



Kovas 2023

„QuantiFERON®-TB Gold Plus ELISA Kit“ naudojimo instrukcijos



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

1 versija



Skirta *in vitro* diagnostikai

Skirta naudoti su „QuantiFERON®-TB Gold Plus Blood Collection Tubes“



622120, 622822



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Vokietija



1123669LT

Turinys

Numatytoji paskirtis	5
Numatytieji naudotojai	5
Aprašymas ir veikimo principas	6
Informacija apie patogeną	6
Santrauka ir paaiškinimas	6
Tyrimo principai	9
Pateikiamos medžiagos	11
Rinkinio turinys	11
Rinkinio komponentai	12
Platforma ir programinė įranga	12
Būtinoms, bet nepateikiamoms priemonėms	13
Papildomi reagentai	13
Eksploataciniai reikmenys	13
Įranga	13
Įspėjimai ir atsargumo priemonės	14
Saugos informacija	14
Skubios pagalbos telefono numeris	15
Atsargumo priemonės	16
Reagentų laikymas ir naudojimas	18
Stabilumas naudojimo metu	18
Atkurti ir nepanaudoti reagentai	18
Bandinių laikymas ir naudojimas	19

Protokolas: ELISA vykdymas	20
Rezultatai (skaičiavimai).....	26
Kalibracinės kreivės ir mėginio verčių gavimas	26
Testo kokybės kontrolė	28
Rezultatų aiškinimas.....	30
Apribojimai.....	32
Eksplotacinių savybių charakteristikos	33
Klinikiniai tyrimai.....	33
Jautrumas	35
Tikėtinos reikšmės	43
Saugumo ir veiksmingumo suvestinė.....	49
Tyrimo atlikimo charakteristikos	50
Analitinis efektyvumas.....	50
Utilizavimas	63
Literatūra	64
Trikčių šalinimo vadovas	66
Simboliai.....	69
A priedas. Techninė informacija	72
Neaiškūs rezultatai.....	72
Sukrešėje plazmos mėginiai.....	72
Lipeminiai plazmos mėginiai	72
B priedas. Trumpas ELISA tyrimo procedūros aprašas.....	73
Užsakymo informacija	75
Dokumento peržiūrų istorija.....	77

Numatytoji paskirtis

„QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus)“ tyrimas yra *in vitro* diagnostinis tyrimas, kurį sudaro peptidų mišinys, imituojantis ESAT-6 ir CFP-10 baltymus, kad būtų stimuliuojamos ląstelės visame heparinizuotame kraujyje. Interferono- γ (IFN- γ) nustatymas imunofermentinės analizės (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) metodu naudojamas nustatant kiekį *in vitro* reakcijų į peptidų antigenus, kurie siejami su *Mycobacterium tuberculosis* infekcija.

„QFT-Plus“ yra netiesioginis tyrimas, skirtas *M. tuberculosis* infekcijai (įskaitant ligą) nustatyti. Testas turi būti naudojamas atsižvelgiant į rizikos įvertinimą, rentgeno tyrimus ir kitus medicininius ir diagnostinius tyrimus.

Numatytieji naudotojai

Šis rinkinys skirtas profesionaliam naudojimui.

„QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)“ tyrimą gali naudoti išmokyti darbuotojai laboratorijos aplinkoje.

Aprašymas ir veikimo principas

Informacija apie patogeną

Tuberkuliozė yra užkrečiama liga, kurią sukelia infekcija su *M. tuberculosis* komplekso (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* ir *M. caprae*) organizmais. Nuo asmenų, kurie serga plaučių tuberkulioze, paprastai užsikrečiama oro lašeliniu būdu. Naujai infekuotiems asmenims savaičių ar mėnesių laikotarpiu gali pasireikšti tuberkuliozės liga, bet didžiajai infekuotų asmenų daliai nepasireiškia jokie simptomai. Kai kuriems išlieka latentinė tuberkuliozės infekcija (LTBI), t. y. neužkrečiama besimptomė liga, kurios aktyvi forma gali pasireikšti tik po mėnesių ar metų. Pagrindinis tikslas nustačius LTBI yra tinkamas gydymas, siekiant užkirsti kelią susirgti tuberkulioze. Daugiau nei 100 metų tuberkulino odos testas (TOT) (angl. tuberculin skin test, TST) buvo vienintelis turimas metodas LTBI diagnozuoti (4). Odos jautrumas tuberkulinui atsiranda praėjus 2–10 savaičių po užsikrėtimo. Tačiau kai kuriems infekuotiems asmenims reakcija į tuberkuliną nepasireiškia, pavyzdžiui, pacientams, kurių imuninės sistemos veikla sutrikusi dėl kitų ligų arba neturintiems tokių sutrikimų. Atvirkščiai, kai kurie asmenys, kurie iš tikrųjų nėra infekuoti *M. tuberculosis*, paskiepyti Bacille Calmette-Guérin (BCG) ir būdami užsikrėtę kitomis, o ne *M. tuberculosis* komplekso mikobakterijomis ar dėl kitų nežinomų faktorių yra jautrūs tuberkulinui. Jiems atlikus TST testą yra gaunamas teigiamas rezultatas.

LTBI reikia skirti nuo tuberkuliozės ligos, kurią būtina registruoti ir kuri įprastai apima plaučius ir apatinius kvėpavimo takus, tačiau gali būti paveiktos ir kitos organų sistemos. Tuberkuliozės liga yra diagnozuojama remiantis istorinių, fizinių, radiologinių ir mikobakteriologinių tyrimų rezultatais.

Santrauka ir paaiškinimas

„QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)“ testas yra ketvirtos kartos „QuantiFERON-TB“ tyrimų technologijos testas, matuojantis ląstelių perduodamą atsaką kiekybinio IFN- γ matavimo viso kraujo mėginyje būdu. „QFT-Plus“ kokybinis testas matuoja ląstelių perduotą imunologinį atsaką (CMI) į peptido antigenus, kurie imituoja mikobakterijų baltymus.

Baltymų ESAT-6 ir CFP-10 nėra jokiose BCG atmainose ir daugumoje netuberkuliozinių mikobakterijų, išskyrus *M. kansasii*, *M. szulgai* ir *M. marinum* (1). *M. tuberculosis* komplekso organizmais užsikrėtę asmenys paprastai kraujyje turi limfocitų, kurie atpažįsta šiuos ir kitus mikobakterijų antigenus. Šis atpažinimo procesas apima citokino, IFN- γ , generavimą ir sekreciją. IFN- γ aptikimas ir tolesnis jo formų kiekybinis įvertinimas sudaro šio tyrimo pagrindą.

Tuberkulino odos testai ir IGRA testai padeda, tačiau jų nepakanka diagnozuojant *M. tuberculosis* komplekso sukeltą infekciją sergantiems pacientams – teigiamas rezultatas gali padėti diagnozuoti tuberkuliozę, tačiau kitų mikobakterijų (pvz., *M. kansasii*) sukeltos infekcijos taip pat gali lemti teigiamą testo rezultatą. Kad būtų patvirtinta arba paneigta tuberkuliozės ligos diagnozė, būtina atlikti kitus medicininius ir diagnostinius tyrimus.

„QFT-Plus“ teste panaudoti antigenai yra peptidų mišinys, kuris imituoja baltymus ESAT-6 ir CFP-10. Daugelis atliktų tyrimų parodė, kad šie peptido antigenai imituoja IFN- γ reakciją *M. tuberculosis* infekuotų asmenų T ląstelėse, kitaip nei T ląstelėse neinfekuotų arba BCG vakcinuotų asmenų, nesergančių tuberkuliozės liga arba neturinčių LTBI rizikos (1,2,6,9). Tačiau dėl medicininio gydymo arba susirgimų, kurie kenkia imuninei funkcijai, IFN- γ reakcija gali potencialiai sumažėti. Pacientai, užsikrėtę tam tikromis kitomis mikobakterinėmis infekcijomis, gali taip pat reaguoti į ESAT-6 ir CFP-10, nes genų, koduojančių šiuos baltymus, yra ir *M. kansasii*, *M. szulgai* ir *M. marinum* (1, 3,7).

„QFT-Plus“ tyrimo populiacija yra pacientai, kuriems buvo kliniškai patvirtinta aktyvi tuberkuliozė, taip pat pacientai, kuriems kyla tuberkuliozės infekcijos arba latentinės tuberkuliozės infekcijos (LTBI) rizika. Nėra taikoma jokių su amžiumi ir lytimi susijusių ar kitų apribojimų.

Mycobacterium tuberculosis (MTB) infekcijos atveju CD4⁺ T ląstelės vaidina lemiamą imunologinio valdymo vaidmenį, atlikdamos citokino IFN- γ sekreciją. Dabar CD8⁺ T ląstelių vaidmuo dalyvaujant asmens apsaugoje nuo MTB yra patvirtintas įrodymais – jos gamina IFN- γ ir kitus tirpiuosius faktorius, kurie suaktyvina makrofagus, kad jie stabdytų MTB augimą, naikintų infekuotas ląsteles arba tiesiogiai lizuotų MTB ląstelių viduje. IFN- γ gaminančios specifinės MTB CD8⁺ ląstelės aptiktos LTBI ir aktyvia TB sergančių tiriamųjų organizmuose. Be to, aprašyta, kad ESAT-6 ir CFP-10 būdingi CD8⁺ T limfocitai dažniau aptinkami tiriant asmenis, sergančius aktyvia TB liga, negu turinčius LTBI, ir gali būti siejami su neseniai įvykusių sąlyčių su MTB (8,10–12). MTB būdingos CD8⁺ T ląstelės, gaminančios IFN- γ , taip pat buvo aptiktos tiriant aktyvia TB sergančius asmenis, kartu sergančius ir ŽIV infekcija (13, 14), ir mažus vaikus, sergančius TB liga (15).

„QFT-Plus“ teste yra du skirtingi TB antigenų mėgintuvėliai: TB Antigen Tube 1 (TB1) ir TB Antigen Tube 2 (TB2). Abiejuose mėgintuvėliuose yra peptido antigenų iš su MTB kompleksu susijusių antigenų, ESAT-6 ir CFP-10. TB1 ir TB2 mėgintuvėlyje yra peptidų iš ESAT-6 ir CFP-10, kurie skirti CMI reakcijai išgauti iš CD4⁺ T pagalbinių limfocitų; TB2 mėgintuvėlyje yra papildomas rinkinys peptidų, skirtų CMI reakcijoms iš CD8⁺ citotoksiškų T limfocitų sukelti.

M. tuberculosis infekcijos rizikos veiksniai apima istorinius, medicininius ir epidemiologinius tuberkuliozės ligą arba sąlytį su tuberkulioze prognozuojančius veiksnius. Žr. naujausias PSO gaires <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment>, kuriose pateikiamos išsamios rekomendacijos apie *M. tuberculosis* infekcijos (įskaitant ligą) diagnostiką ir asmenų parinkimą tyrimui (16). „QFT-Plus“ buvo išbandytas kai kuriose pacientų grupėse, kurioms pagal dabartines PSO rekomendacijas (16) buvo nurodyta atlikti patikrą dėl TB infekcijos, įskaitant asmenis, kurių žmogaus imunodeficitu viruso (ŽIV) testas buvo teigiamas, turėjusius sąlytį su neseniai užsikrėtusiais tuberkulioze pacientais, gyvenančius vietovėse, kuriose yra didelis gyventojų skaičius, ir turėjusius sąlytį su suaugusiaisiais, kuriems kyla didelė tuberkuliozės rizika (5).

Tyrimo principai

„QFT-Plus“ yra kokybinis tyrimas, per kurį naudojami specialūs „Blood Collection Tubes“ mėgintuvėliai su peptidų antigenais, imituojančiais *M. tuberculosis* baltymus, į kuriuos paimamas viso kraujo mėginys. Kraujo surinkimo mėgintuvėliuose inkubavimas trunka nuo 16 iki 24 valandų. Tada paimama plazma ir patikrinama, ar joje yra IFN- γ , kuris susidarė reakcijos į peptido antigenus metu.

Pirmiausia viso kraujo mėginys surenkamas į kiekvieną „QFT-Plus Blood Collection Tubes“ mėgintuvėlį, tarp kurių yra Nil mėgintuvėlis, TB1 mėgintuvėlis, TB2 mėgintuvėlis ir Mitogen mėgintuvėlis. Arba kraują galima surinkti į atskirą kraujo surinkimo mėgintuvėlį su ličio arba natrio heparinu, kuris veikia kaip antikoaguliantas, tada perkelti į „QFT-Plus Blood Collection Tubes“ mėgintuvėlius.

„QFT-Plus Blood Collection Tubes“ mėgintuvėliai pakratomi, kad antigenas susimaišytų su krauju ir turi būti inkubuojami kuo greičiau (per 16 valandų nuo paėmimo) 37 ± 1 °C temperatūroje. Po 16–24 valandų inkubavimo mėgintuvėliai centrifuguojami. Tada plazma apdorojama ir ELISA metodu nustatomas IFN- γ kiekis (IU/ml). „QFT-Plus ELISA“ naudojamas rekombinantinis žmogaus IFN- γ , kuris tiriamas lyginant su etaloniniu IFN- γ preparatu (NIH nuor.: Gxg01-902-535). Testo mėginio rezultatai pateikiami tarptautiniais vienetais mililitre (IU/ml), atitinkančiais kalibracinę kreivę, paruoštą tiriant su rinkiniu pateikto standartinio mėginio skiedinius.

Tam tikrų asmenų serume arba plazmoje esantys heterofiliniai (pvz., žmogaus antipelės) antikūnai žinomi kaip imunologinių tyrimų trukdžiai. Heterofilinių antikūnų poveikis „QFT-Plus ELISA“ tyrimui sumažinamas į žalią skiediklį pridodant įprasto pelių serumo ir naudojant monokloninių antikūnų F(ab')₂ fragmentus kaip IFN- γ antikūnus, dengiančius mikroplokštelės šulinėlius.

