 1 ila 4'ün her birinden 50 µl ekleyin (Şekil 2'de önerilen ELISA plaka düzenine bakın). Standartlar en azından çift olarak test edilmelidir.

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

Şekil 2. Önerilen ELISA plaka düzeni. S1 (Standart 1), S2 (Standart 2), S3 (Standart 3), S4 (Standart 4). 1N (Örnek 1. Nil Kontrol plazması), 1 TB1 (Örnek 1. TB1 plazma), 1 TB2 (Örnek 1. TB2 plazma), 1M (Örnek 1. Mitogen plazma).

9. ELISA plakasını kapatın ve mikropilaka çalkalayıcı kullanarak, konjugat ve plazma örnekleri/standartlarını 1 dakika boyunca 500 ila 1000 rpm'de iyice karıştırın. Sıçramayı önleyin.
10. ELISA plakasını kapatın ve oda sıcaklığında ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) 120 ± 5 dakika inkübe edin. ELISA plakası inkübasyon sırasında doğrudan güneş ışığına maruz kalmamalıdır. Belirtilen sıcaklık aralığından farklı sıcaklık hatalı sonuçlara neden olabilir.
11. ELISA plakası inkübasyonu sırasında kullanıma hazır yıkama tamponu hazırlayın. Bir birim Yıkama Tamponu 20x Konsantreyi 19 birim deiyonize veya distile su ile seyreltin ve iyice karıştırın. 2 litre kullanıma hazır yıkama tamponu hazırlamak için yeterli Yıkama Tamponu 20x Konsantre sağlanmıştır.

12. ELISA plakası inkübasyonu tamamlandığında, ELISA plakası kuyularını 400 µl kullanıma hazır yıkama tamponu ile yıkayın. Yıkama adımını en az 6 kez gerçekleştirin. Plazma örneklerini kullanırken güvenlik amacıyla otomatik plaka yıkayıcı önerilir. Eksiksiz yıkama, tahlilin performansı için çok önemlidir. Her kuyunun, her yıkama aşamasında, yıkama tamponuyla tamamen dolu olduğundan emin olun. Her aşama arasında en az 5 saniye bekleme süresi önerilir.
Atık kabına standart laboratuvar dezenfektanı eklenmelidir ve potansiyel enfeksiyöz materyallerin dekontaminasyonu için gerekli prosedürler uygulanmalıdır.
13. Kalan yıkama tamponunu gidermek için ELISA plakasını emici (az tiftikli) bir havlu üzerinde ters çevirin ve arkasına vurun. Her plaka kuyusuna 100 µl Enzim Substrat Solüsyonu ekleyin, plakayı kapatın ve bir mikrolaka çalkalayıcı kullanarak 1 dakika boyunca 500-1000 rpm'de iyice karıştırın.
14. ELISA plakasını kapatın ve oda sıcaklığında ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) 30 dakika inkübe edin. ELISA plakası inkübasyon sırasında doğrudan güneş ışığına maruz kalmamalıdır.
15. 30 dakikalık inkübasyonu takiben, substratın eklenmesiyle aynı sırada her plaka kuyusuna 50 µl Enzim Durdurma Solüsyonu ekleyin ve bir mikrolaka çalkalayıcı kullanarak 500 ila 1000 rpm'de iyice karıştırın.
16. 620 nm ile 650 nm arasında bir referans filtreyle 450 nm'lik filtresi bulunan bir mikrolaka okuyucu kullanarak, reaksiyonu durdurduktan sonraki 5 dakika içinde ELISA plaka kuyularının Optik Yoğunluğunu (Optical Density, OD) ölçün. OD değerleri sonuçların hesaplanmasında kullanılır.

Sonuçlar (Hesaplamalar)

QFT-Plus Analysis Software, ham verilerin analizi ve sonuçların hesaplanmasında kullanılabilir. www.qiagen.com adresinde bulunabilir. Lütfen QFT-Plus Analysis Software'in en son sürümünün kullanıldığından emin olun.

Yazılım, sayfa 30 içerisindeki "Sonuçların Yorumlanması " bölümünde detaylı şekilde anlatıldığı gibi, tahlilin Kalite Kontrol değerlendirmesini gerçekleştirir, bir standart eğri oluşturur ve her gönüllü için bir test sonucu sunar. Yazılım 10 IU/ml'den büyük olan tüm konsantrasyonları ">10" olarak rapor eder çünkü bu değerler doğrulanmış ELISA lineer aralığının ötesinde kalır.

QFT-Plus Software kullanmak yerine, sonuçlar aşağıdaki yönteme göre belirlenebilir.

Standart eğri ve örnek değerleri oluşturma

QFT-Plus Analysis Software kullanılmıyorsa

QFT-Plus Analysis Software yazılımı kullanılmıyorsa standart eğrinin belirlenmesi ve örnek IU/ml değerlerinin belirlenmesi Microsoft® Excel® gibi bir çalışma sayfası programı gerektirir.

Çalışma sayfası programı kullanma

1. Her plakadaki kit standardı tekrarlarından ortalama OD değerlerini belirleyin.
2. Ortalama OD $\log_{(e)}$ 'una (y eksenini) karşı standartların IU/ml cinsinden IFN- γ konsantrasyonu $\log_{(e)}$ 'unu (x eksenini) çizerek bir $\log_{(e)}$ - $\log_{(e)}$ standart eğrisi oluşturun; sıfır standardını bu hesaplamalara katmayın. Standart eğrinin en iyi uyum doğrusunu regresyon analizi ile hesaplayın.
3. Her bir örneğin OD değerini kullanarak, her bir test plazma örneğinin IFN- γ konsantrasyonunu (IU/ml) belirlemek için standart eğriyi kullanın.

4. Bu hesaplamalar, mikropilaka okuyucularla gelen yazılım paketleri ve standart çalışma sayfası veya istatistik yazılımları (Microsoft Excel gibi) kullanılarak da yapılabilir. Bu paketlerin, regresyon analizinin, standartların varyasyon katsayısının (Coefficient of Variation, %CV) ve standart eğrinin korelasyon katsayısının (r) hesaplanmasında kullanılması önerilir.

Örnek hesaplaması

Standartlar için aşağıdaki OD değerleri elde edilmişse bunları Tablo 2'de $-\log(e)$ – kullanılan hesaplamalar izler.

Tablo 2. Standart eğri

Standart	IU/ml	OD değerleri a ve b	Ortalama OD	%CV	Log _(e) IU/ml	Log _(e) Ortalama (OD)
Standart 1	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
Standart 2	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
Standart 3	0,25	0,114, 0,136	0,125	NA	-1,386	-2,079
Standart 4	0	0,034, 0,037	0,036	NA	NA	NA

Eğri denklemi $y = 0,7885(X) - 0,9837$ 'dir; burada "m" = 0,7885 ve "c" = -0,9837'dir. Bu değerler, X için çözüme ulaşmak amacıyla $X = (Y-c)/m$ denkleminde kullanılır. Standart eğriye dayanarak hesaplanan korelasyon katsayısı (r) = 1,000'dir. NA: Uygulanamaz.

"Testin kalite kontrolü", sayfa 28 içinde belirtilen kriterler kullanılarak tahlilin doğruluğu belirlenir.

Standart eğri (Tablo 2), Antijen OD yanıtlarını Uluslararası Birimlere (International Units, IU/ml) dönüştürür.

Tablo 3. Örnek hesaplaması

Antijen	OD değeri	Log _(e) OD değeri	X	e ^X (IU/ml)	Antijen –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

TB1, TB2 ve Mitogen için IFN- γ değerleri (IU/ml cinsinden) ilgili Nil kontrolü için elde edilen IU/ml değeri çıkarılarak arka plan için düzeltilir. Bu düzeltilen değerler, test sonuçlarının yorumlanması için kullanılır.

Testin kalite kontrolü

Test sonucunun kesinliği, doğru bir standart eğrinin oluşturulmasına bağlıdır. Bu yüzden, test örneği sonuçları yorumlanmadan önce standartlardan edinilen sonuçlar gözden geçirilmelidir.

ELISA'nın geçerli olması için:

- Standart 1'in ortalama OD değeri $\geq 0,600$ olmalıdır.
- Standart 1 ve Standart 2'nin tekrar değerleri için %CV ≤ 15 olmalıdır.
- Standart 3 ve Standart 4'ün tekrar OD değerleri ile ortalamaları arasında 0,040 optik yoğunluk biriminden fazla fark olmamalıdır.
- Standartların ortalama absorbans değerlerinden hesaplanan korelasyon katsayısı (r) $\geq 0,98$ olmalıdır.
- Yukarıdaki kriterler karşılanmıyorsa çalışma geçersiz kabul edilmeli ve tekrarlanmalıdır.
- Sıfır Standartının (Yeşil Seyreltici) ortalama OD değeri $\leq 0,150$ olmalıdır. Ortalama OD değeri $> 0,150$ ise plaka yıkama prosedürü gözden geçirilmelidir.

QFT-Plus Analysis Software bu kalite kontrol parametrelerini hesaplar ve raporlar.

Her laboratuvar yerel, ulusal, federal veya diğer geçerli akreditasyon kuruluşlarına gore uygun kontrol materyali turlerini ve test sıklığını belirlemelidir. Harici kalite değerlendirme ve alternatif validasyon prosedurleri değerlendirilmelidir.

Not: Rekombinant IFN- γ ile spayklanan plazmalar, 2-8°C ve -20°C'de saklandığında konsantrasyonda %50'ye varan azalmalar gostermiştir. Rekombinant IFN- γ , kontrol standartlarının belirlenmesi için onerilmez.

Sonuçların Yorumlanması

QFT-Plus sonuçları aşağıdaki kriterler kullanılarak yorumlanır (Tablo 4).

