



2023. gada marts

QuantiFERON[®]-TB Gold Plus ELISA Kit lietošanas instrukcijas



2 × 96 (622120)



20 × 96 (622822)

1. versija



Lietošanai in vitro diagnostikā

Lietošanai ar asins paraugu ņemšanas stobriņiem
QuantiFERON[®]-TB Gold Plus Blood Collection Tubes



622120, 622822



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Vācija



1123669LV

Saturs

Paredzētā lietošana	5
Paredzētais lietotājs	5
Apraksts un darbības principi	6
Informācija par patogēniem	6
Kopsavilkums un skaidrojums	7
Analīzes principi	9
Komplektā ietvertie materiāli	11
Komplekta saturs	11
Komplekta komponenti	12
Platforma un programmatūra	12
Nepieciešamie, bet komplektā neietvertie materiāli	13
Papildu reaģenti	13
Palīgmateriāli	13
Iekārta	13
Brīdinājumi un piesardzības pasākumi	14
Drošības informācija	14
Ar ārkārtas situācijām saistīta informācija	15
Piesardzības pasākumi	16
Reaģentu uzglabāšana un lietošana	18
Lietošanas stabilitāte	18
Sagatavotie un neizmantotie reaģenti	18
Paraugu materiālu uzglabāšana un lietošana	19

Protokols: ELISA analīzes veikšana	20
Rezultāti (aprēķini)	26
Standarta līknes un parauga vērtību ģenerēšana	26
Testa kvalitātes kontrole	28
Rezultātu interpretācija	30
Ierobežojumi	32
Veiktspējas raksturojums	33
Klīniskie pētījumi	33
Jutīgums	35
Sagaidāmās vērtības	43
Drošības un veiktspējas kopsavilkums	49
Analīzes veiktspējas raksturojums	50
Analītiskā veiktspēja	50
Utilizēšana	63
Atsauces	64
Norādījumi par problēmu novēršanu	66
Simboli	69
A pielikums. Tehniskā informācija	72
Nenoteikti rezultāti	72
Receklaini plazmas paraugi	72
Lipēmiski plazmas paraugi	72
B pielikums. Saīsināta ELISA testa procedūra	73
Informācija par pasūtīšanu	75
Dokumenta pārskatīšanas vēsture	77

Paredzētā lietošana

Analīze QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus) ir *in vitro* diagnostikas tests, kurā tiek izmantots peptīdu maisījums, kas simulē olbaltumvielas ESAT-6 un CFP-10, lai ierosinātu ar heparīnu apstrādātas pilnasiņu šūnas. γ interferona (IFN- γ) noteikšanai tiek izmantota enzīmu imūnsorbcijas analīze (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay — ELISA), lai noteiktu *in vitro* atbildes reakciju uz peptīdu antigēniem, kas ir saistīti ar *Mycobacterium tuberculosis* infekciju.

QFT-Plus ir netiešs *M. tuberculosis* infekcijas (tostarp slimības) noteikšanas tests, un to ir paredzēts izmantot kopā ar riska novērtēšanu, radiogrāfiju un citām medicīniskām un diagnostiskām novērtēšanas metodēm.

Paredzētais lietotājs

Šis komplekts ir paredzēts profesionālai lietošanai.

Analīzi QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) var izmantot tikai apmācīti darbinieki laboratorijas vidē.

Apraksts un darbības principi

Informācija par patogēniem

Tuberkuloze ir lipīga slimība, ko izraisa inficēšanās ar *M. tuberculosis* kompleksa organismiem (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* un *M. caprae*), kas parasti izplatās gaisa pilienu ceļā, personām nonākot saskarē ar plaušu tuberkulozes slimniekiem. Tikko inficēta persona var saslimt ar tuberkulozi dažu nedēļu vai mēnešu laikā, bet lielākā daļa inficēto nenaslimst. Dažos gadījumos iespējama latentā tuberkulozes infekcija (LTBI — Latent Tuberculosis Infection), nelipīgs bezsimptomu stāvoklis, kas var attīstīties par tuberkulozes slimību pēc vairākiem mēnešiem vai gadiem. Galvenais LTBI diagnosticēšanas mērķis ir noteikt medicīnisko ārstēšanu, lai novērstu saslimšanu ar tuberkulozi. Vairāk nekā 100 gadus tuberkulīna ādas tests (TST — Tuberculin Skin Test) bija vienīgā pieejamā LTBI diagnostikas metode (4). Ādas jutīgums pret tuberkulīnu rodas 2–10 nedēļu laikā pēc inficēšanās. Tomēr dažas inficētas personas uz tuberkulīnu nereaģē, tostarp personas, kurām ir dažādi imūnreakcijas traucējumi, kā arī citas personas bez šādiem traucējumiem. Turpretī dažas personas, kurām, visticamāk, nav *M. tuberculosis* infekcijas, reaģē uz tuberkulīnu, un tāpēc tām ir pozitīvi TST rezultāti pēc vakcinēšanās ar Bacille Calmette-Guérin (BCG) vakcīnu, inficēšanās ar mikobaktērijām, kas neietilpst *M. tuberculosis* kompleksā, vai citu nezināmu faktoru dēļ.

LTBI ir jānodala no saslimšanas ar tuberkulozi (par ko ir jāziņo un kas parasti ietekmē plaušas un apakšējos elpceļus, lai gan var tikt skartas arī citas orgānu sistēmas). Saslimšana ar tuberkulozi tiek diagnosticēta, vadoties pēc pacienta vēstures un fizisko, radioloģisko un mikobakterioloģisko izmeklējumu rezultātiem.

Kopsavilkums un skaidrojums

Tests QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ir QuantiFERON-TB testēšanas tehnoloģijas ceturtais paaudzes tests, kas izvērtē šūnu atbildes reakciju, veicot IFN- γ kvantitatīvu mērījumu pilnasiņu paraugā. QFT-Plus ir kvalitatīvs tests, kas nosaka šūnu atbildes imūnreakciju (CMI, Cell-Mediated Immune) uz peptīdu antigēniem, kas simulē mikobakteriālās olbaltumvielas. Šo olbaltumvielu (ESAT-6 un CFP-10) nav nevienā BCG celmā un vairākumā mikobaktēriju, kas nav tuberkulozes baktērijas, izņemot *M. kansasii*, *M. szulgai* un *M. marinum* (1). Ar *M. tuberculosis* kompleksa organismiem inficēto personu asinīs parasti ir limfocīti, kas atpazīst šos un citus mikobakteriālos antigēnus. Šis atpazīšanas process ietver citokīna IFN γ veidošanu un sekrēciju. Šī testa pamatā ir IFN- γ noteikšana un tālāka kvantitatīvā aprēķināšana.

Tuberkulīna ādas testi un IGRA testi ir noderīgi, tomēr nepietiekami *M. tuberculosis* kompleksa infekciju diagnostikai slimiem pacientiem — pozitīvs rezultāts var atbalstīt tuberkulozes saslimšanas diagnozi, tomēr pozitīvus rezultātus var nodrošināt arī citu mikobaktēriju (piemēram, *M. kansasii*) infekcijas. Lai apstiprinātu vai izslēgtu diagnozi par saslimšanu ar tuberkulozi, ir nepieciešami vēl citi medicīniskie un diagnostiskie izmeklējumi.

QFT-Plus analizē izmantotie antigēni ir peptīdu maisījums, kas simulē olbaltumvielas ESAT-6 un CFP-10. Vairākos pētījumos ir konstatēts, ka šie peptīdu antigēni simulē IFN- γ atbildes reakcijas to personu T šūnās, kuras ir inficētas ar *M. tuberculosis*, bet parasti minētais nav novērojams personām, kuras nav inficētas vai ir saņēmušas BCG vakcīnu, neslimo vai nav pakļautas LTBI riskam (1,2,6,9). Tomēr medicīniskā ārstēšana vai problēmas, kas rada imūnfunkciju traucējumus, potenciāli var samazināt IFN- γ atbildes reakciju. Uz ESAT-6 un CFP-10 var reaģēt arī pacienti, kuriem ir noteiktas citas mikobakteriālās infekcijas, jo gēni, kas kodē šīs olbaltumvielas, atrodas arī mikobaktērijās *M. kansasii*, *M. szulgai* un *M. marinum* (1, 3, 7).

QFT-Plus testēšanas populācija ir pacienti ar klīniski apstiprinātu aktīvu tuberkulozi, kā arī pacienti, kuri ir pakļauti tuberkulozes infekcijas riskam vai latentas tuberkulozes infekcijas (LTBI) riskam. Vecuma, dzimuma un citi ierobežojumi nav spēkā.

Mycobacterium tuberculosis (MTB) infekcijas gadījumā CD4⁺ T šūnām ir nozīmīga loma, jo tās nodrošina imunoloģisko kontroli ar citokīna IFN- γ sekrēciju. Tagad pierādījumi liecina, ka CD8⁺ T šūnas piedalās imūnā aizsardzībā pret MTB, veidojot IFN- γ un citus šķīstošus faktoros, kas aktivizē makrofāģus, lai nomāktu MTB izplatīšanos, nogalinātu inficētās šūnas vai tiešā veidā intracelulāri lizētu MTB. IFN- γ veidojošas MTB specifiskas CD8⁺ šūnas ir konstatētas pacientiem ar LTBI un aktīvu TB. Papildus tiek aprakstīts, ka ESAT-6 un CFP-10 specifiskie CD8⁺ T limfocīti tiek biežāk noteikti pacientiem ar aktīvu TB slimību, salīdzinot ar LTBI, un tas var būt saistīts ar nesenu saskari ar MTB (8, 10–12). Turklāt MTB specifiskās CD8⁺ T šūnas, kas izstrādā IFN- γ , tiek noteiktas arī pacientiem ar aktīvu TB, kuriem vienlaikus ir arī HIV infekcija (13, 14), kā arī maziem bērniem ar TB slimību (15).

Analīzē QFT-Plus ir divi atšķirīgi TB antigēna stobriņi: TB Antigen Tube 1 (TB1) un TB Antigen Tube 2 (TB2). Abos stobriņos ir peptīdu antigēni no MTB kompleksa saistītajiem antigēniem, ESAT-6 un CFP-10. TB1 un TB2 stobriņā ir ESAT-6 un CFP-10 peptīdi, kas izraisa CMI atbildes reakcijas no CD4⁺ T helperu limfocītiem, bet TB2 stobriņā ir papildu peptīdu komplekts, kura mērķis ir CMI atbildes reakciju ierosināšana no CD8⁺ citotoksiskajiem T limfocītiem.

M. tuberculosis infekcijas riska faktori ietver vēsturiskus, medicīniskus vai epidemioloģiskus tuberkulozes saslimšanas prediktorus vai pakļaušanu tuberkulozes iedarbībai. Detalizētus ieteikumus *M. tuberculosis* infekcijas (tostarp saslimšanas) diagnostikai un testējamo personu atlasei (16) skatiet jaunākajos Pasaules Veselības organizācijas norādījumos: <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment> QFT-Plus ir testēts dažās pacientu grupās, kuras atbilst TB infekcijas skrīninga indikācijām saskaņā ar jaunākajiem PVO norādījumiem (16), tostarp ir testētas personas, kurām ir pozitīvs cilvēka imūndeficīta vīrusa (HIV) testa rezultāts, ar TB nesen inficētu pacientu kontaktpersonas un personas, kuras dzīvo blīvi apdzīvotās mītnēs un ir nonākušas saskarē ar pieaugušām personām, kuras ir pakļautas augstam TB riskam (5).

Analīzes principi

QFT-Plus ir kvalitatīva analīze, kas izmanto specializētus asins savākšanas stobriņus ar peptīdu antigēniem, kas simulē *M. tuberculosis* olbaltumvielas; šos stobriņus izmanto pilnasiņu vākšanai. Asins inkubācija stobriņos notiek 16–24 stundas, pēc tam atdala plazmu un testē, vai tajā ir IFN- γ , kas ir izstrādāts, reaģējot uz peptīdu antigēniem.

Vispirms tiek paņemts pilnasiņu paraugs katrā stobriņā QFT-Plus Blood Collection Tubes, proti, Nil stobriņā, TB1 stobriņā, TB2 stobriņā un Mitogen stobriņā. Asins paraugu var paņemt arī vienā asins analīžu stobriņā, kurā kā antikoagulants ir litija vai nātrija heparīns, un pēc tam paraugu pārliet stobriņos QFT-Plus Blood Collection Tubes.

Stobriņi QFT-Plus Blood Collection Tubes ir jāsakrata, lai antigēnu sajauktu ar asinīm, un jāinkubē 37 °C \pm 1 °C temperatūrā iespējami drīz, bet ne vēlāk kā 16 stundu laikā pēc parauga ņemšanas. Pēc 16–24 stundu inkubācijas perioda stobriņus centrifugē, apstrādā plazmu un ar ELISA analīzi nosaka IFN- γ daudzumu (SV/ml). QFT-Plus ELISA analīzē tiek izmantots rekombinants cilvēka IFN- γ standarts, kas testēts pret atsauces IFN- γ (NIH ref.: Gxg01-902-535). Testa parauga rezultāti tiek uzrādīti starptautiskajās vienībās uz vienu ml (SV/ml) attiecībā pret standarta līkni, kura izveidota, testējot komplektā iekļautos standarta atšķaidījumus.

Ir zināms, ka heterofilās (piemēram, cilvēka pretpeles) antivielas atsevišķu indivīdu serumā vai plazmā rada interferenci ar imūnanalīzēm. Heterofilo antivielu ietekme uz QFT-Plus ELISA analīzi ir samazināta, pievienojot zaļajam atšķaidītājam normālu peles serumu un izmantojot F(ab')₂ monoklonālu antivielu fragmentus kā IFN- γ antivielu, ar kuru pārklātas mikroplates iedobes.

