

# QuantiFERON®-TB Gold Plus ELISA Kiti kasutusjuhend



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

1. versioon

**IVD**

Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas

Kasutamiseks verevõtukatsutitega QuantiFERON®-TB Gold Plus  
Blood Collection Tubes

**CE**<sub>0197</sub>

**REF**

622120, 622822



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Saksamaa

R4

**MAT**

1123669ET



# Sisukord

Sihtotstarve .....	5
Sihtkasutaja .....	5
Kirjeldus ja põhimõte .....	6
Teave haigustekitajate kohta.....	6
Kokkuvõte ja selgitus .....	7
Analüüsi põhimõtted.....	9
Kaasasolevad materjalid .....	11
Komplekti sisu .....	11
Komplekti osad.....	12
Platvorm ja tarkvara .....	12
Vajalikud, kuid mitte kaasas olevad materjalid .....	13
Täiendavad reaktiivid .....	13
Kulumaterjalid .....	13
Seadmed.....	13
Hoiatused ja ettevaatusabinõud .....	14
Ohutusteave.....	14
Hädaabiteave .....	15
Ettevaatusabinõud .....	16
Reaktiivide säilitamine ja käitlemine .....	18
Kasutusaegne stabiilsus .....	18
Rekonstitueeritud ja kasutamata reaktiivid .....	18
Proovide säilitamine ja käitlemine .....	19

Protokoll: ELISA läbiviimine.....	20
Tulemused (arvutused).....	26
Standardkövera ja proovi väärtuste moodustamine .....	26
Analüüsi kvaliteedikontroll.....	28
Tulemuste tõlgendamine .....	30
Piirangud .....	32
Sooritusnäitajad.....	33
Kliinilised uuringud .....	33
Tundlikkus .....	35
Eeldatavad väärtused .....	43
Ohutuse ja toimivuse kokkuvõte.....	49
Analüüsi toimivusnäitajad .....	50
Analüütiline toimivus .....	50
Äraviskamine .....	63
Viited .....	64
Tõrkeotsingujuhend.....	66
Sümbolid .....	69
Lisa A: Tehniline teave .....	72
Määramatud tulemused .....	72
Plasmaproovide hüübimine.....	72
Lipeemilised plasmaproovid.....	72
Lisa B: Ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi lühikirjeldus .....	73
Tellimisteave .....	75
Dokumendi redaktsiooniajalugu .....	77

## Sihtotstarve

Analüüs QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus) on *in vitro* diagnostiline analüüs, mis sisaldab proteiine ESAT-6 ja CFP-10 simuleerivate ning hepariniseeritud täisveres rakke stimuleerivate peptiidide segu. Ensüüm-immunosorptsiooni analüüsiga (ELISA) tuvastatud interferoon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) võimaldab tuvastada *in vitro* reaktsioone nende peptiidi antigeenide suhtes, mis kaasnevad *Mycobacterium tuberculosis*'e nakkusega.

QFT-Plus *M. tuberculosis*'e nakkuse tuvastamise (sh aktiivse haigestumise) kaudne analüüs. Analüüsi tulemusi tuleb vaadelda koos riskitaseme hindamise, röntgenuuringute ning muude meditsiiniliste ja diagnostiliste uuringutega.

## Sihtkasutaja

Komplekt on ette nähtud erialaseks kasutamiseks.

Analüüs QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) on mõeldud kasutamiseks väljaõppinud töötajatele laborikeskkonnas.

# Kirjeldus ja põhimõte

## Teave haigustekitajate kohta

Tuberkuloos on nakkushaigus, mille põhjustab nakatumine *M. tuberculosis*'e kompleksorganismidega (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* ja *M. caprae*), mis tüüpiliselt levivad uuele peremehele kopsutuberkuloosi põdevate patsientide õhus leviva piisknakkuse teel. Esmase nakkusega patsientidel võib tuberkuloosi haigestumine avalduda nädalate või kuude jooksul, kuid suuremal osal nakatunutest ei teki mingeid kaebusi. Mõnedel isikutel tekib püsiv latentne tuberkuloosne infektsioon (LTBI), mittenakkav asümptomaatiline haigestumine, mis võib vallanduda alles kuude või aastate pärast. LTBI tuvastamise peamine eesmärk on kaaluda tuberkuloosi haigestumist ennetava ravi kohaldamist. Enam kui 100 aasta jooksul oli LTBI diagnoosimise ainukeseks meetodiks tuberkuliini nahatest (TST – tuberculin skin test) (4). Tuberkuliini kutaanne tundlikkus tekib 2–10 nädalat pärast nakatumist. Paraku leidub nakatunuid, kes tuberkuliinile ei reageeri, nende hulgas näiteks patsiendid, kelle immuunreaktsioon on muude haiguste tõttu pärsitud, aga ka ilma selliste pärssumusteta patsiendid. Ning vastupidi, mõnedel isikutel, kes suure tõenäosusega ei põe *M. tuberculosis*'e nakkust, võib pärast bacillus Calmette-Guérini (Bacille Calmette-Guérin – BCG) süstimist või pärast muude *M. tuberculosis*'e kompleksi mittekuuluvate mükobakteritega nakatumist või muude, tundmatute tegurite tõttu ilmned tuberkuliinitundlikkus, ning tuberkuliinitest võib anda positiivse tulemuse.

LTBI-d tuleb eristada tuberkuloosi haigestumisest, mis tuleb kohustuslikus korras registreerida ning mis haarab reeglina kopsu ja alumisi hingamisteid, kuid millesse võivad olla nakatunud ka muud organsüsteemid. Tuberkuloosi diagnoositakse anamnestiliste, füüsiliste, radioloogiliste ja mükobakterioloogiliste uuringute põhjal.

## Kokkuvõte ja selgitus

Analüüs QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) on neljas põlvkond QuantiFERON-TB analüüsitehnoloogiat, millega hinnatakse rakuvahendatud reaktsiooni täisvereproovis IFN- $\gamma$  kvantitatiivse mõõtmise teel. QFT-Plus on kvalitatiivne analüüs, mis mõõdab rakuvahendatud immuunreaktsioone (cell-mediated immune – CMI) peptiidi antigeenidele, mis simuleerivad mükobakteriaalseid proteiine. Neid proteiine ESAT-6 ja CFP-10 ei leidu BCG-tüvedes ega enamikus mittetuberkuloossetes mükobakterites (v.a *M. kansasii*, *M. szulgai* ja *M. marinum*) (1). *M. tuberculosis*'e kompleksorganismidega nakatunud isikutel on tavaliselt veres lümfotsüüte, mis need ja muud mükobakteriaalsed antigeenid ära tunnevad. Sellise identifitseerimisprotsessi käigus toodab ja vallandab organism tsütokiini gamma-interferooni (IFN- $\gamma$ ). Selle analüüsi aluseks on IFN- $\gamma$  tuvastamine ja edasine kvantifitseerimine.

Tuberkuliini nahatestid ja IGRA testid võivad aidata diagnoosida haigetel patsientidel *M. tuberculosis* kompleksi kuuluvate organismidega nakatumist, kuid need üksi pole piisavad – nende positiivne tulemus toetab tuberkuloosi haiguse diagnoosi, kuid positiivse tulemuse võivad anda muude mükobakterite (nt *M. kansasii*) nakkused. Sellepärast tuleb tuberkuloosi diagnoosi kinnitamiseks või välistamiseks teha ka muid meditsiinilisi ja diagnostilisi uuringuid.

Analüüsis QFT-Plus kasutatavad antigeenid kujutavad endast peptiidide segu, mis simuleerib proteiine ESAT-6 ja CFP-10. Arvukad uurimused on näidanud, et need peptiidi antigeenid stimuleerivad *M. tuberculosis*'ega nakatunute T-rakkudes IFN- $\gamma$ -reaktsiooni, mittenaakatunutel või BCG-ga vaksineeritud haiguseta või LTBI-riskita isikutel aga mitte (1,2,6,9). Siiski võivad meditsiinilised manipulatsioonid või immuunfunktsioone pärssivad haigused IFN- $\gamma$ -reaktsiooni potentsiaalselt vähendada. Proteiinidele ESAT-6 ja CFP-10 võivad reageerida ka teatud muude mükobakteriaalsete infektsioonidega patsiendid, kuna neid proteiine kodeerivad geene leidub ka sellistes mükobakterites nagu *M. kansasii*, *M. szulgai* ja *M. marinum* (1, 3,7).

QFT-Plus-testi testimispopulatsioon hõlmab patsiente, kellel on kliiniliselt kinnitatud lahtine tuberkuloos, ja patsiente, kellel on tuberkuloosi nakkuse või latentse tuberkuloosi nakkuse (latent tuberculosis infection, LTBI) risk. Vanuse, soo ega muid piiranguid ei ole.

*Mycobacterium tuberculosis*'e (MTB-nakkusel on CD4<sup>+</sup> T-rakud immunoloogilises kontrollis äärmiselt olulised tsütokiini gamma-interferooni (IFN- $\gamma$ ) sekreteerimise kaudu. Tõendusmaterjalid toetavad nüüd CD8<sup>+</sup> T rakkude rolli peremeesorganismi kaitses MTB vastu, tootes IFN- $\gamma$  ja muid lahustuvaid faktoreid, mis aktiveerivad MTB kasvu mahasurumiseks makrofaage, tapavad nakatunud rakke või lüüsiivad otse rakusisest MTB-d. LTBI ja aktiivse TB-ga isikutel on tuvastatud MTB-spetsiifilisi CD8<sup>+</sup> rakke tootvad IFN- $\gamma$ . Lisaks kirjeldatakse ESAT-6 ja CFP-10-spetsiifilisi CD8<sup>+</sup> T lümfotsüüte sagedamini esinevatena aktiivse TB-ga isikutel võrrelduna LTBI-ga isikutega ning seda võib seostada hiljutise MTB kokkupuutega (8,10–12). Lisaks on IFN- $\gamma$  tootvaid MTB-spetsiifilisi CD8<sup>+</sup> T rakke leitud ka HIV-koinfektsiooniga aktiivse TB-ga isikutel (13, 14) ja tuberkuloosihaigetel lastel (15).

QFT-Plus sisaldab kaht eraldi TB-antigeeniga katsutit: TB Antigen Tube 1 (TB1) ja TB Antigen Tube 2 (TB2). Mõlemad katsutid sisaldavad peptiidi antigeene MTB-kompleksiga seotud antigeenidest ESAT-6 ja CFP-10. Nii TB1- kui ka TB2-katsuti sisaldavad ESAT-6- ja CFP-10-peptiide, mis on mõeldud CMI-reaktsiooni esilekutsumiseks CD4<sup>+</sup> T-abistaja lümfotsüütidest; TB2-katsuti sisaldab peptiidide lisakomplekti, mis on mõeldud CMI reaktsiooni indutseerimiseks CD8<sup>+</sup> tsütotoksilistest T-lümfotsüütidest.

*M. tuberculosis*'e nakkuse riskitegurid on tuberkuloosi haigusloolised, meditsiinilised ja epidemioloogilised prediktorid ning kokkupuude tuberkuloosiga. Üksikasjalikke soovitusi *M. tuberculosis*'e nakkuse (sh haiguse) diagnoosimise ja testitavate isikute valimise kohta (16) vaadake WHO uusimast suunistest <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment>. QFT-Plus on testitud mõnel patsiendirühmal, kes on näidustatud TB-nakkuse sõeluuringuks WHO praeguste suuniste (16) kohaselt, sh isikutel, kelle inimese immuunpuudulikkuse viiruse (HIV) testi tulemus on olnud positiivne, kontaktisikutel hiljutiste TB-patsientidega ja tiheasustusalade elanikel, kes on hiljuti kokku puutunud suure TB-riskiga täiskasvanutega (5).



## Analüüsi põhimõtted

QFT-Plus on kvalitatiivne analüüs, milles kasutatakse spetsiaalseid verevõtukatsuteid, mis sisaldavad peptiidi antigeene, mis simuleerivad *M. tuberculosis*'e proteiine, mida kasutatakse täisvere võtmiseks. Katsutitega vereproove inkubeeritakse 16–24 tundi. Seejärel eraldatakse verest plasma ning uuritakse, kas selles leidub IFN- $\gamma$ , mis moodustus peptiidi reageerimisel antigeenidele.

Esmalt võetakse täisveri igasse verevõtukatsutisse QFT-Plus Blood Collection Tubes: katsutisse Nil, katsutisse TB1, katsutisse TB2 ja katsutisse Mitogen. Teise variandina võib verd võtta ühte verevõtukatsutisse, mis sisaldab antikoagulandina liitium- või naatriumhepariini, ja viia seejärel verevõtukatsutisse QFT-Plus Blood Collection Tubes.

Verevõtukatsuteid QFT-Plus Blood Collection Tubes tuleb loksutada antigeeni segamiseks verega ja need tuleb inkubeerida võimalikult kiiresti temperatuuril  $37 \pm 1$  °C (kuni 16 tunni jooksul pärast verevõtmist). Pärast 16–24-tunnist inkubatsiooniaega katsutid tsentrifugeeritakse. Seejärel eraldatakse verest plasma ning määratakse ELISA testi abil kindlaks IFN- $\gamma$  hulk (RÜ/ml). QFT-Plus ELISA kasutab rekombinantset humaanset IFN- $\gamma$  standardit, mida on analüüsitud IFN- $\gamma$  (NIH viide: Gxg01-902-535) suhtes. Analüüsitavate proovide tulemused esitatakse rahvusvahelikes ühikutes milliliitri kohta (RÜ/ml) võrrelduna standardkõveraga, mis on valmistatud komplektiga kuuluva standardi lahuse analüüsimise teel.

Kinnitust on leidnud, et mõnede isikute seerumis või plasmas olevad heterofiilsed (nt inimese hiirevastased) antikehad põhjustavad immunoloogiliste analüüside häiringut. Heterofiilsete antikehade mõju QFT-Plus ELISA analüüsis vähendatakse tavalise hiireseerumi lisamisega rohelisse lahjendisse ja F(ab')<sub>2</sub> monoklonaalse antikeha fragmentide kasutamisega, sest IFN- $\gamma$  mikroplaadi süvenditesse on kinnitunud antikeha.