Önemli: Tüberküloz hastalığı tanısının konması veya hastalığın ekarte edilmesi ve LTBI olasılığının değerlendirilmesi, QFT-Plus sonuçlarını yorumlarken dikkate alınması gereken epidemiyolojik, geçmiş, tıbbi ve tanı amaçlı bulguların kombinasyonunu gerektirir. TB hastalığının ve LTBI'nin tanı ve tedavisine yönelik genel kılavuz için bkz.:

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

Tablo 4. QFT-Plus Test Sonuçlarının Yorumlanması

Nil (IU/ml)	TB1 eksi Nil (IU/ml)	TB2 eksi Nil (IU/ml)	Mitogen eksi Nil (IU/ml)*	QFT-Plus sonucu	Rapor/Yorumlama
≤ 8,0	≥0,35 ve ≥%25 Nil	Herhangi biri	Herhangi biri	Pozitif†	<i>M. tuberculosis</i> enfeksiyonu olası
	Herhangi biri	≥0,35 ve ≥%25 Nil			
	<0,35 veya ≥0,35 ve <%25 Nil	<0,35 veya ≥0,35 ve <%25 Nil	≥0,50	Negatif	<i>M. tuberculosis</i> enfeksiyonu olası DEĞİL
	<0,35 veya ≥0,35 ve <%25 Nil	<0,35 veya ≥0,35 ve <%25 Nil	<0,50	Şüpheli‡	<i>M. tuberculosis</i> enfeksiyonu olasılığı tespit edilemiyor
>8,0§	Herhangi biri				

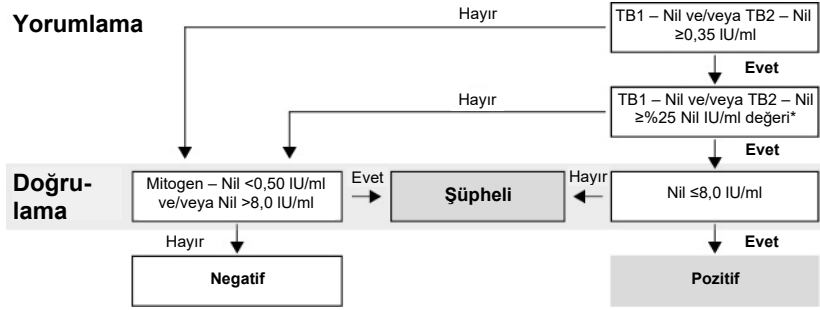
* Mitogen pozitif kontrolüne (ve zaman zaman TB Antijenine) verilen yanıtlar mikroplaka okuyucuların okuma aralığının dışında kalabilir. Bu durumun test sonuçlarına herhangi bir etkisi olmaz. >10 IU/ml'lik değerler QFT-Plus yazılımı tarafından >10 IU/ml olarak raporlanır.

† *M. tuberculosis* enfeksiyonundan şüphelenilmeyen durumlarda, başlangıçta pozitif olan sonuçlar, QFT-Plus ELISA'da orijinal plazma örneklerinin çift olarak yeniden test edilmesiyle doğrulanabilir. Bir veya iki tekrarlamanın tekrar testi pozitifse test sonucu pozitif olarak değerlendirilir.

‡ Olası nedenleri için bkz. "Sorun Giderme Kılavuzu", sayfa 66.

§ Klinik çalışmalarda gönüllülerin %0,25'inden azında, Nil değeri için >8,0 IU/ml IFN-γ seviyeleri söz konusu olmuştur.

Ölçülen IFN- γ seviyesinin büyüklüğü, enfeksiyon aşaması veya derecesi, immün yanıt verebilirlik seviyesi ya da aktif hastalığa ilerleme olasılığı ile korele edilemez. Pozitif bir TB yanıtı, Mitogen'e karşı negatif olan kişilerde nadirdir ancak TB hastalığı olan hastalarda görülmüştür. Bu durum, TB antijenlerine verilen IFN- γ yanıtının Mitogen'e verilen yanıtın daha büyük olduğunu gösterir ve bu durum, Mitogen seviyesi lenfositler tarafından IFN- γ üretimini azami ölçüde stimüle etmediği için mümkündür.



Şekil 3. QFT-Plus testinin yorumlanması. *TB1 eksi Nil veya TB2 eksi Nil değerinin geçerli olması için \geq %25 Nil IU/ml değeri, orijinal \geq 0,35 IU/ml sonucu ile aynı tüpten kaynaklanmalıdır.

Sınırlamalar

QFT-Plus test sonuçları, her bireyin kendi epidemiyolojik geçmişi, mevcut tıbbi durumu ve diğer tanı değerlendirmelerinin bir birleşimi ile birlikte kullanılmalıdır.

Nil değerleri 8 IU/ml'den büyük olan bireyler "Şüpheli" olarak sınıflandırılır çünkü TB Antijenlerine verilen %25'ten yüksek bir yanıt, tahlil ölçüm aralığının dışında olabilir.

- *M. Tuberculosis* enfeksiyonunun tanısında pozitif bir QFT-Plus sonucunun öngörücü değeri geçmiş, epidemiyolojik, tanısal ve diğer bulgularla değerlendirilen enfeksiyon olasılığına bağlıdır.
- LTBI tanısı, tüberküloz hastalığının mevcut tıbbi ve tanısal testlerin belirtilen şekilde değerlendirilmesi de dahil olmak üzere tıbbi değerlendirme ile hariç tutulmasını gerektirir.
- Negatif bir sonuç, özellikle immün fonksiyon bozukluğu olan bireyler için *M. tuberculosis* enfeksiyonu ve tüberküloz hastalığına ilerlemeye yönelik potansiyel risk olasılığı açısından bireyin tıbbi ve geçmiş verileriyle birlikte değerlendirilmelidir.

Aşağıdakilere bağlı olarak emin olunmayan veya şüpheli sonuçlar elde edilebilir:

- Kullanım Talimatlarında açıklanan prosedürden sapmalar
- Kan numunesinin yanlış taşınması/kullanılması
- Yüksek seviyelerde IFN- γ dolaşımı veya heterofil antikorların varlığı
- Kan numunesi alımından inkübasyona kadar doğrulanmış kan sürelerini aşma.
Bkz. *QFT-Plus Blood Collection Tubes Kullanım Talimatları* (1123668).

Performans Özellikleri

Klinik Çalışmalar

LTBI tanısını onaylamaya veya ekarte etmeye yönelik kesin bir standart bulunmadığından QFT-Plus için duyarlılık veya özgüllük tahmini pratik olarak değerlendirilemez. QFT-Plus'ın özgüllüğü, düşük tüberküloz enfeksiyonu riski olan (bilinen risk faktörleri olmayan) kişilerde yanlış pozitif oranlar değerlendirilerek yaklaşık olarak tahmin edilmiştir. Duyarlılık, kültürle doğrulanmış aktif TB hastalığı olan gönüllü grupları değerlendirilerek yaklaşık olarak tahmin edilmiştir. Ayrıca tahlil performansı, tüberküloz enfeksiyonuna yönelik tanımlanmış risk faktörlerine sahip sağlıklı gönüllülerden oluşan bir popülasyonda (karışık riskli bir popülasyon) pozitif ve negatif oranlar için değerlendirilmiştir.

Özgüllük

QFT-Plus'ın klinik özgüllüğünün değerlendirildiği çok merkezli bir çalışma, düşük *M. tuberculosis* enfeksiyon riskine sahip olduğu ya da enfeksiyona veya hastalığa maruz kalmaya ilişkin hiçbir risk faktörüne sahip olmadığı değerlendirilen 733 çalışma gönüllüsü ile gerçekleştirilmiştir. TB'ye maruz kalma için demografik bilgiler ve risk faktörleri, test sırasında standart bir anket kullanılarak belirlenmiştir. Çalışma biri Amerika Birleşik Devletleri'nde, ikisi Japonya'da ve biri Avustralya'da olmak üzere dört adet bağımsız merkezde yürütülmüştür. QFT-Plus testi, QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT) testi ile karşılaştırılmıştır. Klinik özgüllük performansı verilerinin bir özeti, çalışma merkezi ve bölgesine göre sınıflandırılmış şekilde Tablo 5'te verilmiştir. Performans sonuçları, geçerli testlerin toplam sayısına bağlıdır. Şüpheli sonuç yoktur.

Tablo 5. Düşük riskli bir popülasyonda QFT-Plus özgüllüğü

Merkez	N	Pozitif		Negatif		Şüpheli		Özgüllük (%95 CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
Amerika Birleşik Devletleri									
(#1) ABD-4	212	2	4	210	208	0	0	%99,06 (210/212) (96,63- 99,74)	%98,11 (208/212) (95,25- 99,26)
Japonya									
(#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)
Toplam Japonya	322	4	7	318	315	0	0	%98,76 (318/322) (96,85- 99,52)	%97,83 (315/322) (95,6-98,9)
Avustralya									
(#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)

QFT-Plus'ın özgüllüğü ABD'de %98,11, Japonya'da %97,83 ve Avustralya'da %95,48'dir. QFT-Plus'ın genel özgüllüğü %97,27'dir (713/733). QFT'nin özgüllüğü ABD'de %99,06, Japonya'da %98,76 ve Avustralya'da %95,98'dir. QFT'nin genel özgüllüğü %98,09'dur (719/733).

Sonuçların TB antijen tüp tipine ve kombinasyonlarına göre dökümü, düşük riskli bir popülasyonda beklenen sonuçların bir örneğini sunmak adına gösterilmiştir (Tablo 6).

