



2023. március

QuantiFERON®-TB Gold Plus ELISA Kit, használati útmutató



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

1. verzió



In vitro diagnosztikai használatra

A QuantiFERON®-TB Gold Plus Blood Collection Tubes vérvételi csövekkel való használatra



622120, 622822



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Németország



1123669HU

Tartalom

Alkalmazási terület	5
Felhasználói célcsoport.....	5
Leírás és működési elv.....	6
Patogenitási információk	6
Összefoglalás és magyarázat	7
Az assay alapelve	9
Szállított anyagok	11
A kit tartalma	11
A kit összetevői	12
Platform és szoftver	12
Szükséges, de nem biztosított anyagok	13
Kiegészítő reagensek.....	13
Fogyóeszközök	13
Eszközök.....	13
Figyelmeztetések és óvintézkedések	14
Biztonsági információk	14
Vészhelyzeti információk.....	15
Óvintézkedések.....	16
A reagensek tárolása és kezelése.....	18
Felbontás után stabilitás	18
Rehidratált és maradék reagensek	18
Mintatárolás és mintakezelés	19

Protokoll: Az ELISA assay végrehajtása	20
Eredmények (számítások).....	26
A standard görbe létrehozása és a minták értékének meghatározása.....	26
A teszt minőség-ellenőrzése	28
Az eredmények értelmezése	30
Korlátozások.....	32
Teljesítményjellemzők	33
Klinikai vizsgálatok	33
Érzékenység	36
Várható értékek.....	43
A biztonság és a teljesítmény összefoglalása	49
Az assay teljesítményjellemzői.....	50
Analitikai teljesítmény.....	50
Ártalmatlanítás	63
Hivatkozások	64
Hibaelhárítási útmutató.....	66
Szimbólumok.....	69
„A” függelék: Technikai tudnivalók.....	72
Nem eldönthető eredmények	72
Alvadt plazmaminták	72
Lipémiás plazmaminták.....	72
„B” függelék: Rövidített ELISA teszteljárás	73
Rendelési információk	75
A dokumentum átdolgozási előzményei	77

Alkalmazási terület

A QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus) assay egy *in vitro* diagnosztikai teszt, amelyben ESAT-6 és CFP-10 proteinek szimuláló peptidkeverék stimulálja a sejteket a heparinizált teljes vérben. A gamma- (γ -) interferon (IFN- γ) enzimhez kötött ellenanyag-assay-vel (enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA) történő kimutatását használják a *Mycobacterium tuberculosis*-fertőzéssel összefüggő peptid antigénekre adott *in vitro* válaszok azonosításához.

A QFT-Plus az *M. tuberculosis*-fertőzés (illetve megbetegedés) közvetett tesztje, amely rendeltetése szerint kockázatelemzéssel, radiográfiával, valamint egyéb orvosi és diagnosztikai értékeléssel együttes használatra szolgál.

Felhasználói célcsoport

A kit szakemberek általi használatra készült.

A QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) assay-t képzett szakemberek használhatják laboratóriumi környezetben.

Leírás és működési elv

Patogenitási információk

A tuberkulózis az *M. tuberculosis* komplex organizmusok (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* és *M. caprae*) okozta fertőző betegség, amely rendszerint cseppfertőzéssel terjed az új gazdára a pulmonális tuberkulózis betegséggel fertőzött betegekről. Az újonnan megfertőződött személy hetekkel vagy hónapokkal később megbetegedhet, de a legtöbben továbbra is jól érzik magukat. Egyes személyeknél lappangó tuberkulózis fertőzés (latent tuberculosis infection – LTBI), egy nem fertőző, tünetmentes állapot maradhat fenn, majd hónapokkal vagy évekkel később tuberkulózis betegség alakulhat ki. Az LTBI diagnosztizálásának legfőbb célja megállapítani, szükséges-e kezelést alkalmazni a tuberkulózisbetegség kialakulásának megakadályozására. Több mint 100 éven keresztül az LTBI diagnosztizálásának egyetlen rendelkezésre álló módja a tuberkulin bőrteszt (Tuberculin Skin Test – TST) volt (4). A tuberkulinra való bőrérzékenység 2–10 héttel a fertőzés után alakul ki. Előfordul viszont, hogy egyes fertőzöttek, például a számos különféle immunműködést elnyomó állapot valamelyikében érintettek, sőt esetenként mások is nem reagálnak a tuberkulinra. Ugyanakkor egyes, bizonyára nem *M. tuberculosis*-fertőzött egyének mégis érzékenységet mutatnak a tuberkulinra, és pozitív TST eredményt adnak Bacille Calmette-Guérin (BCG) oltást követően, *M. tuberculosis* komplextől eltérő mikobakteriális fertőzés esetén, illetve más ismeretlen tényezők miatt.

Az LTBI állapotot meg kell különböztetni a tuberkulózisbetegségtől, amely egy rendszerint a tüdőt és az alsó légutakat, de esetenként más szervrendszereket is érintő állapot. A tuberkulózisbetegség a kórelőzményből és a fizikális, radiológiai és mikobakteriológiai vizsgálati eredményekből diagnosztizálható.

Összefoglalás és magyarázat

A QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) teszt a QuantiFERON-TB vizsgálati technológia negyedik generációja, és az IFN- γ kvantitatív mérése által méri fel a sejtmediált immunválaszt a teljesvér-mintákból. A QFT-Plus a mikobakteriális proteineket szimuláló peptid antigénekre adott sejtmediált immunválaszokat (Cell-Mediated Immune – CMI) mérő kvalitatív teszt. Ezek a proteinek – az ESAT-6 és CFP-10 – az összes BCG-törzsből és a legtöbb nem tuberkulózisos mikobaktériumból hiányoznak az *M. kansasii*, *M. szulgai* és *M. marinum* kivételével (1). Az *M. tuberculosis* komplex organizmusokkal fertőzöttek vérében rendszerint a fenti és egyéb mikobakteriális antigéneket felismerő limfociták találhatóak. Az antigének felismerése IFN- γ citokin termelődésével és kiválasztásával jár. Jelen teszt alapja az IFN- γ kimutatása, majd mennyiségi meghatározása.

A tuberkulin bőrtesztek és az IGRA tesztek segítenek, de nem elégségesek az *M. tuberculosis* komplex fertőzés diagnosztizálásában a beteg páciensek esetén – a pozitív eredmény alátámaszthatja a tuberkulózisbetegség diagnózisát; azonban más mikobaktériumok (pl. *M. kansasii*) fertőzései is okozhatnak pozitív eredményt. A tuberkulózisbetegség megerősítésére vagy kizárására további orvosi és diagnosztikai értékelést kell végezni.

A QFT-Plus teszt során használt antigének az ESAT-6 és CFP-10 proteineket szimuláló peptidkeverék. Számos vizsgálat kimutatta, hogy ezek a peptid antigének *M. tuberculosis* fertőzötteknél kiváltják a T-sejtekben az IFN- γ -válaszokat, míg a nem fertőzött, illetve a BCG oltást kapott, betegség és LTBI kockázata nélküli személyek esetében általában nem (1,2,6,9). Az immunműködést megzavaró kezelések, illetve állapotok azonban okozhatják az IFN- γ -válaszok csökkenését. Bizonyos egyéb mikobakteriális fertőzésben szenvedő betegek szintén reagálhatnak az ESAT-6 és CFP-10 proteinekre, mivel az ezeket kódoló gének az *M. kansasii*, *M. szulgai* és *M. marinum* esetén is jelen vannak (1,3,7).

A QFT-Plus vizsgálat tesztpopulációja a klinikailag igazoltan aktív tuberkulózisos betegek, valamint tuberkulózis-fertőzés kockázatával vagy látens tuberkulózissal (LTBI) élő betegek. Nincsenek életkorral, nemmel kapcsolatos vagy egyéb korlátozások.

A *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) fertőzésben a CD4⁺ T-sejtek kritikus szerepet játszanak az immunműködésben, az IFN- γ citokin kiválasztása révén. Ma már bizonyított a CD8⁺ T-sejtek szerepe a gazdaszervezet MTB elleni védekezésében. Ennek során IFN- γ -t és más oldható faktorokat termelnek, amelyek aktiválják az MTB növekedését gátló, a fertőzött sejteket elpusztító vagy a sejten belüli MTB-t közvetlenül roncsoló makrofágokat. IFN- γ -t termelő MTB-specifikus CD8⁺ sejteket kimutattak LTBI-vel és aktív TB-vel rendelkező alanyokban is. Sőt, az ESAT-6 és CFP-10 antigénekre specifikus CD8⁺ T-limfocitákat gyakrabban mutatják ki aktív TB-alanyokban, mint LTBI-alanyokban. Ez összefügghet azzal, hogy ezek az alanyok nemrég ki voltak téve MTB-nek (8,10–12). Ráadásul IFN- γ -t termelő MTB-specifikus CD8⁺ T-sejteket is kimutattak olyan aktív TB-alanyokban, akiknek ezen felül HIV-fertőzése is volt (13,14), valamint tuberkulózisos kisgyermek betegekben (15).

A QFT-Plus kitben két jól megkülönböztethető TB-antigén tesztcső van: TB Antigen Tube 1 (TB1) és TB Antigen Tube 2 (TB2). Mindkét tesztcső peptid antigéneket tartalmaz az MTB-komplexhez tartozó antigének közül: ESAT-6 és CFP-10 fehérjét. A TB1 és a TB2 cső is olyan ESAT-6 és CFP-10 eredetű peptideket tartalmaz, amelyek sejtmediált immunválaszokat (CMI-válaszokat) váltanak ki a CD4⁺ T-segítő limfocitákban; a TB2 csőben további peptidek is vannak, amelyek CMI-választ váltanak ki a CD8⁺ citotoxikus T-limfocitákban.

Az *M. tuberculosis*-fertőzés kockázati tényezői közé tartoznak a tuberkulózisbetegség és a tuberkulózis-expozíció kórelőzményi, orvosi és epidemiológiai prediktorai. Tekintse át a WHO legfrissebb iránymutatását (<https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment>) az *M. tuberculosis* fertőzés (és a betegség) diagnosztizálásának részletes javaslataiért, valamint az alanyok tesztelésre történő kiválasztásáért (16). A QFT-Plus assay-t néhány olyan betegcsoporton vizsgálták, akiknél az aktuális WHO-irányelvek (16) szerint javallott volt a szűrés, köztük: olyan személyek, akiknél pozitív lett a humán immundeficiencia vírus (HIV) tesztje, aktuálisan tuberkulózisos betegek kontaktjai, valamint erősen érintett területek lakói, akik magas tuberkulózis-kockázattal rendelkező felnőttekkel érintkeztek (5).

Az assay alapelve

A QFT-Plus egy kvalitatív assay, ami az *M. tuberculosis* proteineket szimuláló peptid antigéneket tartalmazó különleges vérvételi csöveket használ, amelyek teljes vér gyűjtésére szolgálnak. A vért a csövekben 16–24 órán keresztül inkubálják, a plazmát elválasztják, majd a peptid antigénekre válaszul létrejövő IFN- γ jelenlétére tesztelik.

Először teljes vért kell levenni mindegyik QFT-Plus Blood Collection Tubes csőbe: a Nil csőbe, a TB1 csőbe, TB2 csőbe és Mitogen csőbe. Másik lehetőségként a vér egyetlen, antikoagulánsként lítium-heparint vagy nátrium-heparint tartalmazó vérvételi csőbe is levehető, majd innen átvihető a QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csövekbe.

A QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csöveket össze kell rázni, hogy az antigén elkeveredjen a vérrel, és a lehető leghamarabb, de legkésőbb a vérvételtől számított 16 órán belül inkubálni kell őket $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ -on. 16–24 órás inkubálást követően a csöveket centrifugálni kell, fel kell dolgozni a plazmát, majd meg kell mérni az IFN- γ (IU/ml) mennyiségét ELISA assay-vel. A QFT-Plus ELISA teszt rekombináns humán IFN- γ standardot használ, amelyet referencia IFN- γ készítményhez képest vizsgáltak (NIH ref.: Gxg01-902-535). A tesztminták eredményeinek leletezése nemzetközi egység per milliliterben (IU/ml) történik, a kithoz biztosított standard hígításainak tesztelésével készített standard görbéhez képest.

Bizonyos egyének szérumában vagy plazmájában található heterofil (pl. humán egérellenes) antitestekről ismert, hogy befolyásolják az immunológiai assay-eket. A heterofil antitestek QFT-Plus ELISA tesztre gyakorolt hatását a zöld hígítóhoz adott normál egérszérum és a mikrolemezek celláit bevonó, IFN- γ befogó antitestként alkalmazott F(ab')₂ monoklonális antitest-fragmentumok minimalizálják.

A QFT-Plus assay olyan IFN- γ válasz esetén számít pozitívnak, amikor valamelyik TB antigén cső szerinti érték jelentősen meghaladja a Nil cső IFN- γ IU/ml értékét. A Mitogen cső plazmamintája az IFN- γ pozitív kontrolljaként szolgál minden egyes tesztelt mintához. A gyenge (< 0,5 IU/ml) Mitogen reakció akkor jelent határozatlan eredményt, ha a vérminta TB antigénekre adott válasza is negatív. Ilyen eredmény akkor kapható, ha elégtelen a limfociták száma, ha helytelen mintakezelés vagy a Mitogen cső helytelen megtöltése/keverése miatt gyenge a limfocitatevékenység, vagy ha a beteg limfocitái képtelenek IFN- γ előállítására. A Nil csőben lévő mintában előfordulhat az IFN- γ szintek megemelkedése a heterofil antitestek jelenlétével, vagy belső IFN- γ szekréciónak. A Nil csővel kompenzálhatók a háttérértékek (pl. megemelkedett keringő IFN- γ szintek vagy heterofil antitestek jelenléte miatt). A Nil cső IFN- γ szintjét ki kell vonni a TB antigéncsövek és a Mitogen cső IFN- γ szintjéből. A QFT-Plus ELISA assay mérési tartományának felső határa 10 IU/ml.