„QFT-Plus“ tyrimas yra laikomas teigiamu pagal IFN- γ reakciją į TB antigenų mėgintuvėlį, jei ši reikšmė gerokai viršija Nil kontrolės IFN- γ IU/ml reikšmę. Mitogen mėgintuvėlio plazmos mėginys taikomas kaip kiekvieno tiriamo bandinio IFN- γ teigiama kontrolė. Silpna reakcija į Mitogen (< 0,5 IU/ml) vertinama kaip neaiškus rezultatas, kai kraujo mėginys parodo neigiamą reakciją ir į TB antigenus. Toks modelis gali pasireikšti esant nepakankamam limfocitų skaičiui, esant sumažėjusiam limfocitų aktyvumui dėl netinkamo bandinių apdorojimo, Mitogen mėgintuvėlio užpildymo arba jo maišymo, arba tada, kai paciento limfocitai negali gaminti IFN- γ . Padidėjusi IFN- γ koncentracija Nil mėginyje gali būti dėl heterofilinių antikūnų arba vidinės IFN- γ sekrecijos. Nil mėgintuvėlis koreguoja foną (pvz., padidėjusią cirkuliuojančio IFN- γ koncentraciją arba heterofilinių antikūnų buvimą). Nil mėgintuvėlio IFN- γ lygio reikšmė atimama iš „TB antigen tubes“ mėgintuvėlių ir Mitogen mėgintuvėlio IFN- γ lygio reikšmės. „QFT-Plus ELISA“ matavimo intervalas yra ne didesnis nei 10 IU/ml.

Pateikiamos medžiagos

Rinkinio turinys

ELISA komponentai Katalogo nr.	2 plokštelių rinkinys 622120	Pakuotė referencinėms laboratorijoms 622822
Microplate Strips (mikroplokštelių juostelės) (12 × 8 duobutės), padengtos pelių monokloniniais antikūnais prieš žmogaus IFN- γ)	Mikroplokštelės juostelės (12 × 8 šulinėliai), 2 rinkiniai	Mikroplokštelės juostelės (12 × 8 šulinėliai), 20 rinkinių
IFN- γ Standard (IFN- γ standartas), liofilizuotas (sudėtyje yra rekombinantinio žmogaus IFN- γ , galvijų kazeino, 0,01 % w/v timerosalio)	1 buteliukas (8 IU/ml po atkūrimo)	10 buteliukų (8 IU/ml po atkūrimo)
Green Diluent (žalias skiediklis) (sudėtyje yra galvijų kazeino, normalaus pelių serumo, 0,01 % w/v timerosalio)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (konjugato 100x koncentratas), liofilizuotas (pelių prieš žmogaus IFN- γ HRP; sudėtyje yra 0,01 % timerosalio)	1 × 0,3 ml (po atkūrimo)	10 × 0,3 ml (po atkūrimo)
Wash Buffer 20x Concentrate (plovimo buferio 20x koncentratas) (pH 7,2; sudėtyje yra 0,05 % v/v „ProClin® 300“)	1 × 100 ml	10 × 100 ml
Enzyme Substrate Solution (fermento substrato tirpalas) (sudėtyje yra H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetrametilbenzidino)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Enzyme Stopping Solution (fermento stabdymo tirpalas; sudėtyje yra 0,5 M H ₂ SO ₄)	1 × 15 ml	10 × 15 ml
„QuantIFERON TB-Gold Plus ELISA Kit“ naudojimo instrukcijos	1	1

Rinkinio komponentai

Kontrolinės ir kalibravimo medžiagos

„QFT-Plus ELISA“ naudojamas rekombinantinis žmogaus IFN- γ , kuris tiriamas lyginant su etaloniniu IFN- γ preparatu (NIH nuor.: Gxg01-902-535).

Platforma ir programinė įranga

Neapdorotiems duomenims analizuoti ir rezultatams skaičiuoti gali būti naudojama „QFT-Plus Analysis Software“ programinė įranga. Ją galima atsisiųsti iš svetainės www.qiagen.com.

Būtinoms, bet nepateikiamoms priemonėms

Papildomi reagentai

- „QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes“
- Dejonizuotas arba distiliuotas vanduo (2 litrai)

Eksplotaciniai reikmenys

- Plokštelės dangtelis plokštei su 96 šulinėliais
- **Pasirinktina:** 1 ml talpos mikromėgintuvėliai su dangteliais 96 šulinėlių formato stoveliuose arba neuždengtose mikroplokštelėse su plastikiniais sandarikliais plazmai laikyti (22 pacientų mėginiai/stovelyje arba plokštelėje)
- Reagentų rezervuarai

Įranga*

- 37 ± 1 °C inkubatorius (su CO₂ arba be CO₂)
- Sukalibruotos reguliuojamojo tūrio pipetės (nuo 10 μl iki 1 000 μl) su vienkartiniais antgaliais
- Sukalibruota daugiakanalė pipetė tūriui nustatyti (nuo 50 μl iki 100 μl) su vienkartiniais antgaliais
- Mikroplokštelių purtytuvas nuo 500 aps./min. iki 1 000 aps./min. greičio
- Mikroplokštelių plovimo įtaisas (siekiama užtikrinti saugų plazmos mėginių naudojimą, rekomenduojama naudoti automatinį plokštelių plovimo įtaisą)
- Skaitymo įrenginys mikroplokštelėms su 450 nm filtru ir 620–650 nm referencijos filtru
- Reguliuojamo greičio sūkurinė maišyklė
- Centrifuga, kraujo surinkimo mėgintuvėlių centrifugavimo greitis ne mažesnis nei 3 000 RCF (g)
- Graduotas cilindras, 1 l arba 2 l talpos

* Prieš naudodami įsitikinkite, kad visi instrumentai patikrinti ir sukalibruoti pagal gamintojo rekomendacijas.

Įspėjimai ir atsargumo priemonės

Atminkite, kad gali prireikti pasižiūrėti vietos teisės aktus, kuriais nustatyta, kaip apie rimtus su šiuo prietaisu susijusius incidentus pranešti gamintojui ir (arba) jo įgaliotajam atstovui ir šalies, kurioje yra naudotojas ir (arba) pacientas, reguliuojančiajai institucijai.

Skirta *in vitro* diagnostikai.

Saugos informacija

Dirbdami su cheminėmis medžiagomis, visada dėvėkite tinkamą laboratorinį chalata, mūvėkite vienkartinę pirštines ir užsidėkite apsauginius akinius. Daugiau informacijos rasite atitinkamuose saugos duomenų lapuose (SDL). Jie pateikiami patogiu ir kompaktišku PDF formatu internete www.qiagen.com/safety – čia galite rasti, peržiūrėti ir išspausdinti kiekvieno QIAGEN rinkinio ir jo komponentų SDS.

- Bandiniai ir mėginiai gali būti užkrečiami. Mėginių ir tyrimų atliekas išmeskite laikydamiesi vietinių saugos procedūrų.
- Neigiamas „QFT-Plus“ testo rezultatas neatmeta *M. tuberculosis* infekcijos ar tuberkuliozės ligos buvimo tikimybės; klaidingus neigiamus rezultatus gali nulemti infekcijos fazė (pvz., kai bandinys yra surinktas prieš ląstelinės imuninės reakcijos pasireiškimą), netinkamas „Blood Collection Tubes“ mėgintuvėlių laikymas po kraujo mėginio paėmimo, klaidingas tyrimo atlikimas arba kiti imunologiniai pakitimai, įskaitant susijusius su bet kokia kita liga. Heterofilinių antikūnų arba nespecifinio IFN- γ gamyba esant kitoms uždegiminėms sąlygoms gali maskuoti specifinį atsaką į ESAT-6 arba CFP-10 peptidus.
- Teigiamas „QFT-Plus“ testo rezultatas neturėtų būti vienintelis pagrindas priimant sprendimą dėl *M. tuberculosis* infekcijos buvimo. Netinkamai atliekant tyrimą gali būti gauti klaidingai teigiami „QFT-Plus“ rezultatai.


- Teigiamas „QFT-Plus“ rezultatas turi būti patvirtintas atliekant tolesnius medicininius tyrimus siekiant nustatyti, ar sergama aktyvia tuberkuliozės forma (pvz., Acid Fast Basilli tepinėlis ir kultūra, krūtinės ląstos rentgenograma).
- Nors ESAT-6 ir CFP-10 nėra BCG atmainose ir didžiojoje žinomų netuberkuliozinių mikobakterijų dalyje, tačiau „QFT-Plus“ testo teigiamo rezultato pagrindas gali būti *M. kansasii*, *M. szulgai* arba *M. marinum* infekcija. Jeigu tokia infekcija įtariama, turi būti atlikti alternatyvūs testai.
- Klaidingai neigiamą „QFT-Plus“ rezultatą gali lemti netinkamai paimtas kraujo mėginys arba netinkamas bandinio tvarkymas, kenkiantis limfocitų funkcijai. Žr. skyrių „Protokolas: ELISA vykdymas“ 20 psl., kaip tinkamai tvarkyti kraujo bandinius. Vėluojant atlikti inkubavimą, rezultatai gali būti klaidingai neigiami arba neaiškūs, taip pat kiti techniniai parametrai gali sumažinti gebėjimą aptikti reikšmingą IFN- γ atsaką.

Skubios pagalbos telefono numeris

CHEMTREC

Už JAV ir Kanados ribų +1 703-527-3887

Atsargumo priemonės

<p>DĖMESIO</p> 	<p>Žmogaus kraujo mėginius visada laikykite potencialiai infekuojančiais.</p> <p>Laikykitės esminių elgsenos su krauju nurodymų. Su krauju ar kraujo produktais susijusius mėginius ir medžiagas išmeskite atsižvelgdami į šalies ir vietinius reikalavimus.</p>
---	--

„QuantIFERON Enzyme Stopping Solution“ (QuantIFERON fermento stabdymo tirpalas)



Sudėtyje yra sieros rūgšties. Įspėjimas! Gali ėsdinti metalus. Dirgina odą. Sukelia smarkų akių dirginimą. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

„QuantIFERON Enzyme Substrate Solution“ (QuantIFERON fermento substrato tirpalas)

Įspėjimas! Nestipriai dirgina odą. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

„QuantIFERON Green Diluent“ (QuantIFERON žalias skiediklis)



Sudėtyje yra: tartrazino. Įspėjimas! Gali sukelti alerginę odos reakciją. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

„QuantIFERON Wash Buffer 20x Concentrate“ (QuantIFERON plovimo buferio 20x koncentratas)

Toksiška vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus. Saugokite, kad nepatektų į aplinką.

Daugiau informacijos

Saugos duomenų lapai: www.qiagen.com/safety

- Timerosalis naudojamas kaip konservantas kai kuriuose „QFT-Plus“ reagentuose. Jis gali būti toksiškas nurijus, įkvėpus arba įvykus sąlyčiui su oda.
- Nukrypimai nuo „*QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)*“ pakuotės lapelyje aprašytos instrukcijos gali lemti klaidingus rezultatus. Prieš naudodami atidžiai perskaitykite instrukcijas.
- Nenaudokite komplekto, jei kuris nors reagento buteliukas yra pažeistas ar ištekėjęs.
- **Svarbu.** Prieš naudodami patikrinkite buteliukus. Nenaudokite, jei ant konjugato ar IFN- γ standarto buteliuko arba guminio sandariklio matomi pažeidimo požymiai. Nenaudokite pažeistų buteliukų. Saugiai išmeskite buteliukus, laikydamiesi tinkamų atsargumo priemonių. Rekomenduojama konjugato arba IFN- γ standarto buteliukams atidaryti naudoti užvalcuotų buteliukų dangtelių atidarytuvą, kad sumažintumėte riziką susižeisti užvalcuojamu metaliniu dangteliu.
- Nenaudokite ir nemaišykite mikroplokštelių juostelių, IFN- γ standarto, žalio skiediklio ar konjugato (100x koncentrato), paimtų iš skirtingų „QFT-Plus“ rinkinių partijų. Kitus reagentus (plovimo buferį (20x koncentratą), fermento substrato tirpalą, fermento stabdymo tirpalą) galima imti iš skirtingų rinkinių, jei reagentų galiojimo laikas yra tinkamas ir įrašoma partijos informacija.
- Nepanaudotus reagentus ir biologinius mėginius išmeskite laikydamiesi vietinių ir šalies įstatymų.
- Nenaudokite „QFT-Plus ELISA Kit“, jei pasibaigusi jo galiojimo data.
- Visuomet reikia laikytis tinkamų laboratorinių procedūrų.
- Prieš naudodami patikrinkite, ar visi laboratorijos prietaisai, pavyzdžiui, plokštelių plovimo įtaisai ir skaitymo įrenginiai, buvo sukalibruoti / patvirtinti.

Reagentų laikymas ir naudojimas

Reikia atkreipti dėmesį į tinkamumo datas, išspausdintas ant dėžutės ir visų komponentų etikečių. Pasibaigus tinkamumo laikui, komponentų naudoti negalima.

Stabilumas naudojimo metu

- ELISA rinkinį laikykite 2–8 °C temperatūroje.
- Fermento substrato tirpalą visada saugokite nuo tiesioginių saulės spindulių.

Atkurti ir nepanaudoti reagentai

- Nurodymus, kaip atkurti reagentus, žr. „Protokolas: ELISA vykdymas“ 20 psl.
- Laikant 2–8 °C temperatūroje, atkurtas rinkinio standartas gali būti laikomas iki 3 mėnesių.

Užrašykite rinkinio standarto atkūrimo datą.

- Atkurtas konjugatas (100x koncentratas) turi būti vėl laikomas 2–8 °C temperatūroje ir sunaudojamas per 3 mėnesius.

Užrašykite konjugato atkūrimo datą.

- Naudoti paruoštas konjugatas turi būti sunaudojamas per 6 valandas nuo paruošimo.
- Naudoti paruoštą buferinį plovimo tirpalą kambario temperatūroje galima laikyti ne ilgiau nei 2 savaites.
- Mikroplokštės juostelės yra skirtos naudoti tik vieną kartą. Nepanaudotas juosteles galima išimti iš plokštelės rėmelio ir padėti į saugojimo vietą, kad būtų galima panaudoti ateityje.

Bandinių laikymas ir naudojimas

Informaciją apie kraujo mėginio paėmimo „QFT-Plus“ tyrimui eigą žr. „*QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes*“ naudojimo instrukcijose (1123668).

Protokolas: ELISA vykdymas

Svarbi informacija prieš pradėdant

Paruošimas (tyrimo trukmė)

- Norėdamas gauti galiojančius „QFT-Plus“ tyrimo rezultatus, operatorius turi atlikti konkrečius veiksmus per nurodytą laiką. Prieš atliekant tyrimą, operatoriui rekomenduojama kruopščiai suplanuoti kiekvieną tyrimo veiksmą, kad kiekvienam veiksmui atlikti pakaktų laiko. Toliau rasite informaciją apie apytiksliai nustatytą trukmę, taip pat apie reikiamą laiką testuojant kelis mėginius.
 - Apie 3 val. vienai ELISA plokštelei
 - < 1 val. darbo
 - plus 10–15 min. kiekvienai papildomai plokštelei

IFN- γ ELISA

- ELISA tyrimui atlikti reikalingas medžiagas rasite „Rinkinio turinys“ 11 psl. ir „Būtinės, bet nepateikiamos priemonės“ 13 psl.

