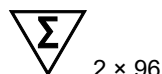


Април 2022 г.

Инструкции за употреба на набора QuantiFERON® SARS-CoV-2 ELISA Kit



Версия 1

IVD

За инвитро диагностика

За употреба с QuantiFERON® SARS-CoV-2 Blood Collection
Tubes



REF

626420



QIAGEN, 19300 Germantown Road, Germantown, MD 20874, САЩ
Телефон: +1-800-426-8157

EC REP

QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724
Hilden, Германия

R3 **MAT**

1124420BG

Съдържание

Предвидена употреба	5
Потребители, за които е предназначен	6
Описание и принцип	7
Кратко изложение и обяснение	7
Предоставени материали	9
Съдържание на набора	9
Компоненти на набора	10
Платформа и софтуер	10
Необходими, но непредоставени материали	11
Допълнителни реактиви	11
Оборудване	11
Предупреждения и предпазни мерки	12
Информация за безопасността	12
Предпазни мерки	14
Съхранение и боравене с реактиви	17
Стабилност при употреба	17
Разтворени и неизползвани реактиви	17
Съхранение и работа с проби	18
Процедура: Извършване на ELISA	19
Протокол: IFN- γ ELISA	19
Резултати (Изчисления)	25
Генериране на стандартна крива и стойности на аликвотната част	25

Качествен контрол на теста	27
Интерпретиране на резултатите	29
Ограничения	30
Работни характеристики на анализа.....	31
Аналитични характеристики	31
Клинични работни характеристики.....	40
Цитирани източници	47
Ръководство за отстраняване на проблеми	52
Символи	55
Информация за контакт	56
Приложение А: Техническа информация.....	57
Неопределени резултати	57
Плазмени проби със съсиреци	57
Липемични плазмени проби	57
Приложение В: Съкратена процедура на теста ELISA	58
Информация за поръчка	60
Хронология на редакциите на документа	61

Предвидена употреба

Анализът QuantiFERON SARS-CoV-2 представлява тест за инвитро диагностика, предназначен за качествено откриване на интерферон- γ (IFN- γ), произведен от CD4+ и CD8+ Т-клетки в отговор на стимулация с пептиден коктейл от SARS-CoV-2 в хепаринизирана пълна кръв. Количеството на произведения IFN- γ се измерва с помощта на ензимно свързан имуносорбентен анализ (ELISA).

Анализът QuantiFERON SARS-CoV-2 е предназначен да помага при оценката на клетъчно-медиран имунен (CMI) отговор при лица без анамнеза за SARS-CoV-2 инфекция и такива, които са получили ваксинация срещу COVID-19, използвайки ваксини, насочени към спайк протеина (S) на вируса SARS-CoV-2.

Анализът QuantiFERON SARS-CoV-2 трябва да се използва в комбинация с други лабораторни изследвания и епидемиологична/клинична оценка за определяне на имунния отговор на индивида поради ваксинация срещу COVID-19.

Може да са необходими няколко дни след ваксинацията, за да се развият Т-клетъчни имунни отговори, въпреки че продължителността на времето, през което има Т-клетъчни имунни отговори, не е добре характеризирано при ваксинираните лица.

Нереактивните резултати не изключват активна инфекция със SARS-CoV-2 или определят ефективността на ваксините срещу COVID-19. Ако се подозира активна инфекция, потвърдете, като използвате друг молекулен или антигенен тест за SARS-CoV-2. Резултатите от анализа трябва винаги да се използват в комбинация с клиничен преглед, медицинска история на пациента и други находки.

За инвитро диагностика.

Потребители, за които е предназначен

Този набор е предназначен за професионална употреба.

Продуктът може да се използва само от персонал, специално инструктиран и обучен в техниките на молекулярната биология и запознат с тази технология.

Описание и принцип

Кратко изложение и обяснение

QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) е качествен анализ, който използва специализирани епруветки за вземане на кръв, съдържащи пептидни антигени, които стимулират имунните клетки, използвайки специфичните за SARS CoV-2 протеини. Инкубирането на кръвта става в епруветките в продължение на 16 до 24 часа, след което плазмата се събира и се тества за наличието на IFN- γ , продуциран в отговор на пептидните антигени. Съобщава се за специфични Т-клетъчни медиирани отговори на инфекция със SARS-CoV-2 след ваксинация с различни видове ваксини, насочени към спайк протеина [1 – 34].

Първо се взема пълна кръв във всяка от епруветките QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes, които включват епруветка Nil, епруветка Ag1, епруветка Ag2 и епруветка с Mitogen. Като алтернатива, кръвта може да се вземе в епруветка за еднократно вземане на кръв с литиев или натриев хепарин като антикоагулант и след това да се прехвърли в епруветки QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes.

Епруветките QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes се разклащат, за да миксират антигените с кръвта и трябва да се инкубират при температура $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ възможно най-скоро и в рамките на 16 часа след вземането. След инкубационен период от 16 до 24 часа епруветките се центрофугират, плазмата се обработва и количеството на IFN- γ (IU/ml) се измерва чрез ELISA. QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA използва рекомбинантен човешки IFN- γ стандарт, който е анализиран спрямо референтен IFN- γ продукт (NIH реф.: Gxg01-902-535). Резултатите от тестовите аликвотни части се отчитат в международни единици на ml (IU/ml) в сравнение със стандартната крива, генерирана чрез тестване на разреждания на стандарта, предоставен в набора.

Известно е, че хетерофилните (напр. човешки антимиши) антитела в серума или плазмата на определени лица предизвикват интерференция с имунни тестове. Ефектът на хетерофилните антитела в QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA е намален до минимум чрез добавяне на нормален миши серум към зеления разредител и използването на F(ab')₂ фрагменти на моноклонално антитяло като IFN- γ захващащото антитяло, с което са покрити ямките на микроплаките.

Плазмената проба от епруветката с Mitogen служи като IFN- γ положителна контрола за всяка тествана проба. Епруветката Nil регулира фона (напр. завишени нива на циркулиращ IFN- γ или наличие на хетерофилни антитела). Нивото на IFN- γ за епруветката Nil се изважда от нивото на IFN- γ за епруветки Ag1, Ag2 и епруветката с Mitogen.

Предоставени материали

Съдържание на набора

Компоненти на ELISA	Набор с 2 плаки
Каталожен №	626420
Microplate strips (Ленти микроплаки) (12 × 8 ямки), покрити с мише античовешко IFN-γ моноклонално анти тяло	2 комплекта ленти микроплаки с 12 × 8 ямки
IFN-γ Standard, (IFN-γ стандарт), лиофилизиран (съдържа рекомбинантен човешки IFN-γ, говежди казеин, 0,01% w/v тимерозал)	1 × флакон (8 IU/ml в разтворено състояние)
Green Diluent (Зелен разредител) (съдържа говежди казеин, нормален миши серум, 0,01% w/v тимерозал)	1 × 30 ml
Conjugate 100X Concentrate (Конюгат 100X концентрат), лиофилизиран (миши античовешки IFN-γ HRP, съдържа 0,01% тимерозал)	1 × 0,3 ml (в разтворено състояние)
Wash Buffer 20x Concentrate (Промивен буфер 20x концентрат) (pH 7,2, съдържа 0,05% v/v ProClin® 300)	1 × 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Разтвор на ензимен субстрат)(съдържа H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' тетраметилбензидин)	1 × 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Ензимен стопиращ разтвор) (съдържа 0,5 M H ₂ SO ₄)*	1 × 15 ml
<i>Инструкции за употреба на набор QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA Kit</i>	1

* Съдържа сярна киселина

Компоненти на набора

Контроли и калибратори

QFN SARS ELISA използва рекомбинантен човешки IFN- γ стандарт, който е анализиран спрямо референтен IFN- γ продукт (NIH реф.: Gxg01-902-535).

Платформа и софтуер

Софтуерът за анализ QFN SARS Analysis Software е за използване по избор и може да се използва за анализиране на необработените данни и изчисляване на резултатите. Той може да бъде изтеглен от **www.qiagen.com**.

Необходими, но непредоставени материали

Допълнителни реактиви

- Дейонизирана или дестилирана вода, 2 литра

Оборудване*

- $37 \pm 1^\circ\text{C}$ инкубатор (със или без CO_2)
- Калибрирани пипети с променлив обем за пипетиране от 10 μl до 1000 μl с връхчета за еднократна употреба
- Калибрирани мултиканални пипети с възможност за пипетиране на 50 μl и 100 μl с връхчета за еднократна употреба
- Шейкър за микроплаки с възможност за скорости от 500 до 1000 rpm
- Промивно устройство за микроплаки (препоръчва се автоматизирано промивно устройство за плаки за безопасност при боравене с плазмени проби)
- Четец за микроплаки, снабден с филтър 450 nm и референтен филтър от 620 nm до 650 nm
- Вортекс с променлива скорост
- Центрофуга, която може да центрофугира епруветките за вземане на кръв поне до 3000 RCF (g)
- Градуиран цилиндър, 1 или 2 литра
- Капак за плаки
- Абсорбиращи салфетки без власинки

* Преди употреба се уверете, че апаратите са проверени и калибрирани съгласно препоръките на производителя.

Предупреждения и предпазни мерки

За клиенти в Европейския съюз, имайте предвид, че може да носите задължение да докладвате сериозни инциденти, възникнали във връзка с изделието, на производителя и компетентния орган в страната членка по местожителство на потребителя и/или пациента.

Информация за безопасността

При работа с химикали винаги носете подходяща лабораторна престилка, ръкавици за еднократна употреба и защитни очила. За повече информация вижте съответните информационни листове за безопасност (Safety Data Sheet, SDS). Тези листове можете да намерите онлайн в удобен и компактен PDF формат на www.qiagen.com/safety, където можете да намерите, прегледате и разпечатате SDS за всеки набор на QIAGEN и компонент на набора.