Tiek uzskatīts, ka IFN- γ atbildes reakcija QFT-Plus analizē ir pozitīva, ja TB antigēna stobriņa rādījums ievērojami pārsniedz Nil stobriņa IFN- γ SV/ml vērtību. Plazmas paraugs no Mitogen stobriņa kalpo kā IFN- γ pozitīvais kontroles elements katram testētajam parauga materiālam. Vāja atbildes reakcija uz Mitogen (<0,5 SV/ml) norāda uz nenoteiktu rezultātu, ja arī asins parauga atbildes reakcija uz TB antigēniem ir negatīva. Šādu rezultātu var izraisīt nepietiekams limfocītu daudzums, samazināta limfocītu aktivitāte nepareizas parauga materiāla apstrādes dēļ, Mitogen stobriņa uzpilde/maisīšana vai pacienta limfocītu nespēja izstrādāt IFN- γ . Paaugstināta IFN- γ koncentrācija Nil paraugā var rasties heterofilo antivielu vai raksturīgās IFN- γ sekrēcijas dēļ. Ar Nil stobriņu veic korekcijas saistībā ar fona reakcijām (piemēram, paaugstināta cirkulējošā IFN- γ vai heterofilo antivielu klātbūtnes koncentrācija). Nil stobriņa IFN- γ līmeņa vērtība tiek atņemta no IFN- γ TB antigēna stobriņu un Mitogen stobriņa līmeņa vērtības. QFT-Plus ELISA mērījumu diapazons ir līdz 10 SV/ml.

Komplektā ietvertie materiāli

Komplekta saturs

ELISA komponenti Kataloga Nr.	2 plašu komplekts 622120	Atsauces laboratorijas komplekts 622822
Microplate Strips (Mikroplates plātnītes) (12 × 8 iedobes), pārklātas ar IFN- γ monoklonālu antivielu, kas iegūta no pelēm un reaģē uz cilvēka imūnsistēmu	12 x 8 iedobju mikroplates strēmelišu 2 komplekti	12 x 8 iedobju mikroplates strēmelišu 20 komplekti
IFN- γ Standard (IFN- γ standarta materiāls), liofilizēts (satur rekombinantu cilvēka IFN- γ , liellopa kazeīnu, 0,01% svara/tilpuma timerosalu)	1 flakons (8 SV/ml pēc sagatavošanas)	10 flakoni (8 SV/ml pēc sagatavošanas)
Green Diluent (Zaļais atšķaidītājs) (satur liellopa kazeīnu, standarta peļu serumu, 0,01 masas % tiomersāla)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Konjugāta 100x koncentrāts), liofilizēts (no pelēm iegūts, uz cilvēku imūnsistēmu reaģējošs IFN- γ HRP, satur 0,01% w/v timerosalu)	1 x 0,3 ml (pēc sagatavošanas)	10 x 0,3 ml (pēc sagatavošanas)
Wash Buffer 20x Concentrate (Mazgāšanas buferšķīduma 20x koncentrāts) (pH 7,2, satur 0,05 masas % ProClin® 300)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Enzīmu substrāta šķīdums) (satur H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetrametilbenzidīnu)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Enzīmu pārtraukšanas šķīdums) (satur 0,5 M H ₂ SO ₄)	1 x 15 ml	10 x 15 ml
<i>QuantiFERON TB-Gold Plus ELISA Kit lietošanas instrukcijas</i>	1	1

Komplekta komponenti

Kontroles un kalibratori

QFT-Plus ELISA analīzē tiek izmantots rekombinants cilvēka IFN- γ standarts, kas testēts pret atsauces IFN- γ (NIH ref.: Gxg01-902-535).

Platforma un programmatūra

Lai analizētu neapstrādātos datus un aprēķinātu rezultātus, var izmantot programmatūru QFT-Plus Analysis Software, taču tās lietošana nav obligāta. Tā ir pieejama lejupielādei vietnē www.qiagen.com.

Nepieciešamie, bet komplektā neietvertie materiāli

Papildu reaģenti

- QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes
- Dejonizēts vai destilēts ūdens, 2 litri

Palīgmateriāli

- Plates vāks platei ar 96 iedobēm
- **Papildaprīkojums.** 1 ml mikrostobriņi ar vāciņiem 96 iedobju formāta statīvos vai mikroplates bez pārklājuma un ar plastmasas vāciņiem plazmas glabāšanai (22 pacientu paraugi vienā statīvā vai platē)
- Reaģentu tvertnes

Iekārta*

- 37 °C ± 1 °C inkubators (ar vai bez CO₂)
- Kalibrētas pipetes ar maināmu tilpumu no 10 µl līdz 1000 µl šķīduma pārvešanai ar vienreizlietojamiem uzgaļiem
- Kalibrētas daudzkanālu pipetes, kuras nodrošina 50 µl un 100 µl tilpuma pārvešanu ar vienreizlietojamiem uzgaļiem
- Mikroplašu kratītājs, kurš nodrošina ātrumu no 500 līdz 1000 apgr./min.
- Mikroplašu mazgāšanas ierīce (drošai plazmas paraugu lietošanai ieteicams izmantot automātisku plašu mazgāšanas ierīci)
- Mikroplašu datu nolasītājs, kas ir aprīkots ar 450 nm filtru un 620–650 nm atsaucē filtru
- Manāma ātruma virpuļmaisītājs
- Centrifūga, kurā var centrifugēt asins parauga ņemšanas stobriņus ar ātrumu vismaz 3000 RCF (g)
- Cilindrs ar iedaļām (1 vai 2 litri)

* Pirms lietošanas pārlicinieties, vai instrumenti ir pārbaudīti un kalibrēti saskaņā ar ražotāja ieteikumiem.

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

Ņemiet vērā, ka, iespējams, būs jāiepazīstas ar vietējiem noteikumiem par ziņošanu ražotājam un/vai tā pilnvarotajam pārstāvim, kā arī pārvaldes iestādei valstī, kurā atrodas lietotājs un/vai pacients, par nopietniem incidentiem, kas ir radušies saistībā ar ierīci.

Lietošanai in vitro diagnostikā.

Drošības informācija

Strādājot ar ķīmiskām vielām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizlietojamus cimodus un aizsargbrilles. Sīkāku informāciju skatiet attiecīgajās drošības datu lapās (DDL). Tās ir pieejamas tiešsaistē ērtā un kompaktā PDF formātā vietnē www.qiagen.com/safety, kur var meklēt, skatīt un izdrukāt katra QIAGEN komplekta un komplekta komponenta DDL.

- Parauga materiāli un paraugi ir potenciāli infekciozi. Utilizējiet paraugus un analīzes atkritumus atbilstoši vietējām drošības procedūrām.
- Negatīvs QFT-Plus analīzes rezultāts neizslēdz *M. tuberculosis* infekciju vai iespēju, ka ir saslimšana ar tuberkulozi: aplami negatīvi rezultāti var tikt iegūti saistībā ar infekcijas pakāpi (piemēram, paraugu materiāli iegūti pirms šūnu imūnreakcijas attīstīšanās), nepareizu asins analīžu stobriņu apstrādi pēc vēnas punkcijas, nepareizu analīzes veikšanu vai citu mainīgo imunoloģisko apstākļu dēļ. Heterofilu antivielu vai nespecifiska IFN- γ veidošanās citos iekaisuma gadījumos var maskēt specifisku reakciju uz ESAT-6 vai CFP-10 peptīdiem.
- Pozitīvs QFT-Plus analīzes rezultāts nedrīkst būt vienīgais vai galīgais pamatojums, lai noteiktu inficēšanos ar *M. tuberculosis*. Nepareiza analīzes darbība var izraisīt aplami pozitīvus QFT-Plus rezultātus.


- Pēc pozitīva QFT-Plus analīzes rezultāta iegūšanas ir nepieciešams turpmāks medicīniskais novērtējums, lai noteiktu aktīvu saslimšanu ar tuberkulozi (piemēram, Acid Fast Bacilli uztriepe un kultūra, krūškurvja rentgens).
- Lai gan nevienā BCG celmā un lielākajā daļā zināmo netuberkulozo mikobaktēriju nav atrodami ESAT-6 un CFP-10, iespējams, ka pozitīvs QFT-Plus analīzes rezultāts norāda uz inficēšanos ar *M. kansasii*, *M. szulgai* vai *M. marinum*. Ja rodas aizdomas par šādām infekcijām, ir jāveic alternatīvas analīzes.
- Aplami negatīvu QFT-Plus rezultātu var izraisīt nepareizi paņemts asins paraugs vai nepareiza parauga materiāla lietošana, kas ietekmē limfocītu funkciju. Informāciju par pareizu asins parauga materiālu ņemšanu skatiet šeit: sadaļa "Protokols: ELISA analīzes veikšana" 20. lpp. Novēlota inkubācija var izraisīt aplami negatīvus vai nenoteiktus rezultātus, un citi tehniskie parametri var ietekmēt spēju noteikt nozīmīgu IFN- γ reakciju.

[Ar ārkārtas situācijām saistīta informācija](#)

CHEMTREC

Ārpus ASV un Kanādas: +1 703-527-3887

Piesardzības pasākumi

<p>UZMANĪBU!</p> 	<p>Ar cilvēku asinīm jārīkojas kā ar potenciāli infekciozu materiālu.</p> <p>levērojiet atbilstošās asins paraugu apstrādes vadlīnijas. Paraugus un materiālus, kas bijuši saskarē ar asinīm vai asins produktiem, izmetiet saskaņā ar federālajiem, valsts un vietējiem noteikumiem.</p>
---	---

QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Satur sērskābi. Brīdinājums! Var izraisīt metālu koroziju. Izraisa ādas kairinājumu. Izraisa nopietnu acu kairinājumu. Valkājiet aizsargcimdus/aizsargapģērbu/aizsargbrilles/sejas aizsargus.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Brīdinājums! Izraisa mērenu ādas kairinājumu. Valkājiet aizsargcimdus/aizsargapģērbu/aizsargbrilles/sejas aizsargus.

QuantiFERON Green Diluent



Satur tartrazīnu. Brīdinājums! Var izraisīt alerģisku ādas reakciju. Valkājiet aizsargcimdus/aizsargapģērbu/aizsargbrilles/sejas aizsargus.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Kaitīgs ūdens organismiem ar ilgstošām sekām. Nepieļaujiet nokļūšanu vidē.

Papildinformācija

Drošības datu lapas: www.qiagen.com/safety

- Dažos QFT-Plus reaģentos kā konservants ir izmantots timerosals. Tas var būt toksisks norijot, ieelpojot vai saskaroties ar ādu.
- Neievērojot *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) lietošanas instrukcijās* sniegtos norādījumus, var rasties kļūdaini rezultāti. Pirms lietošanas rūpīgi izlasiet norādījumus.
- Nelietojiet komplektu, ja pirms lietošanas kāda reaģenta pudele izskatās bojāta vai tai ir noplūde.
- **Svarīgi!** Pirms lietošanas pārbaudiet flakonus. Neizmantojiet konjugāta vai IFN- γ standarta materiāla flakonus, kuriem redzamas bojājuma pazīmes vai kuriem ir bojāts gumijas aizbāznis. Neizmantojiet saplēstus flakonus. Veiciet atbilstošus piesardzības pasākumus, lai tos utilizētu drošā veidā. Lai mazinātu metāla vāciņa radītu traumu risku, konjugāta vai IFN- γ standarta materiāla flakonu atvēršanai ieteicams izmantot flakona atvēršanas instrumentu.
- Nejauciet kopā un nelietojiet vienlaikus mikroplates strēmelītes, IFN- γ standarta materiālu, zaļo atšķaidītāju vai konjugāta 100x koncentrātu no citām QFT-Plus komplektu sērijām. Savstarpēji var mainīt dažādu komplektu citus reaģentus (mazgāšanas šķīduma 20x koncentrāts, enzīmu substrāta šķīdums un enzīmu pārtraukšanas šķīdums) ar nosacījumu, ka nav beidzies reaģentu derīguma termiņš un tiek reģistrēti partijas dati.
- Neizlietos reaģentus un bioloģiskos paraugus utilizējiet saskaņā ar vietējiem, valsts un federālajiem noteikumiem.
- Nelietojiet komplektu QFT-Plus ELISA Kit pēc norādītā derīguma termiņa.
- Vienmēr ir jāievēro pareizas laboratorijas procedūras.
- Pārliecinieties, vai laboratorijas aprīkojums, piemēram, plašu mazgāšanas ierīces un datu nolasītāji, ir kalibrēts/apstiprināts lietošanai.

Reaģentu uzglabāšana un lietošana

Pievērsiet uzmanību derīguma termiņiem un uzglabāšanas nosacījumiem, kas norādīti uz visu komponentu kastītēm un etiķetēm. Neizmantojiet nederīgus vai nepareizi uzglabātus komponentus.

Lietošanas stabilitāte

- Glabājiet ELISA komplektu 2–8 °C temperatūrā.
- Vienmēr aizsargājiet enzīmu substrāta šķīdumu no tiešu saules staru iedarbības.

Sagatavotie un neizmantotie reaģenti

- Norādījumus par reaģentu sagatavošanu skatiet šeit: “Protokols: ELISA analīzes veikšana” 20. lpp.
- Sagatavoto komplekta standarta materiālu var uzglabāt maks. 3 mēnešus 2–8 °C temperatūrā.

Atzīmējiet komplekta standarta materiāla sagatavošanas datumu.

- Sagatavotais Conjugate 100x Concentrate koncentrāts atkal jāuzglabā 2–8 °C temperatūrā, un tas jāizlieto 3 mēnešu laikā.

Pierakstiet konjugāta sagatavošanas datumu.

- Darba koncentrācijas konjugāts jāizlieto 6 stundu laikā pēc sagatavošanas.
- Darba koncentrācijas mazgāšanas buferšķīdumu var glabāt istabas temperatūrā maksimāli 2 nedēļas.
- Mikroplates strēmeliņas ir paredzētas vienreizējai lietošanai. Nelietotas strēmeliņas var izņemt no plates rāmja un noglabāt turpmākai lietošanai.

Paraugu materiālu uzglabāšana un lietošana

Detalizētu informāciju par QFT-Plus testa paraugu ņemšanas darbplūsmu skatiet *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes lietošanas instrukcijās* (1123668).

Protokols: ELISA analīzes veikšana

Svarīga informācija pirms darba sākšanas

Sagatavošana (analīzes veikšanai nepieciešamais laiks)

- Lai varētu iegūt derīgus QFT-Plus analīzes rezultātus, operatoram ir jāveic konkrēti uzdevumi norādītajā laikā. Pirms analīzes lietošanas operatoram ieteicams rūpīgi izplānot katru analīzes posmu, lai būtu pietiekami daudz laika katra posma izpildei. Nepieciešamā laika aprēķini ir sniegti tālāk, norādot arī vairāku paraugu testēšanai nepieciešamo laiku.
 - Vienai ELISA analīzes platei apmēram 3 stundas
 - <1 stunda darba
 - Pieskaitiet 10–15 minūtes par katru papildu plati

IFN- γ ELISA

- Informāciju par materiāliem, kuri nepieciešami ELISA analīzes veikšanai, skatiet šeit: “Komplekta saturs” 11. lpp. un “Nepieciešamie, bet komplektā neietvertie materiāli” 13. lpp.