Tablo 6. TB Antijen Tüpüne göre QFT-Plus Özgüllük Çalışması Sonuçları

TB Antijen-Nil'e göre yorumlama				
Şundaki IU/ml	TB1	TB2	QFT-Plus (TB1 ve/veya TB2'ye göre pozitif)*	Konkordant pozitif TB1 ve TB2 (alternatif analiz)†
Pozitif	10	18	20	8
Negatif	723	715	713	725
Şüpheli	0	0	0	0
Özgüllük (%95 CI)	–	–	%97,3 (713/733) (95,8-98,2)	–
Negatiflik oranı (%95 CI)	%98,6 (723/733) (97,5-99,3)	%97,5 (715/733) (96,2-98,4)	–	%98,9 (725/733) (97,9-99,5)

* Olumlu olarak değerlendirilen QFT-Plus için yorumlama kriterlerine uyan her iki TB tüpündeki (TB1 ve TB2) veya iki TB tüpünden birindeki (TB1 veya TB2) TB antijen–Nil değeri $\geq 0,35$ IU/ml'ye dayalı yorumlama.

† Yalnızca bilgi vermek için sağlanan alternatif analiz.

Düşük TB enfeksiyon riskine sahip gönüllülerde toplamda 20/733 gönüllünün sonucu pozitifte dönmüştür. Bunlardan yalnızca 8 gönüllü, TB1 ve TB2 tüplerinin her ikisinde de $>0,35$ IU/ml'lik bir değere sahiptir. QFT ile QFT-Plus tahlilleri, düşük riskli çalışma kohortunda karşılaştırılmıştır; bunun sonucunda %97,5 (713/733) oranında genel konkordans ve %98,3 (707/719) oranında negatif uyumluluk oranı elde edilmiştir.

Duyarlılık

LTBI'ya yönelik kesin bir standart test bulunmasa da, TB ile enfekte olmak hastalığa yönelik gerekli bir prekürsor olduğundan *M. tuberculosis* mikrobiyolojik kültürü uygun bir şekilde bunun yerini tutar.

QFT-Plus'ın klinik duyarlılığının değerlendirildiği çok merkezli bir çalışma, kültür ve/veya PCR ile doğrulanan aktif *M. tuberculosis* hastalığının belirti ve semptomlarını gösteren ve kan alımından önce TB tedavisi görmeyen veya ≤ 14 gündür tedavi gören 434 çalışma gönüllüsü ile gerçekleştirilmiştir. Çalışma üçü Amerika Birleşik Devletleri'nde, üçü Japonya'da ve biri Avustralya'da olmak üzere 7 adet bağımsız merkezde yürütülmüştür. QFT-Plus testi, QuantiFERON-TB Gold in Tube (QFT) testi ile karşılaştırılmıştır. Klinik duyarlılık performansı verilerinin bir özeti, çalışma merkezi ve ülkeye göre sınıflandırılmış şekilde Tablo 7'de verilmiştir. Performans sonuçları, geçerli testlerin toplam sayısına bağlıdır. QFT ve QFT-Plus'ın şüpheli sonuç sıklığı sırasıyla %2,3 (10/434) ve %2,5'tir (11/434).

Tablo 7. Merkez, ülke ve genel duruma göre sınıflandırılmış klinik duyarlılık çalışma performansı özeti

Merkez	N	Pozitif		Negatif		Şüpheli		Duyarlılık (%95 CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
Amerika Birleşik Devletleri									
(#1) ABD-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) ABD-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) ABD-4	5	5	5	0	0	0	0	%100,0 (5/5) (56,55- 100,0)	%100,0 (5/5) (56,55- 100,0)
Toplam Amerika Birleşik Devletleri	53	47	47	6	6	0	0	%88,7 (47/53) (77,4- 94,7)	%88,7 (47/53) (77,4-94,7)
Japonya									
(#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)

Tablo bir sonraki sayfada devam ediyor

Tablo bir önceki sayfadan devam ediyor

Tablo 7. Merkez, ülke ve genel duruma göre sınıflandırılmış klinik duyarlılık çalışma performansı özeti (devam ediyor)

Merkez	N	Pozitif		Negatif		Şüpheli		Duyarlılık (%95 CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
(#6) JPN-1	177	159	157	12	15	6	5	%92,98 (159/171) (88,14- 95,94)	%91,28 (157/172) (86,11- 94,64)
Toplam Japonya	352	328	322	15	19	9	11	%95,63 (328/343) (92,91- 97,33)	%94,43 (322/341) (91,5-96,4)
Avustralya									
(#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)

Yukarıdaki tabloda gösterilen analize şüpheli sonuçlar dahil değildir.

QFT-Plus'ın duyarlılığı ABD'de %88,7, Japonya'da %94,43 ve Avustralya'da %100,0'dır. QFT-Plus'ın genel duyarlılığı %94,09'dur (398/423). QFT'nin duyarlılığı ABD'de %88,7, Japonya'da %95,63 ve Avustralya'da %96,43'tür. QFT'nin genel duyarlılığı %94,81'dir (402/424).

Sonuçların TB antijen tüp tipine ve tüplerin kombinasyonlarına göre dökümü, TB ile enfekte olduğu doğrulanmış bir popülasyonda beklenen sonuçların bir örneğini sunmak adına gösterilmiştir (Tablo 8).

Tablo 8. TB antijen tüpüne göre QFT-Plus duyarlılık çalışması sonuçları

TB-Antijen-Nil'e göre IU/ml cinsinden yorumlama	TB1	TB2	QFT-Plus (TB1 ve/veya TB2'ye göre pozitif)
Pozitif	388	397	398
Negatif	32	26	25
şüpheli	14	11	11
Duyarlılık* (%95 CI)	–	–	%94 (398/423) (91,4-96,0)
Pozitiflik oranı* (%95 CI)	%92,4 (388/420) (89,4-94,6)	%93,9 (397/423) (91,1-95,8)	–

* şüpheli değerler hariçtir.

QFT ile QFT-Plus tahlilleri, kültürle doğrulanmış aktif TB kohortunda (duyarlılık çalışma kohortları) karşılaştırılmıştır; bunun sonucunda %95,9 oranında genel konkordans ve %97,3 (391/402) oranında pozitif uyumluluk oranı elde edilmiştir.

Tablo 9. QFT-Plus olabilirlik oranları

Merkez*	Duyarlılık	�zg�ll�k	LR+	LR-
Avustralya	%100,00	%95,48	22,11	0,00
Japonya	%94,43	%97,83	43,44	0,06
Amerika Birleşik Devletleri	%88,68	%98,11	47,00	0,12

* Toplam

Bir MTB enfeksiyonuna yönelik tanımlanmış risk faktörlerine sahip bireylerde performans (karışık riskli bireyler)

TB enfeksiyonuna yönelik karışık risk faktörlerine sahip 601 bireyden oluşan bir kohort (ör. HIV sonucunun pozitifliği, aktif veya latent TB'ye yönelik tedavi öyküsü, aktif TB vakasına maruz kalma, HCW durumu vb.), hem QFT hem de QFT-Plus testi ile değerlendirilmiştir. Risk faktörleri, standart bir anket ve gönüllü alımı sırasında aktif TB ile ilgili hiçbir semptom göstermeyen bireylerle belirlenmiştir. Demografik faktörler ve risk faktörleri Tablo 10'da belirtilmiştir. Bu popülasyonda 68/601 (%11,3) gönüllü pozitif QFT-Plus sonucu elde etmiştir; popülasyonun pozitif uyumluluk oranı (Positive Percent Agreement, PPA) ve negatif uyumluluk oranı (Negative Percent Agreement, NPA) sırasıyla %98,44 ve %99,07'dir (Tablo 11). 68 QFT-Plus pozitif gönüllülerden oluşan bu kohortta toplam 62 gönüllü TB1 ve TB2 tüplerine göre pozitif, 2 gönüllü yalnızca TB1'e göre pozitif ve 4 gönüllü yalnızca TB2'ye göre pozitif çıkmıştır. Şüpheli sonuç gözlemlenmemiştir (0/601).

Tablo 10. Karışık bir kohortta TB enfeksiyonu riskiyle ilişkili demografik bilgiler ve faktörler

Toplam birey (601)		Numara	Yüzde
Cinsiyet	Erkek	539	%89,7
	Kadın	62	%10,3
Yaş (yıl)	Aralık	18-70	–
	Ortalama	46,7	
BCG aşılı	Evet	15	%2,5
	Hayır	586	%97,5
HIV pozitif veya HTLV virüsleri için pozitif test sonucu almış	Evet	12	%2,0
	Hayır	589	%98
Önceden aktif TB tanısı konmuş	Evet	11	%1,8
	Hayır	590	%98,2
Tüberkülin Cilt Testinde (Tuberculin Skin Test, TST)/TB için Mantoux testinde pozitif sonuç almış	Evet	47	%7,8
	Hayır	554	%92,2
Daha önce aktif veya latent TB tedavisi görmüş	Evet	35	%5,8
	Hayır	566	%94,2
Bir hapisanede yaşamış, çalışmış veya gönüllü olarak görev almış (>1 ay)	Evet	373	%62,1
	Hayır	228	%37,9
Bir evsizler barınağında yaşamış, çalışmış veya gönüllü olarak görev almış (>1 ay)	Evet	525	%87,4
	Hayır	76	%12,6
Sağlık çalışanı	Evet	8	%1,3
	Hayır	593	%98,7
Aktif TB hastalığı olduğundan şüphelenilen bir kişiyle yakın temas	Evet	9	%1,5
	Hayır	592	%98,5

Tablo 11. Latent TB enfeksiyonuna yönelik bilinen risk faktörlerine sahip gönüllülerde QFT-Plus ve QFT performansı özeti

		QFT		
		Pozitif (+)	Negatif (-)	Toplam
QFT-Plus	Pozitif (+)	63	5*	68
	Negatif (-)	1*	532	533
	Toplam	64	537	601

*6 diskordant örneğin hepsinde, tahlil kesme değerine yakın olan IFN- γ seviyesinde TB Antijen tüpleri bulunmaktadır.

QFT ve QFT-Plus sonuçları arasındaki pozitif uyumluluk oranı (Positive Percent Agreement, PPA) ve negatif uyumluluk oranı (Negative Percent Agreement, NPA) aşağıdaki gibidir:

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

Aşağıda bulunan Tablo 12, BCG aşıları çalışma gönüllülerinde QFT-Plus performansını QFT testiyle karşılaştırmaktadır.