- Всички химикали и биологични материали са потенциално опасни. Пробите и аликвотните части са потенциално инфекциозни и трябва да се третират като биологично опасни материали.
- Изхвърлете аликвотната част и отпадъка от анализа в съответствие с местните процедури за безопасност.
- Пробите и аликвотните части са потенциално заразни. Изхвърлете аликвотната част и отпадъка от анализа в съответствие с местните процедури за безопасност.
- Анализът QFN SARS трябва да се използва във връзка с други лабораторни тестове и епидемиологична/клинична оценка за определяне на имунния отговор на лица поради ваксинация срещу COVID-19.

- Нереактивният резултат от QFN SARS не изключва възможността за инфекция със SARS-CoV-2 или определя ефективността на ваксините срещу COVID-19. Фалшивите нереактивни резултати могат да се дължат на неправилно боравене с епруветките за вземане на кръв след венепункция, неправилно изпълнение на анализа или други индивидуални имунологични променливи, включително тези, свързани с всякакви съпътстващи заболявания. Хетерофилните антитела или неспецифичното производство на IFN- γ от други възпалителни процеси могат да маскират специфични реакции към пептидите на SARS-CoV-2.
- Реактивния резултат от QFN SARS не трябва да бъде единствената или окончателната база за установяване на ефективността на ваксината срещу COVID-19. Неправилното извършване на анализа може да доведе до фалшиво положителни резултати от QFN SARS.
- Фалшивият реактивен резултат от QFN SARS може да бъде причинен от неправилно вземане на кръвна проба или неправилно боравене с пробата, засягаща функцията на лимфоцитите. Моля, вижте раздел „Процедура: Извършване на ELISA“, стр. 19, за правилно боравене с кръвните проби. Забавянето в инкубацията може да причини фалшиви нереактивни или неопределени резултати, а други технически параметри могат да повлияят на способността за откриване на значителен IFN- γ отговор.
- Слабият отговор към Mitogen (< 0,5 IU/ml) посочва неопределен резултат, когато кръвната алиquotна част също е с нереактивен отговор към протеините на SARS CoV-2. Това може да се получи при недостатъчно лимфоцити, намалена лимфоцитна активност поради неправилно обработване на пробата, напълване/смесване на епруветката с Mitogen или невъзможност на лимфоцитите на пациента да произведат IFN- γ . Завишени нива на IFN- γ в алиquotната част Nil може да възникнат при наличие на хетерофилни антитела или при характерно секретирание на IFN- γ .

Предпазни мерки

ВНИМАНИЕ



Работете с човешка кръв като с потенциално заразна.

Спазвайте приложимите указания за работа с кръв. Изхвърляйте аликвотните части и материалите, които са в контакт с кръв или кръвни продукти, в съответствие с местните, държавните и федералните нормативни разпоредби.

QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Съдържа: сярна киселина. Предупреждение! Може да бъде корозивно за металите. Предизвиква дразнене на кожата. Предизвиква сериозно дразнене на очите. Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Предупреждение! Предизвиква леко дразнене на кожата. Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.

QuantiFERON Green Diluent



Съдържа: тартразин. Предупреждение! Може да предизвика алергична реакция на кожата. Използвайте предпазни ръкавици/предпазно облекло/предпазни очила/предпазна маска за лице.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Вреден за водните организми, с дълготраен ефект. Да се избягва изпускане в околната среда.

Допълнителна информация

Информационни листове за безопасност (ИЛБ): www.qiagen.com/safety

- Тимеросал се използва като консервант в някои реактиви на QFN SARS. Той може да бъде токсичен при поглъщане, вдишване или контакт с кожата.
- Отклоняване от *Инструкциите за употреба на набора QuantiFERON ELISA Kit* може да доведе до грешни резултати. Прочетете внимателно инструкциите преди употреба.
- Не използвайте набора, ако преди употреба някоя от бутилките с реактиви е с признаци на повреда или утечка.
- **Важно:** Преди употреба огледайте флаконите. Не използвайте флаконите с конюгат или IFN- γ стандарт, ако забележите признаци на повреда или ако гумената запушалка е повредена. Не работете със счупени флакони. Прилагайте подходящите предпазни мерки за безопасност с оглед на безопасното изхвърляне на флаконите. Препоръчва се да използвате инструмент за отстраняване на метална обкатка за отваряне на флаконите с конюгат или IFN- γ стандарт с цел свеждане до минимум на риска от нараняване от металната обкатка.

-
- Не смесвайте и не използвайте ленти микроплаки, IFN- γ стандарт, зелен разредител или конюгат 100X концентрат от различни партиди на набора QFN SARS. Другите реактиви (Промивен буфер 20x концентрат, разтвор на ензимен субстрат и ензимен стопиращ разтвор) могат да бъдат разменяни между наборите, при условие че реактивите не са с изтекъл срок на годност и данните на партидата отговарят на регистрираните.
 - Изхвърлете неизползваните реактиви и биологични аликвотни части в съответствие с местните, държавните и федералните нормативни разпоредби.
 - Не използвайте набора QFN SARS ELISA след изтичане на срока на годност.
 - Необходимо е винаги да се спазват правилните лабораторни процедури.
 - Уверете се, че лабораторното оборудване като например промивните устройства за плаки и четците са калибрирани/валидирани за употреба.

Съхранение и боравене с реактиви

Трябва да се проверяват датите на изтичане на сроковете на годност и условията на съхранение, отпечатани върху опаковката и етикетите на всички компоненти. Не използвайте неправилно съхранявани компоненти или такива с изтекъл срок на годност.

Стабилност при употреба

- Съхранявайте набора за ELISA при температура от 2 до 8 °C.
- Винаги предпазвайте разтвора на ензимния субстрат от пряка слънчева светлина.

Разтворени и неизползвани реактиви

- За указания как да разтворите реактивите вижте раздела „Процедура: Извършване на ELISA“, стр. 19.
- Разтвореният стандарт на набора може да се използва в срок до 3 месеца, ако се съхранява при температура от 2 до 8 °C.
Запишете датата на разтваряне на стандарта на набора.
- След като бъде разтворен, неизползваният конюгат 100X концентрат трябва да се върне на мястото за съхранение при температура от 2 до 8 °C и да се използва в срок до 3 месеца.
Запишете датата на разтваряне на конюгата.
- Конюгатът с работна концентрация трябва да използва в рамките на 6 часа от приготвянето.
- Промивният буфер с работна концентрация трябва да се съхранява при стайна температура за период до 2 седмици.

Съхранение и работа с проби

Вижте *Инструкциите за употреба на QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) Blood Collection Tubes* (1124422) за подробности относно работната процедура за вземане на кръв за теста QFN SARS.

Процедура: Извършване на ELISA

Протокол: IFN- γ ELISA

Важни точки

- Вижте разделите „Съдържание на набора“, стр. 9 и „Необходими, но непредоставени материали“, стр. 11 за информация относно материалите, необходими за извършване на ELISA.

Приготвяне (Време, необходимо за извършване на анализа)

За да получи валидни резултати от анализа QFN SARS, операторът трябва да изпълни конкретни задачи в рамките на определено време. Преди да използва анализа, се препоръчва операторът да планира внимателно всеки етап от анализа, за да има достатъчно време за извършване на всеки от етапите. Приблизителното време е представено по-долу; посочено е също времето за тестване на множество алиquotни части, когато са групирани в партии.

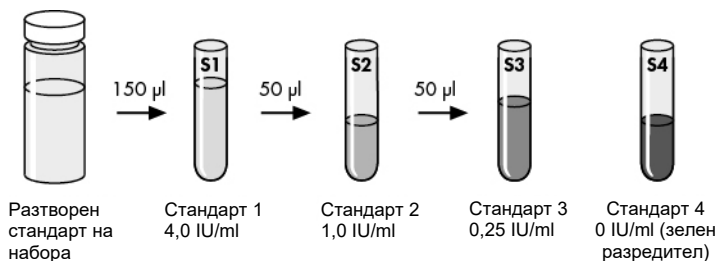
- Около 3 часа за една плака за ELISA
- < 1 час работа
- Добавете 10 до 15 минути за всяка допълнителна плака

Процедура

1. Преди употреба всички плазмени алиquotни части и реактиви, с изключение на конюгат 100X концентрат, трябва да се темперират до стайна температура ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$). Отделете 60 минути за достигане на стайна температура.
2. Отстранете от рамката лентите в плаката за ELISA, които не са необходими, затворете отново фолиевата опаковка и ги върнете обратно в хладилника за съхранение, докато ви потрябват.

3. Отделете най-малко 1 лента за QFT SARS стандартите и достатъчно ленти за броя на тестваните индивиди (вижте фигура 2 за информацията относно препоръчания формат на плаката). След употреба запазете рамката и капака за употреба с останалите ленти.
- 3а. Разтворете IFN- γ стандарта с обема дейонизирана или дестилирана вода, посочен на етикета на флакона. Смесвайте внимателно за намаляване до минимум на образуването на пяна и се уверете, че цялото съдържание на флакона е напълно разтворено. При разтварянето на стандарта IFN- γ до посочения обем ще се получи разтвор с концентрация 8,0 IU/ml.
- 3б. Като използвате разтворения стандарт, пригответе разреждени серии с четири концентрации на IFN- γ (вижте фигура 1).
- 3с. Необходимо е да се генерира стандартна крива със следните концентрации на IFN- γ :
- S1 (Стандарт 1) съдържа 4,0 IU/ml
 - S2 (Стандарт 2) съдържа 1,0 IU/ml
 - S3 (Стандарт 3) съдържа 0,25 IU/ml
 - S4 (Стандарт 4) съдържа 0 IU/ml (само зелен разредител [GD]).
- 3д. Стандартите трябва да се тестват поне двукратно.
- 3е. Подгответе пресни разреждания на стандарта на набора за всяка сесия на ELISA.