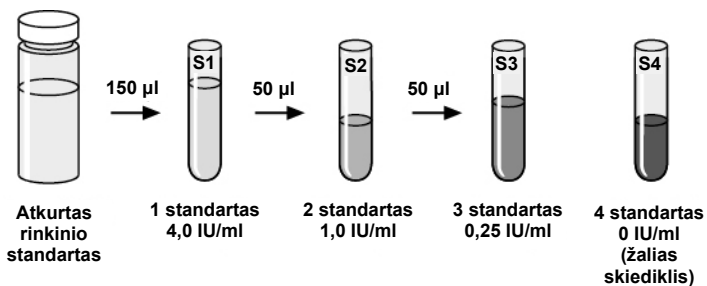
Procedūra

1. Visi plazmos mėginiai ir reagentai, išskyrus konjugato 100× koncentratą, prieš naudojimą turi pasiekti kambario temperatūrą (22 ± 5 °C). Temperatūrai išlyginti skirkite ne mažiau nei 60 minučių.
2. Nereikalingas ELISA plokštelės juosteles išimkite iš rėmelio, įdėkite jas atgal į folijos pakuotę ir iki naudojimo laikykite šaldytuve.

3. Mažiausiai 1 juostelę skirkite „QFT-Plus“ standartiniams mėginiams ir paimkite pakankamą juostelių skaičių tiriamųjų mėginiams (rekomenduojamą plokštelės formatą žr. 2 pav.). Panaudoję rėmelį ir dangtelį palikite kitam kartui su likusiomis juostelėmis.
- 3a. Atkurkite IFN- γ standartą naudodami ant buteliuko etiketės nurodytą dejonizuoto arba distiliuoto vandens kiekį. Atsargiai sumaišykite, kad nesusidarytų putų, ir įsitikinkite, kad buteliuko turinys visiškai ištirpo. Atkūrus IFN- γ standartą iki tinkamo tūrio, gaunamas tirpalas, kurio koncentracija yra 8,0 IU/ml.
- 3b. Naudodami atkurtą standartinį mėginį, paruoškite keturių IFN- γ koncentracijų skiedimo seriją (žr. 1 pav.).
- 3c. Kalibracinę kreivę reikia sudaryti naudojant šios koncentracijos IFN- γ :
- S1 (1 standartas) 4,0 IU/ml
 - S2 (2 standartas) 1,0 IU/ml
 - S3 (3 standartas) 0,25 IU/ml
 - S4 (4 standartas) 0 IU/ml (tik žalias skiediklis [ŽS]).
- 3d. Standartai turi būti tiriami bent du kartus.
- 3e. Kiekvienam ELISA seansui paruoškite naujus komplekto standarto skiedinius.

Procedūra

A	Pažymėkite etiketėmis 4 mėgintuvėlius: S1, S2, S3, S4
B	Įpilkite po 150 μ l ŽS į S1, S2, S3, S4
C	Įpilkite 150 μ l rinkinio standarto į S1 ir kruopščiai sumaišykite
D	Perkelkite 50 μ l iš S1 į S2 ir kruopščiai sumaišykite
E	Perkelkite 50 μ l iš S2 į S3 ir kruopščiai sumaišykite
F	Tik ŽS veikia kaip nulinis standartas (S4)



1 pav. Kalibracinės kreivės skiedimų serijos paruošimas.

4. Atkurkite liofilizuotą konjugato 100× koncentratą su 0,3 ml dejonizuoto arba distiliuoto vandens. Atsargiai sumaišykite, kad nesusidarytų putų, ir įsitikinkite, kad buteliuko turinys visiškai ištirpo.
 - 4a. Naudoti tinkamą konjugatą pagaminsite skiesdami reikiamą atkurto konjugato 100× koncentrato kiekį žaliu skiedikliu (1 lentelė).
 - 4b. Naudoti paruoštas konjugatas turi būti sunaudojamas per 6 valandas nuo paruošimo.
 - 4c. Nesunaudotą konjugato 100× koncentratą nedelsdami grąžinkite į 2–8 °C temperatūrą.

1 lentelė. Konjugato (tinkamo naudoti) paruošimas

Juostelių skaičius	Konjugato tūris (100x koncentratas)	Žalio skiediklio kiekis
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. Jei naudojate plazmos mėginius, paimtus iš „Blood Collection Tubes“ mėgintuvėlių ir tada laikomus (atvėsintus arba užšaldytus), prieš pridėdami į ELISA šulinėlius juos kruopščiai sumaišykite. Plazmos mėginius centrifuguotuose „QFT-Plus Blood Collection Tubes“ 2–8 °C temperatūroje galima laikyti iki 28 dienų arba paimtos plazmos mėginius galima laikyti 2–8 °C temperatūroje iki 28 dienų. Paimtos plazmos mėginius galima laikyti dar ilgiau –20 °C temperatūroje (pageidautina žemesnėje nei –70 °C).

Plazmos mėginiai iš centrifuguotų „Blood Collection Tubes“ mėgintuvėlių gali būti įkelti / naudojami matavimams tiesiai „QFT-Plus ELISA“ plokštelėje.

Svarbu. Jei plazmos mėginiai bus perkelti tiesiai iš centrifuguotų „QFT-Plus Blood Collection Tubes“ mėgintuvėlių, plazmos maišyti nereikėtų. Visuomet dirbkite kruopščiai, kad nesujudintumėte medžiagos prie gelio paviršiaus.

6. Į visus ELISA šulinėlius įpilkite po 50 µl šviežiai naudoti paruošto konjugato.

7. Į atitinkamus šulinėlius įpilkite po 50 µl tiriamo plazmos mėginio (rekomenduojamą ELISA plokštelės išdėstymą žr. 2 pav.).

8. Į atitinkamus plokštelės šulinėlius įpilkite po 50 µl kiekvieno iš standartinių mėginių nuo 1 iki 4 (rekomenduojamą ELISA plokštelės išdėstymą žr. 2 pav.). Standartai turėtų būti iširti bent du kartus.

	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

2 pav. Rekomenduojamas ELISA plokštelės išdėstymas. S1 (1 standartas), S2 (2 standartas), S3 (3 standartas), S4 (4 standartas). 1N (1 mėginys. Nil kontrolės plazma), 1 TB1 (1 mėginys. TB1 plazma), 1 TB2 (1 mėginys. TB2 plazma), 1M (1 mėginys. Mitogen plazma).

9. Uždenkite ELISA plokštelę ir kruopščiai maišykite konjugatą ir plazmos mėginius / standartinius mėginius 1 minutę mikroplokštelių purtytuvu 500–1 000 aps./min. greičiu. Stenkitės, kad netikštų.
10. Uždenkite ELISA plokštelę ir inkubuokite 120 ± 5 minutes kambario temperatūroje (22 ± 5 °C). Inkubuodami ELISA plokštelės saugokite nuo tiesioginių saulės spindulių. Nukrypus nuo nurodyto temperatūros diapazono galima gauti klaidingus rezultatus.
11. Kol inkubuojate ELISA plokštelę, paruoškite naudoti tinkamą buferinį plovimo tirpalą. Praskieskite vieną dalį plovimo buferio 20x koncentrato su 19 dalių dejonizuoto ar distiliuoto vandens ir kruopščiai išmaišykite. Iš pateikto plovimo buferio 20x koncentrato galima pagaminti 2 litrus naudoti tinkamo plovimo buferio.
12. Kai ELISA plokštelės inkubavimas užbaigiamas, ELISA plokštelės šulinėlius išplaukite naudodami 400 µl naudoti paruošto buferinio plovimo tirpalo. Plovimo veiksmus atlikite mažiausiai 6 kartus. Naudojant plazmos mėginius, saugumo sumetimais rekomenduojame naudoti automatinį plokštelių plovimo įtaisą.

Siekiant tikslių tyrimo rezultatų labai svarbu kruopščiai išplauti. Kiekvieno plovimo ciklo metu patikrinkite, ar visi šulinėliai yra iki viršaus užpildomi buferiniu plovimo tirpalu. Rekomenduotina tarp plovimo ciklų mažiausiai 5 sekundes pamirkyti.

Į atliekamų skysčių talpyklą turėtų būti įpilta laboratorijose įprastai naudojamos dezinfekcinės priemonės. Taip pat laikykitės taisyklių, kaip potencialiai infekuojančią medžiagą padaryti nekenksmingą.

13. Pastuksenkite ELISA plokštelę šulinėliais į apačią ant nepūkuoto rankšluosčio, kad būtų pašalintas likęs buferinis plovimo tirpalas. Į kiekvieną plokštelės šulinėlį įpilkite po 100 µl fermento substrato tirpalo, plokštelę uždenkite ir kruopščiai maišykite mikroplokštelių purtytuvu 1 minutę 500–1 000 aps./min. greičiu.
14. Uždenkite ELISA plokštelę ir inkubuokite 30 minučių kambario temperatūroje (22 ± 5 °C). Inkubuodami ELISA plokšteles saugokite nuo tiesioginių saulės spindulių.
15. Po 30 minučių inkubavimo įpilkite po 50 µl fermento stabdymo tirpalo į kiekvieną plokštelės šulinėlį ta pačia tvarka, kokia pylėte substratą, ir kruopščiai išmaišykite mikroplokštelių purtytuve 500–1 000 aps./min. greičiu.
16. Pamatuokite optinį tankį (OT) kiekviename ELISA plokštelės šulinėlyje per 5 minutes po stabdymo tirpalo įpylimo. Naudokite skaitymo įrenginį, skirtą mikroplokštelėms, kuriame yra 450 nm filtras ir nuo 620 nm iki 650 nm referencijos filtras. OT reikšmės reikalingos skaičiuojant rezultatus.

Rezultatai (skaičiavimai)

Neapdorotiems duomenims analizuoti ir rezultatams skaičiuoti galima naudoti „QFT-Plus Analysis Software“ programinę įrangą. Ją galite gauti www.qiagen.com. Būtinai naudokite naujausią „QFT-Plus Analysis Software“ versiją.

Naudojant programinę įrangą atliekamas tyrimo kokybės kontrolės vertinimas, sudaroma kalibracinė kreivė ir pateikiamas kiekvieno tiriamojo tyrimo rezultatas, kaip išsamiai aprašyta skyriuje „Rezultatų aiškinimas“ 30 psl. Visais atvejais, kai koncentracija didesnė nei 10 IU/ml, programinė įranga tokias vertes pažymi žyma „>10“, nes jos nepatenka į patvirtintą ELISA tiesinį intervalą.

Užuoat naudojus „QFT-Plus Analysis Software“ analizės programinę įrangą, rezultatai gali būti nustatomi ir pagal toliau paaiškintą metodą.

Kalibracinės kreivės ir mėginio verčių gavimas

Kai nenaudojama „QFT-Plus Analysis Software“

Jeigu „QFT-Plus Analysis Software“ programinė įranga nenaudojama, norint nustatyti kalibracinę kreivę ir mėginio IU/ml vertes, reikia naudoti skaičiuoklės programą, pavyzdžiui, „Microsoft® Excel®“.

Skaičiuoklės programos naudojimas

1. Nustatykite rinkinio standarto pakartojimų kiekvienos plokštelės vidutinės OT reikšmes.
2. Sudarykite $\log_{(e)}\text{-}\log_{(e)}$ kalibracinę kreivę: pažymėkite vidutinio OT reikšmes $\log_{(e)}$ (y ašis) ir standartinių mėginių IFN- γ koncentracijos IU/ml $\log_{(e)}$ (x ašis), bet į šiuos skaičiavimus neįtraukite nulinio standartinio mėginio. Pasitelkę regresijos analizę, apskaičiuokite liniją su labiausiai standarto kreivei tinkančia forma.

3. Standarto kreivę panaudokite IFN- γ (IU/ml) kiekvieno tiriamo plazmos mėginio koncentracijai, naudojant kiekvieno mėginio OT reikšmę, nustatyti.
4. Šiems skaičiavimams gali būti panaudoti programinės įrangos paketai, gaunami su mikroplokštelių skaitytuvais, taip pat standartinės skaičiuoklės arba statistikos programos (pvz., „Microsoft Excel“). Tokiais programinės įrangos paketais rekomenduojame naudotis atliekant regresijos analizę, skaičiuojant standartų variacijos koeficientą (%VK) bei koreliacijos koeficientą (r) standarto kreivei.

Mėginio rezultatų skaičiavimas

Jeigu šie OT rodmenys yra standartinių mėginių, skaičiavimai naudojant $-\log(e)$ – bus tokie, kaip nurodyta 2 lentelėje.

2 lentelė. Kalibracinė kreivė

Standartas	IU/ml	OT vertės a ir b	OT vidurkis	%VK	Log _(e) IU/ml	Log _(e) vidurkis (OT)
1 standartas	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
2 standartas	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
3 standartas	0,25	0,114, 0,136	0,125	Nėra	-1,386	-2,079
4 standartas	0	0,034, 0,037	0,036	Nėra	Nėra	Nėra

Kreivės lygtis yra $y = 0,7885(X) - 0,9837$, kur $m = 0,7885$, $c = -0,9837$. Šios vertės taikomos lygtyje $X = (Y-c)/m$, norint apskaičiuoti X . Atsižvelgiant į kalibracinę kreivę, apskaičiuotasis koreliacijos koeficientas (r) = 1,000. Nėra: netaikoma.

Tyrimo tinkamumas nustatomas taikant „Testo kokybės kontrolė“ 28 psl. nurodytus kriterijus.

Kalibracinė kreivė (2 lentelė) naudojama antigeno OT atsakui pakeisti į tarptautinius vienetus (IU/ml).

3 lentelė. Mėginio rezultatų skaičiavimas

Antigenas	OT vertė	Log _(e) OT vertė	X	e ^X (IU/ml)	Antigenas –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 ir Mitogen IFN- γ foninės vertės (IU/ml) koreguojamos, atimant atitinkamos Nil kontrolės IU/ml vertę. Šios koreguotosios vertės naudojamos aiškinant tyrimo rezultatus.

Testo kokybės kontrolė

Testo rezultatų teisingumas priklauso nuo tikslios kalibracinės kreivės sudarymo. Todėl, prieš pradėdant aiškinti testo rezultatus, turi būti patikrinti iš standartų išvesti rezultatai.

