

Απρίλιος 2022

# Οδηγίες χρήσης QuantiFERON® SARS-CoV-2 ELISA Kit



Έκδοση 1



Για in vitro διαγνωστική χρήση

Για χρήση με τα σωληνάρια αιμοληψίας QuantiFERON® SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes



626420



QIAGEN, 19300 Germantown Road, Germantown, MD 20874, ΗΠΑ  
Αρ. τηλεφώνου: +1-800-426-8157



QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1, 40724  
Hilden, Γερμανία



1124420EL



# Περιεχόμενα

Προβλεπόμενη χρήση .....	5
Προβλεπόμενος χρήστης .....	6
Περιγραφή και αρχή λειτουργίας.....	7
Σύνοψη και επεξήγηση.....	7
Υλικά που παρέχονται .....	9
Περιεχόμενα του κιτ.....	9
Στοιχεία του κιτ .....	10
Πλατφόρμα και λογισμικό.....	10
Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται .....	11
Πρόσθετα αντιδραστήρια.....	11
Εξοπλισμός .....	11
Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις.....	12
Πληροφορίες ασφάλειας.....	12
Προφυλάξεις.....	14
Αποθήκευση και χειρισμός αντιδραστηρίων .....	16
Σταθερότητα εντός χρήσης.....	16
Ανασυσταθέντα και αχρησιμοποίητα αντιδραστήρια .....	16
Φύλαξη και χειρισμός δοκιμίων .....	17
Διαδικασία: Εκτέλεση του ELISA .....	18
Πρωτόκολλο: Ανάλυση ELISA για την IFN-γ .....	18
Αποτελέσματα (Υπολογισμοί).....	24
Παραγωγή πρότυπης καμπύλης και τιμών δειγμάτων .....	24

---

Έλεγχος ποιότητας εξέτασης .....	26
Ερμηνεία αποτελεσμάτων .....	28
Περιορισμοί .....	29
Χαρακτηριστικά απόδοσης προσδιορισμού.....	30
Απόδοση ανάλυσης .....	30
Κλινική απόδοση .....	39
Βιβλιογραφία .....	46
Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων.....	51
Σύμβολα .....	54
Στοιχεία επικοινωνίας .....	55
Παράρτημα Α: Τεχνικές πληροφορίες.....	56
Απροσδιόριστα αποτελέσματα .....	56
Θρομβωμένα δείγματα πλάσματος .....	56
Λιπαιμικά δείγματα πλάσματος .....	56
Παράρτημα Β: Συνοπτική διαδικασία ανάλυσης ELISA .....	57
Πληροφορίες παραγγελίας .....	59
Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου .....	60

## Προβλεπόμενη χρήση

Ο προσδιορισμός QuantiFERON SARS-CoV-2 είναι μια in vitro διαγνωστική εξέταση που έχει σχεδιαστεί για τον ποιοτικό προσδιορισμό της IFN- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) που παράγεται από τα κύτταρα CD4+ και CD8+ T ως ανταπόκριση στη διέγερση από μείγμα πεπτιδίων SARS-CoV-2 σε ηπαρινισμένο ολικό αίμα. Η ποσότητα IFN- $\gamma$  που παράγεται μετράται με τη χρήση ενζυμικού προσδιορισμού ανοσοπροσρόφησης (ELISA).

Ο προσδιορισμός QuantiFERON SARS-CoV-2 προορίζεται για χρήση ως βοήθημα στην αξιολόγηση της κυτταρομεσολαβούμενης ανοσοαπόκρισης (CMI) σε άτομα χωρίς ιστορικό λοίμωξης από SARS-CoV-2, τα οποία έχουν λάβει εμβολιασμό κατά της COVID-19 με εμβόλια που στοχεύουν την πρωτεΐνη-ακίδα (S) του ιού SARS-CoV-2.

Ο προσδιορισμός QuantiFERON SARS-CoV-2 θα πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλες εργαστηριακές εξετάσεις και επιδημιολογική/κλινική εκτίμηση για την αξιολόγηση της ανοσοαπόκρισης ενός ατόμου λόγω του εμβολιασμού κατά της COVID-19.

Μπορεί να περάσουν αρκετές ημέρες μετά τον εμβολιασμό για την ανάπτυξη ανοσοαποκρίσεων T κυττάρων, παρόλο που η χρονική διάρκεια παρουσίας των ανοσοαποκρίσεων T κυττάρων δεν έχει χαρακτηριστεί επαρκώς στα εμβολιασμένα άτομα.

Τα μη αντιδραστικά αποτελέσματα δεν αποκλείουν την ενεργή λοίμωξη από SARS-CoV-2 και δεν καθορίζουν την αποτελεσματικότητα των εμβολίων κατά της COVID-19. Εάν υπάρχει υποψία ενεργής λοίμωξης, επιβεβαιώστε χρησιμοποιώντας άλλη μοριακή ή αντιγονική εξέταση για τον SARS-CoV-2. Τα αποτελέσματα από τον προσδιορισμό θα πρέπει πάντα να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με κλινική εξέταση, ιστορικό του ασθενούς και άλλα ευρήματα.

Για in vitro διαγνωστική χρήση.

---

## Προβλεπόμενος χρήστης

Το κιτ αυτό προορίζεται για επαγγελματική χρήση.

Το προϊόν θα πρέπει να χρησιμοποιείται μόνον από προσωπικό με ειδική κατάρτιση και εκπαίδευση σε τεχνικές μοριακής βιολογίας και εξοικειωμένο με την τεχνολογία αυτή.

# Περιγραφή και αρχή λειτουργίας

## Σύνοψη και επεξήγηση

Το QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) είναι ένας ποιοτικός προσδιορισμός που χρησιμοποιεί ειδικά σωληνάρια αιμοληψίας, τα οποία περιέχουν πεπτιδικά αντιγόνα που διεγείρουν τα ανοσοκύτταρα με τη χρήση ειδικών πρωτεϊνών για τον SARS CoV-2. Το αίμα επωάζεται μέσα στα σωληνάρια επί 16 έως 24 ώρες και, στη συνέχεια, το πλάσμα συλλέγεται και εξετάζεται ως προς την παρουσία IFN- $\gamma$  η οποία παράγεται ως απάντηση στα πεπτιδικά αντιγόνα. Έχουν αναφερθεί ειδικές μεσολαβούμενες από T-κύτταρα αποκρίσεις στη λοίμωξη από SARS-CoV-2 μετά από εμβολιασμό με διαφορετικούς τύπους εμβολίων που στοχεύουν την πρωτεΐνη-ακίδα [1–34].

Αρχικά, λαμβάνεται ολικό αίμα σε καθένα από τα σωληνάρια αιμοληψίας QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes: ένα σωληνάριο Nil, ένα σωληνάριο Ag1, ένα σωληνάριο Ag2 και ένα σωληνάριο Mitogen. Εναλλακτικά, το αίμα μπορεί να ληφθεί σε ένα σωληνάριο αιμοληψίας που περιέχει λιθιούχο ή νατριούχο ηπαρίνη ως αντιπηκτικό, και κατόπιν να μεταφερθεί σε σωληνάρια αιμοληψίας QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes.

Τα σωληνάρια αιμοληψίας QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes θα πρέπει να ανακινηθούν ώστε το αντιγόνο να αναμειχθεί με το αίμα και θα πρέπει να επωαστούν στους  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  το συντομότερο δυνατόν και εντός 16 ωρών από τη λήψη. Έπειτα από μια περίοδο επώασης διάρκειας 16 έως 24 ωρών, τα σωληνάρια φυγοκεντρώνονται, το πλάσμα υποβάλλεται σε επεξεργασία και η ποσότητα της IFN- $\gamma$  (IU/ml) μετράται μέσω ELISA. Ο προσδιορισμός QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA χρησιμοποιεί το πρότυπο ανασυνδυασμένης ανθρώπινης IFN- $\gamma$ , το οποίο έχει αναλυθεί έναντι ενός παρασκευάσματος IFN- $\gamma$  αναφοράς (Αρ. αναφ. NIH: Gxg01-902-535). Τα αποτελέσματα για τα δείγματα της εξέτασης αναφέρονται σε διεθνείς μονάδες ανά ml (IU/ml) σε σχέση με μια πρότυπη καμπύλη η οποία παράγεται μέσω εξέτασης της αραιώσης του προτύπου που παρέχεται με το kit.

---

Τα ετερόφιλα αντισώματα (π.χ. ανθρώπινα αντισώματα έναντι των ποντικών) στον ορό ή το πλάσμα ορισμένων ατόμων είναι γνωστό ότι προκαλούν παρεμβολές στους ανοσοπροσδιορισμούς. Η επίδραση των ετερόφιλων αντισωμάτων στη μέθοδο QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA ελαχιστοποιείται με την προσθήκη φυσιολογικού ορού ποντικού στο πράσινο αραιωτικό και με τη χρήση τμημάτων μονοκλωνικού αντισώματος F(ab')<sub>2</sub> ως δέσμευσης της IFN- $\gamma$  που επικαλύπτει τα βυθίσματα της μικροπλάκας.

Το δείγμα πλάσματος από το σωληνάριο Mitogen χρησιμεύει ως θετικός μάρτυρας IFN- $\gamma$  για καθένα από τα εξεταζόμενα δοκίμια. Το σωληνάριο Nil χρησιμεύει στη διόρθωση των αποτελεσμάτων ως προς το υπόβαθρο (π.χ. αυξημένα επίπεδα IFN- $\gamma$  στην κυκλοφορία ή παρουσία ετερόφιλων αντισωμάτων). Το επίπεδο IFN- $\gamma$  στο σωληνάριο Nil αφαιρείται από το επίπεδο IFN- $\gamma$  στα σωληνάρια Ag1, Ag2 και Mitogen.



# Υλικά που παρέχονται

## Περιεχόμενα του kit

<b>Συστατικά προσδιορισμού ELISA</b>	<b>Kit 2 πλακών</b>
<b>Αρ. καταλόγου</b>	<b>626420</b>
Microplate strips (Σειρές μικροπλακών) (12 × 8 βυθίσματα) επικαλυμμένες με μονοκλωνικό αντίσωμα ποντικού κατά της ανθρώπινης IFN-γ	2 σετ με 12 σειρές μικροπλακών των 8 βυθισμάτων
IFN-γ Standard (πρότυπο IFN), λυοφιλοποιημένο (περιέχει ανασυνδυασμένη ανθρώπινη IFN-γ, καζεΐνη βοοειδούς, θιμεροσάλη 0,01% κ.ό.)	1 φιαλίδιο (8 IU/ml μετά την ανασύσταση)
Green Diluent (Πράσινο αραιωτικό) (περιέχει καζεΐνη βοοειδούς, φυσιολογικό ορό ποντικού, θιμεροσάλη 0,01% κ.ό.)	1 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x), λυοφιλοποιημένο (αντίσωμα ποντικού κατά της ανθρώπινης IFN-γ HRP, περιέχει θιμεροσάλη 0,01% κ.ό.)	1 × 0,3 ml (μετά την ανασύσταση)
Wash Buffer 20x Concentrate (Συμπύκνωμα ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 20x) (pH 7,2, περιέχει ProClin® 300 0,05% κ.ό.)	1 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Διάλυμα υποστρώματος ενζύμου) (περιέχει H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3', 5,5' τετραμεθυλοβενζιδίνη)	1 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Διάλυμα διακοπής ενζυμικής αντίδρασης) (περιέχει H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,5 M)*	1 x 15 ml
<i>Οδηγίες χρήσης QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA Kit</i>	1

\* Περιέχει θειικό οξύ

---

## Στοιχεία του kit

### Μάρτυρες και βαθμονομητές

Η μέθοδος QFN-SARS ELISA χρησιμοποιεί ένα πρότυπο ανασυνδυασμένης ανθρώπινης IFN- $\gamma$ , το οποίο έχει αναλυθεί έναντι ενός παρασκευάσματος IFN- $\gamma$  αναφοράς (Αρ. αναφ. NIH: Gxg01-902-535).

### Πλατφόρμα και λογισμικό

Το QFN SARS Analysis Software είναι προαιρετικό και μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση πρωτογενών δεδομένων και τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων. Είναι διαθέσιμο για λήψη στον ιστότοπο **[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)**.

# Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται

## Πρόσθετα αντιδραστήρια

- Απιονισμένο ή απεσταγμένο νερό, 2 λίτρα

## Εξοπλισμός\*

- Επωαστήρας  $37 \pm 1$  °C (με ή χωρίς CO<sub>2</sub>)
- Βαθμονομημένες πιπέτες ρυθμιζόμενου όγκου για χορήγηση 10 μl έως 1.000 μl, με ρύγχη μίας χρήσης
- Βαθμονομημένη πολυκάναλη πιπέτα με δυνατότητα χορήγησης 50 μl και 100 μl, με ρύγχη μίας χρήσης
- Συσκευή ανακίνησης μικροπλακών με δυνατότητα ταχυτήτων μεταξύ 500 και 1000 rpm
- Μονάδα πλύσης πλακών (για λόγους ασφάλειας κατά τον χειρισμό δειγμάτων πλάσματος, συνιστάται η χρήση αυτόματης συσκευής πλύσης πλακών)
- Συσκευή ανάγνωσης μικροπλακών με φίλτρο 450 nm και φίλτρο αναφοράς 620 nm έως 650 nm
- Αναδευτήρας τύπου vortex μεταβαλλόμενης ταχύτητας
- Φυγόκεντρος με δυνατότητα φυγοκέντρωσης των σωληναρίων αιμοληψίας με τουλάχιστον 3000 RCF (g)
- Ογκομετρικός κύλινδρος, 1 λίτρο έως 2 λίτρα
- Καπάκι πλάκας
- Απορροφητικό χαρτί χωρίς χνούδι

\* Πριν από τη χρήση, βεβαιωθείτε ότι τα όργανα έχουν ελεγχθεί και βαθμονομηθεί σύμφωνα με τις συστάσεις του κατασκευαστή.