Процедура	
А	Означете четирите епруветки: S1, S2, S3, S4
В	Добавете 150 μ l от GD в S1, S2, S3, S4
В	Добавете 150 μ l от стандарта на набора в S1 и смесете щателно
Г	Прехвърлете 50 μ l от S1 в S2 и смесете щателно
Д	Прехвърлете 50 μ l от S2 в S3 и смесете щателно
Е	GD самостоятелно служи като нулев стандарт (S4)



Фигура 1. Генериране на стандартна крива чрез серийно разреждане.

4. Разтворете лиофилизирания конюгат 100X концентрат с 0,3 ml дейонизирана или дестилирана вода. Смесвайте внимателно за намаляване до минимум на образуването на пяна и се уверете, че цялото съдържание на флакона е напълно разтворено.
 - 4a. Конюгатът с работна концентрация се приготвя чрез разреждане на необходимото количество разтворен конюгат 100X концентрат в зелен разредител (таблица 1).
 - 4b. Конюгатът с работна концентрация трябва да се използва в рамките на 6 часа от приготвянето.
 - 4c. Върнете неизползвания конюгат 100X концентрат на съхранение при температура от 2 до 8 °C веднага след употреба.

Таблица 1. Приготвяне на конюгата (работна концентрация)

Брой на лентите	Обем на конюгата (100x концентрат)	Обем на зеления разредител
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. За плазмени проби, събрани от епруветки за вземане на кръв и впоследствие съхранени (в хладилник или замразени), разбъркайте добре съхранената проба преди добавяне към ямката за ELISA. Плазмените проби могат да се съхраняват в центрофугирани епруветки QFN SARS Blood Collection Tubes до 28 дни при температура от 2 до 8 °C. Събраните плазмени проби могат да се съхраняват до 28 дни при температура от 2 до 8 °C, както и под –20 °C (за предпочитане под –70 °C) за период от до 24 месеца.

Плазмените проби могат да се заредят/използват за измерване директно от центрофугирани епруветки за вземане на кръв в плака за QFN SARS ELISA.

Важно: Ако плазмените проби се прехвърлят директно от центрофугираните епруветки QFN SARS Blood Collection Tubes, всякакво смесване на плазма трябва да се избягва. Винаги внимавайте да не нарушавате материала по повърхността на гела.

6. Добавете 50 µl прясно приготвен конюгат с работна концентрация към всяка ямка на плаката за ELISA.
7. Добавете 50 µl от тестовите плазмени проби в съответните ямки (вижте препоръчаното разполагане на плаката за ELISA на фигура 2).
8. Добавете 50 µl от всеки от стандартите от 1 до 4 в съответните ямки на плаката (вижте препоръчаното разполагане на плаката за ELISA на фигура 2).

Стандартите трябва да се тестват поне двукратно.

	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
Б	1 Ag1	3 Ag1	5 Ag1	7 Ag1	9 Ag1	S2	S2	13 Ag1	15 Ag1	17 Ag1	19 Ag1	21 Ag1
В	1 Ag2	3 Ag2	5 Ag2	7 Ag2	9 Ag2	S3	S3	13 Ag2	15 Ag2	17 Ag2	19 Ag2	21 Ag2
Г	1 M	3 M	5 M	7 M	9 M	S4	S4	13 M	15 M	17 M	19 M	21 M
Д	2 N	4 N	6 N	8 N	10 N	11 N	12 N	14 N	16 N	18 N	20 N	22 N
Е	2 Ag1	4 Ag1	6 Ag1	8 Ag1	10 Ag1	11 Ag1	12 Ag1	14 Ag1	16 Ag1	18 Ag1	20 Ag1	22 Ag1
Ж	2 Ag2	4 Ag2	6 Ag2	8 Ag2	10 Ag2	11 Ag2	12 Ag2	14 Ag2	16 Ag2	18 Ag2	20 Ag2	22 Ag2
З	2 M	4 M	6 M	8 M	10 M	11 M	12 M	14 M	16 M	18 M	20 M	22 M

Фигура 2. **Препоръчано разполагане на плаката за ELISA.** S1 (Стандарт 1), S2 (Стандарт 2), S3 (Стандарт 3), S4 (Стандарт 4). 1N (Аликвотна част 1. Контролна плазма Nil), 1 Ag1 (Аликвотна част 1. Ag1 плазма), 1 Ag2 (Аликвотна част 1. Ag2 плазма), 1M (Аликвотна част 1. Плазма с Mitogen).

9. Покрийте плаката за ELISA и смесете конюгата и плазмените проби/стандартите щателно, като използвате шейкър за микроплаки за 1 минута при 500 до 1000 грт. Да се избягват пръски.
10. Покрийте плаката за ELISA и инкубирайте при стайна температура ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) за 120 ± 5 минути. Плаките за ELISA не трябва да се излагат на пряка слънчева светлина по време на инкубирането. Отклоненията от посочения температурен диапазон може да доведат до грешни резултати.
11. По време на инкубирането на плаките за ELISA пригответе промивен буфер с работна концентрация. Разрежете една част промивен буфер 20x концентрат с 19 части дейонизирана или дестилирана вода и смесете щателно. Предоставен е достатъчно промивен буфер 20x концентрат за приготвянето на 2 литра промивен буфер с работна концентрация.

12. Когато инкубацията на плаката за ELISA приключи, промийте ямките на плаката за ELISA с 400 µl промивен буфер с работна концентрация. Извършете стъпката на промиване поне 6 пъти. От съображения за безопасност при работа с плазмени проби се препоръчва употребата на автоматизирано промивно устройство за плаки.

Щателното промиване е много важно за функционирането на анализа. Уверете се, че всяка ямка е изцяло напълнена с промивен буфер до горната част на ямката за всеки цикъл на промиване. Препоръчва се период на наkisване от поне 5 секунди между всеки цикъл.

Трябва да се добави стандартен лабораторен дезинфектант в резервоара за отпадните течности, както и да се спазват установените процедури за обеззаразяване на потенциално заразни материали.

13. Почукайте плаките за ELISA с лицевата част надолу върху абсорбираща салфетка (без власинки), за да отстраните остатъчния буфер за промиване. Добавете 100 µl разтвор на ензимен субстрат във всяка ямка на плаката, покрийте плаката и смесете щателно, като използвате шейкър за микроплаки в продължение на 1 минута при 500 до 1000 rpm.
14. Покрийте плаката за ELISA и инкубирайте при стайна температура ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) за 30 минути. Плаките за ELISA не трябва да се излагат на пряка слънчева светлина по време на инкубирането.
15. След 30-минутното инкубиране добавете по 50 µl ензимен стопиращ разтвор във всяка ямка на плаката в същата последователност, в която е добавен субстратът, и смесете щателно при 500 до 1000 rpm, като използвате шейкър за микроплаки.
16. Измерете оптичната плътност (Optical Density, OD) за всяка ямка от плаката за ELISA в рамките на 5 минути от спирането на реакцията, като използвате четеца за микроплаки, снабден с филтър за 450 nm и с референтен филтър за 620 nm до 650 nm. Стойностите на OD се използват за изчисляване на резултатите.

Резултати (Изчисления)

Софтуерът за анализ QFN SARS Analysis Software може да се използва за анализиране на необработените данни и изчисляване на резултатите. Той е достъпен на www.qiagen.com. Уверете се, че използвате най-актуалната версия на софтуера за анализ QFN SARS Analysis Software.

Софтуерът извършва оценка за контрол на качеството на теста, генерира стандартна крива и предоставя резултат от теста за всеки индивид, както е описано подробно в раздела „Интерпретиране на резултатите“ на стр. 29. Софтуерът отчита всички концентрации по-големи от 10 IU/ml като „> 10“, тъй като тези стойности са извън валидирания линеен диапазон на ELISA.

Като алтернатива на използването на софтуера за анализ QFN SARS Analysis Software, резултатите могат да се определят и по следния метод.

Генериране на стандартна крива и стойности на аликвотната част

Ако не се използва софтуера за анализ QFN SARS Analysis Software

Определянето на стандартната крива и стойностите на аликвотната част в IU/ml изисква програма за електронни таблици (като например Microsoft® Excel®), ако не се използва софтуерът за анализ QFN SARS Analysis software.

Използване на програма за електронни таблици

1. Определете средните стойности на OD на репликатите на стандарта на набора за всяка плака.

- Създайте $\log_{(e)} - \log_{(e)}$ стандартна крива чрез нанасяне на $\log_{(e)}$ на средната OD (оста y) спрямо $\log_{(e)}$ на концентрацията на IFN- γ на стандартите в IU/ml (оста x), като пропуснете нулевия стандарт от тези изчисления. Изчислете линията на най-добро съвпадение за стандартната крива чрез регресионен анализ.
- Използвайте стандартната крива за определяне на концентрацията на IFN- γ (IU/ml) за всяка от тестовите плазмени аликвотни части, като използвате OD стойността за всяка аликвотна част.
- Тези изчисления могат да се извършват с помощта на софтуерните пакети, налични с четците за микроплаки, и стандартна електронна таблица или статистически софтуер (като Microsoft Excel). Препоръчва се тези пакети да се използват за изчисляване на регресионния анализ, коефициента на вариация (coefficient of variation, % CV) за стандартите и коефициента на корелация (r) на стандартната крива.

Изчисляване на проби

Ако са получени следните показания на OD за стандартите, изчисленията с помощта на $\log_{(e)}$ ще следват тези в таблица 2.

Таблица 2. Стандартна крива

Стандарт	IU/ml	OD стойности а и b	Средна OD	%CV	Log _(e) IU/ml	Log _(e) Средна (OD)
Стандарт 1	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
Стандарт 2	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
Стандарт 3	0,25	0,114, 0,136	0,125	Неприложимо	-1,386	-2,079
Стандарт 4	0	0,034, 0,037	0,036	Неприложимо	Неприложимо	Неприложимо

Уравнението на кривата е $y = 0,7885(X) - 0,9837$, където „m“ = 0,7885 и „с“ = -0,9837. Тези стойности се използват в уравнението $X = (Y - c)/m$ за намиране на „X“. Въз основа на стандартната крива, изчисленият коефициент на корелация е (r) = 1000. Неприложимо: Не е приложимо.