ELISA galioja, kai:

- 1 standarto vidutinė OT reikšmė turi būti $\geq 0,600$.
- 1 ir 2 standartinio mėginio kartotinių verčių %VK turi būti $\leq 15 \%$.
- 3 ir 4 standartinio mėginio kartotinės OT reikšmės nuo atitinkamų vidutinių reikšmių turi nukrypti ne daugiau kaip 0,040 OT vienetų.
- Iš standartų vidutinių absorbavimo reikšmių apskaičiuotas koreliacijos koeficientas (r) turi būti $\geq 0,98$.
- Jeigu šie kriterijai neatitinkami, tyrimas negalioja ir turi būti pakartotas.
- Nulinio standarto (žalio skiediklio vidutinė OT reikšmė turi būti $\leq 0,150$). Jeigu vidutinė OT vertė yra $> 0,150$, rekomenduojama patikrinti plokštelių plovimo procesą.

„QFT-Plus Analysis Software“ skaičiuoja ir pateikia šiuos kokybės kontrolės parametrus.

Kiekviena laboratorija, vadovaudamasi vietos, valstybės, federalinių ar kitų atitinkamų akreditavimo organizacijų nurodymais, turėtų nustatyti tinkamus kontrolinių medžiagų tipus ir bandymų dažnumą. Reikėtų apsvarstyti galimybę taikyti išorinį kokybės vertinimą ir alternatyvias patvirtinimo procedūras.

Pastaba. Plazmos, kurioje yra rekombinantinio IFN- γ , koncentracija sumažėjo iki 50 % laikant 2–8 °C arba –20 °C temperatūroje. Rekombinantinis IFN- γ nerekomenduojamas gaunant kontrolinius standartinius mėginius.

Rezultatų aiškinimas

„QFT-Plus“ rezultatai yra interpretuojami pagal šiuos kriterijus (4 lentelė).

Svarbu. Diagnozei nustatyti ar tuberkuliozės ligai paneigti ir LTBI tikimybei nustatyti reikia įvertinti epidemiologinius, istorinius, medicininius ir diagnostinius rezultatus; į juos privaloma atsižvelgti interpretuojant „QFT-Plus“ testo rezultatus. Žr. bendrąsias TB ligos ir LTBI diagnostavimo ir gydymo rekomendacijas:

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

4 lentelė. „QFT-Plus“ tyrimo rezultatų aiškinimas

Nil (IU/ml)	TB1 minus Nil (IU/ml)	TB2 minus Nil (IU/ml)	Mitogen minus Nil (IU/ml)*	„QFT-Plus“ rezultatas	Ataskaita / aiškinimas
≤ 8,0	≥ 0,35 ir ≥ 25 % Nil vertės	Bet kiek	Bet kiek	Teigiamas [†]	<i>M. tuberculosis</i> infekcija galima
	Bet kiek	≥ 0,35 ir ≥ 25 % Nil vertės			
	< 0,35 arba ≥ 0,35 ir < 25 % Nil vertės	< 0,35 arba ≥ 0,35 ir < 25 % Nil vertės	≥ 0,50	Neigiamas	<i>M. tuberculosis</i> infekcija NĖRA galima
	< 0,35 arba ≥ 0,35 ir < 25 % Nil vertės	< 0,35 arba ≥ 0,35 ir < 25 % Nil vertės	< 0,50	Neaiškus [‡]	<i>M. tuberculosis</i> infekcijos tikimybės nustatyti nepavyko
> 8,0 [§]	Bet kiek				

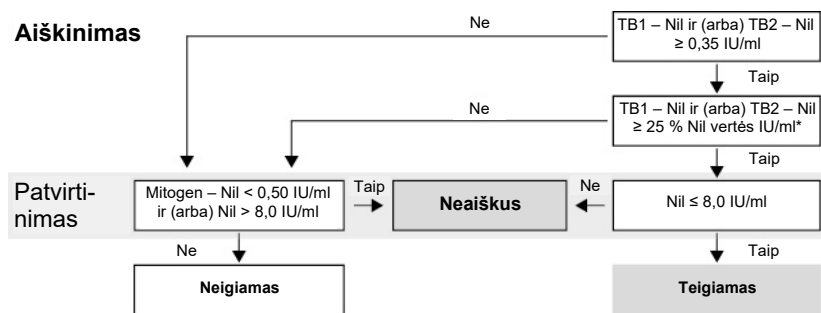
* Atsakas į Mitogen teigiamą kontrolinį mėginį (ir kartais TB antigeną) gali būti už mikroplokštelių skaitytuvo matavimo ribų. Tai neturi įtakos testo rezultatams. > 10 IU/ml vertės „QFT-Plus“ programinės įrangos yra pateikiamos kaip > 10 IU/ml.

[†] Tais atvejais, kai *M. tuberculosis* nėra įtariama, pradžioje gauti teigiami testo rezultatai gali būti patvirtinti antrą kartą testuojant pradinius plazmos mėginius „QFT-Plus ELISA“ testu. Jeigu pakartojus testą su pirmu arba antru mėginiu vėl gaunamas teigiamas rezultatas, testo rezultatas turi būti laikomas teigiamu.

[‡] Galimų priežasčių ieškokite skyriuje „Triukšų šalinimo vadovas“, 66 psl.

[§] Klinikinių tyrimų metu mažiau negu 0,25 % tiriamųjų Nil vertės IFN-γ koncentraciją buvo > 8,0 IU/ml.

Pagal pamatuotą IFN- γ koncentraciją negalima daryti išvados dėl infekcijos stadijos arba laipsnio, imuninio reaktyvumo lygio ar aktyvios ligos progresavimo tikimybės. Asmenų, kurių Mitogen reakcija buvo neigiama, teigiama TB reakcija yra reta, bet buvo pastebėta tiriant TB liga sergančius pacientus. Tai rodo, kad IFN- γ reakcija į TB antigeną yra didesnė nei į Mitogen, o tai įmanoma, nes Mitogen lygis ne maksimaliai stimuliuoja limfocitų atliekamą IFN- γ gamybą.



3 pav. „QFT-Plus“ tyrimo aiškinimas. * Kad TB1 minus Nil arba TB2 minus Nil reikšmė būtų tinkama, $\geq 25\%$ Nil reikšmės IU/ml turi būti iš to paties mėgintuvėlio, kaip pradinis $\geq 0,35$ IU/ml rezultatas.

Apribojimai

„QFT-Plus“ testo rezultatai turi būti naudojami atsižvelgiant į kiekvieno asmens epidemiologinę istoriją, esamą būklę ir kitus diagnostinius vertinimus.

Rezultatai, kurių Nil vertė viršija 8 IU/ml, turi būti vertinami kaip „neaiškūs“, nes 25 % padidėjęs atsakas į TB antigenus gali būti už tyrimo matavimo ribų.

- Teigiamo „QFT-Plus“ rezultato prognozuojamoji vertė diagnozuojant *M. tuberculosis* infekciją priklauso nuo užsikrėtimo tikimybės, kuri įvertinama remiantis istoriniais, epidemiologiniais, diagnostiniais ir kitais duomenimis.
- LTBI diagnozė reikalauja, kad tuberkuliozės liga būtų atmesta atlikus medicininį įvertinimą, įskaitant esamų medicininių ir diagnostinių ligos tyrimų, kaip nurodyta, įvertinimą.
- Neigiamas rezultatas turi būti įvertintas atsižvelgiant į asmens medicininius ir istorinius duomenis, susijusius su *M. tuberculosis* infekcijos tikimybe ir galima progresavimo iki tuberkuliozės ligos rizika, ypač asmenims, kurių imuninė funkcija sutrikusi.

Nepatikimus ar neaiškius rezultatus galite gauti, nes:

- Nesilaikoma naudojimo instrukcijose aprašytos procedūros
- Kraujo mėginys netinkamai transportuojamas / tvarkomas
- Padidėjusi cirkuliuojančio IFN- γ koncentracija arba yra heterofilinių antikūnų
- Viršijamas nustatytas laikas nuo kraujo mėginio paėmimo iki inkubavimo.
Žr. „QFT-Plus Blood Collection Tubes“ naudojimo instrukcijas (1123668).

Eksploatacinių savybių charakteristikos

Klinikiniai tyrimai

Nėra apibrėžto LTBI infekcijos patvirtinimo ar atmetimo standartinio tyrimo, todėl negalima praktiškai įvertinti „QFT-Plus“ jautrumo ir specifiškumo. „QFT-Plus“ specifiškumas buvo apytiksliai nustatytas įvertinus asmenų, turinčių mažą tuberkuliozės infekcijos riziką (t. y. be žinomų rizikos faktorių) klaidingai teigiamų rezultatų rodiklį. Jautrumas buvo apytiksliai nustatytas įvertinus aktyvia, pagal kultūrą patvirtinta, tuberkuliozės forma sergančių tiriamųjų grupes. Be to, sveikų asmenų, turinčių nustatytą tuberkuliozės infekcijos rizikos veiksnių (mišrios rizikos populiacija), populiacijoje buvo įvertintas teigiamas ir neigiamas tyrimo veiksmingumo rodiklis.

Specifiškumas

Buvo atliktas daugiacentris „QFT-Plus“ klinikinio specifiškumo tyrimas, kuriame dalyvavo 733 tiriamieji, kurie, kaip manoma, turėjo mažą *M. tuberculosis* infekcijos riziką arba neturėjo jokių sąlyčio su infekcija ar ligos rizikos veiksnių. Demografiniai duomenys ir TB poveikio rizikos faktoriai buvo nustatyti testo metu atlikus standartinę apklausą. Tyrimas buvo atliktas keturiuose skirtinguose tyrimo centruose, įskaitant vieną JAV, du Japonijoje ir vieną Australijoje. „QFT-Plus“ tyrimas buvo palygintas su „QuantIFERON-TB Gold-In-Tube (QFT)“ tyrimu. Klinikinio specifiškumo efektyvumo duomenų suvestinė, stratifikuota pagal tyrimo centrą ir regioną, pateikta 5 lentelėje. Efektyvumo rezultatai pagrįsti bendru galiojančių tyrimų skaičiumi. Neaiškių rezultatų nebuvo.

5 lentelė. „QFT-Plus“ specifiškumas maža rizika pasižyminčioje populiacijoje

Laboratorija	N	Teigiamas		Neigiamas		Neaiškus		Specifiškumas (95 % PI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
JAV									
(Nr. 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)
Japonija									
(Nr. 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)
(Nr. 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)
Visa Japonija	322	4	7	318	315	0	0	98,76 % (318/322) (96,85– 99,52)	97,83 % (315/322) (95,6–98,9)
Australija									
(Nr. 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“ specifiškumas JAV buvo lygus 98,11 %, Japonijoje – 97,83 %, Australijoje – 95,48 %. Bendras „QFT-Plus“ specifiškumas buvo lygus 97,27 % (713/733). QFT specifiškumas JAV buvo lygus 99,06 %, Japonijoje – 98,76 %, Australijoje – 95,98 %. Bendras QFT specifiškumas buvo lygus 98,09 % (719/733).

Nurodyta, kad rezultatų suskirstymas pagal TB antigeno mėgintuvėlio tipą ir jų derinius yra laukiamų rezultatų pavyzdys mažos rizikos populiacijoje (6 lentelė).

6 lentelė. „QFT-Plus“ specifškumo tyrimo rezultatai pagal „TB Antigen Tube“ tipą

Aiškinimas atsižvelgiant į TB antigeną-Nil IU/ml	TB1	TB2	„QFT-Plus“ (teigiamas pagal TB1 ir (arba) TB2)*	Atitinkantys teigiami TB1 ir TB2 (alternatyvi analizė)†
Teigiamas	10	18	20	8
Neigiamas	723	715	713	725
Neaiškus	0	0	0	0
Specifiškumas (95 % PI)	–	–	97,3 % (713/733) (95,8–98,2)	–
Neigiamų rezultatų dažnis (95 % PI)	98,6 % (723/733) (97,5–99,3)	97,5 % (715/733) (96,2–98,4)	–	98,9 % (725/733) (97,9–99,5)

* Aiškinimas pagrįstas TB antigeno – Nil verte $\geq 0,35$ IU/ml abiejuose (TB1 ir TB2) arba bet kuriame TB mėgintuvėlyje, kad atitiktų aiškinimo kriterijus, kad būtų nustatytas teigiamas „QFT-Plus“ (TB1 arba TB2).

† Alternatyvi analizė pateikta tik informacijos tikslais.

Iš 733 tiriamųjų, turinčių mažą riziką užsikrėsti TB, iš viso 20 tiriamųjų gavo teigiamą rezultatą. Iš jų tik 8 tiriamųjų abiejuose TB1 ir TB2 mėgintuvėliuose vertė buvo $>0,35$ IU/ml. QFT ir „QFT-Plus“ tyrimų palyginimas buvo atliktas mažos rizikos tyrimo grupėje ir buvo nustatyta, kad bendras atitikimas lygus 97,5 % (715/733), o neigiamas procentinis sutapimas lygus 98,3 % (707/719).

Jautrumas

Nors nėra jokio apibrėžto LTBI standartinio tyrimo, *M. tuberculosis* mikrobiologinė kultūra yra tinkamas pakaitalas, nes TB infekcija yra būtinas ligos pirmtakas.

Buvo atliktas daugiacentris „QFT-Plus“ klinikinio jautrumo tyrimas, kuriame dalyvavo 434 tiriamieji, kuriems pasireiškė aktyvios *M. tuberculosis* ligos požymiai ir simptomai, patvirtinti pasėliuose ir (arba) PGR, ir kurie nebuvo gydomi nuo tuberkuliozės arba kuriems

≤14 dienų prieš kraujo paėmimą buvo taikomas gydymas. Tyrimas buvo atliktas 7 nepriklausomuose tyrimo centruose, įskaitant tris tyrimo centrus JAV, tris – Japonijoje ir vieną – Australijoje. „QFT-Plus“ tyrimas buvo palygintas su „QuantIFERON-TB Gold-In-Tube (QFT)“ tyrimu. Klinikinio jautrumo efektyvumo duomenų suvestinė, stratifikuota pagal tyrimo centrą ir šalį, pateikta 7 lentelėje. Efektyvumo rezultatai pagrįsti bendru galiojančių tyrimų skaičiumi. Neaiškių QFT ir „QFT-Plus“ rezultatų dažnis buvo atitinkamai 2,3 % (10/434) ir 2,5 % (11/434).

