



Март 2023 г.

# Инструкция по применению набора QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold Plus ELISA Kit



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Версия 1



Для диагностики in vitro

Для использования с пробирками для забора крови  
QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold Plus Blood Collection Tubes



622120, 622822



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Германия



1123669RU



# Содержание

Назначение .....	5
Целевой пользователь.....	5
Описание и принцип действия.....	6
Информация о патогене .....	6
Краткий обзор и пояснения.....	7
Принципы анализа .....	10
Материалы, входящие в комплект поставки.....	12
Комплектация набора .....	12
Компоненты набора .....	13
Платформа и программное обеспечение.....	13
Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки.....	14
Дополнительные реактивы .....	14
Расходные материалы.....	14
Оборудование.....	14
Предупреждения и меры предосторожности .....	16
Информация по технике безопасности.....	16
Аварийная информационная служба.....	17
Меры предосторожности .....	18
Хранение реактивов и обращение с ними .....	20
Стабильность при использовании.....	20
Разведенные и неиспользованные реактивы .....	20
Хранение образцов и обращение с ними .....	21

Протокол: Проведение анализа ELISA .....	22
Результаты (Расчеты) .....	28
Построение стандартной кривой и результаты анализа проб .....	28
Контроль качества анализа .....	30
Интерпретация результатов .....	32
Ограничения .....	34
Рабочие характеристики .....	35
Клинические исследования .....	35
Чувствительность .....	38
Ожидаемые значения .....	45
Резюме данных по безопасности и эффективности .....	51
Аналитические характеристики тест-системы .....	52
Аналитические характеристики .....	52
Утилизация .....	66
Литература .....	67
Руководство по поиску и устранению неисправностей .....	69
Символы .....	72
Приложение А. Техническая информация .....	75
Неопределенные результаты .....	75
Образцы плазмы со сгустками .....	75
Образцы липемической плазмы .....	75
Приложение В: Краткое описание порядка выполнения теста ELISA .....	76
Информация для заказа .....	78
История изменений документа .....	80

## Назначение

QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus) — это тест-система для диагностики *in vitro*, принцип действия которой состоит в использовании пептидной смеси, имитирующей белки ESAT-6 и CFP-10 для стимулирования клеток в гепаринизированной цельной крови. Обнаружение интерферонов- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) методом твердофазного иммуноферментного анализа (ELISA) осуществляется с целью определения *in vitro* иммунного ответа на пептидные антигены, наличие которых соотносится с инфекцией *Mycobacterium tuberculosis*.

QFT-Plus является непрямым методом анализа на инфекцию *M. tuberculosis* (включая само заболевание). Проведение анализа должно сопровождаться оценкой риска, рентгенографическими и другими медицинскими диагностическими исследованиями.

## Целевой пользователь

Данный набор предназначен для профессионального применения.

Тест-система QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) должна использоваться квалифицированным персоналом в лабораторных условиях.

# Описание и принцип действия

## Информация о патогене

Туберкулез — передающаяся контактным путем болезнь, вызываемая инфицированием сложными организмами *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* и *M. caprae*). Заражение, как правило, происходит воздушно-капельным путем от пациентов с туберкулезом легких. Инфицированный может заболеть туберкулезом в течение периода от нескольких недель до нескольких месяцев, но большинство инфицированных не заболевает. Латентная туберкулезная инфекция (ЛТБИ), заболевание, не передающееся контактным путем и протекающее асимптоматически, присутствует у некоторых индивидуумов, у которых туберкулез может развиться позже, в течение месяцев и лет. Основная цель диагностирования ЛТБИ — назначение лечения для предотвращения заболевания туберкулезом. Свыше 100 лет единственным доступным методом диагностирования ЛТБИ была туберкулиновая кожная проба (ТКП) (4). Кожная чувствительность к туберкулину развивается в течение 2–10 недель после заражения. Тем не менее реакция на туберкулин не выявляется у некоторых инфицированных, в частности при широком спектре патологий, ведущих к нарушению функции иммунной системы, но также и при отсутствии таких патологий. С другой стороны, у некоторых лиц, которые, скорее всего, не являются инфицированными *M. tuberculosis*, выявляется чувствительность к туберкулину и положительная реакция на туберкулиновую кожную пробу после вакцинации бациллой Кальмета-Жерена (БЦЖ), инфицирования микобактерией, отличной от комплекса *M. tuberculosis*, или же в силу других неопределенных факторов.

Следует отличать ЛТБИ от туберкулеза как подлежащего регистрации заболевания, которое обычно поражает легкие и нижние дыхательные пути, а в ряде случаев и другие системы органов. Туберкулез диагностируется на основании анамнеза, результатов физикального осмотра, а также данных рентгенологических и микобактериологических исследований.

## Краткий обзор и пояснения

Тест-система QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) относится к четвертому поколению технологий для тестирования QuantiFERON-TB, позволяющих оценить опосредованный клетками ответ посредством количественного изменения IFN- $\gamma$  в образце цельной крови. QFT-Plus является качественным методом анализа, позволяющим выявить опосредованный клетками иммунный (Cell-Mediated Immune, CMI) ответ на пептидные антигены, имитирующие микобактериальные белки. Эти белки, ESAT-6 и CFP-10, отсутствуют во всех штаммах БЦЖ и в большинстве нетуберкулезных микобактерий, за исключением *M. kansasii*, *M. szulgai* и *M. Marinum* (1). В крови лиц, инфицированных организмами комплекса *M. tuberculosis*, как правило, содержатся лимфоциты, которые распознают те или иные микобактериальные антигены. Этот процесс распознавания предполагает производство и секрецию цитокина, IFN- $\gamma$ . Данный тест основан на обнаружении и последующем количественном анализе концентрации форм IFN- $\gamma$ .

Туберкулиновые кожные пробы и анализы IGRA (основанные на высвобождении гамма-интерферона) помогают в диагностике комплексной инфекции *M. tuberculosis* у больных пациентов, но не являются достаточным средством — положительный результат может подтверждать диагноз заболевания туберкулезом, но инфицирование другими микобактериями (например, *M. kansasii*) также может приводить к получению положительных результатов. Поэтому необходимы другие медицинские диагностические исследования, чтобы подтвердить или исключить наличие туберкулезной болезни.

Антигены, используемые в QFT-Plus, представляют собой пептидную смесь, имитирующую белки ESAT-6 и CFP-10. Многочисленные исследования показали, что эти пептидные антигены стимулируют образование IFN- $\gamma$  в Т-клетках инфицированных *M. tuberculosis* лиц. Такого, как правило, не происходит у неинфицированных лиц или лиц, прошедших БЦЖ-вакцинацию, не страдающих туберкулезом или не входящих в группу риска по ЛТБИ (1,2,6,9). Тем не менее, лечение или какие-либо заболевания, ослабляющие функцию иммунной системы, потенциально могут ослабить иммунный

ответ в виде продуцирования IFN- $\gamma$ . Организм пациентов, зараженных другими микобактериальными инфекциями, может также давать ответную реакцию на ESAT-6 и CFP-10, так как гены, кодирующие эти белки, присутствуют в *M. kansasii*, *M. szulgai* и *M. marinum* (1, 3,7).

Популяция для анализа QFT-Plus состоит из пациентов с клинически подтвержденной активной формой туберкулеза и пациентов, подверженных риску туберкулезной инфекции или латентной туберкулезной инфекции (ЛТБИ). Ограничений по возрасту, полу или другим признакам нет.

При инфицировании микобактериями туберкулеза (МБТ) Т-клетки CD4<sup>+</sup> играют важную роль в иммунологическом контроле благодаря секреции ими цитокина IFN- $\gamma$ . В настоящее время имеются доказательства участия Т-клеток CD8<sup>+</sup> в защите организма-хозяина от МБТ путем секреции IFN- $\gamma$  и других растворимых факторов, которые активируют макрофаги, подавляющие рост МБТ, уничтожают инфицированные клетки или осуществляют лизис МБТ непосредственно в клетке. IFN- $\gamma$ , продуцирующий МБТ-специфичные клетки CD8<sup>+</sup>, был обнаружен у пациентов с ЛТБИ и активным ТБ. Кроме того, установлено, что специфичные к ESAT-6 и CFP-10 Т-лимфоциты CD8<sup>+</sup> чаще обнаруживаются у больных с активным ТБ, чем у пациентов с ЛТБИ, и это может быть связано с недавним контактом с МБТ (8,10–12). Помимо этого, МБТ-специфичные Т-клетки CD8<sup>+</sup>, продуцирующие IFN- $\gamma$ , обнаруживаются у больных с активным ТБ, одновременно инфицированных ВИЧ (13, 14), и у детей младшего возраста, больных ТБ (15).

В состав тест-системы QFT-Plus входят две пробирки с антигенами ТБ: TB Antigen Tube 1 (TB1) и TB Antigen Tube 2 (TB2). Обе пробирки содержат пептидные антигены из антигенов комплекса МБТ, ESAT-6 и CFP-10. Обе пробирки, TB1 и TB2, содержат пептиды ESAT-6 и CFP-10, которые служат для стимулирования СMI-ответа Т-хелперов CD4<sup>+</sup>; пробирка TB2 содержит дополнительный набор пептидов, предназначенный для индукции СMI-ответа цитотоксичных Т-лимфоцитов CD8<sup>+</sup>.