Валидността на анализа се определя, използвайки критериите, посочени в раздел „Качествен контрол на теста“, стр. 27.

Стандартната крива (таблица 2) се използва за преобразуване на OD на антигенните отговори в международни единици (IU/ml).

Таблица 3. Изчисляване на проби

Антиген	Стойност на OD	Стойност на OD за $\text{Log}_{(e)}$	X	e^x (IU/ml)	Антиген – Nil (IU/ml)
Nil	0,037	-3,297	-2,934	0,05	–
Ag1	1,161	0,149	1,437	4,21	4,15
Ag2	1,356	0,305	1,634	5,12	5,07
Mitogen	1,783	0,578	1,981	7,25	7,20

Стойностите на IFN- γ (в IU/ml) за Ag1, Ag2 и Mitogen се коригират за фон чрез изваждане на стойността в IU/ml, получена за съответната контрола Nil. Тези коригирани стойности се използват за интерпретация на резултатите от теста.

Качествен контрол на теста

Точността на резултатите от теста зависи от генерирането на точна стандартна крива. Поради това резултатите, базирани на стандартите, трябва да се проверят, преди резултатите от теста на алиquotната част да могат да бъдат интерпретирани.

За да е валиден ELISA:

- Средната стойност на OD за Стандарт 1 трябва да е $\geq 0,600$.
- Коефициентът на вариация % CV за стойностите на репликатите на Стандарт 1 и Стандарт 2 трябва да е $\leq 15\%$.

- Стойностите на OD на копията на Стандарт 3 и Стандарт 4 не трябва да се различават с повече от 0,040 единици оптична плътност от тяхната средна стойност.
- Коефициентът на корелация (r), изчислен от средните стойности на абсорбция на стандартите, трябва да е $\geq 0,98$.
- Ако горепосочените критерии не са удовлетворени, работният цикъл е невалиден и трябва да се повтори.
- Средната стойност на OD за нулевия стандарт (зелен разреждител) трябва да е $\leq 0,150$. Ако средната стойност на OD е $> 0,150$, трябва да се провери процедурата за промиване на плаката.

Софтуерът за анализ QFN SARS Analysis Software изчислява и отчита тези параметри за качествен контрол.

Всяка лаборатория трябва да определи подходящи видове материали за контрол и честота на тестване в съответствие с приложимите местни, държавни и федерални разпоредби или такива на други акредитиращи организации. Трябва да се вземат предвид външната оценка на качеството и други алтернативни процедури за валидиране.

Забележка: Плазмите, обогатени с рекомбинантен IFN- γ , показват намаление на концентрацията с до 50%, когато се съхраняват при температура от 2 до 8 °C и -20 °C. Рекомбинантният IFN- γ не се препоръчва за установяване на стандарти за контрол в плазмени проби.

Интерпретиране на резултатите

Резултатите от QFN SARS се интерпретират чрез използване на следните критерии (таблица 4).

Важно: Анализът QFN SARS трябва да се използва във връзка с други лабораторни тестове и епидемиологична/клинична оценка за определяне на имунния отговор на лица поради ваксинация срещу COVID-19.

Таблица 4. Интерпретация на резултатите от теста QFN SARS

Nil (IU/ml)	Ag1 антиген минус Nil (IU/ml)	Ag2 антиген минус Nil (IU/ml)	Mitogen минус Nil (IU/ml)*	Резултат от QFN SARS	Съобщаване/интерпретация
≤ 8,0	≥ 0,15 и ≥ 25% от Nil	Всяка	Всяка	Реактивен	<i>Открит отговор към SARS-CoV-2</i>
	Всяка	≥ 0,15 и ≥ 25% от Nil			
	< 0,15 или ≥ 0,15 и < 25% от Nil	< 0,15 или ≥ 0,15 и < 25% от Nil	≥ 0,50	Нереактивен	<i>НЕ е открит отговор към SARS-CoV-2</i>
	< 0,15 или ≥ 0,15 и < 25% от Nil	< 0,15 или ≥ 0,15 и < 25% от Nil	< 0,50	Неопределен [‡]	<i>НЕ е открит отговор към SARS-CoV-2 и Mitogen</i>
> 8,0 [§]	Всяка				

* Отговорите към Mitogen-положителната контрола (и понякога отговора към Ag антигените) могат да са извън диапазона на четеща за микроплака. Това не оказва влияние върху резултатите от теста. Стойности, които са > 10 IU/ml, се отчитат от софтуера QFN SARS като „> 10 IU/ml“.

[‡] Вижте раздела „Ръководство за отстраняване на проблеми“, стр. 52 за информация относно възможните причини.

[§] В клинични проучвания по-малко от 0,25% от участниците имат нива на IFN-γ > 8,0 IU/ml за стойност Nil.

Ограничения

Резултатите от QFN SARS трябва да се използват заедно с епидемиологичната анамнеза на отделните индивиди, текущия медицински статус и други диагностични изследвания.

Индивидите със стойности Nil над 8 IU/ml се определят като „неопределени“, защото един по-висок с 25% отговор към Ag антигени може да бъде извън диапазона за измерване на анализа.

- Нереактивният резултат трябва да се разглежда в комбинация с медицинските и анамнестични данни на индивида, свързани с вероятността от имунен отговор към ваксинацията, особено за лица с увредена имунна функция.
- Анализът QFN SARS трябва да се използва във връзка с други лабораторни тестове и епидемиологична/клинична оценка за определяне на имунния отговор на лица поради ваксинация срещу COVID-19.

Ненадеждни или неопределени резултати могат да се получат поради:

- Отклонения от процедурата, описана в Инструкциите за употреба
- Неправилно транспортиране/работа с кръвната проба
- Повишени нива на циркулиращ IFN- γ или наличие на хетерофилни антитела
- Превишаване на времето за валидиране на кръвта от вземането на кръвната проба до инкубацията. Вижте *Инструкциите за употреба на QFN SARS Blood Collection Tubes* (1124422).

Работни характеристики на анализа

Аналитични характеристики

Граница на анализа

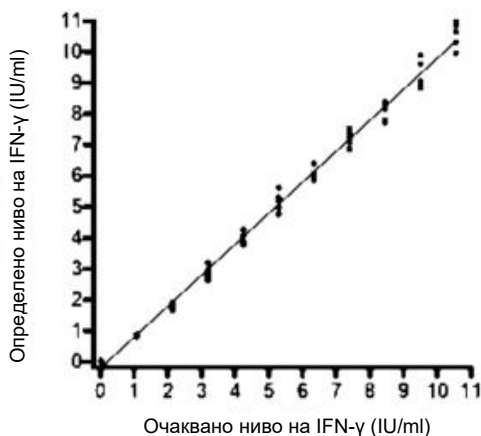
Граничната стойност на анализа QFN SARS е определена с помощта на данни от двадесет (20) участници с нереактивен резултат, тествани за SARS-CoV-2 с RT-PCR или серологичен тест и двадесет (20) донори, които са били напълно ваксинирани (от 2 до 16 седмици след придобиване на пълен ваксинационен статус) с ваксина, одобрена от Органа за разрешение за спешна употреба (EUA) на FDA. Данните за чувствителност и специфичност заедно с точните двустранни 95% доверителни интервали (Confidence Interval, CI) бяха анализирани и показаха, че оптималната граница на ELISA е 0,15 IU/mL (вижте таблица 5).

Таблица 5. Гранични стойности за QFN SARS (IU/mL) със съответната чувствителност и специфичност с точен двустранен 95% CI

Гранични стойности	Чувствителност			Специфичност		
	Стойност	Долна граница на 95% CI	Горна граница 95% CI	Стойност	Долна граница на 95% CI	Горна граница 95% CI
0,1	1,000	0,940	1,000	0,933	0,838	0,982
0,15	0,983	0,911	1,000	1,000	0,940	1,000
0,2	0,900	0,795	0,962	1,000	0,940	1,000
0,25	0,733	0,603	0,839	1,000	0,940	1,000
0,3	0,717	0,586	0,825	1,000	0,940	1,000
0,35	0,650	0,516	0,769	1,000	0,940	1,000
0,4	0,600	0,465	0,724	1,000	0,940	1,000
0,45	0,567	0,432	0,694	1,000	0,940	1,000
0,5	0,467	0,337	0,600	1,000	0,940	1,000
0,55	0,433	0,306	0,568	1,000	0,940	1,000
0,6	0,400	0,276	0,535	1,000	0,940	1,000
0,65	0,333	0,217	0,467	1,000	0,940	1,000
0,7	0,317	0,203	0,450	1,000	0,940	1,000
0,75	0,300	0,188	0,432	1,000	0,940	1,000
0,8	0,300	0,188	0,432	1,000	0,940	1,000

Линейност

Доказано е, че QFT SARS ELISA е линеен чрез поставяне на 5 репликата на 11 сборни плазмени проби с известни концентрации на IFN- γ на случаен принцип в плака за ELISA. Линейната регресионна линия е с наклон $1,002 \pm 0,011$ и корелационен коефициент 0,99 (Фигура 3).



Фигура 3. Илюстрация на регресионния анализ за изследване на линейността.

Възпроизводимост

Проведено е многолабораторно проучване на възпроизводимостта за оценка на ефективността на анализа QFN SARS в лаборатории с множество оператори. Това проучване е проведено в три лаборатории на QIAGEN. Бяха включени общо трима (3) реактивни и трима (3) нереактивни към SARS-CoV-2 участници (определени чрез RT-PCR или серологичен тест).