Analüüs QFT-Plus loetakse IFN- $\gamma$  reaktsiooni suhtes mõlemas TB-antigeeniga katsutis positiivseks, kui selle väärtus on Nil-analüüsi (IFN- $\gamma$  RÜ/ml) väärtusest märgatavalt suurem. Katsuti Mitogen korral kontrollitakse mitogeenstimuleeritud plasmaprooviga iga analüüsitava proovi IFN- $\gamma$  positiivsust. Kui reaktsioon Mitogenile on madal ( $< 0,5$  RÜ/ml), loetakse tulemus määramatuks, samal ajal kui ka vereproovi reaktsioon TB-antigeenidele on negatiivne. Selline kombinatsioon võib tekkida siis, kui lümfotsüütide hulk on ebapiisav või nende aktiivsus langenud, kuna proovi käsitseti nõuetele mittevastavalt, katsuteid Mitogen täideti või segati valesti, või siis, kui patsiendi lümfotsüüdid ei ole suutelised gamma-interferooni (IFN- $\gamma$ ) tootma. IFN- $\gamma$  kõrge sisaldus Nil-proovis võib ilmneda heterofiilsete antikehade esinemise või sisemise IFN- $\gamma$  sekretsiooni tõttu. Kontrollkatsuti Nil kohandub taustaga (nt tsirkuleeriva IFN- $\gamma$  suurenenud kontsentratsioon või heterofiilsete antikehade esinemine). Kontrollkatsuti Nil IFN- $\gamma$  väärtus lahutatakse TB-antigeeniga katsutite ja katsuti Mitogen IFN- $\gamma$  väärtusest. QFT-Plus ELISA mõõtmisulatus on kuni 10 RÜ/ml.

# Kaasasolevad materjalid

## Komplekti sisu

<b>ELISA komponendid</b> <b>Katalooginr</b>	<b>2 plaadist</b> <b>koosnev kompleks</b> <b>622120</b>	<b>Referentslabori</b> <b>pakend</b> <b>622822</b>
Microplate Strips (Mikroplaadiribad) (12 × 8 süvendiga), kaetud hiire anti-humaanse IFN- $\gamma$ monoklonaalse antikehaga (hiir)	2 komplekti 12 × 8 mikroplaadiriba	20 komplekti 12 × 8 mikroplaadiriba
IFN- $\gamma$ Standard, (IFN- $\gamma$ standard), lüofiliseeritud; sisaldab rekombinantset humaanset IFN- $\gamma$ , veise kaseiini, 0,01% mass/maht timerosaali	1 viaal (8 RÜ/ml pärast rekonstitueerimist)	10 viaali (8 RÜ/ml pärast rekonstitueerimist)
Green Diluent (Roheline lahjendi) (sisaldab veise kaseiini, tavalist hiireseerumit, 0,01% mass/maht timerosaali)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (100-kordne konjugaadikontsentraat), lüofiliseeritud, (hiire anti-humaanne IFN- $\gamma$ HRP, sisaldab 0,01% timerosaali)	1 × 0,3 ml (pärast rekonstitueerimist)	10 × 0,3 ml (pärast rekonstitueerimist)
Wash Buffer 20× Concentrate (Pesupuhvri kontsentraat, 20-kordne kontsentraat) (pH 7,2; sisaldab 0,05 mahu% ProClin® 300)	1 × 100 ml	10 × 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Ensüümsubstraadi lahus) (sisaldab H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3', 5,5' tetrametüülbensidiini)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Ensüümi deaktiveerimislahus) (sisaldab 0,5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	1 × 15 ml	10 × 15 ml
<i>QuantiFERON TB-Gold Plus ELISA Kiti kasutusjuhend</i>	1	1

## Komplekti osad

### Kontrollid ja kalibraatorid

QFT-Plus ELISA kasutab rekombinantset humaanset IFN- $\gamma$  standardit, mida on analüüsitud IFN- $\gamma$  (NIH viide: Gxg01-902-535) suhtes.

### Platvorm ja tarkvara

Tarkvara QFT-Plus Analysis Software kasutamine on valikuline ning seda saab kasutada algandmete analüüsimiseks ja tulemuste arvutamiseks. Selle saab alla laadida veebilehelt [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Vajalikud, kuid mitte kaasas olevad materjalid

## Täiendavad reaktiivid

- Verevõtukatsutid QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes
- Deioniseeritud või destilleeritud vesi, 2 liitrit

## Kulumaterjalid

- Plaadi kaas 96 süvendiga plaadile
- **Valikuline:** 1 ml mikrokatsutid korkidega 96 süvendi statiividel või katmata mikroplaadid plasttihenditega plasma hoiustamiseks (22 patsienti / statiiv või plaat)
- Reaktiivimahutid

## Seadmed\*

- 37 °C ± 1 °C inkubaator (koos CO<sub>2</sub> või ilma)
- Kalibreeritud eri suurusega pipetid 10 µl kuni 1000 µl annustamiseks, ühekordse otsaga
- Kalibreeritud mitme kanaliga pipetid 50 µl ja 100 µl annustamiseks, ühekordse otsaga
- Mikroplaadi raputi, kiirused 500 kuni 1000 p/min
- Mikroplaadi pesur (ohutuse tagamiseks plasmaproovide käitlemisel on soovitatav on kasutada automaatset plaadipesurit)
- Mikroplaadilugeja 450 nm filtri ja 620–650 nm referentsfiltriga
- Muudetava kiirusega pöörisegaja
- Tsentrifuug, mis suudab verevõtukatsuteid tsentrifuugida vähemalt 3000 RCF (g)
- Gradueeritud silinder, 1 l või 2 l

\* Veenduge enne kasutamist, et seadmed oleks kontrollitud ja tootja soovitude kohaselt kalibreeritud.

# Hoiatused ja ettevaatusabinõud

Pidage meeles, et te peate võib-olla tutvuma kohalike eeskirjadega, mis reguleerivad tootja ning kasutaja ja/või patsiendi asukohariigi reguleeriva asutuse teavitamist seadmega seotud tõsistest vahejuhtumitest.

Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas.

## Ohutusteave

Kemikaalidega töötamise korral kandke alati sobivat laborikiltilt, ühekordselt kasutatavaid kindaid ja kaitseprille. Lisateabe saamiseks tutvuge vastavate ohutuskaartidega (Safety Data Sheet, SDS). Need on saadaval mugavas ja kompaktses PDF-vormingus veebiaadressil [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), kus saate vaadata kõiki QIAGENI komplekti ja selle osade ohutuskaarte ning need välja printida.

- Proovid on potentsiaalselt nakkusohtlikud. Hävitage proovivõtu- ja analüüsijäätmed kohalike ohutusprotseduuride kohaselt.
- Analüüsi QFT-Plus negatiivne tulemus ei välista *M. tuberculosis*'ega nakatumise või tuberkuloosi haigestumise võimalust; valenegatiivsed tulemused võivad olla tingitud nakatumisfaasist (nt kui vereproov võeti enne rakulise immuunreaktsiooni väljakujunemist), verevõtukatsutite nõuetevastasest käsitlemisest verevõtmisel, analüüsi ebaõigest tegemisest või muudest individuaalsetest immunoloogilistest muutujatest, sh nendest, mis on seotud kaasuvate haigustega. Heterofiilsed antikehad või mittespetsiifiliste IFN- $\gamma$  tootmine muude põletikuliste seisundite tõttu võib maskeerida spetsiifilisi reaktsioone ESAT-6 või CFP-10 peptiididele.
- Analüüsi QFT-Plus positiivset tulemust ei tohiks võtta ainsaks aluseks *M. tuberculosis*'ega nakatumise üle otsustamisel. Analüüsi ebaõige tegemine võib anda analüüsi QFT-Plus-valepositiivseid tulemusi.


- Analüüsi QFT-Plus positiivset tulemust tuleb kinnitada lahtise tuberkuloosi meditsiinilise lisauuringuga (nt AFB-määre ja kultuur, rindkere röntgen).
- Kuigi BCG-tüvedes ja enamikus teadaolevates mittetuberkuloosetes mükobakterites ei leidu proteiine ESAT-6 ja CFP-10, võivad analüüsi QFT-Plus positiivse tulemuse anda ka *M. kansasii*, *M. szulgai* või *M. marinum*. Kui võib oletada, et tegemist on nimetatud nakkustega, tuleb teha alternatiivsed analüüsid.
- Analüüsi QFT-Plus valenegatiivse tulemuse põhjuseks võib olla vereproovi ebakorrektna võtmine või proovi käitlemine mittenõuetekohaselt, mis mõjutab lümfotsüütide toimet. Teavet vereproovide nõuetekohase käitlemise kohta vt jaotisest „Protokoll: ELISA läbiviimine“ lk 20. Inkubeerimisega viivitamine võib põhjustada valenegatiivseid või määramatuid tulemusi ja muud tehnilised parameetrid võivad mõjutada olulise IFN- $\gamma$  reaktsiooni tuvastamise võimekust.

## Hädaabiteave

CHEMTREC

Väljaspool USAd ja Kanadat +1 703 527 3887

## Ettevaatusabinõud

<p><b>ETTEVAATUST!</b></p> 	<p>Käsitsege inimverd kui potentsiaalselt nakkusohtlikku.</p> <p>Järgige asjakohaseid vere käsitlemise juhiseid. Vere ja veretoodetega kokku puutunud proovid ja materjalid tuleb kõrvaldada kooskõlas föderaalsete, riiklike ja kohalike nõuetega.</p>
--	---

### QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Sisaldab väävelhapet. Hoiatus! Võib söövitada metalle. Põhjustab nahaärritust. Põhjustab tõsist silmäärritust. Kandke kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/kaitsemaski.

### QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Hoiatus! Põhjustab kergelt nahaärritust. Kandke kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/kaitsemaski.

### QuantiFERON Green Diluent



Sisaldab tartasiini. Hoiatus! Võib põhjustada allergilist nahareaktsiooni. Kandke kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/kaitsemaski.

### QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Pikaajalise kahjuliku mõjuga veeorganismidele. Vältida keskkonda sattumist.



## Lisateave

Ohutuskaardid: [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)

- Timerosaali kasutatakse mõnes QFT-Plus-reaktiivis säilitusainena. Allaneelamisel, sissehingamisel ja nahaga kokkupuutel võib see olla mürgine.
- Analüüsi *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)* kasutusjuhendis kirjeldatud meetoditest ja juhistest kõrvalekaldumine võib tingida valede tulemuste saamise. Lugege juhised enne analüüsi kasutamist tähelepanelikult läbi.
- Ärge kasutage komplekti, kui mõni reaktiivipudel on enne kasutamist kahjustatud või lekib.
- **NB!** Enne kasutamist vaadake viaalid üle. Ärge kasutage konjugaadi või IFN- $\gamma$  standard viaali, millel on märke kahjustustest või mille kummikork on rikutud. Ärge kasutage purunenud viaale. Rakendage vajalikud meetmed viaalide ohutuks hävitamiseks. Konjugaadi või IFN- $\gamma$  standard viaalide avamiseks on soovitatav kasutada viaalide avajat, et minimeerida risk vigastada end metallkorgi äärisega.
- Ärge segage erinevatest QFT-Plus-komplektipartiidest pärit mikroplaadiribasid, viaale IFN- $\gamma$  standard, rohelist lahjendit ega 100-kordset konjugaadikontsentrati. Muid erinevatest komplektidest pärit reaktiive (20-kordne pesupuhvri kontsentrati, ensüümsubstraadi lahus ja ensüümi inaktiveerimislahus) võib kasutada eeldusel, et nende reaktiivide säilivusaeg pole ületatud ja partii üksikasjad on ülles kirjutatud.
- Kõrvaldage ülejäänud reaktiivid ja bioloogilised proovid kohalike ja riiklike määruste kohaselt.
- Ärge kasutage QFT-Plus ELISA Kiti pärast aegumiskuupäeva.
- Alati tuleb järgida õigeid labori protseduure.
- Veenduge, et laboriseadmed, nt plaadipesurid ja plaadilugejad, oleksid kalibreeritud / tunnistatud kasutuskõlblikuks.

# Reaktiivide säilitamine ja käitlemine

Pöörake tähelepanu karbile ja komponentide siltidele prinditud aegumiskuupäevale ja säilitamistingimustele. Ärge kasutage aegunud ega valesti säilitatud komponente.

## Kasutusaegne stabiilsus

- Hoiustage ELISA komplekti temperatuuril 2–8 °C.
- Kaitske ensüümsubstraadi lahust alati otsese päikesevalguse eest.

## Rekonstitueeritud ja kasutamata reaktiivid

- Juhiseid reaktiivide segamiseks vt jaotisest „Protokoll: ELISA läbiviimine” lk 20.
- Rekonstitueeritud komplekti standard säilib temperatuuril 2–8 °C kuni 3 kuud.

Märkige üles komplekti standardi rekonstitueerimise kuupäev.

- Rekonstitueeritud 100-kordset konjugaadikontsentrati tuleb hoida temperatuuril 2–8 °C ja see tuleb ära kasutada samuti 3 kuu jooksul.

Märkige üles konjugaadi rekonstitueerimise kuupäev.

- Kasutusvalmis konjugaat tuleb ära tarvitada 6 tunni jooksul pärast valmistamist.
- Kasutusvalmis pesupuhver säilib toatemperatuuril kuni 2 nädalat.
- Mikroplaadi ribad on ainult ühekordseks kasutamiseks. Kasutamata ribad saab plaadi raamilt eemaldada ja edaspidiseks kasutamiseks alles hoida.

## Proovide säilitamine ja käitlemine

Üksikasju analüüsi QFT-Plus jaoks vere võtmise töövoos koosta vt *verevõtukatsuti QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes (QFT-Plus) kasutusjuhendist* (1123668).