Факторы риска заражения *M. tuberculosis* включают анамнестические, медицинские и эпидемиологические прогностические факторы заболевания туберкулезом и контакты с больным туберкулезом. Подробные рекомендации по диагностике инфекции *M. tuberculosis* (включая заболевание) и отбору пациентов для анализа см. В последнем руководстве ВОЗ <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment> (16). Анализ QFT-Plus был протестирован в некоторых группах пациентов, которым, согласно текущему руководству ВОЗ (16), показан скрининг на туберкулез, в том числе людям с положительным результатом анализа на вирус иммунодефицита человека (ВИЧ), тем, кто недавно контактировал с больными туберкулезом или живет в местах большого скопления людей, где есть взрослые жители с высоким риском туберкулеза (5).

## Принципы анализа

QFT-Plus представляет собой тест-систему для качественного анализа с использованием специальных пробирок для забора крови, содержащих пептидные антигены, имитирующие белки *M. tuberculosis*, которые используются для забора цельной крови. Пробирки с образцами крови инкубируются в течение 16–24 ч, после чего собирается плазма, которая затем исследуется на предмет наличия IFN- $\gamma$ , образованного в ответ на пептидные антигены.

На первом этапе производится забор цельной крови в каждую из пробирок для забора крови QFT-Plus Blood Collection Tubes, а именно: в нулевую контрольную пробирку Nil, пробирку с антигеном туберкулеза TB1, пробирку с антигеном туберкулеза TB2 и пробирку Mitogen. В качестве альтернативы забор крови можно также осуществлять в отдельную пробирку, содержащую литий-гепарин или натрий-гепарин в качестве антикоагулянта, а затем перенести в пробирки для забора крови QFT-Plus Blood Collection Tubes.

Пробирки для забора крови QFT-Plus Blood Collection Tubes встряхивают, чтобы перемешать антиген с кровью. Их необходимо как можно скорее (в течение 16 часов после забора крови) инкубировать при температуре  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ . После 16–24-часовой инкубации пробирки центрифугируют, обрабатывают плазму, и затем методом ELISA в ней определяется количество IFN- $\gamma$  (в МЕ/мл). В тест-системе QFT-Plus ELISA используется стандарт рекомбинантного IFN- $\gamma$  человека, проверенный по эталонному препарату IFN- $\gamma$  (рег. № NIH: Gxg01-902-535). Результаты, полученные при исследовании образцов, выражаются в международных единицах на мл (МЕ/мл) относительно стандартной градуировочной кривой, полученной путем анализа разведений стандарта, входящего в комплект поставки набора.

Известно, что гетерофильные антитела (например, человеческие антимышинные антитела) в сыворотке или плазме крови определенных лиц могут мешать иммунологическому анализу. В тест-системе QFT-Plus ELISA этот эффект гетерофильных антител сведен к минимуму. Для этого в зеленый разбавитель Green Diluent добавлена нормальная мышиная сыворотка, а также используются F(ab')<sub>2</sub>-фрагменты моноклональных антител для захвата IFN- $\gamma$  (нанесены на микропланшет).

Результат применения тест-системы QFT-Plus считается положительным, если IFN- $\gamma$ -ответ в любой пробирке с антигеном туберкулеза значительно превышает уровень IFN- $\gamma$  (в МЕ/мл) в контрольной пробирке Nil. Образец плазмы в пробирке с Mitogen служит положительным по IFN- $\gamma$  контролем для каждого из исследуемых образцов. Слабый ответ на Mitogen (< 0,5 МЕ/мл) указывает на неопределенный результат, если образец крови также дает отрицательный ответ на антигены туберкулеза. Такая картина возможна при недостатке лимфоцитов, снижении активности лимфоцитов из-за неправильной обработки образца, неправильном заполнении/перемешивании содержимого пробирки с Mitogen или неспособности лимфоцитов пациента продуцировать IFN- $\gamma$ . Повышенный уровень IFN- $\gamma$  в пробе Nil возможен при наличии гетерофильных антител или при эндогенной секреции IFN- $\gamma$ . Контрольная пробирка Nil предназначена для коррекции результата с учетом фона (например, повышенного уровня циркулирующего IFN- $\gamma$  или наличия гетерофильных антител). Значение уровня IFN- $\gamma$  для контрольной пробирки Nil вычитается из значений уровня IFN- $\gamma$  для пробирок с антигенами туберкулеза и пробирки с Mitogen. Диапазон измерений анализа QFT-Plus ELISA составляет до 10 МЕ/мл.

# Материалы, входящие в комплект поставки

## Комплектация набора

Компоненты для ELISA № по каталогу	Набор из 2 планшетов 622120	Базовый набор для лаборатории 622822
Microplate strips (микропланшетные стрипы) (12 x 8 лунок), покрытые мышиними моноклональными антителами к IFN- $\gamma$ человека	2 набора из микропланшетных стрипов 12 x 8	20 наборов из микропланшетных стрипов 12 x 8
IFN- $\gamma$ Standard, (стандарт IFN- $\gamma$ ), лиофилизированный (содержит рекомбинантный человеческий IFN- $\gamma$ , коровий казеин и 0,01 % [м/о] тимеросала)	1 флакон (8 МЕ/мл после разведения)	10 флаконов (8 МЕ/мл после разведения)
Green Diluent (Зеленый разбавитель) (содержит коровий казеин, нормальную мышиную сыворотку и 0,01 % [м/о] тимеросала)	1 x 30 мл	10 x 30 мл
Conjugate 100x Concentrate (Концентрат конъюгата со 100-кратной концентрацией), лиофилизированный (конъюгат мышиных антител к IFN- $\gamma$ человека с пероксидазой хрена, содержит 0,01 % тимеросала)	1 x 0,3 мл (после разведения)	10 x 0,3 мл (после разведения)
Wash Buffer 20x Concentrate (Концентрат промывочного буфера 20-кратная концентрация) (pH 7,2, содержит 0,05 % [о/о] ProClin® 300)	1 x 100 мл	10 x 100 мл
Enzyme Substrate Solution (Раствор ферментного субстрата) (содержит H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3', 5,5' тетраметилбензидин)	1 x 30 мл	10 x 30 мл
Enzyme Stopping Solution (Стоп-реактив для ферментативной реакции) (содержит 0,5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	1 x 15 мл	10 x 15 мл
<i>Инструкция по применению набора QuantiFERON TB-Gold Plus ELISA Kit</i>	1	1

## Компоненты набора

### Контроли и калибраторы

В тест-системе QFT-Plus ELISA используется стандарт рекомбинантного IFN- $\gamma$  человека, проверенный по эталонному препарату IFN- $\gamma$  (рег. № NIH: Gxg01-902-535).

### Платформа и программное обеспечение

Для анализа исходных данных и расчета результатов можно опционально использовать программное обеспечение для анализа QFT-Plus Analysis Software. Его можно скачать на сайте [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки

## Дополнительные реактивы

- Пробирки для забора крови QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes
- Деионизированная или дистиллированная вода, 2 литра

## Расходные материалы

- Крышка для 96-луночного планшета
- **Опционально:** Микропробирки с колпачками объемом 1 мл в штативах для 96-луночного формата или ничем не покрытые микропланшеты с пластиковыми пробками для хранения плазмы (22 пациента/штатив или планшет)
- Емкости для реактивов

## Оборудование\*

- 37 °C ± 1 °C в инкубаторе (с добавлением CO<sub>2</sub> или без него)
- Калиброванные пипетки переменного объема для дозирования от 10 мкл до 1000 мкл с одноразовыми наконечниками.
- Калиброванная многоканальная пипетка, позволяющая дозировать от 50 мкл до 100 мкл, с одноразовыми наконечниками.
- Шейкер для микропланшетов, для которого можно устанавливать скорость от 500 до 1000 об/мин.
- Промыватель микропланшетов (для обеспечения безопасности при работе с образцами плазмы рекомендуется использовать автоматический промыватель планшетов).

\* Перед использованием убедитесь, что приборы прошли проверку и откалиброваны в соответствии с рекомендациями производителя.

- Считывающее устройство для микропланшетов, оснащенное фильтром 450 нм и эталонным фильтром от 620 до 650 нм.
- Вихревая мешалка с переменной скоростью.
- Центрифуга, позволяющая центрифугировать пробирки для забора крови при ОСЦ по меньшей мере 3000 (g).
- Градуировочной цилиндр объемом 1 или 2 литра.

## Предупреждения и меры предосторожности

Следует учитывать, что вам нужно будет ознакомиться с местным законодательством относительно уведомления производителя и/или его уполномоченных представителей и регулирующих органов, в которых зарегистрирован пользователь и (или) пациент, о серьезных инцидентах, которые произошли в связи с устройством.