Вземане на кръв в четири (4) епруветки за взимане на кръв с литиев хепарин бяха събрани от всеки изследван участник. След това епруветките за вземане на кръв с литиев хепарин бяха прехвърлени в една от лабораториите за тестване, където

кръвта беше разделена на аликвотни части в три (3) комплекта епруветки QFN SARS Blood Collection Tubes (Ag1, Ag2, Mitogen и Nil за QFN SARS). По един комплект епруветки QFN SARS Blood Collection Tubes (BCT) бяха прехвърлени във всяка от тестовите лаборатории и след това тествани в съответствие с процедурата за QFN SARS анализ. Всеки участник беше тестван с десет (10) репликата (пет (5) репликата за Ag1 и пет (5) репликата за Ag2) във всяка лаборатория. Във всяка от лабораториите един (1) оператор проведе независимо теста QFN SARS. Всеки оператор беше заслепен за резултатите, получени от другите оператори, както и за резултатите от RT-PCR или серологичните тестове на участника в проучването.

Във всяка от трите (3) изпитвателни лаборатории бяха получени по 30 резултата, в резултат на което бяха получени общо 90 точки с данни. Обобщение на резултатите от проучването за възпроизводимост е представено в таблица 6.

Таблица 6. Обобщение на резултатите от изследването на възпроизводимостта -N = 30 проби от пациенти

Лаборатория 1 – 1 оператор	Лаборатория 2 – 1 оператор	Лаборатория 3 – 1 оператор
25/30 = 83%	30/30 = 100%	30/30 = 100%
Съвпадение на качествените резултати	Съвпадение на качествените резултати	Съвпадение на качествените резултати

Общото процентно съвпадение между всички реактивни и нереактивни проби с очакваните качествени резултати (реактивен участник, връщащ реактивен резултат и нереактивен участник, връщащ нереактивен резултат въз основа на резултата на участника от референтния метод) беше 94,4% (85/90) общо в трите (3) лаборатории.

Повторяемост между партидите

Беше проведено проучване за определяне на вариабилността между партидите на епруветките QFN SARS Blood Collection Tubes. Бяха тествани общо двама (2) реактивни и трима (3) нереактивни към SARS-CoV-2 участници в проучването (определени чрез RT-PCR или серологичен тест, одобрени). Всяка от епруветките за

вземане на кръв Ag1 и Ag2 за QFN SARS от три (3) отделни партиди бяха включени в това проучване. Тествани са пет (5) репликата на донор на партида епруветки за вземане на кръв. Обобщение на резултатите за прецизност между партидите е предоставено в Таблица 7.

Таблица 7. Обобщение на резултатите от проучването за прецизност между партидите – Общо процентно съвпадение за епруветките за вземане на кръв Ag1 и Ag2 за QFN SARS; N = 25

QFN SARS ВСТ	Партиден номер на епруетка за вземане на кръв (ВСТ)	Брой качествени сигнали в съвпадение/Общо сигнали	Дял	Долна доверителна граница	Горна доверителна граница
Ag1	1	25/25	100,00%	86,28%	100,00%
	2	25/25	100,00%	86,28%	100,00%
	3	25/25	100,00%	86,28%	100,00%
Ag2	1	25/25	100,00%	86,28%	100,00%
	2	25/25	100,00%	86,28%	100,00%
	3	25/25	100,00%	86,28%	100,00%

Общото процентно съвпадение между всички реактивни и нереактивни проби с очакваните резултати (реактивен участник, връщащ реактивен резултат и нереактивен участник, връщащ нереактивен резултат въз основа на резултата на участника от референтния метод) беше 100% общо в трите (3) партиди епруветки за вземане на кръв Ag1 и Ag2 за QFN SARS.

Граница на празна проба (Limit of Blank, LoB)

Беше оценена границата на празна проба (Limit of Blank, LoB) за анализа QFN SARS. Два (2) репликата, всеки от четиринадесетте (14) отделни проби от нормални човешки плазмени проби (като празни проби), бяха тествани с две (2) партиди QFN SARS ELISA

от трима (3) оператори в три (3) дни на тестване, по един (1) оператор на ден на тестване за общо 84 репликата от всяка партида от набора ELISA.

Стойностите на LoB (IU/mL) за две (2) партиди от набора ELISA бяха изчислени отделно, както е показано в таблица 8.

Таблица 8. Стойности на LoB (IU/mL) за две (2) партиди от набора QFN SARS ELISA Kit

QFN SARS ELISA Kit	Изчислена LoB (IU/ml)
Набор 1	0,030
Набор 2	0,040

По-голямата стойност на LoB от 0,040 IU/mL в двете партиди на набора QFN SARS ELISA, беше отчетена като крайна стойност на LoB.

Граница на откриване (Limit of Detection, LOD)

Беше оценена границата на откриване (Limit of Detection, LoD) за анализа QFN SARS. Чрез комбиниране на четиринадесет (14) отделни плазмени проби с човешка плазма беше генерирана сборна проба. Всеки от тримата (3) оператори приготви стандартен референтен IFN- γ разтвор при 1,0 IU/mL, разреден в буфер. Направени бяха серии от разреждания с осем (8) концентрации в плазмата. Проучването е проведено в продължение на три (3) дни от три (3) редуващи се оператори, използвайки две (2) партиди с набори QFN SARS ELISA. За всеки ден на изпитване бяха тествани по пет (5) репликата от всяка концентрация във всеки набор от серийни разреждания за общо 45 репликата за всяко разреждане на концентрацията на IFN- γ за всяка партида от набора QFN SARS ELISA.

Стойността на LoD за всяка от тестваните партиди от набора QFN SARS ELISA бяха изчислени отделно, както е показано в таблица 9. LoD беше оценена с помощта на регресионен пробит модел. LoD се основава на изчислената концентрация (IU/mL), която дава 95% изчислена вероятност за получаване на процент на съвпадение по-голям от 0,04 IU/mL (определен от LoB).

Таблица 9. Изчислени стойности на LoD (IU/mL) за две (2) партии от набора QFN SARS ELISA Kit

QFN SARS ELISA Kit	Вероятност	Изчислена концентрация (IU/ml)	Долна 95% доверителна граница за оценка	Горна 95% доверителна граница за оценка
Набор 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Набор 2	0,95	0,065	0,060	0,073

По-голямата стойност на LoD от 0,065 IU/mL в двете партии на набора QFN SARS ELISA, беше отчетена като крайна стойност на LoD.

Интерфериращи вещества

Проведено е проучване за определяне на ефектите на потенциално интерфериращи вещества върху ефективността на QFN SARS ELISA за откриване на IFN- γ . Интерферентите, включени в това проучване, са: триглицериди (общо), хемоглобин, белтък (общ серум), билирубин (конюгиран), билирубин (неконюгиран), абакавир сулфат, циклоспорин и преднизолон. Пет (5) сборни плазмени проби с известни концентрации на IFN- γ бяха приготвени с използване на различни интерферентни концентрации. Базовото ниво на IFN- γ в сборната проба беше подготвено с предварително определено налично количество IFN- γ (приблизително 0,21, 0,45 и 1,4 IU/mL). След това тази сборна проба беше използвана за подготовка на интерферентните сборни проби. Пет различни нива интерферентни концентрации са тествани и се основават на референтни интервали, патологични стойности, терапевтични диапазони и токсични диапазони или според препоръките на продавача или общо приетите клинични нива. Бяха тествани шест (6) репликацията за всяко ниво на концентрация на интерферентна проба.

За всяка концентрация на пробата беше извършен Т-тест, който сравнява разликата със средната стойност на \log_{10} (IU/mL) на високото интерферентно ниво (10) в сравнение с контролата (т.е. ниво без интерференция). Изчислената разлика в отговора в средния диапазон, заедно със съответните двустранни 95% доверителни интервали и р-стойността са отчетени в таблицата.

Таблица 10. Log10 IU/mL: Обобщена таблица на Т-теста за разликите в средните стойности между контролното и високото интерферентно ниво за всяко ниво на концентрация на интерферент и IFN- γ

Интерферент	Интерферентно ниво	Концентрация на пробата (IU/ ml)	Средна разлика	Долна граница на 95% CI	Горна граница 95% CI	P-стойност
Триглицериди	Силен	1,4	0,053	-0,004	0,110	0,063
		0,45	0,039	-0,021	0,058	< 0,001
		0,21	0,034	-0,002	0,071	0,061
Хемоглобин	Силен	1,4	-0,001	-0,042	0,040	0,967
		0,45	0,016	-0,007	0,040	0,152
		0,21	0,014	-0,030	0,059	0,489
Белтък	Силен	1,4	-0,030	-0,071	0,011	0,136
		0,45	0,000	-0,046	0,046	0,992
		0,21	-0,045	-0,103	0,012	0,109
Билирубин (конюгиран)	Силен	1,4	0,001	-0,046	0,048	0,961
		0,45	0,012	-0,043	0,067	0,639
		0,21	0,015	-0,044	0,074	0,586
Неконюгиран билирубин	Силен	1,4	0,015	-0,011	0,042	0,231
		0,45	0,015	-0,023	0,052	0,411
		0,21	0,012	-0,033	0,057	0,566
Абакавир	Силен	1,4	0,013	-0,015	0,040	0,322
		0,45	0,015	-0,014	0,044	0,283
		0,21	0,008	-0,034	0,050	0,677

Таблицата продължава на следващата страница

Таблицата продължава от предишната страница

Таблица 10. Log₁₀ IU/mL: Обобщена таблица на Т-теста за разликите в средните стойности между контролното и високото интерферентно ниво за всяко ниво на концентрация на интерферент и IFN- γ

Интерферент	Интерферентно ниво	Концентрация на пробата (IU/ ml)	Средна разлика	Долна граница на 95% CI	Горна граница 95% CI	P-стойност
Циклоспорин	Силен	1,4	0,002	-0,019	0,024	0,816
		0,45	0,007	-0,030	0,043	0,682
		0,21	0,015	-0,007	0,038	0,155
Преднизолон	Силен	1,4	0,007	-0,016	0,030	0,518
		0,45	-0,001	-0,034	0,033	0,964
		0,21	0,021	-0,025	0,068	0,334

Резултатите не показват статистически значими разлики между най-високото изпитвано интерферентно ниво и контролата (ниво без интерференция), с изключение на нивото на концентрация на триглицериди от 0,45 IU/mL. Установено е, че средната разлика за тази стойност е в рамките на ± 2 стандартни отклонения от измереното средното ниво на контролата, което показва, че наблюдаваната разлика е в рамките на очакваната вариабилност на анализа и че не се очаква клинично значими нива на триглицериди да повлияят върху QFN SARS ELISA.