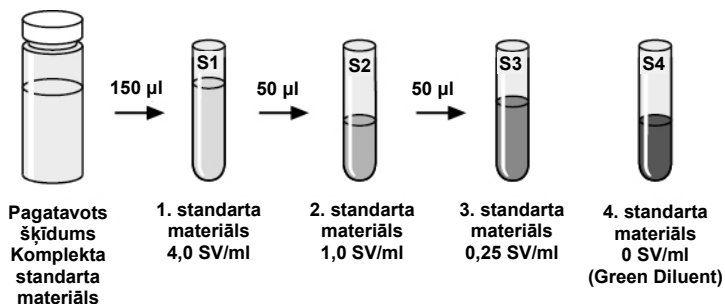
Procedūra

1. Visi plazmas paraugi un reaģenti, izņemot konjugāta 100x koncentrātu, pirms lietošanas jāsasilda līdz istabas temperatūrai ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$). Nepieciešamās temperatūras sasniegšanai jāatvēl vismaz 60 minūtes.
2. Izņemiet no rāmja ELISA testa strēmeliņas, kuras nav nepieciešamas, ielieciet tās atpakaļ atplēšamajā folijā maisiņā, un līdz lietošanai glabājiet ledusskapī.

3. Iedaliet vismaz 1 strēmeli QFT-Plus standarta materiāliem un pietiekamu strēmelišu skaitu testējamiem pacientiem (informāciju par ieteicamo strēmelišu formātu skat. 2. att.). Pēc izmantošanas rāmi un vāku saglabājiet lietošanai ar atlikušajām strēmelišiem.
- 3a. Atšķaidiet INF- γ standarta materiālu ar dejonizēta vai destilēta ūdens tilpumu, kas norādīts uz flakona etiķetes. Uzmanīgi samaisiet, lai samazinātu putu veidošanos un nodrošinātu, ka viss flakona saturs ir izšķīdies. Atšķaidot pareizu IFN- γ standarta materiāla tilpumu, tiek iegūts šķīdums, kura koncentrācija ir 8,0 SV/ml.
- 3b. Izmantojot atšķaidīto standarta materiālu, sagatavojiet 4 IFN- γ koncentrāciju atšķaidījumu (skat. 1. att.).
- 3c. Nepieciešams ģenerēt standarta līkni ar šādām IFN- γ koncentrācijas vērtībām:
- S1 (1. standarta materiāls) satur 4,0 SV/ml
 - S2 (2. standarta materiāls) satur 1,0 SV/ml
 - S3 (3. standarta materiāls) satur 0,25 SV/ml
 - S4 (4. standarta materiāls) satur 0 SV/ml (tikai zaļais atšķaidītājs [GD]).
- 3d. Standarta materiālu analīze jāveic vismaz divas reizes.
- 3e. Katrai ELISA analīzes sesijai sagatavojiet svaigus komplekta standarta atšķaidījumus.

Procedūra

A	Marķējiet 4 stobriņus: S1, S2, S3, S4.
B	Pievienojiet 150 μ l GD stobriņā S1, S2, S3, S4.
C	Pievienojiet 150 μ l komplekta standarta materiāla stobriņā S1 un rūpīgi samaisiet.
D	Pārnēsiet 50 μ l no stobriņa S1 uz stobriņu S2 un rūpīgi samaisiet.
E	Pārnēsiet 50 μ l no stobriņa S2 uz stobriņu S3 un rūpīgi samaisiet.
F	Trū GD var izmantot kā nulles standarta stobriņu (S4).



1. attēls. Standarta līknes atšķaidīšanas sērijām sagatavošana.

4. Atšķaidiet liofilizēta konjugāta 100x koncentrātu ar 0,3 ml dejonizēta vai destilēta ūdens. Uzmanīgi samaisiet, lai samazinātu putu veidošanos un nodrošinātu, ka viss flakona saturs ir izšķīdis.
 - 4a. Darba koncentrācijas konjugātu sagatavo, atšķaidot nepieciešamo atšķaidītā konjugāta 100x koncentrāta daudzumu ar zaļo atšķaidītāju (1. tabula).
 - 4b. Darba koncentrācijas konjugāts jāizlieto 6 stundu laikā pēc tā sagatavošanas.
 - 4c. Neizlietoto konjugāta 100x koncentrātu uzreiz pēc lietošanas ievietojiet 2–8 °C temperatūrā.

1. tabula. Konjugāta sagatavošana (darba koncentrācija)

Strēmeliņu skaits	Konjugāta tilpums (100x koncentrāts)	Zaļā atšķaidītāja tilpums
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. Izmantojot plazmas paraugus, kuri ir iegūti no asins paraugu ņemšanas stobriņiem un pēc tam glabāti (atdzesētā vai sasaldētā veidā), pirms iepildīšanas ELISA iedobē rūpīgi samaisiet glabātos paraugus. Plazmas paraugus var glabāt centrifugētos stobriņos QFT-Plus Blood Collection Tubes maksimāli 28 dienas 2–8 °C temperatūrā. Atdalītos plazmas paraugus var glabāt maksimāli 28 dienas 2–8 °C temperatūrā. Atdalītos plazmas paraugus var arī ilgstoši glabāt temperatūrā, kas ir zemāka par –20 °C (ieteicams nepārsniegt –70 °C temperatūru).

Plazmas paraugus var iepildīt/izmantot tieši no centrifugētiem asins paraugu ņemšanas stobriņiem, lai veiktu mērījumus QFT-Plus ELISA platē.

Svarīgi! Ja plazmas paraugus ir paredzēts pārnest tieši no centrifugētiem stobriņiem QFT-Plus Blood Collection Tubes, plazmu nav ieteicams samaisīt. Vienmēr ievērojiet piesardzību, lai nepieskartos materiālam uz gela virsmas.

6. Iepildiet 50 µl tikko sagatavotā darba koncentrācijas konjugāta katrā ELISA plates iedobē.
7. Iepildiet 50 µl testa plazmas parauga atbilstošajās iedobēs, (ieteicamo ELISA plates izkārtojumu skat. 2. att.).

8. Visbeidzot iepildiet 50 µl no 1.–4. standarta materiāla atbilstošajās plates iedobēs (ieteicamo ELISA plates izkārtojumu skat. 2. att.). Standarta materiālu analīzi vajadzētu veikt vismaz divas reizes.

	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. attēls. Ieteicamais ELISA plates izkārtojums. S1 (1. standarta materiāls), S2 (2. standarta materiāls), S3 (3. standarta materiāls), S4 (4. standarta materiāls). 1N (1. paraugs. Nil Control plazma), 1 TB1 (1. paraugs. TB1 plazma), 1 TB2 (1. paraugs. TB2 plazma), 1M (1. paraugs. Mitogen plazma).

9. Pārklājiet ELISA plati un 1 minūti rūpīgi maisiet konjugātu un plazmas paraugus/standarta materiālus mikroplašu kratītājā ar ātrumu 500–1000 apgr./min. Izvairieties no izšļakstīšanās.
10. Pārklājiet ELISA plati un inkubējiet 120 ± 5 minūtes istabas temperatūrā (22 °C ± 5 °C). Inkubācijas laikā ELISA plati nedrīkst pakļaut tiešai saules staru iedarbībai. Novirzes no norādītā temperatūras diapazona var izraisīt kļūdainus rezultātus.
11. ELISA plates inkubācijas laikā sagatavojiet darba koncentrācijas buferšķīdumu. Atšķaidiet un rūpīgi samaisiet vienu daļu mazgāšanas buferšķīduma 20x koncentrāta ar 19 daļām dejonizēta vai destilēta ūdens. Komplektā ir iekļauts tāds daudzums mazgāšanas buferšķīduma 20x koncentrāta, kas ir pietiekams 2 litru darba koncentrācijas mazgāšanas buferšķīduma sagatavošanai.
12. Kad ELISA plates inkubācija ir pabeigta, mazgājiet ELISA plates iedobes ar 400 µl darba koncentrācijas mazgāšanas buferšķīduma. Izpildiet mazgāšanas darbību vismaz 6 reizes. Rīkojoties ar plazmas paraugiem, drošības nolūkā ir ieteicams lietot automātisku plates mazgāšanas ierīci.

Rūpīga mazgāšana ir ļoti svarīgs analīzes darbības kritērijs. Pārbaudiet, vai katrā mazgāšanas ciklā visas iedobes ir pilnībā aizpildītas ar mazgāšanas buferšķīdumu līdz iedobes augšējai malai. Starp katru ciklu ieteicams vismaz 5 sekunžu mērcēšanas periods.

Notekūdeņu uzkrāšanas tvertnē jāpievieno standarta laboratorijas dezinfekcijas līdzeklis, kā arī jāievēro spēkā esošie noteikumi par iespējami infekcioza materiāla dekontamināciju.

13. Piesitiet ar otrādi apgrieztu ELISA plati pie virsmas ar absorbējošu dvieli (bezplūksnu), lai atbrīvotos no liekā mazgāšanas buferšķīduma. Iepildiet 100 µl enzīmu substrāta šķīduma katrā plates iedobē, pārklājiet plati un rūpīgi samaisiet mikroplašu kratītājā 1 minūti ar ātrumu 500–1000 apgr./min.
14. Pārklājiet ELISA plati un inkubējiet 30 minūtes istabas temperatūrā ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$). Inkubācijas laikā ELISA plati nedrīkst pakļaut tiešai saules staru iedarbībai.
15. Pēc 30 minūšu inkubācijas perioda katrā plates iedobē iepildiet 50 µl enzīmu substrāta šķīduma tādā pašā secībā, kādā tika iepildīts substrāta šķīdums, un rūpīgi maisiet mikroplašu kratītājā ar ātrumu 500–1000 apgr./min.
16. Ar mikroplates datu nolasītāju, kurš aprīkots ar 450 nm filtru un 620–650 nm atsauces filtru, 5 minūšu laikā pēc reakcijas pārtraukšanas izmēriet optisko blīvumu (OB) katrā ELISA plates iedobē. Rezultātu aprēķināšanai izmanto OB vērtības.

Rezultāti (aprēķini)

Lai analizētu neapstrādātos datus un aprēķinātu rezultātus, var izmantot programmatūru QFT-Plus Analysis Software. Tā ir pieejama vietnē www.qiagen.com. Obligāti izmantojiet QFT-Plus Analysis Software jaunāko versiju.

Programmatūra veic analīzes kvalitātes kontroles novērtējumu, izveido standarta līkni un nodrošina testa rezultātu katram pacientam, kā sīkāk aprakstīts šeit: “Rezultātu interpretācija” 30. lpp. Programmatūra uzrāda visas koncentrācijas, kuras pārsniedz 10 SV/ml, kā “>10”, jo šādas vērtības ir zemākas par apstiprināto ELISA lineāro diapazonu.

Programmatūras QFT-Plus Analysis Software izmantošanas alternatīva ir rezultātu noteikšana, izmantojot tālāk aprakstīto paņēmienu.

Standarta līknes un parauga vērtību ģenerēšana

Ja programmatūra QFT-Plus Analysis Software netiek izmantota

Ja programmatūru QFT-Plus Analysis Software neizmantojat, standarta līknes un parauga SV/ml vērtību noteikšanai nepieciešama izklājlapu programma, piemēram, Microsoft® Excel®.

Izklājlapas programmas izmantošana

1. Nosakiet komplekta standarta materiāla atkārtojumu vidējās OB vērtības katrā platē.
2. Izveidojiet standarta līkni $\log_{(e)}-\log_{(e)}$, diagrammā iekļaujot vidējo OB vērtību $\log_{(e)}$ (y ass) attiecību pret standarta materiālu koncentrāciju IFN- γ $\log_{(e)}$, kas izteikta ar SV/ml (x ass), neiekļaujot aprēķinos standarta nulles vērtību. Ar regresijas analīzi aprēķiniet līniju, kas vislabāk atbilst standarta līknei.

- Lietojiet standarta līkni, lai noteiktu IFN- γ koncentrāciju (SV/ml) katram analīzes plazmas paraugam, izmantojot katra parauga OB vērtību.
- Šos aprēķinus var veikt, izmantojot mikroplātes datu nolasītājiem pieejamās programmatūras paketes, kā arī standarta izklājlapu vai statistikas programmatūru (piemēram, Microsoft Excel). Šādas paketes ieteicams izmantot regresijas analīzes aprēķiniem, kā arī standartu variācijas koeficienta (%VK) un standarta līknes korelācijas koeficienta (r) aprēķināšanai.

Parauga rādītāju aprēķināšana

Ja standarta materiāliem ir iegūti tālāk norādītie OB rādītāji, aprēķini, izmantojot $-\log(e)$, būs līdzīgi aprēķiniem, kas norādīti 2. tabulā.

2. tabula. Standarta līkne

Standarta materiāls	SV/ml	OB vērtība a un b	Vidējā OB vērtība	%VK	Log _(e) SV/ml	Vidējā log _(e) vērtība (OB)
1. standarta materiāls	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
2. standarta materiāls	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
3. standarta materiāls	0,25	0,114, 0,136	0,125	NA	-1,386	-2,079
4. standarta materiāls	0	0,034, 0,037	0,036	NA	NA	NA

Līknes izteiksme ir šāda $y = 0,7885(X) - 0,9837$, kur "m" = 0,7885 un "c" = -0,9837. Šīs vērtības izmanto izteiksmē $X = (Y-c)/m$, lai aprēķinātu X. Saskaņā ar standarta līkni aprēķinātais korelācijas koeficients (r) = 1,000. NA: Neattiecas.

Analīzes derīgumu nosaka, izmantojot kritērijus, kuri norādīti šeit: "Testa kvalitātes kontrole" 28. lpp.

Standarta līkni (2. tabula) izmanto, lai pārvērstu antigēna OB atbildes reakcijas vērtību starptautiskās mērvienībās (SV/ml).