# Protokoll: ELISA läbiviimine

Enne alustamist pidage silmas järgmist

## Seadistamine (analüüsi läbiviimiseks kuluv aeg)

- Analüüsi QFT-Plus kehtivate tulemuste saamiseks peab töötaja tegema kindlad toimingud määratud ajavahemike jooksul. Soovitav on, et enne analüüsi kasutamist kavandaks operaator analüüsi iga etapi hoolikalt läbi, et jätta endale iga etapi tegemiseks piisavalt aega. Vajaliku aja prognoos on toodud allpool; näidatud on ka mitmest proovist koosneva seeria analüüsimisele kuluv aeg.
  - Ligikaudu 3 tundi ühe ELISA plaadi jaoks
  - < 1 tund tööaega
  - Lisaks 10–15 minutit iga lisaplaadi kohta

## IFN- $\gamma$ ELISA

- Teavet ELISA tegemiseks vajalike materjalide kohta vt jaotisest „Komplekti sisu”, lk 11 ja jaotisest „Vajalikud, kuid mitte kaasas olevad materjalid”, lk 13.

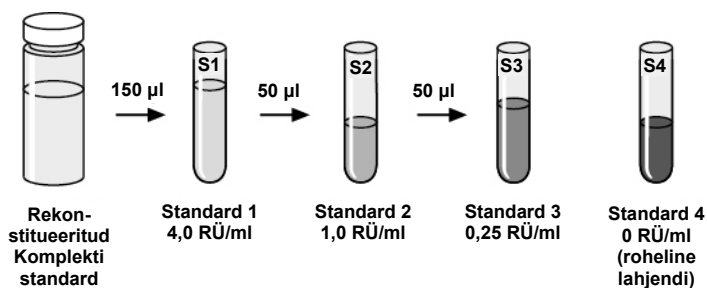
## Protseduur

1. Kõik plasmaproovid ja reaktiivid, välja arvatud 100-kordne konjugaadikontsentraat, peavad olema enne kasutamist saavutanud toatemperatuuri ( $22 \pm 5$  °C). Kavandage selleks vähemalt 60 minutit.
2. Võtke kasutamata ELISA plaadi ribad raamist välja, pange kilepakendisse tagasi ja säilitage kuni kasutamiseni külmikus.

3. Varuge QFT-Plus-standarditele vähemalt 1 riba ja testitavate isikute arvule piisavalt ribasid (plaadi vormingu soovitus vt joonis 2). Hoidke raam ja kaas pärast kasutamist ülejäänud ribade jaoks alles.
- 3a. Rekonstitueerige IFN- $\gamma$  standard viaali etiketile märgitud koguse deioniseeritud või destilleeritud veega. Segage ettevaatlikult, et tekiks võimalikult vähe vahtu ja kogu viaali sisu lahustuks täielikult. IFN- $\gamma$  standardi rekonstitueerimine õige mahuni annab tulemuseks 8,0 RÜ/ml kontsentratsiooniga lahuse.
- 3b. Rekonstitueeritud standardit kasutades valmistage ette 4 IFN- $\gamma$  kontsentratsioonist koosnev lahjendussari (vt Joonis 1).
- 3c. Standardkõver tuleks luua järgmiste IFN- $\gamma$  kontsentratsioonidega:
- S1 (standard 1) sisaldab 4,0 RÜ/ml
  - S2 (standard 2) sisaldab 1,0 RÜ/ml
  - S3 (standard 3) sisaldab 0,25 RÜ/ml
  - S4 (standard 4) sisaldab 0 RÜ/ml (ainult roheline lahjendi [GD]).
- 3d. Standardeid tuleb testida vähemalt kahekordselt.
- 3e. Valmistage igaks ELISA seansiks ette standardkomplekti uus lahus.

### Protseduur

A	Sildistage 4 katsutit: S1, S2, S3, S4
B	Valage katsutitesse S1, S2, S3, S4 150 $\mu$ l RL-i.
C	Valage katsutisse S1 150 $\mu$ l standardlahust ja segage korralikult.
D	Valage katsutist S1 50 $\mu$ l katsutisse S2 ja segage korralikult.
E	Valage katsutist S2 50 $\mu$ l katsutisse S3 ja segage korralikult.
F	Ainult RL on nullstandard (S4).



Joonis 1. Standardkõvera lahendusseeria ettevalmistamine.

4. Rekonstitueerige lüofiliseeritud 100-kordne konjugaadikontsentraat 0,3 ml deioniseeritud või destilleeritud veega. Segage ettevaatlikult, et tekiks võimalikult vähe vahtu ja kogu viaali sisu lahustuks täielikult.
  - 4a. Kasutusvalmis konjugaadi valmistamiseks lahjendatakse vajalik kogus rekonstitueeritud 100-kordset konjugaadikontsentraati rohelises lahjendis (Tabel 1).
  - 4b. Kasutusvalmis konjugaat tuleb ära tarvitada 6 tunni jooksul pärast valmistamist.
  - 4c. Paigutage ülejäänud 100-kordne konjugaadikontsentraat kohe pärast kasutust uuesti temperatuurile 2–8 °C.

**Tabel 1. Konjugaadi ettevalmistamine (kasutusvalmis)**

<b>Ribade arv</b>	<b>Konjugaadi kontsentratsioon (100-kordne kontsentratsioon)</b>	<b>Rohelise lahjendi kogus</b>
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. Verekatsetitest eraldatud ja seejärel hoiustatud (külmutatud või sügavkülmutatud) plasmaproove tuleb enne ELISA süvendisse panemist hoolikalt loksutada. Plasmaproove saab tsentrifuugitud verevõtukatsetites QFT-Plus Blood Collection Tubes hoida temperatuuril 2–8 °C kuni 28 päeva. Pärast plasma eraldamist saab plasmaproove hoida temperatuuril 2–8 °C kuni 28 päeva. Pärast plasma eraldamist saab plasmaproove hoida temperatuuril –20 °C (eelistatavalt vähem kui –70 °C) ka pikema aja jooksul. Plasmaproove võib tsentrifuugitud verevõtukatsetitest otse kasutada/kanda mõõtmiseks QFT-Plus ELISA plaadile.
- NB!** Kui plasmaproovid kantakse üle otse tsentrifuugitud verevõtukatsetitest QFT-Plus Blood Collection Tubes, tuleb hoiduda plasma loksutamisest. Olge alati ettevaatlik, et materjal hüüvise pinnaga ei seguneks.
6. Lisage igasse ELISA plaadi süvendisse 50 µl äsja ettevalmistatud kasutusvalmis konjugaati.
7. Lisage kohastesse süvenditesse 50 µl testi plasmaproovi (vt ELISA plaadi soovituslikku paigutust jooniselt 2).

8. Viimaks lisage kohastesse süvenditesse 50 µl igast standardist 1 kuni 4 (vt ELISA plaadi soovituslikku paigutust jooniselt 2). Standardeid tuleb testida vähemalt kahekordselt.

	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

**Joonis 2. ELISA plaadi soovituslik paigutus.** S1 (Standard 1), S2 (Standard 2), S3 (Standard 3), S4 (Standard 4). 1N (Proov 1. Nil kontrollplasma), 1 TB1 (Proov 1. TB1 plasma), 1 TB2 (Proov 1. TB2 plasma), 1M (Proov 1. Mitogen plasma).

9. Katke ELISA plaat kaanega ja segage konjugaati ja plasmaproove/standardeid korralikult 1 minuti vältel mikroplaatide raputis kiirusel 500–1000 p/min. Vältige pritsimist.
10. Katke ELISA plaat ja inkubeerige 120 ± 5 minutit toatemperatuuril (22 ± 5 °C). Inkubeerimise ajal tuleb ELISA plaati kaitsta otsese päikesekiirguse eest. Kõrvalekaldumine ettenähtud temperatuurivahemikust võib põhjustada valesid tulemusi.
11. ELISA plaadi inkubeerimise ajal valmistage ette kasutusvalmis pesupuhver. Lahjendage üks osa 20-kordset pesupuhvrikontsentrati 19 osa deioniseeritud või destilleeritud veega ja segage korralikult läbi. Analüüsiga on kaasas piisav kogus kontsentrati Wash Buffer 20x Concentrate, millest piisab 2 liitri kasutusvalmis pesupuhvri valmistamiseks.
12. Kui ELISA plaadi inkubeerimine on lõpule jõudnud, peske ELISA plaadi süvendid 400 µl kasutusvalmis pesupuhvriga. Tehke pesemistoiming vähemalt 6 korda. Ohutuse huvides on plasmaproovide käitlemisel soovitatav kasutada automaatset plaadipesurit. Korralik pesemine on analüüsi tulemuste seisukohast väga tähtis. Kontrollige iga pesutsükli korral, et kõik süendid oleksid kuni ülemise servani pesupuhvriga täielikult kaetud. Soovitatav on jätta iga pesutsükli vahele vähemalt 5 sekundi pikkuse leotusaja.



Kasutatud pesuvee kogumiskoostisesse tuleb lisada laborites kasutatavat desinfitseerimisvahendit. Lisaks sellele järgige teie laboris kehtivaid potentsiaalselt nakkava materjali dekontamineerimise eeskirju.

13. Koputage ELISA plaate tagurpidi imava (väheste ebemetega) rätiku peal, et eemaldada pesupuhvri jäägid. Lisage igasse plaadi süvendisse 100 µl ensüümsubstraadi lahust, katke plaat ja segage korralikult 1 minuti vältel mikroplaatide raputis kiirusel 500–1000 p/min.
14. Katke ELISA plaat ja inkubeerige 30 minutit toatemperatuuril ( $22 \pm 5$  °C). Inkubeerimise ajal tuleb ELISA plaati kaitsta otsese päikesekiirguse eest.
15. 30-minutilise inkubeerimise järel lisage igasse plaadi süvendisse 50 µl ensüümi inaktiveerimislahust samas järjekorras, milles lisasite substraadi, ja segage korralikult mikroplaatide raputis kiirusel 500–1000 p/min.
16. Mõõtkte ELISA plaadi süvendite optilist tihedust (OT) 5 minuti jooksul pärast reaktsiooni peatumist, kasutades mikroplaatide lugejat 450 nm filtriga ning 620–650 nm referentsfiltrit. OT-väärtusi on hiljem vaja tulemuste arvutamiseks.

## Tulemused (arvutused)

Tarkvara QFT-Plus Analysis Software saab kasutada algandmete analüüsimiseks ja tulemuste arvutamiseks. See on saadaval veebisaidil [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Veenduge, et kasutaksite tarkvara QFT-Plus Analysis Software uusimat versiooni.

Tarkvara teeb analüüsi kvaliteedikontrolli, koostab standardkõvera ja väljastab iga analüüsitud katseisiku kohta tulemuse, mida kirjeldatakse üksikasjalikumalt teemas „Tulemuste tõlgendamine”, lk 30. Tarkvara esitab kõik kontsentratsioonid, mis on suuremad kui 10 RÜ/ml, kui „>10“, kuna need väärtused langevad ELISA valideeritud lineaarvahemikust väljapoole.

QFT-Plus Analysis Software kasutamise alternatiivina on tulemusi võimalik kindlaks teha ka järgmise meetodi abil.

## Standardkõvera ja proovi väärtuste moodustamine

### Kui ei kasutata tarkvara QFT-Plus Analysis Software

Kui tarkvara QFT-Plus Analysis Software ei kasutata, on standardkõvera ja proovi RÜ/ml väärtuste määramiseks vaja arvutustabeliprogrammi, näiteks Microsoft® Excel®.

### Arvutustabeliprogrammi kasutamine

1. Leidke iga plaadi standardkomplekti korduste keskmised OT-väärtused.
2. Konstrueerige  $\log_{(e)} - \log_{(e)}$  standardkõver, kandes (y-teljele) OT keskmise väärtuse  $\log_{(e)}$  ja (x-teljele) standardite IFN- $\gamma$  kontsentratsiooni (RÜ/ml)  $\log_{(e)}$ , jättes arvutustest välja nullstandardi. Arvutage regressioonianalüüsi kaudu standardkõvera parim kontuur.

- Leidke standardkõvera abil kõikide analüüsitud plasmaproovide IFN- $\gamma$  kontsentratsioon (RÜ/ml), kasutades iga proovi OT-väärtust.
- Nendeks arvutusteks võib kasutada mikroplaatide lugemisseadmetele pakutavaid tarkvarapakette ja standardseid arvutustabeleid või statistikaprogramme (nt Microsoft Excel). Soovitav on selliseid tarkvarapakette kasutada regressioonianalüüsi tegemiseks, standardite variatsioonikoefitsiendi (%VK) ja standardkõvera korrelatsioonikoefitsiendi ( $r$ ) leidmiseks.

## Proovi arvutamine

Kui standarditele saadi järgmised OD-näidud, järgivad  $-\log(e)$  – kasutavad arvutused neid tabelis 2.

**Tabel 2. Standardkõver**

Standard	RÜ/ml	OD-väärtused a ja b	Keskmine OD	%VK	Log <sub>(e)</sub> RÜ/ml	Log <sub>(e)</sub> keskmine (OD)
Standard 1	4	1,089, 1,136.	1,113	3,0	1,386	0,107
Standard 2	1	0,357, 0,395.	0,376	7,1	0,000	-0,978
Standard 3	0,25	0,114, 0,136.	0,125	–	-1,386	-2,079
Standard 4	0	0,034, 0,037.	0,036	–	–	–

Kõvera võrrand on  $y = 0,7885(X) - 0,9837$ , kus „m“ = 0,7885 ja „c“ = -0,9837. Neid väärtusi kasutatakse võrrandis  $X = (Y-c)/m$ , et lahendada X. Standardkõvera alusel on arvutatud korrelatsioonikordaja ( $r$ ) = 1,000. – pole kohaldatav.

Kasutades jaotises „Analüüsi kvaliteedikontroll“, lk 28, määratud kriteeriumi määratakse analüüsi kehtivus.

Standardkõvera (Tabel 2) abil teisendatakse antigeeni OD reaktsioonid rahvusvahelisteks ühikuteks (RÜ/ml).

**Tabel 3. Proovi arvutamine**

Antigeen	OD-väärtus	Log <sub>(e)</sub> OD-väärtus	X	e <sup>X</sup> (RÜ/ml)	Antigeen – Nil (RÜ/ml)
Nil	0,037	-3,297	-2,934	0,05	–
TB1	1,161	0,149	1,437	4,21	4,16
TB2	1,356	0,305	1,634	5,12	5,07
Mitogen	1,783	0,578	1,981	7,25	7,20

TB1, TB2 ja Mitogeni IFN- $\gamma$  väärtused (RÜ/ml) korrigeeritakse tausta suhtes, lahutades vastava Nil kontrolli kohta saadud RÜ/ml väärtuse. Korrigeeritud väärtusi kasutatakse analüüsi tulemuste tõlgendamiseks.