# Προειδοποιήσεις και προφυλάξεις

Για τους πελάτες στην Ευρωπαϊκή Ένωση: λάβετε υπόψη ότι πρέπει να αναφέρετε στον κατασκευαστή και στην αρμόδια αρχή του κράτους μέλους στο οποίο υπάγεται ο χρήστης ή/και ο ασθενής, οποιαδήποτε σοβαρά συμβάντα σχετίζονται με τη συσκευή.


## Πληροφορίες ασφάλειας

Κατά την εργασία με χημικές ουσίες, φοράτε πάντα κατάλληλη προστατευτική ποδιά εργαστηρίου, γάντια μίας χρήσης και προστατευτικά γυαλιά. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε στα σχετικά δελτία δεδομένων ασφάλειας (Safety Data Sheets, SDS). Διατίθενται στο Διαδίκτυο σε εύχρηστη και συμπιεσμένη μορφή PDF, στην ιστοσελίδα **[www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)**, όπου μπορείτε να βρείτε, να προβάλετε και να εκτυπώσετε τα SDS για κάθε κιτ της QIAGEN, καθώς και για τα περιεχόμενά του.

- Όλες οι χημικές ουσίες και τα βιολογικά υλικά είναι εν δυνάμει επικίνδυνα. Τα δοκίμια και τα δείγματα είναι εν δυνάμει μολυσματικά και πρέπει να αντιμετωπίζονται ως βιολογικά επικίνδυνα υλικά.
- Τα απόβλητα των δειγμάτων και των προσδιορισμών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες ασφαλείας.
- Τα δοκίμια και τα δείγματα είναι δυνητικώς μολυσματικά. Τα απόβλητα των δειγμάτων και των προσδιορισμών πρέπει να απορρίπτονται σύμφωνα με τις τοπικές διαδικασίες ασφαλείας.
- Ο προσδιορισμός QFN SARS θα πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλες εργαστηριακές εξετάσεις και επιδημιολογική/κλινική εκτίμηση για την αξιολόγηση της ανοσοαπόκρισης ενός ατόμου λόγω του εμβολιασμού κατά της COVID-19.

- Ένα μη αντιδραστικό αποτέλεσμα QFN SARS δεν αποκλείει την πιθανότητα ενεργής λοίμωξης από SARS-CoV-2 και δεν καθορίζει την αποτελεσματικότητα των εμβολίων κατά της COVID-19. Τα ψευδώς μη αντιδραστικά αποτελέσματα μπορεί να οφείλονται σε εσφαλμένο χειρισμό των σωληνάρων αιμοληψίας μετά τη φλεβοκέντηση, εσφαλμένη απόδοση του προσδιορισμού ή άλλες ατομικές ανοσολογικές μεταβλητές, συμπεριλαμβανομένων αυτών που σχετίζονται με τυχόν συννοσηρότητες. Τα ετερόφιλα αντισώματα ή η παραγωγή μη ειδικής IFN- $\gamma$  λόγω άλλων φλεγμονωδών παθήσεων μπορεί να αποκρύψει ειδικές αποκρίσεις στα πεπτιδία SARS-CoV-2.
- Ένα αντιδραστικό αποτέλεσμα QFN SARS δεν θα πρέπει να αποτελεί το μοναδικό ή το καθοριστικό πειστήριο για τον προσδιορισμό της αποτελεσματικότητας του εμβολίου κατά της COVID-19. Η εσφαλμένη εκτέλεση του προσδιορισμού μπορεί να οδηγήσει σε ψευδώς αντιδραστικά αποτελέσματα QFN SARS.
- Ένα ψευδώς αντιδραστικό αποτέλεσμα QFN SARS μπορεί να προκληθεί από εσφαλμένη αιμοληψία ή ακατάλληλο χειρισμό του δοκιμίου, που επηρεάζει τη λειτουργία των λεμφοκυττάρων. Για τον ορθό χειρισμό των δοκιμίων αίματος, ανατρέξτε στην ενότητα «Διαδικασία: Εκτέλεση του ELISA», σελίδα 18. Η καθυστέρηση στην επώαση μπορεί να προκαλέσει ψευδώς μη αντιδραστικά αποτελέσματα ή απροσδιόριστα αποτελέσματα, ενώ η δυνατότητα ανίχνευσης σημαντικής απόκρισης στην IFN- $\gamma$  μπορεί να επηρεαστεί και από άλλες τεχνικές παραμέτρους.
- Οι χαμηλές απαντήσεις στο Mitogen ( $< 0,5$  IU/ml) συνιστούν απροσδιόριστο αποτέλεσμα όταν το δείγμα αίματος παρουσιάζει επίσης μη αντιδραστική απόκριση στις πρωτεΐνες του SARS CoV-2. Τέτοιος συνδυασμός αποτελεσμάτων μπορεί να προκύψει εάν υπάρχουν ανεπαρκή λεμφοκύτταρα, μειωμένη λεμφοκυτταρική δραστηριότητα λόγω ακατάλληλου χειρισμού του δοκιμίου, πλήρωσης/ανάμειξης του σωληναρίου Mitogen, ή αδυναμίας των λεμφοκυττάρων του ασθενούς να παραγάγουν IFN- $\gamma$ . Αυξημένα επίπεδα IFN- $\gamma$  στο δείγμα Nil ενδέχεται να προκύψουν με την παρουσία ετερόφιλων αντισωμάτων ή λόγω απέκκρισης ενδογενούς IFN- $\gamma$ .

## Προφυλάξεις

<p><b>ΠΡΟΣΟΧΗ</b></p> 	<p>Να χειρίζεστε το ανθρώπινο αίμα ως δυνητικά μολυσματικό υλικό.</p> <p>Τηρήστε τις σχετικές κατευθυντήριες οδηγίες περί χειρισμού δειγμάτων αίματος. Απορρίψτε τα δείγματα και τα υλικά που ήρθαν σε επαφή με αίμα ή παράγωγα αίματος όπως προβλέπουν οι διεθνείς, κρατικοί και τοπικοί κανονισμοί.</p>
---------------------------------------------------------------------------------------------------------	-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

### QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Περιέχει: θειικό οξύ. Προειδοποίηση! Μπορεί να διαβρώσει μέταλλα. Προκαλεί ερεθισμό του δέρματος. Προκαλεί σοβαρό ερεθισμό των ματιών. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.

### QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Προειδοποίηση! Προκαλεί ήπιο ερεθισμό του δέρματος. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.

### QuantiFERON Green Diluent



Περιέχει: ταρτραζίνη. Προειδοποίηση! Μπορεί να προκαλέσει αλλεργική δερματική αντίδραση. Να φοράτε προστατευτικά γάντια/προστατευτικά ενδύματα/μέσα ατομικής προστασίας για τα μάτια/πρόσωπο.

### QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Επιβλαβές για τους υδρόβιους οργανισμούς, με μακροχρόνιες επιπτώσεις. Αποφύγετε την ελευθέρωσή του στο περιβάλλον.

## Περαιτέρω πληροφορίες

Δελτία δεδομένων ασφάλειας: [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)

- Σε μερικά αντιδραστήρια QFN SARS χρησιμοποιείται ως συντηρητικό θιμεροσάλη, η οποία μπορεί να είναι τοξική κατά την κατάποση, εισπνοή ή επαφή με το δέρμα.
- Η παρέκκλιση από τις *Οδηγίες χρήσης του QuantiFERON ELISA Kit* μπορεί να οδηγήσουν σε εσφαλμένα αποτελέσματα. Διαβάστε προσεκτικά τις οδηγίες πριν από τη χρήση.
- Μη χρησιμοποιήσετε το kit εάν κάποιο φιαλίδιο αντιδραστηρίου παρουσιάζει ενδείξεις ζημιάς ή διαρροής πριν από τη χρήση.
- **Σημαντικό:** Επιθεωρήστε τα φιαλίδια πριν από τη χρήση. Μη χρησιμοποιείτε φιαλίδια Συζευγμένου μορίου ή Προτύπου IFN- $\gamma$  με ενδείξεις ζημιάς ή εάν το σφράγισμα από καουτσούκ έχει παραβιαστεί. Μην πιάνετε σπασμένα σωληνάκια. Λάβετε τις απαραίτητες προφυλάξεις για την ασφαλή απόρριψη των φιαλιδίων. Συνιστάται να χρησιμοποιείτε ένα εργαλείο εκπωματισμού φιαλιδίων για να ανοίξετε τα φιαλίδια συζευγμένου μορίου ή προτύπου IFN- $\gamma$ , προκειμένου να ελαχιστοποιήσετε τον κίνδυνο τραυματισμού από το μεταλλικό πτυχωτό πώμα.
- Μην αναμειγνύετε και μη χρησιμοποιείτε σειρές μικροπλακών, πρότυπο IFN- $\gamma$ , πράσινο αραιωτικό ή συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x από kit QFN SARS διαφορετικών παρτίδων. Για τα υπόλοιπα αντιδραστήρια (Συμπύκνωμα ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 20x, Διάλυμα υποστρώματος ενζύμου και διάλυμα διακοπής ενζυμικής αντίδρασης) μπορούν να χρησιμοποιηθούν διαλύματα από άλλα kit εφόσον δεν έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης και εφόσον καταγραφούν τα στοιχεία των παρτίδων.
- Απορρίψτε τα αχρησιμοποιητά αντιδραστήρια και τα βιολογικά δείγματα όπως ορίζουν οι τοπικοί και οι εθνικοί κανονισμοί.
- Μη χρησιμοποιείτε το QFN SARS ELISA Kit μετά την ημερομηνία λήξης.
- Θα πρέπει να εφαρμόζονται πάντα ορθές εργαστηριακές διαδικασίες.
- Βεβαιωθείτε ότι ο εργαστηριακός εξοπλισμός, όπως οι συσκευές έκπλυσης και ανάγνωσης πλακών, έχει βαθμονομηθεί και επικυρωθεί για χρήση.

# Αποθήκευση και χειρισμός αντιδραστηρίων

Πρέπει να δίδεται προσοχή στις ημερομηνίες λήξης που αναγράφονται στα κουτιά και τις ετικέτες όλων των συστατικών. Μη χρησιμοποιείτε το περιεχόμενο της συσκευασίας εάν έχει παρέλθει η ημερομηνία λήξης ή δεν έχουν ληφθεί τα σωστά μέτρα αποθήκευσης.

## Σταθερότητα εντός χρήσης

- Αποθηκεύετε το κιτ ELISA στους 2–8 °C.
- Προστατεύετε διαρκώς το διάλυμα υποστρώματος ενζύμου από το άμεσο ηλιακό φως.

## Ανασυσταθέντα και αχρησιμοποίητα αντιδραστήρια

- Για οδηγίες σχετικά με την ανασύσταση των αντιδραστηρίων, ανατρέξτε στην ενότητα «Διαδικασία: Εκτέλεση του ELISA», σελίδα 18.
- Το ανασυσταθέν πρότυπο του κιτ μπορεί να διατηρηθεί μέχρι και για 3 μήνες εφόσον φυλάσσεται σε θερμοκρασία 2–8 °C.  
Σημειώστε την ημερομηνία ανασύστασης του προτύπου του κιτ.
- Το ανασυσταθέν συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100X πρέπει να επιστραφεί σε χώρο φύλαξης με θερμοκρασία 2–8 °C και πρέπει επίσης να χρησιμοποιηθεί εντός 3 μηνών.  
Σημειώστε την ημερομηνία ανασύστασης του διαλύματος συζευγμένου μορίου.
- Το διάλυμα εργασίας του συζευγμένου μορίου πρέπει να χρησιμοποιηθεί εντός 6 ωρών από την παρασκευή του.
- Το ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης σε συγκέντρωση εργασίας μπορεί να φυλαχτεί σε θερμοκρασία δωματίου για έως και 2 εβδομάδες.



---

## Φύλαξη και χειρισμός δοκιμίων

Για λεπτομέρειες σχετικά με τη ροή εργασιών αιμοληψίας για την εξέταση QFN SARS, ανατρέξτε στις *Οδηγίες χρήσης των σωληναρίων αιμοληψίας QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) Blood Collection Tubes (1124422)*.

# Διαδικασία: Εκτέλεση του ELISA

## Πρωτόκολλο: Ανάλυση ELISA για την IFN- $\gamma$

### Σημαντικά σημεία

- Για τα υλικά που απαιτούνται για την εκτέλεση του ELISA, ανατρέξτε στις ενότητες «Περιεχόμενα του κιτ», σελίδα 9 και «Υλικά που απαιτούνται αλλά δεν παρέχονται», σελίδα 11.