3. tabula. Parauga rādītāju aprēķināšana

Antigēns	OB vērtība	Log _(e) OB vērtība	X	e ^X (SV/ml)	Antigēns – Nil (SV/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 un Mitogen aprēķinātās IFN- γ vērtības (izteiktas ar SV/ml) tiek koriģētas pēc fona, atņemot SV/ml vērtību, kura iegūta attiecīgajai Nil kontrolei. Šīs koriģētās vērtības izmanto testa rezultātu interpretācijai.

Testa kvalitātes kontrole

Testa rezultātu precizitāte ir atkarīga no precīzas standarta līknes izveides. Tādēļ pirms testa paraugu rezultātu interpretācijas jāpārbauda no standarta materiāliem atvasinātie rezultāti.

Lai ELISA analīze būtu derīga:

- Vidējai 1. standarta materiāla OB vērtībai jābūt $\geq 0,600$.
- 1. un 2. standarta materiāla atkārtojuma OB vērtības %VK jābūt $\leq 15\%$.
- 3. un 4. standarta atkārtojumu OB vērtību variācija nedrīkst būt lielāka par 0,040 optiskā blīvuma vienībām, salīdzinot ar to vidējo vērtību;
- no standartu vidējām absorbcijas vērtībām aprēķinātajam korelācijas koeficientam (r) jābūt $\geq 0,98$.
- Ja iepriekš minētie kritēriji nav izpildīti, analīze nav derīga un ir jāatkārto.
- Vidējai nulles standarta materiāla (zaļais atšķaidītājs) OB vērtībai jābūt $\leq 0,150$. Ja vidējā OB vērtība ir $>0,150$, jāpārbauda plates mazgāšanas procedūra.

Programmatūra QFT-Plus Analysis Software aprēķina šos kvalitātes kontroles parametrus un sniedz par tiem atskaites.

Katrai laboratorijai vajadzētu noteikt piemērotos kontroles materiālu veidus un testēšanas biežumu saskaņā ar vietējo, valsts, federālo vai citu attiecīgo akreditācijas organizāciju noteikumiem. Jāapsver ārēju kvalitātes novērtēšanas un citu validācijas procedūru izmantošana.

Piezīme. Ja ar rekombinantu IFN- γ papildinātu plazmu glabā vai nu 2–8 °C, vai –20 °C temperatūrā, ir konstatēta koncentrācijas samazināšanās līdz 50%. Kontroles standartu noteikšanai plazmas paraugos nav ieteicams rekombinants IFN- γ .

Rezultātu interpretācija

QFT-Plus rezultātu interpretācijai izmanto tālāk norādītos kritērijus (4. tabula).

Svarīgi! Lai diagnosticētu vai izslēgtu saslimšanu ar tuberkulozi un novērtētu LTBI iespējamību, ir nepieciešami kombinēti izmeklējumi, veicot epidemioloģisko, pacienta vēstures, medicīnisko un diagnostisko izpēti, un šie rezultāti jāņem vērā, interpretējot QFT-Plus rezultātus. Skatiet vispārīgus norādījumus par TB slimības un LTBI diagnozi un ārstēšanu:

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

4. tabula. QFT-Plus testa rezultātu interpretācija

Nil (SV/ml)	TB1 mīnus Nil (SV/ml)	TB2 mīnus Nil (SV/ml)	Mitogen st. mīnus Nil st. (SV/ml)*	QFT-Plus rezultāts	Pārskats/interpretācija
≤8,0	≥0,35 un ≥25% no Nil vērtības	Jebkāds	Jebkāds	Pozitīvs [†]	<i>M. tuberculosis</i> infekcija ir ticama
	Jebkāds	≥0,35 un ≥25% no Nil vērtības			
	<0,35 vai ≥0,35 un <25% no Nil	<0,35 vai ≥0,35 un <25% no Nil	≥0,50	Negatīvs	<i>M. tuberculosis</i> infekcija NAV ticama
	<0,35 vai ≥0,35 un <25% no Nil	<0,35 vai ≥0,35 un <25% no Nil	<0,50	Nenoteikts [‡]	<i>M. tuberculosis</i> infekcijas ticamību nevar noteikt
> 8,0 [§]	Jebkāds				

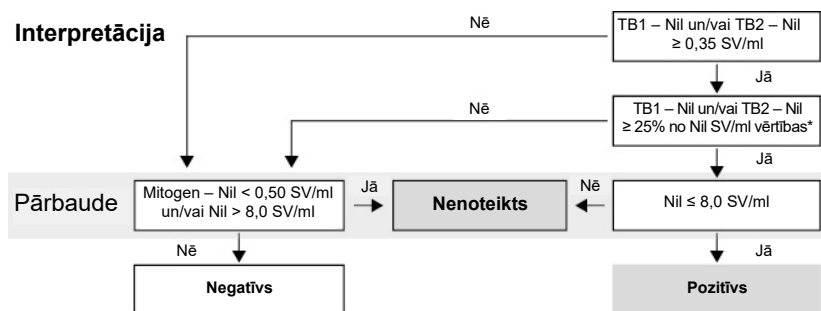
* Atbildes reakcijas uz Mitogen pozitīvo kontroli (un palaikam — TB antigēniem) var neatbilst mikroplates lasītāja diapazonam. Tas noietekmē testa rezultātus. QFT-Plus programmatūras vērtības > 10 SV/ml uzrāda kā > 10 SV/ml.

[†] Ja nav aizdomu par *M. tuberculosis* infekciju, sākotnēji pozitīvos rezultātus var apstiprināt, veicot atkārtotu oriģinālo plazmas paraugu dubultu testēšanu QFT-Plus ELISA komplektā. Ja viena vai abu atkārtojumu atkārtotas testēšanas rezultāts ir pozitīvs, testa rezultāts tiek uzskatīts par pozitīvu.

[‡] Iespējamus iemeslus skatiet šeit: "Norādījumi par problēmu novēršanu" 66. lpp.

[§] Klīniskajos pētījumos mazāk nekā 0,25% pētāmo personu ar Nil vērtību > 8,0 SV/ml bija IFN-γ koncentrācija.

Noteiktā IFN- γ lielumu nevar korelēt ar infekcijas pakāpi jeb smagumu, imūnreakcijas līmeni vai aktīvās slimības progresēšanas iespējamību. Pozitīva atbildes reakcija uz TB pacientiem, kam ir negatīva atbildes reakcija uz Mitogen, ir reta, tomēr tā ir novērota pacientiem ar TB slimību. Tas norāda, ka IFN- γ atbildes reakcija uz TB antigēniem ir lielāka nekā uz Mitogen, kas ir iespējams, jo Mitogen līmenis nevar maksimāli stimulēt IFN- γ veidošanu limfocītos.



3. attēls. QFT-Plus testa interpretācija. * Lai TB1 mīnus Nil vai TB2 mīnus Nil stobriņa vērtība būtu derīga, $\geq 25\%$ Nil stobriņa SV/ml vērtības jābūt no tā paša stobriņa, no kura iegūts oriģinālais $\geq 0,35$ SV/ml rezultāts.

Ierobežojumi

QFT-Plus testā iegūtie rezultāti ir jāinterpretē kopā ar pacienta individuālo epidemioloģisko vēsturi, pašreizējo veselības stāvokli un citiem diagnostiskiem izmeklējumiem.

To pacientu rezultāts, kuriem Nil vērtības pārsniedz 8 SV/ml, tiek klasificēts kā “nenoteikts”, jo par 25% augstāka reakcija TB antigēniem var būt ārpus analīzes mērījumu diapazona.

- Pozitīva QFT-Plus rezultāta prognozes vērtība, diagnosticējot *M. tuberculosis* infekciju, ir atkarīga no infekcijas iespējamības, ko novērtē atbilstoši vēsturiskajai, epidemioloģiskajai, diagnostikas un cita veida informācijai.
- Lai varētu noteikt LTBI diagnozi, saslimšana ar tuberkulozi ir jāizslēdz, veicot medicīnisku novērtējumu, tostarp slimības pašreizējo medicīnisko un diagnostikas testu novērtējumu atbilstoši indikācijām.
- Negatīvs rezultāts ir jāskata kopā ar pacienta medicīniskajiem datiem un slimības vēsturi, kas attiecas uz *M. tuberculosis* infekcijas iespējamību un iespējamu tuberkulozes attīstības risku, it īpaši personām ar imūnsistēmas funkcijas traucējumiem.

Neuzticamu un nenoteiktu rezultātu iemesli var būt šādi:

- Lietošanas pamācībā aprakstīto procedūru neievērošana
- Nepareiza asins parauga materiālu transportēšana/lietošana
- Paaugstināta cirkulējošā IFN- γ vai heterofilo antivielu klātbūtnes koncentrācija
- Pārsniegts apstiprinātais asins parauga apstrādes laiks no asins parauga ņemšanas līdz inkubācijai. Skatiet *Stobriņu QFT-Plus Blood Collection Tubes lietošanas instrukcijas* (1123668).

Veiktspējas raksturojums

Klīniskie pētījumi

Tā kā LTBI diagnozes apstiprināšanai vai izslēgšanai nav noteikta standarta testa, QFT-Plus jutīgumu un specifiskumu nevar praktiski novērtēt. QFT-Plus specifiskums tika noteikts aptuveni, izvērtējot nepatīsi pozitīvo vērtību rādītājus pacientiem ar zemu tuberkulozes infekcijas risku (bez zināmiem riska faktoriem). Jutīgums tika noteikts aptuveni, izvērtējot pētījuma pacientu grupas ar kultūras apstiprinātu aktīvu saslimšanu ar tuberkulozi. Analīzes efektivitāte tika papildus novērtēta attiecībā uz pozitīvu un negatīvu rezultātu koeficientu tādu veselu subjektu populācijā, kuriem noteikti tuberkulozes infekcijas riski (jaukta riska populācija).

Specifiskums

Tika veikts daudzcentru pētījums, kurā novērtēts QFT-Plus klīniskais specifiskums; pētījumā piedalījās 733 subjekti, kuri bija pakļauti mazam *M. tuberculosis* infekcijas riskam vai bija bez riska faktoriem attiecībā uz infekcijas vai slimības iedarbību. Demogrāfiskā informācija un TB saskares riska faktori tika noteikti standarta aptaujā testēšanas laikā. Pētījumu veica četros neatkarīgos centros, tostarp viens centrs atradās Amerikas Savienotajās Valstīs, divi centri atradās Japānā un viens centrs atradās Austrālijā. QFT-Plus tests tika salīdzināts ar QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT) testu. Klīniskā specifiskuma veiktspējas datu kopsavilkums, kas stratificēts atbilstoši pētījuma centriem un reģioniem, ir sniegts 5. tabulā. Veiktspējas rezultātu pamatā ir derīgo testu kopskaits. Nenoteiktu rezultātu nebija.

5. tabula. QFT-Plus specifiskums zema riska populācijā

Centrs	N	Pozitīvs		Negatīvs		Nenoteikts		Specifiskums (95% TI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
Amerikas Savienotās Valstis									
(#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)
Japāna									
(#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)
Kopā Japānā	322	4	7	318	315	0	0	98,76% (318/322) (96,85– 99,52)	97,83% (315/322) (95,6– 98,9)
Austrālija									
(#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 specifiskums bija 98,11% ASV, 97,83% Japānā un 95,48% Austrālijā. QFT-Plus kopējais specifiskums bija 97,27% (713/733). QFT specifiskums bija 99,06% ASV, 98,76% Japānā un 95,98% Austrālijā. QFT kopējais specifiskums bija 98,09% (719/733).

Ir parādīts rezultātu sadalījums pēc TB antigēnu stobriņa veida un to kombinācijām, lai demonstrētu paredzamo rezultātu piemēru zema riska populācijā (6. tabula).

6. tabula. QFT-Plus specifiskuma pētījuma rezultāti pēc TB antigēnu stobriņa

Interpretācija atbilstoši TB antigēna Nil SV/ml	TB1	TB2	QFT-Plus (pozitīvs atbilstoši TB1 un/vai TB2)*	Atbilstīgi pozitīvs TB1 un TB2 (alternatīvā analīze)†
Pozitīvs	10	18	20	8
Negatīvs	723	715	713	725
Nenoteikts	0	0	0	0
Specifiskums (95% TI)	–	–	97,3% (713/733) (95,8–98,2)	–
Negatīvu rezultātu koeficients (95% TI)	98,6% (723/733) (97,5–99,3)	97,5% (715/733) (96,2–98,4)	–	98,9% (725/733) (97,9–99,5)

* Interpretācija, pamatojoties uz TB antigēna — Nil vērtību $\geq 0,35$ SV/ml abos (TB1 un TB2) vai jebkurā TB stobriņā, lai nodrošinātu atbilstību QFT-Plus (TB1 vai TB2) pozitīva rezultāta interpretācijas kritērijiem.

† Alternatīvā analīze paredzēta tikai informatīviem nolūkiem.

Subjektu populācijā ar zemu TB infekcijas risku pozitīvs rezultāts tika iegūts kopā 20 no 733 subjektiem. No šiem subjektiem tikai 8 atgriezās $> 0,35$ SV/ml vērtību TB1 un TB2 stobriņā. Zema riska pētījuma grupā tika salīdzināta QFT un QFT-Plus analīze un tika noteikta kopējā atbilstība 97,5% (715/733) un negatīvā procentuālā sakritība 98,3% (707/719).

Juūtīgums

Lai gan nav galīga standarta testa LTBI noteikšanai, piemērots aizstājējs ir *M. tuberculosis* mikrobioloģiskā kultūra, jo TB infekcija ir obligāts slimības prekursors.

Tika veikts daudzcentru pētījums, kurā vērtēts QFT-Plus klīniskais jutīgums; pētījumā piedalījās 434 subjekti, kuriem bija aktīvas *M. tuberculosis* slimības pazīmes un simptomi, kas apstiprināti ar kultūru un/vai PQR, un kuri nesaņēma TB ārstēšanu vai nebija saņēmuši

ārstēšanu ≤ 14 dienas pirms asins paņemšanas. Pētījumu veica 7 neatkarīgos centros, tostarp trīs centri atradās Amerikas Savienotajās Valstīs, trīs centri atradās Japānā, un viens centrs atradās Austrālijā. QFT-Plus tests tika salīdzināts ar QuantiFERON-TB Gold in Tube (QFT) testu. Klīniskā jutīguma veikspējas datu kopsavilkums, kas stratificēts atbilstoši pētījuma centriem un valstīm, ir sniegts 7. tabulā. Veikspējas rezultātu pamatā ir derīgo testu kopskaits. QFT un QFT-Plus nenoteikto rezultātu biežums bija attiecīgi 2,3% (10/434) un 2,5% (11/434).