## Analüüsi kvaliteedikontroll

Analüüsi tulemuste täpsus sõltub korrekse standardkövera moodustamisest. Seetõttu tuleb enne proovide analüüsitulemuste tõlgendamist kontrollida standarditest tuletatud tulemusi.

Ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi tulemused on valiidsed, kui on täidetud järgmised tingimused.

- Standardi 1 keskmine OT-väärtus peab olema  $\geq 0,600$ .
- Standardi 1 ja standardi 2 replikaatväärtuste %VK peab olema  $\leq 15\%$ .
- Standardi 3 ja standardi 4 korduvad OT-väärtused ei tohi hälbida keskmisest väärtusest rohkem kui 0,040 OT-ühikut.
- Standardite keskmiste ekstinktsiooniväärtuste põhjal arvutatud korrelatsioonikoeffitsient ( $r$ ) peab olema  $\geq 0,98$ .
- Kui nimetatud kriteeriumid pole täidetud, on analüüsipartii kehtetu ja seda tuleb korrata.
- Nullstandardi (roheline lahjendi) keskmine OT-väärtus peab olema  $\leq 0,150$ . Kui keskmine OT-väärtus on  $> 0,150$ , tuleks kontrollida, kuidas toimub plaatide pesemine.

Tarkvara QFT-Plus Analysis Software arvutab ja esitab need kvaliteedikontrolli parameetrid.

Iga labor peab määratlema kontrollmaterjalide kohased tüübid ja analüüsimissageduse kooskõlas kohalike, riiklike või muude kohaldatavate akrediteerimisorganisatsioonidega. Kaaluda tuleb välise kvaliteedihindamise ja alternatiivsete valideerimistoimingute kasutamist.

**Märkus.** Plasmadel, millele on lisatud rekombinantseid IFN- $\gamma$ , on täheldatud kontsentratsiooni kahanemist kuni 50%, kui neid on hoiustatud temperatuuridel kas 2–8 °C või –20 °C. Kontrollstandardite jaoks pole soovitatav kasutada rekombinantseid IFN- $\gamma$ .

# Tulemuste tõlgendamine

QFT-Plusi tulemusi tõlgendatakse järgmiste kriteeriumide alusel (Tabel 4).

**NB!** tuberkuloosi diagnoosimiseks või selle välistamiseks ning LTBI tõenäosuse hindamiseks läheb vaja epidemioloogiliste, haiguslooliste, meditsiiniliste ja diagnostiliste leidude kombinatsiooni, millega tuleb QFT-Plusi tulemuste tõlgendamisel arvestada. Vt tuberkuloosi ja LTBI diagnoosimise ja ravi üldsuuniseid:

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

**Tabel 4. QFT-Plusi analüüsi tulemuste tõlgendamine**

Nil (RÜ/ml)	TB1 miinus Nil (RÜ/ml)	TB2 miinus Nil (RÜ/ml)	Mitogen miinus Nil (RÜ/ml)*	QFT-Plusi tulemus	Aruanne/tõlgendus
≤ 8,0	≥ 0,35 ja ≥ 25% Nil väärtusest	Suvaline	Suvaline	Positiivne <sup>†</sup>	<i>M. tuberculosis</i> nakkus on tõenäoline
	Suvaline	≥ 0,35 ja ≥ 25% Nil väärtusest			
	< 0,35 või ≥ 0,35 ja < 25% Nil väärtusest	< 0,35 või ≥ 0,35 ja < 25% Nil väärtusest	≥ 0,50	Negatiivne	<i>M. tuberculosis</i> nakkus POLE tõenäoline
	< 0,35 või ≥ 0,35 ja < 25% Nil väärtusest	< 0,35 või ≥ 0,35 ja < 25% Nil väärtusest	< 0,50	Määramatu <sup>‡</sup>	<i>M. tuberculosis</i> 'e nakkuse tõenäosust ei saa kindlaks määrata
> 8,0 <sup>§</sup>	Suvaline				

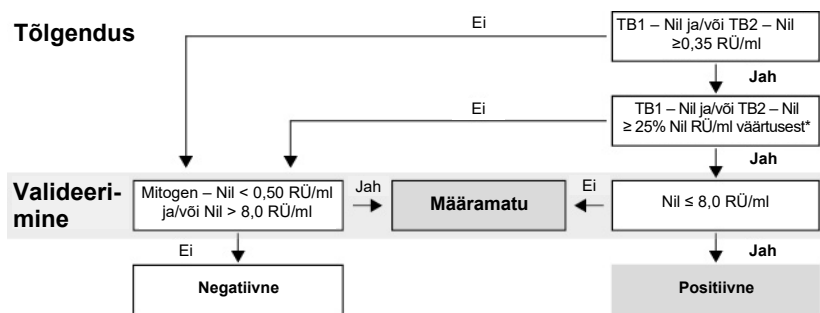
\* Mitogen positiivse kontrolli vastused (mõnel juhul ka TB-antigeenide omad) võivad tavaliselt olla väljaspool mikroplaatide lugeja vahemikku. See ei mõjuta analüüsitulemusi. Tarkvara QFT-Plus esitab väärtused > 10 RÜ/ml kujul > 10 RÜ/ml.

<sup>†</sup> Neil juhtudel, kui *M. tuberculosis*'e nakkust ei oletata, võib algsete plasmaproovide uus kahekordne analüüsimine analüüsiga QFT-Plus ELISA esialgseid positiivseid tulemusi kinnitada. Kui analüüsi kordamisel on ühe või mõlema proovi tulemus positiivne, loetakse analüüsi üldtulemus positiivseks.

<sup>‡</sup> Teavet võimalike põhjuste kohta vt jaotisest „Tõrkeotsingujuhend“, lk 66.

<sup>§</sup> Kliinilistes uuringutes oli alla 0,25% katseisikutel lisanditeta Nil-väärtuse IFN- $\gamma$  tase > 8,0 RÜ/ml.

Mõõdetud IFN- $\gamma$  kontsentratsiooni suuruse põhjal ei tohi teha järeldusi nakkuse staadiumi või astme, immuunreaktiivsuse ulatuse ning aktiivse haigestumise korral progressiooni tekkimise tõenäosuse kohta. Negatiivse Mitogeniga inimeste positiivne TB-reaktsioon esineb harva, kuid seda on täheldatud TB-haigusega patsientide juures. See näitab, et IFN- $\gamma$  reaktsioon TB-antigeenile on suurem kui Mitogenile, mis on võimalik, kuna Mitogeni tase ei stimuleeri maksimaalselt IFN- $\gamma$  tootmist lümfotsüütide poolt.



**Joonis 3. Analüüsi QFT-Plus tõlgendamine.** \*Et TB1 miinus Nil- või TB2 miinus Nil-väärtus oleks kehtiv, peab  $\geq 25\%$  Nil RÜ/ml väärtusest pärinema samast katsutist nagu algne  $\geq 0,35$  RÜ/ml tulemus.

# Piirangud

Analüüsi QFT-Plus tuleb vaadelda koos iga patsiendi epidemioloogilise ajaloo, tema praeguse tervisliku seisundi ja muude diagnostiliste uuringutega.

Isikud, kelle Nil-väärtus on üle 8 RÜ/ml, liigitatakse kui „määramatud“, sest 25% võrra kõrgem reaktsioon TB-antigeenile võib olla väljaspool analüüsi mõõteulatust.

- Positiivse QFT-Plusi tulemuse ennustatav väärtus *M. tuberculosis*'e nakkuse diagnoosimisel oleneb nakkuse tõenäosusest, mida hinnatakse haiguslooliste, epidemioloogiliste, diagnostiliste ja muude leidude alusel.
- LTBI diagnoosimiseks on vajalik, et tuberkuloos tuleb välistada meditsiinilise hinnanguga, sh haiguse praeguste meditsiiniliste ja diagnostiliste analüüside hindamisega, nagu näidustatud.
- Negatiivse tulemuse korral tuleb arvestada isiku *M. tuberculosis*'e nakkuse tõenäosusega ning tuberkuloosi progresseerumise võimaliku riskiga seotud meditsiinilisi ja haigusloolisi andmeid, eriti pärsitud immuunfunktsiooniga isikutel.

Ebausaldusväärsed või määramatud tulemused võidakse saada järgmistel põhjustel.

- Kõrvalekaldumised kasutusjuhendis kirjeldatud protseduurist.
- Vereproovi ebaõige transportimine/käitlemine.
- Tsirkuleeriva IFN- $\gamma$  kõrgendatud tase või heterofiilsete antikehade esinemine.
- Vereproovi võtmisest kuni inkubeerimiseni kuluvale ajale kehtestatud piirmäärade ületamine. Vt verevõtukatsute *QFT-Plus Blood Collection Tubes kasutusjuhend* (1123668).



# Sooritusnäitajad

## Kliinilised uuringud

Kuna üldtunnustatud standard LTBI diagnoosi kinnitamiseks või välistamiseks puudub, ei saa QFT-Plusi tundlikkuse ja spetsiifilisuse analüüsi praktiliselt hinnata. QFT-Plusi ligikaudne spetsiifilisus leiti madala riskitasemega isikute (kellel riskifaktorid teadaolevalt puudusid) valepositiivsete tulemuste määra hindamise teel. Ligikaudne tundlikkus saadi, hinnates uuringus osalejate rühmi, kellel oli kindlalt diagnoositud aktiivne tuberkuloos, mis leidis kinnitust kultuuri abil tehtud täiendava testiga. Peale selle hinnati analüüsi toimivuse positiivseid ja negatiivseid määrasid tuberkuloosinakkuse tuvastatud riskiteguritega tervete isikute populatsioonis (segariski populatsioon).

## Spetsiifilisus

QFT-Plusi kliinilist spetsiifilisust hinnati mitmekesuselise uuringuga, mis hõlmas 733 uuringus osalejat, kellel oli kas *M. tuberculosis*'e nakkuse väike risk või kellel nakkuse või haigusega kokkupuute riskitegurid puudusid. Analüüsimise ajal fikseeriti standardküsitluse abil hetkel teadaolev demograafiline olukord ja tuberkuloosi avaldumise riskifaktorid. Uuring viidi läbi neljas eraldi uuringukohas, millest üks asus Ameerika Ühendriikides, kaks Jaapanis ja üks Austraalias. Analüüsi QFT-Plus võrreldi QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT) analüüsiga. Kokkuvõtte kliinilise spetsiifilisuse toimivuse andmetest uuringukohtade ja piirkondade järgi stratifitseerituna on toodud Tabelis 5. Toimivuse tulemused põhinevad kehtivate analüüside koguarvul. Määramatud tulemused puudusid.

**Tabel 5. QFT-Plusi spetsiifilisus madala riskitasemega populatsioonis**

Koht	N	Positiivne		Negatiivne		Määramatu		Spetsiifilisus (95% CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
<b>Ameerika Ühendriigid</b>									
(#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)
<b>Jaapan</b>									
(#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)
Jaapan kokku	322	4	7	318	315	0	0	98,76% (318/322) (96,85– 99,52)	97,83% (315/322) (95,6– 98,9)
<b>Austraalia</b>									
(#4) AU-3	199	8	9	191	190	0	0	95,98% (191/199) (92,27– 97,95)	95,48% (190/199) (91,63– 97,60)

QFT-Plusi spetsiifilisus oli Ameerika Ühendriikides 98,11%, Jaapanis 97,83% ja Austraalias 95,48%. QFT-Plusi koguspetsiifilisus oli 97,27% (713/733). QFT spetsiifilisus oli Ameerika Ühendriikides 99,06%, Jaapanis 98,76% ja Austraalias 95,98%. QFT koguspetsiifilisus oli 98,09% (719/733).

Toodud on tulemuste jaotus TB-antigeeni katsuti tüübi ja nende kombinatsioonide järgi, et esitada näide oodatavatest tulemustest madala riskitasemega populatsioonis (Tabel 6).

**Tabel 6. QFT-Plusi spetsiifilisuse uuringu tulemused TB-antigeeni katsutite järgi**

<b>TB Antigen-Niilil põhinev tõlgendus</b>				
<b>RÜ/ml</b>	<b>TB1</b>	<b>TB2</b>	<b>QFT-Plus (positiivne TB1 ja/või TB2 järgi)*</b>	<b>Konkordant-positiivne TB1 ja TB2 (erinevad analüüsid)†</b>
Positiivne	10	18	20	8
Negatiivne	723	715	713	725
Määramatu	0	0	0	0
Spetsiifilisus (95% CI)	–	–	97,3% (713/733) (95,8–98,2)	–
Negatiivsuse määr (95% CI)	98,6% (723/733) (97,5–99,3)	97,5% (715/733) (96,2–98,4)	–	98,9% (725/733) (97,9–99,5)

\* Tõlgendamine TB-antigeeni – Niil-väärtuse  $\geq 0,35$  RÜ/ml põhjal mõlemas (TB1 ja TB2) või emmas-kummas TB-katsutis peab sobima QFT-Plusi (TB1 või TB2) tõlgenduskriteeriumiga, et määrata positiivseks.

† Ainult teabena mõeldud alternatiivne analüüs.

Madala TB infektsiooniriskiga isikutest andis positiivse tulemuse kokku 20/733 isikut. Neist esines ainult 8 isikul väärtus  $> 0,35$  RÜ/ml nii TB1 kui ka TB2 katsutis. Analüüside QFT ja QFT-Plus madala riskitasemega kohordis näitas üldist konkordantsust 97,5% (715/733) ja negatiivset protsentuaalset kokkulangevust 98,3% (707/719).

## Tundlikkus

Kuivõrd LTBI hindamiseks ei ole olemas kindlalt defineeritud standardanalüüsi, on sobivaks surrogaadiks *M. tuberculosis*'e mikrobioloogiline kultuur, kuna TB-infektsioon on haiguse vältimatu eelkäija.