7 lentelė. Klinikinio jautrumo tyrimo efektyvumo suvestinė, stratifikuota pagal tyrimo centrą, šalį ir bendri rezultatai

Laboratorija	N	Teigiamas		Neigiamas		Neaiškus		Jautrumas (95 % PI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
JAV									
(Nr. 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)
(Nr. 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)
(Nr. 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)
Visos JAV	53	47	47	6	6	0	0	88,7 % (47/53) (77,4– 94,7)	88,7 % (47/53) (77,4– 94,7)
Japonija									
(Nr. 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)
(Nr. 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)

Lentelės tęsinys kitame puslapyje

Lentelės tęsinys iš ankstesnio puslapio

7 lentelė. Klinikinio jautrumo tyrimo efektyvumo suvestinė, stratifikuota pagal tyrimo centrą, šalį ir bendri rezultatai (tęs.)

Laboratorija	N	Teigiamas		Neigiamas		Neaiškūs		Jautrumas (95 % PI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
(Nr. 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)
Visa Japonija	352	328	322	15	19	9	11	95,63 % (328/343) (92,91– 97,33)	94,43 % (322/341) (91,5– 96,4)
Australija									
(Nr. 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)

Į lentelėje pirmiau pateikiamą analizę nėra įtraukti neaiškūs rezultatai.

„QFT-Plus“ jautrumas JAV buvo lygus 88,7 %, Japonijoje – 94,43 %, Australijoje – 100,0 %. „QFT-Plus“ tyrimo bendras jautrumas buvo 94,09 % (398/423). QFT jautrumas JAV buvo lygus 88,7 %, Japonijoje – 95,63 %, Australijoje – 96,43 %. QFT bendras jautrumas buvo 94,81 % (402/424).

Nurodyta, kad rezultatų suskirstymas pagal TB antigeno tipą ir jų derinius yra laukiamų rezultatų pavyzdys patvirtintos TB infekcijos populiacijoje (8 lentelė).

8 lentelė. „QFT-Plus“ jautrumo tyrimo rezultatai pagal TB antigeno mėgintuvėlį

Aiškinimas atsižvelgiant į TB antigeną-Nil IU/ml	TB1	TB2	„QFT-Plus“ (teigiamas pagal TB1 ir (arba) TB2)
Teigiamas	388	397	398
Neigiamas	32	26	25
Neaiškus	14	11	11
Jautrumas* (95 % PI)	–	–	94 % (398/423) (91,4–96,0)
Teigiamų rezultatų dažnis* (95 % PI)	92,4 % (388/420) (89,4–94,6)	93,9 % (397/423) (91,1–95,8)	–

* Išskyrus neaiškias vertes.

QFT ir „QFT-Plus“ tyrimų palyginimas buvo atliktas pagal kultūrą patvirtintos aktyvios TB grupėje (jautrumo tyrimo grupės) ir nustatyta, kad bendras atitikimas lygus 95,9 %, o teigiamas procentinis sutapimas lygus 97,3 % (391/402).

9 lentelė. „QFT-Plus“ tikimybės santykis

Laboratorija*	Jautrumas	Specifiškumas	LR+	LR-
Australija	100,00 %	95,48%	22,11	0,00
Japonija	94,43%	97,83%	43,44	0,06
JAV	88,68%	98,11%	47,00	0,12

* Iš viso

Efektyvumas tiriamiesiems, turintiems nustatytų MTB infekcijos rizikos veiksnių (mišrios rizikos asmenys)

601 asmens grupė, turinti mišrius TB infekcijos rizikos veiksnius (pvz., užsikrėtimas ŽIV, aktyvios ar latentinės tuberkuliozės gydymo istorija, sąlytis su sergančiuoju aktyvia tuberkulioze, HCW būklė ir kt.), buvo įvertinta naudojant QFT ir „QFT-Plus“ testus. Rizikos veiksniai buvo nustatyti naudojant standartizuotą apklausą, o įtraukimo metu asmenims nepasireiškė jokių su aktyvia tuberkulioze susijusių simptomų. Demografiniai rodikliai ir rizikos veiksniai pateikti 10 lentelėje. Šioje populiacijoje 68 iš 601 (11,3 %) tiriamojo „QFT-Plus“ rezultatas buvo teigiamas, o teigiamų rezultatų atitiktis procentais (PPA) ir neigiamų rezultatų atitiktis procentais (NPA) buvo atitinkamai 98,44 % ir 99,07 % (11 lentelė). Šioje 68 „QFT-Plus“ tiriamųjų, gavusių teigiamą rezultatą, grupėje iš viso 62 tiriamųjų rezultatai buvo teigiami tiek TB1, tiek TB2 mėgintuvėliuose, 2 tiriamųjų teigiamas rezultatas buvo tik TB1, o 4 tiriamųjų teigiamas rezultatas buvo tik TB2. Nenustatyta jokių neiškių rezultatų (0/601).

10 lentelė. Demografiniai duomenys ir veiksniai, susiję TB infekcijos rizika mišrioje grupėje

Bendras tiriamųjų skaičius (601)		Numeris	Procentinis dydis
Lytis	Vyrai	539	89,7 %
	Moterys	62	10,3 %
Amžius (metai)	Intervalas	18–70	–
	Vidurkis	46,7	
Paskiepytas BCG vakcina	Taip	15	2,5 %
	Ne	586	97,5 %
ŽIV teigiamas arba HTLV teigiamas	Taip	12	2,0 %
	Ne	589	98 %
Anksčiau diagnozuota aktyvi TB	Taip	11	1,8 %
	Ne	590	98,2 %
Teigiamas TB tuberkulino odos testas (TOT) / Mantu testas	Taip	47	7,8 %
	Ne	554	92,2 %
Kada nors buvo gydomas nuo aktyvios arba latentinės TB	Taip	35	5,8 %
	Ne	566	94,2 %
Gyveno, dirbo arba savanoriavo (>1 mėn.) kalėjime	Taip	373	62,1 %
	Ne	228	37,9 %
Gyveno, dirbo arba savanoriavo (>1 mėn.) benamių prieglaudoje	Taip	525	87,4 %
	Ne	76	12,6 %
Sveikatos priežiūros specialistas	Taip	8	1,3 %
	Ne	593	98,7 %
Artimas kontaktas su sergančiuoju aktyvia TB liga arba su asmeniu, kuris, kaip įtariama, serga aktyvia TB liga	Taip	9	1,5 %
	Ne	592	98,5 %

11 lentelė. „QFT-Plus“ palyginus su „QFT“ efektyvumo tiriamiesiems, turintiems žinomą latentinės TB infekcijos rizikos veiksnių, suvestinė

		QFT		
		Teigiamas (+)	Neigiamas (-)	Iš viso
QFT-Plus	Teigiamas (+)	63	5*	68
	Neigiamas (-)	1*	532	533
	Iš viso	64	537	601

*Visų 6 neatitinkančių mėginių „TB Antigen Tubes“ IFN- γ lygis buvo artimas tyrimo kritinės ribos vertei.

Teigiamų rezultatų atitiktis procentais („Positive Percent Agreement“, PPA) ir neigiamų rezultatų atitiktis procentais („Negative Percent Agreement“, NPA) tarp QFT ir „QFT-Plus“ rezultatų buvo tokia:

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

12 lentelėje toliau pateikiama „QFT-Plus“ efektyvumo palyginus su QFT tyrimu BCG vakcinuotiems tiriamiesiems iliustracija.

12 lentelė. „QFT-Plus“ efektyvumas palyginti su QFT tyrimu BCG vakcinuotiems tiriamiesiems (jungtiniai jautrumo, specifiškumo ir LTBI tiriamųjų duomenys)

		QFT		
		Teigiamas (+)	Neigiamas (-)	Iš viso
QFT-Plus	Teigiamas (+)	66	5	71
	Neigiamas (-)	3	268	271
	Iš viso	69	273	342*

* Du jautrumo tyrimo tiriamieji buvo pašalinti iš analizės, nes jų rezultatai buvo neaiškūs

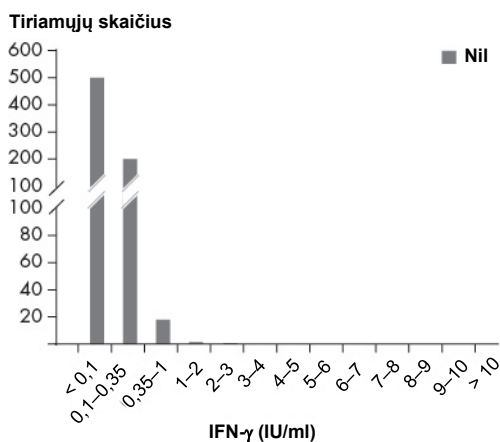
- PPA = 95,6 % (66/69), 95 % PI (87,98, 98,51)
- NPA = 98,2 % (268/273), 95 % PI (95,79, 99,22)

Tikėtinos reikšmės

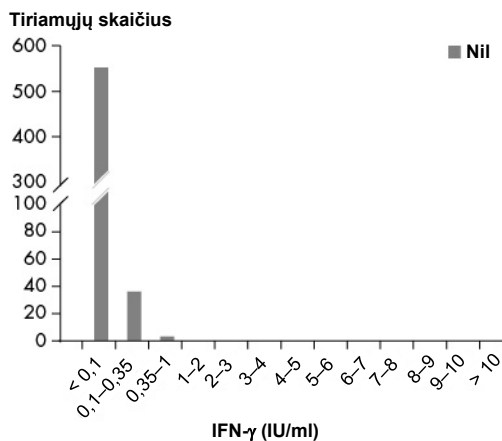
Pastebėtas atsako pasiskirstymas— stratifikuota rizika

Klinikiniuose mėginiuose buvo stebimas įvairus IFN- γ atsakas į TB1, TB2 ir kontrolės mėgintuvėlius ir stratifikuotas pagal *M. tuberculosis* infekcijos riziką (nuo 4 pav. iki 7 pav.). Mišrios rizikos grupę sudarė bendrosios tyrimo populiacijos asmenys, įskaitant asmenis su TB poveikio rizikos faktoriais ir be jų; šioje grupėje aktyvi TB forma buvo mažai tikėtina (t. y. LTBI).

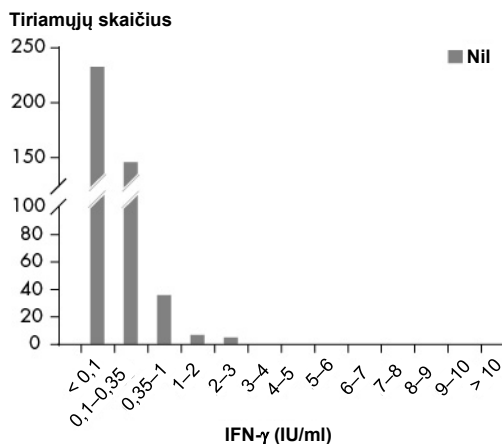
A



B

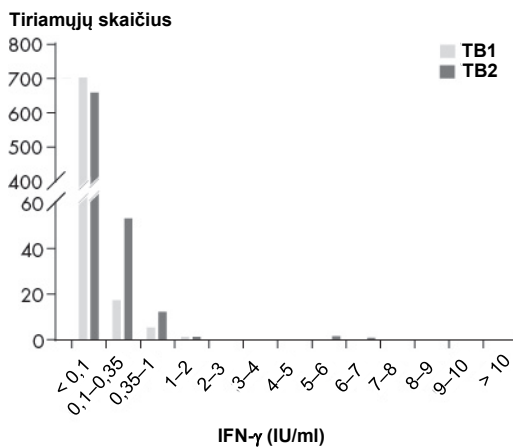


C

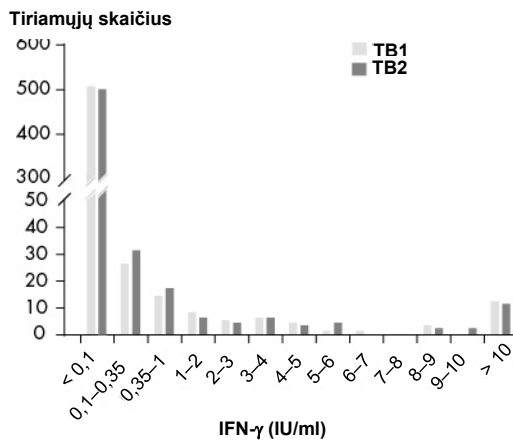


4 pav. Nil kontrolės reikšmių pasiskirstymas. A. Nil reikšmių pasiskirstymas mažos rizikos populiacijoje (n = 744). B. Nil reikšmių pasiskirstymas mišrios rizikos populiacijoje (n = 601). C. Nil kontrolės reikšmių pasiskirstymas populiacijoje, kurioje *M. tuberculosis* infekcija buvo patvirtinta pagal kultūrą (n = 416).

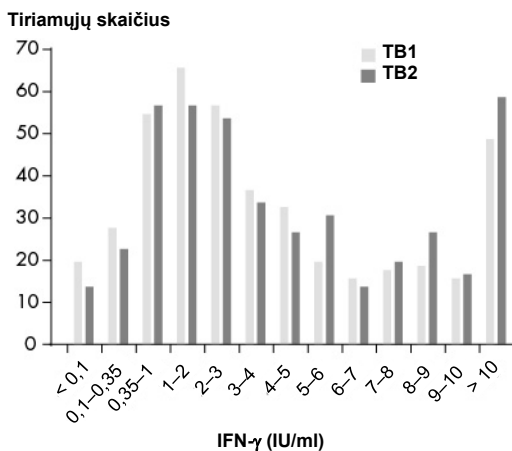
A



B

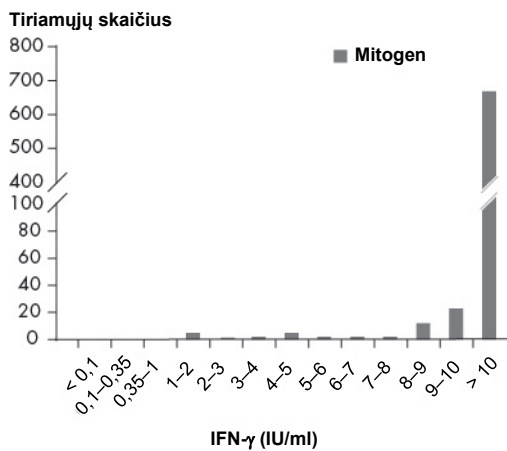


C

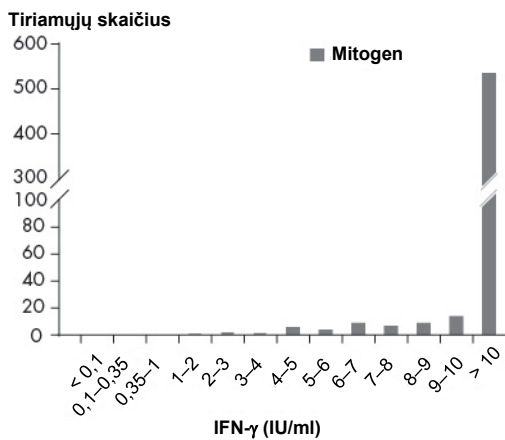


5 pav. TB1 ir TB2 pasiskirstymas (Nil atimtas). **A** TB1 ir TB2 (Nil atimamas) reikšmių pasiskirstymas mažos rizikos populiacijoje (n = 744). **B.** TB1 ir TB2 (Nil atimamas) reikšmių pasiskirstymas mišrios rizikos populiacijoje (n = 601). **C.** TB1 ir TB2 (Nil atimamas) reikšmių pasiskirstymas populiacijoje, kurioje *M. tuberculosis* infekcija buvo patvirtinta pagal kultūrą (n = 416).