Для диагностики *in vitro*.

### Информация по технике безопасности

При работе с химическими веществами обязательно надевайте соответствующие халат, одноразовые перчатки и защитные очки. Дополнительную информацию см. в соответствующих паспортах безопасности (ПБ). Для каждого набора QIAGEN и каждого компонента набора их можно найти, просмотреть и распечатать в Интернете по адресу [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), где они размещены в удобном и компактном формате PDF.

- Образцы и пробы являются потенциально инфекционными. Утилизируйте отходы проб и отходы тест-системы в соответствии с действующими в регионе требованиями безопасности.
- Отрицательный результат анализа QFT-Plus не исключает наличия инфекции *M. tuberculosis* или туберкулеза; ложноотрицательные результаты могут быть обусловлены стадией инфекции (например, если образец крови был взят до того, как развилась клеточная иммунная реакция), ненадлежащим обращением с пробирками для забора крови после венопункции, ненадлежащей эффективностью тест-системы или иными индивидуальными переменными факторами иммунологического характера, в том числе связанными с сопутствующими заболеваниями. Гетерофильные антитела или неспецифическая продукция IFN- $\gamma$  при других воспалительных состояниях могут маскировать специфические ответы на пептиды ESAT-6 или CFP-10.




- Положительный результат анализа QFT-Plus не должен являться единственным или определяющим основанием для заключения о наличии инфекции *M. tuberculosis*. Ненадлежащая эффективность тест-системы может привести к получению ложноположительных результатов QFT-Plus.
- Положительный результат анализа QFT-Plus должен быть подтвержден дальнейшими медицинскими исследованиями на предмет наличия туберкулеза в активной форме (такими как исследование мазка на кислотоустойчивые микобактерии и культуральное исследование, рентгенографическое исследование органов грудной клетки).
- Белки ESAT-6 и CFP-10 отсутствуют во всех штаммах БЦЖ и в большинстве известных нетуберкулезных микобактерий, однако положительный результат анализа QFT-Plus может быть обусловлен и наличием инфекции *M. kansasii*, *M. szulgai* или *M. marinum*. Если есть подозрение на наличие таких инфекций, необходимы альтернативные диагностические исследования.
- Ложноотрицательный результат анализа QFT-Plus может быть вызван неправильным забором пробы крови или неправильным обращением с образцом, влияющим на функцию лимфоцитов. Правильное обращение с образцами крови описано в разделе «Протокол: Проведение анализа ELISA», стр. 22. Задержка инкубации может привести к получению ложноотрицательных или неопределенных результатов, а другие технические параметры могут повлиять на способность обнаруживать значимый ответ IFN- $\gamma$ .

## Аварийная информационная служба

CHEMTREC

Телефон для пользователей за пределами США и Канады: +1 703-527-3887

## Меры предосторожности

<p><b>ВНИМАНИЕ!</b></p> 	<p>С кровью человека следует обращаться как с потенциально инфицированной.</p> <p>Соблюдайте соответствующие инструкции по работе с кровью. Утилизировать образцы и материалы, находившиеся в контакте с кровью или ее продуктами, следует в соответствии с местным, региональным и федеральным законодательством.</p>
---	--

### QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Содержит серную кислоту. Осторожно! Может оказывать корродирующее действие на металлы. Вызывает раздражение кожи. Вызывает серьезное раздражение глаз. Следует надевать соответствующую защитную одежду, защитные перчатки и средства защиты для глаз/лица.

### QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Осторожно! Вызывает легкое раздражение кожи. Следует надевать соответствующую защитную одежду, защитные перчатки и средства защиты для глаз/лица.

### QuantiFERON Green Diluent



Содержит: тартразин. Осторожно! Может вызывать кожные аллергические реакции. Следует надевать соответствующую защитную одежду, защитные перчатки и средства защиты для глаз/лица.

### QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Наносит вред водной флоре и фауне с длительными неблагоприятными последствиями. Не допускайте попадания в окружающую среду.

## Дополнительная информация

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

- В некоторых реактивах QFT-Plus в качестве консерванта используется тимеросал. При проглатывании, вдыхании или контакте с кожей он может оказывать токсическое действие.
- Несоблюдение указаний, содержащихся в инструкции по применению *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)*, может привести к получению ошибочных результатов. Перед использованием внимательно прочтите инструкцию.
- Не используйте набор, если перед использованием у какого-либо флакона с реактивом обнаружены признаки повреждения или признаки утечки содержимого.
- **Важно!** Осматривайте флаконы перед использованием. Не используйте флаконы с конъюгатом или стандартом IFN- $\gamma$ , имеющие признаки повреждений или дефекты резиновой пробки. Не работайте с разбитыми флаконами. Утилизируйте флаконы, принимая необходимые меры предосторожности. Рекомендуется открывать флаконы с конъюгатом или стандартом IFN- $\gamma$  с помощью приспособления для снятия обжимных крышек, чтобы свести к минимуму риск травмы от металлической обжимной крышки.
- Не смешивайте и не используйте микропланшетные стрипы, стандарт IFN- $\gamma$ , зеленый разбавитель Green Diluent и концентрат конъюгата со 100-кратной концентрацией с наборами QFT-Plus kit других партий. Другие реактивы (концентрат промывочного буфера (20-кратная концентрация), раствор ферментного субстрата и стоп-реактив для ферментативной реакции) из разных наборов взаимозаменяемы при условии соблюдения сроков годности и совпадения зафиксированных сведений о партии.
- Утилизируйте неиспользованные реактивы и биологические образцы в соответствии с местным, региональным и федеральным законодательством.
- Не используйте набор QFT-Plus ELISA Kit после истечения срока годности.
- Необходимо всегда соблюдать методики проведения лабораторных исследований.
- Убедитесь в том, что лабораторное оборудование, например промыватели планшетов и считывающие устройства, откалиброваны/разрешены к применению.

# Хранение реактивов и обращение с ними

Следует соблюдать сроки годности и условия хранения, указанные на коробке и на этикетках всех компонентов. Не используйте компоненты с истекшим сроком годности, а также неправильно хранившиеся компоненты.

## Стабильность при использовании

- Храните набор для анализа ELISA kit при температуре 2–8 °С.
- Раствор ферментного субстрата необходимо всегда защищать от воздействия прямых солнечных лучей.

## Разведенные и неиспользованные реактивы

- Инструкции по разведению реактивов представлены в разделе «Протокол: Проведение анализа ELISA», стр. 22.
- Разведенный стандарт из набора можно хранить до 3 месяцев при температуре от 2 до 8 °С.

Запишите дату разведения стандарта из набора.

- Не использованный после разведения концентрат конъюгата со 100-кратной концентрацией подлежит хранению при температуре 2–8 °С и использованию в течение 3 месяцев.

Запишите дату разведения конъюгата.

- Рабочий раствор конъюгата необходимо использовать в течение 6 часов с момента приготовления.
- Рабочий промывочный буфер можно хранить при комнатной температуре не более 2 недель.
- Микропланшетные стрипы предназначены только для однократного использования. Неиспользованные стрипы можно снять с рамки планшета и сохранить для будущего использования.

## Хранение образцов и обращение с ними

С подробной информацией по рабочему процессу забора крови для тест-системы QFT-Plus можно ознакомиться в *инструкции по применению пробирок для забора крови QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes (1123668)*.

# Протокол: Проведение анализа ELISA

## Важные замечания перед началом работы

### Подготовка (продолжительность выполнения анализа)

- Для получения достоверных результатов тест-системы QFT-Plus оператору необходимо выполнить определенные задачи в указанные промежутки времени. Перед использованием тест-системы оператору рекомендуется тщательно спланировать каждый этап анализа, чтобы выделить достаточное время для выполнения каждого этапа. Ниже приведены данные по примерной продолжительности анализа, а также время, необходимое при одновременном тестировании большого количества проб.

- Прибл. 3 часа на каждый планшет ELISA
- < 1 часа рабочего времени
- Добавить 10–15 мин. на каждый дополнительный планшет

### ELISA для определения уровня IFN- $\gamma$

- О материалах, необходимых для проведения ELISA, см. в разделе «Комплектация набора» на стр. 12 и разделе «Необходимые материалы, не входящие в комплект поставки» на стр. 14.

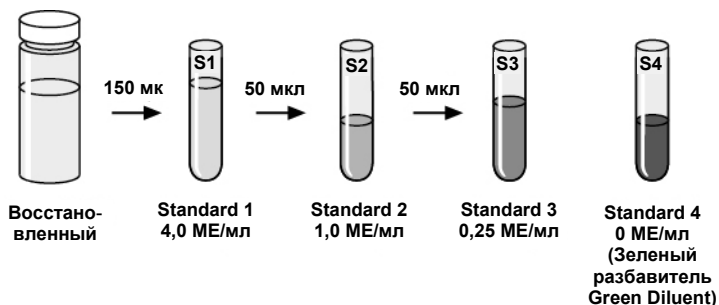
### Порядок работы

1. Перед проведением анализа все образцы плазмы и реактивы, кроме концентрата конъюгата со 100-кратной концентрацией, должны быть доведены до комнатной температуры ( $22 \pm 5$  °C). На выравнивание температур выделите по меньшей мере 60 минут.