QFT-Plusi kliinilist tundlikkust hinnati mitmekeskuselise uuringuga, mis hõlmas 434 osalejat, kellel esines aktiivse *M. tuberculosis*'e tunnuseid ja sümptome, mida oli kinnitatud kultuuri ja/või PCR-iga, ning kes ei saanud TB-ravi või kellel oli vere võtmise ajaks ravist möödunud  $\leq 14$  päeva. Uuring viidi läbi 7 eraldi uuringukohas, millest kolm asusid Ameerika Ühendriikides, kolm Jaapanis ja üks Austraalias. Analüüsi QFT-Plus võrreldi analüüsiga QuantiFERON-TB Gold in Tube (QFT). Kokkuvõtte kliinilise tundlikkuse toimivuse andmetest uuringukohtade ja riikide järgi stratifitseerituna on toodud tabelis 7. Toimivuse tulemused põhinevad kehtivate analüüside koguarvul. QFT ja QFT-Plusi määramatute tulemuste sagedus oli vastavalt 2,3% (10/434) ja 2,5% (11/434).

**Tabel 7. Kliinilise tundlikkuse uuringu toimivuse kokkuvõte stratifitseerituna koha järgi, riigi järgi ja kokku**

Koht	N	Positiivne		Negatiivne		Määramatu		Tundlikkus (95% CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
<b>Ameerika Ühendriigid</b>									
(#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)
Ameerika Ühendriigid kokku	53	47	47	6	6	0	0	88,7% (47/53) (77,4– 94,7)	88,7% (47/53) (77,4– 94,7)
<b>Jaapan</b>									
(#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)

Tabel jätkub järgmisel leheküljel

Tabeli algus eelmisel leheküljel

**Tabel 7. Kliinilise tundlikkuse uuringu toimivuse kokkuvõte stratifitseerituna koha järgi, riigi järgi ja kokku (järg)**

Koht	N	Positiivne		Negatiivne		Määramatu		Tundlikkus (95% CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
(#6) JPN-1	177	159	157	12	15	6	5	92,98% (159/171) (88,14– 95,94)	91,28% (157/172) (86,11– 94,64)
Jaapan kokku	352	328	322	15	19	9	11	95,63% (328/343) (92,91– 97,33)	94,43% (322/341) (91,5– 96,4)
<b>Austraalia</b>									
(#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)

Analüüs ülalolevas tabelis ei hõlma määramatuid tulemusi.

QFT-Plusi tundlikkus oli Ameerika Ühendriikides 88,7%, Jaapanis 94,43% ja Austraalias 100,0%. QFT-Plusi kogutundlikkus oli 94,09% (398/423). QFT tundlikkus oli Ameerika Ühendriikides 88,7%, Jaapanis 95,63% ja Austraalias 96,43%. QFT kogutundlikkus oli 94,81% (402/424).

Toodud on tulemuste jaotus TB-antigeeni katsuti tüübi ja katsutite kombinatsioonide järgi, et esitada näide oodatavatest tulemustest kinnitatud TB-infektsiooniga populatsioonis (Tabel 8).

**Tabel 8. QFT-Plusi tundlikkuse uuringu tulemused TB-antigeeni katsutite järgi**

<b>TB Antigen-Niilil põhinev tõlgendus RÜ/ml</b>	<b>TB1</b>	<b>TB2</b>	<b>QFT-Plus (positiivne TB1 ja/või TB2 järgi)</b>
Positiivne	388	397	398
Negatiivne	32	26	25
Määramatu	14	11	11
Tundlikkus* (95% CI)	–	–	94% (398/423) (91,4–96,0)
Positiivsuse määr* (95% CI)	92,4% (388/420) (89,4–94,6)	93,9% (397/423) (91,1–95,8)	–

\* Välja arvatud määramatud väärtused.

Analüüside QFT ja QFT-Plus võrdlev hinnang kultuuriga kinnitatud aktiivse tuberkuloosiga kohordis (tundlikkuse uuringu kohordid) näitas üldist konkordantsust 95,9% ja positiivset protsentuaalset kokkulangevust 97,3% (391/402).

**Tabel 9. QFT-Plusi tõenäosuse määrad**

<b>Koht*</b>	<b>Tundlikkus</b>	<b>Spetsiifilisus</b>	<b>LR+</b>	<b>LR–</b>
Austraalia	100,00%	95,48%	22,11	0,00
Jaapan	94,43%	97,83%	43,44	0,06
Ameerika Ühendriigid	88,68%	98,11%	47,00	0,12

\* Kokku

## Toimivus tuvastatud MTB-nakkuse riskifaktoritega isikutel (segariskiga isikud)

Nii analüüsis QFT kui ka QFT-Plus hinnati kohorti 601 isikust, kellel olid TB-nakkuse segariskitegurid (nt HIV-positiivsus, anamneesis aktiivse või latentse TB ravi, kokkupuude aktiivse TB juhtumiga, HCW staatus jne). Riskifaktorid tuvastati standardiseeritud uuringuga ja värbamise ajal ei esinenud isikutel aktiivse TB-ga seotud sümptome. Demograafia ja riskitegurid on toodud tabelis 10. Selles populatsioonis andis 68/601 (11,3%) isikut positiivse QFT-Plusi tulemuse ning positiivne protsentuaalne kokkulangevus (Positive Percent Agreement, PPA) ja negatiivne protsentuaalne kokkulangevus (Negative Percent Agreement, NPA) olid vastavalt 98,44% ja 99,07% (Tabel 11). 68 QFT-Plusi positiivse isiku kohordis oli kokku 62 isikut positiivsed nii TB1 kui ka TB2 katsuti järgi, 2 isikut olid positiivsed ainult TB1 järgi ja 4 isikut positiivsed ainult TB2 järgi. Määramatuid tulemusi ei täheldatud (0/601).



**Tabel 10. Demograafia ja TB-nakkuse riskiga seotud faktorid segakohordis**

Isikuid kokku (601)		Number	Protsent
Sugu	Mees	539	89,7%
	Naine	62	10,3%
Vanus (aastad)	Vahemik	18–70	–
	Keskmine	46,7	
BCG vaktsineeritud	Jah	15	2,5%
	Ei	586	97,5%
HIV-positiivne või HTLV-viiruste testi positiivne tulemus	Jah	12	2,0%
	Ei	589	98%
Varem diagnoositud aktiivne TB	Jah	11	1,8%
	Ei	590	98,2%
On andnud TB positiivse tuberkuliini nahatesti (TST) / Mantoux' testi	Jah	47	7,8%
	Ei	554	92,2%
On kunagi ravitud aktiivset või latentset TB-d	Jah	35	5,8%
	Ei	566	94,2%
Elanud, töötanud või tegutsenud vabatahtlikuna (>1 kuu) vanglas või kinnipidamisasutuses	Jah	373	62,1%
	Ei	228	37,9%
Elanud, töötanud või tegutsenud vabatahtlikuna (>1 kuu) kodutute varjupaigas	Jah	525	87,4%
	Ei	76	12,6%
Tervishoiutöötaja	Jah	8	1,3%
	Ei	593	98,7%
Lähikontaktne kellegagi, kellel on või arvatakse olevat aktiivne TB	Jah	9	1,5%
	Ei	592	98,5%

**Tabel 11. QFT-Plusi versus QFT toimivuse kokkuvõte latentse TB-nakkuse teadaolevate riskiteguritega isikutel**

		QFT		Kokku
		Positiivne (+)	Negatiivne (-)	
QFT-Plus	Positiivne (+)	63	5*	68
	Negatiivne (-)	1*	532	533
	Kokku	64	537	601

\*Kõigil 6 diskordantsel proovil olid analüüsi piirile lähedased TB-antigeeni katsutite IFN- $\gamma$  tasemed.

QFT ja QFT-Plusi vaheline positiivne protsentuaalne kokkulangevus (Positive Percent Agreement, PPA) ja negatiivne protsentuaalne kokkulangevus (Negative Percent Agreement, NPA) olid järgmised.

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

Allolev tabel 12 kujutab QFT-Plusi toimivust võrrelduna QFT-analüüsiga neil uuringus osalejatel, keda oli BCG-vaktsineeritud.

**Tabel 12. QFT-Plusi toimivus võrrelduna QFT-analüüsiga neil uuringus osalejatel, keda oli BCG-vaktsineeritud (tundlikkuse, spetsiifilisuse ja LTBI uuringus osalejate kombineeritud andmed)**

		QFT		Kokku
		Positiivne (+)	Negatiivne (-)	
QFT-Plus	Positiivne (+)	66	5	71
	Negatiivne (-)	3	268	271
	Kokku	69	273	342*

\* Määramatute tulemuste tõttu arvati analüüsist välja kaks tundlikkuse uuringus osalejat

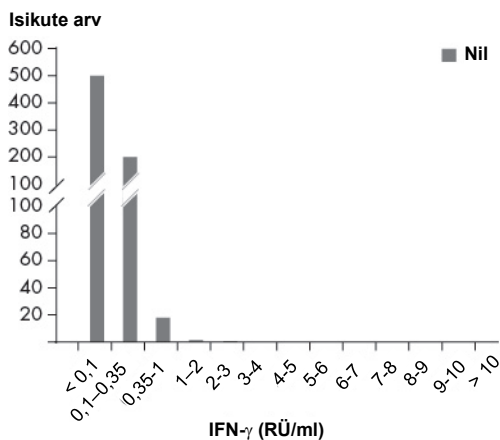
- PPA = 95,6% (66/69), 95%CI (87,98, 98,51)
- NPA = 98,2% (268/273), 95%CI (95,79, 99,22)

## Eeldatavad väärtused

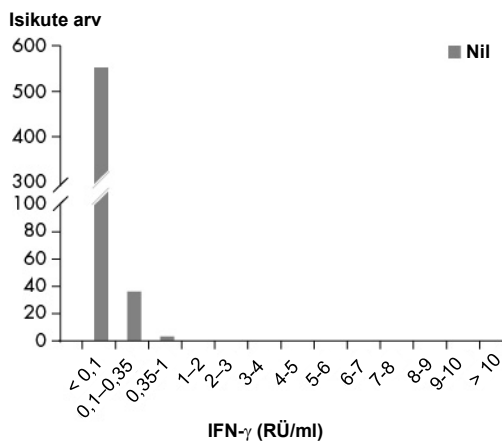
### Reaktsioonide jälgitud jaotus – riski alusel stratifitseeritud

Kliinilistes uuringutes jälgiti IFN- $\gamma$  reageerimise vahemikku TB1-le, TB2-le ja kontrollkatsutitele ning need stratifitseeriti *M. tuberculosis*'e nakkuse riski järgi (Joonis 4 kuni Joonis 7). Segariskitasemerühm koosneb analüüsitava isikute üldrühmast, (sh tuberkuloosi avaldumise riskifaktoriga ja riskifaktorita isikud ja kellel aktiivne TB on ebatõenäoline, s.t LTBI).

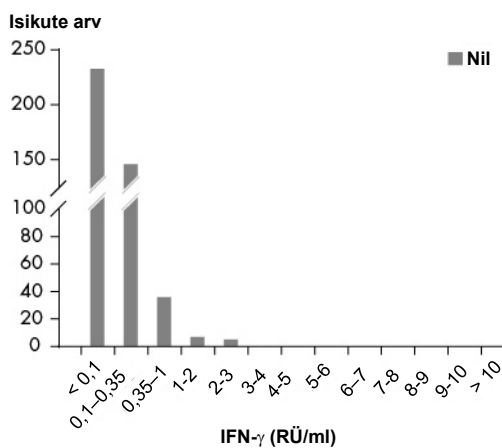
A



B

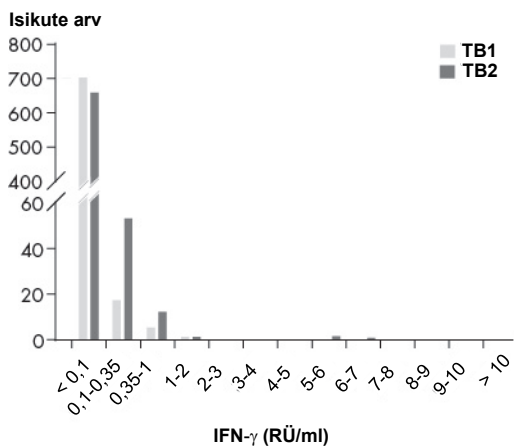


C

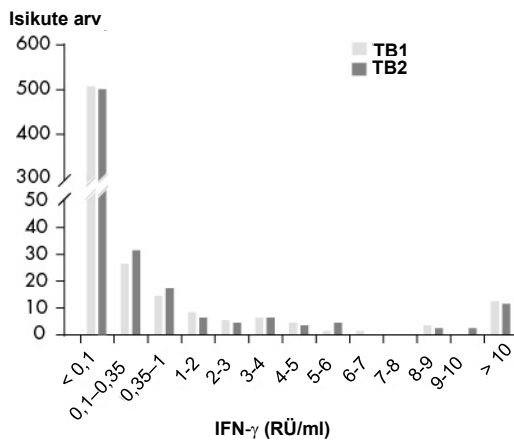


**Joonis 4. Nili jaotus.** Nil-väärtuste jaotus madala riskitasemega populatsioonis (n = 744). **B** Nil-väärtuste jaotus segariskitasemega populatsioonis (n = 601). **C** Nil jaotus kultuuriga kinnitatud *M. tuberculosis* nakkusega (n=416) elanike seas.