Szállított anyagok

A kit tartalma

ELISA összetevők	2 lemezes kit	Referencia laborcsomag
Katalógusszám	622120	622822
Microplate strips (Mikrolemezcsíkok) (12 × 8 tesztlyuk) egér antihumán IFN- γ monoklonális antitesttel bevonva	2 készlet 12 × 8 mintahelyes mikrolemezc sík	20 készlet 12 × 8 mintahelyes mikrolemezc sík
IFN- γ Standard (IFN- γ standard), liofilizált; (tartalma: rekombináns humán IFN- γ , szarvasmarha-kazein, 0,01% [m/V] tiomerzál)	1 üveg (8 IU/ml rehidratálva)	10 üveg (8 IU/ml rehidratálva)
Green Diluent (Zöld hígító) (tartalma: szarvasmarha kazein, normál egérszérum, 0,01% [m/V] tiomerzál)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Konjugátum 100× koncentrátum), liofilizált (egér antihumán IFN- γ HRP, 0,01% tiomerzált tartalmaz)	1 × 0,3 ml (rehidratálva)	10 × 0,3 ml (rehidratálva)
Wash Buffer 20x Concentrate (Mosópuffer 20× koncentrátum) (pH 7,2; 0,05% [V/V] ProClin® 300-at tartalmaz)	1 × 100 ml	10 × 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Enzimszubsztrátoldat) (tartalma: H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetrametil-benzidin)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Enzimeállító oldat) (tartalma: 0,5 M H ₂ SO ₄)	1 × 15 ml	10 × 15 ml
<i>QuantiFERON TB-Gold Plus ELISA Kit használati útmutató</i>	1	1

A kit összetevői

Kontrollok és kalibrátorok

A QFT-Plus ELISA teszt rekombináns humán IFN- γ standardot használ, amelyet referencia IFN- γ készítményhez képest vizsgáltak (NIH ref.: Gxg01-902-535).

Platform és szoftver

A nyers adatok elemzéséhez és az eredmények kiszámításához rendelkezésre áll a QFT-Plus Analysis Software elemzőszoftver, amelynek használata opcionális. A www.qiagen.com webhelyről tölthető le.

Szükséges, de nem biztosított anyagok

Kiegészítő reagensek

- QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes
- Ioncserélt vagy desztillált víz, 2 liter

Fogyóeszközök

- Lemezfedél 96 mintahelyes lemezhez
- **Opcionális:** 1 ml-es, kupakos mikroszövek 96 mintahelyes formátumú állványon vagy fedetlen mikrolemezek műanyag lezáróval plazmatároláshoz (22 beteg/állvány vagy lemez)
- Reagenstartályok

Eszközök*

- 37 °C ± 1 °C-os inkubátor (CO₂-dal vagy anélkül)
- Kalibrált, állítható térfogatú pipetták 10 µl – 1000 µl közti mennyiségekhez, egyszer használatos hegyekkel
- Kalibrált, többcsatornás pipetta 50 µl és 100 µl mennyiséghez, egyszer használatos hegyekkel
- 500 és 1000 rpm közötti fordulatszámom működtethető mikrolemezzázó gép
- Mikrolemeszmosó (a plazmaminták biztonságos kezelése érdekében automata lemezmosó használata ajánlott)
- 450 nm-es szűrőjű mikrolemeszolvasó 620–650 nm-es referenciaszűrővel
- Állítható fordulatszámú vortex keverő
- A vérvételi csöveket legalább 3000 RCF (g) fordulatszámom centrifugálni képes centrifuga
- Mérőhenger, 1 literes vagy 2 literes

* Használat előtt ellenőrizze, hogy a műszereket a gyártó ajánlásai szerint ellenőrizték és kalibrálták-e.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

Tartsa szem előtt, hogy szükséges lehet a vonatkozó helyi előírásoknak megfelelően az eszközzel összefüggésben fellépő súlyos balesetek jelentése a gyártó és/vagy hivatalos képviselője, valamint a felhasználó és/vagy a beteg tartózkodási helye szerinti illetékes szabályozó hatóság felé.

In vitro diagnosztikai használatra.

Biztonsági információk

Vegyszerhasználat során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, egyszer használatos kesztyűt és védőszemüveget. További információkat a megfelelő biztonsági adatlapok (Safety Data Sheet, SDS) tartalmazznak. Ezek elérhetők online, a www.qiagen.com/safety weboldalon, jól kezelhető, kompakt PDF formátumban; a weboldalon megtalálható, megtekinthető és kinyomtatható az egyes QIAGEN kitek és kitekben található összetevők biztonsági adatlapja.

- A vizsgálati minták potenciálisan fertőzők. A mintákat és az assay során képződő hulladékokat a helyi biztonsági eljárásoknak megfelelően kell ártalmatlanítani.
- A negatív QFT-Plus eredmény nem zárja ki teljesen az *M. tuberculosis*-fertőzés, illetve a tuberkulózisbetegség esélyét: hamis negatív eredményt okozhat az adott fertőzöttségi stádium (pl. ha a mintavétel a sejtes immunválasz kialakulása előtt történt), a vérvételi csövek szabálytalan kezelése a vérvételt követően, az assay szabálytalan elvégzése, illetve egyéb immunológiai változók, beleértve az esetleges komorbid állapotokkal kapcsolatos változók. A heterofil antitestek vagy a más gyulladásozó állapotok által kiváltott nem specifikus IFN- γ termelés elfedheti az ESAT-6 vagy CFP-10 peptidre adott specifikus immunválaszt.


- A pozitív QFT-Plus eredmény nem szolgálhat az *M. tuberculosis*-fertőzés megállapításának egyedüli vagy végleges alapjául. Az assay szabálytalan végrehajtása is okozhat álpozitív QFT-Plus eredményeket.
- A pozitív QFT-Plus eredményt további orvosi vizsgálatnak kell követnie az aktív tuberkulózisbetegség megállapítására (pl. saválló baktérium kimutatása köpetvizsgálattal és tenyésztéssel, illetve mellkasi röntgen).
- Bár az ESAT-6 és CFP-10 az összes BCG törzsből és a legtöbb ismert nem tuberkulózisos mikobaktériumból hiányzik, mégis előfordulhat, hogy a pozitív QFT-Plus eredményt *M. kansasii*, *M. szulgai* vagy *M. marinum* fertőzés okozza. Ha ilyen fertőzések gyanúja merül fel, akkor más vizsgálatok elvégzése szükséges.
- Álnegatív QFT-Plus eredményt okozhat a helytelenül végzett vérvétel vagy a limfociták aktivitását befolyásoló helytelen mintakezelés. A vérminták megfelelő kezelésére vonatkozóan lásd a „Protokoll: Az ELISA assay végrehajtása” című szakaszt a 20. oldalon. Tévesen negatív vagy nem eldönthető eredményeket okozhat, ha túl sok idő telik el az inkubációig, illetve más technikai paraméterek is hatással lehetnek arra, hogy kimutatható-e szignifikáns IFN- γ válasz.

Vészhelyzeti információk

CHEMTREC

Az USA-n és Kanadán kívül: +1 703-527-3887

Óvintézkedések

<p>FIGYELEM</p> 	<p>Az emberi vér kezelése fertőzésveszéllyel jár.</p> <p>Be kell tartani a vonatkozó vérmintakezelési előírásokat. A vérminták, valamint a vérrel és vérkészítményekkel érintkező anyagok hulladékkezelését mindig a helyi, tagállami és uniós előírások szerint végezze.</p>
--	---

QuantIFERON Enzyme Stopping Solution



Kénsavat tartalmaz. Vigyázat! Fémekre korrozív hatású lehet. Bőrirritáló hatású. Súlyos szemirritációt okoz. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

QuantIFERON Enzyme Substrate Solution

Vigyázat! Enyhén bőrirritáló hatású. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

QuantIFERON Green Diluent



Tartrazint tartalmaz. Vigyázat! Allergiás bőrreakciót válthat ki. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

QuantIFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. Ne hagyja, hogy kijusson a környezetbe.

További tudnivalók

Biztonsági adatlapok: www.qiagen.com/safety

- Egyes QFT-Plus reagensek tartósítószerként tiomerzált tartalmaznak. Ezek lenyelve, belélegezve vagy bőrrel érintkezve mérgezőek lehetnek.
- A *QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) használati útmutatójától* való eltérés hibás eredményt okozhat. Használat előtt figyelmesen olvassa el az utasításokat.
- Sérültnek tűnő vagy szivárgó reagenspalackot tartalmazó kitet nem szabad használni.
- **Fontos:** Használat előtt vizsgálja meg az üvegeket. Ne használja a konjugátumot vagy IFN- γ standardot tartalmazó üvegeket, ha azokon sérülés jeleit látja, vagy ha a gumi záróelemük sérült. Ne fogja meg a törött üvegeket. Tegye meg a megfelelő biztonsági óvintézkedéseket az üvegek biztonságos hulladékkezeléséhez. A konjugátumot és IFN- γ standardot tartalmazó üvegek felbontásához ajánlott kupaknyitót használni a perforált fémkupak okozta sérülések kockázatának minimalizálása érdekében.
- Nem engedélyezett az eltérő QFT-Plus kitekből származó mikrolemezcsíkok, IFN- γ standardok, zöld hígítók, illetve konjugátum 100 \times koncentrátumok vegyes felhasználása, illetve összekeverése. A többi reagens (a mosópuffer 20 \times koncentrátum, az enzimszubsztrátoldat és az enzimleállító oldat) különböző kitekből vegyesen is használható a reagensek lejáratí idején belül, ha a tételszámokat feljegyzi.
- A fel nem használt reagensek és biológiai minták hulladékkezelését a helyi, tagállami és uniós előírások szerint kell végezni.
- Ne használja fel a QFT-Plus ELISA kitet a lejáratí idején túl.
- Mindig tartsa be a helyes laboratóriumi eljárásokat.
- Gondoskodjon a laboratóriumi berendezések, például a lemezmosók és -olvasók kalibrálásáról és validálásáról.

A reagensek tárolása és kezelése

Vegye figyelembe a dobozon és az egyes összetevők címkéjén feltüntetett lejárati időt és tárolási körülményeket. Ne használjon lejárt szavatosságú vagy helytelenül tárolt összetevőket.

Felbontás után stabilitás

- Az ELISA kitet 2–8 °C-on kell tárolni.
- Az enzimszubsztrátoldatot mindig napfénytől védett helyen kell tartani.

Rehidratált és maradék reagensek

- A reagensek rehidratálására vonatkozó utasításokat lásd a következő fejezetben: „Protokoll: Az ELISA assay végrehajtása”, 20. oldal.
- A kitben lévő standard rehidratálva 2–8 °C közötti hőmérsékleten legfeljebb 3 hónapig tárolható.

Jegyezze fel a kitben lévő standard rehidratálásának dátumát.

- A rehidratált konjugátum 100x koncentrátumot vissza kell hűteni 2–8 °C-os tárolási hőmérsékletre, és szintén fel kell használni 3 hónapon belül.

Jegyezze fel a konjugátum rehidratálásának dátumát.

- A készre hígított konjugátumot elkészítése után 6 órán belül fel kell használni.
- A készre hígított mosópuffer szobahőmérsékleten legfeljebb 2 hétig tárolható.
- A mikrolemecscsíkok kizárólag egyetlen használatra szolgálnak. A fel nem használt csíkok eltávolíthatók a lemez keretéből, és eltávolíthatók a későbbi felhasználáshoz.

Mintatárolás és mintakezelés

A QFT-Plus teszthez végzett vérvétel munkafolyamatára vonatkozó részletek a *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes* használati útmutatóban (1123668) található.

Protokoll: Az ELISA assay végrehajtása

A kezdés előtt figyelembe veendő fontos szempontok

Előkészítés (az assay végrehajtásához szükséges idő)

- A QFT-Plus assay csak akkor ad érvényes eredményeket, ha a kezelő meghatározott feladatokat a megadott időn belül elvéggez. Az assay végrehajtása előtt célszerű a kezelőnek gondosan megterveznie az assay minden egyes fázisát, hogy elegendő ideje legyen a különböző lépések elvégzésére. A szükséges idő becsült értéke alább látható, és a több minta egyidejű teszteléséhez szükséges időt is feltüntettük.
 - Egy ELISA lemez esetén körülbelül 3 óra
 - < 1 óra munka
 - Minden további lemezre újabb 10–15 percet kell számolni

IFN- γ ELISA

- Az ELISA assay végrehajtásához szükséges anyagok felsorolását lásd „A kit tartalma”, 11. oldal és „Szükséges, de nem biztosított anyagok”, 13. oldal.