Tablo 12. BCG aşıları çalışma gönüllülerinde QFT-Plus performansı ve QFT Testinin karşılaştırılması (duyarlılık, özgüllük ve LTBI çalışma gönüllülerinden elde edilen birleşik veriler)

		QFT		
		Pozitif (+)	Negatif (-)	Toplam
QFT-Plus	Pozitif (+)	66	5	71
	Negatif (-)	3	268	271
	Toplam	69	273	342*

* İki duyarlılık çalışması gönüllüsü, şüpheli sonuçlar sebebiyle analizden hariç tutulmuştur

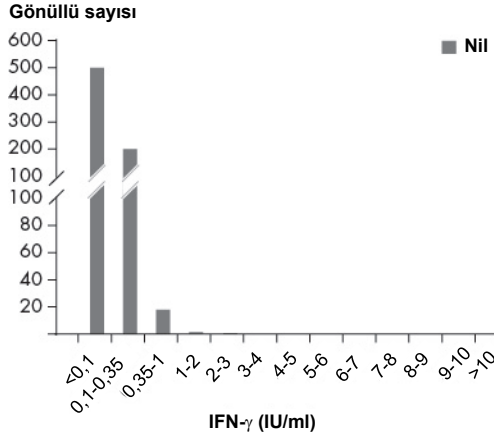
- PPA = %95,6 (66/69), %95 CI (87,98, 98,51)
- NPA = %98,2 (268/273), %95 CI (95,79, 99,22)

Beklenen Değerler

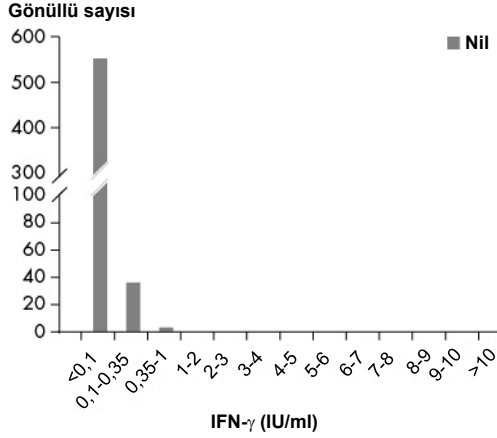
Gözlenen yanıt dağılımları — riske göre sınıflandırılmış

Klinik çalışmalarda TB1, TB2 ve kontrol tüplerine verilen bir dizi IFN- γ yanıtı gözlemlenmiş ve *M. tuberculosis* enfeksiyonu riskine göre sınıflandırılmıştır (Şekil 4 ila Şekil 7). Karışık risk grubu, TB'ye maruz kalma bakımından risk faktörleri olan ve olmayan ve aktif TB olma ihtimali beklenilmeyen (ör. LTBI) kişiler dahil olmak üzere, genel test popülasyonunun bir temsili olan kişilerden oluşur.

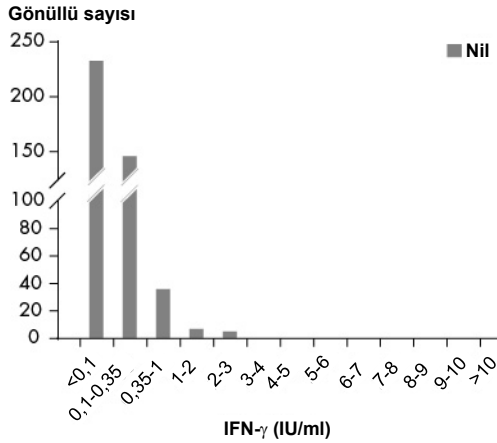
A



B

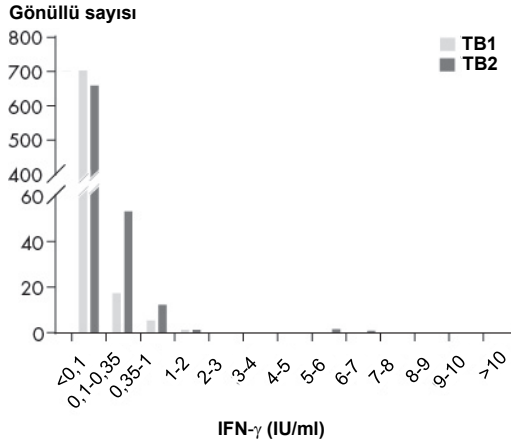


C

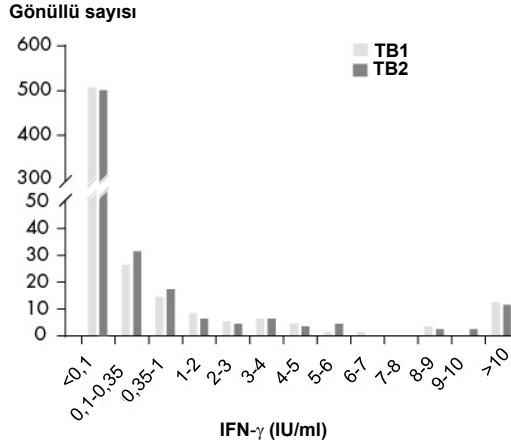


Şekil 4. Nil Dağılımı. A Düşük riskli bir popülasyonda Nil değerlerinin dağılımı (n=744). B Karışık riskli bir popülasyonda Nil değerlerinin dağılımı (n=601). C Kültürle doğrulanmış *M. Tuberculosis* enfeksiyonu görülen bir popülasyonda Nil değerlerinin dağılımı (n=416).

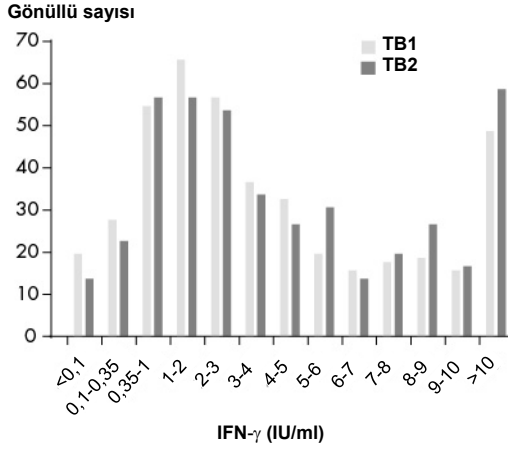
A



B

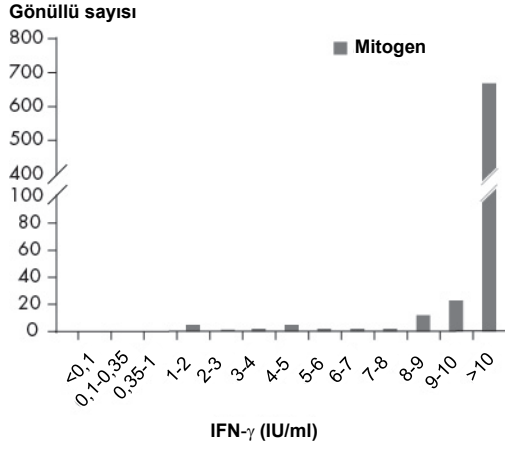


C

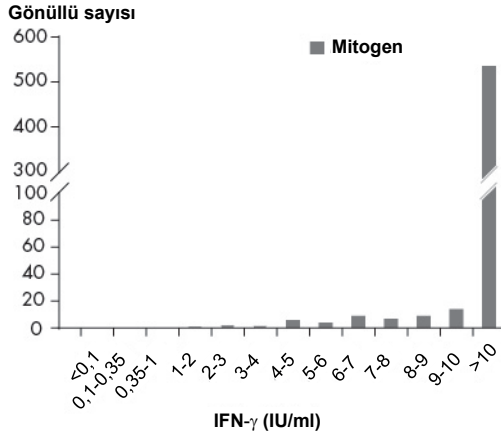


Şekil 5. TB1 ve TB2 dağılımı (Nil Çıkarılmış). **A** Düşük riskli bir popülasyonda TB1 ve TB2 değerlerinin (Nil çıkarılmış) dağılımı (n=744). **B** Karışık riskli bir popülasyonda TB1 ve TB2 değerlerinin (Nil çıkarılmış) dağılımı (n=601). **C** Kültürle doğrulanmış *M.Tuberculosis* enfeksiyonu görülen bir popülasyonda TB1 ve TB2 değerlerinin (Nil çıkarılmış) dağılımı (n=416).

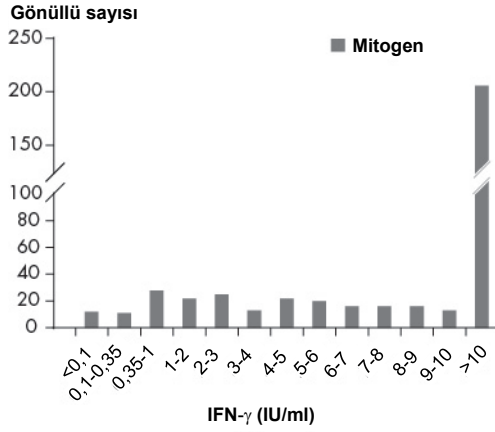
A



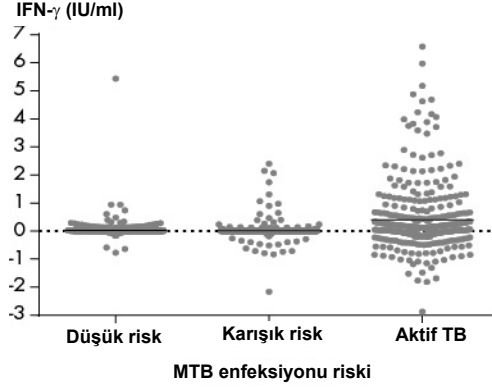
B



C



Şekil 6. Mitogen Dağılımı (Nil Çıkarılmış). **A** Düşük riskli bir popülasyonda Mitogen değerlerinin (Nil çıkarılmış) dağılımı (n=744). **B** Karışık riskli bir popülasyonda Mitogen değerlerinin (Nil çıkarılmış) dağılımı (n=601). **C** Kültürle doğrulanmış *M. Tuberculosis* enfeksiyonu görülen bir popülasyonda Mitogen değerlerinin (Nil çıkarılmış) dağılımı (n=415).