2. Снимите ненужные стрипы планшета ELISA с рамки, запечатайте обратно в пакет из фольги и снова поместите в холодильную камеру для хранения, пока не они потребуются.
3. Приготовьте хотя бы один стрип для стандартов QFT-Plus и достаточное количество стрипов для исследуемых проб пациентов (рекомендуемый формат планшета см. на рис. 2). После использования сохраните рамку и крышку для последующего использования с оставшимися стрипами.
  - 3а. Разведите стандарт IFN- $\gamma$  указанным на этикетке флакона объемом деионизированной или дистиллированной воды. Осторожно перемешайте, чтобы свести к минимуму образование пены, и убедитесь, что все содержимое флакона полностью растворилось. При разведении стандарта IFN- $\gamma$  надлежащим объемом получается раствор концентрацией 8,0 МЕ/мл.
  - 3б. С помощью разведенного стандарта приготовьте серию разведений с четырьмя уровнями концентрации IFN- $\gamma$  (см. рис. 1).
  - 3с. Стандартная кривая строится по следующим уровням концентрации IFN- $\gamma$ :
    - S1 (стандарт 1) содержит 4,0 МЕ/мл
    - S2 (стандарт 2) содержат 1,0 МЕ/мл
    - S3 (стандарт 3) содержит 0,25 МЕ/мл
    - S4 (стандарт 4) содержит 0 МЕ/мл (только зеленый разбавитель [GD]).
  - 3д. Анализ стандартов необходимо проводить как минимум в двух повторностях.
  - 3е. Готовьте свежие разведения стандарта набора для каждого цикла ELISA.

### Порядок работы

A	Промаркируйте 4 пробирки: S1, S2, S3, S4.
B	Внесите 150 мкл GD в S1, S2, S3, S4.
C	Добавьте 150 мкл стандарта из набора в S1 и тщательно перемешайте.
D	Перенесите 50 мкл из S1 в S2 и тщательно перемешайте.
E	Перенесите 50 мкл из S2 в S3 и тщательно перемешайте.
F	Чистый GD служит нулевым стандартом (S4).



**Рис. 1. Приготовление серии разведений для построения стандартной кривой**

4. Разведите лиофилизированный концентрат конъюгата со 100-кратной концентрацией в 0,3 мл деионизированной или дистиллированной воды. Осторожно перемешайте, чтобы свести к минимуму образование пены, и убедитесь, что все содержимое флакона полностью растворилось.
  - 4а. Рабочий раствор конъюгата получают путем разбавления необходимого количества восстановленного концентрата конъюгата со 100-кратной концентрацией в зеленом разбавителе (таблица 1).
  - 4б. Рабочий раствор конъюгата следует использовать в течение 6 часов с момента приготовления.
  - 4с. Весь неиспользованный концентрат конъюгата со 100-кратной концентрацией сразу же после использования снова поместите на хранение при температуре от 2 до 8 °С.



**Таблица 1. Приготовление конъюгата (рабочий раствор)**

<b>Количество стрипов</b>	<b>Объем конъюгата (100-кратная концентрация)</b>	<b>Объем зеленого разбавителя</b>
2	10 мкл	1,0 мл
3	15 мкл	1,5 мл
4	20 мкл	2,0 мл
5	25 мкл	2,5 мл
6	30 мкл	3,0 мл
7	35 мкл	3,5 мл
8	40 мкл	4,0 мл
9	45 мкл	4,5 мл
10	50 мкл	5,0 мл
11	55 мкл	5,5 мл
12	60 мкл	6,0 мл

5. Образцы плазмы, отобранные из пробирок для забора крови, а затем хранившиеся (в холодильной или морозильной камере), необходимо тщательно перемешивать перед внесением в лунки планшета для ELISA. Образцы плазмы можно хранить в центрифугированных пробирках для забора крови QFT-Plus Blood Collection Tubes до 28 дней при температуре 2–8 °С, или же отобранные образцы плазмы можно хранить до 28 дней при температуре 2–8 °С. Отобранные образцы плазмы также можно хранить в течение длительного времени при температуре ниже –20 °С (предпочтительно ниже –70 °С).

После центрифугирования образцы плазмы можно загружать/использовать для измерений на планшете QFT-Plus ELISA непосредственно из пробирок для забора крови.

**Важно!** Если образцы плазмы переносятся непосредственно из центрифугированных пробирок для забора крови QFT-Plus Blood Collection Tubes, необходимо избегать перемешивания плазмы каким-либо образом. Необходимо соблюдать осторожность, чтобы не потревожить материал на поверхности геля.

6. Внесите 50 мкл свежеприготовленного рабочего раствора конъюгата в каждую лунку планшета для ELISA.
7. Внесите 50 мкл исследуемого образца плазмы в соответствующие лунки планшета (см. рекомендуемую схему расположения на планшете для ELISA на рис. 2).
8. В конце добавьте 50 мкл каждого стандарта (стандарт 1 – стандарт 4) в соответствующие лунки планшета (см. рекомендуемую схему расположения на планшете для ELISA на рис. 2). Анализ стандартов необходимо проводить как минимум в двух повторностях.

	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

**Рис. 2. Рекомендуемая схема расположения на планшете для ELISA.** S1 (стандарт 1), S2 (стандарт 2), S3 (стандарт 3), S4 (стандарт 4). 1N (проба 1, контрольная плазма Nil), 1 TB1 (проба 1, плазма TB1), 1 TB2 (проба 1, плазма TB2), 1M (проба 1, плазма Mitogen).

9. Закройте планшет для ELISA и тщательно перемешивайте конъюгат и образцы плазмы/стандарты с помощью шейкера для микропланшетов в течение 1 минуты со скоростью 500–1000 об/мин. Не допускайте расплескивания содержимого.
10. Закройте планшет для ELISA и инкубируйте при комнатной температуре ( $22 \pm 5$  °C) в течение  $120 \pm 5$  минут. Во время инкубации планшет для ELISA не должен подвергаться воздействию прямых солнечных лучей. Отклонение от указанного температурного диапазона может привести к получению ошибочных результатов.
11. Во время инкубации планшета для ELISA приготовьте рабочий промывочный буфер. Разведите одну часть 20-кратного концентрата промывочного буфера 19 частями деионизированной или дистиллированной воды и тщательно перемешайте. В комплект поставки входит количество 20-кратного концентрата промывочного буфера, достаточное для приготовления 2 литров рабочего промывочного буфера.

12. После завершения инкубации планшета для ELISA промойте лунки планшета 400 мкл рабочего промывочного буфера. Этап промывки должен повторяться по крайней мере 6 раз. При обращении с образцами плазмы в целях безопасности рекомендуется использовать автоматический промыватель планшетов.

Для проведения анализа очень важна тщательная промывка. Проследите, чтобы во время каждого цикла промывки каждая лунка была до краев заполнена промывочным буфером. Между циклами рекомендуется выдерживать по меньшей мере пятисекундный период замачивания.

Для обеззараживания потенциально инфекционных материалов в резервуар для отходов необходимо добавлять стандартное лабораторное дезинфицирующее средство и соблюдать установленные процедуры.

13. Для удаления остатков промывочного буфера положите планшеты для ELISA вверх дном на бумажные (безворсовые) полотенца. Внесите по 100 мкл раствора ферментного субстрата в каждую лунку, закройте планшет и тщательно перемешивайте содержимое с помощью шейкера для микропланшетов в течение 1 минуты со скоростью 500–1000 об/мин.
14. Закройте планшет для ELISA и инкубируйте при комнатной температуре ( $22 \pm 5$  °C) в течение 30 минут. Во время инкубации планшет для ELISA не должен подвергаться воздействию прямых солнечных лучей.
15. После 30-минутной инкубации внесите в каждую лунку планшета по 50 мкл стоп-реактива для ферментативной реакции в том же порядке, в котором вносился субстрат, и тщательно перемешайте содержимое с помощью шейкера для микропланшетов со скоростью 500–1000 об/мин.
16. В течение 5 минут после остановки реакции измерьте оптическую плотность (ОП) в лунках планшета для ELISA с помощью считывающего устройства для микропланшетов, оснащенного фильтром на 450 нм и эталонным фильтром на 620–650 нм. Значения ОП необходимы для расчета результатов.

## Результаты (Расчеты)

Для анализа исходных данных и расчета результатов теста можно использовать программное обеспечение для анализа QFT-Plus Analysis Software. Оно доступно на веб-сайте [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Убедитесь, что вы используете новейшую версию программного обеспечения для анализа QFT-Plus Analysis Software.

Программное обеспечение выполняет оценку контроля качества применения тест-системы, строит стандартную кривую и выдает результат анализа для каждого субъекта, как описано в разделе «Интерпретация результатов» на стр. 32. Программное обеспечение регистрирует все уровни концентрации, превышающие 10 МЕ/мл как «>10», поскольку такие значения выходят за пределы валидированного линейного диапазона ELISA.