### Προετοιμασία (απαιτούμενος χρόνος για την εκτέλεση του προσδιορισμού)

Για τη λήψη έγκυρων αποτελεσμάτων από τον προσδιορισμό QFN SARS, ο χειριστής πρέπει να εκτελεί συγκεκριμένα καθήκοντα εντός καθορισμένων χρονικών πλαισίων. Πριν από τη χρήση του προσδιορισμού, συνιστάται ο χειριστής να σχεδιάσει προσεκτικά κάθε στάδιο του προσδιορισμού, ώστε να διατίθεται επαρκής χρόνος για την εκτέλεση κάθε σταδίου. Παρακάτω υπολογίζεται ο απαιτούμενος χρόνος. Αναφέρεται επίσης ο χρόνος για την εξέταση πολλαπλών δειγμάτων.

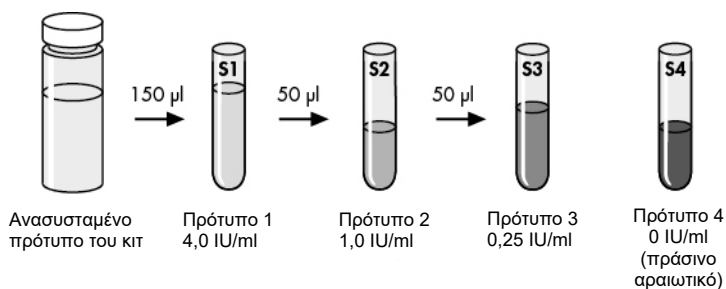
- Περίπου 3 ώρες για μία πλάκα ELISA
- <1 ώρα εργασίας
- Υπολογίστε άλλα 10 έως 15 λεπτά για κάθε επιπλέον πλάκα

### Διαδικασία

1. Όλα τα δείγματα πλάσματος και τα αντιδραστήρια, εκτός από το Συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x, πρέπει να φθάσουν σε θερμοκρασία δωματίου ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) πριν από τη χρήση. Αφήστε να περάσουν τουλάχιστον 60 λεπτά για εξισορρόπηση.
2. Αφαιρέστε τις περιπτώσεις σειρές πλακών ELISA από το πλαίσιο, σφραγίστε ξανά τη θήκη αλουμινίου, και τοποθετήστε την ξανά στο ψυγείο για φύλαξη μέχρι την επόμενη χρήση.
3. Χρησιμοποιήστε τουλάχιστον 1 σειρά για τα πρότυπα QFN SARS και επαρκή αριθμό σειρών για τον αριθμό των εξεταζόμενων ατόμων (για τη συνιστώμενη μορφή πλακών, ανατρέξτε στην Εικόνα 2). Μετά τη χρήση, φυλάξτε το πλαίσιο και το καπάκι για χρήση με τις υπόλοιπες σειρές.

- 3α. Ανασυστήστε το Πρότυπο IFN- $\gamma$  με τον όγκο απιονισμένου ή απεσταγμένου νερού που αναγράφεται στην ετικέτα του φιαλιδίου. Αναμείξτε ήπια ώστε να περιοριστεί στο ελάχιστο ο σχηματισμός αφρού και βεβαιωθείτε ότι έχει διαλυθεί πλήρως ολόκληρο το περιεχόμενο του φιαλιδίου. Η ανασύσταση του προτύπου IFN- $\gamma$  μέχρι τον σωστό όγκο θα δώσει ένα διάλυμα με συγκέντρωση 8,0 IU/ml.
- 3β. Χρησιμοποιώντας το ανασυσταθέν πρότυπο, παρασκευάστε μια σειρά αραιώσεων 4 συγκεντρώσεων IFN- $\gamma$  (ανατρέξτε στην Εικόνα 1).
- 3c. Θα πρέπει να δημιουργηθεί μια πρότυπη καμπύλη με τις ακόλουθες συγκεντρώσεις IFN- $\gamma$ :
- Το S1 (πρότυπο 1) περιέχει 4,0 IU/ml
  - Το S2 (πρότυπο 2) περιέχει 1,0 IU/ml
  - Το S3 (πρότυπο 3) περιέχει 0,25 IU/ml
  - Το S4 (πρότυπο 4) περιέχει 0 IU/ml [(μόνο πράσινο αραιωτικό (GD))].
- 3d. Τα πρότυπα πρέπει να αναλύονται τουλάχιστον εις διπλούν.
- 3ε. Παρασκευάστε νέες αραιώσεις του προτύπου του κιτ για κάθε περίοδο εργασίας ELISA.

<b>Διαδικασία</b>	
A	Επισημάνετε 4 σωληνάρια: S1, S2, S3, S4
B	Προσθέστε 150 $\mu$ l GD στα S1, S2, S3, S4.
Γ	Προσθέστε 150 $\mu$ l του προτύπου του κιτ στο S1 και αναμείξτε καλά.
Δ	Μεταφέρετε 50 $\mu$ l από το S1 στο S2 και αναμείξτε καλά.
E	Μεταφέρετε 50 $\mu$ l από το S2 στο S3 και αναμείξτε καλά.
ΣΤ	Ένα σωληνάριο με GD μόνο θα χρησιμοποιηθεί ως μηδενικό πρότυπο (S4)



**Εικόνα 1. Προετοιμασία σειράς αραιώσεων πρότυπης καμπύλης.**

4. Ανασυστήστε το λυοφιλοποιημένο Συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x με 0,3 ml απιονισμένου ή απεσταγμένου νερού. Αναμείξτε ήπια ώστε να περιοριστεί στο ελάχιστο ο σχηματισμός αφρού και βεβαιωθείτε ότι έχει διαλυθεί πλήρως ολόκληρο το περιεχόμενο του φιαλιδίου.
- 4a. Η συγκέντρωση εργασίας του συζευγμένου μορίου παρασκευάζεται με αραιώση της απαιτούμενης ποσότητας ανασυσταθέντος συμπυκνώματος συζευγμένου μορίου 100x σε πράσινο αραιωτικό (Πίνακας 1).
- 4b. Το διάλυμα εργασίας του συζευγμένου μορίου θα πρέπει να χρησιμοποιηθεί εντός 6 ωρών από την παρασκευή του.
- 4c. Επαναφέρετε το αχρησιμοποίητο συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x στους 2–8 °C αμέσως μετά τη χρήση.

**Πίνακας 1. Παρασκευή συζευγμένου μορίου (συγκέντρωση εργασίας)**

<b>Αριθμός σειρών</b>	<b>Όγκος συζευγμένου μορίου (συμπύκνωμα 100x)</b>	<b>Όγκος Πράσινου αραιωτικού</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. Το αποθηκευμένο δείγμα πλάσματος που λαμβάνεται από σωληνάρια αιμοληψίας και κατόπιν φυλάσσεται (σε ψύξη ή κατάψυξη) πρέπει να αναμειγνύεται σχολαστικά προτού προστεθεί στο βύθισμα ELISA. Τα δείγματα πλάσματος μπορούν να φυλαχθούν σε φυγοκεντρημένα σωληνάρια αιμοληψίας QFN SARS Blood Collection Tubes για έως και 28 ημέρες στους 2–8 °C, ή τα δείγματα συλλεχθέντος πλάσματος μπορούν να φυλαχθούν για έως και 28 ημέρες στους 2–8 °C. Τα δείγματα συλλεχθέντος πλάσματος μπορούν επίσης να φυλαχθούν σε θερμοκρασία κάτω των –20 °C (κατά προτίμηση κάτω των –70 °C) για έως και 24 μήνες.

Τα δείγματα πλάσματος μπορούν να φορτωθούν/χρησιμοποιηθούν απευθείας από τα φυγοκεντρημένα σωληνάρια αιμοληψίας για μέτρηση στην πλάκα QFN SARS ELISA.

**Σημαντικό:** Εάν τα δείγματα πλάσματος πρόκειται να μεταφερθούν απευθείας από τα φυγοκεντρημένα σωληνάρια αιμοληψίας QFN SARS Blood Collection Tubes, θα πρέπει να αποφευχθεί οποιαδήποτε ανακίνηση του πλάσματος. Να φροντίζετε πάντοτε να μη διαταράσσετε το υλικό που βρίσκεται στην επιφάνεια της γέλης.

6. Προσθέστε 50 μl πρόσφατα παρασκευασμένου διαλύματος συζευγμένου μορίου σε συγκέντρωση εργασίας σε κάθε βύθισμα της πλάκας ELISA.
7. Προσθέστε 50 μl από το εξεταζόμενο δείγμα πλάσματος στα κατάλληλα βυθίσματα (ανατρέξτε στη συνιστώμενη διάταξη πλάκας ELISA της Εικόνας 2).
8. Τέλος, προσθέστε 50 μl από τα πρότυπα 1 έως 4 στα κατάλληλα βυθίσματα της πλάκας (ανατρέξτε στη συνιστώμενη διάταξη πλάκας ELISA της Εικόνας 2). Τα πρότυπα θα πρέπει να αναλύονται τουλάχιστον εις διπλούν.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
<b>A</b>	1 N	3 N	5 N	7 N	9 N	S1	S1	13 N	15 N	17 N	19 N	21 N
<b>B</b>	1 Ag1	3 Ag1	5 Ag1	7 Ag1	9 Ag1	S2	S2	13 Ag1	15 Ag1	17 Ag1	19 Ag1	21 Ag1
<b>Γ</b>	1 Ag2	3 Ag2	5 Ag2	7 Ag2	9 Ag2	S3	S3	13 Ag2	15 Ag2	17 Ag2	19 Ag2	21 Ag2
<b>Δ</b>	1 M	3 M	5 M	7 M	9 M	S4	S4	13 M	15 M	17 M	19 M	21 M
<b>E</b>	2 N	4 N	6 N	8 N	10 N	11 N	12 N	14 N	16 N	18 N	20 N	22 N
<b>ΣΤ</b>	2 Ag1	4 Ag1	6 Ag1	8 Ag1	10 Ag1	11 Ag1	12 Ag1	14 Ag1	16 Ag1	18 Ag1	20 Ag1	22 Ag1
<b>Z</b>	2 Ag2	4 Ag2	6 Ag2	8 Ag2	10 Ag2	11 Ag2	12 Ag2	14 Ag2	16 Ag2	18 Ag2	20 Ag2	22 Ag2
<b>H</b>	2 M	4 M	6 M	8 M	10 M	11 M	12 M	14 M	16 M	18 M	20 M	22 M

**Εικόνα 2. Συνιστώμενη διάταξη πλάκας ELISA S1 (Πρότυπο 1), S2 (Πρότυπο 2), S3 (Πρότυπο 3), S4 (Πρότυπο 4). 1N (Δείγμα 1. Πλάσμα ελέγχου Nil), 1 Ag1 (Δείγμα 1. Πλάσμα Ag1), 1 Ag2 (Δείγμα 1. Πλάσμα Ag2), 1M (Δείγμα 1. Πλάσμα Mitogen).**

9. Καλύψτε την πλάκα ELISA και αναμείξτε σχολαστικά το συζευγμένο μόριο και τα δείγματα πλάσματος/πρότυπα χρησιμοποιώντας συσκευή ανακίνησης μικροπλακών επί 1 λεπτό στις 500 έως 1.000 rpm. Αποφύγετε την εκτίναξη υγρού.
10. Καλύψτε την πλάκα ELISA και επώαστε σε θερμοκρασία δωματίου  $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$  ) επί  $120 \pm 5$  λεπτά. Η πλάκα ELISA δεν θα πρέπει να εκτεθεί σε άμεσο ηλιακό φως κατά τη διάρκεια της επώασης. Τυχόν αποκλίσεις από το καθορισμένο θερμοκρασιακό εύρος μπορούν να οδηγήσουν σε εσφαλμένα αποτελέσματα.
11. Κατά τη διάρκεια της επώασης της πλάκας ELISA παρασκευάστε ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης σε συγκέντρωση εργασίας. Αραιώστε ένα μέρος συμπυκνώματος ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 20x με 19 μέρη απιονισμένου ή απεσταγμένου νερού και αναμείξτε σχολαστικά. Παρέχεται επαρκές συμπύκνωμα ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης 20x για να παρασκευαστούν 2 λίτρα ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης σε συγκέντρωση εργασίας.
12. Όταν η επώαση της πλάκας ELISA ολοκληρωθεί, πλύνετε τα βυθίσματα της πλάκας ELISA με 400 μl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης σε συγκέντρωση εργασίας. Εκτελέστε το βήμα πλύσης τουλάχιστον 6 φορές. Κατά τον χειρισμό δειγμάτων πλάσματος, συνιστάται η χρήση αυτόματης συσκευής έκπλυσης πλακών, για λόγους ασφάλειας.  

Η σχολαστική πλύση είναι πολύ σημαντική για την εκτέλεση του προσδιορισμού. Βεβαιωθείτε ότι όλα τα βυθίσματα γεμίζουν εντελώς με ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης μέχρι το χείλος του βυθίσματος για κάθε κύκλο πλύσης. Συνιστάται η εκτέλεση διαβροχής διάρκειας τουλάχιστον 5 δευτερολέπτων μεταξύ των κύκλων.