Şekil 7. TB1 ve TB2 değerleri (Nil Çıkarılmış) arasında gözlemlenen fark, riske göre sınıflandırılmıştır. Düşük riskli, aktif riskli ve karışık riskli kohortlar arasındaki farkları gösteren karışık riskli kohort çalışmasından elde edilen verileri kapsamaktadır. Bu veri analizi, bilinen risk faktörlerine sahip karışık riskli bir kohort içermektedir. Bu doğrultuda düşük riskli kohort örneklem büyüklüğü n=733, karışık riskli kohort örneklem büyüklüğü n=588 ve aktif TB kohort örneklem büyüklüğü n=357 olmuştur. Her bir gönüllüye yönelik IU/ml değerindeki kantitatif fark, TB1 değeri TB2 değerinden çıkarılarak elde edilmiştir.

Güvenlik ve Performans Özeti

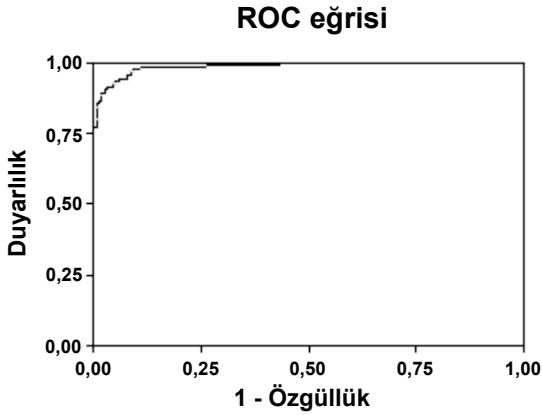
Güvenlik ve performans özetine EUDAMED web sitesinden ulaşılabilir.

Tahlil Performans Özellikleri

Analitik Performans

Tahlil eşiği

QFT-Plus tahlil eşiği, TB'ye maruz kalmaya ilişkin tanımlanmış risk faktörüne sahip olmayan, BCG aşıllı olan ve enfekte olmadığı düşünülen 216 gönüllü ve kültürle onaylanmış *M. tuberculosis* enfeksiyonu olan 118 gönüllüden alınan veriler kullanılarak belirlenmiştir. Duyarlılık ve özgüllük verileri, Karar Vericinin Etkinliği (Receiver Operator Characteristic, ROC) eğrisi analizi ile birleştirilmiş ve analiz edilmiştir. ROC analizi kullanılarak analiz edilen duyarlılık ve özgüllük verileri, en uygun ELISA eşiğinin 0,35 IU/ml olduğunu göstermektedir (bkz. Şekil 8).



Şekil 8. ESAT-6 ve CFP-10 Yanıtları için ROC Eğrisi.

Tablo 13. Çeşitli Eşiklerdeki ELISA için Duyarlılık ve Özgüllük Değerleri

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

Tablo bir sonraki sayfada devam ediyor

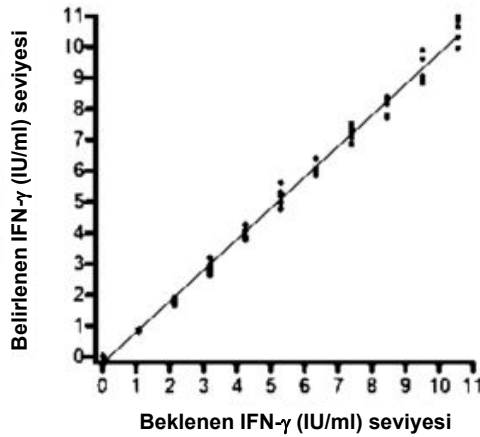
Tablo bir önceki sayfadan devam ediyor

Tablo 13. Çeşitli Eşiklerdeki ELISA için Duyarlılık ve Özgüllük Değerleri

Eşik IU/ml IFN- γ	Duyarlılık %	%95 CI	Özgüllük %	%95 CI	Duyarlılık + Özgüllük
0,47	85,59	%77,94 ila %91,38	99,08	%96,71 ila %99,89	184,67
0,48	84,75	%76,97 ila %90,70	99,08	%96,71 ila %99,89	183,83
0,50	83,90	%76,00 ila %90,02	99,08	%96,71 ila %99,89	182,98

Doğrusallık

QFT-Plus ELISA'nın, ELISA plakasına bilinen IFN- γ konsantrasyonlarında 11 plazma havuzunun 5 tekrarı rastgele yerleştirilerek doğrusal olduğu gösterilmiştir. Doğrusal regresyon doğrusu $1,002 \pm 0,011$ 'lik eğime sahip olup, korelasyon katsayısı 0,99'dur (Şekil 9).



Şekil 9. Doğrusallık Çalışması Regresyon Analizinin İllüstrasyonu-Yüksek Havuz Ortalaması= $-0,24 + 0,9964 \cdot$ Beklenen Değer.

Yeniden Üretilirlik

QFT-Plus performansını değerlendirmek için çalışma merkezlerinde birden fazla kullanıcı ile çok merkezli bir yeniden retilirlik alışması gerçekleştirilmiştir. Bu,  harici test merkezinde ve bir toplama merkezinde yürütülen prospektif bir çalışmadır. Toplam 32 pozitif ve 34 negatif (QFT testi ile belirlenmiştir) alışma gönüllüsü kaydedilmiştir. Çalışma gönüllüleri, Amerika Birleşik Devletleri'nde bulunan sağlık çalışanlarından oluşmaktadır. Çalışma gönüllüleri, meslekleri veya 50/100.000'i aşkın TB oranına sahip bir konumdan gelen yurt dışı doğumlu sağlık çalışanları olmaları sebebiyle TB'ye maruz kalmaya yönelik karışık riskli grupları temsil etmektedir.

Toplama merkezindeki her çalışma gnllsnden  lityum heparin Kan Toplama Tüpü elde edilmiştir. Ardından lityum heparin Kan Toplama Tüpleri, iki QFT-Plus Blood Collection Tube (QFT-Plus TB1, TB2, Mitogen ve Nil) setine alikotlandıkları ve QFT-Plus tahlil prosedürüne göre test edildikleri  test merkezine aktarılmıştır. Her bir merkezde en az iki kullanıcı, çalışma gönüllüsü başına bağımsız olarak iki test gerçekleştirmiştir. Her kullanıcı, diğer kullanıcının elde ettiği sonuçlara krleştirilmiş ve çalışma gnllsnn QFT testi sonucuna krleştirilmiştir.

66 Çalışma gnllsnn her biri için  test merkezinde altı sonuç oluşturulmuş ve böylece toplam 396 veri noktası elde edilmiştir. Yeniden retilirlik alışma sonuçları zeti Tablo 14'te sunulmaktadır.

Tablo 14. Yeniden retilirlik alışma sonuçları zeti - kullanıcılar arasında kalitatif sonuçların merkez içi uyumluluk %'si; N = 66 hasta rneği

Merkez 1 - 2 Kullanıcı	Merkez 2 - 2 Kullanıcı	Merkez 3 - 3 Kullanıcı
64/66 = %96,97	64/66 = %96,97	59/66 = %89,39
Tp Seti 1 ve Tp Seti 2'ye yönelik Kalitatif Sonuçların Uyumluluğu	Tp Seti 1 ve Tp Seti 2'ye yönelik Kalitatif Sonuçların Uyumluluğu	Tp Seti 1 ve Tp Seti 2'ye yönelik Kalitatif Sonuçların Uyumluluğu

Tüm çalışma merkezlerindeki kalitatif uyumluluk yüzdesi %94,7'dir (375/396). Bu hesaplamada uyumluluğa sahip test sonuçlarının toplam sayısına (375) 6 sonucun hepsinin uyumluluğu, 6 sonuçtan 5'inin uyumluluğu, 6 sonuçtan 4'ünün uyumluluğu ve 6 sonuçtan 3'ünün uyumluluğunun olduğu birleşik örnekler dahildir.

Lotlar arası tekrarlanabilirlik

QFT-Plus Blood Collection Tube'ların QFT tüplerine kıyasla lotlar arası değişkenliğini belirlemek için bir çalışma yürütülmüştür. Toplamda 30 gönüllü (QFT testi ile belirlenen, onaylı TB pozitif olan 15 gönüllü ve onaylı TB negatif olan 15 gönüllü) test edilmiştir. Bu çalışmaya QFT-Plus TB1, TB2 ve QFT TB Blood Collection Tube'ların her birinden üç ayrı lot dahil edilmiştir. Her kan toplama tüpü lotu için donör başına üç tekrar test edilmiştir. Nil ve Mitogenin ikisi de bir tekrar ile test edilmiştir.

Lityum-heparin Kan Toplama Tüplerine her gönüllüden kan toplanmıştır ve daha sonra 1 ml'lik kan QFT-Plus ve QFT Blood Collection Tube'ların her birine aktarılmış ve tahlil prosedürüne göre test edilmiştir. Her pozitif ve negatif örnek grubu için QFT-Plus tüp sonuçlarının toplam varyansı, QFT tüpü sonuçlarının toplam varyansından önemli ölçüde daha yüksek olmamalıdır. Bu, Levene'in Varyans Homojenlik (Homogeneity of Variance, HOV) testinin sağladığı p değeri ile belirlenmiştir. P değeri anlamlı değilse ($p > 0,05$) ve/veya QFT-Plus TB tüplerinin varyasyonu QFT TB tüpünününe göre daha düşükse bu, QFT-Plus ve QFT TB tüpleri arasında varyans olduğu anlamına gelmektedir.