В качестве альтернативы использованию программного обеспечения для анализа QFT-Plus Analysis Software результаты можно определять следующим способом.

### Построение стандартной кривой и результаты анализа проб

**В случае, если программное обеспечение для анализа QFT-Plus Analysis Software не используется**

Определение стандартной кривой и результатов анализа образцов в МЕ/мл требуют использования программы для работы с таблицами, например, Microsoft® Excel®, если не будет использоваться программное обеспечение для анализа QFT-Plus Analysis Software.

## Использование программы для работы с таблицами

1. Определите среднее значение ОП для повторностей стандартов из набора на каждом планшете.
2. Постройте стандартную кривую  $\log_{(e)} - \log_{(e)}$ , откладывая по оси  $y$   $\log_{(e)}$  средней ОП, а по оси  $x$  —  $\log_{(e)}$  концентрации IFN- $\gamma$  в стандартах в МЕ/мл, исключив из этих расчетов нулевой стандарт. Методом регрессионного анализа рассчитайте линию наилучшего приближения к стандартной кривой.
3. С помощью стандартной кривой для каждого исследуемого образца плазмы определите концентрацию IFN- $\gamma$  (в МЕ/мл), используя значение ОП для каждой пробы.
4. Эти расчеты можно выполнить с использованием программных пакетов, прилагаемых к считывающим устройствам для микропланшетов, а также с помощью стандартных электронных таблиц или статистического программного обеспечения (например, Microsoft Excel). Такие пакеты рекомендуется использовать для выполнения регрессионного анализа, расчета коэффициента вариации (%CV) для стандартов и коэффициента корреляции ( $r$ ) стандартной кривой.

## Расчет результатов анализа образцов

Если для стандартов были получены следующие показатели ОП, расчеты с использованием  $-\log_{(e)}$  будут совпадать с примером, приведенным в таблице 2.

**Таблица 2. Стандартная кривая**

Standard	МЕ/мл	Значения ОП а и b	Среднее значение ОП	%CV	Log <sub>(e)</sub> МЕ/мл	Log <sub>(e)</sub> среднего значения (ОП)
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	Н/П	-1,386	-2,079
Standard 4	0	0,034, 0,037	0,036	Н/П	Н/П	Н/П

Уравнение для кривой:  $y = 0,7885(X) - 0,9837$ , где « $m$ » = 0,7885 и « $c$ » = -0,9837. Эти значения используются в уравнении  $X = (Y-c)/m$  для нахождения  $X$ . На основании стандартной кривой рассчитанный коэффициент корреляции ( $r$ ) = 1,000. Н/П — Неприменимо.

При помощи критериев, приведенных в разделе «Контроль качества анализа», стр. 30, определяется действительность тест-системы.

Стандартная кривая (таблица 2) используется для перевода ОП-ответов антигена в международные единицы (МЕ/мл).

**Таблица 3. Расчет результатов анализа образцов**

Антиген	Значение ОП	Log <sub>(e)</sub> значения ОП	X	e <sup>X</sup> (МЕ/мл)	Антиген — нулевой контроль Nil (МЕ/мл)
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

Значения IFN- $\gamma$  (МЕ/мл) для пробирок TB1, TB2 и Mitogen корректируются на фон путем вычитания значения в МЕ/мл, полученного для соответствующего нулевого контроля Nil. Скорректированные значения используются для интерпретации результатов анализа.

## Контроль качества анализа

Точность результатов анализа зависит от точности полученной стандартной кривой. Поэтому, прежде чем интерпретировать результаты анализа образцов, необходимо проверить результаты, полученные на стандартах.

Полученные методом ELISA результаты считаются действительными, если:

- среднее значение оптической плотности (ОП) для стандарта 1 составляет  $\geq 0,600$ ;
- значения коэффициента вариации (%CV) для повторностей стандартов 1 и 2  $\leq 15\%$ ;
- значения ОП для повторностей стандарта 3 и стандарта 4 варьируются не более чем на 0,040 единицы ОП от среднего значения;

- коэффициент корреляции ( $r$ ), рассчитанный по средним значениям оптической плотности стандартов,  $\geq 0,98$ .
- Если указанные выше условия не соблюдаются, цикл анализа недействителен и его необходимо повторить.
- Среднее значение ОП для нулевого стандарта (зеленый разбавитель) должно быть  $\leq 0,150$ . Если среднее значение ОП  $> 0,150$ , то необходимо проверить процедуру промывки планшетов.

Программное обеспечение для анализа QFT-Plus Analysis Software рассчитывает эти показатели качества и выдает полученные результаты контроля качества.

Каждая лаборатория должна определить соответствующие типы контрольных материалов и частоту тестирования в соответствии с требованиями местных, государственных, федеральных или других компетентных аккредитующих организаций. Необходимо рассмотреть внешнюю оценку качества и альтернативные процедуры валидации.

**Примечание.** Образцы плазмы с добавлением рекомбинантного IFN- $\gamma$  показали снижение уровня концентрации до 50 % при хранении при температуре 2–8 °C или –20 °C. Рекомбинантный IFN- $\gamma$  не рекомендован для определения контрольных стандартов.

# Интерпретация результатов

Результаты анализа QFT-Plus интерпретируются по следующим критериям (таблица 4).

**Важно!** Для подтверждения или исключения наличия туберкулезной болезни, а также для оценки вероятности ЛТБИ необходима совокупность эпидемиологических, анамнестических, клинических и диагностических данных, которые должны учитываться при интерпретации результатов анализа QFT-Plus. См. общее руководство по диагностике и лечению туберкулеза и ЛТБИ:

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

**Таблица 4. Интерпретация результатов анализа QFT-Plus**

Nil (МЕ/мл)	TB1 минус Nil (МЕ/мл)	TB2 минус Nil (МЕ/мл)	Mitogen минус Nil (МЕ/мл)*	Результат анализа QFT-Plus	Отчет/ интерпретация
≤ 8,0	≥ 0,35 и ≥ 25 % от Nil	Любой показатель	Любой показатель	Положительный †	Инфекция <i>M. tuberculosis</i> вероятна
	Любой показатель	≥ 0,35 и ≥ 25 % от Nil			
	< 0,35 или ≥ 0,35 и < 25 % от Nil	< 0,35 или ≥ 0,35 и < 25 % от Nil	≥ 0,50	Отрицательный	Инфекция <i>M. tuberculosis</i> МАЛОВЕРОЯТНА
	< 0,35 или ≥ 0,35 и < 25 % от Nil	< 0,35 или ≥ 0,35 и < 25 % от Nil	< 0,50	Неопределенный ‡	Вероятность наличия инфекции <i>M. tuberculosis</i> невозможно установить
> 8,0 §	Любой показатель				

\* Значения ответа на положительный контроль Mitogen (а иногда и на антиген туберкулеза) могут лежать вне диапазона считывающего устройства для микропланшетов. Это не оказывает влияния на результаты анализа. Значения > 10 МЕ/мл регистрируются программным обеспечением QFT-Plus как «> 10 МЕ/мл».

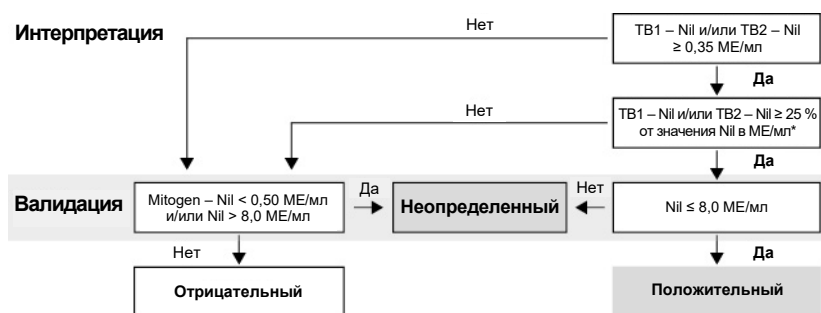
† Если подозрения на инфекцию *M. tuberculosis* нет, изначально положительные результаты можно проверить путем повторного анализа исходных образцов плазмы в двух повторностях на тест-системе QFT-Plus ELISA. Если результат повторного анализа в одной или обеих повторностях окажется положительным, то результат анализа следует считать положительным.

‡ Возможные причины см. в разделе «Руководство по поиску и устранению неисправностей», стр. 69.

§ В клинических исследованиях менее 0,25 % участников имели уровень IFN-γ > 8,0 МЕ/мл применительно к значению Nil.



Величина измеренного уровня IFN- $\gamma$  не может быть соотнесена со стадией и степенью заражения, уровнем иммунной реактивности или вероятностью прогрессирования болезни до активной стадии. Положительный ответ на антигены туберкулеза у лиц с отрицательным ответом на Mitogen встречается редко, но отмечалась у больных туберкулезом. Это свидетельствует о том, что ответ IFN- $\gamma$  на антигены туберкулеза выше, чем на Mitogen, что возможно, так как уровень Mitogen недостаточен для максимальной стимуляции продуцирования IFN- $\gamma$  лимфоцитами.