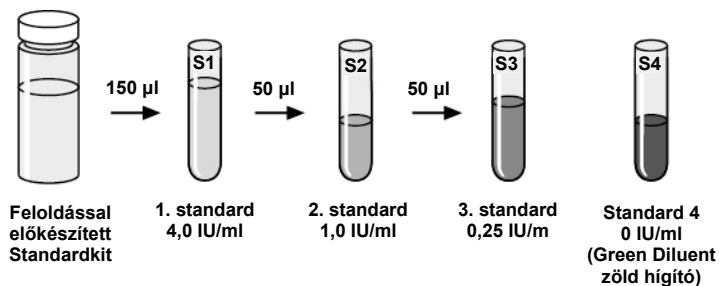
Eljárás

1. Felhasználás előtt minden plazmamintát és a konjugátum 100 \times koncentrátum kivételével minden reagenst hagyni kell, hogy szoba-hőmérsékletűre (22 °C \pm 5 °C-ra) melegedjen. Legalább 60 percet kell hagyni a hőkiegyenlítődésre.
2. Vegye ki a keretből a nem szükséges ELISA lemezcsíkokat, ezeket zárja vissza a fóliatasakba, majd felhasználásig helyezze vissza őket a hűtőszekrénybe.

3. Legalább 1 csíkot számoljon a QFT-Plus standardoknak, és ehhez adja hozzá a tesztelt alanyok számához elegendő mennyiségű csíkot (az ajánlott lemezformátumot lásd a 2. ábrán). Használat után a többi csík számára őrizze meg a keretet és a fedelet.
- 3a. Rehidratálja az IFN- γ standardot az üveg címkéjén feltüntetett mennyiségű ioncserélt vagy desztillált vízzel. Keverje fel óvatosan, minimális habképződéssel, amíg az üveg teljes tartalma maradéktalanul fel nem oldódik. Az IFN- γ standard megadott térfogatra történő rehidratálása 8,0 IU/ml koncentrációjú oldatot képez.
- 3b. A rehidratált standard felhasználásával készítsen 4 IFN- γ koncentrációból álló hígítási sorozatot (lásd az 1. ábrát).
- 3c. A standard görbét az alábbi IFN- γ koncentrációk alapján kell létrehozni:
- S1 (1. standard): 4,0 IU/ml
 - S2 (2. standard): 1,0 IU/ml
 - S3 (3. standard): 0,25 IU/ml
 - S4 (4. standard): 0 IU/ml (csak zöld hígító [Green Diluent, GD]).
- 3d. A standardokat legalább duplán kell tesztelni.
- 3e. Minden ELISA munkamenethez friss hígítást kell készíteni a kítben lévő standardból.

Eljárás

A	Címkézzen fel 4 csövet: S1, S2, S3, S4
B	Töltsön 150 μ l GD-t az S1, S2, S3 és S4 csőbe
C	Töltsön 150 μ l-t a kítben lévő standardból az S1 csőbe, és alaposan keverje össze
D	Töltsön át 50 μ l-t az S1-ből az S2 csőbe, és alaposan keverje össze
E	Töltsön át 50 μ l-t az S2-ből az S3 csőbe, és alaposan keverje össze
F	A GD szolgál magában nullstandardként (S4)



1. ábra: A standard görbéhez szükséges hígítási sorozat elkészítése.

4. Rehidratálja a liofilizált konjugátum 100× koncentrátumot 0,3 ml ioncserélt vagy desztillált vízzel. Keverje fel óvatosan, minimális habképződéssel, amíg az üveg teljes tartalma maradéktalanul fel nem oldódik.
 - 4a. A konjugátum készre hígításához hígítsa fel a szükséges mennyiségű rehidratált konjugátum 100× koncentrátumot zöld hígítóval (1. táblázat).
 - 4b. A készre hígított konjugátumot az elkészítés után 6 órán belül fel kell használni.
 - 4c. Az esetleg megmaradó konjugátum 100× koncentrátumot azonnal vissza kell hűteni 2–8 °C-ra.

1. táblázat: A konjugátum elkészítése (készre hígítás)

Csík száma	Konjugátum mennyisége (100× koncentrátum)	Zöld hígító mennyisége
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. A vérvételi csövekből elválasztott, majd tárolt (hűtött vagy fagyasztott) plazmamintákat alaposan keverje fel az ELISA tesztlyukakba töltés előtt. A plazmaminták a centrifugált QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csövekben 2–8 °C-on legfeljebb 28 napig tárolhatók, illetve az elválasztott plazmaminták 2–8 °C-on szintén legfeljebb 28 napig tárolhatók. Az elválasztott plazmaminták –20 °C alatt (lehetőleg -70 °C alatt) hosszabb ideig is tárolhatók.

A plazmaminták közvetlenül a centrifugált vérvételi csövekből is betölthetők/felhasználhatók a QFT-Plus ELISA lemezzel végzett méréshez.

Fontos: A közvetlenül a centrifugált QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csövekből bemért plazmaminták esetén kerülni kell a plazma felkeveredését. A teljes eljárás során meg kell őrizni a gélfelület sértetlenségét.

6. Mérjen be 50 µl frissen készre hígított konjugátumot az ELISA lemez összes tesztlyukába.

7. Mérjen be 50 µl-t a tesztelni kívánt plazmamintából a megfelelő tesztlyukakba (az ELISA lemez ajánlott elrendezését lásd a 2. ábrán).

8. Végül mérjen be 50 µl-t az 1–4. standard mindegyikéből a lemez megfelelő tesztlyukaiba (az ELISA lemez ajánlott elrendezését lásd a 2. ábrán). A standardokat legalább két párhuzamossal kell tesztelni.

	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. ábra: Az ELISA lemez ajánlott elrendezése. S1 (1. standard), S2 (2. standard), S3 (3. standard), S4 (4. standard). 1N (1. minta, Nil kontrollplazma), 1 TB1 (1. minta, TB1 plazma), 1 TB2 (1. minta, TB2 plazma), 1M (1. minta, Mitogen plazma).

9. Fedje le az ELISA lemezt, és keverje össze alaposan a konjugátumot és a plazmamintákat/standardokat mikrolemezrázóval 1 percen át, 500 és 1000 rpm közötti fordulatszámom. Kerülje a minták kifröccsenését.
10. Fedje le az ELISA lemezt, és inkubálja szobahőmérsékleten ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) 120 ± 5 percen át. Az ELISA lemezt az inkubálás alatt óvni kell a közvetlen napfénytől. A megadott hőmérséklet-tartománytól való eltérés hibás eredményekhez vezethet.
11. Az ELISA lemez inkubálása közben hígítsa készre a mosópuffert. Ehhez hígítson egy rész mosópuffer $20\times$ koncentrátumot 19 rész ioncserélt vagy desztillált vízzel, és keverje fel alaposan. A kit 2 liter készre hígított mosópuffer elkészítéséhez elegendő mosópuffer $20\times$ koncentrátumot tartalmaz.
12. Az ELISA lemez inkubálását követően mossa az ELISA-lemez tesztlyukait $400\text{ }\mu\text{l}$ készre hígított mosópufferrel. Legalább 6-szor végezze el a mosási lépést. Biztonsági okokból a plazmaminták kezeléséhez automata lemezmosó használata ajánlott.

Az assay megfelelő működéséhez nagyon fontos az alapos mosás. Ügyeljen rá, hogy minden lyuk minden mosási ciklusban színültig telítődjön a mosópufferrel. Ajánlott egy legalább 5 másodperces áztatási időt hagyni az egyes ciklusok között.

A szennyvíztartályba normál laboratóriumi fertőtlenítőszerrel kell tölteni, és a potenciálisan fertőző anyagot a szabályos eljárások szerint fertőtleníteni kell.

13. Ütögesse az ELISA lemezt lefordítva nedvszívó (kevésbé szálas) kendőre, hogy a maradék mosópuffer eltávozzon. Mérjen be 100 µl enzimszubsztrátoldatot a lemez minden mintahelyébe, fedje le a lemezt, és végezzen alapos keverést mikrolemezrázóval 1 percen keresztül, 500 és 1000 rpm közötti fordulatszámon.
14. Fedje le az ELISA lemezt, és inkubálja szobahőmérsékleten ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) 30 percen át. Az ELISA lemezt az inkubálás alatt óvni kell a közvetlen napfénytől.
15. A 30 perces inkubálást követően mérjen be 50 µl enzimleállító oldatot a lemez mindegyik mintahelyére ugyanabban a sorrendben, amiben a szubsztrátot is hozzáadta, és végezzen alapos keverést mikrolemezrázóval 500 és 1000 rpm közötti fordulatszámon.
16. A reakció leállítását követően 5 percen belül mérje meg az ELISA lemez tesztlyukaiban az optikai denzitás (OD) értékét egy 450 nm-es szűrővel és 620–650 nm-es referenciaszűrővel felszerelt mikrolemez-olvasóval. A teszteredményeket az OD-értékekből lehet kiszámolni.

Eredmények (számítások)

A nyers adatok elemzése és az eredmények kiszámítása a QFT-Plus Analysis Software elemzőszoftverrel végezhető el. A szoftver a www.qiagen.com webhelyen érhető el. Ügyeljen rá, hogy a QFT-Plus Analysis Software legfrissebb verzióját használja.

A szoftver „Az eredmények értelmezése” című fejezetben (30. oldal) leírtak szerint elvégzi az assay minőség-ellenőrzését, létrehozza a standard görbét és kiszámítja az egyes alanyok teszteredményét. A szoftver a 10 IU/ml-nél nagyobb koncentrációkat „> 10” értékkel lelejezi, mivel az ilyen koncentrációk meghaladják az ELISA assay validált lineáris tartományát.

A QFT-Plus Analysis Software alkalmazása helyett az eredmények az alábbi módszerrel is megállapíthatók.

A standard görbe létrehozása és a minták értékének meghatározása

QFT-Plus Analysis Software használata nélkül

A standard görbe felvételéhez és a minták IU/ml értékének meghatározásához táblázatkezelő program, például Microsoft® Excel® szükséges, ha nem használják a QFT-Plus Analysis Software elemzőszoftvert.

Táblázatkezelő program használata

1. Határozza meg minden lemezen a standardok párhuzamosainak átlagos OD-értékeit.
2. Szerkesszen egy $\log_{(e)}\text{--}\log_{(e)}$ standard görbét, amely az átlag OD $\log_{(e)}$ értékét ábrázolja (y tengely) a standardok IU/ml-ben kifejezett IFN- γ koncentrációja $\log_{(e)}$ értékének függvényében (x tengely), kihagyva a számításból a nullstandardot. Számítsa ki regresszióanalízissel a standard görbe legjobban illeszkedő egyenesét.
3. Állapítsa meg a standard görbe segítségével az egyes vizsgált plazmaminták IFN- γ koncentrációját (IU/ml) a hozzájuk tartozó OD értékből.
4. Ezeket a számításokat a mikrolemez-olvasóhoz tartozó szoftvercsomagokkal, valamint hagyományos táblázatkezelő vagy statisztikai szoftverekkel (például Microsoft Excel) is el lehet végezni. Ajánlatos ezeket a csomagokat használni a regresszióanalízis, valamint a standardokra vonatkozó variációs koefficiens (%CV) és a standard görbe korrelációs együtthatójának (r) kiszámításához.

A mintaeredmények kiszámítása

A standardok alábbi OD-értékei esetén a $\log_{(e)}$ alapú számítások a 2. táblázatban látható módon alakulnának.

2. táblázat: Standard görbe

Standard	IU/ml	a és b OD-érték	Átlag OD	%CV	$\log_{(e)}$ IU/ml	$\log_{(e)}$ átlag (OD)
1. standard	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
2. standard	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
3. standard	0,25	0,114, 0,136	0,125	n.a.	-1,386	-2,079
4. standard	0	0,034, 0,037	0,036	n.a.	n.a.	n.a.

A görbe egyenlete $y = 0,7885(X) - 0,9837$, ahol „m” = 0,7885 és „c” = -0,9837. Ezeket az értékeket helyettesítjük be az $X = (Y-c)/m$ egyenletbe az X kiszámításához. A standard görbe alapján a kiszámított korrelációs együttható (r) = 1,000. n.a.: nem alkalmazható.

„A teszt minőség-ellenőrzése” (28. oldal) című alfejezetben megadott követelmények alapján meg kell határozni, hogy érvényes-e az assay.

A standard görbe (2. táblázat) segítségével az antigén által kiváltott OD-reakciók átszámíthatók nemzetközi egységbe (IU/ml).

3. táblázat: A mintaeredmények kiszámítása

Antigén	OD-érték	Log _(e) OD-érték	X	e ^X (IU/ml)	Antigén – 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

Az TB1, TB2 és Mitogen cső IFN- γ értékéből (IU/ml) a háttér korrigálása érdekében ki kell vonni a megfelelő Nil kontrollal kapott IU/ml értéket. Ezeket a korrigált értékeket kell felhasználni a teszteredmények értelmezéséhez.

A teszt minőség-ellenőrzése

A teszteredmények pontossága a standard görbe pontosságától függ. Ezért a mintaeredmények értelmezését megelőzően ellenőrizni kell a standardokból származó eredményeket.

Az ELISA teszt érvényességének feltételei:

- Az 1. standardra vonatkozó OD átlagnak $\geq 0,600$ értékűnek kell lennie.
- Az 1. és 2. standard párhuzamosainak értékéhez tartozó %CV $\leq 15\%$.
- A 3. és 4. standard párhuzamosainak OD értéke nem mutathat 0,040 optikai denzitási egységnél nagyobb szórást az átlagértéktől.

- A standardok átlagos abszorpciós értékéből számított korrelációs együtthatónak (r) $\geq 0,98$ értékűnek kell lennie.
- Ha a fenti követelmények nem teljesülnek, akkor a teszt érvénytelen, és meg kell ismételni.
- A nullstandardhoz (zöld hígító) tartozó átlag OD-érték $\leq 0,150$ lehet. Ha az átlag OD-érték $> 0,150$, akkor felül kell vizsgálni a lemezmosási eljárást.