Клинични работни характеристики

Клиничните работни характеристики на анализа QFN SARS бяха оценени в проспективно, обсервационно проучване, проведено в периода от юни до октомври 2021 г., използвайки участници без анамнеза за инфекция със SARS-CoV-2, които са получили ваксинация срещу COVID-19 чрез ваксини, насочени към вирусния спайк протеин на SARS-CoV-2, както и такива без анамнеза за инфекция със SARS-CoV-2 и които не са получили ваксина срещу COVID-19.

Участниците, подписали информирано съгласие, бяха оценени спрямо критериите за включване и изключване в проучването и само участниците, отговарящи на всички критерии за включване, и на нито един от критериите за изключване, бяха включени и подложени на вземане на кръв за QFN SARS.

По-долу следва обобщение на записаната популация участници:

- Група 1: Включени участници без анамнеза за естествена инфекция със SARS-CoV-2, които не са получили ваксинация срещу COVID-19 до момента на вземане на кръв за QFN SARS, никога не са били положително тествани за инфекция със SARS-CoV-2, съобщават за нереактивен серологичен резултат от теста и нямат признаци или симптоми на COVID-19 в рамките на 4-седмичен период преди записването.
- Група 2: Включените участници без анамнеза за инфекция със SARS-CoV-2, които са получили ваксинация срещу COVID-19, насочена към спайк протеина на SARS-CoV-2, към момента на вземане на кръв за QFN SARS, и никога не са били положителни за инфекция със SARS-CoV-2.
- Нито един от участниците не е бил реципиент на трансплантация (твърд орган или клетка) и/или подлежи на лечение за рак към момента на участието в проучването.

Общо 218 участници бяха записани в Група 1, докато 171 участници бяха записани в Група 2. След вземане на кръв за QFN SARS, беше установено, че четирима участника от Група 1 не отговарят на условията поради резултат от реактивен серологичен тест, получен с помощта на проба, взета на същата визита, по време на който е извършено вземането на кръв за QFN SARS и впоследствие са изключени от анализа.

Бяха взети проби, епруветките за вземане на кръв за QFN SARS бяха обработени и плазмата беше съхранявана при температура от ≤ -20 °C до готовност за тестване с QFN SARS ELISA. Всички плаки за QFN SARS ELISA бяха валидни и не бяха получени неопределени резултати, което доведе до оценка на 214 и 171 проби, съответно в групи 1 и 2.

Демографски данни

Броят на пробите, взети във всяка държава, и процентът от общия брой за всяка проучена група са представени в таблица 11.

Таблица 11. Обобщение по държави на взимане на пробите

Държава на взимането на пробата	Група 1		Група 2	
	Брой	%	Брой	%
Нидерландия	214	100,00%	153	89,47%
САЩ	0	0,00%	18	10,53%

Обобщение на възрастта на участниците, включително средна, медиана, минимална и максимална възраст, и възрастово стандартно отклонение (SD), е показано в таблица 12.

Таблица 12. Обобщение на възрастта на участниците (години)

Брой	Средна	Медиана	SD	Минимум	Максимум
385	40,47	37,00	14,168	18,00	80,00

Обобщение на пола на участниците е предоставено в таблица 13.

Таблица 13. Обобщение на пола на участниците

Пол	Брой	%
Жена	234	60,78%
Мъж	151	39,22%

Специфичност

Клиничното съвпадение, сравняващо резултатите от QFN SARS с резултатите от референтния метод, е показано в таблица 14.

Таблица 14. Клинично съвпадение: резултат от QFN SARS в сравнение с референтния метод

		Резултат от референтния метод		
		Група 1 (- вах, – инфекция)	Група 2 (+ вах, – инфекция)	Общо
Резултат от QFN SARS	Нереактивен	199	34	233
	Реактивен	15	137	152
Общо		214	171	385

За неваксинирани участници (Група 1), 199 от 214 тествани са нереактивни при тестване с QFN SARS, докато останалите 15 са реактивни. За ваксинирани участници (Група 2), 137 от 171 тествани са реактивни при тестване с QFN SARS, докато останалите 34 са нереактивни. Нито една от 15-те и 34-те противоречиви проби в групи 1 и 2, съответно, не е получила допълнително тестване с противоречив метод.

Процентното съвпадение на отрицателните резултати (Negative Percent Agreement, NPA) (специфичност) е изчислено за неваксинирани участници (Група 1), заедно с точния двустранен 95% доверителен интервал (Confidence Interval, CI), и е представено в таблица 15.

Таблица 15. Процентно съвпадение на отрицателните резултати (специфичност)

№ на група	НРА (специфичност)	95% CI
Група 1 (– ваксинирани, – инфекция)	92,99% (199/214)	88,70 – 96,02%

Чувствителност

Процентното съвпадение на положителните резултати (Positive Percent Agreement, PPA) (чувствителност) е изчислено за ваксинирани участници (Група 2), заедно с точния двустранен 95% доверителен интервал (Confidence Interval, CI), и е представено в таблица 16.

Таблица 16. Процентно съвпадение на положителните резултати (чувствителност)

№ на група	PPA (чувствителност)	95% CI
Група 2 (+ ваксинирани, – инфекция)	80,12% (137/171)	73,34 – 85,82%

Процентно съвпадение на положителните резултати по възраст

За ваксинираните участници (Група 2), процентното съвпадение на положителните резултати е стратифицирано по възраст < 60 и ≥ 60 години и е представено в таблица 17.

Таблица 17. Процентно съвпадение на положителните резултати по възраст < 60 и ≥ 60 години

Възрастов диапазон (години)	PPA (чувствителност)	95% CI
< 60	85,33% (128/150)	78,78 – 90,64%
≥ 60	42,86% (9/21)	21,82 – 65,98%

Процентно съвпадение на положителните резултати по вид ваксина срещу COVID-19

За ваксинираните участници (Група 2), процентното съвпадение на положителните резултати е стратифицирано по получения вид ваксина срещу COVID-19 и е представено в таблица 18.

Таблица 18. Процентно съвпадение на положителните резултати по вид ваксина срещу COVID-19

Ваксина	PPA (чувствителност)	95% CI
Astra Zeneca	62,50% (5/8)	24,49 – 91,48%
Janssen (Johnson & Johnson)	86,67% (13/15)	59,54 – 98,34%
Moderna	77,27% (17/22)	54,63 – 92,18%
Pfizer – BioNTech	80,95% (102/126)	73,00 – 87,40%

Фактори, свързани с нереактивните резултати при ваксинирани участници

За да се определи дали по-високата възраст, времето на завършване на ваксинацията срещу COVID-19, вида на получената ваксина и пола, са свързани с нереактивните резултати при ваксинираните участници (Група 2), беше извършен едновариантен логистичен регресионен анализ. Връзката между всеки фактор и нереактивните резултати е изчислена по отношение на съотношението на шансовете (OR) и резултатите са представени в таблица 19.

Таблица 19. Връзка между факторите и нереактивните резултати при ваксинирани участници

Фактор	OR (95% CI)	P-стойност
Възраст (години)	1,08 (1,05 – 1,12)	< 0,001
Време от ваксинацията до вземането на кръв за QFN SARS (дни)	1,02 (1,01 – 1,03)	< 0,001
Ваксина	Pfizer – BioNTech	1
	Astra Zeneca	2,55 (0,57 – 11,42)
	Janssen (Johnson & Johnson)	0,65 (0,14 – 3,09)
	Moderna	1,25 (0,42 – 3,72)
Пол	Жена	1
	Мъж	1,25 (0,59 – 2,65)

Единствените фактори, които значително се свързват с нереактивните резултати при ваксинираните участници, са възрастта и времето след ваксинацията.

Тъй като проучването е проведено в държави, където ваксините срещу COVID-19 са били предоставени първо на възрастни хора, възрастта може да е повлияла върху връзката между времето след ваксинацията и нереактивните резултати. Таблица 20 показва регресионен анализ с възрастта като ковариация.

Таблица 20. Връзка между факторите и нереактивните резултати, контролирани за възрастта

Фактор	OR (95% CI)	P-стойност
Възраст (години)	1,07 (1,03 – 1,11)	< 0,001
Време от ваксинацията до вземането на кръв за QFN SARS (дни)	1,01 (1,00 – 1,02)	0,214

Когато възрастта се контролира, връзката между времето след ваксинацията и нереактивните резултати вече не е значима, но възрастта остава значително свързана.