**Рис. 3. Интерпретация результатов анализа QFT-Plus.** \*Чтобы результаты TB1 минус Nil или TB2 минус Nil были действительными, значение  $\geq 25\%$  от Nil в ME/мл должно быть получено в той же пробирке, что и исходный результат  $\geq 0,35$  ME/мл.

## Ограничения

Результаты, полученные с помощью системы QFT-Plus, должны учитываться вместе с индивидуальным эпидемиологическим анамнезом, текущим медицинским статусом и другими диагностическими результатами.

Лица с нулевым контрольным значением  $N_{ii}$  выше 8 МЕ/мл классифицируются как «неопределенные», так как результат реакции на антигены туберкулеза, превышающий на 25 % значение нулевого контроля, может находиться вне зоны измерения, проводимого тест-системой.

- Прогностическое значение положительного результата тест-системы QFT-Plus при диагностике инфекции *M. tuberculosis* зависит от вероятности наличия инфекции, которая оценивается по анамнестическим, эпидемиологическим, диагностическим и другим данным.
- Диагноз ЛТБИ требует исключения диагноза туберкулеза путем медицинской оценки, включая оценку текущих медицинских и диагностических тестов на заболевание.
- Отрицательный результат должен рассматриваться в совокупности с медицинскими и анамнестическими данными пациента, имеющими значение для инфекции *M. Tuberculosis*, и потенциальным риском прогрессирования туберкулеза — в частности, у пациентов с нарушением функции иммунной системы.

Возможные причины получения недостоверных или неопределенных результатов:

- Отклонение от процедуры, описанной в инструкции по применению.
- Неправильная транспортировка образца крови/обращение с ним.
- Повышенный уровень IFN- $\gamma$  в крови или присутствие гетерофильных антител.
- Превышение валидированных сроков хранения образцов крови с момента забора крови до инкубации. См. *инструкцию по применению пробирок для забора крови QFT-Plus Blood Collection Tubes (1123668)*.

# Рабочие характеристики

## Клинические исследования

Поскольку абсолютного стандарта для подтверждения или исключения диагноза ЛТБИ не существует, выполнить практическую оценку чувствительности и специфичности тест-системы QFT-Plus невозможно. Специфичность системы QFT-Plus определялась приблизительно путем оценки показателей ложноположительных результатов у лиц с низким уровнем риска инфицирования туберкулезом (при отсутствии известных факторов риска). Чувствительность определялась приблизительно путем оценки показателей для групп участников исследований с диагнозом «туберкулез в активной форме», подтвержденным культуральным методом. Кроме того, эффективность тест-системы оценивалась на частоту положительных и отрицательных результатов в популяции здоровых субъектов с выявленными факторами риска туберкулезной инфекции (популяция смешанного риска).

## Специфичность

Было проведено многоцентровое исследование по оценке клинической специфичности тест-системы QFT-Plus с участием 733 субъектов, в отношении которых считалось, что они имеют либо низкий риск заражения *M. tuberculosis*, либо не имеют факторов риска контакта с возбудителями инфекции или заболевания. Демографические показатели и факторы риска контакта с возбудителями туберкулеза определялись с помощью стандартизированной анкеты при проведении лабораторного исследования. Исследование проводилось в четырех независимых центрах, один из которых находился в Соединенных Штатах Америки, два в Японии, и один в Австралии. Тест-система QFT-Plus сравнивалась с тест-системой QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT). Резюме данных по клинической эффективности и специфичности, стратифицированных по исследовательскому центру и региону, приведено в таблице 5. Результаты эффективности основаны на общем количестве действительных тестов. Неопределенных результатов не было.

**Таблица 5. Специфичность теста QFT-Plus в популяции с низким риском**

Центр	N	Положительный		Отрицательный		Неопределенный		Специфичность (95 % ДИ)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
<b>Соединенные Штаты Америки</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>Япония</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)
Всего по Японии	322	4	7	318	315	0	0	98,76 % (318/322) (96,85– 99,52)	97,83 % (315/322) (95,6– 98,9)
<b>Австралия</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)

Специфичность теста QFT-Plus составила 98,11 % в США, 97,83 % в Японии и 95,48 % в Австралии. Общая специфичность теста QFT-Plus составила 97,27 % (713/733). Специфичность теста QFT в США была 99,06 %, в Японии — 98,76 %, в Австралии — 95,98 %. Общая специфичность теста QFT составила 98,09 % (719/733).

Разбивка результатов по типам пробирки с антигеном туберкулеза и их комбинациям представлена для примера ожидаемых результатов анализа в популяции с низким риском (таблица 6).

**Таблица 6. Результаты исследования специфичности теста QFT-Plus по пробиркам с антигенами туберкулеза**

<b>Интерпретация результатов на основании значения антиген туберкулеза TB – Nil</b>			<b>QFT-Plus (положительный по TB1 и/или по TB2)*</b>	<b>Совпадение положительного результата по TB1 и TB2 (альтернативный анализ)†</b>
<b>МЕ/мл в</b>	<b>TB1</b>	<b>TB2</b>		
Положительный	10	18	20	8
Отрицательный	723	715	713	725
Неопределенный	0	0	0	0
Специфичность (95 % ДИ)	–	–	97,3 % (713/733) (95,8–98,2)	–
Частота отрицательных результатов (95 % ДИ)	98,6 % (723/733) (97,5–99,3)	97,5 % (715/733) (96,2–98,4)	–	98,9 % (725/733) (97,9–99,5)

\* Интерпретация на основании значения антиген туберкулеза TB – нулевой контроль Nil  $\geq 0,35$  МЕ/мл в обеих пробирках (TB1 и TB2) или любой из пробирок TB должна соответствовать критериям интерпретации для теста QFT-Plus (TB1 или TB2), чтобы результат считался положительным.

† Альтернативный анализ предоставляется исключительно для информации.

В группе с низким риском туберкулезной инфекции положительный результат наблюдался в общей сложности у 20 из 733 субъектов. Из них только у 8 субъектов полученное значение было  $> 0,35$  МЕ/мл в обеих пробирках TB1 и TB2. Сравнение тест-систем QFT и QFT-Plus проводилось в когорте исследования с низким риском и показало общую конкордантность в 97,5 % (715/733), а также процент совпадения отрицательных результатов 98,3 % (707/719).

## Чувствительность

В силу отсутствия стандартного анализа, позволяющего однозначно выявлять ЛТБИ, подходящей заменой ему является микробиологическое (культуральное) исследование на *M. tuberculosis*, так как наличие туберкулезной инфекции является обязательным условием заболевания.

Было проведено многоцентровое исследование по оценке клинической чувствительности тест-системы QFT-Plus с участием 434 субъектов с признаками и симптомами активной формы заболевания, вызванного *M. tuberculosis*, подтвержденного культуральным исследованием и/или ПЦР. Участники не получали лечения от туберкулеза вообще или по крайней мере в течение  $\leq 14$  дней до забора крови. Исследование проводилось в 7 независимых центрах, три из которых находились в Соединенных Штатах Америки, три в Японии и один в Австралии. Тест-система QFT-Plus сравнивалась с тест-системой QuantiFERON-TB Gold in Tube (QFT). Резюме данных по клинической эффективности и чувствительности, стратифицированных по исследовательскому центру и стране, представлено в таблице 7. Результаты эффективности основаны на общем количестве действительных тестов. Частота неопределенных результатов для QFT и QFT-Plus составила 2,3 % (10/434) и 2,5 % (11/434) соответственно.

**Таблица 7. Резюме данных по клинической эффективности и чувствительности, стратифицированных по центру, стране и в общем выражении**

Центр	N	Положительный		Отрицательный		Неопределенный		Чувствительность (95 % ДИ)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
<b>Соединенные Штаты Америки</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)
Всего по Соединенным Штатам Америки	53	47	47	6	6	0	0	88,7 % (47/53) (77,4–94,7)	88,7 % (47/53) (77,4–94,7)
<b>Япония</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)

См. продолжение таблицы на следующей странице

Продолжение таблицы, начало см. на предыдущей странице

**Таблица 7. Резюме данных по клинической эффективности и чувствительности, стратифицированных по центру, стране и в общем выражении (продолжение)**

Центр	N	Положительный		Отрицательный		Неопределенный		Чувствительность (95 % ДИ)	
		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)
Всего по Японии	352	328	322	15	19	9	11	95,63 % (328/343) (92,91– 97,33)	94,43 % (322/341) (91,5– 96,4)
<b>Австралия</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)

Анализ, приведенный в таблице выше, не включает неопределенные результаты.

Чувствительность тест-системы QFT-Plus составила 88,7 % в США, 94,43 % в Японии и 100,0 % в Австралии. Общая чувствительность тест-системы QFT-Plus составила 94,09 % (398/423). Чувствительность тест-системы QFT составила 88,7 % в США, 95,63 % в Японии и 96,43 % в Австралии. Общая чувствительность тест-системы QFT составила 94,81 % (402/424).