A QFT-Plus Analysis Software kiszámolja ezeket a minőség-ellenőrzési paramétereket, és jelentést készít róluk.

Minden laboratóriumnak a helyi, tagállami és uniós előírásokkal, illetve az egyéb illetékes akkreditáló szervezetek követelményeivel összhangban kell meghatározni a megfelelő típusú kontrollanyagokat és a tesztelés gyakoriságát. Meg kell fontolni külső minőség-ellenőrzés és alternatív validálási eljárások alkalmazását is.

Megjegyzés: A hozzáadott rekombináns IFN- γ -t tartalmazó plazmamintáknál akár 50%-os koncentrációcsökkenést is megfigyeltek 2–8 °C-on és –20 °C-on való tárolás esetén. Nem javasolt a rekombináns IFN- γ használata a kontrollstandardok létrehozásához.

Az eredmények értelmezése

A QFT-Plus eredményeit az alábbi szempontok szerint kell értelmezni (4. táblázat).

Fontos: A tuberkulózisbetegség diagnosztizálásához, illetve kizárásához, valamint az LTBI valószínűségének megállapításához a QFT-Plus eredményeinek értelmezésénél figyelembe kell venni az epidemiológiai, kórelőzményi, orvosi és diagnosztikus eredmények összességét. A tuberkulózisbetegség és LTBI diagnosztizálásának és kezelésének általános irányelveit lásd (<https://www.cdc.gov/tb/publications/guidelines/default.htm>).

4. táblázat: A QFT-Plus teszteredményeinek értelmezése

Nil (IU/ml)	TB1 mínusz Nil (IU/ml)	TB2 mínusz Nil (IU/ml)	Mitogen mínusz Nil (IU/ml)*	QFT-Plus eredménye	Lelet/értelmezés
≤ 8,0	≥ 0,35 és legalább a Nil 25%-a	Bármilyen	Bármilyen	Pozitív†	<i>M. tuberculosis</i> fertőzés valószínű
	Bármilyen	≥ 0,35 és legalább a Nil 25%-a			
	< 0,35 vagy ≥ 0,35 és kisebb a Nil 25%-ánál	< 0,35 vagy ≥ 0,35 és kisebb a Nil 25%-ánál	≥ 0,50	Negatív	<i>M. tuberculosis</i> -fertőzés NEM valószínű
	< 0,35 vagy ≥ 0,35 és kisebb a Nil 25%-ánál	< 0,35 vagy ≥ 0,35 és kisebb a Nil 25%-ánál	< 0,50	Nem eldönthető‡	Az <i>M. tuberculosis</i> -fertőzés valószínűsége nem határozható meg
> 8,0§	Bármilyen				

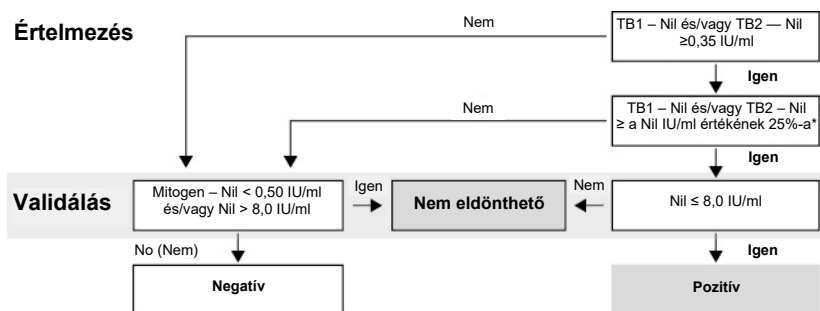
* A Mitogen pozitív kontrolljára (és olykor a TB-antigénre) kapott válaszcímértékek meghaladhatják a mikrolemez-olvasó mérési tartományát. Ez a teszteredményeket nem befolyásolja. A QFT-Plus szoftver a 10 IU/ml-nél magasabb értékek esetében a „> 10 IU/ml” eredményt jeleníti meg.

† Ha az *M. tuberculosis*-fertőzés gyanúja nem áll fenn, az először kapott pozitív eredményeket alá lehet támasztani az eredeti plazmaminták QFT-Plus ELISA segítségével végzett dupla ismételt tesztelésével. A teszteredmény pozitívnak minősül, ha az ismételt teszteléskor legalább az egyik párhuzamos pozitív.

‡ A lehetséges okokat a „Hibaelhárítási útmutató” című rész tárgyalja (66. oldal).

§ A klinikai vizsgálatokban az alanyoknak kevesebb mint 0,25%-ánál volt a Nil értéke > 8,0 IU/ml IFN-γ.

A mért IFN- γ szint magnitúdója nem mutat korrelációt a fertőzés stádiumával vagy előrehaladtával, az immunválaszkészség mértékével vagy az aktív betegséggé fejlődés valószínűségével. Ritkán fordul elő pozitív tuberkulózis válasz olyanoknál, akik Mitogen reakciója negatív, de már tapasztaltak ilyen tuberkulózisbetegeknél. Ez azt jelenti, hogy az IFN- γ válasz a TB tuberkulózis antigén esetén nagyobb, mint a Mitogen esetén, ami lehetséges, mivel a Mitogen szintje nem stimulálja maximálisan a limfociták IFN- γ termelését.



3. ábra: QFT-Plusz teszt értelmezése. * Ahhoz, hogy a TB1 mínusz Nil vagy a TB2 mínusz Nil értéke érvényes legyen, a Nil IU/ml értékének legalább 25%-a ugyanabból a csőből kell, hogy származzon, ahonnan az eredeti $\geq 0,35$ IU/ml eredmény.

Korlátozások

A QFT-Plus eredményeit az egyes személyek epidemiológiai kórtörténetével együtt, aktuális egészségi állapotával összhangban és az egyéb diagnosztikai szempontok figyelembevételével kell értékelni.

A 8 IU/ml értéket meghaladó Nil eredménnyel rendelkező egyének „nem eldönthető” besorolást kapnak, mert a TB antigénekre adott 25%-kal magasabb válasz meghaladhatja az assay mérési tartományát.

- A QFT-Plus pozitív eredményének az *M. tuberculosis*-fertőzés diagnosztizálásában való predikációs értéke a fertőzés valószínűségétől függ, amit körelőzményi, epidemiológiai, diagnosztikus és egyéb leletek alapján kell felmérni.
- Az LTBI diagnosztizálásához szükség van a tuberkulózisbetegség kizárására orvosi vizsgálatokkal, beleértve az aktuális orvosi és diagnosztikai betegségetszek alkalmazásával, az indikáció szerint.
- A negatív eredmény értékelésekor – különösen csökkent immunműködésű egyéneknél – figyelembe kell venni, hogy az egyén egészségi állapota és kórtörténete mennyire teszi valószínűvé az *M. tuberculosis*-fertőzést és a tuberkulózisbetegségé váló progresszió lehetséges kockázatot.

A megbízhatatlan vagy nem eldönthető eredmény okai a következők lehetnek:

- Eltérések a használati útmutatóban ismertetett eljárástól
- A vérminták nem megfelelő szállítása/kezelése
- Emelkedett keringő IFN- γ szint vagy heterofil antitestek jelenléte
- A validált időtartamnál hosszabb idő a vérvétel és az inkubáció között. Lásd a *QFT-Plus Blood Collection Tubes használati útmutatót* (1123668).

Teljesítményjellemzők

Klinikai vizsgálatok

Mivel az LTBI diagnózisának megerősítésére vagy kizárására nincs általánosan elfogadott módszer, a QFT-Plus szenzitivitásának és specificitásának meghatározására nincs gyakorlati eljárás. A QFT-Plus specificitását a tuberkulózisfertőzésre alacsony kockázatú betegek (azok, akiknél nem ismeretesek kockázati tényezők) álpozitív arányának értékelésével becsülték meg. Az érzékenység becsült értékét tenyésztéssel megerősített aktív tuberkulózisbetegséggel rendelkező vizsgálatialany-csoportok értékelésével határozták meg. Emellett az assay teljesítményét pozitívítási és negatívítási arányok szempontjából is értékelték egy egészséges alanyokból álló populációban, akiknél azonosították a tuberkulózisfertőzés kockázatát (kevert kockázatú populáció).

Specificitás

Elvégeztek egy multicentrikus vizsgálatot a QFT-Plus klinikai specificitásának értékelésére 733 vizsgálati alany bevonásával, akiknél vagy alacsony volt az *M. tuberculosis*-fertőzés kockázata, vagy nem álltak fenn a fertőzés- vagy betegségexpozíció kockázati tényezői. A tesztelés idején standardizált felméréssel tájékozódtek a résztvevők demográfiai adatairól és tuberkulóziskockázati tényezőiről. A vizsgálatot négy független vizsgálóhelyen végezték; egy az Amerikai Egyesült Államokban, kettő Japánban és egy Ausztráliában volt. A QFT-Plus tesztet összehasonlították a QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT) tesztel. A specificitási klinikai teljesítményadatok összefoglalását vizsgálóhelyenként és régióként rétegezve az 5. táblázat mutatja be. A teljesítményi eredmények az érvényes tesztek összes számán alapulnak. Nem volt nem eldönthető eredmény.

5. táblázat: A QFT-Plus specificitása az alacsony kockázatú populációban

Vizsgálóhely	N	Pozitív		Negatív		Nem eldönthető		Specificitás (95%-os CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
Amerikai Egyesült Államok									
(#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)
Japán									
(#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)
Összes Japán	322	4	7	318	315	0	0	98,76% (318/322) (96,85– 99,52)	97,83% (315/322) (95,6– 98,9)
Ausztrália									
(#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)

A QFT-Plus specificitása 98,11% volt az Amerikai Egyesült Államokban, 97,83% Japánban és 95,48% Ausztráliában. A QFT-Plus összesített specificitása 97,27% volt (713/733). A QFT specificitása 99,06% volt az Amerikai Egyesült Államokban, 98,76% Japánban és 95,98% Ausztráliában. A QFT összesített specificitása 98,09% volt (719/733).

Az eredmények TB antigén csőtípusonkénti bontásával és típusonkénti összesítésével bemutat egy példát a várt eredményekre az alacsony kockázatú populációban (6. táblázat).

6. táblázat: A QFT-Plusz specificitását kiértékelő vizsgálat eredményei TB-antigéncső szerint

Értelmezés alapja: TB antigén – Nil		QFT-Plusz (TB1 és/vagy TB2 alapján pozitív)*		
IU/ml az alábbiakban	TB1	TB2		Egyaránt pozitív TB1 és TB2 (alternatív elemzés)†
Pozitív	10	18	20	8
Negatív	723	715	713	725
Nem eldönthető	0	0	0	0
Specificitás (95%-os CI)	–	–	97,3% (713/733) (95,8–98,2)	–
Negativitási arány (95%-os CI)	98,6% (723/733) (97,5–99,3)	97,5% (715/733) (96,2–98,4)	–	98,9% (725/733) (97,9–99,5)

* A pozitívnak ítélt értelmezés alapja a TB-antigén – Nil cső értéke $\geq 0,35$ IU/ml mindkét esetben (TB1 és TB2) vagy valamelyik TB cső esetén, hogy megfeleljen a QFT-Plusz (TB1 vagy TB2) értelmezési kritériumainak.

† Az alternatív elemzés csak tájékoztatóként olvasható.

A TBC-fertőzés alacsony kockázatával rendelkező betegeknél 733 alanyból összesen 20 adott pozitív eredményt. Közülük mindössze 8 alanyból volt mind a TB1, mind a TB2 cső eredménye $> 0,35$ IU/ml. Elvégezték a QFT és a QFT-Plusz assay összehasonlítását az alacsony kockázatú vizsgálati csoportban, és 97,5% (715/733) teljes egyezést, valamint 98,3% (707/719) negatív százalékos egyezést kaptak.

Érzékenység

Bár az LTBI kimutatására nincs meghatározó szabványos teszt, az *M. tuberculosis* mikrobiológiai tenyésztése megfelelő helyettesítő módszer, mert a TBC-fertőzés a betegség szükségszerű prekuzora.

Egy multicentrikus vizsgálatot végeztek a QFT-Plus klinikai érzékenységének értékelésére 434 vizsgálati alany bevonásával, akik az aktív *M. tuberculosis* betegség jeleit és tüneteit mutatták és azt megerősítették tenyésztéssel és/vagy PCR-rel, és nem kaptak tuberkulózis elleni kezelést a vérvételt megelőző ≤ 14 napban. A vizsgálatot 7 független vizsgálóhelyen végezték; három az Amerikai Egyesült Államokban, három Japánban és egy Ausztráliában volt. A QFT-Plus tesztet összehasonlították a QuantiFERON-TB Gold inTube (QFT) teszttel. A szenzitivitási klinikai teljesítményadatokat összefoglalását vizsgálóhelyenként és országonként rétegezve a 7. táblázat mutatja be. A teljesítményi eredmények az érvényes tesztek összes számán alapulnak. A nem eldönthető eredmények gyakorisága a QFT esetében 2,3% (10/434), a QFT-Plus esetében pedig 2,5% (11/434) volt.