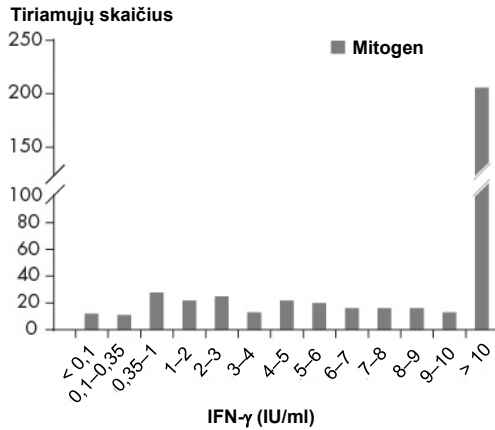
A



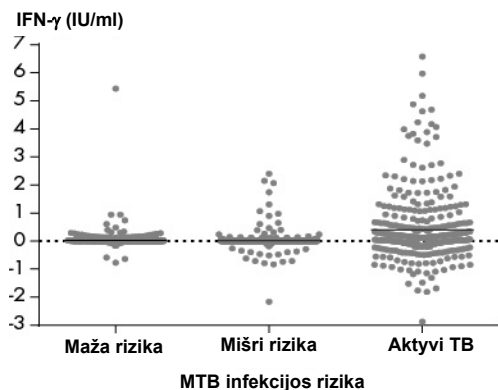
B



C



6 pav. Mitogen pasiskirstymas (Nil atimtas). A. Mitogen (Nil atimamas) reikšmių pasiskirstymas mažos rizikos populiacijoje (n = 744). B. Mitogen (Nil atimamas) reikšmių pasiskirstymas mišrios rizikos populiacijoje (n = 601). C. Mitogen (Nil kontrolės reikšmių pasiskirstymas populiacijoje, kurioje *M. tuberculosis* infekcija buvo patvirtinta pagal kultūrą (n = 415).



7 pav. Stebėtas skirtumas tarp TB1 ir TB2 reikšmių (Nil atimamas), stratifikuotas pagal riziką.

Įtraukiami duomenys iš mišrios rizikos grupės tyrimo siekiant parodyti skirtumus tarp mažos rizikos, aktyvios rizikos ir mišrios rizikos grupių. Į šią duomenų analizę buvo įtraukta mišrios rizikos grupė, turinti žinomų rizikos veiksnių. Iš mažos rizikos grupės įtraukta n=733, iš mišrios rizikos grupės įtraukta n=588, iš aktyvios TB grupės įtraukta n=357. Kiekvieno tiriamojo kiekybinis skirtumas IU/ml gautas atėmus TB1 vertę iš TB2 vertės.

Saugumo ir veiksmingumo suvestinė

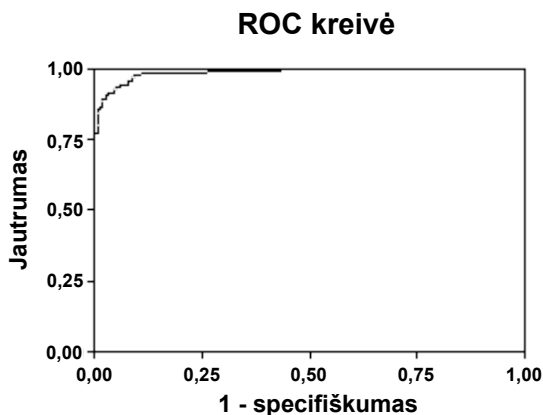
Saugumo ir veiksmingumo suvestinė pateikiama EUDAMED svetainėje.

Tyrimo atlikimo charakteristikos

Analitinis efektyvumas

Tyrimo kritinė riba

„QFT-Plus“ tyrimo kritinės ribos vertė buvo nustatyta naudojant 216 tiriamųjų duomenis, kuriems nebuvo nustatyta sąlyčio su TB rizikos veiksnių, kurie buvo paskiepyti BCG vakcina ir, kaip manoma, neužsikrėtę, ir 118 tiriamųjų duomenis, kuriems *M. tuberculosis* infekcija buvo patvirtinta pagal kultūrą. Jautrumo ir specifiškumo duomenys buvo sujungti ir analizuoti taikant sprendimus priimančiojo ypatybių (ROC) kreivės analizę. Jautrumo ir specifiškumo duomenys, analizuoti naudojant ROC analizę, parodė, kad optimali ELISA kritinė riba buvo 0,35 IU/ml (žr. 8 pav.).



8 pav. ESAT-6 ir CFP-10 atsako ROC kreivė.

13 lentelė. ELISA jautrumo ir specifiškumo vertės, esant skirtingoms kritinėms riboms

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

Lentelės tęsinys kitame puslapyje

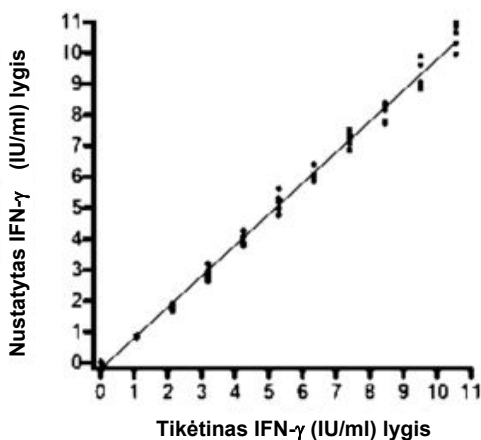
Lentelės tęsinys iš ankstesnio puslapio

13 lentelė. ELISA jautrumo ir specifiškumo vertės, esant skirtingoms kritinės ribos vertėms

Kritinė riba IU/ml IFN- γ	Jautrumas %	95 % PI	Specifiškumas %	95 % PI	Jautrumas ir specifiškumas
0,47	85,59	Nuo 77,94 % iki 91,38 %	99,08	Nuo 96,71 % iki 99,89 %	184,67
0,48	84,75	Nuo 76,97 % iki 90,70 %	99,08	Nuo 96,71 % iki 99,89 %	183,83
0,50	83,90	Nuo 76,00 % iki 90,02 %	99,08	Nuo 96,71 % iki 99,89 %	182,98

Tiesiškumas

„QFT-Plus ELISA“ tyrimo tiesiškumas įrodytas žinomos IFN- γ 11 plazmos grupių 5 pakartojimus padėjus atsitiktine tvarka ELISA plokštelėje. Tiesinė regresinė linija turi $1,002 \pm 0,011$ nuožulnų kilimą ir 0,99 koreliacijos koeficientą (9 pav.).



9 pav. Tiesinio tyrimo regresinės analizės iliustracija – didelės grupės vidurkis = $-0,24 + 0,9964 \cdot \text{Tikėtinas}$.

Atkuriamumas

Buvo atliktas daugiacentris tyrimo atkuriamumo tyrimas, siekiant įvertinti „QFT-Plus“ veiksmingumą tyrimo centruose, kuriose dirba keli operatoriai. Tai buvo perspektyvinis tyrimas, atliktas trijuose išoriniuose tyrimo centruose ir vienoje surinkimo vietoje. Iš viso buvo įtraukti 32 tiriamieji, gavę teigiamą rezultatą, ir 34 tiriamieji, gavę neigiamą rezultatą (nustatyti QFT testu). Tiriamieji buvo JAV sveikatos priežiūros darbuotojai. Tiriamieji priklausė grupėms, turinčioms mišrią sąlyčio su TB riziką dėl savo profesijos, arba užsienyje gimę sveikatos priežiūros darbuotojai, kilę iš vietos, kurioje tuberkuliozės dažnis viršija 50 atvejų iš 100 000.

Iš kiekvieno tiriamojo surinkimo vietoje buvo gauti trys ličio heparino „Blood Collection Tubes“ mėgintuvėliai. Tada ličio heparinas (ličio heparino) „Blood Collection Tubes“ mėgintuvėliai buvo perkelti į kiekvieną iš trijų tyrimo centrų, kur jie buvo alikvotinėmis dalimis padalyti į du „QFT-Plus Blood Collection Tubes“ rinkinius („QFT-Plus“ TB1, TB2, Mitogen ir Nil), tada buvo ištirti taikant „QFT-Plus“ tyrimo procedūrą. Kiekviename tyrimo centre mažiausiai du operatoriai atskirai atliko po du kiekvieno tiriamojo tyrimus. Nei vienas operatorius nežinojo kito operatoriaus gautų rezultatų ir tiriamojo QFT tyrimo rezultatų.

Visuose trijuose tyrimo centruose buvo gauta po šešis kiekvieno iš 66 tiriamųjų rezultatus, todėl iš viso buvo gauti 396 duomenų taškai. Atkuriamumo tyrimo rezultatų suvestinė pateikta 14 lentelėje.

14 lentelė. Atkuriamumo tyrimo rezultatų suvestinė – kokybinių rezultatų atitiktis procentais tarp tyrimo centro operatorių; N = 66 pacientų mėginiai

1 tyrimo centras – 2 operatoriai	2 tyrimo centras – 2 operatoriai	3 tyrimo centras – 3 operatoriai
64/66 = 96,97 %	64/66 = 96,97 %	59/66 = 89,39 %
1 mėgintuvėlių rinkinio ir 2 mėgintuvėlių rinkinio kokybinių rezultatų atitiktis	1 mėgintuvėlių rinkinio ir 2 mėgintuvėlių rinkinio kokybinių rezultatų atitiktis	1 mėgintuvėlių rinkinio ir 2 mėgintuvėlių rinkinio kokybinių rezultatų atitiktis

Kokybinė atitiktis procentais visuose tyrimo centruose yra 94,7 % (375/396). Atliekant šį skaičiavimą, bendras sutampančių tyrimų rezultatų skaičius (375) apima tuos atvejus, kai sutampa visi 6 rezultatai, sutampa 5 rezultatai iš 6, sutampa 4 rezultatai iš 6 ir sutampa 3 rezultatai iš 6.

Atkartojamumas tarp partijų

Buvo atliktas tyrimas, siekiant nustatyti „QFT-Plus Blood Collection Tubes“ kintamumą tarp partijų palyginus su QFT mėgintuvėliais. Iš viso buvo ištirta 30 tiriamųjų (15 tiriamųjų, kuriems patvirtintas teigiamas TB rezultatas, ir 15 tiriamųjų, kuriems patvirtintas neigiamas TB rezultatas, nustatytas QFT testu). Į šį tyrimą buvo įtrauktos trys atskiros „QFT-Plus“ TB1, TB2 ir QFT TB „Blood Collection Tubes“ mėgintuvėlių partijos. Buvo ištirti trys kartotiniai vieno donoro vienos kraujo surinkimo mėgintuvėlių partijos mėginiai. Buvo ištirta po vieną kartotinį Nil ir Mitogen mėgintuvėlių mėginį.

Kiekvieno tiriamojo kraujas buvo paimtas į ličio heparino „Blood Collection Tubes“ mėgintuvėlius, po to 1 ml kraujo buvo perkeltas į kiekvieną „QFT-Plus“ ir „QFT-Plus Blood Collection Tubes“ mėgintuvėlį ir ištirtas pagal tyrimo procedūrą. Kiekvienos teigiamos ir neigiamos mėginių grupės bendra „QFT-Plus“ mėgintuvėlių rezultatų variacija neturi būti reikšmingai didesnė už bendrą QFT mėgintuvėlio rezultatų variaciją. Tai buvo nustatyta atsižvelgiant į p vertę, gautą taikant Levene variacijos homogeniškumo (angl. Levene's Homogeneity of Variance, HOV) testą. Jei p reikšmė nebuvo reikšminga ($p > 0,05$) ir (arba) „QFT-Plus“ TB mėgintuvėlių variacija buvo mažesnė nei QFT TB mėgintuvėlių variacija, tai reiškia, kad tarp „QFT-Plus“ ir QFT TB mėgintuvėlių yra variacija.

15 lentelė. Variacijos tarp „QFT-Plus“ ir „QFT TB Blood Collection Tubes“ palyginimas, taikant Levene HOV testą

Mėginio tipas	Skirtumas	Poveikis	Priklausomasis	p reikšmė	Reikšmingas
Teigiamas	TB2 palyginus su QFT	Potipis	Liekamasis	0,0378	Taip
Teigiamas	TB2 palyginus su QFT	Potipis	Liekamasis	0,0540	Ne
Neigiamas	TB2 palyginus su QFT	Potipis	Liekamasis	0,1025	Ne
Neigiamas	TB2 palyginus su QFT	Potipis	Liekamasis	0,6344	Ne

Variacija tarp „QFT-Plus“ ir „QFT TB Blood Collection Tubes“ nebuvo reikšminga, išskyrus „QFT-Plus“ TB2 mėgintuvėlį, kai buvo tiriami tiriamieji, gavę teigiamą rezultatą. Išanalizavus apskaičiuotą standartinio nuokrypio vertę, „QFT-Plus“ TB2 mėgintuvėlio variacija buvo mažesnė (0,06089) nei QFT TB mėgintuvėlio (0,07641), kaip parodyta 16 lentelėje. Todėl „QFT-Plus“ TB1 ir TB2 „Blood Collection Tubes“ mėgintuvėlių variacija nebuvo didesnė nei QFT TB „Blood Collection Tube“ mėgintuvėlių.