7. tabula. Klīniskā jutīguma pētījuma veikspējas kopsavilkums, kas stratificēts pēc centra un valsts, un kopējais rezultāts

Centrs	N	Pozitīvs		Negatīvs		Nenoteikts		Jutīgums (95% TI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
Amerikas Savienotās Valstis									
(#1) USA-5	15	13	13	2	2	0	0	86,67% (13/15) (62,12– 96,26)	86,67% (13/15) (62,12– 96,26)
(#2) USA-1	33	29	29	4	4	0	0	87,88% (29/33) (72,67– 95,18)	87,88% (29/33) (72,67– 95,18)
(#3) USA-4	5	5	5	0	0	0	0	100,0% (5/5) (56,55– 100,0)	100,0% (5/5) (56,55– 100,0)
Kopā Amerikas Savienotajās Valstīs	53	47	47	6	6	0	0	88,7% (47/53) (77,4– 94,7)	88,7% (47/53) (77,4– 94,7)
Japāna									
(#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)

Tabulas turpinājums nākamajā lappusē

Tabulas turpinājums no iepriekšējās lappuses

7. tabula. Klīniskā jutīguma pētījuma veikspējas kopsavilkums, kas stratificēts pēc centra un valsts, un kopējais rezultāts (turp.)

Centrs	N	Pozitīvs		Negatīvs		Nenoteikts		Jutīgums (95% TI)	
		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)
Kopā Japānā	352	328	322	15	19	9	11	95,63% (328/343) (92,91– 97,33)	94,43% (322/341) (91,5–96,4)
Austrālija									
(#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)

Augstāk esošajā tabulā aprakstītajā analizē nav ietverti nenoteiktie rezultāti.

QFT-Plus jutīgums bija 88,7% ASV, 94,43% Japānā un 100,0% Austrālijā. QFT-Plus kopējais jutīgums bija 94,09% (398/423). QFT jutīgums bija 88,7% ASV, 95,63% Japānā un 96,43% Austrālijā. QFT kopējais jutīgums bija 94,81% (402/424).

Ir parādīts rezultātu sadalījums pēc TB antigēnu stobriņa veida un stobriņu kombinācijām, lai demonstrētu paredzamo rezultātu piemēru ar TB inficētu subjektu populācijā (8. tabula).

8. tabula. QFT-Plus jutīguma pētījuma rezultāti pēc TB antigēna stobriņa

Interpretācija atbilstoši TB antigēna Nil SV/ml	TB1	TB2	QFT-Plus (pozitīvs atbilstoši TB1 un/vai TB2)
Pozitīvs	388	397	398
Negatīvs	32	26	25
Nenoteikts	14	11	11
Juīgums* (95% TI)	–	–	94% (398/423) (91,4–96,0)
Pozitīvu rezultātu koeficients* (95% TI)	92,4% (388/420) (89,4–94,6)	93,9% (397/423) (91,1–95,8)	–

* Nav iekļautas nenoteiktas vērtības.

Ar kultūru apstiprinātas aktīvas TB slimības grupā (juīguma pētījuma grupas) tika salīdzināta QFT un QFT-Plus analīze un tika noteikta kopējā atbilstība 95,9% un pozitīva procentuālā sakritība 97,3% (391/402).

9. tabula. QFT-Plus iespējamības koeficienti

Centrs*	Juīgums	Specifiskums	LR+	LR-
Austrālija	100,00%	95,48%	22,11	0,00
Japāna	94,43%	97,83%	43,44	0,06
Amerikas Savienotās Valstis	88,68%	98,11%	47,00	0,12

* Kopā

Veikspēja darbā ar subjektiem ar noteiktiem MTB infekcijas riska faktoriem (jaukta riska indivīdi)

Ar QFT un QFT-Plus testu tika novērtēta 601 subjekta grupa ar jauktiem TB infekcijas riska faktoriem (piemēram, pozitīvu HIV, aktīvas vai latentas TB ārstēšanas vēsturi, aktīva TB gadījuma iedarbību, HCW statusu un citiem faktoriem). Riska faktori tika noteikti, izmantojot standartizētu aptauju, un iesaistes brīdī subjektiem nebija ar aktīvu TB saistītu simptomu. Demogrāfiskie rādītāji un riska faktori ir aprakstīti 10. tabulā. Šajā populācijā 68/601 (11,3%) subjektiem bija pozitīvs QFT-Plus rezultāts, un pozitīva procentuālā sakritība (PPA) un negatīva procentuālā sakritība (NPA) bija attiecīgi 98,44% un 99,07% (11. tabula). Šajā grupā ar 68 subjektiem, kuri ieguva pozitīvu QFT-Plus rezultātu, kopā 62 subjekti ieguva pozitīvu rezultātu ar TB1 un TB2 stobriņiem, 2 subjekti ieguva pozitīvu rezultātu tikai ar TB1 stobriņu un 4 subjekti ieguva pozitīvu rezultātu tikai ar TB2 stobriņu. Nenoteikti rezultāti netika novēroti (0/601).

10. tabula. Demogrāfiskie rādītāji un ar TB infekcijas risku saistīti faktori jauktā grupā

Subjektu kopskaits (601)		Numurs	Procentuālā vērtība
Dzimums	Vīrieši	539	89,7%
	Sievietes	62	10,3%
Vecums (gadi)	Diapazons	18–70	–
	Vidējais	46,7	
BCG vakcinācija	Jā	15	2,5%
	Nē	586	97,5%
HIV pozitīvs vai tests ar pozitīvu HTLV vīrusu rezultātu	Jā	12	2,0%
	Nē	589	98%
Iepriekš diagnosticēta aktīva TB	Jā	11	1,8%
	Nē	590	98,2%
Tuberkulīna ādas tests (TST)/Mantoux tests uzrādījis pozitīvu TB rezultātu	Jā	47	7,8%
	Nē	554	92,2%
Ir saņemta aktīvas vai latentas TB ārstēšana	Jā	35	5,8%
	Nē	566	94,2%
Subjekts ir dzīvojis, strādājis vai brīvprātīgi uzturējies (> 1 mēnesi) cietumā vai ieslodzījuma vietā	Jā	373	62,1%
	Nē	228	37,9%
Subjekts ir dzīvojis, strādājis vai brīvprātīgi uzturējies (> 1 mēnesi) bezpajumtnieku patversmē	Jā	525	87,4%
	Nē	76	12,6%
Veselības aprūpes nozares darbinieks	Jā	8	1,3%
	Nē	593	98,7%
Ciešs kontakts ar aktīvas TB slimnieku vai personu, attiecībā uz kuru pastāv aizdomas par aktīvu TB saslimšanu	Jā	9	1,5%
	Nē	592	98,5%

11. tabula. QFT-Plus un QFT veikspējas salīdzinošais kopsavilkums subjektiem ar zināmiem latentas TB infekcijas riska faktoriem

		QFT		
		Pozitīvs (+)	Negatīvs (-)	Kopā
QFT-Plus	Pozitīvs (+)	63	5*	68
	Negatīvs (-)	1*	532	533
	Kopā	64	537	601

* Visos 6 pretrunīgajos paraugos IFN- γ līmenis TB antigēnu stobriņos bija tuvs analīzes robežvērtībai.

Tālāk aprakstīts QFT un QFT-Plus rezultātu pozitīvās procentuālās sakritības (Positive Percent Agreement — PPA) un negatīvās procentuālā sakritības (Negative Percent Agreement — NPA) salīdzinājums.

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

12. tabulā tālāk ir parādīta QFT-Plus veikspēja salīdzinājumā ar QFT testu pret BCG vakcinētiem pētījuma subjektiem.

12. tabula. QFT-Plus un QFT testa veikspējas salīdzinājums pret BCG vakcinētiem pētījuma subjektiem (kombinētie dati par jutīgumu, specifiskumu un LTBI pētījuma subjektiem)

		QFT		
		Pozitīvs (+)	Negatīvs (-)	Kopā
QFT-Plus	Pozitīvs (+)	66	5	71
	Negatīvs (-)	3	268	271
	Kopā	69	273	342*

* Divi jutīguma pētījuma subjekti tika izslēgti no analīzes nenoteiktu rezultātu dēļ

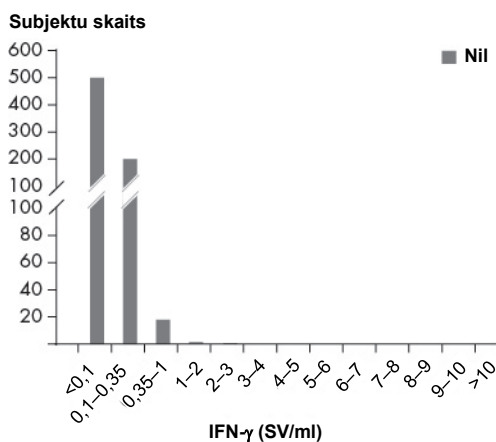
- PPA = 95,6% (66/69), 95% TI (87,98, 98,51)
- NPA = 98,2% (268/273), 95% TI (95,79, 99,22)

Sagaidāmās vērtības

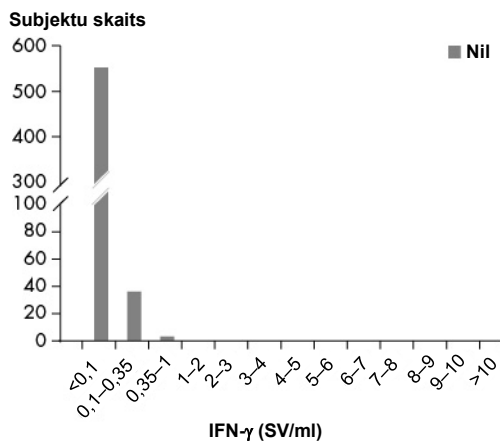
Novēroto atbildes reakciju sadalījums — stratificētas riska grupas

Klīniskos pētījumos tika novērots IFN- γ atbildes reakciju diapazons uz TB1, TB2 un kontroles stobriņiem un diapazons tika stratificēts pēc *M. tuberculosis* infekcijas riska (4.–7. attēls). Jaukta riska grupā ir pacienti, kas pārstāv vispārīgu testējamo populāciju, ietverot pacientus ar TB saskares riska faktoriem un bez tiem, un kurā visticamāk nav aktīvas TB (piemēram, LTBI).

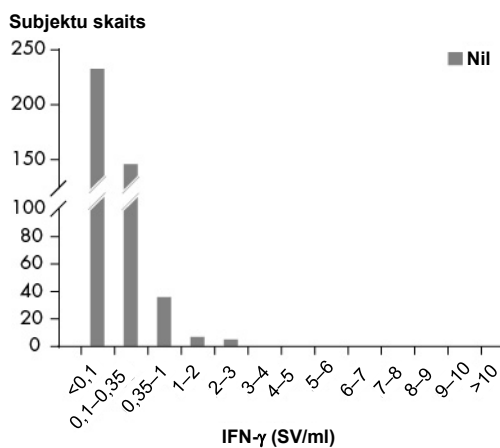
A



B

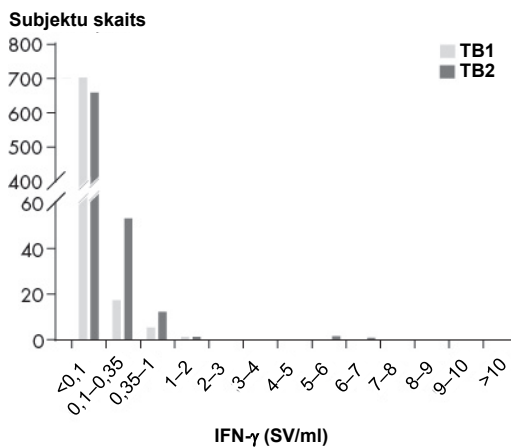


C

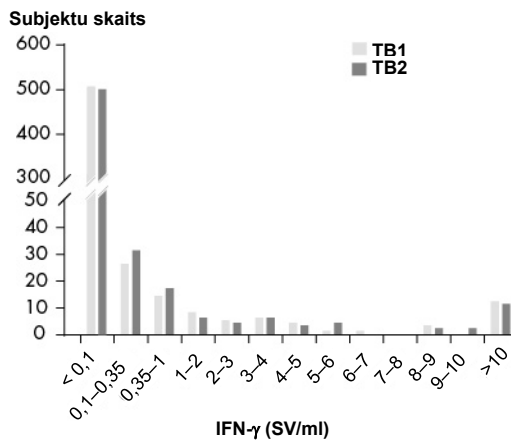


4. attēls. Nil stobriņa vērtību sadalījums. A Nil stobriņa vērtību sadalījums zema riska populācijā (n = 744). B Nil stobriņa vērtību sadalījums jaukta riska populācijā (n = 601). C Nil stobriņa vērtību sadalījums populācijā ar apstiprinātu kultūras *M. tuberculosis* infekciju (n=416).