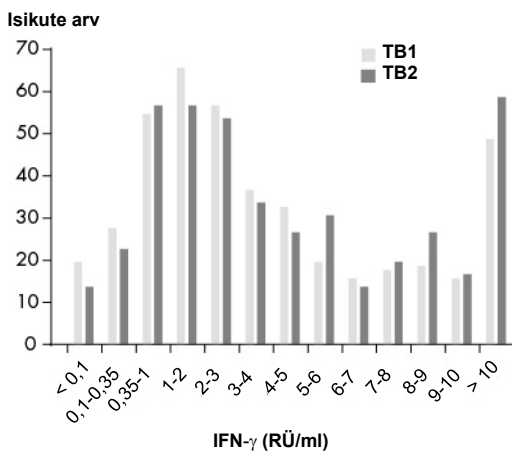
A



B

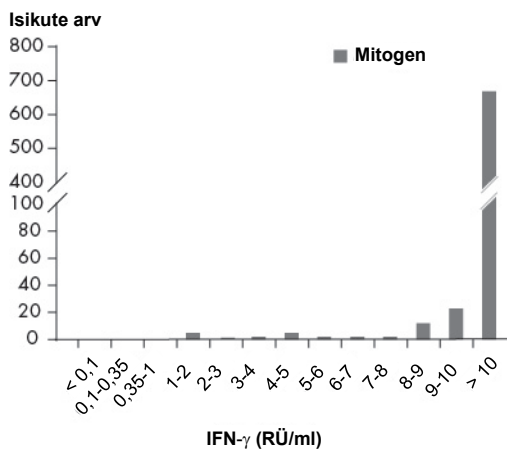


C

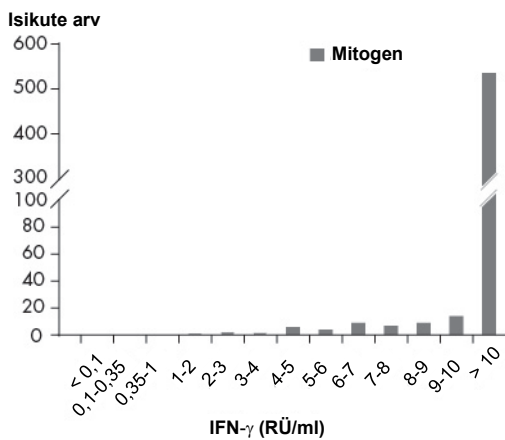


**Joonis 5. TB1 ja TB2 jaotus (Nil on lahutatud).** **A** TB1 ja TB2 (Nil on lahutatud) jaotus madala riskitasemega populatsioonis (n = 744). **B** TB1 ja TB2 (Nil on lahutatud) jaotus segariskitasemega populatsioonis (n = 601). **C** TB1 ja TB2 (Nil on lahutatud) jaotus kultuuriga kinnitatud *M. tuberculosis* nakkusega (n=416) populatsioonis.

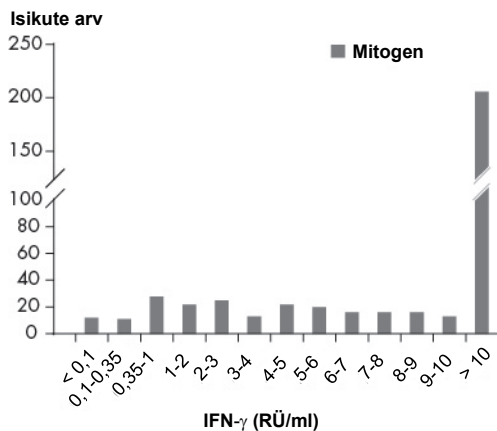
A



B

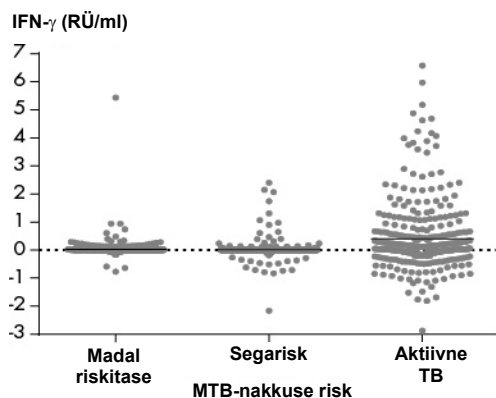


C



**Joonis 6. Mitogeni jaotus (Nil on lahutatud).** **A** Mitogeni (Nil on lahutatud) väärtuste jaotus madala riskitasemega populatsioonis (n = 744). **B** Mitogeni (Nil on lahutatud) väärtuste jaotus segariskitasemega populatsioonis (n = 601). **C** Mitogeni (Nil on lahutatud) jaotus kultuuriga kinnitatud *M. tuberculosis* nakkusega (n=415) elanike seas.





**Joonis 7. TB1 ja TB2 väärtuste (Nil on lahutatud) vaheline täheldatud erinevus, riski alusel stratifitseeritud.** Hõlmab segariski kohordi uuringu andmeid, et näidata erinevusi madala riski, aktiivse riski ja segariski kohortide vahel. Sellesse andmeanalüüsi kaasati teadaolevate riskifaktoritega segariskikohort. Seega madala riski kohordist  $n=733$ , segariskikohordist  $n=588$  ja aktiivse TB kohordist  $n=357$ . Iga isiku RÜ/ml kvantitatiivne erinevus saadi TB1 väärtuse lahutamiseks TB2 väärtusest.

## Ohutuse ja toimivuse kokkuvõte

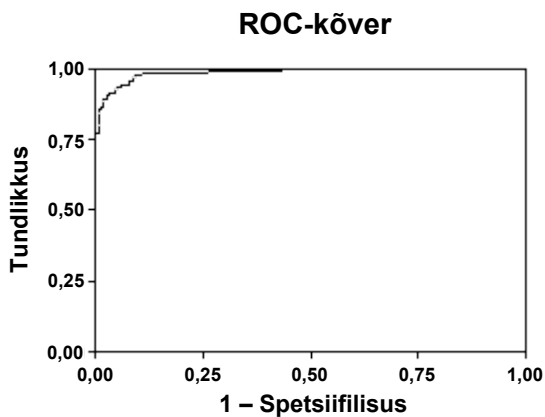
Ohutuse ja toimivuse kokkuvõtte leiab EUDAMED-i veebilehelt.

# Analüüsi toimivusnäitajad

## Analüütiline toimivus

### Analüüsi piir

Analüüsi QFT-Plus piiri määramisel võeti aluseks 216 isiku andmed, kellel polnud teadaolevalt TB-kokkupuute riskitegureid, kes olid BCG-vaktsineeritud ja teadaolevalt nakkusevabad, ning 118 isikut, kellel oli kultuuriga kinnitatud *M. tuberculosis*'e nakkus. Tundlikkuse ja spetsiifilisuse andmed kombineeriti ja analüüsiti ROC (Receiver Operator Characteristic) kõvera analüüsiga. Tundlikkuse ja spetsiifilisuse andmete ROC-analüüs näitas, et optimaalne ELISA piir on 0,35 RÜ/mL (vt Joonis 8).



Joonis 8. ESAT-6 ja CFP-10 reaktsioonide ROC-kõver.

**Tabel 13. ELISA tundlikkuse ja spetsiifilisuse väärtused erinevate piiride korral**

Piir RÜ/ml IFN- $\gamma$	Tundlikkuse %	95% CI	Spetsiifilisuse %	95% CI	Tundlikkus + spetsiifilisus
0,20	91,53	84,97% kuni 95,86%	96,31	92,87% kuni 98,40%	187,84
0,23	91,53	84,97% kuni 95,86%	96,77	93,47% kuni 98,69%	188,30
0,26	90,68	83,93% kuni 95,25%	96,77	93,47% kuni 98,69%	187,45
0,28	90,68	83,93% kuni 95,25%	97,24	94,08% kuni 98,98%	187,92
0,30	89,83	82,91% kuni 94,63%	97,24	94,08% kuni 98,98%	187,07
0,31	88,98	81,90% kuni 94,00%	97,24	94,08% kuni 98,98%	186,22
0,33	88,98	81,90% kuni 94,00%	97,70	94,71% kuni 99,25%	186,68
<b>0,35</b>	<b>88,98</b>	<b>81,90% kuni 94,00%</b>	<b>98,16</b>	<b>95,35% kuni 99,50%</b>	<b>187,14</b>
0,39	88,14	80,90% kuni 93,36%	98,16	95,35% kuni 99,50%	186,3
0,42	87,29	79,90% kuni 92,71%	98,16	95,35% kuni 99,50%	185,45
0,43	86,44	78,92% kuni 92,05%	98,16	95,35% kuni 99,50%	184,6
0,45	86,44	78,92% kuni 92,05%	98,62	96,01% kuni 99,71%	185,06

Tabel jätkub järgmisel leheküljel

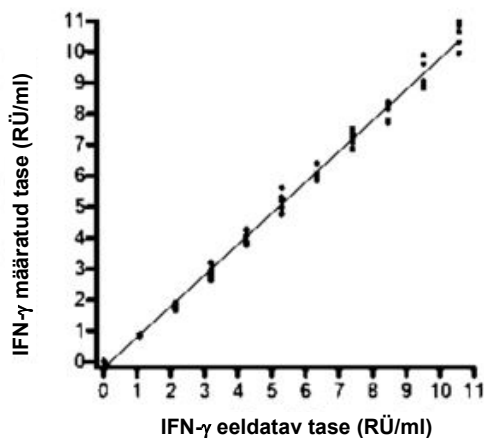
Tabeli algus eelmisel leheküljel

**Tabel 13. ELISA tundlikkuse ja spetsiifilisuse väärtused erinevate piiride korral**

Piir RÜ/ml IFN- $\gamma$	Tundlikkuse %	95% CI	Spetsiifilisuse %	95%CI	Tundlikkus + spetsiifilisus
0,47	85,59	77,94% kuni 91,38%	99,08	96,71% kuni 99,89%	184,67
0,48	84,75	76,97% kuni 90,70%	99,08	96,71% kuni 99,89%	183,83
0,50	83,90	76,00% kuni 90,02%	99,08	96,71% kuni 99,89%	182,98

## Lineaarsus

QFT-Plus ELISA on lineaarne. Teadaoleva IFN- $\gamma$  kontsentratsiooniga 11 plasmaproovi 5 paralleelproovi paigutati juhuslikus järjestuses ELISA-plaadile. Lineaarsel regressioonisirgel on kalle  $1,002 \pm 0,011$  ja korrelatsioonikordaja 0,99 (Joonis 9).



**Joonis 9. Lineaarsusuuringu regressioonianalüüsi illustatsioon – suur kogumi keskmine =  $-0,24 + 0,9964 \cdot$  eeldatav.**

## Reprodutseeritavus

Tehti mitmekeskuseline reprodutseeritavuse uuring, et hinnata QFT-Plusi toimivust mitme töötajaga erinevate uuringukohtade vahel. See oli prospektiivne uuring, mis viidi läbi kolmes välises analüüsimiskohas ja ühes proovivõtukohas. Uuring hõlmas kokku 32 positiivset ja 34 negatiivset (määratletud QFT-analüüsiga) isikut. Uuringus osalejad olid Ameerika Ühendriikide tervishoiutöötajad. Uuringus osalejate rühmad olid TB-kokkupuute segariskiga elukutse tõttu, või kuna tegemist oli tervishoiutöötajaga, kes oli sündinud välisriigis, mille TB-määr ületas 50 / 100 000.

Proovivõtukohas võeti igalt uuringus osalejalt kolm liitiumhepariiniga verevõtukatsuti. Seejärel toimetati üks liitiumhepariiniga verevõtukatsuti igasse kolmest analüüsimiskohast, kus need alikvooditi kaheks verevõtukatsutite QFT-Plus Blood Collection Tubes komplektiks (QFT-Plus TB1, TB2, Mitogen ja Nil), misjärel analüüsiti QFT-Plusi analüüsitõimingu kohaselt. Igas analüüsimiskohas tegi vähemalt kaks operaatorit sõltumatult kaks analüüsi iga uuringus osaleja kohta. Operaatorid ei olnud kursis teis(t)e operaatori(te) saadud tulemusega ega uuringus osaleja QFT analüüsi tulemusega.

Kõigi kolme uuringukoha peale kokku saadi kuus tulemust iga 66 uuringus osaleja kohta ehk kokku 396 andmeüksust. Reprodutseeritavuse kogutulemuste kokkuvõte on toodud tabelis 14.

**Tabel 14. Reprodutseeritavuse uuringu tulemuste kokkuvõte – uuringukoha piires töötajate vaheline kvalitatiivsete tulemuste kattuvus%; N = 66 patsiendiproovi**

Koht 1 – 2 operaatorit	Koht 2 – 2 operaatorit	Koht 3 – 3 operaatorit
64/66 = 96,97%	64/66 = 96,97%	59/66 = 89,39%
Katsutikomplekti 1 ja katsutikomplekti 2 kvalitatiivsete tulemuste kattuvus	Katsutikomplekti 1 ja katsutikomplekti 2 kvalitatiivsete tulemuste kattuvus	Katsutikomplekti 1 ja katsutikomplekti 2 kvalitatiivsete tulemuste kattuvus

Kvalitatiivse kattuvuse protsent kõigi uuringukohtade lõikes on 94,7% (375/396). Selles arvutuses hõlmab kattuvusega analüüsitulemuste koguarv (375) neid juhte, kus kattusid kõik 6 tulemust, 5 tulemust 6st, 4 tulemust 6st ja 3 tulemust 6st kombineerituna.

## Partiidevaheline korratavus

Tehti verevõtukatsutite QFT-Plus Blood Collection Tubes partiidevahelise varieeruvuse uuring võrrelduna QFT katsutitega. Kokku analüüsiti 30 isikut (15 kinnitatud TB-positiivset ja 15 kinnitatud TB-negatiivset määratletuna QFT analüüsiga). Uuring hõlmas kolme eraldi partiid igast verevõtukatsutist QFT-Plus TB1, TB2 ja QFT TB Blood Collection Tubes. Analüüsiti kolme replikaati doonori verevõtukatsuti kohta. Nili ja Mitogeni katsutitest analüüsiti kummaski ühte replikaati.

Igalt isikult võeti verd liitiumhepariini verevõtukatsutitesse, misjärel toimetati 1 ml verd igasse verevõtukatsutisse QFT-Plus ja QFT Blood Collection Tubes ning analüüsiti analüüsitoimingu kohaselt. Iga positiivse ja negatiivse proovirühma kohta ei tohtinud QFT-Plusi katsuti tulemuste kogulahknevus olla märgatavalt suurem kui QFT katsuti tulemuste kogulahknevus. See määratleti Levene'i lahknevuse homogeensuse (HOV) analüüsi antud p-väärtuse alusel. Kui p-väärtus polnud oluline ( $p > 0,05$ ) ja/või QFT-Plusi TB-katsutite varieeruvus oli väiksem kui QFT TB-katsutitel, siis esines QFT-Plusi ja TB-Plusi katsutite vahel lahknevus.