Цитирани източници

1. Goletti D., Petrone L, Manissero D, Bertoletti A, Rao S, Ndunda N, et al. The potential clinical utility of measuring SARS-CoV-2-specific T-cell responses. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2021 Jul [cited 2021 Jul 13];0(0).Available from: <http://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198743X21003785/fulltext>
2. Petrone L., Petruccioli E, Vanini V, Cuzzi G, Najafi Fard S, Alonzi T, et al. A whole blood test to measure SARS-CoV-2-specific response in COVID-19 patients. Clin Microbiol Infect. 2021
3. Petrone L., Petruccioli E, Vanini V, Cuzzi G, Gualano G, Vittozzi P, et al. Coinfection of tuberculosis and COVID-19 limits the ability to in vitro respond to SARS-CoV-2. Int J Infect Dis. 2021
4. Shrotri M., van Schalkwyk MCI, Post N, Eddy D, Huntley C, Leeman D, et al. T cell response to SARS-Cov-2 infection in humans: A systematic review. PLoS ONE. 2021
5. Alessandra D'Abamo, Serena Vita, Gaetano Maffongelli, Andrea Mariano , Chiara Agrati , Concetta Castilletti ,Delia Goletti, Giuseppe Ippolito, Emanuele Nicastrì SC-19 CIT. Prolonged and severe SARS-CoV-2 infection inpatients under B-cell-depleting drug successfully treated: A tailored approach. Int J Infect Dis. 2021;(107):247–50
6. Soresina A, Moratto D, Chiarini M, Paolillo C, Baresi G, Focà E, et al. Two X-linked agammaglobulinemia patients develop pneumonia as COVID-19 manifestation but recover. Pediatr Allergy Immunol. 2020
7. Quinti I, Lougaris V, Milito C, Cinetto F, Pecoraro A, Mezzaroma I, et al. A possible role for B cells in COVID-19? Lesson from patients with agammaglobulinemia. J Allergy Clin Immunol. 2020

8. Geers D, Shamier MC, Bogers S, den Hartog G, Gommers L, Nieuwkoop NN, et al. SARS-CoV-2 variants of concern partially escape humoral but not T-cell responses in COVID-19 convalescent donors and vaccinees. *Sci Immunol* [Internet]. 2021 May 1 [cited 2021 Jun 30];6(59). Available from: <http://immunology.sciencemag.org/>
9. Alter G, Yu J, Liu J, Chandrashekar A, Borducchi EN, Tostanoski LH, McMahan K, Jacob-Dolan C, Martinez DR, Chang A, Anioke T, Lifton M, Nkolola J, Stephenson KE, Atyeo C, Shin S, Fields P, Kaplan I, Robins H, Amanat F, Krammer F, Baric RS, Le Gars M, Sado BD. Immunogenicity of Ad26.COV2.S vaccine against SARS-CoV-2 variants in humans. *Nature*. 2021
10. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science* (80-) [Internet]. 2021 Feb 5 [cited 2021 Jun 30];371(6529). Available from: <https://doi.org/10.1126/science.abf4063>
11. Chavarot N, Ouedrani A, Marion O, Leruez-Ville M, Villain E, Baaziz M, et al. Poor Anti-SARS-CoV-2 Humoral and T-cell Responses After 2 Injections of mRNA Vaccine in Kidney Transplant Recipients Treated with Belatacept. *Transplantation* [Internet]. 2021 Apr 8 [cited 2021 Jul 1];2. Available from: https://journals.lww.com/transplantjournal/Fulltext/9000/Poor_Anti_SARS_CoV_2_Humoral_and_T_cell_Responses.95281.aspx
12. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, Strålin K, Gorin JB, Olsson A, et al. Robust T Cell Immunity in Convalescent Individuals with Asymptomatic or Mild COVID-19. *Cell*. 2020
13. Alberto M, Borobia, Antonio J Carcas, Mayte Pérez-Olmeda, Luis Castaño, María Jesús Bertran, Javier García-Pérez, Magdalena Campins, Antonio Portolés, María González-Pérez, María Teresa García Morales, Eunáte Arana-Arri, Marta Aldea, Francisco Díez-Fuerte CSG. Immunogenicity and reactogenicity of BNT162b2 booster in ChAdOx1-S-

-
- primed participants (CombiVacS): a multicentre, open-label, randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2021
14. Mónica Martínez-Gallo, Juliana Esperalba-Esquerria, Ricardo Pujol-Borrell, Víctor Sandá, Iria Arrese-Muñoz, Candela Fernández Naval, Andrés Antón Pagarolas, Victoria Cardona, Moisés Labrador-Horrillo, Tomás Pumarola-Suñé MH-G. T-cell responses as a correlate of COVID-19 vaccination. A pilot study in Health Care Workers
 15. Van Praet JT, Vandecasteele S, De Roo A, De Vriese AS, Reynders M. Humoral and cellular immunogenicity of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine in nursing home residents. *Clin Infect Dis*. 2021
 16. Pedersen RM, Tornby DS, Bistrup C, Johansen IS, Andersen TE JU. Negative SARS-CoV-2 antibodies, T cell response and virus neutralization following full vaccination in a renal transplant recipient: a call for vigilance. *Clin Microbiol Infect*. 2021
 17. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell*. 2020
 18. Rydzynski Moderbacher C, Ramirez SI, Dan JM, Grifoni A, Hastie KM, Weiskopf D, et al. Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity. *Cell*. 2020
 19. Tan AT, Linster M, Tan CW, Le Bert N, Chia WN, Kunasegaran K, et al. Early induction of functional SARS-CoV-2-specific T cells associates with rapid viral clearance and mild disease in COVID-19 patients. *Cell Rep*. 2021
 20. Aiello A, Najafi Fard S, Petruccioli E, Petrone L, Vanini V, Farroni C, et al. Spike is the most recognized antigen in the whole-blood platform in both acute and convalescent COVID-19 patients. *Int J Infect Dis*. 2021

-
21. Soumya Jaganathan, Francis Stieber, Sonia N. Rao, Vladyslav Nikolayevskyy, Nadia Allen, Jeff Boyle JH. Preliminary Evaluation of QuantiFERON SARS-CoV-2 and QIArearch Anti-SARS-CoV-2 Total Test in Recently Vaccinated Individuals. 2021
 22. Zheng M, Gao Y, Wang G, Song G, Liu S, Sun D, et al. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cellular and Molecular Immunology*. 2020
 23. Aid M, Busman-Sahay K, Vidal SJ, Maliga Z, Bondoc S, Starke C, et al. Vascular Disease and Thrombosis in SARS-CoV-2-Infected Rhesus Macaques. *Cell*. 2020
 24. Kuri-Cervantes L, Pampena MB, Meng W, Rosenfeld AM, Ittner CAG, Weisman AR, et al. Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19. *Sci Immunol*. 2020
 25. Lucas C, Wong P, Klein J, Castro TBR, Silva J, Sundaram M, et al. Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature*. 2020
 26. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, Beckmann ND, Nirenberg S, Wang B, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nat Med*. 2020
 27. Peng Y, Mentzer AJ, Liu G, Yao X, Yin Z, Dong D, et al. Broad and strong memory CD4+ and CD8+ T cells induced by SARS-CoV-2 in UK convalescent individuals following COVID-19. *Nat Immunol*. 2020
 28. Sattler A, Angermair S, Stockmann H, Heim KM, Khadzhynov D, Treskatsch S, et al. SARS-CoV-2-specific T cell responses and correlations with COVID-19 patient predisposition. *J Clin Invest*. 2020
 29. Mathew D, Giles JR, Baxter AE, Greenplate AR, Wu JE, Alanio C, et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals patient heterogeneity and distinct immunotypes with implications for therapeutic interventions. *bioRxiv Prepr Serv Biol*. 2020

-
30. Chen Z, John Wherry E. T cell responses in patients with COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2020
31. Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, Angus B, Becker S, Belij-Rammerstorfer S, et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 2020
32. Sahin U, Muik A, Derhovanessian E, Vogler I, Kranz LM, Vormehr M, et al. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses. *Nature*. 2020
33. Ryu MR, Park MS, Cho EH, Jung CW, Kim K, Kim SJ, et al. Comparative evaluation of quantiFERON-TB gold in-tube and quantiFERON-TB gold plus in diagnosis of latent tuberculosis infection in immunocompromised patients. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2021 Jul 1];56(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30135226/>
34. Petruccioli E, Vanini V, Chiacchio T, Cuzzi G, Cirillo DM, Palmieri F, et al. Analytical evaluation of QuantiFERON- Plus and QuantiFERON- Gold In-tube assays in subjects with or without tuberculosis. *Tuberculosis*. 2017

Ръководство за отстраняване на проблеми

Това ръководство за отстраняване на проблеми може да бъде полезно за отстраняване на евентуално възникнали проблеми. За повече информация вижте и страницата „Често задавани въпроси“ (Frequently Asked Questions, FAQ) в нашия Център за техническа поддръжка: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Учените в „Технически услуги“ на QIAGEN винаги с радост ще отговорят на всички Ваши въпроси относно информацията и/или протоколите в този наръчник или относно пробите и технологиите на анализ (за информация за контакти посетете www.qiagen.com).

Коментари и предложения

Отстраняване на проблеми при ELISA

Неспецифично оцветяване

- | | |
|----------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| а) Непълно промиване на плаката | Промийте плаката най-малко 6 пъти с 400 μ л/ямка от промивния буфер. Може да са необходими повече от 6 цикъла на промиване в зависимост от използваното промивно устройство. Трябва да се използва период на наkisване от най-малко 5 секунди между циклите. |
| б) Кръстосано замърсяване на ямките за ELISA | Внимавайте по време на пипетирането и смесването на аликвотната част за свеждане на риска до минимум. |
| в) Наборът/компонентите са с изтекъл срок на годност | Уверете се, че наборът се използва преди изтичане на срока на годност. Уверете се, че разтворените стандарт и конюгат 100X концентрата се използват в рамките на три месеца сред датата на разтварянето. |
| г) Разтворът на ензимен субстрат е замърсен | Изхвърлете субстрата при наличие на синьо оцветяване. Уверете се, че се използват чисти резервоари за реактиви. |
| д) Смесване на плазмата в епруветки QFN SARS Blood Collection Tubes преди събирането ѝ | След центрофугирането избягвайте изтегляне и накапване или смесване на плазмата по какъвто и да е начин преди събирането на плазмата. Винаги внимавайте да не нарушавате материала по повърхността на гела. |