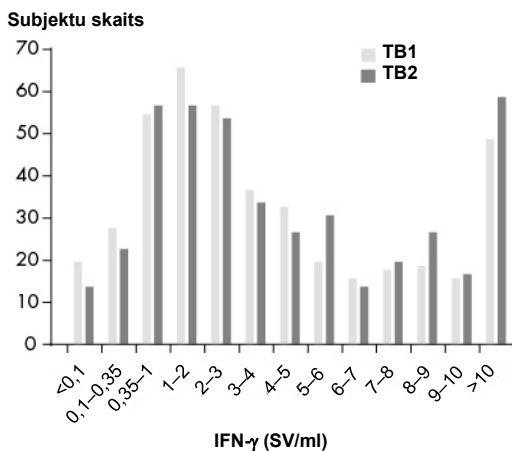
A



B

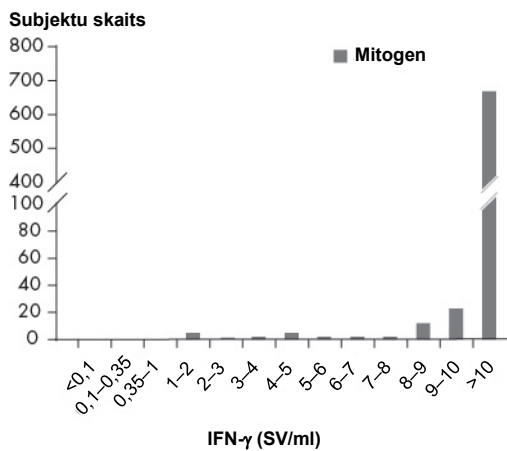


C

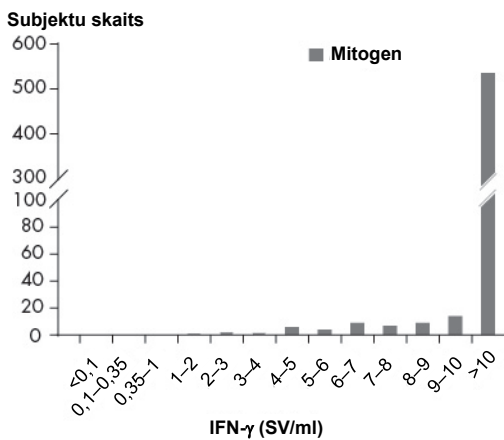


5. attēls TB1 un TB2 stobriņu vērtību sadalījums (Nil stobriņa vērtība atņemta). **A** TB1 un TB2 stobriņu vērtību sadalījums (Nil stobriņa vērtība atņemta) zema riska populācijā (n = 744). **B** TB1 un TB2 stobriņu vērtību sadalījums (Nil stobriņa vērtība atņemta) jaukta riska populācijā (n = 601). **C** TB1 un TB2 stobriņu vērtību sadalījums (Nil stobriņa vērtība atņemta) populācijā ar apstiprinātu kultūras *M. tuberculosis* infekciju (n=416).

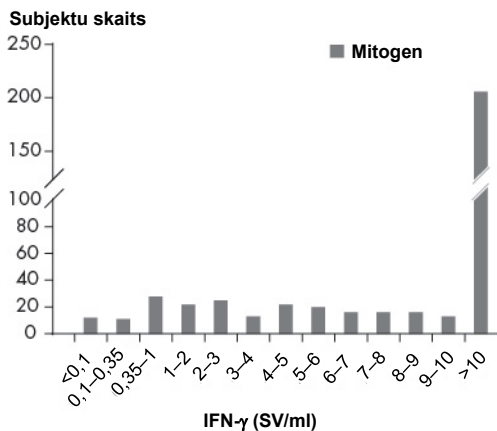
A



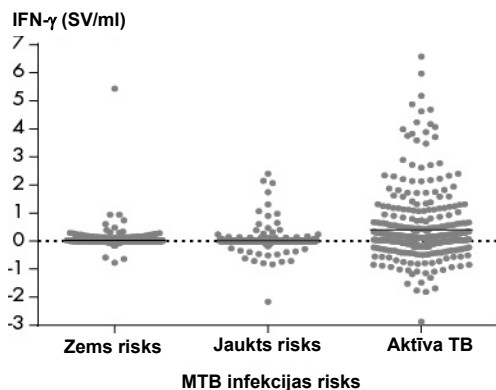
B



C



6. attēls Mitogen stobriņa vērtību sadalījums (Nil stobriņa vērtība atņemta). **A** Mitogen stobriņa vērtību sadalījums (Nil stobriņa vērtība atņemta) zema riska populācijā (n = 744). **B** Mitogen stobriņa vērtību sadalījums (Nil stobriņa vērtība atņemta) jaukta riska populācijā (n = 601). **C** Mitogen stobriņa vērtību sadalījums (Nil stobriņa vērtība atņemta) populācijā ar apstiprinātu kultūras *M. tuberculosis* infekciju (n=415).



7. attēls Novērotā atšķirība starp TB1 un TB2 stobriņu vērtībām (Nil stobriņa vērtība atņemta), stratificēta pēc riska grupām.

Ietver datus no jaukta riska grupas pētījuma, lai demonstrētu atšķirības starp zema riska, aktīva riska un jaukta riska grupām. Šajā datu analīzē ir ietverta jaukta riska grupa ar zināmiem riska faktoriem. Tādēļ zema riska grupā n=733, jaukta riska grupā n=588 un aktīvas TB grupā n=357. Katra subjekta SV/ml kvantitatīvā atšķirība tika noteikta, no TB2 vērtības atņemot TB1 vērtību.

Drošības un veiktspējas kopsavilkums

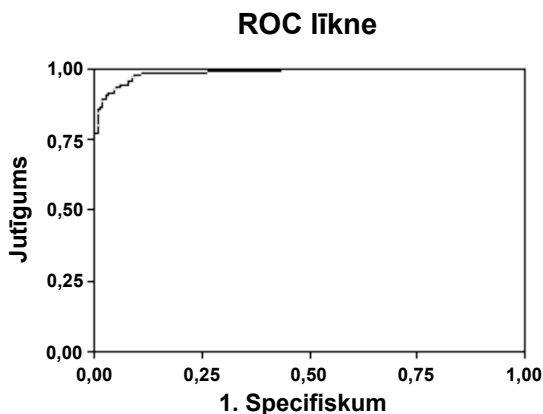
Drošības un veiktspējas kopsavilkums ir pieejams EUDAMED tīmekļa vietnē.

Analīzes veiktspējas raksturojums

Analītiskā veiktspēja

Analīzes robežvērtība

QFT-Plus analīzes robežvērtība tika noteikta, izmantojot datus no 216 subjektiem, kuriem nebija identificēti TB ietekmes riska faktori, kuri bija saņēmuši BCG vakcīnu un par kuriem tika pieņemts, ka subjektiem nav infekcijas, kā arī datus no 118 subjektiem ar kultūras apstiprinātu *M. tuberculosis* infekciju. Jūtīguma un specifiskuma dati tika kombinēti un analizēti, izmantojot uztvērēja darbības raksturlīknes (Receiver Operator Characteristic — ROC) analīzi. Jūtīguma un specifiskuma datu ROC analīze liecināja, ka ELISA optimālā robežvērtība ir 0,35 SV/ml (skat. 8. attēlu).



8. attēls. ESAT-6 un CFP-10 reakciju ROC līkne.

13. tabula ELISA jutīguma un specifiskuma vērtības pie dažādām robežvērtībām

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

Tabulas turpinājums nākamajā lappusē

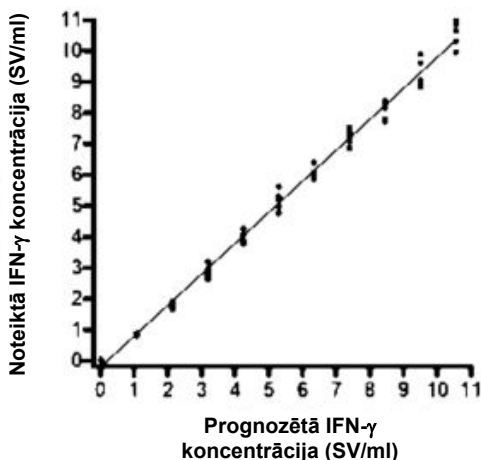
Tabulas turpinājums no iepriekšējās lappuses

13. tabula. ELISA jutīguma un specifiskuma vērtības pie dažādām robežvērtībām

Robežvērtības SV/ml IFN- γ	Jutīgums %	95% TI	Specifiskums %	95% TI	Jutīgums un specifiskums
0,47	85,59	77,94–91,38%	99,08	96,71–99,89%	184,67
0,48	84,75	76,97–90,70%	99,08	96,71–99,89%	183,83
0,50	83,90	76,00–90,02%	99,08	96,71–99,89%	182,98

Linearitāte

Ir pierādīts, ka analīzes QFT-Plus ELISA rezultāti ir lineāri, uz ELISA plates nejauši novietojot 11 plazmas pūlu 5 atkārtojumus ar zināmām IFNIFN- γ koncentrācijām. Lineārās regresijas līnijas slīpums ir $1,002 \pm 0,011$, un korelācijas koeficients ir 0,99 (9. att.).



9. attēls Linearitātes pētījuma regresijas analīzes attēls — augsta pūla vidējā vērtība = $-0,24 + 0,9964 \cdot \text{prognoze}$.

Atkārtojamība

Lai novērtētu QFT-Plus veikspēju dažādos pētījuma centros ar vairākiem operatoriem, tika veikts daudzcentru atkārtojamības pētījums. Tas bija prospektīvs pētījums, kas veikts trīs ārējos testēšanas centros un vienā vākšanas centrā. Kopā tika reģistrēti 32 pētījuma subjekti ar pozitīvu rezultātu un 34 pētījuma subjekti ar negatīvu rezultātu (noteikts ar QFT testu). Visi pētījuma subjekti bija veselības aprūpes nozares darbinieki Amerikas Savienotajās Valstīs. Pētījuma subjekti bija atbilstoši grupām ar jauktu TB ietekmes risku savas profesijas dēļ vai citā valstī dzimuši veselības aprūpes nozares darbinieki, kuru izcelsmes valstī TB saslimstība pārsniedz 50/100 000 iedzīvotāju.

No katra pētījuma subjekta paņēma paraugu trīs litija heparīna asins paraugu ņemšanas stobriņos. Pēc tam litija heparīna asins paraugu ņemšanas stobriņi tika nosūtīti uz trim testēšanas centriem, kur stobriņi tika alikvotēti divos QFT-Plus Blood Collection Tubes komplektos (QFT-Plus TB1, TB2, Mitogen un Nil) un pēc tam testēti atbilstoši QFT-Plus analīzes procedūrai. Katrā centrā ne mazāk kā divi operatori neatkarīgi veica divus testus katram pētījuma subjektam. Visiem operatoriem citu operatoru iegūtie rezultāti un QFT testa rezultāti pētījumā iesaistītajām pētāmajām personām bija maskēti.

Katrā no trim testēšanas centriem ieguva sešus rezultātus par katru no 66 pētījuma subjektiem, kopā iegūstot 396 datu punktus. Atkārtojamības pētījuma rezultātu kopsavilkums ir sniegts 14. tabulā.

14. tabula. Reproducējamības pētījuma rezultātu apkopojums. Kvalitatīvi noteikto rezultātu procentuālā (%) sakritība starp operatoriem vienā laboratorijā; N = 66 pacientu paraugi

1. centrs – 2 operatori	2. centrs – 2 operatori	3. centrs – 3 operatori
64/66 = 96,97%	64/66 = 96,97%	59/66 = 89,39%
1. stobriņu komplekta un 2. stobriņu komplekta kvalitatīvi noteikto rezultātu sakritība	1. stobriņu komplekta un 2. stobriņu komplekta kvalitatīvi noteikto rezultātu sakritība	1. stobriņu komplekta un 2. stobriņu komplekta kvalitatīvi noteikto rezultātu sakritība

Kvalitatīvi noteiktā procentuālā sakritība visos pētījuma centros ir 94,7% (375/396). Šajā aprēķinā sakritīgo testa rezultātu kopskaitā (375) ir iekļauti gadījumi, kad sakrīt visi 6 rezultāti, 5 no 6 rezultātiem, 4 no 6 rezultātiem un 3 no 6 rezultātiem (kopā).

Atkārtojamība ar dažādām partijām

Lai noteiktu stobriņu QFT-Plus Blood Collection Tubes dažādu partiju mainīgumu salīdzinājumā ar QFT stobriņiem, tika veikts pētījums. Kopā tika testēti 30 pētījuma subjekti (15 subjekti ar apstiprinātu pozitīvu TB un 15 pētījuma subjekti ar apstiprinātu negatīvu TB, kas noteikta ar QFT testu). Šajā pētījumā tika ietvertas trīs dažādas QFT-Plus TB1, TB2 un QFT TB Blood Collection Tubes stobriņu partijas. Testā veica trīs atkārtojumus ar katra subjekta katru asins parauga ņemšanas stobriņu partiju. Katrs Nil un Mitogen stobriņš tika testēts ar vienu atkārtojumu.

Katra subjekta asinis tika savāktas litija heparīna asins savākšanas stobriņos, un pēc tam 1 ml asiņu tika pārnesti vienā stobriņā QFT-Plus un QFT Blood Collection Tubes un testēti atbilstoši analīzes procedūrai. Katrā pozitīvajā un negatīvajā paraugu grupā stobriņa QFT-Plus rezultāti nebija ievērojami lielāki par QFT stobriņu rezultātu kopējo mainīgumu. Tas tika noteikts, izmantojot p vērtību, kas iegūta, veicot Levēna mainīguma viendabīguma (Homogeneity of Variance — HOV) testu. Ja p vērtība nebija nozīmīga ($p > 0,05$) un/vai QFT-Plus TB stobriņu mainīgums bija mazāks par QFT TB stobriņa mainīgumu, starp QFT-Plus un QFT TB stobriņiem pastāvēja mainīgums.

15. tabula. Stobriņu QFT-Plus un QFT TB Blood Collection Tubes mainīguma salīdzinājums, izmantojot Levēna HOV testu

Parauga veids	Atšķirība	Ietekme	Atkarība	p vērtība	Ievērojama
Pozitīvs	TB2 un QFT	Sub_Type	Atlikušais	0,0378	Jā
Pozitīvs	TB2 un QFT	Sub_Type	Atlikušais	0,0540	Nē
Negatīvs	TB2 un QFT	Sub_Type	Atlikušais	0,1025	Nē
Negatīvs	TB2 un QFT	Sub_Type	Atlikušais	0,6344	Nē

Stobriņu QFT-Plus un QFT TB Blood Collection Tubes mainīgums nebija ievērojams, izņemot stobriņu QFT-Plus TB2, testējot pozitīvus subjektus. Analizējot standartnovirzes aprēķinu, stobriņa QFT-Plus TB2 mainīgums bija mazāks (0,06089) par stobriņa QFT TB mainīgumu (0,07641), kā parādīts 16. tabulā. Tādēļ stobriņu QFT-Plus TB1 un TB2 Blood Collection Tubes mainīgums nebija lielāks par stobriņa QFT TB Blood Collection Tube mainīgumu.

16. tabula. Standartnovirze atlikušajai vērtībai un 95% ticamības intervālam pozitīviem subjektiem

Parauga veids	Subjekta veids	Aplēstā standartnovirze	95% LCL	95% UCL
Pozitīvs	QFT	0,07641	0,06826	0,08680
Pozitīvs	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Pozitīvs	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

Vienas partijas atkārtojamība

Tika veikts pētījums, lai novērtētu vienas QFT-Plus Blood Collection Tubes partijas atkārtojamību, salīdzinot IFN- γ koncentrāciju atkārtotā QFT-Plus TB Blood Collection Tubes asins paraugā.