7. táblázat: A szenzitivitási vizsgálat klinikai teljesítményének összefoglalása vizsgálohely, ország szerint rétegezve és összesen

Vizsgálóhely	N	Pozitív		Negatív		Nem eldönthető		Érzékenység (95%-os CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
Amerikai Egyesült Államok									
(#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)
Összes Amerikai Egyesült Államok	53	47	47	6	6	0	0	88,7% (47/53) (77,4–94,7)	88,7% (47/53) (77,4–94,7)
Japán									
(#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)

A táblázat a következő oldalon folytatódik

Az előző oldalon lévő táblázat folytatása

7. táblázat: A szenzitivitási vizsgálat klinikai teljesítményének összefoglalása vizsgálohely, ország szerint rétegezve és összesen (folytatás)

Vizsgálóhely	N	Pozitív		Negatív		Nem eldönthető		Érzékenység (95%-os CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
(#6) JPN-1	177	159	157	12	15	6	5	92,98% (159/171) (88,14– 95,94)	91,28% (157/172) (86,11– 94,64)
Összes Japán	352	328	322	15	19	9	11	95,63% (328/343) (92,91– 97,33)	94,43% (322/341) (91,5– 96,4)
Ausztrália									
(#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)

A fenti táblázat elemzése nem tartalmazza a nem eldönthető eredményeket.

A QFT-Plus érzékenysége 88,7% volt az Amerikai Egyesült Államokban, 94,43% Japánban és 100,0% Ausztráliában. A QFT-Plus összesített érzékenysége 94,09% volt (398/423). A QFT érzékenysége 88,7% volt az Amerikai Egyesült Államokban, 95,63% Japánban és 96,43% Ausztráliában. A QFT összesített érzékenysége 94,81% volt (402/424).

Az eredmények TB antigén csőtípusonkénti bontásával és csövenkénti összesítésével bemutat egy példát a várt eredményekre az igazoltan TBC-fertőzéssel rendelkező populációban (8. táblázat).

8. táblázat: A QFT-Plus specifikusságát kiértékelő vizsgálat eredményei a TB-antigéncső szerint

Értelmezés alapja: TB antigén – Nil IU/ml	QFT-Plus (TB1 és/vagy TB2 alapján pozitív)		
	TB1	TB2	
Pozitív	388	397	398
Negatív	32	26	25
Nem eldönthető	14	11	11
Érzékenység* (95%-os CI)	–	–	94% (398/423) (91,4–96,0)
Pozitivitási arány* (95%-os CI)	92,4% (388/420) (89,4–94,6)	93,9% (397/423) (91,1–95,8)	–

* Kivéve a nem eldönthető értékeket.

Élvégezték a QFT és a QFT-Plus assay összehasonlítását a tenyésztéssel igazolt aktív tuberkulózissal rendelkező csoportban (érzékenységi vizsgálati csoport), és 95,9% teljes egyezést, valamint 97,3% (391/402) pozitív százalékos egyezést kaptak.

9. táblázat: QFT-Plus valószínűségi arányok (LR)

Vizsgálóhely*	Érzékenység	Specifititás	LR+	LR-
Ausztrália	100,00%	95,48%	22,11	0,00
Japán	94,43%	97,83%	43,44	0,06
Amerikai Egyesült Államok	88,68%	98,11%	47,00	0,12

* Összesen

Teljesítmény az MTB-fertőzés azonosított kockázati tényezőivel rendelkező alanyoknál (kevert kockázatú személyek)

Egy, a TBC-fertőzés kevert kockázati tényezőivel (pl. HIV-pozitivitás, aktív vagy látens TBC kezelése a kórelőzményekben, aktív tuberkulózisos esetnek való expozíció, kórházi egészségügyi dolgozói státusz stb.) rendelkező csoportban 601 személyt vizsgáltak meg a QFT és a QFT-Plus teszttel egyaránt. A kockázati tényezőket egy standardizált kérdőívvel mérték fel, és a személyek a bevonáskor nem mutattak aktív tuberkulózishoz kapcsolódó tüneteket. A demográfiai adatokat és a kockázati tényezőket a 10. táblázat mutatja be. Ebben a populációban 601-ből 68 alany (11,3%) adott pozitív QFT-Plus eredményt, a pozitív százalékos egyezés (Positive Percent Agreement, PPA) 98,44% volt, a negatív százalékos egyezés (Negative Percent Agreement, NPA) pedig 99,07% (11. táblázat). A QFT-Plus teszttel pozitív 68 alany csoportjában összesen 62 alany volt pozitív mind a TB1, mind a TB2 cső alapján, 2 alany volt pozitív csak a TB1 alapján, és 4 alany volt pozitív csak a TB2 alapján. Nem tapasztaltak nem eldönthető eredményeket (0/601).

10. táblázat: Demográfiai adatok és a TBC-fertőzés kockázatával összefüggő tényezők egy kevert csoportban

Összes alany (601)		Szám	Százalék
Nem	Férfi	539	89,7%
	Nő	62	10,3%
Életkor (év)	Tartomány	18–70	–
	Átlag	46,7	
BCG oltást kapott	Igen	15	2,5%
	Nem	586	97,5%
HIV pozitív vagy HTLV vírusokra pozitívan tesztelt	Igen	12	2,0%
	Nem	589	98%
Korábban már diagnosztizálták aktív tuberkulózissal	Igen	11	1,8%
	Nem	590	98,2%
Pozitív tuberkulin bőrtesztet (TST)/Mantoux-tesztet adott tuberkulózisra	Igen	47	7,8%
	Nem	554	92,2%
Valaha már kezelték aktív vagy látens tuberkulózis miatt	Igen	35	5,8%
	Nem	566	94,2%
Élt, dolgozott vagy önkénteskedett (> 1 hónapig) börtönben vagy fogdában	Igen	373	62,1%
	Nem	228	37,9%
Élt, dolgozott vagy önkénteskedett (> 1 hónapig) hajléktalanszállón	Igen	525	87,4%
	Nem	76	12,6%
Egészségügyi dolgozó	Igen	8	1,3%
	Nem	593	98,7%
Szoros kontaktja aktív tuberkulózissal vagy annak gyanújával rendelkező személynek	Igen	9	1,5%
	Nem	592	98,5%

11. táblázat: A QFT-Plus és a QFT teljesítményének összehasonlító összefoglalása a látens TBC-fertőzés ismert kockázati tényezőivel rendelkező alanyoknál

		QFT		
		Pozitív (+)	Negatív (-)	Összesen
QFT-Plus	Pozitív (+)	63	5*	68
	Negatív (-)	1*	532	533
	Összesen	64	537	601

*Mind a 6 ellentmondásos minta IFN- γ szintje közel esett a TB antigéncsök assay küszöbértékéhez.

A QFT és QFT-Plus közötti pozitív százalékos egyezés (PPA) és negatív százalékos egyezés (NPA) az alábbiak szerint alakult:

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

Az alábbi 12. táblázat bemutatja a QFT-Plus teljesítményét a QFT teszttel összehasonlítva BCG oltást kapott vizsgálati alanyoknál.

12. táblázat: A QFT-Plus teljesítménye a QFT teszttel összehasonlítva BCG oltást kapott vizsgálati alanyoknál (kombinált adatok az érzékenységi, specifikitási és LTBI vizsgálati alanyoktól)

		QFT		Összesen
		Pozitív (+)	Negatív (-)	
QFT-Plus	Pozitív (+)	66	5	71
	Negatív (-)	3	268	271
	Összesen	69	273	342*

* Az érzékenységi vizsgálat két alanyát nem eldönthető eredmény miatt kizárták az elemzésből

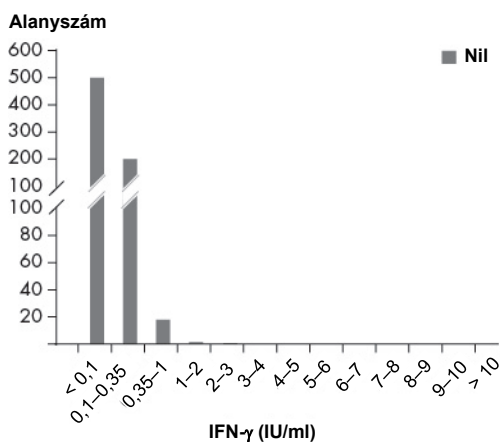
- PPA = 95,6% (66/69), 95%-os CI (87,98–98,51)
- NPA = 98,2% (268/273), 95%-os CI (95,79–99,22)

Várható értékek

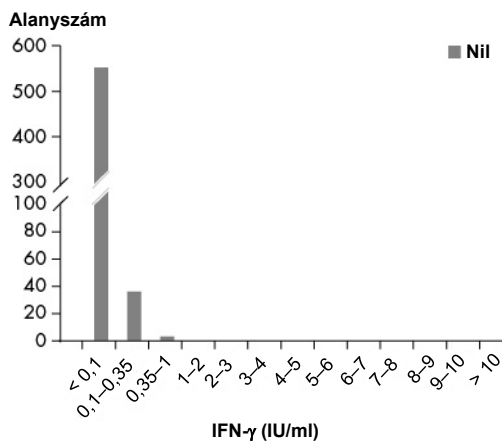
A megfigyelt reakciók eloszlása – kockázat szerinti rétegződés

Klinikai vizsgálatokban sokféle IFN- γ választ figyeltek meg a TB1, TB2 és kontrollcsövekre, és ezeket az *M. tuberculosis*-fertőzés kockázata szerint rétegezték (4. ábra – 7. ábra). A kevert kockázati csoportban az általános tesztelendő populáció eloszlásának megfelelő alanyok vannak, TB-kockázati tényezőknek kitétek és ki nem tettek is, és olyanok is, ahol az aktív TB nem valószínű (azaz, LTBI).

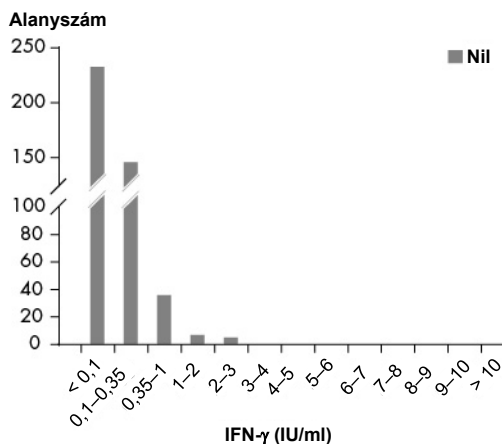
A



B

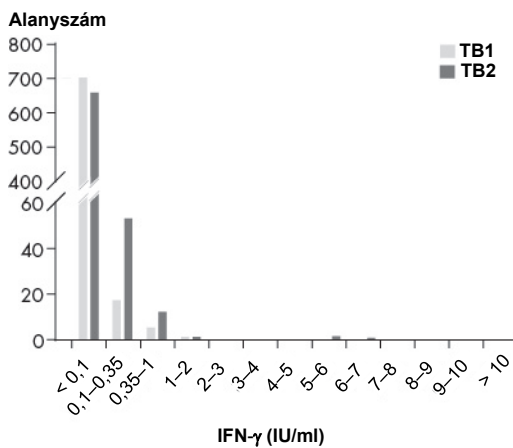


C

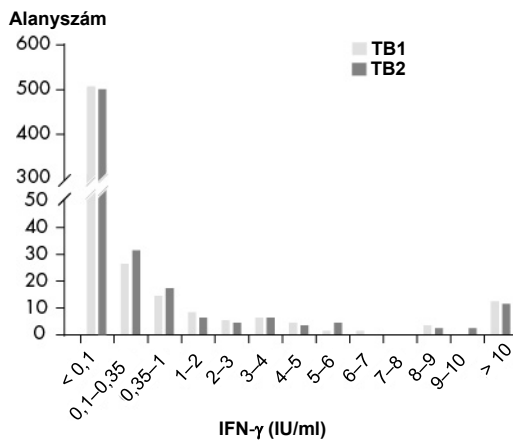


4. ábra: A Nil értékek eloszlása. **A** Nil értékek eloszlása alacsony kockázatú populációban (n = 744). **B** A Nil értékek eloszlása kevert kockázatú populációban (n = 601). **C** A Nil értékek eloszlása olyan populációban, ahol tenyésztéssel bizonyított az *M. tuberculosis*-fertőzés (n=416).

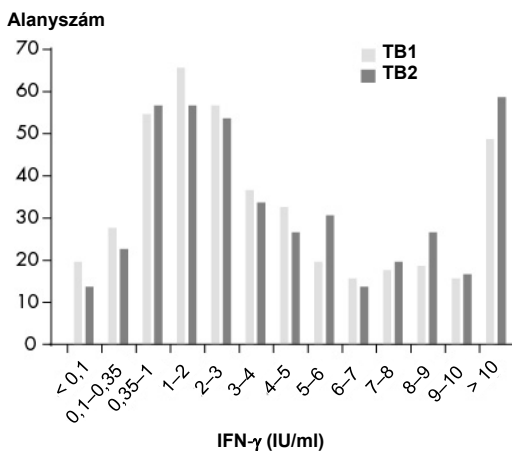
A



B

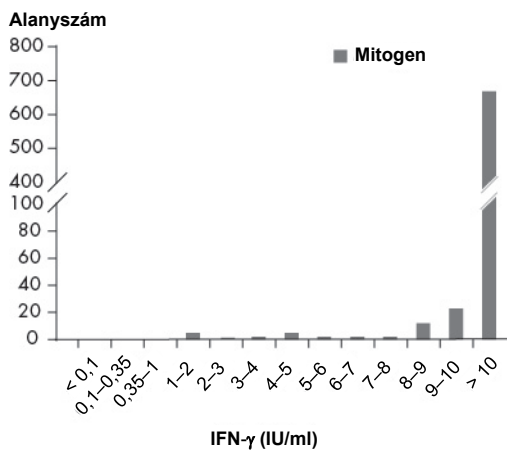


C

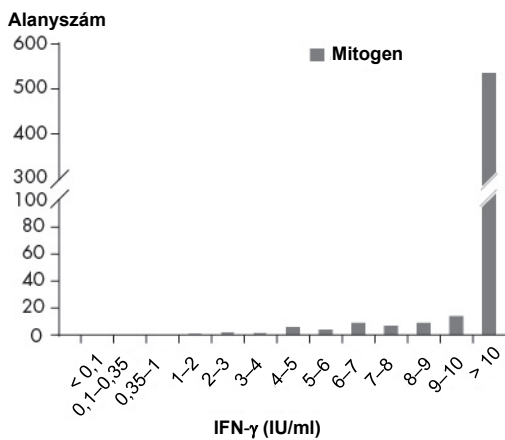


5. ábra: A TB1 és TB2 eloszlása (a Nil érték kivonása után). **A** A TB1 és TB2 értékek eloszlása (a Nil érték kivonása után) alacsony kockázatú populációban (n = 744). **B** A TB1 és TB2 értékek eloszlása (a Nil érték kivonása után) kevert kockázatú populációban (n = 601). **C** A TB1 és TB2 eloszlása (a Nil érték kivonása után) olyan populációban, ahol tenyésztéssel bizonyított az *M. tuberculosis*-fertőzés (n=416).