Θα πρέπει να προστίθεται τυπικό απολυμαντικό εργαστηρίου στη δεξαμενή εκροής και θα πρέπει να εφαρμόζονται οι καθιερωμένες διαδικασίες για την απολύμανση των δυνητικά λοιμογόνων υλικών.
13. Χτυπήστε την πλάκα ELISA ανάποδα πάνω σε απορροφητικό χαρτί που δεν αφήνει χνούδι για να απομακρυνθεί το εναπομένον ρυθμιστικό διάλυμα πλύσης. Προσθέστε 100 μl διαλύματος υποστρώματος ενζύμου σε κάθε βύθισμα της πλάκας, καλύψτε την πλάκα και αναμείξτε σχολαστικά επί 1 λεπτό στις 500 έως 1000 rpm σε μια συσκευή ανακίνησης μικροπλακών.

- 
14. Καλύψτε την πλάκα ELISA και επωάστε σε θερμοκρασία δωματίου  $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) επί 30 λεπτά. Η πλάκα ELISA δεν θα πρέπει να εκτεθεί σε άμεσο ηλιακό φως κατά τη διάρκεια της επώασης.
  15. Μετά από 30 λεπτά επώασης, προσθέστε 50 μl διαλύματος διακοπής ενζυμικής αντίδρασης σε κάθε βύθισμα της πλάκας, με την ίδια σειρά με την οποία προστέθηκε το υπόστρωμα και αναμείξτε σχολαστικά στις 500 έως 1.000 rpm σε μια συσκευή ανακίνησης μικροπλακών.
  16. Μετρήστε την οπτική πυκνότητα (Optical Density, OD) των βυθισμάτων της πλάκας ELISA εντός 5 λεπτών από τη διακοπή της αντίδρασης, χρησιμοποιώντας συσκευή ανάγνωσης μικροπλακών που διαθέτει φίλτρο 450 nm και φίλτρο αναφοράς 620 nm έως 650 nm. Οι τιμές OD χρησιμοποιούνται για να υπολογιστούν τα αποτελέσματα.

# Αποτελέσματα (Υπολογισμοί)

Το QFN SARS Analysis Software μπορεί να χρησιμοποιηθεί για την ανάλυση πρωτογενών δεδομένων και τον υπολογισμό των αποτελεσμάτων. Είναι διαθέσιμο στον ιστότοπο **www.qiagen.com**. Φροντίστε να χρησιμοποιήσετε την τελευταία έκδοση του QFN SARS Analysis Software.

Το λογισμικό εκτελεί εκτίμηση ελέγχου ποιότητας του προσδιορισμού, σχεδιάζει την πρότυπη καμπύλη, και δίνει ένα αποτέλεσμα εξέτασης για κάθε εξεταζόμενο άτομο, όπως περιγράφεται στην ενότητα «Ερμηνεία αποτελεσμάτων» στη σελίδα 28. Το λογισμικό αναφέρει όλες τις συγκεντρώσεις άνω των 10 IU/ml ως «> 10». καθώς αυτές οι τιμές εμπίπτουν πέραν του επικυρωμένου γραμμικού εύρους του ELISA.

Εναλλακτικά, αντί για τη χρήση του QFN SARS Analysis Software, ο υπολογισμός των αποτελεσμάτων μπορεί να γίνει με την εξής μέθοδο.

## Παραγωγή πρότυπης καμπύλης και τιμών δειγμάτων

Εάν δεν χρησιμοποιείται το QFN SARS Analysis Software

Για τον καθορισμό της πρότυπης καμπύλης και τον καθορισμό των τιμών IU/ml των δειγμάτων απαιτείται ένα πρόγραμμα υπολογιστικών φύλλων, όπως το Microsoft® Excel®, εάν δεν χρησιμοποιείται το QFN SARS Analysis Software.

### Χρήση προγράμματος υπολογιστικών φύλλων

1. Προσδιορίστε τις μέσες τιμές OD από τις επαναλήψεις του προτύπου του κιτ σε κάθε πλάκα.
2. Κατασκευάστε μια πρότυπη καμπύλη  $\log_{(e)} - \log_{(e)}$ , σχεδιάζοντας τις τιμές  $\log_{(e)}$  της μέσης OD (άξονας y) έναντι των τιμών  $\log_{(e)}$  της συγκέντρωσης IFN- $\gamma$  των προτύπων, σε IU/ml (άξονας x), παραλείποντας το μηδενικό πρότυπο από τους υπολογισμούς αυτούς. Μέσω ανάλυσης παλινδρόμησης, υπολογίστε την καμπύλη καλύτερης προσαρμογής για την πρότυπη καμπύλη.



3. Χρησιμοποιήστε την πρότυπη καμπύλη για να προσδιορίσετε τη συγκέντρωση της IFN- $\gamma$  (IU/ml) για καθένα από τα εξεταζόμενα δείγματα πλάσματος, με βάση την τιμή OD κάθε δείγματος.
4. Αυτοί οι υπολογισμοί μπορούν να εκτελεστούν με τα πακέτα λογισμικού που συνοδεύουν τις συσκευές ανάγνωσης μικροπλακών ή με κοινό λογισμικό υπολογιστικών φύλλων ή στατιστικής επεξεργασίας (όπως το Microsoft Excel). Συνιστάται η χρήση αυτών των πακέτων για την εκτέλεση της ανάλυσης παλινδρόμησης και για τον υπολογισμό του συντελεστή διακύμανσης (%CV) για τα πρότυπα και του συντελεστή συσχέτισης ( $r$ ) για την πρότυπη καμπύλη.

### Υπολογισμός δείγματος

Εάν για τα πρότυπα προέκυπταν οι ακόλουθες μετρήσεις OD, οι υπολογισμοί με χρήση της  $-\log(e)$  – θα ακολουθούσαν τις τιμές του Πίνακα 2.

**Πίνακας 2. Τυπική καμπύλη**

Πρότυπο	IU/ml	Τιμές OD $\alpha$ και $\beta$	Μέση OD	%CV	Log <sub>(e)</sub> IU/ml	Μέση Log <sub>(e)</sub> (OD)
Πρότυπο 1	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
Πρότυπο 2	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
Πρότυπο 3	0,25	0,114, 0,136	0,125	$\Delta/E$	-1,386	-2,079
Πρότυπο 4	0	0,034, 0,037	0,036	$\Delta/E$	$\Delta/E$	$\Delta/E$

Η εξίσωση της καμπύλης είναι  $y = 0,7885(X) - 0,9837$ , όπου «m» = 0,7885 και «c» = -0,9837. Αυτές οι τιμές χρησιμοποιούνται στην εξίσωση  $X = (Y-c)/m$  για την εύρεση του X. Βάσει της πρότυπης καμπύλης, ο υπολογιζόμενος συντελεστής συσχέτισης ( $r$ ) = 1,000.  $\Delta/E$ : Δεν εφαρμόζεται.

Με τη χρήση των κριτηρίων που καθορίζονται στην ενότητα «Έλεγχος ποιότητας εξέτασης», σελίδα 26, καθορίζεται η εγκυρότητα του προσδιορισμού.

Η πρότυπη καμπύλη (Πίνακας 2) χρησιμοποιείται για τη μετατροπή των ανατακρίσεων OD στο αντιγόνο σε διεθνείς μονάδες (IU/ml).

**Πίνακας 3. Υπολογισμός δείγματος**

Αντιγόνο	Τιμή OD	Τιμή OD Log <sub>(e)</sub>	X	e <sup>X</sup> (IU/ml)	Αντιγόνο –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

Οι τιμές IFN- $\gamma$  (σε IU/ml) για τα Ag1, Ag2 και Mitogen διορθώνονται ως προς την τιμή υποβάθρου με αφαίρεση της τιμής IU/ml που έχει προκύψει για τον αντίστοιχο μάρτυρα Nil. Αυτές οι διορθωμένες τιμές χρησιμοποιούνται για την ερμηνεία των αποτελεσμάτων της εξέτασης.

## Έλεγχος ποιότητας εξέτασης

Η ορθότητα των αποτελεσμάτων της εξέτασης εξαρτάται από την παραγωγή μιας ορθής πρότυπης καμπύλης. Συνεπώς, τα αποτελέσματα που προκύπτουν από τα πρότυπα πρέπει να εξετάζονται προτού ερμηνευτούν τα αποτελέσματα των εξεταζόμενων δειγμάτων.

Για μια έγκυρη ανάλυση ELISA:

- Η μέση τιμή OD για το πρότυπο 1 πρέπει να είναι  $\geq 0,600$ .
- Ο συντελεστής %CV για τις τιμές των επαναληπτικών μετρήσεων του προτύπου 1 και του προτύπου 2 πρέπει να είναι  $\leq 15\%$ .
- Οι τιμές OD των επαναληπτικών μετρήσεων του προτύπου 3 και του προτύπου 4 δεν πρέπει να διαφέρουν από τη μέση τιμή κατά περισσότερες από 0,040 μονάδες οπτικής πυκνότητας.
- Ο συντελεστής συσχέτισης ( $r$ ) που υπολογίζεται από τις μέσες τιμές απορρόφησης των προτύπων πρέπει να είναι  $\geq 0,98$ .

- Εάν δεν πληρούνται τα παραπάνω κριτήρια, η ανάλυση είναι άκυρη και πρέπει να επαναληφθεί.
- Η μέση τιμή OD για το μηδενικό πρότυπο (πράσινο αραιωτικό) πρέπει να είναι  $\leq 0,150$ . Εάν οι μέσες τιμές OD είναι  $> 0,150$  τότε θα πρέπει να ελεγχθεί η διαδικασία έκπτυξης των πλακών.

Το QFN SARS Analysis Software υπολογίζει και αναφέρει αυτές τις παραμέτρους ελέγχου ποιότητας.

Κάθε εργαστήριο θα πρέπει να ορίζει τους κατάλληλους τύπους μαρτύρων και τη συχνότητα εξετάσεων σύμφωνα με τους τοπικούς και κρατικούς ή άλλους αρμόδιους οργανισμούς πιστοποίησης. Θα πρέπει να εξετάζεται το ενδεχόμενο εξωτερικής αξιολόγησης ποιότητας και εναλλακτικών διαδικασιών επικύρωσης.

**Σημείωση:** Τα δείγματα πλάσματος που εμβολιάζονται με ανασυνδυασμένη IFN- $\gamma$  έχουν επιδείξει μειώσεις έως και 50% στη συγκέντρωση όταν φυλάσσονται στους 2–8 °C και στους –20 °C. Η ανασυνδυασμένη IFN- $\gamma$  δεν συνιστάται για την τεκμηρίωση προτύπων ελέγχου σε δείγματα πλάσματος.

## Ερμηνεία αποτελεσμάτων

Τα αποτελέσματα του QFN SARS ερμηνεύονται με βάση τα ακόλουθα κριτήρια (Πίνακας 4).

**Σημαντικό:** Ο προσδιορισμός QFN SARS θα πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλες εργαστηριακές εξετάσεις και επιδημιολογική/κλινική εκτίμηση για την αξιολόγηση της ανοσοαπόκρισης ενός ατόμου λόγω του εμβολιασμού κατά της COVID-19.

**Πίνακας 4. Ερμηνεία αποτελεσμάτων εξέτασης QFN SARS**

Nil (IU/ml)	Αντιγόνο Ag1 μείον Nil (IU/ml)	Αντιγόνο Ag2 μείον Nil (IU/ml)	Mitogen μείον Nil (IU/ml)*	Αποτέλεσμα QFN SARS	Αναφορά/Ερμηνεία
≤ 8,0	≥ 0,15 και ≥ 25% του Nil	Οποιοδήποτε	Οποιοδήποτε	Αντιδραστικό	<i>Ανιχνεύτηκε απόκριση SARS-CoV-2</i>
	Οποιοδήποτε	≥ 0,15 και ≥ 25% του Nil			
	< 0,15 ή ≥ 0,15 και < 25% του Nil	< 0,15 ή ≥ 0,15 και < 25% του Nil	≥ 0,50	Μη αντιδραστικό	<i>ΔΕΝ ανιχνεύτηκε απόκριση SARS-CoV-2</i>
	< 0,15 ή ≥ 0,15 και < 25% του Nil	< 0,15 ή ≥ 0,15 και < 25% του Nil	< 0,50	Απροσδιόριστο <sup>‡</sup>	<i>Δεν μπορεί να ανιχνευτεί απόκριση SARS-CoV-2 και Mitogen</i>
> 8,0 <sup>§</sup>	Οποιοδήποτε				

\* Οι αποκρίσεις στον θετικό μάρτυρα Mitogen (και ενίοτε στο αντιγόνο Ag) βρίσκονται εκτός της κλίμακας της συσκευής ανάγνωσης μικροπλακών. Αυτό δεν επηρεάζει τα αποτελέσματα της εξέτασης. Οι τιμές > 10 IU/ml αναφέρονται από το λογισμικό QFN SARS ως > 10 IU/ml.

<sup>‡</sup> Ανατρέξτε στην ενότητα «Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων», σελίδα 51, για να βρείτε τις πιθανές αιτίες.

<sup>§</sup> Σε κλινικές μελέτες, λιγότεροι από το 0,25% των ασθενών έδωσαν επίπεδα IFN-γ > 8,0 IU/ml για την τιμή του Nil.