Viena asins parauga, kas iegūts no vieniem un tiem pašiem subjektiem ar apstiprinātu TB infekciju, sešas alikvotās daļas tika izpildītas 6 atkārtotos asins vākšanas stobriņos no vienas partijas ar abiem stobriņiem QFT-Plus Tubes (TB1 un TB2). Tika testēti 13 subjekti. Tika aprēķināts katra donora un visu donoru %VK, lai noteiktu vidējo %VK, kā attēlots 17. tabulā.

17. tabula. Katra stobriņa QFT-Plus TB Blood Collection Tube vidējās vērtības, standartnovirzes, minimālās, mediānas un maksimālās vērtības %VK TB pozitīviem subjektiem

QFT-Plus Tube	Parauga lielums	Vidējais (%VK)	Standartnovirze	Minimālais	Mediāna	Maksimālais
TB1	13	13,31	6,88	4,17	12,87	29,56
TB2	13	13,04	7,48	4,86	10,75	29,44

Rezultāti liecināja, ka TB1 un TB2 vidējais %VK bija ~13%, kas atbilst $\leq 30\%$ pieņemamas vērtības kritērijiem un demonstrē vienas partijas atkārtamību.

Tukšo paraugu robežvērtība (Limit of Blank, LoB)

QFT-Plus analīzei aprēķināja tukšo paraugu robežvērtību (Limit of Blank, LoB). Testu ar 14 personu normālas cilvēka plazmas paraugu diviem atkārtajumiem, izmantojot QFT-Plus ELISA analīzes 2 partijas, veica 3 operatori vai 3 testēšanas dienās, vienam operatoram strādājot vienā testēšana dienā un kopā iegūstot 84 atkārtojumus ar katru ELISA komplekta partiju.

2 ELISA komplekta partiju LoB vērtības (SV/ml) aprēķināja atsevišķi, kā norādīts 18. tabulā

18. tabula. 2 QFT-Plus ELISA Kit komplekta partiju LoB vērtības (SV/ml)

QFT-Plus ELISA Kit	Aprēķinātā LoB (SV/ml)
1. komplekts	0,030
2. komplekts	0,040

Kā galīgo LoB vērtību abām QFT-Plus ELISA Kit komplekta partijām uzrādīja augstāko LoB vērtību 0,040 SV/ml.

Noteikšanas robeža (Limit of Detection, LoD)

QFT-Plus analīzei aprēķināja noteikšanas robežu (Limit of Detection, LoD). Apvienojot 14 TB negatīvu subjektu plazmas paraugus, tika izveidots TB negatīva cilvēka plazmas kopparaugs. Katrs no 3 operatoriem sagatavoja IFN- γ atsaucēs standarta rezerves materiāla atšķaidījumu buferšķīdumā ar koncentrāciju 1,0 SV/ml. Tika sagatavota atšķaidījuma sērija ar 8 koncentrācijām. Pētījumu veica 3 dienas, mainoties 3 operatoriem un izmantojot 2 QFT-Plus ELISA Kit komplekta partijas. Katrā testēšanas dienā testēja katru seriālās atšķaidīšanas sērijas komplekta katras koncentrācijas 5 atkārtojumus, kopā iegūstot 45 atkārtojumus katrai IFN- γ koncentrācijai katrai QFT-Plus ELISA Kit komplekta partijai.

Testēto QFT-Plus ELISA Kit komplekta partiju LoD vērtību aprēķināja atsevišķi, kā norādīts 19. tabulā.

19. tabula. 2 QFT-Plus ELISA Kit komplekta partijām aprēķinātās LoD vērtības (SV/ml)

QFT-Plus ELISA Kit	Varbūtība	Aprēķinātā koncentrācija (SV/ml)	Aprēķina apakšējā 95% ticamības robeža	Aprēķina augšējā 95% ticamības robeža
1. komplekts	0,95	0,063	0,060	0,067
2. komplekts	0,95	0,065	0,060	0,073

Kā galīgo LoD vērtību abām QFT-Plus ELISA Kit komplekta partijām uzrādīja augstāko aprēķināto LoD vērtību 0,065 SV/ml.

Interferējošas vielas

Lai noteiktu iespējamo interferējošu vielu ietekmi uz QFT-Plus ELISA analīzes veikspēju noteikt IFN- γ , tika veikts pētījums. Testēšanā tika iekļautas šādas interferējošas vielas: triglicerīdi (kopā), hemoglobīns, proteīni (kopējais serums), bilirubīns (konjugēts), bilirubīns (nekonjugēts), abakavīra sulfāts, ciklosporīns un prednizolons. Tika sagatavoti pieci IFN- γ plazmas kopparaugi ar zināmu koncentrāciju, izmantojot dažādas interferentu koncentrācijas. IFN- γ pamata kopparauga koncentrācija tika iepriekš sagatavota ar iepriekš noteiktu esošu IFN- γ daudzumu (apmēram 0,21, 0,45 un 1,4 SV/ml). Pēc tam kopparaugu izmantoja, lai sagatavotu interferentu kopparaugus. Testā tika izmantotas šādas interferentu koncentrācijas: 0 mg/dl, 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl un 20 mg/dl. Mērķa interferentu koncentrācijas bija atkarīgas no atsaucē intervāliem, patoloģiskām vērtībām, terapeitiskiem un toksiskiem diapazoniem vai atbilda piegādātāja ieteikumiem vai vispārējām klīniskām koncentrācijām. Katra interferenta parauga koncentrācijas līmeni testēja sešos atkārtojumos.

Katrai parauga koncentrācijai veica divu paraugu testu, salīdzinot ar primārā interferenta koncentrācijas vidējās vērtības log₁₀ (SV/ml) atšķirību un kontroli (t.i., koncentrācija bez interferenta), kā parādīts 20. un 21. tabulā. Tika uzrādīta arī vidējās atbildes reakcijas aprēķinātā atšķirība kopā ar attiecīgās divpusējās 95% ticamības robežas vērtībām un p vērtību.

20. tabula. Log10 SV/ml: T testa kopsavilkuma tabula par atšķirībām starp kontroles un primārā interferenta koncentrāciju katra interferenta un IFN- γ koncentrācijas līmenim

Interferents	Interferenta koncentrācija	Parauga koncentrācija (SV/ml)	Variācija	Vidējā atšķirība	Apakšējais 95% TI	Augšējais 95% TI	p vērtība	Sekmīga
Triglicerīdi	Augsta	1,4	Vienāda	0,019	-0,040	0,077	0,491	Jā
		0,45	Vienāda	0,004	-0,022	0,030	0,732	Jā
		0,21	Vienāda	0,006	-0,035	0,047	0,759	Jā
Hemoglobīns	Augsta	1,4	Vienāda	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Jā
		0,45	Vienāda	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Jā
		0,21	Vienāda	0,000	-0,034	0,035	0,980	Jā
Proteīns	Augsta	1,4	Vienāda	0,004	-0,034	0,042	0,836	Jā
		0,45	Vienāda	0,001	-0,38	0,040	0,962	Jā
		0,21	Vienāda	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Jā
Konjugēts bilirubīns	Augsta	1,4	Vienāda	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Jā
		0,45	Vienāda	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Jā
		0,21	Vienāda	-0,014	0,074	0,046	0,625	Jā
Nekonjugēts bilirubīns	Augsta	1,4	Vienāda	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Jā
		0,45	Vienāda	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Jā
		0,21	Vienāda	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Jā
Abakavīrs	Augsta	1,4	Vienāda	0,008	-0,025	0,041	0,601	Jā
		0,45	Vienāda	0,012	-0,019	0,044	0,412	Jā
		0,21	Vienāda	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Jā

Tabulas turpinājums nākamajā lappusē

Tabulas turpinājums no iepriekšējās lappuses

20. tabula. Log₁₀ SV/ml: T testa kopsavilkuma tabula par atšķirībām starp kontroles un primārā interferenta koncentrāciju katrā interferenta un IFN- γ koncentrācijas līmenim

Interferents	Interferenta koncentrācija	Parauga koncentrācija (SV/ml)	Variācija	Vidējā atšķirība	Apakšējais 95% TI	Augšējais 95% TI	p vērtība	Sekmīga
Ciklosporīns	Augsta	1,4	Vienāda	0,014	-0,020	0,047	0,383	Jā
		0,45	Vienāda	0,005	-0,035	0,045	0,773	Jā
		0,21	Vienāda	0,024	-0,008	0,056	0,131	Jā
Prednizolons	Augsta	1,4	Vienāda	0,017	-0,017	0,050	0,293	Jā
		0,45	Vienāda	0,000	-0,036	0,036	0,979	Jā
		0,21	Vienāda	0,015	-0,035	0,065	0,524	Jā

21. tabula. Log10 SV/ml: T testa kopsavilkuma tabula par atšķirībām starp kontroles un augstu interferenta koncentrāciju katra interferenta un IFN- γ koncentrācijas līmenim

Interferents	Interferenta koncentrācija	Parauga koncentrācija (SV/ml)	Variācija	Vidējā atšķirība	Apakšējais 95% TI	Augšējais 95% TI	p vērtība	Sekmīga
Triglicerīdi	Augsta	1,4	Vienāda	0,053	-0,004	0,110	0,063	Jā
		0,45	Vienāda	0,039	-0,021	0,058	<0,001	Jā
		0,21	Vienāda	0,034	-0,002	0,071	0,061	Jā
Hemoglobīns	Augsta	1,4	Vienāda	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Jā
		0,45	Vienāda	0,016	-0,007	0,040	0,152	Jā
		0,21	Vienāda	0,014	-0,030	0,059	0,489	Jā
Proteīns	Augsta	1,4	Vienāda	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Jā
		0,45	Vienāda	0,000	-0,046	0,046	0,992	Jā
		0,21	Vienāda	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Jā
Konjugēts bilirubīns	Augsta	1,4	Vienāda	0,001	-0,046	0,048	0,961	Jā
		0,45	Vienāda	0,012	-0,043	0,067	0,639	Jā
		0,21	Vienāda	0,015	-0,044	0,074	0,586	Jā
Nekonjugēts bilirubīns	Augsta	1,4	Vienāda	0,015	-0,011	0,042	0,231	Jā
		0,45	Vienāda	0,015	-0,023	0,052	0,411	Jā
		0,21	Vienāda	0,012	-0,033	0,057	0,566	Jā
Abakavīrs	Augsta	1,4	Vienāda	0,013	-0,015	0,040	0,322	Jā
		0,45	Vienāda	0,015	-0,014	0,044	0,283	Jā
		0,21	Vienāda	0,008	-0,034	0,050	0,677	Jā

Tabulas turpinājums nākamajā lappusē

Tabulas turpinājums no iepriekšējās lappuses

21. tabula. Log10 SV/ml: T testa kopsavilkuma tabula par atšķirībām starp kontroles un augstu interferenta koncentrāciju katra interferenta un IFN- γ koncentrācijas līmenim

Interferents	Interferenta koncentrācija	Parauga koncentrācija (SV/ml)	Variācija	Vidējā atšķirība	Apakšējais 95% TI	Augšējais 95% TI	p vērtība	Sekmīga
Ciklosporīns	Augsta	1,4	Vienāda	0,002	-0,019	0,024	0,816	Jā
		0,45	Vienāda	0,007	-0,030	0,043	0,682	Jā
		0,21	Vienāda	0,015	-0,007	0,038	0,155	Jā
Prednizolons	Augsta	1,4	Vienāda	0,007	-0,016	0,030	0,518	Jā
		0,45	Vienāda	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Jā
		0,21	Vienāda	0,021	-0,025	0,068	0,334	Jā

Rezultāti neuzrādīja nozīmīgu atšķirību starp primāro interferences līmeni un kontroli (koncentrācija bez interferentiem) un augstu interferenta koncentrāciju, kas neattiecas uz triglicerīdu koncentrācijas līmeni 0,45 SV/ml. Noteiktā vidējā atšķirība ietilpa standartnovirzes diapazonā +/- 2. Tas pierāda, ka atšķirība atbilst paredzamajam analīzes mainīgumam, kā arī demonstrē, ka triglicerīdam nebija traucējošas ietekmes uz QFT-Plus ELISA.

Utilizēšana

Ievērojiet atbilstošās asins paraugu apstrādes vadlīnijas. Paraugus un materiālus, kas bijuši saskarē ar asinīm vai asins produktiem, izmetiet saskaņā ar federālajiem, valsts un vietējiem noteikumiem.

Atsauces

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.

Norādījumi par problēmu novēršanu

Šie norādījumi par problēmu novēršanu var palīdzēt novērst iespējamās problēmas. Lai saņemtu tehnisku palīdzību un papildinformāciju, skatiet tehniskā atbalsta dienesta vietni www.qiagen.com/Support (kontaktinformāciju skatiet vietnē www.qiagen.com).