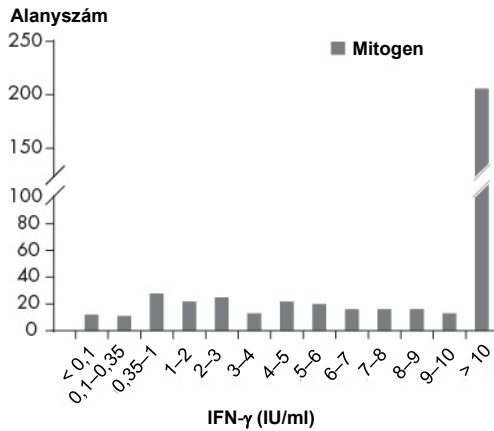
A



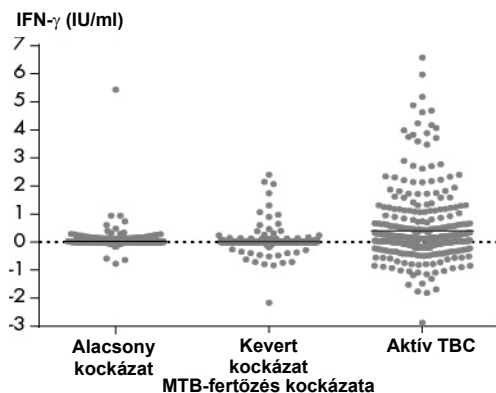
B



C



6. ábra: A Mitogen eloszlása (a Nil érték kivonása után). A Mitogen értékek eloszlása (a Nil érték kivonása után) alacsony kockázatú populációban (n = 744). B A Mitogen értékek eloszlása (a Nil érték kivonása után) kevert kockázatú populációban (n = 601). C A Mitogen értékek eloszlása (a Nil érték kivonása után) olyan populációban, ahol tenyésztéssel bizonyított az *M. tuberculosis*-fertőzés (n=415).



7. ábra: A megfigyelt különbség a TB1 és a TB2 értékek között (a Nil érték kivonása után), kockázat szerint rétegezve. A kevert kockázatú csoport vizsgálatából származó adatokat is tartalmaz,

így bemutatja a különbségeket az alacsony kockázatú, aktív kockázatú és kevert kockázatú csoportok között. Ebbe az adatelemzésbe bevonták az ismert kockázati tényezőkkel rendelkező kevert kockázatú csoportot. Így az alacsony kockázatú csoportból $n = 733$, a kevert kockázatú csoportból $n = 588$ és az aktív tuberkulózisos csoportból $n = 357$ alanyt vontak be. Az IU/ml-ben kifejezett kvantitatív különbséget az egyes alanyokra vonatkozóan a TB1 érték TB2 értékből történő kivonása után kapták meg.

A biztonság és a teljesítmény összefoglalása

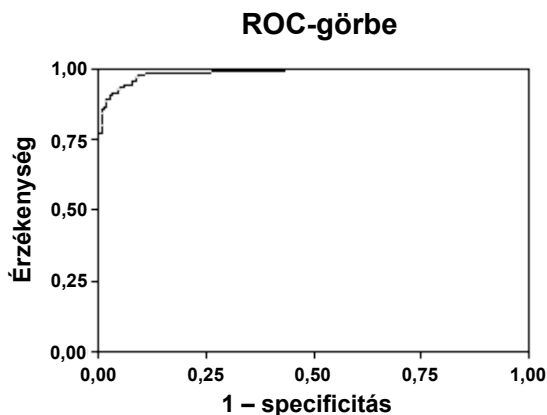
A biztonság és a teljesítmény összefoglalása az EUDAMED weboldalon található.

Az assay teljesítményjellemzői

Analitikai teljesítmény

Az assay küszöbértéke

A QFT-Plus assay küszöbértékének meghatározásához 216 olyan alanytól származó adatot használtak, akiknél nem azonosították a tuberkulózisexpozíció kockázati tényezőit, akik kaptak BCG oltást és azt feltételezték, hogy nem fertőzöttek, továbbá 118 olyan alanytól származó adatot, akiknél tenyésztéssel igazolták az *M. tuberculosis* fertőzést. Összevonták az érzékenységi és specifitási adatok, és a ROC-görbe (Receiver Operator Characteristic-görbe) segítségével elemezték. Az érzékenységi és specifitási adatok ROC-görbével való elemzése azt mutatta, hogy az ELISA optimális küszöbértéke 0,35 IU/ml (lásd 8. ábra).



8. ábra: Az ESAT-6 és CFP-10 válaszok ROC-görbéje.

13. táblázat: Az ELISA assay érzékenységi és specifikitási értékei különböző küszöbértékeknel

Küszöbérték, IU/ml IFN- γ	Érzékenység %	95%-os CI	Specifititás %	95%-os CI	Érzékenység + specifititás
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

A táblázat a következő oldalon folytatódik

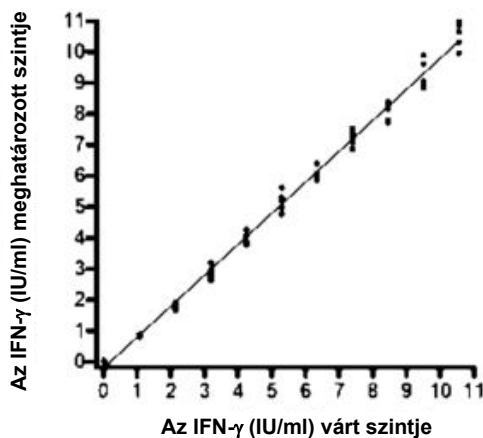
Az előző oldalon lévő táblázat folytatása

13. táblázat: Az ELISA assay érzékenységi és specifikitási értékei különböző küszöbértékeknel

Küszöbérték, IU/ml IFN- γ	Érzékenység %	95%-os CI	Specifititás %	95%-os CI	Érzékenység + specifititás
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

Linearitás

A QFT-Plus ELISA linearitását úgy bizonyították, hogy 11 ismert IFN- γ koncentrációjú plazmaforrás 5 párhuzamos mintáját helyezték véletlenszerűen az ELISA lemezre. A lineáris regressziós egyenes meredeksége $1,002 \pm 0,011$, korrelációs együtthatója 0,99 volt (9. ábra).



9. ábra: A linearitás vizsgálatához használt regresszióanalízis bemutatása – Magas poolozott átlag = $-0,24 + 0,9964 \cdot$ várt.

Reprodukálhatóság

Elvégeztek egy multicentrikus reprodukálhatósági vizsgálatot a QFT-Plus teljesítményének értékelésére a különböző vizsgálóhelyek és különböző kezelők esetében. Ez egy prospektív vizsgálat volt, amit három külső vizsgálati helyszínen és egy gyűjtőhelyszínen végeztek. Összesen 32 pozitív és 34 negatív vizsgálati alanyt vontak be (a QFT teszttel meghatározva). A vizsgálat alanyai az Amerikai Egyesült Államokban tevékenykedő egészségügyi dolgozók voltak. A vizsgálati alanyok kevert kockázatú TBC-expozíciós csoportnak minősültek a foglalkozásukból kifolyólag, illetve mert külföldön, 50/100 000 TBC-arányt meghaladó területen született egészségügyi dolgozók.

Minden vizsgálati alanytól három lítium-heparinos vérvételi csőbe vettek mintát. A lítium-heparinos vérvételi csöveket egyenként eljuttatták a három vizsgálati helyszín mindegyikére, ahol két készletnyi QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csőbe alikvotoltak minden mintát (QFT-Plus TB1, TB2, Mitogen és Nil cső), majd a QFT-Plus assay eljárásának megfelelően tesztelték azokat. Minden egyes vizsgálóhelyen legalább két kezelő futtatta le egymástól függetlenül a vizsgálati alanyonkénti két tesztet. A kezelőnek nem volt tudomása a másik kezelő által kapott eredményekről és a vizsgálati alanyok QFT teszteredményéről sem.

A 66 vizsgálati alany mindegyikénél a három vizsgálóhelyen összesen hat eredmény keletkezett, így összességében 396 adatpont állt rendelkezésre. A reprodukálhatósági összefoglaló eredmények összefoglalását a 14. táblázat tartalmazza.

14. táblázat: A reprodukálhatósági vizsgálat eredményeinek összefoglalása – a kvalitatív eredmények vizsgálóhelyen belüli %-os egyezése a különböző kezelőknél; N = 66 betegminta

1. vizsgálóhely – 2 kezelő	2. vizsgálóhely – 2 kezelő	3. vizsgálóhely – 3 kezelő
64/66 = 96,97%	64/66 = 96,97%	59/66 = 89,39%
Az 1. csőkészlet és a 2. csőkészlet kvalitatív eredményeinek egyezése	Az 1. csőkészlet és a 2. csőkészlet kvalitatív eredményeinek egyezése	Az 1. csőkészlet és a 2. csőkészlet kvalitatív eredményeinek egyezése

A kvalitatív százalékos egyezés az összes vizsgálóhely között 94,7% (375/396) volt. Ebben a számításban az egyező teszteredmények összes számába (375) beletartozik azon esetek összesített száma, ahol mind a 6 eredmény megegyezett, a 6-ból 5 eredmény egyezett, a 6-ból 4 eredmény egyezett, valamint a 6-ból 3 eredmény egyezett.

Tételek közötti megismételhetőség

Vizsgálatot végeztek a QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csövek tételek közötti variabilitásának meghatározására a QFT csövekkel összehasonlítva. Összesen 30 (QFT teszttel meghatározva 15 igazoltan TBC-pozitív és 15 igazoltan TBC-negatív) vizsgálati alanyt vizsgáltak meg. A vizsgálatban három különböző tételből származó QFT-Plus TB1, TB2 és QFT TB Blood Collection Tubes vérvételi csöveket használtak. Donoronként és vérvételi csövenként három párhuzamost vizsgáltak. A Nil és a Mitogen csövet egy-egy példányban vizsgálták.

Az egyes alanyoktól lítium-heparinos vérvételi csövekbe vettek vérmintát, majd 1–1 ml vért átvittek a QFT-Plus és QFT Blood Collection Tubes vérvételi csövekbe, majd az assay eljárásának megfelelően vizsgálták. Minden egyes pozitív és negatív mintacsoportnál a QFT-Plus csőeredmények összvariáciája nem lehetett szignifikánsan magasabb, mint a QFT csőeredmények összvariáciája. Ezt a Levene-féle varianciahomogenitási (HOV) próba által meghatározott p-értékből adták meg. Ha a p-érték nem volt szignifikáns ($p > 0,05$) és/vagy a QFT-Plus TB csövek eltérése alacsonyabb volt, mint a QFT TB csövéké, akkor eltérés volt a QFT-Plus és a QFT TB csövek között.

15. táblázat: A variációk összehasonlítása a QFT-Plus és a QFT TB Blood Collection Tubes vérvételi csöveknél a Levene-féle HOV próba alkalmazásával

Minta típusa	Különbség	Hatás	Függő	p-érték	Szignifikáns
Pozitív	TB2 vs. QFT	Sub_Type	Reziduális	0,0378	Igen
Pozitív	TB2 vs. QFT	Sub_Type	Reziduális	0,0540	Nem
Negatív	TB2 vs. QFT	Sub_Type	Reziduális	0,1025	Nem
Negatív	TB2 vs. QFT	Sub_Type	Reziduális	0,6344	Nem

A QFT-Plus és a QFT TB Blood Collection Tubes vérvételi csövek közötti eltérés nem volt szignifikáns a QFT-Plus TB2 csövek kivételével, amikor azokat pozitív alanyoknál vizsgálták. Amikor a szórás becslését elemezték, a QFT-Plus TB2 csőben látott eltérés kisebb volt (0,06089), mint a QFT TB cső esetén (0,07641), amint az a 16. táblázatban látható. Ezért a QFT-Plus TB1 és TB2 Blood Collection Tubes vérvételi csövek variáciája nem volt nagyobb, mint a QFT TB Blood Collection Tubes vérvételi csövéké.

16. táblázat: A maradék szórása és a pozitív alanyok 95%-os konfidenciaintervalluma

Minta típusa	Altípus	Szórás becslése	95%-os felső konfidenciaszint	95%-os alsó konfidenciaszint
Pozitív	QFT	0,07641	0,06826	0,08680
Pozitív	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Pozitív	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

Tételen belüli ismételhetőség

Elvégeztek egy vizsgálatot a QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csövek tételen belüli reprodukálhatóságának felmérésére, a párhuzamosan végzett QFT-Plus TB Blood Collection Tubes vérvételi csövek IFN- γ koncentrációjának összehasonlításával.