# Περιορισμοί

Τα αποτελέσματα της εξέτασης QFN SARS πρέπει να χρησιμοποιούνται σε συνδυασμό με πληροφορίες από το επιδημιολογικό ιστορικό, την υφιστάμενη κατάσταση της υγείας και άλλες διαγνωστικές αξιολογήσεις του ατόμου.

Τα άτομα με τιμές Nil μεγαλύτερες από 8 IU/ml χαρακτηρίζονται «απροσδιόριστα» επειδή μια απόκριση κατά 25% υψηλότερη στα αντιγόνα TB ενδέχεται να είναι εκτός της κλίμακας μέτρησης του προσδιορισμού.

- Για ένα μη αντιδραστικό αποτέλεσμα πρέπει να ληφθούν υπόψη τα ιατρικά και ιστορικά δεδομένα του ατόμου που σχετίζονται με την πιθανότητα ανοσοαπόκρισης σε εμβολιασμό, ιδιαίτερα για άτομα με διαταραχές της λειτουργίας του ανοσοποιητικού.
- Ο προσδιορισμός QFN SARS θα πρέπει να χρησιμοποιείται σε συνδυασμό με άλλες εργαστηριακές εξετάσεις και επιδημιολογική/κλινική εκτίμηση για την αξιολόγηση της ανοσοαπόκρισης ενός ατόμου λόγω του εμβολιασμού κατά της COVID-19.

Αναξιόπιστα ή απροσδιόριστα αποτελέσματα ενδέχεται να ληφθούν λόγω:

- Αποκλίσεων από τη διαδικασία που περιγράφονται στις Οδηγίες χρήσης
- Εσφαλμένης μεταφοράς/χειρισμού του δοκιμίου αίματος
- Αυξημένων επιπέδων IFN- $\gamma$  στην κυκλοφορία ή παρουσίας ετερόφιλων αντισωμάτων
- Υπέρβασης των επικυρωμένων χρόνων διατήρησης του δείγματος αίματος από την αιμοληψία έως την επώαση. Ανατρέξτε στις *Οδηγίες χρήσης των σωληνάρων αιμοληψίας QFN SARS Blood Collection Tubes* (1124422).

# Χαρακτηριστικά απόδοσης προσδιορισμού

## Απόδοση ανάλυσης

### Τιμή αποκοπής προσδιορισμού

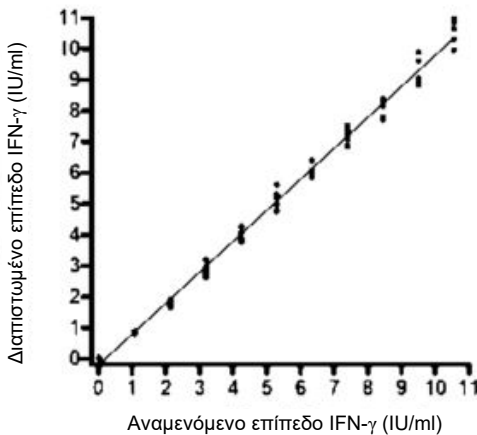
Η τιμή αποκοπής του προσδιορισμού QFN SARS καθορίστηκε με τη χρήση δεδομένων από είκοσι (20) άτομα με μη αντιδραστικό αποτέλεσμα εξέτασης SARS-CoV-2 βάσει εξέτασης RT-PCR ή ορολογικής εξέτασης και είκοσι (20) δότες που ήταν πλήρως εμβολιασμένοι (κατάσταση 2–16 εβδομάδων μετά τον πλήρη εμβολιασμό) με εμβόλιο εγκεκριμένο από τον FDA με τη διαδικασία έγκρισης για επείγουσα χρήση (EUA). Τα δεδομένα ευαισθησίας και ειδικότητας μαζί με τα ακριβή αμφίπλευρα διαστήματα εμπιστοσύνης (Confidence Interval, CI) 95% αναλύθηκαν και καταδείχθηκε ότι η βέλτιστη τιμή αποκοπής του ELISA ήταν 0,15 IU/ml (βλ. Πίνακα 5).

**Πίνακας 5. Τιμές αποκοπής QFN SARS (IU/ml) με την αντίστοιχη ευαισθησία και ειδικότητα με ακριβή αμφίπλευρα CI 95%**

Τιμή αποκοπής	Ευαισθησία			Ειδικότητα		
	Τιμή	Κατώτερο 95% CI	Ανώτερο 95% CI	Τιμή	Κατώτερο 95% CI	Ανώτερο 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

## Γραμμικότητα

Η γραμμικότητα του προσδιορισμού QFN SARS ELISA αποδείχθηκε με τυχαία τοποθέτηση 5 επαναληπτικών δειγμάτων από 11 δεξαμενές πλάσματος με γνωστές συγκεντρώσεις IFN- $\gamma$  πάνω στην πλάκα ELISA. Η καμπύλη γραμμικής παλινδρόμησης έχει κλίση  $1,002 \pm 0,011$  και συντελεστή συσχέτισης 0,99 (Εικόνα 3).



**Εικόνα 3.** Απεικόνιση ανάλυσης παλινδρόμησης μελέτης γραμμικότητας.

## Αναπαραγωγιμότητα

Διεξήχθη μια πολυεργαστηριακή μελέτη αναπαραγωγιμότητας για την εκτίμηση της απόδοσης του προσδιορισμού QFN SARS μεταξύ εργαστηρίων με πολλαπλούς χειριστές. Αυτή η μελέτη διεξήχθη σε τρία εργαστήρια εντός της QIAGEN. Συμμετείχαν συνολικά τρία (3) αντιδραστικά στον SARS-CoV-2 και τρία (3) μη αντιδραστικά στον SARS-CoV-2 άτομα (όπως καθορίστηκε μέσω εξέτασης RT-PCR ή ορολογικής εξέτασης).

Από κάθε συμμετέχοντα στη μελέτη συλλέχθηκε αίμα σε τέσσερα (4) σωληνάρια αιμοληψίας με λιθιούχο ηπαρίνη. Στη συνέχεια, τα σωληνάρια αιμοληψίας με λιθιούχο ηπαρίνη μεταφέρθηκαν σε ένα από τα εργαστήρια εξέτασης, όπου το αίμα κλασματοποιήθηκε σε τρία



(3) σύνολα σωληναρίων αιμοληψίας QFN SARS Blood Collection Tubes (QFN SARS Ag1, Ag2, Mitogen και Nil). Κάθε σύνολο σωληναρίων αιμοληψίας QFN SARS Blood Collection Tubes (BCTs) μεταφέρθηκε σε καθένα από τα εργαστήρια εξέτασης και στη συνέχεια υποβλήθηκε σε εξέταση σύμφωνα με τη διαδικασία του προσδιορισμού QFN SARS. Κάθε άτομο εξετάστηκε με δέκα (10) επαναληπτικά δείγματα [πέντε (5) για το Ag1 και πέντε (5) για το Ag2] σε κάθε εργαστήριο. Σε κάθε εργαστήριο, ένας (1) χειριστής εκτέλεσε την εξέταση QFN SARS ανεξάρτητα. Κάθε χειριστής ήταν τυφλοποιημένος ως προς τα αποτελέσματα που προέκυψαν από τους άλλους χειριστές και τυφλοποιημένος ως προς τα αποτελέσματα του RT-PCR ή της ορολογικής εξέτασης του συμμετέχοντα στη μελέτη.

Δημιουργήθηκαν 30 αποτελέσματα σε κάθε ένα από τα τρία (3) εργαστήρια εξέτασης, με συνολικό αποτέλεσμα 90 σημεία δεδομένων. Η σύνοψη των αποτελεσμάτων της μελέτης αναπαραγωγιμότητας φαίνεται στον Πίνακα 6.

**Πίνακας 6. Σύνοψη αποτελεσμάτων μελέτης αναπαραγωγιμότητας –N = 30 δείγματα ασθενών**

<b>Εργαστήριο 1 – 1 χειριστής</b>	<b>Εργαστήριο 2 – 1 χειριστής</b>	<b>Εργαστήριο 3 – 1 χειριστής</b>
25/30 = 83%	30/30 = 100%	30/30 = 100%
Συμφωνία ποιοτικών αποτελεσμάτων	Συμφωνία ποιοτικών αποτελεσμάτων	Συμφωνία ποιοτικών αποτελεσμάτων

Η συνολική ποσοστιαία συμφωνία μεταξύ όλων των αντιδραστικών και μη αντιδραστικών δειγμάτων ως προς τα αναμενόμενα ποιοτικά αποτελέσματα (αντιδραστικό αποτέλεσμα για αντιδραστικό συμμετέχοντα και μη αντιδραστικό αποτέλεσμα για μη αντιδραστικό συμμετέχοντα βάσει του αποτελέσματος της μεθόδου αναφοράς του συμμετέχοντα) ήταν 94,4% (85/90) και στα τρία (3) εργαστήρια.

## Επαναληψιμότητα μεταξύ παρτίδων

Διεξήχθη μια μελέτη για τον καθορισμό της μεταβλητότητας μεταξύ παρτίδων των σωληναρίων αιμοληψίας QFN SARS Blood Collection Tubes. Εξετάστηκαν συνολικά δύο (2) αντιδραστικοί στον SARS-CoV-2 και τρία (3) μη αντιδραστικοί στον SARS-CoV-2 συμμετέχοντες μελέτης (όπως καθορίστηκε μέσω εξέτασης RT-PCR ή ορολογικής εξέτασης). Σε αυτή τη μελέτη συμπεριλήφθηκαν τρεις (3) χωριστές παρτίδες σωληναρίων αιμοληψίας QFN SARS Ag1 και Ag2. Εξετάστηκαν πέντε (5) επαναληπτικά δείγματα ανά δόση ανά παρτίδα σωληναρίων αιμοληψίας. Η σύνοψη των αποτελεσμάτων της μελέτης ακρίβειας μεταξύ παρτίδων φαίνεται στον Πίνακα 7.

**Πίνακας 7. Αποτελέσματα μελέτης ακρίβειας μεταξύ παρτίδων – Συνολική ποσοστιαία συμφωνία για τα σωληνάρια αιμοληψίας QFN SARS Ag1 και Ag2, N = 25**

Σωληνάριο αιμοληψίας QFN SARS BCT	Αρ. παρτίδας σωληναρίου αιμοληψίας	Αριθμός ποιοτικών προσδιορισμών σε συμφωνία / Συνολικοί προσδιορισμοί	Αναλογία	Κατώτερο όριο εμπιστοσύνης	Ανώτερο όριο εμπιστοσύνης
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%

Η συνολική ποσοστιαία συμφωνία μεταξύ όλων των αντιδραστικών και μη αντιδραστικών δειγμάτων ως προς τα αναμενόμενα αποτελέσματα (αντιδραστικό αποτέλεσμα για αντιδραστικό συμμετέχοντα και μη αντιδραστικό αποτέλεσμα για μη αντιδραστικό συμμετέχοντα βάσει του αποτελέσματος της μεθόδου αναφοράς του συμμετέχοντα) ήταν 100% και στις τρεις (3) παρτίδες σωληναρίων αιμοληψίας QFN SARS Ag1 και Ag2.

## Όριο τυφλού (LoB)

Το όριο τυφλού (LoB) εκτιμήθηκε για τον προσδιορισμό QFN SARS. Δύο (2) επαναληπτικά δείγματα καθενός από τα δεκατέσσερα (14) μεμονωμένα δείγματα φυσιολογικού ανθρώπινου πλάσματος (όπως τα τυφλά) εξετάστηκαν με δύο (2) παρτίδες QFN SARS ELISA από τρεις (3) χειριστές σε τρεις (3) ημέρες εξέτασης, ένας (1) χειριστής ανά ημέρα εξέτασης για συνολικά 84 επαναληπτικά δείγματα από κάθε παρτίδα kit ELISA.

Οι τιμές LoB (IU/ml) για τις δύο (2) παρτίδες kit ELISA υπολογίστηκαν χωριστά, όπως φαίνεται στον Πίνακα 8.

**Πίνακας 8. Τιμές LoB (IU/ml) για τις δύο (2) παρτίδες QFN SARS ELISA Kit**

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

Η μεγαλύτερη τιμή LoB, 0,040 IU/ml, και στις δύο παρτίδες QFN SARS ELISA Kit, αναφέρθηκε ως η τελική τιμή LoB.

## Όριο ανίχνευσης (LoD)

Το όριο ανίχνευσης (LoD) εκτιμήθηκε για τον προσδιορισμό QFN SARS. Δημιουργήθηκε μια δεξαμενή ανθρώπινου πλάσματος από τον συνδυασμό δεκατεσσάρων (14) μεμονωμένων δειγμάτων πλάσματος. Καθένας από τους τρεις (3) χειριστές παρασκεύασε ένα πρότυπο πυκνό διάλυμα αναφοράς IFN- $\gamma$  1,0 IU/ml αραιωμένο σε ρυθμιστικό διάλυμα. Πραγματοποιήθηκε μια σειρά αραιώσεων οκτώ (8) συγκεντρώσεων σε πλάσμα. Η μελέτη διεξήχθη σε διάστημα τριών (3) ημερών, από τρεις (3) εναλλασσόμενους χειριστές και με τη χρήση δύο (2) παρτίδων QFN SARS ELISA Kit. Για κάθε ημέρα εξέτασης, εξετάστηκαν πέντε (5) επαναληπτικά δείγματα κάθε συγκέντρωσης εντός κάθε συνόλου των σειρών αραιώσης για συνολικά 45 επαναληπτικά δείγματα για κάθε αραιώση συγκέντρωσης IFN- $\gamma$  για κάθε παρτίδα QFN SARS ELISA Kit.