Разбивка результатов по типам пробики с антигенами туберкулеза и их комбинациям представлена для примера ожидаемых результатов анализа в популяции с подтвержденным туберкулезом (таблица 8).



**Таблица 8. Результаты исследования чувствительности QFT-Plus по пробиркам с антигенами туберкулеза**

Интерпретация на основании значения антиген туберкулеза ТВ – нулевой контроль Nil в (МЕ/мл)	QFT-Plus (положительный по TB1 и/или по TB2)		
	TB1	TB2	
Положительный	388	397	398
Отрицательный	32	26	25
Неопределенный	14	11	11
Чувствительность* (95 % ДИ)	–	–	94 % (398/423) (91,4–96,0)
Частота положительных результатов (95 % ДИ)	92,4 % (388/420) (89,4–94,6)	93,9 % (397/423) (91,1–95,8)	–

\* За исключением неопределенных результатов.

Сравнение тест-систем QFT и QFT-Plus с помощью культурального исследования в когорте с подтвержденным активным туберкулезом (когорты исследования чувствительности) показало общую конкордантность 95,9 % и процент совпадения положительных результатов 97,3 % (391/402).

**Таблица 9. Соотношение вероятности для QFT-Plus**

Центр*	Чувствительность	Специфичность	LR+	LR-
Австралия	100,00 %	95,48 %	22,11	0,00
Япония	94,43 %	97,83 %	43,44	0,06
Соединенные Штаты Америки	88,68 %	98,11 %	47,00	0,12

\* Всего

## Эффективность у субъектов с выявленными факторами риска МБТ-инфекции (лица со смешанным риском)

Проводили оценку когорты из 601 субъекта со смешанными факторами риска заражения туберкулезом (например, лица с положительным результатом на ВИЧ, лица с лечением активного или латентного туберкулеза в анамнезе, контактировавшие с активной формой туберкулеза, работники здравоохранения и т. п.) с помощью тест-систем QFT и QFT-Plus. Факторы риска выявляли с помощью стандартизированной анкеты, и на момент набора в исследование у субъектов не было симптомов, связанных с активной формой туберкулеза. Демографические данные и факторы риска представлены в таблице 10. В этой популяции положительный результат анализа QFT-Plus был получен для 68/601 (11,3 %) субъектов; процент совпадения положительных результатов (positive percent agreement, PPA) и процент совпадения отрицательных результатов (negative percent agreement, NPA) составили 98,44 % и 99,07 % соответственно (таблица 11). В этой когорте из 68 субъектов с положительным результатом по QFT-Plus всего у 62 субъектов был отмечен положительный результат как по пробирке TB1, так и по пробирке TB2; у 2 пациентов — положительный результат только по пробирке TB1 и у 4 пациентов — положительный результат только по пробирке TB2. Неопределенных результатов не наблюдалось (0/601).

**Таблица 10. Демографические данные и факторы, связанные с риском туберкулезной инфекции в смешанной когорте**

<b>Общее число (601)</b>		<b>субъектов</b>	<b>Процент</b>
Пол	Мужской	539	89,7 %
	Женский	62	10,3 %
Возраст (лет)	Диапазон	18–70	–
	Среднее значение	46,7	
Сделана прививка БЦЖ	Да	15	2,5 %
	Нет	586	97,5 %
ВИЧ-положительный или имеет положительный результат анализа на Т-лимфотропный вирус человека	Да	12	2,0 %
	Нет	589	98 %
Ранее был диагностирован активный ТБ	Да	11	1,8 %
	Нет	590	98,2 %
Имел положительный результат туберкулиновой кожной пробы/реакции Манту	Да	47	7,8 %
	Нет	554	92,2 %
Когда-то получал лечение от активного или латентного ТБ	Да	35	5,8 %
	Нет	566	94,2 %
Жил, работал или был волонтером (> 1 месяца) в тюрьме	Да	373	62,1 %
	Нет	228	37,9 %
Жил, работал или был волонтером (> 1 месяца) в приюте для бездомных	Да	525	87,4 %
	Нет	76	12,6 %
Медицинский работник	Да	8	1,3 %
	Нет	593	98,7 %
Близкий контакт с больным активным ТБ или предположительно больным активным ТБ	Да	9	1,5 %
	Нет	592	98,5 %

**Таблица 11. Итоговая эффективность QFT-Plus по сравнению с QFT у субъектов с известными факторами риска в отношении латентной формы туберкулеза**

		QFT		
		Положительный (+)	Отрицательный (-)	Всего
QFT-Plus	Положительный (+)	63	5*	68
	Отрицательный (-)	1*	532	533
	Всего	64	537	601

\* Во всех 6 образцах с расхождениями уровень IFN- $\gamma$  в пробирках с антигенами туберкулеза был близок к пороговому значению тест-системы.

Процент совпадения положительных результатов (PPA) и процент совпадения отрицательных результатов (NPA) для анализов QFT и QFT-Plus указаны далее.

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

В таблице 12 показана эффективность тест-системы QFT-Plus по сравнению с тест-системой QFT у субъектов, вакцинированных БЦЖ.

**Таблица 12. Эффективность тест-системы QFT-Plus по сравнению с тест-системой QFT у субъектов, вакцинированных БЦЖ (комбинированные данные субъектов, принимавших участие в исследованиях чувствительности, специфичности и ЛТБИ)**

		QFT		
		Положительный (+)	Отрицательный (-)	Всего
QFT-Plus	Положительный (+)	66	5	71
	Отрицательный (-)	3	268	271
	Всего	69	273	342*

\* Два субъекта из исследования чувствительности были исключены из анализа из-за неопределенных результатов.

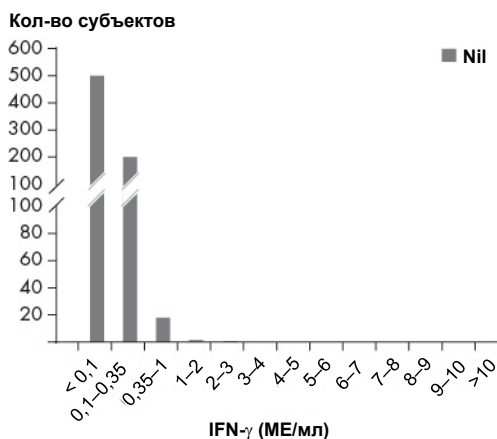
- PPA = 95,6 % (66/69), 95 % ДИ (87,98, 98,51)
- NPA = 98,2 % (268/273), 95 % ДИ (95,79, 99,22)

## Ожидаемые значения

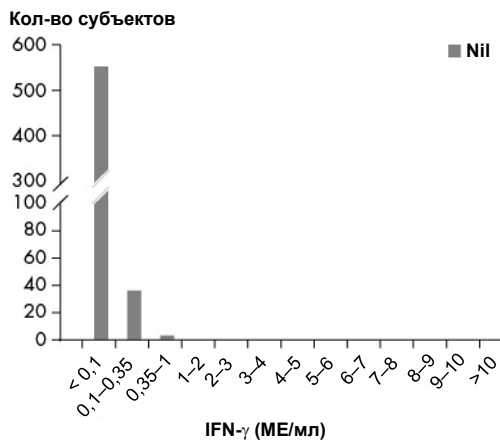
### Наблюдавшееся распределение ответов — стратификация по степени риска

Диапазон ответов IFN- $\gamma$  для пробирок TB1, TB2 и контроля, наблюдавшихся в клинических исследованиях, стратифицирован по степени риска инфекции *M. tuberculosis* (рис. 4 – рис. 7). Группа смешанного риска состоит из участников, представляющих общую популяцию исследования, которая включала лиц с факторами риска контакта с возбудителями ТБ и без таковых при малой вероятности наличия активной формы ТБ (т.е. ЛТБИ).