**Tabel 15. Verevõtukatsutite QFT-Plus ja QFT TB Blood Collection Tubes vaheliste lahknevuste võrdlus Levene'i HOV-analüüsi abil**

Proovitüüp	Erinevus	Efekt	Sõltuv	P-väärtus	Oluline
Positiivne	TB2 vs QFT	Sub_Type	Jääk	0,0378	Jah
Positiivne	TB2 vs QFT	Sub_Type	Jääk	0,0540	Ei
Negatiivne	TB2 vs QFT	Sub_Type	Jääk	0,1025	Ei
Negatiivne	TB2 vs QFT	Sub_Type	Jääk	0,6344	Ei

Verevõtukatsutite QFT-Plus ja QFT TB Blood Collection Tubes vaheline varieeruvus polnud oluline, välja arvatud QFT-Plus TB2-katsuti, kui analüüsiti positiivseid isikuid. Standardhälbe prognoosi analüüsimisel oli QFT-Plus TB2-katsutil ilmnenud varieeruvus väiksem (0,06089) kui QFT TB-katsutil (0,07641), nagu on näidatud tabelis 16. Seetõttu polnud verevõtukatsutite QFT-Plus TB1 ja TB2 Blood Collection Tubes lahknevus suurem kui QFT TB verevõtukatsutil.

**Tabel 16. Jäägi standardhälve ja 95% usaldusvahemik positiivsetel isikutel**

Proovitüüp	Alamtüüp	Standardhälve prognoos	95% LCL	95% UCL
Positiivne	QFT	0,07641	0,06826	0,08680
Positiivne	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Positiivne	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

## Partiidesisene korratavus

Tehti verevõtukatsute QFT-Plus Blood Collection Tubes partiidesisese korratavuse uuring, võrreldes IFN- $\gamma$  kontsentratsiooni verevõtukatsuti QFT-Plus TB Blood Collection Tubes vere replikaadist.

Sama kinnitatud TB-nakkusega isiku ühe vereproovi kuus alikvooti analüüsiti 6 kordusvereproovikatsutis kummagi QFT-Plus (TB1 ja TB2) ühest partiist. Analüüsiti 13 isikut. Arvutati iga doonori ja kõigi doonorite ülene %VK, et luua keskmine %VK, nagu on näidatud tabelis 17.

**Tabel 17. Keskmise, standardhälbe, miinimumi, mediaani ja maksimum %VK igas verevõtutatsutis QFT-Plus TB Blood Collection Tubes TB- isikutel**

Katsuti QFT-Plus Tube	Proovi maht	Keskmine (%CV)	Standardhälve	Minimaalne	Mediaan	Maksimum
TB1	13	13,31	6,88	4,17	12,87	29,56
TB2	13	13,04	7,48	4,86	10,75	29,44

Tulemused näitasid, et TB1 ja TB2 keskmine %VK oli ~13%, mis vastas  $\leq 30\%$  aktsepteerimiskriteeriumile ja demonstreeris partiidesisest korratavust.

### Tühiproovi piir (Limit of Blank, LoB)

Hinnati analüüsi QFT-Plus tühiproovi piiri (Limit of Blank, LoB). Analüüsiti kahte replikaati igast 14 individuaalsest tavalise inimplasma proovist (tühiproovina) QFT-Plus ELISA kahe partiiga kolme töötaja poolt kolmel analüüsipäeval, üks töötaja analüüsipäeva kohta, kokku 84 replikaati igast ELISA Kiti partiist.

Kahe ELISA Kiti partii kohta arvutati eraldi LoB väärtused (RÜ/ml), nagu on näidatud tabelis 18.

**Tabel 18. Kahe QFT-Plus ELISA Kiti partii LoB väärtused (RÜ/ml)**

QFT-Plus ELISA Kit	LoB prognoos (RÜ/ml)
Komplekt 1	0,030
Komplekt 2	0,040

Suurem LoB väärtus, 0,040 RÜ/ml, mõlema QFT-Plus ELISA Kiti partii kaupa, esitati lõpliku LoB väärtusena.



## Avastamiskiir (Limit of Detection, LoD)

Hinnati analüüsi QFT-Plus avastamiskiiri (Limit of Detection, LoD). Kombineerides 14 individuaalset plasmaproovi loodi TB-negatiivne inimplasma kogum. Kõik kolm töötajat valmistasid ette IFN- $\gamma$  referentsstandardi lähtelahuse 1,0 RÜ/ml lahjendatuna puhvris. Tehti 8 kontsentratsiooni lahjendusseeria. Uuringu tegid kolme päeva jooksul kolm erinevat töötajat, kasutades kaht QFT-Plus ELISA Kiti partiid. Igal analüüsipäeval analüüsiti iga lahjendusseeria komplekti iga kontsentratsiooni viit replikatsiooni, kokku 45 replikaati iga IFN- $\gamma$  kohta igast QFT-Plus ELISA Kiti partiist.

Iga analüüsitud QFT-Plus ELISA Kiti partii LoD väärtus arvatati eraldi, nagu on näidatud tabelis 19.

**Tabel 19. Kahe QFT-Plus ELISA Kiti partii prognoositud LoD väärtused (RÜ/ml)**

QFT-Plus ELISA Kit	Tõenäosus	Kontsentratsiooni prognoos (RÜ/ml)	Prognoosi alumine 95% usalduspiir	Prognoosi ülemine 95% usalduspiir
Komplekt 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Komplekt 2	0,95	0,065	0,060	0,073

Suurem LoD väärtus, arvatud mõlema QFT-Plus ELISA Kiti partii kaupa, 0,065 RÜ/ml, esitati lõpliku LoD väärtusena.

## Segavad ained

Uuring tehti võimalike segavate ainete mõju määramiseks QFT-Plus ELISA sooritus IFN- $\gamma$  tuvastamiseks. See analüüs hõlmas järgmisi segajaid: triglütseriidid (kokku), hemoglobiin, proteiin (seerum kokku), bilirubiin (konjugeeritud), bilirubiin (konjugeerimata), abakaviirsulfaat, tsüklosporiin ja prednisoloon. Valmistati ette viis plasmakogumit teadaolevate IFN- $\gamma$  kontsentratsioonidega, kasutades erinevaid segajate kontsentratsioone. Aluskogumi IFN- $\gamma$  tase valmistati varem ette eelmääratletud IFN- $\gamma$  olemasoleva kogusega (umbes 0,21, 0,45 ja 1,4 RÜ/ml). Seejärel kasutati seda kogumit segajate kogumite ettevalmistamiseks. Analüüsiti segajate kontsentratsioone 0 mg/dl, 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl ja 20 mg/dl. Segaja sihtkontsentratsioonide aluseks olid referentsintervallid, patoloogilised väärtused, terapeutilised vahemikud ja toksilised vahemikud või tarnija või üldiste kliiniliste tasemete soovitusel. Iga segaja proovi kontsentratsiooni taseme kohta analüüsiti kuus replikaati.

Iga proovi kontsentratsiooni kohta tehti kaheproovi t-analüüs, mis võrdles primaarse segaja taseme keskmise log<sub>10</sub> (RÜ/ml) erinevust võrrelduna kontrolliga (st segajavaba tasemega), nagu on näidatud tabelis 20 ja 21. Esitati ka keskmise reaktsiooni prognoositud erinevus koos vastavate kahepoolsete 95% usalduspiiride ja p-väärtusega.

**Tabel 20. Log10 RÜ/ml: t-analüüsi kokkuvõtetabel keskmiste väärtuste erinevustest kontrolli ja primaarse segaja taseme vahel iga segaja ja IFN- $\gamma$  kontsentratsiooni taseme kohta**

Segaja	Segaja tase	Proovi kontsentratsioon (RÜ/ml)	Lahknevused	Keskmine erinevus	Alumine 95% CI	Ülemine 95% CI	P-väärtus	Läbitud
Triglütseriidid	Kõrge	1,4	Võrdne	0,019	-0,040	0,077	0,491	Jah
		0,45	Võrdne	0,004	-0,022	0,030	0,732	Jah
		0,21	Võrdne	0,006	-0,035	0,047	0,759	Jah
Hemoglobiin	Kõrge	1,4	Võrdne	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Jah
		0,45	Võrdne	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Jah
		0,21	Võrdne	0,000	-0,034	0,035	0,980	Jah
Valk	Kõrge	1,4	Võrdne	0,004	-0,034	0,042	0,836	Jah
		0,45	Võrdne	0,001	-0,38	0,040	0,962	Jah
		0,21	Võrdne	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Jah
Bilirubiin konjugeeritud	Kõrge	1,4	Võrdne	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Jah
		0,45	Võrdne	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Jah
		0,21	Võrdne	-0,014	0,074	0,046	0,625	Jah
Bilirubiin konjugeerimata	Kõrge	1,4	Võrdne	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Jah
		0,45	Võrdne	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Jah
		0,21	Võrdne	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Jah
Abakaviir	Kõrge	1,4	Võrdne	0,008	-0,025	0,041	0,601	Jah
		0,45	Võrdne	0,012	-0,019	0,044	0,412	Jah
		0,21	Võrdne	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Jah

Tabel jätkub järgmisel leheküljel

Tabeli algus eelmisel leheküljel

**Tabel 20. Log<sub>10</sub> RÜ/ml: t-analüüsi kokkuvõtetabel keskmiste väärtuste erinevustest kontrolli ja primaarse segaja taseme vahel iga segaja ja IFN- $\gamma$  kontsentratsiooni taseme kohta**

Segaja	Segaja tase	Proovi kontsentratsioon (RÜ/ml)	Lahknevused	Keskmine erinevus	Alumine 95% CI	Ülemine 95% CI	P-väärtus	Läbitud
Tsüklosporiin	Kõrge	1,4	Võrdne	0,014	-0,020	0,047	0,383	Jah
		0,45	Võrdne	0,005	-0,035	0,045	0,773	Jah
		0,21	Võrdne	0,024	-0,008	0,056	0,131	Jah
Prednisoloon	Kõrge	1,4	Võrdne	0,017	-0,017	0,050	0,293	Jah
		0,45	Võrdne	0,000	-0,036	0,036	0,979	Jah
		0,21	Võrdne	0,015	-0,035	0,065	0,524	Jah

**Tabel 21. Log10 RÜ/ml: t-analüüsi kokkuvõtetabel keskmiste väärtuste erinevustest kontrolli ja kõrge segaja taseme vahel iga segaja ja IFN- $\gamma$  kontsentratsiooni taseme kohta**

Segaja	Segaja tase	Proovi kontsentratsioon (RÜ/ml)	Lahknevused	Keskmine erinevus	Alumine 95% CI	Ülemine 95% CI	P-väärtus	Läbitud
Triglütseriidid	Kõrge	1,4	Võrdne	0,053	-0,004	0,110	0,063	Jah
		0,45	Võrdne	0,039	-0,021	0,058	<0,001	Jah
		0,21	Võrdne	0,034	-0,002	0,071	0,061	Jah
Hemoglobiin	Kõrge	1,4	Võrdne	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Jah
		0,45	Võrdne	0,016	-0,007	0,040	0,152	Jah
		0,21	Võrdne	0,014	-0,030	0,059	0,489	Jah
Valk	Kõrge	1,4	Võrdne	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Jah
		0,45	Võrdne	0,000	-0,046	0,046	0,992	Jah
		0,21	Võrdne	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Jah
Bilirubiin konjugeeritud	Kõrge	1,4	Võrdne	0,001	-0,046	0,048	0,961	Jah
		0,45	Võrdne	0,012	-0,043	0,067	0,639	Jah
		0,21	Võrdne	0,015	-0,044	0,074	0,586	Jah
Bilirubiin konjugeerimata	Kõrge	1,4	Võrdne	0,015	-0,011	0,042	0,231	Jah
		0,45	Võrdne	0,015	-0,023	0,052	0,411	Jah
		0,21	Võrdne	0,012	-0,033	0,057	0,566	Jah
Abakaviir	Kõrge	1,4	Võrdne	0,013	-0,015	0,040	0,322	Jah
		0,45	Võrdne	0,015	-0,014	0,044	0,283	Jah
		0,21	Võrdne	0,008	-0,034	0,050	0,677	Jah

Tabel jätkub järgmisel leheküljel

Tabeli algus eelmisel leheküljel

**Tabel 21. Log<sub>10</sub> RÜ/ml: t-analüüsi kokkuvõtetabel keskmiste väärtuste erinevustest kontrolli ja kõrge segaja taseme vahel iga segaja ja IFN- $\gamma$  kontsentratsiooni taseme kohta**

Segaja	Segaja tase	Proovi kontsentratsioon (RÜ/ml)	Lahknevused	Keskmine erinevus	Alumine 95% CI	Ülemine 95% CI	P-väärtus	Läbitud
Tsüklosporiin	Kõrge	1,4	Võrdne	0,002	-0,019	0,024	0,816	Jah
		0,45	Võrdne	0,007	-0,030	0,043	0,682	Jah
		0,21	Võrdne	0,015	-0,007	0,038	0,155	Jah
Prednisoloon	Kõrge	1,4	Võrdne	0,007	-0,016	0,030	0,518	Jah
		0,45	Võrdne	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Jah
		0,21	Võrdne	0,021	-0,025	0,068	0,334	Jah

Tulemused ei näidanud olulisi erinevusi primaarse segaja taseme ja kontrolli (segajavaba tase) ning kõrge segaja taseme vahel, välja arvatud triglütseriidi 0,45 RÜ/ml kontsentratsiooni tase. Keskmine erinevus määratleti olevat +/- 2 standardhälbe ulatuse piires. See näitab, et erinevus on analüüsi eeldatava varieeruvuse piires ja et triglütseriidil polnud QFT-Plus ELISA segavat mõju.

## Äraviskamine

Järgige asjakohaseid vere käsitlemise juhiseid. Vere ja veretoodetega kokku puutunud proovid ja materjalid tuleb kõrvaldada kooskõlas föderaalsete, riiklike ja kohalike nõuetega.

# Viited

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.