Komentāri un ieteikumi

ELISA analīzes problēmu novēršana

Nespecifiskas krāsas veidošanās

- | | |
|--|---|
| a) Nepietiekama plates mazgāšana | Plate jāmazgā vismaz 6 reizes ar 400 µl mazgāšanas buferšķīduma uz katru iedobi. Atkarībā no izmantotās mazgāšanas ierīces var būt nepieciešami vairāk nekā 6 mazgāšanas cikli. Starp cikliem jānodrošina vismaz 5 sekunžu ilgs mērcēšanas laiks. |
| b) ELISA iedobju krusteniskā kontaminācija | Lai mazinātu risku, pipetējot un maisot paraugu, ievērojiet piesardzību. |
| c) Beidzies komplekta/komponentu derīguma termiņš | Nodrošiniet, lai komplekts tiktu izlietots pirms derīguma termiņa beigām. Nodrošiniet, lai sagatavotais standarta materiāls un Conjugate 100x Concentrate koncentrāts tiktu izlietots trīs mēnešu laikā pēc sagatavošanas datuma. |
| d) Enzīmu substrāta šķīduma kontaminācija | Atbrīvojieties no substrāta, ja tam ir zilgana nokrāsa. Nodrošiniet, lai tiktu izmantotas tīras reaģentu tvertnes. |
| e) Plazmas samaisīšana stobriņos QFT-Plus Blood Collection Tubes pirms atdalīšanas | Pēc centrifugēšanas neveiciet pipetēšanu augšup un lejup, kā arī nekādā veidā nemaisiet plazmu. Vienmēr ievērojiet piesardzību, lai nepieskartos materiālam uz gela virsmas. |

Komentāri un ieteikumi

Zemas standarta materiālu optiskā blīvuma vērtības

- a) Standarta materiāla atšķaidīšanas kļūda Nodrošiniet, lai komplekta standarta atšķaidījumi tiktu sagatavoti, precīzi ievērojot šajā lietošanas instrukcijās sniegtos norādījumus.
- b) Pipetēšanas kļūda Nodrošiniet, lai pipetes būtu kalibrētas un tiktu lietotas atbilstoši ražotāja norādījumiem.
- c) Pārāk zema inkubācijas temperatūra ELISA analīzes inkubācija jāveic istabas temperatūrā ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$).
- d) Pārāk īss inkubācijas laiks Plašu ar konjugātu, standarta materiālus un paraugu inkubācijas periodam vajadzētu būt 120 ± 5 minūtes. Enzīmu substrāta šķīduma uz plātes inkubācijas periodam vajadzētu būt 30 minūtes.
- e) Tiek lietots nepareizs plātes datu nolasītāja filtrs Plāte jānolasa pie 450 nm ar atsauces filtru 620–650 nm.
- f) Pārāk auksti reaģenti Visi reaģenti, izņemot konjugāta 100× koncentrātu, pirms analīzes sākšanas jāsasilda līdz istabas temperatūrai. Tam nepieciešama aptuveni 1 stunda.
- g) Beidzies komplekta/sastāvdaļu derīguma termiņš Nodrošiniet, lai komplekts tiktu izlietots pirms derīguma termiņa beigām. Nodrošiniet, lai gatavotais standarta materiāls un Conjugate 100x Concentrate koncentrāts tiktu izlietots 3 mēnešu laikā pēc sagatavošanas datuma.

Spilgts fons

- a) Nepietiekama plātes mazgāšana Plāte jāmazgā vismaz 6 reizes ar 400 μl mazgāšanas buferšķīduma uz katru iedobi. Var būt nepieciešami vairāk nekā 6 mazgāšanas cikli. Starp cikliem jānodrošina vismaz 5 sekunžu ilgs mērcēšanas laiks.

Komentāri un ieteikumi

- b) Pārāk augsta inkubācijas temperatūra
ELISA analīzes inkubācija jāveic istabas temperatūrā ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$).
- c) Beidzies komplekta/komponentu derīguma termiņš
Nodrošiniet, lai komplekts tiktu izlietots derīguma termiņā laikā. Nodrošiniet, lai sagatavotais standarta materiāls un Conjugate 100x Concentrate koncentrāts tiktu izlietots trīs mēnešu laikā pēc sagatavošanas datuma.
- d) Enzīmu substrāta šķīduma kontaminācija
Atbrīvojieties no substrāta, ja tam ir zilgana nokrāsa. Nodrošiniet, lai tiktu izmantotas tīras reaģentu tvertnes.

Nelineāra standarta līkne un dublikātu mainīgums

- a) Nepietiekama plates mazgāšana
Plate jāmazgā vismaz 6 reizes ar 400 μl mazgāšanas buferšķīduma uz katru iedobi. Var būt nepieciešami vairāk nekā 6 mazgāšanas cikli. Starp cikliem jānodrošina vismaz 5 sekunžu ilgs mērcēšanas laiks.
- b) Kļūda, sagatavojot standarta atšķaidījumu
Nodrošiniet, lai standarta atšķaidījumi tiktu sagatavoti, precīzi ievērojot šajā lietošanas instrukcijās sniegtos norādījumus.
- c) Nepietiekama samaisīšana
Pirms reaģentu iepildīšanas platē, maisiet tos apvēršot vai uzmanīgi maisot.
- d) Nekonsekventa pipetēšanas tehnika vai pārtraukumi analīzes sagatavošanas laikā
Paraugu un standarta materiāla pievienošana ir jāveic vienmērīgā veidā. Visiem reaģentiem ir jābūt sagatavotiem pirms analīzes sākšanas.

Simboli

Lietošanas instrukcijās vai uz iepakojuma un marķējuma ir šādi simboli:

Simbols

Simbola definīcija



<N>

Satur reaģentus, kuru daudzums ir pietiekams <N> reakcijām



Izlietot līdz



Šis produkts atbilst Eiropas Regulā 2017/746 norādītajām prasībām in vitro diagnostikas medicīniskajām ierīcēm.

EC

REP

Pilnvarotais pārstāvis Eiropas Kopienā/Eiropas Savienībā

IVD

In vitro diagnostikas medicīnas ierīce

REF

Kataloga numurs

LOT

Partijas numurs

MAT

Materiāla numurs (t.i., komponenta marķējums)

COMP

Komponenti

CONT

Satur

NUM

Numurs

GTIN

Globālais tirdzniecības identifikācijas numurs

Rn

R apzīmē lietošanas instrukciju versiju, bet n ir versijas numurs



Temperatūras ierobežojums

Simbols

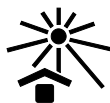
Simbola definīcija



Ražotājs



Skatīt lietošanas instrukcijas



Sargāt no gaismas iedarbības



Brīdinājums/piesardzības pasākums vai piesardzības pasākumi, skat. komplektācijā iekļautos 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 diagnostikas tests, kurā tiek izmantots peptīdu maisījums, kas simulē olbaltumvielas ESAT-6 un CFP-10, lai ierosinātu ar heparīnu apstrādātas pilnasiņu šūnas



Satur dzīvnieku izcelsmes bioloģisku materiālu



Satur cilvēka izcelsmes bioloģisku materiālu



Ierīces unikālais identifikators

Simbols**Simbola definīcija**

tartrazine

Satur tartrazīnu

sulfuric acid

Satur sērskābi

A pielikums. Tehniskā informācija

Nenoteikti rezultāti

Nenoteikti rezultāti tiek iegūti reti, un tie var būt saistīti ar testējamās personas imunitātes statusu (5), taču tie var būt saistīti arī ar vairākiem tehniskiem faktoriem (piemēram, asins parauga ņemšanas stobriņu neatbilstoša lietošana/glabāšana, nepiemērota ELISA plates mazgāšana), ja nav ievērotas iepriekš sniegtās lietošanas instrukcijas.

Ja pastāv aizdomas, ka reaģentu glabāšanas, asins paraugu ņemšanas vai to turpmākās apstrādes laikā radušās tehniskas problēmas, viss QFT-Plus tests jāatkārto ar jaunu asins parauga materiālu. Ja pastāv aizdomas, ka ELISA testēšanas procedūrā mazgāšana ir veikta nepareizi vai bijušas citas novirzes no procedūras, var atkārtot ELISA testu ar stimulētiem plazmas paraugiem. Ārsti pēc nepieciešamības var izvēlēties atkārtot parauga ņemšanu vai citas procedūras.

Receklaini plazmas paraugi

Ja ilgi glabātos plazmas paraugos rodas fibrīna receklji, centrifugējiet paraugus, lai receklainā daļa izgulsnētos un tiktu atvieglota plazmas pipetēšana.

Lipēmiski plazmas paraugi

Pipetējot lipēmiskus paraugus, jāievēro piesardzība, jo taukainas nogulsnes var bloķēt pipetes uzgaļus.

B pielikums. Saīsināta ELISA testa procedūra

1. Nodrošiniet, lai visi ELISA testa komponenti, izņemot konjugāta 100x koncentrātu, būtu atradušies istabas temperatūrā vismaz 60 minūtes.

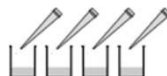


2. Sagatavojiet komplekta standarta atšķaidījumu ar koncentrāciju 8,0 SV/ml, izmantojot destilētu vai dejonizētu ūdeni. Sagatavojiet četrus (4) standarta atšķaidījumus.

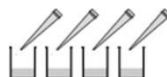


3. Sagatavojiet liofilizēto konjugāta 100x koncentrātu, izmantojot destilētu vai dejonizētu ūdeni.

4. Sagatavojiet konjugāta darba šķīdumu ar zaļo atšķaidītāju un iepildiet 50 µl visās iedobēs.



5. Atbilstošajās iedobēs iepildiet 50 µl testa plazmas paraugu un 50 µl standarta materiālu. Samaisiet ar kratītāju.



6. Inkubējiet 120 minūtes istabas temperatūrā.



7. Mazgājiet iedobes vismaz 6 reizes ar mazgāšanas buferšķīdumu 400 µl uz iedobi.



8. Iepildiet iedobēs 100 µl enzīmu substrāta šķīduma. Samaisiet ar kratītāju.



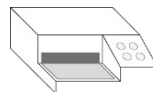
9. Inkubējiet 30 minūtes istabas temperatūrā.



10. Iepildiet visās iedobēs 50 µl enzīmu pārtraukšanas šķīduma. Samaisiet ar kratītāju.



11. Nolasiet rezultātus pie 450 nm ar 620–650 nm atsauces filtru.



12. Analizējiet rezultātus.



Informācija par pasūtīšanu

Produkts	Saturs	Kat. Nr.
QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit	2 plašu ELISA komplekts	622120
QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Reference Lab Pack	20 plašu ELISA komplekts	622822
Related products		
QuantIFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes	200 stobriņi (Nil, TB1, TB2 un Mitogen 50 gab. no katra)	622526
QuantIFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 stobriņi (Nil, TB1, TB2 un Mitogen 25 gab. no katra)	622423
QuantIFERON-TB Gold Plus Single Patient Pack	40 stobriņi (Nil, TB1, TB2 un Mitogen 1 gab. no katra/iepakojumā), 10 stobriņi iepakojumā	622222
QuantIFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes	200 stobriņi (Nil, TB1, TB2 un Mitogen 50 gab. no katra)	623526
QuantIFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 stobriņi (Nil, TB1, TB2 un Mitogen 50 gab. no katra)	623423

Produkts	Saturs	Kat. Nr.
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Single Patient Pack	40 stobriņi (Nil, TB1, TB2 un Mitogen 1 gab. no katra/iepakojumā), 10 stobriņi iepakojumā	623222

Jaunāko informāciju par licencēšanu un produktu juridiskās atrunas skatiet attiecīgajās QIAGEN komplekta lietošanas instrukcijās. QIAGEN komplekta lietošanas instrukcijas ir pieejamas vietnē www.qiagen.com, kā arī tās var pieprasīt QIAGEN tehniskā atbalsta centros vai pie vietējiem preču izplatītājiem.

Dokumenta pārskatīšanas vēsture

Datums	Izmaiņas
R2, 2021. gada jūnijs	leklāta informācija par viena pacienta komplektu Labota 10. un 11. tabula, lai atšķirtu QFT-GIT un QFT-Plus datus Atjaunināta sadaļa "Apraksts un darbības principi", pievienojot informāciju par testēšanas populāciju un mērījumu diapazonu Pievienota 9. tabula ar datiem par QFT-Plus iespējamības koeficientu
R3, 2021. gada oktobris	Atgriezti sākotnējie kataloga numuri Komplekta sastāvdaļu sadaļā pievienots paziņojums par mikroplates strēmelišu vienreizēju lietošanu
R4, 2023. gada marts	Formatēšanas labojumi

Šī lappuse atstāta tukša ar nolūku

Komplekta QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit ierobežots licences līgums

Šī produkta izmantošana liecina par katra produkta pircēja vai lietotāja piekrišanu tālāk minētajiem nosacījumiem.

1. Šo produktu drīkst lietot tikai saskaņā ar protokolliem, kuri ir iekļauti šī produkta komplektācijā un šajās lietošanas instrukcijās, un to drīkst lietot tikai kopā ar šajā panelī iekļautajiem komponentiem. Uzņēmums QIAGEN nepiešķir nekāda veida licenci uz nevienu no tā intelektuālajiem īpašumiem, lai šajā panelī iekļautos komponentus izmantotu kopā ar jebkādiem citiem komponentiem, kuri nav iekļauti šajā panelī, vai apvienotu ar tiem, izņemot gadījumus, kas aprakstīti produkta komplektācijā un šajās lietošanas instrukcijās iekļautajos protokolos, kā arī papildu protokolos, kuri pieejami tīmekļa vietnē www.qiagen.com. Dažus no šiem papildu protokolliem QIAGEN lietotājiem nodrošina QIAGEN lietotāji. Šie protokoli nav rūpīgi testēti vai optimizēti uzņēmumā QIAGEN. Uzņēmums QIAGEN nedz apliecina, nedz garantē, ka tie nepārkāpj trešo personu tiesības.
2. Uzņēmums QIAGEN nesniedz citas garantijas, izņemot skaidri norādītās licences, ka šis panelis un/vai tā lietošana neaizskar trešo personu tiesības.
3. Šis panelis un tā komponenti ir licencēti vienreizējai lietošanai, un tos nedrīkst izmantot atkārtoti, atjaunot vai pārdot tālāk.
4. Uzņēmums QIAGEN īpaši atsakās no jebkādām citām tiesībām vai netiesībām licencēm, izņemot tās, kuras ir skaidri norādītas.
5. Paneļa pircējs un lietotājs piekrīt neveikt un neatļaut citiem veikt nekādas darbības, kas varētu izraisīt vai veicināt jebkuras no iepriekš aizliegtajām darbībām. Uzņēmums QIAGEN var pieprasīt šī ierobežotā licences līguma aizliegumu īstenošanu jebkurā tiesā un apņemas atgūt visus savus izmeklēšanas un tiesas izdevumus, ieskaitot advokātu honorārus, kas radušies, īstenojot šo ierobežoto licences līgumu vai jebkuru no uzņēmuma intelektuālā īpašuma tiesībām saistībā ar paneli un/vai tā komponentiem.

Jaunākos licences nosacījumus skatiet vietnē www.qiagen.com.

Preču zīmes: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (QIAGEN Group) Proclin®, Tiek uzskatīts, ka šajā dokumentā minētie reģistrētie nosaukumi, preču zīmes utt. ir aizsargāti ar likumu pat tad, ja tas nav īpaši norādīts.

03/2023 L1123669 1123669LV © 2023 QIAGEN, visas tiesības paturētas.

Pasūtīšana www.qiagen.com/shop | Tehniskais atbalsts support.qiagen.com |
Tīmekļa vietne www.qiagen.com