Η τιμή LoD για καθεμία από τις παρτίδες QFN SARS ELISA Kit που εξετάστηκαν υπολογίστηκε χωριστά, όπως φαίνεται στον Πίνακα 9. Το LoD εκτιμήθηκε με τη χρήση ενός μοντέλου παλινδρόμησης Probit. Το LoD βασίστηκε στην εκτιμώμενη συγκέντρωση (IU/ml) που έδωσε εκτιμώμενη πιθανότητα 95% λήψης λόγου ευστοχίας άνω του 0,04 IU/ml (καθορίζεται από το LoB).

**Πίνακας 9. Εκτιμώμενες τιμές LoD (IU/ml) για τις δύο (2) παρτίδες QFN SARS ELISA Kit**

QFN SARS ELISA Kit	Πιθανότητα	Εκτιμώμενη συγκέντρωση (IU/ml)	Κατώτερο όριο εμπιστοσύνης 95% για την εκτίμηση	Ανώτερο όριο εμπιστοσύνης 95% για την εκτίμηση
Kit 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Kit 2	0,95	0,065	0,060	0,073

Η μεγαλύτερη τιμή LoD που υπολογίστηκε και για τις δύο παρτίδες QFN SARS ELISA Kit, 0,065 IU/ml, αναφέρθηκε ως η τελική τιμή LoD.

### Παρεμβαλλόμενες ουσίες

Διεξήχθη μια μελέτη για τον καθορισμό των επιδράσεων δυνητικά παρεμβαλλόμενων ουσιών στην απόδοση της ανίχνευσης IFN- $\gamma$ . από το QFN SARS ELISA. Οι παρεμποδιστές που συμπεριλήφθηκαν σε αυτή την εξέταση ήταν: τριγλυκερίδια (ολικά), αιμοσφαιρίνη, πρωτεΐνη (ολική ορού), χολερυθρίνη (συζευγμένη), χολερυθρίνη (μη συζευγμένη), θειική αβακαβίρη, κυκλοσπορίνη και πρεδνιζολόνη. Παρασκευάστηκαν πέντε (5) δεξαμενές πλάσματος με γνωστές συγκεντρώσεις IFN- $\gamma$  με τη χρήση διαφορετικών συγκεντρώσεων παρεμποδιστών. Το βασικό επίπεδο IFN- $\gamma$  της δεξαμενής παρασκευάστηκε προηγουμένως με μια προκαθορισμένη ποσότητα IFN- $\gamma$  (περίπου 0,21, 0,45 και 1,4 IU/ml). Αυτή η δεξαμενή χρησιμοποιήθηκε στη συνέχεια για την παρασκευή των δεξαμενών παρεμποδιστών. Πέντε διαφορετικές συγκεντρώσεις παρεμποδιστών ελέγχθηκαν και βασίστηκαν σε διαστήματα αναφοράς, παθολογικές τιμές, θεραπευτικά εύρη και τοξικά εύρη, ή στις συστάσεις ανά προμηθευτή ή τα γενικά κλινικά επίπεδα. Εξετάστηκαν έξι (6) επαναληπτικά δείγματα για κάθε επίπεδο συγκέντρωσης δείγματος παρεμποδιστή.

Για κάθε συγκέντρωση δείγματος, διεξήχθη μια εξέταση T, με σύγκριση της διαφοράς στη μέση τιμή  $\log_{10}$  (IU/ml) του επιπέδου του κύριου παρεμποδιστή (10) ως προς τον μάρτυρα (δηλ. επίπεδο

χωρίς παρεμποδιστή). Στον πίνακα αναφέρεται επίσης η εκτιμώμενη διαφορά στη μέση απόκριση, μαζί με τα αντίστοιχα όρια αμφίπλευρου διαστήματος εμπιστοσύνης 95%, καθώς και η τιμή p.

**Πίνακας 10. Log<sub>10</sub> IU/ml: Συνοπτικός πίνακας εξέτασης T για τις διαφορές στις μέσες τιμές μεταξύ του επιπέδου μάρτυρα και του υψηλού επιπέδου παρεμποδιστή για κάθε παρεμποδιστή και επίπεδο συγκέντρωσης IFN-γ**

Παρεμποδιστής	Επίπεδο παρεμποδιστή	Συγκέντρωση δείγματος (IU/ml)	Μέση διαφορά	Κατώτερο 95% CI	Ανώτερο 95% CI	Τιμή p
Τριγλυκερίδια	Υψηλή τιμή	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
Αιμοσφαιρίνη	Υψηλή τιμή	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
Πρωτεΐνη	Υψηλή τιμή	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
Συζευγμένη χολερυθρίνη	Υψηλή τιμή	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
Μη συζευγμένη χολερυθρίνη	Υψηλή τιμή	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
Αβακαβίρη	Υψηλή τιμή	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

Ο πίνακας συνεχίζεται στην επόμενη σελίδα

Συνέχεια πίνακα από την προηγούμενη σελίδα

**Πίνακας 10. Log<sub>10</sub> IU/ml: Συνοπτικός πίνακας εξέτασης T για τις διαφορές στις μέσες τιμές μεταξύ του επιπέδου μάρτυρα και του υψηλού επιπέδου παρεμποδιστή για κάθε παρεμποδιστή και επίπεδο συγκέντρωσης IFN-γ**

Παρεμποδιστής	Επίπεδο παρεμποδιστή	Συγκέντρωση δείγματος (IU/ml)	Μέση διαφορά	Κατώτερο 95% CI	Ανώτερο 95% CI	Τιμή p
Κυκλοσπορίνη	Υψηλή τιμή	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
Πρεδνιζολόνη	Υψηλή τιμή	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

Τα αποτελέσματα δεν έδειξαν στατιστικά σημαντικές διαφορές μεταξύ του κύριου επιπέδου παρεμποδιστή που ελέγχθηκε και του επιπέδου μάρτυρα (επίπεδο χωρίς παρεμποδιστή), εκτός από το επίπεδο συγκέντρωσης τριγλυκεριδίων 0,45 IU/ml. Η μέση διαφορά γι' αυτήν την τιμή προσδιορίστηκε εντός  $\pm 2$  τυπικών αποκλίσεων από τη μέση τιμή μέτρησης του επιπέδου μάρτυρα, γεγονός που καταδεικνύει ότι η παρατηρούμενη διαφορά βρίσκεται εντός του αναμενόμενου εύρους μεταβλητότητας του προσδιορισμού και ότι τα κλινικά σχετικά επίπεδα τριγλυκεριδίων δεν αναμένεται να επηρεάσουν το QFN SARS ELISA.

# Κλινική απόδοση

Η κλινική απόδοση του προσδιορισμού QFN SARS εκτιμήθηκε σε μια προοπτική μελέτη παρατήρησης, η οποία διεξήχθη από τον Ιούνιο έως τον Οκτώβριο του 2021, με τη συμμετοχή ατόμων χωρίς ιστορικό λοίμωξης από SARS-CoV-2, τα οποία είχαν λάβει εμβολιασμό κατά της COVID-19 με εμβόλια που στοχεύουν την ιική πρωτεΐνη S του SARS-CoV-2, καθώς και ατόμων χωρίς ιστορικό λοίμωξης από SARS-CoV-2, τα οποία δεν είχαν λάβει εμβολιασμό κατά της COVID-19.

Τα άτομα που συναίνεσαν αξιολογήθηκαν ως προς τα κριτήρια εισαγωγής και αποκλεισμού της μελέτης, και εγγράφηκαν και υποβλήθηκαν σε αιμοληψία για εξέταση QFN SARS μόνο τα άτομα που πληρούσαν όλα τα κριτήρια εισαγωγής.

Ακολουθεί μια σύνοψη του εγγεγραμμένου πληθυσμού:

- Ομάδα 1: Περιλάμβανε άτομα χωρίς ιστορικό φυσικής λοίμωξης από SARS-CoV-2, που δεν είχαν εμβολιαστεί κατά της COVID-19 κατά τον χρόνο της αιμοληψίας για την εξέταση QFN SARS, δεν είχαν ποτέ θετικό αποτέλεσμα για λοίμωξη από SARS-CoV-2, είχαν αναφέρει μη αντιδραστικό αποτέλεσμα ορολογικής εξέτασης και δεν είχαν σημεία ή συμπτώματα COVID-19 εντός 4 εβδομάδων πριν από την εγγραφή.
- Ομάδα 2: Περιλάμβανε άτομα χωρίς ιστορικό λοίμωξης από SARS-CoV-2, που είχαν εμβολιαστεί κατά της COVID-19 με εμβόλιο που στοχεύει την πρωτεΐνη S του SARS-CoV-2 κατά τον χρόνο της αιμοληψίας για την εξέταση QFN SARS και δεν είχαν ποτέ θετικό αποτέλεσμα για λοίμωξη από SARS-CoV-2.
- Κανένα από τα άτομα δεν ήταν δέκτες μοσχεύματος (συμπαγούς οργάνου ή κυτταρικού) ή/και υπό αντικαρκινική θεραπεία κατά τον χρόνο συμμετοχής στη μελέτη.

Συνολικά 218 άτομα εγγράφηκαν στην Ομάδα 1, ενώ 171 άτομα εγγράφηκαν στην Ομάδα 2. Μετά την αιμοληψία για QFN SARS, τέσσερα άτομα από την Ομάδα 1 κρίθηκαν μη επιλέξιμα λόγω αντιδραστικού αποτελέσματος στην ορολογική εξέταση με τη χρήση δείγματος που ελήφθη κατά την ίδια επίσκεψη με τη δειγματοληψία για QFN SARS, και τελικά αποκλείστηκαν από την ανάλυση.

Έγινε λήψη των δειγμάτων, τα σωληνάρια αιμοληψίας QFN SARS υποβλήθηκαν σε επεξεργασία και το πλάσμα αποθηκεύτηκε σε θερμοκρασία  $\leq -20$  °C έως ότου θα ήταν έτοιμο για τον προσδιορισμό QFN SARS ELISA. Όλες οι εκτελέσεις των πλακών QFN SARS ELISA ήταν έγκυρες και δεν προέκυψαν απροσδιόριστα αποτελέσματα, το οποίο οδήγησε σε 214 και 171 αξιολογήσιμα δείγματα στις Ομάδες 1 και 2, αντίστοιχα.

## Δημογραφικά στοιχεία

Ο αριθμός δειγμάτων που ελήφθησαν σε κάθε χώρα και το ποσοστό του συνόλου για κάθε ομάδα της μελέτης παρουσιάζονται στον Πίνακα 11.

**Πίνακας 11. Σύνοψη χώρας λήψης δείγματος**

Χώρα λήψης δείγματος	Ομάδα 1		Ομάδα 2	
	N	%	N	%
Κάτω Χώρες	214	100,00%	153	89,47%
ΗΠΑ	0	0,00%	18	10,53%

Μια σύνοψη της ηλικίας των συμμετεχόντων, συμπεριλαμβανομένης της μέσης, της διάμεσης, της ελάχιστης και της μέγιστης ηλικίας, καθώς και της τυπικής απόκλισης (SD) στην ηλικία, φαίνεται στον Πίνακα 12.

**Πίνακας 12. Σύνοψη ηλικίας συμμετεχόντων (έτη)**

N	Μέση τιμή	Διάμεση τιμή	SD	Ελάχιστη τιμή	Μέγιστη τιμή
385	40,47	37,00	14,168	18,00	80,00

Η σύνοψη του φύλου των συμμετεχόντων παρέχεται στον Πίνακα 13.



**Πίνακας 13. Σύνοψη φύλου συμμετεχόντων**

Φύλο	N	%
Γυναίκες	234	60,78%
Άνδρες	151	39,22%

### Ειδικότητα

Η κλινική συμφωνία κατά τη σύγκριση των αποτελεσμάτων QFN SARS έναντι των αποτελεσμάτων της μεθόδου αναφοράς φαίνεται στον Πίνακα 14.

**Πίνακας 14. Κλινική συμφωνία: Αποτέλεσμα QFN SARS έναντι αποτελέσματος μεθόδου αναφοράς**

		Αποτέλεσμα μεθόδου αναφοράς		
		Ομάδα 1 (- εμβ., - λοίμωξη)	Ομάδα 2 (+ εμβ., - λοίμωξη)	Σύνολο
Αποτέλεσμα QFN SARS	Μη αντιδραστικό	199	34	233
	Αντιδραστικό	15	137	152
Σύνολο		214	171	385

Για τους ανεμβολίαστους συμμετέχοντες (Ομάδα 1), 199 από τους 214 είχαν μη αντιδραστικό αποτέλεσμα με χρήση της εξέτασης QFN SARS, ενώ οι υπόλοιποι 15 είχαν θετικό αποτέλεσμα. Για τους εμβολιασμένους συμμετέχοντες (Ομάδα 2), 137 από τους 171 είχαν αντιδραστικό αποτέλεσμα με χρήση της εξέτασης QFN SARS, ενώ οι υπόλοιποι 34 είχαν μη αντιδραστικό αποτέλεσμα. Κανένα από τα 15 και 34 ασύμφωνα δείγματα στις Ομάδες 1 και 2, αντίστοιχα, δεν υποβλήθηκε σε πρόσθετη εξέταση με ασύμφωνη μέθοδο.