Tablo 15. QFT-Plus ve QFT TB Blood Collection Tube'lar arasındaki Varyansların Levene'in HOV Testi Kullanılarak Karşılaştırılması

Örnek tipi	Fark	Etki	Bağlı	P değeri	Anlamlı
Pozitif	TB2 ve QFT	Sub_Type	Kalıntı	0,0378	Evet
Pozitif	TB2 ve QFT	Sub_Type	Kalıntı	0,0540	Hayır
Negatif	TB2 ve QFT	Sub_Type	Kalıntı	0,1025	Hayır
Negatif	TB2 ve QFT	Sub_Type	Kalıntı	0,6344	Hayır

QFT-Plus ve QFT TB Blood Collection Tube'lar arasındaki varyasyon, pozitif gönüllülerle test edildiğinde QFT-Plus TB2 tüpü hariç anlamlı değildir. Tablo 16'da gösterildiği gibi, standart sapma tahmini analiz edildiğinde QFT-Plus TB2 tüpünde görülen varyasyon (0,06089), QFT TB tüpünde görülen varyasyondan (0,07641) daha küçüktür. Bu yüzden QFT-Plus TB1 ve TB2 Blood Collection Tube'ların varyansı, QFT TB Blood Collection Tube varyansından daha büyük değildir.

Tablo 16. Pozitif Gönüllüler için Kalıntı ve %95 Güven Aralığına yönelik Standart Sapma

Örnek tipi	Alt tip	Standart Sapma Tahmini	%95 LCL	%95 UCL
Pozitif	QFT	0,07641	0,06826	0,08680
Pozitif	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Pozitif	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

Lotlar içi tekrarlanabilirlik

QFT-Plus Blood Collection Tube'ların lotlar içi yeniden üretilebilirliğini değerlendirmek için kanın QFT-Plus TB Blood Collection Tube'ların tekrarından elde edilen IFN- γ konsantrasyonu karşılaştırılarak bir çalışma gerçekleştirilmiştir.

Onaylı TB enfeksiyonu olan aynı gönüllülerden alınan bir kan örneğinin altı alikotu, her iki QFT-Plus tube'dan (TB1 ve TB2) birer adet olmak üzere Kan Toplama Tüplerinde 6 tekrarda çalıştırılmıştır. Test, 13 gönüllü üzerinde gerçekleştirilmiştir. Tablo 17'de gösterildiği gibi, CV yüzdesi her bir donör için ve ortalama bir CV yüzdesi elde etmek amacıyla tüm donörler için hesaplanmıştır.

Tablo 17. TB Pozitif Gönüllülerde her bir QFT-Plus TB Blood Collection Tube'a ait Ortalama, Standart Sapma, Minimum, Medyan ve Maksimum Değerleri için CV Yüzdesi

QFT-Plus Tube	Örnek büyüklüğü	Ortalama (%CV)	Standart Sapma	Minimum	Medyan	Maksimum
TB1	13	13,31	6,88	4,17	12,87	29,56
TB2	13	13,04	7,48	4,86	10,75	29,44

Sonuçlar, TB1 ve TB2'ye yönelik ortalama CV yüzdesinin ~%13 olduğunu, \leq %30 oranındaki kabul kriterini karşıladığını ve lotlar içi tekrarlanabilirlik gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Kör Sınırı (Limit of Blank, LoB)

QFT-Plus tahlili için Kör Sınırı (Limit of Blank, LoB) değerlendirilmiştir. 14 ayrı normal insan plazma örneğinin (kör olarak) her birinden iki tekrar, 2 lot QFT-Plus ELISA ile 3 kullanıcı tarafından 3 test gününde test edilmiştir (her test gününde bir kullanıcı ile her ELISA kit lotundan toplamda 84 tekrar).

2 ELISA kit lotu için LoB değerleri (IU/mL) Tablo 18'de gösterilen şekilde ayrı olarak hesaplanmıştır.

Tablo 18. 2 QFT-Plus ELISA Kit Lotu İçin LoB Değerleri (IU/mL)

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

Her iki QFT-Plus ELISA kit lotu arasında daha büyük LoB değeri olan 0,040 IU/ml, nihai LoB değeri olarak rapor edilmiştir.

Tespit Sınırı (Limit of Detection, LoD)

QFT-Plus tahlili için Tespit Sınırı (Limit of Detection, LoD) değerlendirilmiştir. 14 ayrı plazma örneği birleştirilerek bir TB negatif insan plazma havuzu oluşturulmuştur. 3 kullanıcının her biri 1,0 IU/mL'de tampon içinde seyreltilmiş bir IFN- γ referans standart stoku hazırlamıştır. 8 konsantrasyondan oluşan bir dilüsyon serisi oluşturulmuştur. Çalışma 3 gün boyunca, 2 QFT-Plus ELISA kit lotu kullanan 3 dönüşümlü kullanıcı tarafından yürütölmüştür. Her test günü için her seri dilüsyon serisi setindeki her konsantrasyonun 5 tekrarı, her QFT-Plus ELISA kit lotunun her IFN- γ dilüsyonuna yönelik toplamda 45 tekrar için test edilmiştir.

QFT-Plus ELISA kit lotlarının her biri için LoD değeri, Tablo 19'da gösterilen şekilde ayrı olarak hesaplanmıştır.

Tablo 19. 2 QFT-Plus ELISA Kit Lotu için Tahmini LoD Değerleri (IU/mL)

QFT-Plus ELISA Kit	Olasılık	Konsantrasyon tahmini (IU/ml)	Tahmin için Alt %95 Güven Limiti	Tahmin için Üst %95 Güven Limiti
Kit 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Kit 2	0,95	0,065	0,060	0,073

Her iki QFT-Plus ELISA kit lotu arasında hesaplanan daha büyük LoD değeri olan 0,065 IU/mL, nihai LoD değeri olarak rapor edilmiştir.

Olumsuz etkileyen maddeler

Potansiyel olumsuz etkileyen maddelerin QFT-Plus ELISA testinin IFN- γ performansı üzerindeki etkilerini belirlemek için bir çalışma yürütülmüştür. Bu teste dahil edilen interferanlar şunlardır: trigliseritler (toplam), hemoglobin, protein (toplam serum), bilirubin (konjuge), bilirubin (konjuge olmayan), Abakavir sülfat, Siklosporin ve Prednizolon. Farklı interferan konsantrasyonları kullanılarak, IFN- γ bilinen konsantrasyonları ile beş plazma havuzu hazırlanmıştır. Temel havuz IFN- γ seviyesi, önceden belirlenen miktarda mevcut IFN- γ (yaklaşık 0,21, 0,45 ve 1,4 IU/ml) ile önceden hazırlanmıştır. Daha sonra bu havuz interferan havuzlarını hazırlamak için kullanılmıştır. Test edilen interferan konsantrasyonları 0 mg/dL, 5 mg/dL, 10 mg/dL, 15 mg/dL ve 20 mg/dL'dir. Hedef interferan konsantrasyonları; referans aralıklar, patolojik değerler, terapötik aralıklar ve toksik aralıkları temel almış veya satıcı ya da genel klinik seviyeler tarafından önerilmiştir. Her interferan konsantrasyon seviyesi için altı tekrar test edilmiştir.

Her örnek konsantrasyonu için Tablo 20 ve Tablo 21'de gösterilen şekilde kontrole (interferansız seviye) kıyasla primer interferan seviyesinin ortalama log₁₀ (IU/mL) farkını karşılaştıran iki örnekli bir t-test gerçekleştirilmiştir. Ortalama yanıt açısından tahmini farkın yanı sıra karşılık gelen iki taraflı %95 güven limitleri ve p değeri de rapor edilmiştir.

Tablo 20. Log10 IU/ml: Her İnterferan ve IFN- γ Konsantrasyon Seviyesi İçin Kontrol ile Primer İnterferan Seviyesi Arasında Ortalama Açısından Farklar İçin T-Test Özet Tablosu

İnterferan	İnterferan seviyesi	Örnek konsantrasyonu (IU/ml)	Varyanslar	Ortalama Fark	Alt %95 CI	Üst %95 CI	P değeri	Geçti
Trigliseritler	Yüksek	1,4	Eşit	0,019	-0,040	0,077	0,491	Evet
		0,45	Eşit	0,004	-0,022	0,030	0,732	Evet
		0,21	Eşit	0,006	-0,035	0,047	0,759	Evet
Hemoglobin	Yüksek	1,4	Eşit	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Evet
		0,45	Eşit	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Evet
		0,21	Eşit	0,000	-0,034	0,035	0,980	Evet
Protein	Yüksek	1,4	Eşit	0,004	-0,034	0,042	0,836	Evet
		0,45	Eşit	0,001	-0,38	0,040	0,962	Evet
		0,21	Eşit	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Evet
Konjuge Bilirubin	Yüksek	1,4	Eşit	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Evet
		0,45	Eşit	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Evet
		0,21	Eşit	-0,014	0,074	0,046	0,625	Evet
Konjuge Olmayan Bilirubin	Yüksek	1,4	Eşit	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Evet
		0,45	Eşit	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Evet
		0,21	Eşit	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Evet
Abakavir	Yüksek	1,4	Eşit	0,008	-0,025	0,041	0,601	Evet
		0,45	Eşit	0,012	-0,019	0,044	0,412	Evet
		0,21	Eşit	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Evet

Tablo bir sonraki sayfada devam ediyor

Tablo bir önceki sayfadan devam ediyor

Tablo 20. Log₁₀ IU/ml: Her İnterferan ve IFN- γ Konsantrasyon Seviyesi İçin Kontrol ile Primer İnterferan Seviyesi Arasında Ortalama Açısından Farklar İçin T-Test Özet Tablosu