Коментари и предложения

Ниски отчитания на оптичната плътност за стандартите

- | | |
|------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| а) Грешка при разреждането на стандарта | Уверете се, че разрежданията на стандарта на набора са извършени правилно в съответствие с настоящите Инструкции за употреба. |
| б) Грешка при пипетирането | Уверете се, че пипетите са калибрирани и се използват съгласно инструкциите на производителя. |
| в) Температурата на инкубиране е прекалено ниска | Инкубирането на ELISA трябва да се извърши при стайна температура (22 ± 5 °C). |
| г) Времето на инкубиране е твърде кратко | Инкубирането на плаките с конюгат, стандарти и аликвотни части трябва да е за 120 ± 5 минути. Разтворът на ензимен субстрат трябва да се инкубира в плаката за 30 минути. |
| д) Използван е неправилен филтър на четеца за плаки | Плаките трябва да се отчитат при 450 nm с референтен филтър между 620 и 650 nm. |
| е) Реактивите са твърде студени | Всички реактиви, с изключение на конюгат 100X концентрата, трябва да се темперират до стайна температура преди започване на анализа. Това отнема около 1 час. |
| ж) Наборът/компонентите са с изтекъл срок на годност | Уверете се, че наборът се използва преди изтичане на срока на годност. Уверете се, че разтворените стандарт и конюгат 100X концентрат се използват в рамките на 3 месеца след датата на разтварянето. |

Висок фон

- | | |
|------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| а) Непълно промиване на плаката | Промийте плаката най-малко 6 пъти с 400 µl/ямка от промивния буфер. Може да са необходими повече от 6 цикъла на промиване. Трябва да се използва период на накисване от най-малко 5 секунди между циклите. |
| б) Температурата на инкубиране е твърде висока | Инкубирането на ELISA трябва да се извърши при стайна температура (22 ± 5 °C). |

Коментари и предложения















- | | |
|-------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| в) Наборът/ компонентите са с изтекъл срок на годност | Уверете се, че наборът се използва в рамките на указания срок на годност. Уверете се, че разтворените стандарт и конюгат 100X концентрата се използват в рамките на три месеца сред датата на разтварянето. |
| г) разтворът на ензимен субстрат е замърсен | Изхвърлете субстрата при наличие на синьо оцветяване. Уверете се, че се използват чисти резервоари за реактиви. |


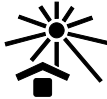

Нелинейна стандартна крива и променливост на двойните проби

- | | |
|---------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| а) Непълно промиване на плаката | Промийте плаката най-малко 6 пъти с 400 μ л/ямка от промивния буфер. Може да са необходими повече от 6 цикъла на промиване. Трябва да се използва период на наkisване от най-малко 5 секунди между циклите. |
| б) Грешка при разреждането на стандарта | Уверете се, че разрежданията на стандарта са извършени правилно в съответствие с настоящите Инструкции за употреба. |
| в) Лошо смесване | Смесвайте добре реактивите чрез обръщане или леко разбъркване преди прибавянето им към плаката. |
| г) Непостоянна техника на пипетиране или прекъсване по време на извършване на анализа | Прибавянето на аликвотната част и стандарта трябва да се извършва без прекъсване. Всички реактиви трябва да бъдат приготвени преди началото на анализа. |

СИМВОЛИ

Следните символи може да фигурират в инструкциите за употреба или на опаковката и етикетите:

Символ	Описание на символа
 Σ <N>	Съдържа реактиви, достатъчни за <N> реакции
	Използвайте до
	Медицинско изделие за инвитро диагностика
	Каталожен номер
	Партиден номер
	Номер на материал (на етикета на компонента)
	Компоненти
	Съдържа
	Номер
	Глобален номер на търговска единица
	Упълномощен представител
	„R“ означава редакция на Инструкциите за употреба, а „n“ е номерът на редакцията
	Температурни ограничения
	Производител

Символ	Описание на символа
	Направете справка с инструкциите за употреба
	Пазете от слънчева светлина
	Предупреждение/внимание

Информация за контакт

За техническа помощ и повече информация вижте нашия Център за техническа поддръжка на www.qiagen.com/Support, позвънете на телефон 00800-22-44-6000 или се свържете с един от отделите за техническа поддръжка на QIAGEN или с местен дистрибутор (вижте задната корица или посетете www.qiagen.com).

Приложение А: Техническа информация

Неопределени резултати

Неопределените резултати са нечести и може да са свързани с имунния статус на тестваното лице, но може и да са свързани с няколко технически фактора, (напр. неправилно боравене/съхранение на епруветките за вземане на кръв, непълно промиване на плаките за ELISA), ако не се спазват горепосочените Инструкции за употреба.

При съмнение за технически проблеми при съхранението на реактивите, вземането на кръв или боравенето с кръвните проби повторете целия тест QFT SARS с нови кръвни проби. Повторното ELISA тестване на стимулирани плазми може да се извърши при съмнение за недостатъчно промиване или други отклонения от процедурата на теста ELISA. Лекарите могат да изберат да изтеглят повторно проба или да извършат други процедури по целесъобразност.

Плазмени проби със съсиреци

Ако при продължително съхраняване на плазмените проби се появят фибринови съсиреци, пробите се центрофугират, за да се утаи съсиреният материал и да се улесни пипетирането на плазмата.

Липемични плазмени проби

Необходимо е да се внимава при пипетиране на липемични проби, тъй като масните отлагания могат да блокират върха на пипетата.

Приложение В: Съкратена процедура на теста ELISA

1. Темперирайте ELISA компонентите, с изключение на конюгата 100X концентрат, до стайна температура за най-малко 60 минути.



2. Разтворете стандарта на набора до 8,0 IU/ml с дестилирана или дейонизирана вода. Подгответе четири (4) разреждания на стандарта.



3. Разтворете лиофилизирания конюгат 100X концентрат с дестилирана или дейонизирана вода.

4. Пригответе конюгат с работна концентрация в зеления разредител и добавете 50 µl във всяка ямка.



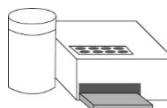
5. Добавете 50 µl от тестовите плазмени проби и 50 µl стандарти в съответните ямки. Смесете с шейкър.



6. Инкубирайте за 120 минути на стайна температура.



7. Промийте ямките най-малко 6 пъти с 400 µl/ямка от промивния буфер.



8. Добавете 100 μ l разтвор на ензимен субстрат в ямките.
Смесете с шейкър.



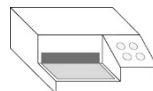
9. Инкубирайте за 30 минути на стайна температура.



10. Добавете 50 μ l ензимен стопиращ разтвор във всички ямки.
Смесете с шейкър.



11. Отчетете резултатите при 450 nm с референтен филтър 620 до 650 nm.



12. Анализирайте резултатите.



Информация за поръчка

Продукт	Съдържание	Кат. №
QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) ELISA Kit	Набор за ELISA с 2 плаки	626420
Свързани продукти		
QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes	200 епруветки (по 50 броя от Nil, Ag1, Ag2 и Mitogen)	626725

За актуална информация относно лицензирането и заявления за освобождаване от отговорност за конкретни продукти вижте съответния наръчник или ръководство за потребителя на набора QIAGEN. Наръчниците и ръководствата за потребителя на набори QIAGEN са достъпни на адрес www.qiagen.com или могат да бъдат заявени от отдела за техническо обслужване на QIAGEN или местния ви дистрибутор.

Хронология на редакциите на документа

Дата	Описание
R1, октомври 2021 г.	Първо издание
R2, ноември 2021 г.	Актуализирани раздели Работни характеристики и Клинични работни характеристики
R3, април 2022 г.	Актуализиран раздел Аналитични работни характеристики за Интерфериращи вещества

Тази страница умишлено е оставена празна.

Тази страница умишлено е оставена празна.

Тази страница умишлено е оставена празна.

Ограничено лицензно споразумение за QuantiFERON® SARS-CoV-2 (QFN SARS) ELISA Kit

Употребата на този продукт означава, че всеки купувач или потребител на продукта приема следните условия:

1. Продуктът може да се използва само по протоколите, предоставени с продукта и този наръчник, и само с компонентите, съдържащи се в набора. QIAGEN не предоставя лиценз по никакви права върху своята интелектуална собственост за употребата или включването на приложените компоненти на този набор с компоненти, които не са включени в този набор, освен както е описано в протоколите, предоставени с продукта, този наръчник и допълнителните протоколи, които могат да се изтеглят от адрес www.qiagen.com. Някои от тези допълнителни протоколи са предоставени от потребители на QIAGEN за потребители на QIAGEN. Тези протоколи не са тествани щателно или оптимизирани от QIAGEN. QIAGEN не дава гаранция за тях и не гарантира, че те не нарушават правата на трети страни.
2. Освен изрично посочените лицензи, QIAGEN не дава гаранция, че този набор и/или неговата употреба не нарушават правата на трети страни.
3. Този набор и неговите компоненти се лицензират за еднократна употреба и не могат да се използват повторно, обновяват или препродават.
4. QIAGEN изрично се освобождава от отговорност за всякакви други лицензи – явни или подразбиращи се – освен изрично посочените.
5. Купувачът и потребителят на набора се съгласяват да не предприемат и да не позволяват на други лица да предприемат стъпки, които могат да улеснят или да доведат до някое от действията, забранени по-горе. QIAGEN може да прилага забраните в настоящото Ограничено лицензно споразумение във всеки съд и ще възстанови всички свои разходи за разследване и съдебни разноски, включително адвокатските хонорари, при всяко действие за прилагане на настоящото Ограничено лицензно споразумение или упражняване на всяко от своите права върху интелектуална собственост във връзка с набора и/или неговите компоненти.

За актуалните условия на лиценза вижте www.qiagen.com.

Търговски марки: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (QIAGEN Group) Proclin®, Регистрираните имена, търговските марки и пр., използвани в настоящия документ, дори ако не са изрично обозначени като такива, не се считат за незащитени от закона.

04-22 1124420 © 2022 QIAGEN, всички права запазени.

Поръчки: www.qiagen.com/shop | Техническа поддръжка support.qiagen.com |
Уебсайт www.qiagen.com