Η αρνητική ποσοστιαία συμφωνία (Negative Percent Agreement, NPA) (ειδικότητα) υπολογίστηκε για τους ανεμβολίαστους συμμετέχοντες (Ομάδα 1), μαζί με το ακριβές αμφίπλευρο διάστημα εμπιστοσύνης (Confidence Interval, CI) 95%, και παρουσιάζεται στον Πίνακα 15.

**Πίνακας 15. Αρνητική ποσοστιαία συμφωνία (Ειδικότητα)**

<b>Αρ. ομάδας</b>	<b>NPA (ειδικότητα)</b>	<b>CI 95%</b>
Ομάδα 1 (- εμβ., - λοίμωξη)	92,99% (199 / 214)	88,70–96,02%

## Ευαισθησία

Η θετική ποσοστιαία συμφωνία (Positive Percent Agreement, PPA) (ευαισθησία) υπολογίστηκε για τους εμβολιασμένους συμμετέχοντες (Ομάδα 2), μαζί με το ακριβές αμφίπλευρο διάστημα εμπιστοσύνης (Confidence Interval, CI) 95%, και παρουσιάζεται στον Πίνακα 16.

**Πίνακας 16. Θετική ποσοστιαία συμφωνία (Ευαισθησία)**

<b>Αρ. ομάδας</b>	<b>PPA (ευαισθησία)</b>	<b>CI 95%</b>
Ομάδα 2 (+εμβ., -λοίμωξη)	80,12% (137 / 171)	73,34–85,82%

## Θετική ποσοστιαία συμφωνία ανά ηλικία

Για τους εμβολιασμένους συμμετέχοντες (Ομάδα 2), η θετική ποσοστιαία συμφωνία στρωματοποιήθηκε ανά ηλικία < 60 και ≥ 60 ετών και παρουσιάζεται στον Πίνακα 17.

**Πίνακας 17. Θετική ποσοστιαία συμφωνία κατά ηλικία < 60 και ≥ 60**

<b>Εύρος ηλικίας (έτη)</b>	<b>PPA (ευαισθησία)</b>	<b>CI 95%</b>
< 60	85,33% (128/150)	78,78–90,64%
≥ 60	42,86% (9/21)	21,82–65,98%

## Θετική ποσοστιαία συμφωνία ανά εμβόλιο COVID-19

Για τους εμβολιασμένους συμμετέχοντες (Ομάδα 2), η θετική ποσοστιαία συμφωνία στρωματοποιήθηκε ανά εμβόλιο COVID-19 που ελήφθη και παρουσιάζεται στον Πίνακα 18.

**Πίνακας 18. Θετική ποσοστιαία συμφωνία ανά εμβόλιο COVID-19**

<b>Εμβόλιο</b>	<b>PPA (ευαισθησία)</b>	<b>CI 95%</b>
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%

## Παράγοντες που σχετίζονται με μη αντιδραστικά αποτελέσματα σε εμβολιασμένους συμμετέχοντες

Για να καθοριστεί εάν η αυξανόμενη ηλικία, ο χρόνος από την ολοκλήρωση του εμβολιασμού COVID-19, το εμβόλιο που ελήφθη και το φύλο συσχετίζεται με τα μη αντιδραστικά αποτελέσματα σε εμβολιασμένους συμμετέχοντες (Ομάδα 2), διεξήχθη μονομεταβλητή ανάλυση λογιστικής παλινδρόμησης. Η συσχέτιση μεταξύ κάθε παράγοντα και των μη αντιδραστικών αποτελεσμάτων υπολογίστηκε ως προς τον λόγο σχετικών πιθανοτήτων (Odds Ratio, OR) και τα αποτελέσματα παρουσιάζονται στον Πίνακα 19.

**Πίνακας 19. Συσχέτιση μεταξύ παραγόντων και μη αντιδραστικών αποτελεσμάτων σε εμβολιασμένους συμμετέχοντες**

Παράγοντας	OR (95% CI)	Τιμή p	
Ηλικία (έτη)	1,08 (1,05–1,12)	< 0,001	
Χρόνος από τον εμβολιασμό έως την αιμοληψία QFN SARS (ημέρες)	1,02 (1,01–1,03)	< 0,001	
Εμβόλιο	Pfizer – BioNTech	1	–
	Astra Zeneca	2,55 (0,57–11,42)	0,221
	Janssen (Johnson & Johnson)	0,65 (0,14–3,09)	0,592
	Moderna	1,25 (0,42–3,72)	0,689
Φύλο	Γυναίκες	1	–
	Άνδρες	1,25 (0,59–2,65)	0,565

Οι μόνοι παράγοντες που συσχετίστηκαν σημαντικά με τα μη αντιδραστικά αποτελέσματα στους εμβολιασμένους συμμετέχοντες ήταν η ηλικία και ο χρόνος από τον εμβολιασμό.

Επειδή η μελέτη διεξήχθη σε χώρες όπου τα εμβόλια COVID-19 έγιναν πρώτα διαθέσιμα σε άτομα μεγαλύτερης ηλικίας, η ηλικία μπορεί να έχει επηρεάσει τη συσχέτιση μεταξύ του χρόνου από τον εμβολιασμό και των μη αντιδραστικών αποτελεσμάτων. Ο Πίνακας 20 δείχνει την ανάλυση παλινδρόμησης με την ηλικία ως συμμεταβλητή.

**Πίνακας 20. Συσχέτιση μεταξύ παραγόντων και μη αντιδραστικών αποτελεσμάτων ελεγχόμενων ως προς την ηλικία**

Παράγοντας	OR (95% CI)	Τιμή p
Ηλικία (έτη)	1,07 (1,03–1,11)	< 0,001
Χρόνος από τον εμβολιασμό έως την αιμοληψία QFN SARS (ημέρες)	1,01 (1,00–1,02)	0,214

---

Όταν η ηλικία είναι ελεγχόμενη, η συσχέτιση μεταξύ του χρόνου από τον εμβολιασμό και των μη αντιδραστικών αποτελεσμάτων δεν είναι πλέον σημαντική, ωστόσο η ηλικία παρέμεινε σημαντικά σχετιζόμενη.

# Βιβλιογραφία

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](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 QIAreacH 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

# Οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων

Αυτός ο οδηγός αντιμετώπισης προβλημάτων μπορεί να σας βοηθήσει στην επίλυση ενδεχόμενων προβλημάτων. Για περισσότερες πληροφορίες, ανατρέξτε και στη σελίδα Frequently Asked Questions (Συχνές ερωτήσεις) του κέντρου τεχνικής υποστήριξης της εταιρείας μας: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). Οι επιστήμονες των τμημάτων Τεχνικής Υποστήριξης της QIAGEN είναι πάντοτε πρόθυμοι να απαντήσουν σε τυχόν ερωτήσεις σχετικά με τις πληροφορίες ή/και τα πρωτόκολλα που περιέχονται στο παρόν εγχειρίδιο ή τις τεχνολογίες προετοιμασίας δειγμάτων και προσδιορισμού (για πληροφορίες επικοινωνίας επισκεφθείτε τον ιστότοπο [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Παρατηρήσεις και προτάσεις

---

### Αντιμετώπιση προβλημάτων με την ανάλυση ELISA

#### Μη ειδική ανάπτυξη χρώματος

- |                                                   |                                                                                                                                                                                                                                                                                              |
|---------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| α) Ατελής πλύση της πλάκας                        | Πλύνετε την πλάκα τουλάχιστον 6 φορές με 400 μl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης ανά βύθισμα. Πιθανόν να χρειαστούν περισσότεροι από 6 κύκλοι έκπλυσης, ανάλογα με τη χρησιμοποιούμενη συσκευή πλύσης. Συνιστάται η εκτέλεση διαβροχής διάρκειας 5 δευτερολέπτων τουλάχιστον μεταξύ των κύκλων. |
| β) Διασαυρούμενη μόλυνση των βυθισμάτων ELISA     | Απαιτείται προσοχή κατά τη διανομή με πιπέτα και την ανάμειξη των δειγμάτων ώστε να ελαχιστοποιηθούν οι κίνδυνοι.                                                                                                                                                                            |
| γ) Το κιτ ή τα συστατικά του έχουν λήξει          | Βεβαιωθείτε ότι το κιτ χρησιμοποιείται πριν από την ημερομηνία λήξης. Βεβαιωθείτε ότι το ανασυσταθέν πρότυπο και το συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100X χρησιμοποιούνται εντός τριών μηνών από την ημερομηνία ανασύστασης.                                                                    |
| δ) Το διάλυμα υποστρώματος-ενζύμου είναι ακάθαρτο | Απορρίψτε το υπόστρωμα εάν παρουσιάζει μπλε χρωματισμό. Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιούνται καθαρά δοχεία αντιδραστηρίων.                                                                                                                                                                       |

## Παρατηρήσεις και προτάσεις

- ε) Ανάμιξη του πλάσματος στα σωληνάρια αιμοληψίας QFN SARS Blood Collection Tubes πριν από τη συλλογή
- Μετά τη φυγοκέντρηση, αποφύγετε την παλινδρόμηση του υγρού κατά τη διανομή με πιπέτα και γενικά την ανάδευση του πλάσματος κατ' οποιονδήποτε τρόπο πριν από τη συλλογή. Να φροντίζετε πάντοτε να μη διαταράσσετε το υλικό που βρίσκεται στην επιφάνεια της γέλης.

## Χαμηλές μετρήσεις οπτικής πυκνότητας με τα πρότυπα

- α) Σφάλμα αραιώσης προτύπου
- Βεβαιωθείτε ότι οι αραιώσεις του προτύπου του κιτ παρασκευάζονται σωστά, σύμφωνα με αυτές τις Οδηγίες χρήσης.
- β) Σφάλμα διανομής με πιπέτα
- Βεβαιωθείτε ότι οι πιπέτες βαθμονομούνται και χρησιμοποιούνται σύμφωνα με τις οδηγίες του κατασκευαστή.
- γ) Πολύ χαμηλή θερμοκρασία επώασης
- Η επώαση του ELISA θα πρέπει να εκτελείται σε θερμοκρασία δωματίου ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).
- δ) Πολύ μικρός χρόνος επώασης
- Η επώαση της πλάκας με το συζευγμένο μόριο, τα πρότυπα και τα δείγματα θα πρέπει να διαρκεί  $120 \pm 5$  λεπτά. Το διάλυμα υποστρώματος-ενζύμου θα πρέπει να επωάζεται στην πλάκα επί 30 λεπτά.
- ε) Δεν χρησιμοποιήθηκε το σωστό φίλτρο στη συσκευή ανάγνωσης πλακών
- Η ανάγνωση της πλάκας θα πρέπει να γίνεται στα 450 nm με φίλτρο αναφοράς μεταξύ 620 και 650 nm.
- στ) Υπερβολικά ψυχρά αντιδραστήρια
- Όλα τα αντιδραστήρια, εκτός από το Συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100X, πρέπει να φθάσουν σε θερμοκρασία δωματίου προτού ξεκινήσει ο προσδιορισμός. Για να γίνει αυτό χρειάζεται περίπου 1 ώρα.
- ζ) Το κιτ ή τα συστατικά του έχουν λήξει
- Βεβαιωθείτε ότι το κιτ θα χρησιμοποιηθεί πριν από την ημερομηνία λήξης. Βεβαιωθείτε ότι το ανασυσταθέν πρότυπο και το συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100X χρησιμοποιούνται εντός 3 μηνών από την ημερομηνία ανασύστασης.

## Παρατηρήσεις και προτάσεις

---

### Υψηλό υπόβαθρο














- α) Ατελής πλύση της πλάκας Πλύνετε την πλάκα τουλάχιστον 6 φορές με 400 ml ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης ανά βύθισμα. Ενδέχεται να απαιτούνται περισσότεροι από 6 κύκλοι πλύσης. Συνιστάται η εκτέλεση διαβροχής διάρκειας 5 δευτερολέπτων τουλάχιστον μεταξύ των κύκλων.
- β) Πολύ υψηλή θερμοκρασία επώασης Η επώαση του ELISA θα πρέπει να εκτελείται σε θερμοκρασία δωματίου ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).
- γ) Το κιτ ή τα συστατικά του έχουν λήξει Βεβαιωθείτε ότι το κιτ χρησιμοποιείται πριν από την ημερομηνία λήξης. Βεβαιωθείτε ότι το ανασυσταθέν πρότυπο και το συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100X χρησιμοποιούνται εντός τριών μηνών από την ημερομηνία ανασύστασης.
- δ) Το διάλυμα υποστρώματος-ενζύμου είναι ακάθαρτο Απορρίψτε το υπόστρωμα εάν παρουσιάζει μπλε χρωματισμό. Βεβαιωθείτε ότι χρησιμοποιούνται καθαρά δοχεία αντιδραστηρίων.