Igazolt TBC-fertőzéssel rendelkező azonos alanyok egy vérmintájának hat alikvotját mindkét QFT-Plus Tubes csőkészlet (TB1 és TB2) 6 különböző tételszámú vérvételi csövében ismételve futtatták. A vizsgálatot 13 alanyal végezték el. Minden donornál és a donorok között is kiszámították a %CV-értéket, így megkapták a 17. táblázatban látható % CV-értékeket.

17. táblázat: Az átlag, szórás, minimum, medián és maximum %CV-értéke minden egyes QFT-Plus TB Blood Collection Tubes vérvételi csőben a tuberkulózis-pozitív alanyoknál

QFT-Plus Cső	Minta mennyisége	Átlag (%CV)	Szórás	Minimum	Középpérték	Maximum
TB1	13	13,31	6,88	4,17	12,87	29,56
TB2	13	13,04	7,48	4,86	10,75	29,44

Az eredmények igazolták, hogy az átlag %CV-értéke a TB1 és TB2 csőnél körülbelül 13% volt, ami megfelel a $\leq 30\%$ elfogadási kritériumnak, és bizonyítja a tételen belüli ismételhetséget.

Vakminta-határérték (Limit of Blank, LoB)

Meghatározták a QFT-Plus assay esetén a vakminta-határértéket (Limit of Blank, LoB). 14 különböző, normál humán plazmamintából (mint vakmintából) mintánként két párhuzamost vizsgáltak a QFT-Plus ELISA assay 2 tételével, 3 kezelő bevonásával, 3 vizsgálati napon; minden vizsgálati napon egy-egy kezelő végezte a tesztelést, és az ELISA kit egyes tételeivel összesen 84 párhuzamost vizsgáltak.

Az ELISA kit 2 tételének LoB-értékét (IU/ml) külön számították ki; az eredmények a 18. táblázatban láthatók.

18. táblázat: A QFT-Plus ELISA Kit 2 tételének LoB-értékei (IU/ml)

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

A QFT-Plus ELISA Kit két tételénél kapott LoB-értékek közül a nagyobbat (0,040 IU/ml) adták meg a végső LoB-értékként.

Kimutatási határ (LoD)

Meghatározták a QFT-Plus assay esetén a kimutatási határértéket (Limit of Detection, LoD). 14 különböző plazmaminta kombinálásával létrehoztak egy TB-negatív humán plazmapoolt. Pufferrel végzett hígítással mindhárom kezelő létrehozott egy 1,0 IU/ml koncentrációjú IFN- γ referenciastandardot. Ezután 8 koncentrációból álló hígítási sorozatot készítettek. A vizsgálatot 3 napon keresztül, felváltva 3 kezelővel, a QFT-Plus ELISA Kit 2 tételének felhasználásával végezték. Minden vizsgálati napon 5 párhuzamost teszteltek az összes hígítási sorozat valamennyi koncentrációjából, így a különböző koncentrációjú IFN- γ hígítások mindegyikéből a QFT-Plus ELISA Kit egyes tételeivel összesen 45 párhuzamost vizsgáltak.

A QFT-Plus ELISA Kit vizsgált tételeinek LoD-értékét külön számították ki; az eredmények a 19. táblázatban láthatók.

19. táblázat: A QFT-Plus ELISA Kit 2 tételének becsült LoD-értékei (IU/ml)

QFT-Plus ELISA Kit	Valószínűség	Becsült koncentráció (IU/ml)	Becslés 95%-os konfidenciaintervallumának alsó határa	Becslés 95%-os konfidenciaintervallumának felső határa
1. kit	0,95	0,063	0,060	0,067
2. kit	0,95	0,065	0,060	0,073

A QFT-Plus ELISA Kit két tételénél kiszámított LoD-értékek közül a nagyobbat (0,065 IU/ml) adták meg a végső LoD-értékként.

Zavaró anyagok

Vizsgálatot végeztek annak meghatározására, hogy milyen hatással vannak az esetleges zavaró anyagok a QFT-Plus ELISA assay-vel végzett IFN- γ kimutatásra. A következő zavaró anyagokat vizsgálták: trigliceridek (összes), hemoglobin, fehérje (szérum összfehérje), bilirubin (konjugált), bilirubin (nem konjugált), abakavir-szulfát, ciklosporin és prednizolon. Öt, ismert IFN- γ koncentrációjú plazmapoolt készítettek, amelyekben különböző koncentrációkban voltak jelen a zavaró anyagok. Az alappool IFN- γ szintjét már korábban beállították előre meghatározott mennyiségű IFN- γ felhasználásával (körülbelül 0,21, 0,45 és 1,4 IU/ml). Ezt követően ebből a poolból készítették el a zavaró anyagot tartalmazó poolokat. A zavaró anyagokat a következő koncentrációkban vizsgálták: 0 mg/dl, 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl és 20 mg/dl. A zavaró anyagok célkoncentrációit a referenciatartományok, a patológiás értékek, a terápiás tartományok, a mérgező tartományok, illetve a gyártó ajánlásai vagy az általános klinikai szintek alapján határozták meg. A különböző koncentrációjú, zavaró anyagot tartalmazó mintákat hat-hat párhuzamossal tesztelték.

Mindegyik mintakonzentrációnál kétmintás vizsgálatot végeztek, amelynek során összehasonlították a zavaró anyag elsődleges szintjénél kapott átlag log₁₀-értékét (IU/ml) a kontrollal (vagyis a zavaró anyagot nem tartalmazó koncentrációval) kapott értékkel, ahogyan a 20. és a 21. táblázat mutatja. A reakcióértékek átlagának becsült eltérése mellett a kapcsolódó kétoldali 95%-os konfidenciaintervallumot és a p-értéket is meghatározták.

20. táblázat: Log10 IU/ml: A t-próba összefoglaló táblázata a kontrollal kapott átlagok és a zavaró anyag elsődleges szintjénél kapott átlagok különbségére vonatkozóan az egyes zavaró anyagok és az IFN- γ egyes koncentrációi esetén

Zavaró anyag	Zavaró anyag szintje	Mintakoncentráció (IU/ml)	Variancia	Átlagok közötti eltérés	Alsó 95%-os CI	Felső 95%-os CI	p-érték	Sikeres
Trigliceridek	Magas	1,4	Egyenlő	0,019	-0,040	0,077	0,491	Igen
		0,45	Egyenlő	0,004	-0,022	0,030	0,732	Igen
		0,21	Egyenlő	0,006	-0,035	0,047	0,759	Igen
Hemoglobin	Magas	1,4	Egyenlő	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Igen
		0,45	Egyenlő	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Igen
		0,21	Egyenlő	0,000	-0,034	0,035	0,980	Igen
Fehérje	Magas	1,4	Egyenlő	0,004	-0,034	0,042	0,836	Igen
		0,45	Egyenlő	0,001	-0,38	0,040	0,962	Igen
		0,21	Egyenlő	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Igen
Konjugált bilirubin	Magas	1,4	Egyenlő	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Igen
		0,45	Egyenlő	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Igen
		0,21	Egyenlő	-0,014	0,074	0,046	0,625	Igen
Nem konjugált bilirubin	Magas	1,4	Egyenlő	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Igen
		0,45	Egyenlő	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Igen
		0,21	Egyenlő	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Igen
Abakavir	Magas	1,4	Egyenlő	0,008	-0,025	0,041	0,601	Igen
		0,45	Egyenlő	0,012	-0,019	0,044	0,412	Igen
		0,21	Egyenlő	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Igen

A táblázat a következő oldalon folytatódik

Az előző oldalon lévő táblázat folytatása

20. táblázat: Log₁₀ IU/ml: A t-próba összefoglaló táblázata a kontrollal kapott átlagok és a zavaró anyag elsődleges szintjénél kapott átlagok különbségére vonatkozóan az egyes zavaró anyagok és az IFN- γ egyes koncentrációi esetén

Zavaró anyag	Zavaró anyag szintje	Mintakonzentráció (IU/ml)	Variancia	Átlagok közötti eltérés	Alsó 95%-os CI	Felső 95%-os CI	p-érték	Sikeres
Ciklosporin	Magas	1,4	Egyenlő	0,014	-0,020	0,047	0,383	Igen
		0,45	Egyenlő	0,005	-0,035	0,045	0,773	Igen
		0,21	Egyenlő	0,024	-0,008	0,056	0,131	Igen
Prednizolon	Magas	1,4	Egyenlő	0,017	-0,017	0,050	0,293	Igen
		0,45	Egyenlő	0,000	-0,036	0,036	0,979	Igen
		0,21	Egyenlő	0,015	-0,035	0,065	0,524	Igen

21. táblázat: Log10 IU/ml: A t-próba összefoglaló táblázata a kontrollal kapott átlagok és a zavaró anyag magas szintjénél kapott átlagok különbségére vonatkozóan az egyes zavaró anyagok és az IFN- γ egyes koncentrációi esetén

Zavaró anyag	Zavaró anyag szintje	Mintakonzentráció (IU/ml)	Variancia	Átlagok közötti eltérés	Alsó 95%-os CI	Felső 95%-os CI	p-érték	Sikeres
Trigliceridek	Magas	1,4	Egyenlő	0,053	-0,004	0,110	0,063	Igen
		0,45	Egyenlő	0,039	-0,021	0,058	< 0,001	Igen
		0,21	Egyenlő	0,034	-0,002	0,071	0,061	Igen
Hemoglobin	Magas	1,4	Egyenlő	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Igen
		0,45	Egyenlő	0,016	-0,007	0,040	0,152	Igen
		0,21	Egyenlő	0,014	-0,030	0,059	0,489	Igen
Fehérje	Magas	1,4	Egyenlő	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Igen
		0,45	Egyenlő	0,000	-0,046	0,046	0,992	Igen
		0,21	Egyenlő	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Igen
Konjugált bilirubin	Magas	1,4	Egyenlő	0,001	-0,046	0,048	0,961	Igen
		0,45	Egyenlő	0,012	-0,043	0,067	0,639	Igen
		0,21	Egyenlő	0,015	-0,044	0,074	0,586	Igen
Nem konjugált bilirubin	Magas	1,4	Egyenlő	0,015	-0,011	0,042	0,231	Igen
		0,45	Egyenlő	0,015	-0,023	0,052	0,411	Igen
		0,21	Egyenlő	0,012	-0,033	0,057	0,566	Igen
Abakavir	Magas	1,4	Egyenlő	0,013	-0,015	0,040	0,322	Igen
		0,45	Egyenlő	0,015	-0,014	0,044	0,283	Igen
		0,21	Egyenlő	0,008	-0,034	0,050	0,677	Igen

A táblázat a következő oldalon folytatódik

Az előző oldalon lévő táblázat folytatása

21. táblázat: Log₁₀ IU/ml: A t-próba összefoglaló táblázata a kontrollal kapott átlagok és a zavaró anyag magas szintjénél kapott átlagok különbségére vonatkozóan az egyes zavaró anyagok és az IFN- γ egyes koncentrációi esetén

Zavaró anyag	Zavaró anyag szintje	Mintakonzentráció (IU/ml)	Variancia	Átlagok közötti eltérés	Alsó 95%-os CI	Felső 95%-os CI	p-érték	Sikeres
Ciklosporin	Magas	1,4	Egyenlő	0,002	-0,019	0,024	0,816	Igen
		0,45	Egyenlő	0,007	-0,030	0,043	0,682	Igen
		0,21	Egyenlő	0,015	-0,007	0,038	0,155	Igen
Prednizolon	Magas	1,4	Egyenlő	0,007	-0,016	0,030	0,518	Igen
		0,45	Egyenlő	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Igen
		0,21	Egyenlő	0,021	-0,025	0,068	0,334	Igen

Az eredmények nem mutattak szignifikáns eltérést a zavaró anyag elsődleges szintje és a kontroll (zavaró anyagot nem tartalmazó koncentráció) között, illetve a zavaró anyag magas szintje esetén sem, kivéve a trigliceridet a 0,45 IU/ml koncentrációnál. Az átlagok közötti eltérés a meghatározás alapján a +/- 2 szórési tartományon belül volt. Ez azt igazolja, hogy a különbség az assay várt variabilitásán belül van, valamint hogy a triglicerid nem zavarta a QFT-Plus ELISA assay-t.

Ártalmatlanítás

Be kell tartani a vonatkozó vérmintakezelési előírásokat. A vérminták, valamint a vérrel és vérkészítményekkel érintkező anyagok hulladékkezelését mindig a helyi, tagállami és uniós előírások szerint végezze.

Hivatkozások

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.

Hibaelhárítási útmutató

Ez a hibaelhárítási útmutató bármely felmerülő hiba esetén segíthet a megoldásban. Műszaki segítségnyújtásért és további információkért tekintse meg műszaki támogatásunk weboldalát a www.qiagen.com/Support címen (a kapcsolatfelvételi adatokért látogasson el a www.qiagen.com weboldalra).