16 lentelė. Teigiamą rezultatą gavusių tiriamųjų liekamasis standartinis nuokrypis ir 95 % pasikliautinis intervalas

Mėginio tipas	Potipis	Apskaičiuotas standartinis nuokrypis	95 % LCL	95 % UCL
Teigiamas	QFT	0,07641	0,06826	0,08680
Teigiamas	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Teigiamas	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

Atkartojamumas tarp partijų

Tyrimas buvo atliktas siekiant įvertinti „QFT-Plus Blood Collection Tubes“ atkuriamumą tarp partijų, lyginant IFN- γ koncentraciją kartotiniuose „QFT-Plus“ TB „Blood Collection Tubes“ mėgintuvėliuose.

Šešios tų pačių tiriamųjų, kuriems buvo patvirtinta TB infekcija, vieno kraujo mėginio alikvotinės dalys buvo tiriamos 6 kartotiniuose abiejų „QFT-Plus“ mėgintuvėlių (TB1 ir TB2) vienos partijos „Blood Collection Tubes“ mėgintuvėliuose. Tyrimas buvo atliktas 13 tiriamųjų. Buvo apskaičiuotas kiekvieno donoro ir visų donorų %VK, kad būtų gautas vidutinis %VK, kaip parodyta 17 lentelėje.

17 lentelė. Teigiamą TB rezultatą gavusių tiriamųjų kiekvieno „QFT-Plus“ TB kraujo surinkimo mėgintuvėlio vidurkio, standartinio nuokrypio, minimalus, medianos ir maksimalus %VK

„QFT-Plus“ mėgintuvėlis	Imties dydis	Vidurkis (%VK)	Standartinis nuokrypis	Minimali vertė	Mediana	Maksimali vertė
TB1	13	13,31	6,88	4,17	12,87	29,56
TB2	13	13,04	7,48	4,86	10,75	29,44

Rezultatai parodė, kad vidutinis TB1 ir TB2 %VK buvo ~13 %, atitinkantis ≤ 30 % priėmimo kriterijus, ir parodo atkartojamumą tarp partijų.

Tuščiųjų mėginių riba („Limit of blank“, LOB)

Buvo įvertinta „QFT-Plus“ tyrimo tuščiųjų mėginių riba („Limit of blank“, LOB). 14 atskirų normalių žmogaus plazmos mėginių (tuščiųjų mėginių) po du kartotinius mėginius su dviem „QFT-Plus ELISA“ partijomis tyrė 3 operatoriai arba 3 tyrimo dienas, po vieną operatorių per tyrimo dieną, iš viso 84 pakartojimai iš kiekvienos ELISA rinkinio partijos.

2 ELISA rinkinio partijų LoB reikšmės (IU/ml) buvo apskaičiuotos atskirai, kaip parodyta 18 lentelėje.

18 lentelė. Dviejų „QFT-Plus ELISA Kit“ rinkinio partijų LoB vertės (IU/ml)

„QFT-Plus ELISA Kit“	Apskaičiuota LoB (IU/ml)
1 rinkinys	0,030
2 rinkinys	0,040

Didesnė LoB vertė, lygi 0,040 IU/ml, abiejose „QFT-Plus ELISA kit“ partijose buvo pateikta kaip galutinė LoB vertė.

Aptikimo riba („Limit of Detection“, LoD)

Buvo įvertinta „QFT-Plus“ tyrimo aptikimo riba („Limit of Detection“, LoD). TB neigiamų žmogaus plazmos mėginių grupė buvo sudaryta sujungus 14 atskirų plazmos mėginių. Kiekvienas iš 3 operatorių paruošė IFN- γ etalonišią standartinę pradinę tirpalą 1,0 IU/ml, praskiestą buferiniu tirpalu. Buvo atlikta 8 koncentracijų skiedimo serija. Tyrimas buvo vykdomas 3 dienas, 3 skirtingų operatorių, naudojant 2 „QFT-Plus ELISA kit“ partijas. Kiekvieną tyrimo dieną buvo tiriami 5 kiekvienos koncentracijos pakartojimai kiekviename serijinio skiedimo serijos rinkinyje, iš viso 45 pakartojimai kiekvienam IFN- γ praskiedimui kiekvienai „QFT-Plus ELISA kit“ partijai.

Kiekvienos tirtos „QFT-Plus ELISA kit“ partijos LoD vertė buvo apskaičiuota atskirai, kaip parodyta 19 lentelėje.

19 lentelė. Dviejų „QFT-Plus ELISA Kit“ partijų apskaičiuotos LoD vertės (IU/ml)

„QFT-Plus ELISA Kit“	Tikimybė	Apskaičiuota koncentracija (IU/ml)	Apskaičiuotos vertės apatinė 95 % patikimumo riba	Apskaičiuotos vertės viršutinė 95 % patikimumo riba
1 rinkinys	0,95	0,063	0,060	0,067
2 rinkinys	0,95	0,065	0,060	0,073

Didesnė LoD vertė, lygi 0,065 IU/ml, apskaičiuota abiejose „QFT- Plus ELISA kit“ rinkinio partijose, buvo pateikta kaip galutinė LoD vertė.

Trukdančios medžiagos

Buvo atliktas tyrimas, siekiant nustatyti galimų trukdančių medžiagų poveikį su „QFT-Plus ELISA“ atliekamo IFN- γ aptikimo veiksmingumui. Į šį tyrimą buvo įtrauktos šios trukdančios medžiagos: trigliceridai (visas kiekis), hemoglobinas, baltymai (visas kiekis serume), bilirubinas (konjuguotas), bilirubinas (nekonjuguotas), abakaviro sulfatas, ciklosporinas ir prednizolonas. Naudojant skirtingas trukdančių medžiagų koncentracijas, buvo paruoštos penkios plazmos grupės, kurių IFN- γ koncentracija žinoma. Bazinės IFN- γ koncentracijos grupė buvo paruošta iš anksto su iš anksto nustatytu IFN- γ kiekiu (apytiksliai 0,21 IU/ml, 0,45 IU/ml ir 1,4 IU/ml). Tada ši grupė buvo naudojama trukdančių medžiagų grupėms paruošti. Tirtos trukdančios medžiagos koncentracijos buvo 0 mg/dl, 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl ir 20 mg/dl. Tikslinės trukdančių medžiagų koncentracijos buvo nustatytos atsižvelgiant į etaloninius intervalus, patologines vertes, terapinius intervalus ir toksiškumo intervalus arba į pardavėjo rekomendacijas arba bendrąsias kliniškes koncentracijas. Buvo iširta po šešis kiekvienos trukdančios medžiagos mėginio koncentracijos pakartojimus.

Kiekvienos koncentracijos mėginys buvo iširtas atlikus dviejų mėginių T testą, lyginant pirminės trukdančios medžiagos koncentracijos vidurkio \log_{10} (IU/ml) skirtumą su kontroliniu mėginiu (t. y. nulinė trukdančios medžiagos koncentracija), kaip parodyta 20 ir 21 lentelėse. Taip pat buvo pateiktas apskaičiuotas vidutinio atsako skirtumas ir atitinkamos dvipusės 95 % patikimumo ribos bei p reikšmė.

20 lentelė. Log10 IU/ml: Visų trukdančių medžiagų ir IFN- γ koncentracijos kontrolinės ir pirminės trukdančios medžiagos koncentracijos vidurkių skirtumų T testo suvestinės lentelė

Trukdanti medžiaga	Trukdančios medžiagos koncentracija	Mėginio koncentracija (IU/ml)	Variacija	Vidurkių skirtumas	Apatinis 95 % PI	Viršutinis 95 % PI	p reikšmė	Pavyko
Trigliceridai	Didelė	1,4	Lygi	0,019	-0,040	0,077	0,491	Taip
		0,45	Lygi	0,004	-0,022	0,030	0,732	Taip
		0,21	Lygi	0,006	-0,035	0,047	0,759	Taip
Hemoglobinas	Didelė	1,4	Lygi	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Taip
		0,45	Lygi	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Taip
		0,21	Lygi	0,000	-0,034	0,035	0,980	Taip
Baltymas	Didelė	1,4	Lygi	0,004	-0,034	0,042	0,836	Taip
		0,45	Lygi	0,001	-0,38	0,040	0,962	Taip
		0,21	Lygi	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Taip
Konjuguotas bilirubinas	Didelė	1,4	Lygi	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Taip
		0,45	Lygi	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Taip
		0,21	Lygi	-0,014	0,074	0,046	0,625	Taip
Nekonjuguotas bilirubinas	Didelė	1,4	Lygi	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Taip
		0,45	Lygi	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Taip
		0,21	Lygi	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Taip
Abakaviras	Didelė	1,4	Lygi	0,008	-0,025	0,041	0,601	Taip
		0,45	Lygi	0,012	-0,019	0,044	0,412	Taip
		0,21	Lygi	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Taip

Lentelės tęsinys kitame puslapyje

Lentelės tęsinys iš ankstesnio puslapio

20 lentelė. Log₁₀ IU/ml: Visų trukdančių medžiagų ir IFN- γ koncentracijos kontrolinės ir pirminės trukdančios medžiagos koncentracijos vidurkių skirtumų T testo suvestinės lentelė

Trukdanti medžiaga	Trukdančios medžiagos koncentracija	Mėginio koncentracija (IU/ml)	Variacija	Vidurkių skirtumas	Apatinis 95 % PI	Viršutinis 95 % PI	p reikšmė	Pavyko
Ciklosporinas	Didelė	1,4	Lygi	0,014	-0,020	0,047	0,383	Taip
		0,45	Lygi	0,005	-0,035	0,045	0,773	Taip
		0,21	Lygi	0,024	-0,008	0,056	0,131	Taip
Prednizolonas	Didelė	1,4	Lygi	0,017	-0,017	0,050	0,293	Taip
		0,45	Lygi	0,000	-0,036	0,036	0,979	Taip
		0,21	Lygi	0,015	-0,035	0,065	0,524	Taip

21 lentelė. Log10 IU/ml: Visų trukdančių medžiagų ir IFN- γ koncentracijos kontrolinės ir didelės trukdančios medžiagos koncentracijos vidurkių skirtumų T testo suvestinės lentelė

Trukdanti medžiaga	Trukdančios medžiagos koncentracija	Mėginio koncentracija (IU/ml)	Variacija	Vidurkių skirtumas	Apatinis 95 % PI	Viršutinis 95 % PI	p reikšmė	Pavyko
Trigliceridai	Didelė	1,4	Lygi	0,053	-0,004	0,110	0,063	Taip
		0,45	Lygi	0,039	-0,021	0,058	<0,001	Taip
		0,21	Lygi	0,034	-0,002	0,071	0,061	Taip
Hemoglobinas	Didelė	1,4	Lygi	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Taip
		0,45	Lygi	0,016	-0,007	0,040	0,152	Taip
		0,21	Lygi	0,014	-0,030	0,059	0,489	Taip
Baltymas	Didelė	1,4	Lygi	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Taip
		0,45	Lygi	0,000	-0,046	0,046	0,992	Taip
		0,21	Lygi	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Taip
Konjuguotas bilirubinas	Didelė	1,4	Lygi	0,001	-0,046	0,048	0,961	Taip
		0,45	Lygi	0,012	-0,043	0,067	0,639	Taip
		0,21	Lygi	0,015	-0,044	0,074	0,586	Taip
Nekonjuguotas bilirubinas	Didelė	1,4	Lygi	0,015	-0,011	0,042	0,231	Taip
		0,45	Lygi	0,015	-0,023	0,052	0,411	Taip
		0,21	Lygi	0,012	-0,033	0,057	0,566	Taip
Abakaviras	Didelė	1,4	Lygi	0,013	-0,015	0,040	0,322	Taip
		0,45	Lygi	0,015	-0,014	0,044	0,283	Taip
		0,21	Lygi	0,008	-0,034	0,050	0,677	Taip

Lentelės tęsinys kitame puslapyje

Lentelės tęsinys iš ankstesnio puslapio

21 lentelė. Log10 IU/ml: Visų trukdančių medžiagų ir IFN- γ koncentracijos kontrolinės ir didelės trukdančios medžiagos koncentracijos vidurkių skirtumų T testo suvestinės lentelė

Trukdanti medžiaga	Trukdančios medžiagos koncentracija	Mėginio koncentracija (IU/ml)	Variacija	Vidurkių skirtumas	Apatinis 95 % PI	Viršutinis 95 % PI	p reikšmė	Pavyko
Ciklosporinas	Didelė	1,4	Lygi	0,002	-0,019	0,024	0,816	Taip
		0,45	Lygi	0,007	-0,030	0,043	0,682	Taip
		0,21	Lygi	0,015	-0,007	0,038	0,155	Taip
Prednizolonas	Didelė	1,4	Lygi	0,007	-0,016	0,030	0,518	Taip
		0,45	Lygi	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Taip
		0,21	Lygi	0,021	-0,025	0,068	0,334	Taip

Rezultatai neparodė reikšmingų skirtumų tarp pirminės trukdančių medžiagų koncentracijos ir kontrolės (nulinė trukdančios medžiagos koncentracija) ir didelės trukdančios medžiagos koncentracijos, išskyrus 0,45 IU/ml trigliceridų koncentracijos lygį. Nustatyta, kad vidurkių skirtumas yra +/- 2 standartinio nuokrypio diapazone. Tai rodo, kad skirtumas yra tyrimo tikėtino kintamumo ribose ir trigliceridai neturi trukdančio poveikio „QFT-Plus ELISA“.

Utilizavimas

Laikykitės esminių elgsenos su krauju nurodymų. Su krauju ar kraujo produktais susijusius mėginius ir medžiagas išmeskite atsižvelgdami į šalies ir vietinius reikalavimus.

Literatūra

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.

Trikčių šalinimo vadovas

Šis trikčių šalinimo vadovas gali būti naudingas šalinant atsiradusias problemas. Techninės pagalbos ir papildomos informacijos kreipkitės į techninės pagalbos tarnybą adresu www.qiagen.com/Support (kontaktinė informacija pateikiama svetainėje www.qiagen.com).