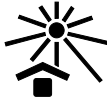

### Μη γραμμική πρότυπη καμπύλη και μεταβλητότητα επαναλήψεων

- α) Ατελής πλύση της πλάκας Πλύνετε την πλάκα τουλάχιστον 6 φορές με 400 ml ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης ανά βύθισμα. Ενδέχεται να απαιτούνται περισσότεροι από 6 κύκλοι πλύσης. Συνιστάται η εκτέλεση διαβροχής διάρκειας 5 δευτερολέπτων τουλάχιστον μεταξύ των κύκλων.
- β) Σφάλμα αραίωσης προτύπου Βεβαιωθείτε ότι οι αραιώσεις του προτύπου παρασκευάζονται σωστά, σύμφωνα με αυτές τις Οδηγίες χρήσης.
- γ) Κακή ανάμειξη Αναμείξτε σχολαστικά τα αντιδραστήρια με αναστροφή ή μαλακή περιδίνηση προτού τα προσθέσετε στην πλάκα.
- δ) Ανομοιόμορφη τεχνική αναρρόφησης με πιπέτα ή διακοπή κατά την προετοιμασία του προσδιορισμού Η προσθήκη δειγμάτων και προτύπων θα πρέπει να γίνεται με συνεχή τρόπο. Όλα τα αντιδραστήρια πρέπει να παρασκευάζονται πριν από την έναρξη του προσδιορισμού.

# Σύμβολα

Τα παρακάτω σύμβολα ενδέχεται να εμφανίζονται στις οδηγίες χρήσης ή στη συσκευασία και την επισήμανση:

Σύμβολο	Ορισμός συμβόλου
 <N>	Περιέχει αντιδραστήρια που επαρκούν για <N> αντιδράσεις
	Ημερομηνία λήξης
	In vitro διαγνωστικό ιατροτεχνολογικό προϊόν
	Αριθμός καταλόγου
	Αριθμός παρτίδας
	Αριθμός υλικού (δηλ. επισήμανση στοιχείου)
	Συστατικά
	Περιεχόμενα
	Αριθμός
	Διεθνής κωδικός μονάδων εμπορίας
	Εξουσιοδοτημένος αντιπρόσωπος
<b>R<sub>n</sub></b>	Η ένδειξη R αφορά την αναθεώρηση των οδηγιών χρήσης και n είναι ο αριθμός αναθεώρησης
	Περιορισμός θερμοκρασίας
	Κατασκευαστής

Σύμβολο	Ορισμός συμβόλου
	Συμβουλευθείτε τις οδηγίες χρήσης
	Διατηρήστε το προϊόν μακριά από την ηλιακή ακτινοβολία
	Προειδοποίηση/προσοχή

## Στοιχεία επικοινωνίας

Για τεχνική υποστήριξη και περισσότερες πληροφορίες, επισκεφθείτε το κέντρο τεχνικής υποστήριξης στην ιστοσελίδα **[www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support)**, καλέστε στο 00800-22-44-6000 ή απευθυνθείτε σε κάποιον από τα τμήματα τεχνικής υποστήριξης της QIAGEN ή τους κατά τόπους αντιπροσώπους (δείτε το οπισθόφυλλο ή επισκεφθείτε την ιστοσελίδα **[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)**).

# Παράρτημα Α: Τεχνικές πληροφορίες

## Απροσδιόριστα αποτελέσματα

Η λήψη απροσδιόριστων αποτελεσμάτων είναι σπάνια και ενδέχεται να οφείλεται στην κατάσταση ανοσίας του εξεταζόμενου ατόμου, αλλά μπορεί και να συνδέεται με μια σειρά τεχνικών παραγόντων (π.χ. ακατάλληλος χειρισμός/αποθήκευση σωληναρίων αιμοληψίας ατελής πλήση πλακών ELISA) σε περίπτωση που δεν ακολουθηθούν οι παραπάνω οδηγίες χρήσης.

Εάν υποπτεύεστε τεχνικά προβλήματα κατά τη φύλαξη των αντιδραστηρίων, την αιμοληψία ή τον χειρισμό των δειγμάτων αίματος, επαναλάβετε ολόκληρη την εξέταση QFN SARS με νέα δοκίμια αίματος. Μπορείτε να επαναλάβετε την εξέταση ELISA σε διεγερμένα δείγματα πλάσματος εάν υποψιάζεστε ανεπαρκή πλήση ή άλλη διαδικαστική απόκλιση στη εξέταση ELISA. Οι ιατροί μπορούν να επιλέξουν να λάβουν εκ νέου δείγμα ή να εκτελέσουν άλλες διαδικασίες ανάλογα με την περίπτωση.

## Θρομβωμένα δείγματα πλάσματος

Εάν σχηματιστούν θρόμβοι ινώδους κατά τη μακροχρόνια φύλαξη των δειγμάτων πλάσματος, φυγοκεντρήστε τα δείγματα ώστε να κατακρημνιστεί το θρομβωμένο υλικό και να διευκολυνθεί η αναρρόφηση του πλάσματος.

## Λιπαιμικά δείγματα πλάσματος

Θα πρέπει να επιδεικνύεται προσοχή κατά τη διανομή με πιπέτα λιπαιμικών δειγμάτων, καθώς οι λιπώδεις εναποθέσεις μπορούν να προκαλέσουν απόφραξη των ρυγχών της πιπέτας.



# Παράρτημα Β: Συνοπτική διαδικασία ανάλυσης ELISA

1. Αφήστε τα συστατικά του ELISA, εκτός του συμπυκνώματος συζευγμένου μορίου 100x, να ισορροπήσουν σε θερμοκρασία δωματίου επί 60 λεπτά τουλάχιστον.



2. Ανασυστήστε το πρότυπο του kit μέχρι μια συγκέντρωση 8,0 IU/ml με απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό. Παρασκευάστε τέσσερις (4) τυπικές αραιώσεις.



3. Ανασυστήστε το λυοφιλοποιημένο συμπύκνωμα συζευγμένου μορίου 100x με απεσταγμένο ή απιονισμένο νερό.

4. Παρασκευάστε ένα διάλυμα εργασίας συζευγμένου μορίου σε πράσινο αραιωτικό και προσθέστε 50 μl σε όλα τα βυθίσματα.



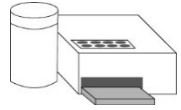
5. Προσθέστε 50 μl των εξεταζόμενων δειγμάτων πλάσματος και 50 μl προτύπων στα κατάλληλα βυθίσματα. Αναμείξτε με συσκευή ανακίνησης.



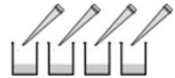
6. Επωάστε επί 120 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.



7. Πλύνετε τα βυθίσματα τουλάχιστον 6 φορές με 400 μl ρυθμιστικού διαλύματος πλύσης ανά βύθισμα.



8. Προσθέστε 100 μl διαλύματος υποστρώματος-ενζύμου στα βυθίσματα. Αναμείξτε με συσκευή ανακίνησης.



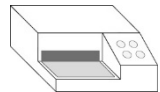
9. Επωάστε επί 30 λεπτά σε θερμοκρασία δωματίου.



10. Προσθέστε 50 μl διαλύματος διακοπής ενζυμικής αντίδρασης στα βυθίσματα. Αναμείξτε με συσκευή ανακίνησης.



11. Διαβάστε τα αποτελέσματα στα 450 nm, με φίλτρο αναφοράς στα 620 έως 650 nm.



12. Αναλύστε τα αποτελέσματα.



# Πληροφορίες παραγγελίας

Προϊόν	Περιεχόμενα	Αρ. κατ.
QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) ELISA Kit	Κιτ ELISA 2 πλακών	626420
<b>Σχετικά προϊόντα</b>		
QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes	200 σωληνάρια (50 για έκαστο εκ των Nil, Ag1, Ag2 και Mitogen)	626725

Για ενημερωμένες πληροφορίες σχετικά με τις άδειες χρήσης και για δηλώσεις αποποίησης ευθύνης σχετικά με συγκεκριμένα προϊόντα, βλ. εγχειρίδιο του αντίστοιχου κιτ της QIAGEN ή το κατάλληλο εγχειρίδιο χρήσης. Οι οδηγίες και τα εγχειρίδια χρήστη των κιτ QIAGEN είναι διαθέσιμα στον ιστότοπο [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Μπορείτε επίσης να τα ζητήσετε από το τμήμα τεχνικής υποστήριξης της QIAGEN ή τον αντιπρόσωπο της περιοχής σας.

## Ιστορικό αναθεώρησης εγγράφου

Ημερομηνία	Περιγραφή
R1, Οκτώβριος 2021	Αρχική κυκλοφορία
R2, Νοέμβριος 2021	Ενημέρωση των ενοτήτων «Χαρακτηριστικά απόδοσης» και «Κλινική απόδοση»
R3, Απρίλιος 2022	Ενημέρωση της ενότητας «Αναλυτικά χαρακτηριστικά απόδοσης» για παρεμβαλλόμενες ουσίες

---

Η σελίδα αυτή είναι σκόπιμα κενή.

---

Η σελίδα αυτή είναι σκόπιμα κενή.

---

Η σελίδα αυτή είναι σκόπιμα κενή.

#### **Άδεια περιορισμένης χρήσης για το QuantiFERON® SARS-CoV-2 (QFN SARS) ELISA Kit**

Η χρήση αυτού του προϊόντος συνεπάγεται την αποδοχή εκ μέρους του αγοραστή ή του χρήστη του προϊόντος των παρακάτω όρων:

1. Το προϊόν μπορεί να χρησιμοποιηθεί αποκλειστικά και μόνο όπως ορίζεται στα πρωτόκολλα που παρέχονται μαζί με το προϊόν και όπως ορίζεται στο εγχειρίδιο αυτό και μόνο με τα συστατικά στοιχεία που περιλαμβάνονται στο σετ. Η QIAGEN δεν παρέχει άδεια χρήσης υπό οποιαδήποτε πνευματική ιδιοκτησία για τη χρήση ή ενσωμάτωση των παρεχόμενων συστατικών αυτού του σετ σε οποιαδήποτε στοιχεία που δεν περιλαμβάνονται σε αυτό το σετ, παρά μόνον όπως περιγράφεται στα πρωτόκολλα που παρέχονται μαζί με το προϊόν, στο παρόν εγχειρίδιο και στα συμπληρωματικά πρωτόκολλα που διατίθενται στον ιστότοπο [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Ορισμένα από αυτά τα επιπλέον πρωτόκολλα έχουν παρασχεθεί από χρήστες της QIAGEN για χρήστες της QIAGEN. Αυτά τα πρωτόκολλα δεν έχουν ελεγχθεί διεξοδικά ή βελτιστοποιηθεί από την QIAGEN. Η QIAGEN δεν εγγυάται για αυτά και δεν παρέχει καμία εγγύηση ότι δεν παραβιάζουν δικαιώματα τρίτων.
2. Εκτός από τις άδειες που αναφέρονται ρητά, η QIAGEN δεν εγγυάται ότι αυτό το σετ ή/και η χρήση(εις) του δεν παραβιάζουν δικαιώματα τρίτων.
3. Αυτό το σετ και τα συστατικά του παραχωρούνται με άδεια για μία μόνο χρήση και δεν επιτρέπεται η επαναχρησιμοποίηση, η επαντεξεργασία, η ανακατασκευή ή η μεταποίηση τους.
4. Η QIAGEN αποποιείται ειδικά κάθε άλλη άδεια, ρητή ή σιωπηρή, εκτός από αυτές που αναφέρονται ρητά.
5. Ο αγοραστής και ο χρήστης του σετ συμφωνούν να μην προβούν και να μην επιτρέψουν σε άλλο πρόσωπο να προβεί σε ενέργειες οι οποίες θα μπορούσαν να προκαλέσουν ή να διευκολύνουν τυχόν ενέργειες που απαγορεύονται σύμφωνα με τα προαναφερθέντα. Η QIAGEN διατηρεί το δικαίωμα να επιβάλει τις απαγορεύσεις της παρούσας Συμφωνίας άδειας περιορισμένης χρήσης σε οποιοδήποτε δικαστήριο και πρέπει να αποζημιώνεται για όλες τις ερευνητικές και δικαστικές δαπάνες της, συμπεριλαμβανομένων των δικηγορικών αμοιβών, στο πλαίσιο οποιασδήποτε ενέργειας για την επιβολή της παρούσας Συμφωνίας άδειας περιορισμένης χρήσης ή οποιοδήποτε εκ των δικαιωμάτων πνευματικής της ιδιοκτησίας σχετικά με το σετ ή/και τα συστατικά του.

Για τους ενημερωμένους όρους της άδειας, βλ. [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Εμπορικά σήματα: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (Όμιλος QIAGEN), Proclin®. Οι καταχωρημένες ονομασίες, τα εμπορικά σήματα κ.λπ. που χρησιμοποιούνται στο παρόν έγγραφο δεν θα πρέπει να θεωρούνται μη προστατευόμενα από τον νόμο, ακόμα και εάν αυτό δεν υποδεικνύεται ρητώς.

04-22 1124420 © 2022 QIAGEN, με την επιφύλαξη παντός δικαιώματος.