Megjegyzések és javaslatok

ELISA – hibaelhárítás

Nem specifikus szín kialakulása

- | | |
|---|---|
| a) A lemez nem megfelelő mosása | A lemezt legalább 6 alkalommal kell mosni, tesztlyukanként 400 µl mosópufferrel. Az alkalmazott mosóberendezéstől függően 6-nál több mosási ciklusra is szükség lehet. Ajánlott legalább 5 másodperces áztatási időt hagyni az egyes ciklusok között. |
| b) Az ELISA lemez tesztlyukai közötti keresztzennyeződés | A kockázat minimalizálása érdekében legyen óvatos a minták pipettázásakor és keverésekor. |
| c) A kit vagy összetevői lejártak | Ügyeljen rá, hogy a kítet a lejáratási időn belül használja fel. A rehidratált standardot és konjugátum 100× koncentrátumot a rehidratálás dátumát követő három hónapon belül fel kell használni. |
| d) Az enzimszubsztrátoldat szennyezett | Kékes elszíneződés esetén a szubsztrátot ártalmatlanítani kell. Ügyeljen a reagenstartályok tisztaságára. |
| e) Elválasztás előtt felkeveredett a plazma a QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csövekben | A centrifugálás és az elválasztás között el kell kerülni a plazma felkeverését a pipetta fel-le mozgatásával vagy bármilyen más módon. A teljes eljárás során meg kell őrizni a gélfelület sértetlenségét. |

Megjegyzések és javaslatok

Alacsony optikai denzitási értékek a standardoknál

- a) Standardhígítási hiba Ügyeljen rá, hogy a jelen használati útmutató szerint történjen a kit standardjának hígítása.
- b) Pipettázási hiba A pipettákat mindig a gyártói utasítások betartásával kell kalibrálni és alkalmazni.
- c) Túl alacsony inkubációs hőmérséklet Az ELISA inkubálását szobahőmérsékleten ($22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$) kell végezni.
- d) Túl rövid inkubációs idő A konjugátumot, a standardokat és a mintákat tartalmazó lemezt 120 ± 5 percen át kell inkubálni. Az enzimszubsztrátoldatot 30 percen át kell a lemezen inkubálni.
- e) Nem megfelelő szűrő a lemez leolvasásánál A lemez leolvasását 450 nm-en kell végezni, 620–650 nm-es referenciaszűrővel.
- f) Túl hideg reagensek A konjugátum 100× koncentrátum kivételével minden reagenst szobahőmérsékletre kell hozni az assay megkezdését megelőzően. Ehhez körülbelül 1 óra szükséges.
- g) A kit vagy összetevői lejártak Ügyeljen rá, hogy a kitet a lejáratási időn belül használja fel. A rehidratált standardot és konjugátum 100× koncentrátumot a rehidratálás dátumát követő 3 hónapon belül fel kell használni.

Magas háttérérték

- a) A lemez nem megfelelő mosása A lemezt legalább 6 alkalommal kell mosni, tesztlyukanként 400 µl mosópufferrel. Előfordulhat, hogy 6-nál több mosási ciklusra van szükség. Ajánlott legalább 5 másodperces áztatási időt hagyni az egyes ciklusok között.
- b) Túl magas inkubációs hőmérséklet Az ELISA inkubálását szobahőmérsékleten ($22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$) kell végezni.

Megjegyzések és javaslatok

- c) A kit vagy összetevői lejártak Ügyeljen rá, hogy a kitet a lejáratási időn belül használja fel. A rehidratált standardot és konjugátumot 100× koncentrátumot a rehidratálás dátumát követő három hónapon belül fel kell használni.
- d) Az enzimszubsztrátoldat szennyezett Kékes elszíneződés esetén a szubsztrátot ártalmatlanítani kell. Ügyeljen a reagenstartályok tisztaságára.

Nem lineáris standard görbe és a párhuzamosok közti variabilitás

- a) A lemez nem megfelelő mosása A lemezt legalább 6 alkalommal kell mosni, tesztlyukanként 400 µl mosópufferrel. Előfordulhat, hogy 6-nál több mosási ciklusra van szükség. Ajánlott legalább 5 másodperces áztatási időt hagyni az egyes ciklusok között.
- b) Standardhígítási hiba Ügyeljen rá, hogy a jelen használati útmutató szerint történjen a standard hígítása.
- c) Elégtelen keverés A reagenseket a lemezre mérésük előtt alaposan fel kell keverni átfordítással vagy óvatos vortexeléssel.
- d) Nem egyenletes pipettázás vagy az assay előkészítésének megszakítása A minták és a standardok bemérését folyamatosan kell végezni. Minden reagenst elő kell készíteni az assay megkezdése előtt.

Szimbólumok

A használati útmutatóban, a csomagoláson és a címkéken a következő szimbólumok szerepelnek:

Szimbólum

Szimbólum meghatározása



<N>

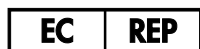
<N> reakcióhoz elegendő reagenst tartalmaz



Lejárat dátum



Ez a termék megfelel az in vitro diagnosztikai orvostechnikai eszközökre vonatkozó 2017/746 számú európai rendelet követelményeinek.



Hivatalos képviselő az Európai Közösségben/Európai Unióban



In vitro diagnosztikai orvostechnikai eszköz



Katalógusszám



Tételszám



Anyagszám (azaz az összetevők címkéje)



Összetevők



Tartalom



Szám



Globális kereskedelmi áruazonosító szám

R_n

Az R a használati útmutató átdolgozását, az n pedig az átdolgozás számát jelöli

Szimbólum

Szimbólum meghatározása



Hőmérsékleti korlátozás



Gyártó



Olvassa el a használati utasítást



Fénytől védve tárolandó



Vigyázat/figyelem vagy Figyelem, olvassa el a mellékelt dokumentumokat

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

Egy in vitro diagnosztikai teszt, amelyben ESAT-6 és CFP-10 proteineket szimuláló peptidkeverék stimulálja a sejteket a heparinizált teljes vérben.



Állati eredetű biológiai anyagot tartalmaz



Humán eredetű biológiai anyagot tartalmaz

Szimbólum

Szimbólum meghatározása

UDI

Egyedi eszközazonosító

tartrazine

Tartrazint tartalmaz

sulfuric acid

Kénsavat tartalmaz

„A” függelék: Technikai tudnivalók

Nem eldönthető eredmények

A nem eldönthető eredmény ritka jelenség, és a tesztalany (5) immunállapota mellett számos technikai tényező is okozhatja (pl. a vérvételi csövek nem megfelelő kezelése/tárolása, az ELISA lemez nem megfelelő mosása), ha nem tartják be a fenti használati útmutatót.

A reagensek tárolásakor, a vérminták levételekor vagy kezelésekor elkövetett technikai hibák gyanúja esetén meg kell ismételni új vérmintával a teljes QFT-Plus tesztet. Nem megfelelő mosás vagy az előírt ELISA műveletsortól való bármely eltérés gyanúja esetén a stimulált plazmák ELISA tesztelését meg kell ismételni. Az orvos belátása szerint dönthet új minta levételéről vagy más eljárás végrehajtásáról.

Alvadt plazmaminták

A plazmaminták hosszú időn át való tárolásakor fibrinalvadékok kialakulása esetén centrifugálja a mintát a vérrögök ülepitéséhez és a plazma pipettázásának megkönnyítéséhez.

Lipémiás plazmaminták

A lipémiás mintákat óvatosan kell pipettázni, mivel a zsírlerakódások eltömíthetik a pipettahegyeket.

„B” függelék: Rövidített ELISA teszteljárás

1. Legalább 60 percen keresztül engedje, hogy az ELISA összetevői a konjugátum 100× koncentrátum kivételével felvegyék a szobahőmérsékletet.



2. Rehidratálja a kitben található standardot 8,0 IU/ml koncentrációra desztillált vagy ioncserélt vízzel. Készítsen négy (4) hígítást a standardból.

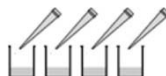


3. Rehidratálja a liofilizált konjugátum 100× koncentrátumot desztillált vagy ioncserélt vízzel.

4. Hígítsa készre a konjugátumot a zöld hígítóval, majd mérjen belőle 50 µl mennyiséget minden tesztlyukba.



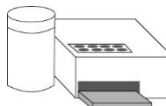
5. Töltsön 50 µl tesztplazmamintát és 50 µl standardot a megfelelő lyukakba. Keverje fel a rázógéppel.



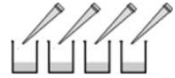
6. Inkubálja 120 percig szobahőmérsékleten.



7. Mossa a tesztlyukakat legalább 6 alkalommal, tesztlyukanként 400 µl mosópufferrel.



8. Mérjen 100 μ l enzimszubsztrátoldatot a tesztlyukakba. Keverje fel a rázógéppel.



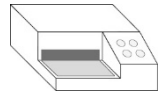
9. Inkubálja 30 percig szobahőmérsékleten.



10. Mérjen 50 μ l enzimeállító oldatot minden tesztlyukba. Keverje fel a rázógéppel.



11. Olvassa le az eredményeket 450 nm-en, 620–650 nm-es referenciaszűrővel



12. Elemezze az eredményeket.



Rendelési információk

Termék	Tartalom	Katalógusszám
QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit	2 lemezes ELISA kit	622120
QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Reference Lab Pack	20 lemezes ELISA kit	622822
Related products		
QuantIFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes	200 cső (50-50 Nil, TB1, TB2 és Mitogen cső)	622526
QuantIFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 cső (25-25 Nil, TB1, TB2 és Mitogen cső)	622423
QuantIFERON-TB Gold Plus Single Patient Pack	40 cső (1-1 Nil, TB1, TB2 és Mitogen cső/csomag), 10-es csomag	622222
QuantIFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes	200 cső (50-50 Nil, TB1, TB2 és Mitogen cső)	623526
QuantIFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 cső (50-50 Nil, TB1, TB2 és Mitogen cső)	623423
QuantIFERON-TB Gold Plus High Altitude Single Patient Pack	40 cső (1-1 Nil, TB1, TB2 és Mitogen cső/csomag), 10-es csomag	623222

A licenccel kapcsolatos legfrissebb információk és a termékspecifikus jogi nyilatkozatok a megfelelő QIAGEN kit használati utasításában található. A QIAGEN kitek használati utasításai a www.qiagen.com weboldalon érhetők el, illetve a QIAGEN műszaki ügyfélszolgálatától vagy a területileg illetékes forgalmazótól szerezhetők be.

A dokumentum átdolgozási előzményei

Dátum	Módosítások
R2, 2021. június	<p>Információk hozzáadása az egy páciens számára készült csomagról</p> <p>A 10. táblázat és 11. táblázatfelülvizsgálata a QFT-GIT és a QFT-Plus adatai közötti különbségtételhez</p> <p>A Leírás és működési elv rész frissítése a tesztpopulációról és mérési tartománytól szóló információk hozzáadásával</p> <p>9. táblázat hozzáadása a QFT-Plus valószínűségi arányára vonatkozó információk hozzáadása érdekében</p>
R3, 2021. október	<p>Katalógusszám visszaváltoztatása az eredeti katalógusszámokra</p> <p>Egyszer használatos nyilatkozat hozzáadása a mikrolemezcsíkok vonatkozásában a Kit tartalma részben</p>
R4, 2023. március	Formátumjavítások

Ez az oldal szándékosan lett üresen hagyva

A QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit korlátozott licencszerződése

A termék használatával a termék vásárlója vagy felhasználója elfogadja a következő feltételeket:

1. A terméket kizárólag a hozzá tartozó protokollok és a jelen használati útmutató szerint, valamint a panelhez tartozó összetevőkkel együtt szabad használni. A QIAGEN a szellemi tulajdonát képező termékek egyikének esetében sem engedélyezi, hogy a panelhez tartozó összetevőket a termékhez mellékelt protokollokban, a jelen használati útmutatóban és a www.qiagen.com webhelyen elérhető további protokollokban leírtak kivételével más, nem a panelhez tartozó összetevőkre beépítsék, vagy azokkal együtt használják. Az említett protokollok némelyikét a QIAGEN felhasználói bocsátják más QIAGEN felhasználóknak rendelkezésére. A QIAGEN nem végezte el ezeknek a protokolloknak az alapos vizsgálatát és optimalizálását. A QIAGEN nem vállal jóváhagyást ezekért a protokollokért, és nem garantálja azt sem, hogy azok nem sértik harmadik felek jogait.
2. Az itt leírt licenceken kívül a QIAGEN nem vállal garanciát arra, hogy ez a panel és/vagy ennek használata nem sérti harmadik felek jogait.
3. A panel és az összetevőinek licence csak egyszeri használatra jogosít; újrafelhasználása, felújítása vagy újraértékesítése tilos.
4. A QIAGEN az itt leírtakon kívül kifejezetten kizár minden más konkrét vagy vélelmezett jogot.
5. A panel vásárlója és felhasználója elfogadja, hogy semmilyen olyan lépést nem tesz, és másnak sem engedélyezi semmilyen olyan lépés megtételét, amely a fentiekben előírtak megszegéséhez vezet vagy azt elősegíti. A QIAGEN jogosult a jelen korlátozott licencszerződésben foglalt tilalmak bármely bíróságon keresettili érvényesítésére és az azzal kapcsolatban felmerülő összes vizsgálati és perköltség követelésére, beleértve a korlátozott licencre vonatkozó jelen szerződés vagy a panellel és/vagy összetevőivel kapcsolatos bármilyen szellemi tulajdonjog érvényesítése céljából indított peres eljárás ügyvédi költségeit.

A legújabb licencfeltételekről a www.qiagen.com webhelyen tájékozódhat.

Védjegyek: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (QIAGEN csoport), Proclin®. A dokumentumban használt bejegyzett nevek, védjegyek stb. akkor sem tekinthetők a törvény védelmének kívül esőnek, ha nincsenek külön jelöléssel ellátva.

03/2023 L1123669 1123669HU © 2023 QIAGEN, minden jog fenntartva.

Rendelés: www.qiagen.com/shop | Műszaki támogatás: support.qiagen.com |
Webhely: www.qiagen.com