# Törkeotsingjuhend

See törkeotsingjuhend võib olla abiks tekkinud probleemide lahendamisel. Tehnilise abi ja lisateabe saamiseks pöörduge meie tehnilise toe keskuse poole veebilehel [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) (kontaktandmed leiate veebilehelt [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Kommentaariid ja ettepanekud

---

### ELISA analüüsi törkeotsing

#### Mittespetsiifiline värvireaktsioon

- a) Plaadid pole piisavalt puhtad  
Peske plaati vähemalt 6 korda, kasutades iga mikrolohukese kohta 400 µl pesupuhvrit. Sõltuvalt kasutatavast pesuseadmest võib osutuda vajalikuks üle 6 pesutsükli. Iga pesutsükli vahele tuleb jätta vähemalt 5 sekundi pikkune leotusaeg.
- b) ELISA süvendite ristsaastamine  
Proovide hoolikas pipeteerimine ja segamine minimeerib saastumisohtu.
- c) Komplekt/ komponendid on aegunud  
Veenduge, et komplekti säilivusaeg poleks möödas. Arvestage, et standard ja 100-kordne konjugatsioonikontsentraat tuleb ära kasutada kolme kuu jooksul pärast rekonstitueerimist.
- d) Ensüümsubstraadi lahus on saastunud  
Kui substraat muutub sinakaks, tuleb see kõrvaldada. Kontrollige, et kasutatavad reaktiivimahutid oleksid puhtad.
- e) Plasmal on enne eraldamist verevõtukatsutites QFT-Plus Blood Collection Tubes loksutatud  
plasmaproove ei tohi pärast tsentrifugeerimist ja enne plasma eraldamist mingil juhul üles või alla pipeteerida ega segada. Olge alati ettevaatlik, et materjal hüüvise pinnaga ei seguneks.

#### Standardite halvad optilise tiheduse näidud

- a) Viga standardi lahendamisel  
Veenduge, et komplekti standardi lahused valmistataks õigesti selle kasutusjuhendi juhiste kohaselt.

## Kommentaariid ja ettepanekud

---

- b) Pipeteerimisviga Veenduge, et pipetid oleks kalibreeritud ja neid kasutatakse vastavalt tootja juhistele.
- c) Inkubeerimis-temperatuur on liiga madal ELISA inkubeerimine tuleb läbi viia toatemperatuuril ( $22 \pm 5$  °C).
- d) Inkubeerimisaeg on liiga lühike Konjugaadi, standardite ja proovidega plaadi inkubeerimine peab kestma  $120 \pm 5$  minutit. Ensüümsubstraadi lahust tuleb plaadil inkubeerida 30 minutit.
- e) Kasutati valet plaadilugemisfiltrit Plaati tuleb lugeda 450 nm juures referentsfiltriga vahemikus 620–650 nm.
- f) Reaktiivid on liiga külmad Kõik reaktiivid (välja arvatud 100-kordne konjugaadikontsentraat) peavad enne analüüsi tegemist olema saavutanud toatemperatuuri. See võtab aega umbes 1 tund.
- g) Komplekt/komponendid on aegunud Kontrollige, et komplekti säilivusaeg poleks möödas. Veenduge, et rekonstitueeritud standard ja 100-kordne konjugatsioonikontsentraat kasutatakse ära kolme kuu jooksul pärast rekonstitueerimist.

## Tausta tugev värvumus

- a) Plaadid pole piisavalt puhtad Peske plaati vähemalt 6 korda, kasutades iga mikrolohkese kohta 400 µl pesupuhvrit. Vajalik võib olla rohkem kui 6 pesutsükli läbimine. Iga pesutsükli vahele tuleb jätta vähemalt 5 sekundi pikkune leotusaeg.
- b) Inkubeerimis-temperatuur on liiga kõrge ELISA inkubeerimine tuleb läbi viia toatemperatuuril ( $22 \pm 5$  °C).

## Kommentaariid ja ettepanekud

---

- c) Komplekt/  
komponendid on  
aegunud
- Veenduge, et komplekti säilivusaeg poleks möödas. Arvestage, et standard ja 100-kordne konjugatsioonikontsentraat tuleb ära kasutada kolme kuu jooksul pärast rekonstitueerimist.
- d) Ensüümsubstraadi  
lahus on saastunud
- Kui substraat muutub sinakaks, tuleb see kõrvaldada. Kontrollige, et kasutatavad reaktiivimahutid oleksid puhtad.

## Mittelineaarne standardkõver ja kahekordsete testide vahelised hälbed

- a) Plaadid pole piisavalt  
puhtad
- Peske plaati vähemalt 6 korda, kasutades iga mikrolohukese kohta 400 µl pesupuhvrit. Vajalik võib olla rohkem kui 6 pesutsükli läbimine. Iga pesutsükli vahele tuleb jätta vähemalt 5 sekundi pikkune leotusaeg.
- b) Viga standardi  
lahjendamisel
- Veenduge, et standardi lahused valmistataks õigesti selle kasutusjuhendi juhiste kohaselt.
- c) Reaktiivid ei ole läbi  
segatud
- Segage reaktiive enne süvenditesse jaotamist kergelt või loksutage nende anumaid.
- d) Ebaühtlane  
pipeteerimine või  
katkestused analüüsi  
läbiviimisel
- Proovide ja standardite jaotamine peab toimuma katkestusteta. Kõik reaktiivid peavad olema enne analüüsi alustamist kasutamiseks ette valmistatud.

# Sümbolid

Kasutusjuhendis või pakendil ja sildil on järgmised sümbolid.

## Sümbol

## Tähise selgitus



<N>

Sisaldab reaktiive, millest piisab <N> reaktsiooni jaoks



Kõlblik kuni



See toode täidab Euroopa Liidu määruse 2017/746 *in vitro* diagnostikaks kasutatud meditsiiniseadmete kohta nõudeid.

**EC**

**REP**

Volitatud esindaja Euroopa Ühenduses / Euroopa Liidus

**IVD**

*In vitro* diagnostiline meditsiiniseade

**REF**

Katalooginumber

**LOT**

Partii number

**MAT**

Materjali number (st komponendi tähistamine)

**COMP**

Komponendid

**CONT**

Sisaldab

**NUM**

Number

**GTIN**

Globaalne kaubaartikli number

Rn

R on kasutusjuhendi läbivaatamine ja n on versiooninumber



Temperatuuripiirangud

## Sümbol

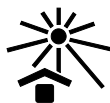
## Tähise selgitus



Tootja



Tutvuge kasutusjuhendiga



Kaitske valguse eest



Hoiatus/ettevaatust või Ettevaatust!, tutvuge kaasasolevate dokumentidega

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

*In vitro* diagnostiline analüüs, mis sisaldab proteiine ESAT-6 ja CFP-10 simuleerivate ning hepariniseeritud täisveres rakke stimuleerivate peptiidide segu



Sisaldab loomset päritolu bioloogilist materjali



Sisaldab inimpäritolu bioloogilist materjali



Seadme kordumatu identifikaator

## Sümbol

## Tähise selgitus

---

**tartrazine**

Sisaldab tartasiini

**sulfuric acid**

Sisaldab väävelhapet

# Lisa A: Tehniline teave

## Määramatud tulemused

Määramatud tulemusi esineb harva ja need võivad olla seotud analüüsitava isiku immuunsüsteemi seisundiga (5), kuid ka mitmesuguste tehniliste teguritega (nt verevõtukatsutite vale käsitlemine/hoiustamine, ELISA plaadi puudulik pesu), kui pole järgitud eespool esitatud juhiseid.

Kui peate võimalikuks, et reaktiivide säilitamisel, verevõtmisel või vereproovide käsitlemisel võis tekkida tehnilisi probleeme, tuleb kogu analüüsi QFT-Plus uute vereproovidega korrata. Stimuleeritud plasmaproovide ELISA analüüsi võib korrata, kui on alust oletada, et ELISA plaate ei pestud piisavalt või esines muid ELISA analüüsi nõuete eiramisi. Arstil on siis võimalik lasta võtta uus vereproov või määrata vajaduse korral muid uuringuid.

## Plasmaproovide hüübimine

Kui plasmaproovide pikemaajalisel säilitamisel tekib nendes fibriniide hüübimine, tuleb proove tsentrifuugida, kuni tekib sete; see hõlbustab plasma pipeteerimist.

## Lipeemilised plasmaproovid

Lipeemiliste proovide pipeteerimisel tuleb olla hoolikas, kuna rasvajäägid võivad pipetiotsikuid ummistada.



# Lisa B: Ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi lühikirjeldus

1. Ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi komponentidel (välja arvatud 100-kordne konjugaadikontsentraat) tuleb lasta vähemalt 60 minutit toatemperatuuril stabiliseeruda.



2. Rekonstitueerige standardkomplekt destilleeritud või deioniseeritud veega 8,0 RÜ/ml-ni. Valmistage neli (4) standardlahust.



3. Rekonstitueerige lüofiliseeritud 100-kordne konjugaadikontsentraat destilleeritud või deioniseeritud veega.

4. Valmistage rohelse lahjendiga konjugaat ja valage igasse süvendisse 50 µl.



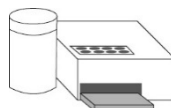
5. Lisage igasse mikrolohukesse 50 µl plasmaproovi ja 50 µl standardeid. Segage raputis.



6. Inkubeerige 120 minutit toatemperatuuril.



7. Peske süvendeid vähemalt 6 korda, kasutades iga süvendi kohta 400 µl pesupuhvrit.



8. Tilgutage igasse mikrolohukesse 100 µl ensüümsubstraadi lahust. Segage raputis.



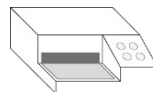
9. Inkubeerige 30 minutit toatemperatuuril.



10. Tilgutage igasse mikrolohukesse 50 µl deaktivaatorit. Segage raputis.



11. Mõõtke tulemusi 450 nm filtri ja 620–650 nm referentsfiltriga.



12. Analüüsige tulemusi.



# Tellimisteave

Toode	Sisukord	Katalooginr
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit	2 plaadist koosnev ELISA komplekt	622120
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Reference Lab Pack	20 plaadist koosnev ELISA komplekt	622822
<b>Related products</b>		
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes	200 katsutit (50 iga Nil, TB1, TB2 and Mitogen)	622526
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 katsutit (25 iga Nil, TB1, TB2 and Mitogen)	622423
QuantiFERON-TB Gold Plus Single Patient Pack	40 katsutit (1 iga Nil, TB1, TB2 ja Mitogen/pakend), pakendis 10	622222
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes	200 katsutit (50 iga Nil, TB1, TB2 and Mitogen)	623526
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 katsutit (50 iga Nil, TB1, TB2 and Mitogen)	623423
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Single Patient Pack	40 katsutit (1 iga Nil, TB1, TB2 ja Mitogen/pakend), pakendis 10	623222

Ajakohase litsentsimisteabe ja tootepõhised lahtiütllused leiate vastava QIAGEN-i komplekti kasutusjuhendist. QIAGENI komplektide kasutusjuhendid on saadaval veebilehel [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) või tellimisel QIAGENI tehniliselt toelt või kohalikult edasimüüjalt.

# Dokumendi redaktsioonialugu

<b>Kuupäev</b>	<b>Muudatused</b>
R2, juuni 2021	Teave ühe patsiendi pakendi kohta Muudetud tabeleid 10 ja 11, et eristada QFT-GIT ja QFT-Plusi andmeid Uuendatud jaotist Kirjeldus ja tööpõhimõte, lisades teabe analüüsitava populatsiooni ja mõõtmisulatuse kohta. Lisatud tabel 9 andmetega QFT-Plusi tõenäosusmäära kohta
R3, oktoober 2021	Katalooginumber tagasi pööratud algsele katalooginumbrile Komplekti sisule lisatud mikropaadi ribade ühekordse kasutamise teade
R4, märts 2023	Vorminguparandused

See leht on teadlikult tühjaks jäetud

#### **Komplekti QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit piiratud litsentsi leping**

Selle toote kasutamine tähendab, et toote ostja või kasutaja nõustub järgmistega tingimustega.

1. Toodet tohib kasutada ainult tootega kaasas olevate protokollide ja selle kasutusjuhendi kohaselt ning ainult koos paneelis sisalduvate komponentidega. QIAGEN ei anna oma intellektuaalse omandi all litsentse paneeli komponentide kasutamiseks või ühendamiseks sellesse paneeli mittekuuluvate komponentidega, välja arvatud toote protokollides, selles kasutusjuhendis ja veebisaidil [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) kirjeldatud juhtudel. Mõne neist lisaprotokollidest on lisanud QIAGENI kasutajate jaoks teised QIAGENI kasutajad. QIAGEN pole neid protokolle põhjalikult analüüsinud ega optimeerinud. QIAGEN ei garanteeri, et need ei riku kolmandate osapoolte õigusi.
2. QIAGEN ei anna garantiid, et paneel ja/või selle kasutus ei riku kolmandate osapoolte õigusi, v.a sõnaselged litsentsid.
3. Paneel ja selle osad on litsentsitud ühekordseks kasutuseks ning neid ei tohi korduskasutada, parandada ega edasi müüa.
4. QIAGEN ütleb lahti muudest otsestest või kaudsetest litsentsidest, v.a selgesõnalistest litsentsidest.
- 5: Paneeli ostja ja kasutaja nõustuvad, et ei tee ise ega luba kellelgi teisel teha midagi, mis võiks kaasa aidata või viia ülaltoodud keelatud toiminguteni. QIAGEN võib selle piiratud litsentsi lepingu keelde jõustada mis tahes kohtus ning taotleda tagasi kõik piiratud litsentsi lepingu või paneeli ja/või selle komponentidega seotud mis tahes intellektuaalse omandi õiguste jõustamiseks kulunud juurdlus- ja kohtukulud, sh advokaaditasud.

Uuendatud litsentsitingimused leiate veebilehelt [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Kaubamärgid: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (QIAGEN Group) Proclin®. Käesolevas dokumendis kasutatud registreeritud nimetused, kaubamärgid jne ei ole käsitletavad seadusega mitte kaitstuna isegi juhul, kui pole vastavalt tähistatud.

03/2023 L1123669 1123669ET © 2023 QIAGEN. Kõik õigused kaitstud.

Tellimine [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Tehniline tugi [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Veebisait [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)