İnterferan	İnterferan seviyesi	Örnek konsantrasyonu (IU/ml)	Varyanslar	Ortalama fark	Alt %95 CI	Üst %95 CI	P değeri	Geçti
Siklosporin	Yüksek	1,4	Eşit	0,014	-0,020	0,047	0,383	Evet
		0,45	Eşit	0,005	-0,035	0,045	0,773	Evet
		0,21	Eşit	0,024	-0,008	0,056	0,131	Evet
Prednizolon	Yüksek	1,4	Eşit	0,017	-0,017	0,050	0,293	Evet
		0,45	Eşit	0,000	-0,036	0,036	0,979	Evet
		0,21	Eşit	0,015	-0,035	0,065	0,524	Evet

Tablo 21. Log10 IU/ml: Her İnterferan ve IFN- γ Konsantrasyon Seviyesi İçin Kontrol ile Ysek İnterferan Seviyesi Arasında Ortalama Açısından Farklar İçin T-Test zet Tablosu

İnterferan	İnterferan seviyesi	örnek konsantrasyonu (IU/ml)	Varyanslar	Ortalama Fark	Alt %95 CI	st %95 CI	P değeri	Geçti
Trigliseritler	Ysek	1,4	Eşit	0,053	-0,004	0,110	0,063	Evet
		0,45	Eşit	0,039	-0,021	0,058	<0,001	Evet
		0,21	Eşit	0,034	-0,002	0,071	0,061	Evet
Hemoglobin	Ysek	1,4	Eşit	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Evet
		0,45	Eşit	0,016	-0,007	0,040	0,152	Evet
		0,21	Eşit	0,014	-0,030	0,059	0,489	Evet
Protein	Ysek	1,4	Eşit	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Evet
		0,45	Eşit	0,000	-0,046	0,046	0,992	Evet
		0,21	Eşit	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Evet
Konjuge Bilirubin	Ysek	1,4	Eşit	0,001	-0,046	0,048	0,961	Evet
		0,45	Eşit	0,012	-0,043	0,067	0,639	Evet
		0,21	Eşit	0,015	-0,044	0,074	0,586	Evet
Konjuge Olmayan Bilirubin	Ysek	1,4	Eşit	0,015	-0,011	0,042	0,231	Evet
		0,45	Eşit	0,015	-0,023	0,052	0,411	Evet
		0,21	Eşit	0,012	-0,033	0,057	0,566	Evet
Abakavir	Ysek	1,4	Eşit	0,013	-0,015	0,040	0,322	Evet
		0,45	Eşit	0,015	-0,014	0,044	0,283	Evet
		0,21	Eşit	0,008	-0,034	0,050	0,677	Evet

Tablo bir sonraki sayfada devam ediyor

Tablo bir önceki sayfadan devam ediyor

Tablo 21. Log₁₀ IU/ml: Her İnterferan ve IFN- γ Konsantrasyon Seviyesi İçin Kontrol ile Yüksek İnterferan Seviyesi Arasında Ortalama Açısından Farklar İçin T-Test Özet Tablosu

İnterferan	İnterferan seviyesi	Örnek konsantrasyonu (IU/ml)	Varyanslar	Ortalama fark	Alt %95 CI	Üst %95 CI	P değeri	Geçti
Siklosporin	Yüksek	1,4	Eşit	0,002	-0,019	0,024	0,816	Evet
		0,45	Eşit	0,007	-0,030	0,043	0,682	Evet
		0,21	Eşit	0,015	-0,007	0,038	0,155	Evet
Prednizolon	Yüksek	1,4	Eşit	0,007	-0,016	0,030	0,518	Evet
		0,45	Eşit	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Evet
		0,21	Eşit	0,021	-0,025	0,068	0,334	Evet

Sonuçlar, primer interferan seviyesi ile kontrol (interferansız seviye) arasında ve Trigliserit 0,45 IU/ml konsantrasyon seviyesi hariç yüksek interferan seviyesi için anlamlı bir fark göstermemiştir. Ortalama fark, +/- 2 standart sapma aralığı içinde olacak şekilde belirlenmiştir. Bu durum, farkın tahlilin beklenen değişkenliği içinde olduğunu ve Trigliseritin QFT-Plus ELISA üzerinde olumsuz bir etkisi olmadığını göstermektedir.

Bertaraf

İlgili kan kullanımı yönergelerine uyun. Kan veya kan ürünleri ile temas eden örnekleri ve materyalleri federal, ulusal ve yerel düzenlemelere uygun şekilde imha edin.

Referanslar

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.

Sorun Giderme Kılavuzu

Bu sorun giderme kılavuzu ortaya çıkabilecek sorunların çözümünde yardımcı olabilir. Teknik yardım ve daha fazla bilgi için lütfen www.qiagen.com/Support adresindeki Teknik Destek Merkezimize gidin (iletişim bilgileri için www.qiagen.com adresini ziyaret edin).

Yorumlar ve öneriler

ELISA sorun giderme

Spesifik olmayan renk oluşumu

- | | |
|--|---|
| a) Yetersiz plaka yıkaması | Plakayı en az 6 kez 400 µl/kuyu yıkama tamponuyla yıkayın. Kullanılan yıkayıcıya bağlı olarak 6 yıkamadan fazlası gerekli olabilir. Her yıkama adımı arasında en az 5 saniye bekleme periyodu olmalıdır. |
| b) ELISA kuyularının çapraz kontaminasyonu | Riski en aza indirmek için örneği pipetlerken ve karıştırırken dikkatli olun. |
| c) Kitin/bileşenlerin son kullanma tarihinin geçmesi | Kitin son kullanma tarihinden önce kullanıldığından emin olun. Sulandırılan standardın ve Konjugat 100x Konsantrenin sulandırıldığı tarihten sonraki üç ay içinde kullanıldığından emin olun. |
| d) Enzim Substrat Solüsyonunun kontamine olması | Mavi renklenme mevcutsa substratı atın. Temiz reaktif kapları kullanıldığından emin olun. |
| e) QFT-Plus Blood Collection Tube'lar içindeki plazmanın toplanmadan önce karıştırılması | Santrifüj yaptıktan sonra, plazmayı almadan önce aşağı ve yukarı doğru pipetleme yapmaktan veya herhangi bir yolla plazmayı karıştırmaktan kaçının. İşlemin her aşamasında, jel üzerindeki materyali bozmamaya dikkat edin. |

Yorumlar ve öneriler

Standartların düşük optik yoğunluk okumaları

- | | |
|--|--|
| a) Standart dilüsyon hatası | Kit Standardı dilüsyonlarının bu Kullanım Talimatlarında anlatıldığı şekilde hazırlandığından emin olun. |
| b) Pipetleme hatası | Pipetlerin üretici talimatları doğrultusunda kalibre edildiğinden ve kullanıldığından emin olun. |
| c) İnkübasyon sıcaklığının çok düşük olması | ELISA'nın inkübasyonu oda sıcaklığında ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) yapılmalıdır. |
| d) İnkübasyon süresinin çok kısa olması | Plakanın konjugat, standartlar ve örnekler ile inkübasyonu 120 ± 5 dakika sürmelidir. Enzim Substrat Solüsyonu plakada 30 dakika inkübe edilmelidir. |
| e) Yanlış plaka okuyucu filtresinin kullanılması | Plaka, 620 ile 650 nm arasında bir referans filtreyle 450 nm'de okunmalıdır. |
| f) Reaktiflerin çok soğuk olması | Konjugat 100x Konsantre hariç tüm reaktifler, tahlile başlamadan önce mutlaka oda sıcaklığına getirilmelidir. Bu işlem yaklaşık 1 saat sürer. |
| g) Kitin/bileşenlerin son kullanma tarihinin geçmesi | Kullanılan kitin son kullanma tarihinin geçmediğinden emin olun. Sulandırılan Standardın ve Konjugat 100x Konsantrenin sulandırıldığı tarihten sonraki 3 ay içinde kullanıldığından emin olun. |

Yüksek arka plan

- | | |
|--|--|
| a) Yetersiz plaka yıkaması | Plakayı en az 6 kez 400 μl /kuyu yıkama tamponuyla yıkayın. 6'dan fazla yıkama adımı gerekli olabilir. Her yıkama adımı arasında en az 5 saniye bekleme periyodu olmalıdır. |
| b) İnkübasyon sıcaklığının çok yüksek olması | ELISA'nın inkübasyonu oda sıcaklığında ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) yapılmalıdır. |

Yorumlar ve öneriler

- | | |
|--|--|
| c) Kitin/bileşenlerin son kullanma tarihinin geçmesi | Kitin son kullanma tarihine kadar kullanıldığından emin olun. Sulandırılan standardın ve Konjugat 100x Konsantrinin sulandırıldığı tarihten sonraki üç ay içinde kullanıldığından emin olun. |
| d) Enzim Substrat Solüsyonunun kontamine olması | Mavi renklenme mevcutsa substratı atın. Temiz reaktif kapları kullanıldığından emin olun. |

Doğrusal olmayan standart eğri ve çift değişkenlik

- | | |
|--|--|
| a) Yetersiz plaka yıkaması | Plakayı en az 6 kez 400 µl/kuyu yıkama tamponuyla yıkayın. 6'dan fazla yıkama adımı gerekli olabilir. Her yıkama adımı arasında en az 5 saniye bekleme periyodu olmalıdır. |
| b) Standart dilüsyon hatası | Standart dilüsyonlarının bu Kullanım Talimatlarında anlatıldığı şekilde hazırlandığından emin olun. |
| c) Yetersiz karıştırma | Reaktifleri ters çevirerek veya plakaya eklemekten önce hafif vorteksleyerek iyice karıştırın. |
| d) Tutarsız pipetleme tekniği veya tahlil kurulumu sırasında ara verme | Örnek ve standart ekleme sürekli bir şekilde gerçekleştirilmelidir. Tüm reaktifler tahlile başlamadan önce hazırlanmalıdır. |

Semboller

Aşağıdaki semboller, kullanım talimatlarında veya ambalaj ve etiket üzerinde görülür:

Sembol

Sembol tanımı



<N>

<N> reaksiyon için yeterli reaktif içerir



Son kullanma tarihi



Bu ürün, in vitro tanı amaçlı tıbbi cihazlar için Avrupa Yönetmeliği 2017/746'nın gerekliliklerini karşılamaktadır.