Pastabos ir pasiūlymai

ELISA trikčių šalinimas

Nespecifinės spalvos atsiradimas

- | | |
|--|---|
| a) Nepakankamai švariai išplautos plokštelės | Plokštelę plaukite mažiausiai 6 kartus po 400 µl plovimo buferio į duobutę. Atsižvelgiant į naudojamą plovimo aparatą, gali prireikti daugiau nei 6 plovimo ciklų. Rekomenduojama tarp plovimo ciklų bent 5 sekundes pamirkyti. |
| b) Kryžminis ELISA duobučių užteršimas | Norėdami sumažinti riziką iki minimumo, atsargiai lašinkite pipete ir maišykite mėginį. |
| c) Pasibaigęs rinkinio / sudedamųjų dalių galiojimo laikas | Patikrinkite, ar nepasibaigęs rinkinio galiojimo laikas. Patikrinkite, ar atkurti standartas ir konjugato 100x koncentratas sunaudojami per tris mėnesius nuo atkūrimo. |
| d) Fermento substrato tirpalas užterštas | Išmeskite substratą, jeigu nusidažo mėlynai. Įsitikinkite, kad naudojamos švarios reagentų talpyklos. |
| e) Plazmos maišymas „QFT-Plus Blood Collection Tubes“ prieš paimant plazmos mėginį | Po centrifugavimo ir prieš plazmos paėmimą kiekvienu atveju venkite mėginius traukti pipete aukštyn ir žemyn arba plazmą sumaišyti. Visuomet dirbkite kruopščiai, kad nesujudintumėte medžiagos prie gelio paviršiaus. |

Pastabos ir pasiūlymai

Žema standartų optinio tankio reikšmė

- | | |
|--|--|
| a) Klaida, susijusi su standarto skiedimu | Rinkinio standarto skiedinius paruoškite tiksliai laikydamiesi naudojimo instrukcijose pateiktų nurodymų. |
| b) Klaida naudojantis pipete | Patikrinkite, ar pipetės yra kalibruotos ir naudojamos tiksliai pagal gamintojo nurodymus. |
| c) Per žema inkubavimo temperatūra | ELISA inkubavimas turėtų vykti kambario temperatūroje (22 ± 5 °C). |
| d) Per trumpas inkubavimo laikas | Plokštelės su konjugatu, standartais ir mėginiais inkubavimo trukmė turėtų būti 120 ± 5 min. Fermento substrato tirpalas ant plokštelės turi būti inkubuojamas 30 minučių. |
| e) Naudojamas netinkamas plokštelių skaitytuvo filtras | Plokštelės rezultatai turėtų būti skaitomi nustačius 450 nm ir naudojant 620–650 nm referencijos filtrą. |
| f) Per šalti reagentai | Visi reagentai (išskyrus konjugato 100x koncentratą) prieš pradedant tyrimą turi būti kambario temperatūros. Tam reikia maždaug 1 valandos. |
| g) Pasibaigęs rinkinio / sudedamųjų dalių galiojimo laikas | Patikrinkite, ar nepasibaigęs rinkinio galiojimo laikas. Patikrinkite, ar atkurti standartas ir konjugato 100x koncentratas buvo naudoti 3 mėnesių laikotarpiu nuo atkūrimo. |

Didelis fonas

- | | |
|--|--|
| a) Nepakankamai švariai išplautos plokštelės | Plokštelę plaukite mažiausiai 6 kartus po 400 µl plovimo buferio į duobutę. Gali prireikti išplauti ne mažiau nei 6 kartus. Rekomenduojama tarp plovimo ciklų bent 5 sekundes pamirkyti. |
| b) Per aukšta inkubacijos temperatūra | ELISA inkubavimas turėtų vykti kambario temperatūroje (22 ± 5 °C). |

Pastabos ir pasiūlymai





- c) Pasibaigęs rinkinio / sudedamųjų dalių galiojimo laikas Patikrinkite, ar nepasibaigęs rinkinio galiojimo laikas. Patikrinkite, ar atkurti standartas ir konjugato 100x koncentratas sunaudojami per tris mėnesius nuo atkūrimo.
- d) Fermento substrato tirpalas užterštas Išmeskite substratą, jeigu nusidažo mėlynai. Įsitikinkite, kad naudojamos švarios reagentų talpyklos.

Nelinijinė standarto kreivė ir dvigubas kintamumas

- a) Nepakankamai švariai išplautos plokštelės Plokštelę plaukite mažiausiai 6 kartus po 400 µl plovimo buferio į duobutę. Gali prireikti išplauti ne mažiau nei 6 kartus. Rekomenduojama tarp plovimo ciklų bent 5 sekundes pamirkyti.
- b) Standarto skiedinio ruošimo klaida Standarto skiedinius paruoškite tiksliai laikydamiesi naudojimo instrukcijose pateiktų nurodymų.
- c) Nepakankamas išmaišymas Prieš pildami duobutes kruopščiai sumaišykite reagentus apversdami arba lengvai pasukiodami.
- d) Netolygus lašinimas pipete arba pertraukimas pasirengiant tyrimui Mėginių ir standartų pylimas turėtų vykti nenutrūkstamai. Visi reagentai turi būti paruošti prieš pradėdant tyrimą.

Simboliai

Naudojimo instrukcijose arba ant pakuočių ir etiketėse pateikiami šie simboliai:

Simbolis	Simbolio apibrėžimas
 <N>	Sudėtyje yra pakankamas reagentų kiekis <N> reakcijoms atlikti
	Tinka naudoti iki
 0197	Šis produktas atitinka reikalavimus, nurodytus Europos reglamente 2017/746 dėl in vitro diagnostikos medicinos prietaisų
EC REP	Įgaliotasis atstovas Europos Bendrijoje / Europos Sąjungoje
IVD	In vitro diagnostikos medicinos prietaisas
REF	Katalogo numeris
LOT	Partijos numeris
MAT	Medžiagos numeris (t. y. komponento ženklimas etikete)
COMP	Komponentai
CONT	Sudėtyje yra
NUM	Numeris
GTIN	Visuotinis prekės numeris
Rn	R yra naudojimo instrukcijų peržiūrėtas leidimas, n yra peržiūrėto leidimo numeris
	Temperatūros ribos

Simbolis

Simbolio apibrėžimas



Gamintojas



Žr. naudojimo instrukcijas



Saugokite nuo šviesos



Įspėjimas / dėmesio! arba Dėmesio! Žiūrėkite lydimuosius dokumentus

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

In vitro diagnostinis testas, kurį sudaro peptidų mišinys, imituojantis ESAT-6 ir CFP-10 baltymus, kad būtų stimuliuojamos ląstelės heparinizuotame viso kraujo mėginyje



Sudėtyje yra gyvūninės kilmės biologinių medžiagų



Sudėtyje yra žmogaus kilmės biologinių medžiagų



Unikalus prietaiso identifikatorius

Simbolis

Simbolio apibrėžimas

tartrazine

Sudėtyje yra tartrazino.

sulfuric acid

Sudėtyje yra sieros rūgšties

A priedas. Techninė informacija

Neaiškūs rezultatai

Neaiškūs rezultatai nėra dažni ir gali būti susiję su tiriamo asmens imuninės sistemos būkle (5), tačiau jie taip pat gali būti susiję su įvairiais techniniais faktoriais (pvz., netinkamu „Blood Collection Tubes“ mėgintuvėlių naudojimu / laikymu, nepakankamu ELISA plokštelės išplovimu), jei nesilaikoma anksčiau aprašytų naudojimo instrukcijų.

Įtariant, kad laikant reagentus, paimant kraują arba dirbant su kraujo mėginiais buvo techninių problemų, visas „QFT-Plus“ tyrimas turėtų būti pakartotas su nauju kraujo bandiniu. Stimuliuotų plazmos mėginių ELISA testas gali būti pakartotas, jeigu įtariama, kad buvo netinkamai išplauta arba buvo kitų ELISA metodo procedūrinių nukrypimų. Tada pagal aplinkybes gydytojai gali paimti naują kraujo bandinį arba, reikalui esant, atlikti kitas procedūras.

Sukrešę plazmos mėginiai

Jeigu plazmos mėginius laikant ilgesnį laiką susidaro fibrino krešulių, mėginius reikia centrifuguoti, kol susidarys nuosėdos; tai palengvina plazmos lašinimą pipete.

Lipemieniai plazmos mėginiai

Lipeminius mėginius reikia atsargiai lašinti pipete, nes riebalų nuosėdos gali užkimšti pipetės antgalį.

B priedas. Trumpas ELISA tyrimo procedūros aprašas

1. ELISA komponentus, neįskaitant konjugato 100x koncentrato, palikite mažiausiai 60 minučių pastovėti, kad susilygintų su kambario temperatūra.



2. Komplekto standartą atkurkite naudodami 8,0 IU/ml distiliuoto arba dejonizuoto vandens. Pagaminkite keturis (4) standarto skiedinius.



3. Naudodami distiliuotą arba dejonizuotą vandenį atkurkite liofilizuotą konjugato 100x koncentratą.

4. Pagaminkite darbui reikiamo stiprumo konjugatą su žaliu skiedikliu ir į visas duobutes įpilkite po 50 µl.



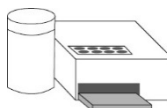
5. Į atitinkamas duobutes įpilkite po 50 µl plazmos mėginio ir 50 µl standartų. Išmaišykite naudodami purtytuvą.



6. 120 minučių inkubuokite kambario temperatūroje.



7. Duobutes plaukite mažiausiai 6 kartus įpildami po 400 µl plovimo buferio į duobutę.



8. Į duobutes įpilkite po 100 µl fermento substrato tirpalo.
Išmaišykite naudodami purtytuvą.



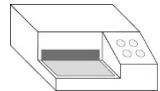
9. 30 minučių inkubuokite kambario temperatūroje.



10. Į kiekvieną duobutę įpilkite po 50 µl fermento stabdymo tirpalo.
Išmaišykite naudodami purtytuvą.



11. Matuokite rezultatus esant 450 nm naudodami 620–650 nm
referencijos filtrą.



12. Analizuokite rezultatus.



Užsakymo informacija

Produktas	Turinys	Kat. Nr.
QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit	2 plokštelių ELISA rinkinys	622120
QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Reference Lab Pack	20 plokštelių ELISA rinkinys	622822
Related products		
QuantIFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes	200 mėgintuvėlių (po 50 Nil, TB1, TB2 ir Mitogen)	622526
QuantIFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 mėgintuvėlių (po 25 Nil, TB1, TB2 ir Mitogen)	622423
QuantIFERON-TB Gold Plus Single Patient Pack	40 mėgintuvėlių (pakuotėje po 1 Nil, TB1, TB2 ir Mitogen), pakuotėje 10 vnt.	622222
QuantIFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes	200 mėgintuvėlių (po 50 Nil, TB1, TB2 ir Mitogen)	623526
QuantIFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 mėgintuvėlių (po 50 Nil, TB1, TB2 ir Mitogen)	623423

Produktas	Turinys	Kat. Nr.
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Single Patient Pack	40 mėgintuvėlių (pakuotėje po 1 Nil, TB1, TB2 ir Mitogen), pakuotėje 10 vnt.	623222

Naujausia informacija apie licencijavimą ir tam tikrų gaminių garantinių įsipareigojimų ribojimą pateikiama atitinkamo QIAGEN rinkinio naudojimo instrukcijose. QIAGEN rinkinių naudojimo instrukcijos pateikiamos svetainėje www.qiagen.com arba galite jų paprašyti QIAGEN techninės pagalbos tarnybos ar vietinio platintojo.

Dokumento peržiūrų istorija

Data	Keitimai
R2, 2021 m. birželis	Pridėta informacija apie pakuotę vienam pacientui Peržiūrėtos 10 ir 11 lentelės, siekiant atskirti „QFT-GIT“ palyginimo su „QFT-Plus“ duomenis Atnaujintas skyrius „Aprašymas ir veikimo principas“, pridėdant informaciją apie tyrimo populiaciją ir matavimo intervalą. Pridėta 9 lentelė, kurioje pridėti duomenys apie „QFT-Plus“ tikimybės santykį
R3, 2021 m. spalio	Katalogo numeriai pakeisti į pradinis katalogo numerius Skyriuje apie rinkinio sudėtį pridėtas pareiškimas apie mikroplokštelių juostelių naudojimą vieną kartą
R4, 2023 m. kovas	Formatavimo pataisymai:

Šis puslapis specialiai paliktas tuščias

„QuantIFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit“ ribotosios licencijos sutartis

Naudodamas šį gaminį pirkėjas arba naudotojas sutinka su toliau išvardytomis sąlygomis.

1. Produktą galima naudoti tik vadovaujantis protokolais, pateiktais su šiuo produktu, šiomis naudojimo instrukcijomis ir tik su tyrimo esančiais komponentais. QIAGEN nesuteikia jokios intelektinės nuosavybės licencijos naudoti ar ištraukti pridėtus šio tyrimo komponentus su šiame tyrimo nepateiktais komponentais, išskyrus aprašytus protokoluose, pateiktuose su šiuo gaminiu, šiose naudojimo instrukcijose ir papildomuose protokoluose, kurie pateikti www.qiagen.com. „QIAGEN“ naudotojams pateikiami keli papildomi protokolai. Šiuos protokolus „QIAGEN“ kruopščiai patikrino ir optimizavo. „QIAGEN“ neteikia garantijų, kad šie protokolai nepažeidžia trečiųjų šalių teisių.
2. Jei aiškiai nenurodyta licencijose, QIAGEN nesuteikia garantijos, kad šis kompleksas ir (arba) jo naudojimas nepažeis trečiųjų šalių teisių.
3. Pagal suteiktą licenciją šį kompleksą ir jo komponentus galima naudoti vieną kartą; pakartotinai naudoti, atnaujinti ar perparduoti negalima.
4. QIAGEN aiškiai atsisako bet kokių kitų išreikštų ar numanomų licencijų, išskyrus aiškiai nurodytas licencijas.
5. Komplekto pirkėjas ir naudotojas sutinka nesiliimti ir neleisti niekam kitam imtis veiksmų, kurie galėtų paskatinti arba palengvinti anksčiau nurodytus draudžiamus veiksmus. QIAGEN gali priversti vykdyti šios ribotosios licencinės sutarties draudimus bet kuriame teisme ir turi atgauti visas tyrimo ir teismo išlaidas, įskaitant išlaidas advokatams, pateikusi ieškinį dėl šios ribotosios licencinės sutarties vykdymo arba su šiuo rinkiniu ir (arba) jo komponentais susijusių teisių į savo intelektinę nuosavybę.

Atnaujintas licencijos sąlygas rasite www.qiagen.com.

Prekių ženklai: „QIAGEN®“, „Sample to Insight®“, „QuantIFERON®“ („QIAGEN Group“), „ProClin®“. Šiame dokumente vartojami registruotieji pavadinimai, prekių ženklai ir kt., net jeigu jie nėra specialiai pažymėti, vis tiek saugomi įstatymų.

03/2023 L1123669 1123669LT © QIAGEN, 2023. Visos teisės saugomos.

Užsakymas www.qiagen.com/shop | Techninė pagalba support.qiagen.com |
Svetainė www.qiagen.com