EC

REP

Avrupa Topluluğu/Avrupa Birliğindeki yetkili temsilci

IVD

İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz

REF

Katalog numarası

LOT

Lot numarası

MAT

Malzeme numarası (yani bileşen etiketlemesi)

COMP

Bileşenler

CONT

İçindekiler

NUM

Numara

GTIN

Küresel Ticaret Parça Numarası

Rn

R, Kullanım Talimatları revizyonu olup n ise revizyon numarasıdır



Sıcaklık sınırlaması

Sembol

Sembol tanımı



Üretici



Kullanım talimatlarına bakın



Işığa maruz bırakmayın



Uyarı/dikkat veya Dikkat, eşlik eden belgelere bakın

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

Heparinize tam kandaki hücreleri stimüle etmek için ESAT-6 ve CFP-10 proteinlerini simüle eden bir peptid kokteyli kullanan in vitro tanı amaçlı bir test



Hayvan kaynaklı biyolojik materyal içerir



İnsan kaynaklı biyolojik materyal içerir



Benzersiz Cihaz tanımlayıcı

Sembol**Sembol tanımı**

tartrazine

Tartrazin içerir

sulfuric acid

Sülfürik asit içerir

Ek A: Teknik Bilgiler

Şüpheli sonuçlar

Şüpheli sonuçlar olağan dışıdır ve test edilen kişinin immün durumuyla ilgili olabileceği gibi (5), yukarıdaki kullanım talimatları izlenmezse, bir dizi teknik faktöre (ör. Kan Toplama Tüplerinin yanlış kullanılması/saklanması, tamamlanmamış ELISA plaka yıkaması) de bağlı olabilir.

Reaktifin saklanması, kanın toplanması veya kan örneklerinin kullanılmasında teknik sorunlardan şüpheleniliyorsa QFT-Plus testinin tamamını yeni kan numuneleriyle tekrarlayın. Stimüle edilen plazmaların ELISA testi, yetersiz yıkamadan veya ELISA testinde herhangi bir prosedür sapmasından şüphelenildiği takdirde tekrarlanabilir. Doktorlar uygun olduğu şekilde bir numuneyi tekrar almayı veya başka işlemler yapmayı tercih edebilir.

Pıhtılaşmış plazma örnekleri

Plazma örneklerinin uzun süreli saklanmasıyla fibrin pıhtıları meydana gelirse, pıhtılaşmış materyali çöktürmek ve plazmanın pipetlenmesini kolaylaştırmak için örnekleri santrifüj edin.

Lipemik plazma örnekleri

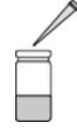
Yağlı birikintiler pipet uçlarını tıkayabileceğinden, lipemik örnekleri pipetlerken dikkat edilmelidir.

Ek B: Kısaltılmış ELISA Test Prosedürü

1. Konjugat 100x Konsantre hariç, ELISA reaktiflerini çalışma sıcaklığına getirmek için, oda sıcaklığında en az 60 dakika bekletin.

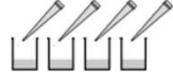


2. Kit standardını 8,0 IU/ml olacak şekilde distile veya deiyonize su ile çözün. Dört (4) standart dilüsyonunu hazırlayın.

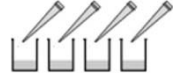


3. Dondurularak kurutulmuş Konjugat 100x Konsantre'yi distile veya deiyonize su ile çözün.

4. Çalışma konjugatını Yeşil Seyreltici ile hazırlayın ve her kuyuya 50 µl ekleyin.



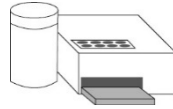
5. İlgili kuyulara 50 µl test plazma örneği ve 50 µl standartları ekleyin. Çalkalayıcı kullanarak karıştırın.



6. Oda sıcaklığında 120 dakika inkübe edin.



7. Kuyuları en az 6 kez 400 µl/kuyu yıkama tamponuyla yıkayın.



8. Kuyulara 100 µl Enzim Substrat Solüsyonu ekleyin. Çalkalayıcı kullanarak karıştırın.



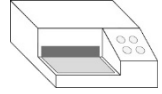
9. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edin.



10. Kuyulara 50 µl Enzim Durdurma Solüsyonu ekleyin. Çalkalayıcı kullanarak karıştırın.



11. Sonuçları 450 nm ana filtre ve 620 ila 650 nm referans filtre kullanarak okuyun



12. Sonuçları analiz edin.



Sipariş Bilgileri

Ürün	İçerik	Kat. no.
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit	2 plakalı ELISA kiti	622120
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Reference Lab Pack	20 plakalı ELISA kiti	622822
Related products		
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes	200 tüp (Nil, TB1, TB2 ve Mitogen'in her birinden 50 adet)	622526
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 tüp (Nil, TB1, TB2 ve Mitogen'in her birinden 25 adet)	622423
QuantiFERON-TB Gold Plus Single Patient Pack	40 tüp (Nil, TB1, TB2 ve Mitogen'in her birinden 1 adet/paket), 10'lu paket	622222
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes	200 tüp (Nil, TB1, TB2 ve Mitogen'in her birinden 50 adet)	623526
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 tüp (Nil, TB1, TB2 ve Mitogen'in her birinden 50 adet)	623423
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Single Patient Pack	40 tüp (Nil, TB1, TB2 ve Mitogen'in her birinden 1 adet/paket), 10'lu paket	623222

Güncel lisanslama bilgileri ve ürüne özgü ret beyanları için ilgili QIAGEN kiti Kullanım Talimatlarına bakın. QIAGEN kiti Kullanım Talimatları www.qiagen.com adresinde bulunabilir veya QIAGEN Teknik Servislerinden veya yerel distribütörünüzden istenebilir.

Belge Revizyon GemiŒi

Tarih	DeęiŒiklikler
R2, Haziran 2021	<p>Tek Hasta Paketi hakkındaki bilgiler dahil edilmiŒtir</p> <p>Tablo 10 ve 11, QFT-GIT ve QFT-Plus verilerini ayırt etmek için revize edilmiŒtir</p> <p>Test popülasyonu ve lim aralığı hakkında bilgi eklemek için Açıklama ve İlke bölümü gncellenmiŒtir</p> <p>QFT-Plus olabilirlik oranı hakkında veri eklemek için Tablo 9 eklenmiŒtir</p>
R3, Ekim 2021	<p>Katalog numarası, orijinal katalog numaralarına geri dndrlmŒtr</p> <p>Kit içeriklerindeki Mikroplaka stripleri için tek kullanımlıktır ifadesi eklenmiŒtir</p>
R4, Mart 2023	<p>Biçim dzeltilmiŒtir</p>

Bu sayfa özellikle boş bırakılmıştır

QuantIFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit için Sınırlı Lisans Sözleşmesi

Bu ürünün kullanımı herhangi bir alıcının veya ürün kullanıcısının aşağıdaki koşulları kabul ettiği anlamına gelir:

1. Ürün yalnızca ürünle birlikte ve bu Kullanım Talimatlarında verilen protokollere uygun olarak kullanılabilir ve yalnızca panelin içinde bulunan bileşenlerle kullanım içindir. QIAGEN, bu panel ile birlikte verilen bileşenlerin ürünle birlikte verilen protokollerde, bu Kullanım Talimatlarında ve www.qiagen.com adresinden ulaşılabilen ek protokollerde belirtilenlerin dışında bu panelin içinde yer almayan herhangi bir bileşenle kullanımı veya birleştirilmesi için kendi fikri mülkiyet haklarının herhangi biri altında lisans hakkı vermez. Bu ek protokollerden bazıları QIAGEN kullanıcıları tarafından QIAGEN kullanıcıları için sağlanmıştır. Bu protokoller QIAGEN tarafından kapsamlı şekilde test edilmemiş veya optimize edilmemiştir. QIAGEN üçüncü tarafların haklarını ihlal etmediğini garanti etmez ve beyan etmez.
2. Açıkça belirtilen lisanslar dışında, QIAGEN bu panel ve/veya kullanımlarının üçüncü tarafların haklarını ihlal etmeyeceğini garanti etmez.
3. Bu panel ve bileşenleri bir kez kullanım için lisanslıdır ve tekrar kullanılamaz, yenilenemez veya tekrar satılamaz.
4. QIAGEN açıkça ifade edilenden dışında açık veya zımnî diğer tüm lisansları açıkça reddeder.
5. Panelin alıcısı veya kullanıcısı yukarıda yasaklanan eylemlere neden olabilecek veya kolaylaştırabilecek herhangi bir girişimde bulunmayacağını ve başka birisine izin vermeyeceğini kabul eder. QIAGEN herhangi bir Mahkemede bu Sınırlı Lisans Anlaşması yasaklamalarını uygulayabilir ve bu sınırlı lisans anlaşmasının veya panel ve/veya bileşenleriyle ilgili fikri mülkiyet haklarının herhangi birinin uygulanmasına yol açan tüm durumlarda avukat ücreti dahil tüm soruşturma ve mahkeme masraflarını geri alabilir.

Güncellenmiş lisans şartları için bkz. www.qiagen.com.

Ticari Markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantIFERON® (QIAGEN Group) Proclin®. Bu belgede geçen tescilli adlar, ticari markalar vb. açıkça bu şekilde belirtilmemiş olsa bile yasalarda korunmaktadır.

03/2023 L1123669 1123669TR © 2023 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

Sipariş www.qiagen.com/shop | Teknik Destek support.qiagen.com | Web Sitesi www.qiagen.com