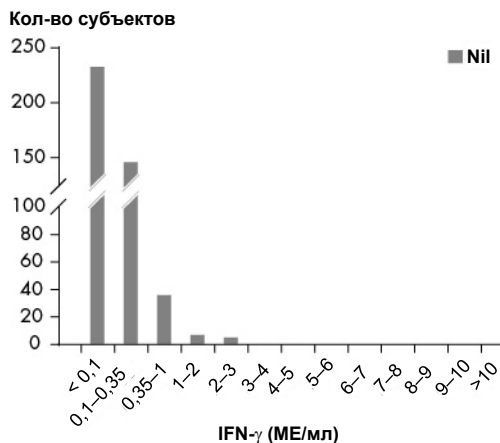
А



В

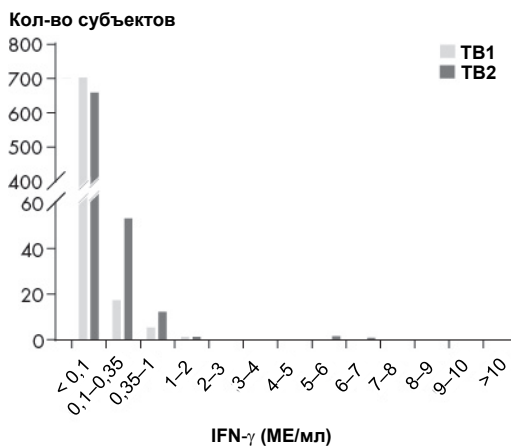


С

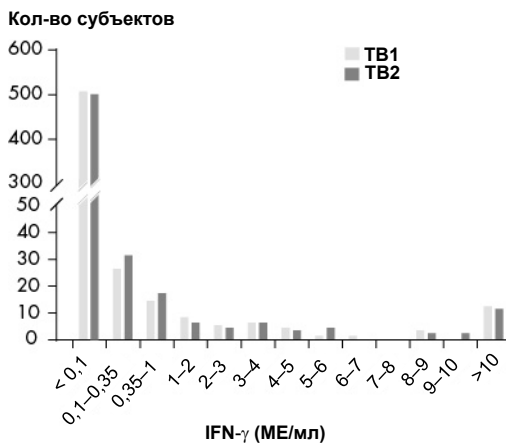


**Рис. 4. Распределение нулевого контроля Nil.** А Распределение результатов нулевого контроля Nil в популяции с низким риском (n = 744). В Распределение результатов нулевого контроля Nil в популяции со смешанным риском (n = 601). С Распределение результатов нулевого контроля Nil в популяции с подтвержденной данными культурального исследования инфекцией *M. Tuberculosis* (n = 416).

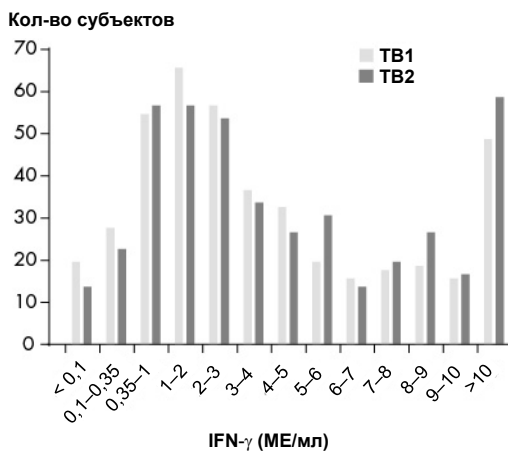
A



B



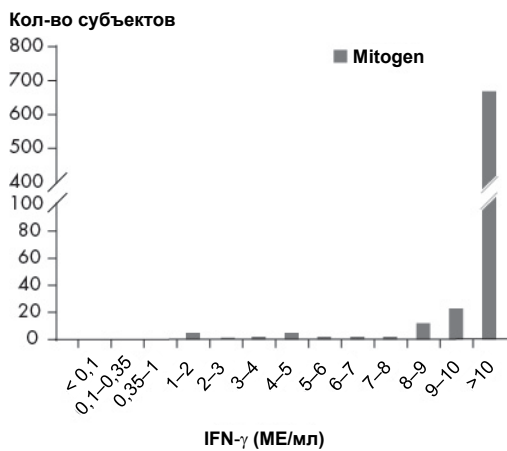
С



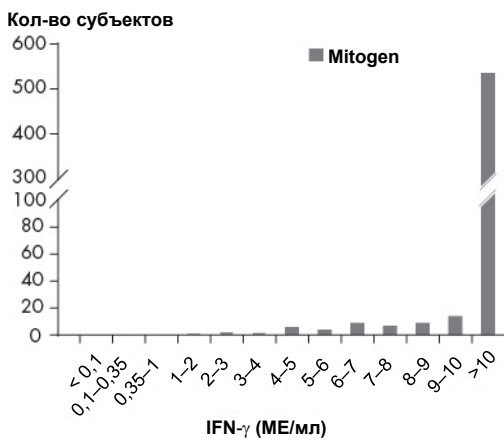
**Рис. 5. Распределение результатов для пробирок TB1 и TB2 (за вычетом результатов для пробирки нулевого контроля Nil).** **А** Распределение результатов для пробирок TB1 и TB2 (за вычетом результатов для пробирки нулевого контроля Nil) в популяции с низким риском (n = 744). **В** Распределение результатов для пробирок TB1 и TB2 (за вычетом результатов для пробирки нулевого контроля Nil) в популяции со смешанным риском (n = 601). **С** Распределение результатов для пробирок TB1 и TB2 (за вычетом результатов для пробирки нулевого контроля Nil) в популяции с подтвержденной культуральным исследованием инфекцией *M. tuberculosis* (n = 416).



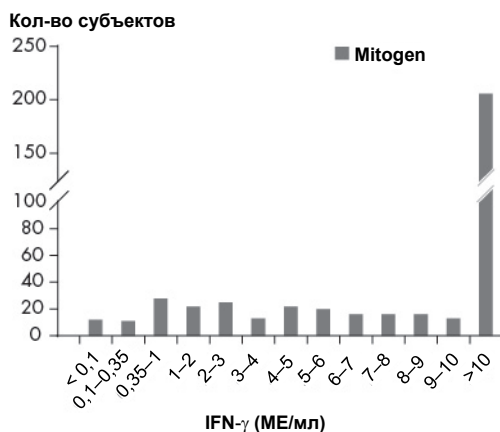
A



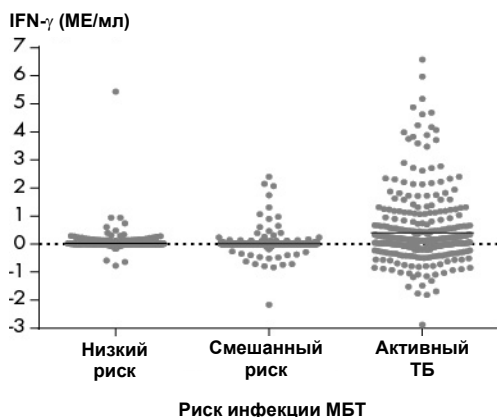
B



С



**Рис. 6. Распределение результатов для пробики Mitogen (за вычетом результатов для пробики нулевого контроля Nil).** **А** Распределение результатов для пробики Mitogen (за вычетом результатов для пробики нулевого контроля Nil) в популяции с низким риском ( $n = 744$ ). **В** Распределение результатов для пробики Mitogen (за вычетом результатов для пробики нулевого контроля Nil) в популяции со смешанным риском ( $n = 601$ ). **С** Распределение показателя Mitogen (за вычетом результатов для пробики нулевого контроля Nil) в популяции с подтвержденной культуральным исследованием инфекцией *M. tuberculosis* ( $n = 415$ ).



**Рис. 7. Наблюдавшаяся разница между показателями для TB1 и TB2 (за вычетом результатов для пробирки нулевого контроля Nil), стратифицированная по степени риска.**

Включает данные когортного исследования смешанного риска для демонстрации различия между когортами с низким риском, активным риском и смешанным риском. Этот анализ данных включал когорту смешанного риска с известными факторами риска. Таким образом, в когорте с низким риском было  $n = 733$ , в когорте со смешанным риском —  $n = 588$  и в когорте с активной формой туберкулеза —  $n = 357$  субъектов. Количественное различие в уровнях в ME/мл для каждого субъекта было получено путем вычитания значения TB1 из значения TB2.

## Резюме данных по безопасности и эффективности

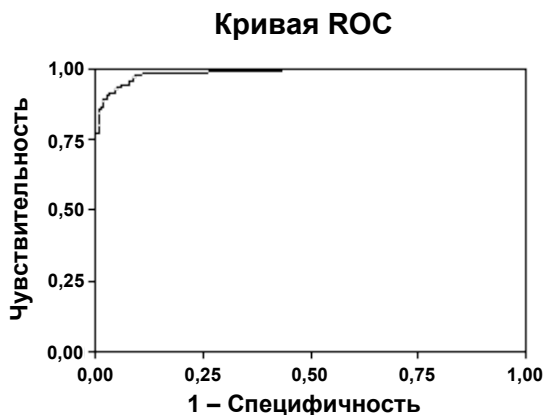
Резюме данных по безопасности и эффективности приведено на веб-сайте EUDAMED.

# Аналитические характеристики тест-системы

## Аналитические характеристики

### Пороговые значения тест-системы

Пороговое значение тест-системы QFT-Plus определялось с помощью данных 216 субъектов без выявленных факторов риска контакта с больными туберкулезом, которые были вакцинированы БЦЖ и считались не зараженными инфекцией, а также 118 субъектов с подтвержденной культуральным исследованием инфекцией *M. tuberculosis*. Объединенные данные о чувствительности и специфичности были проанализированы с помощью анализа кривой зависимости чувствительности от частоты ложноположительных результатов (ROC). Данные чувствительности и специфичности, проанализированные при помощи кривой ROC, продемонстрировали, что оптимальным пороговым значением анализа ELISA был показатель 0,35 МЕ/мл (см. рис. 8).



**Рис. 8.** Кривая ROC для ответов на ESAT-6 и CFP-10.

**Таблица 13. Значения чувствительности и специфичности анализа ELISA при различных пороговых значениях**

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

См. продолжение таблицы на следующей странице

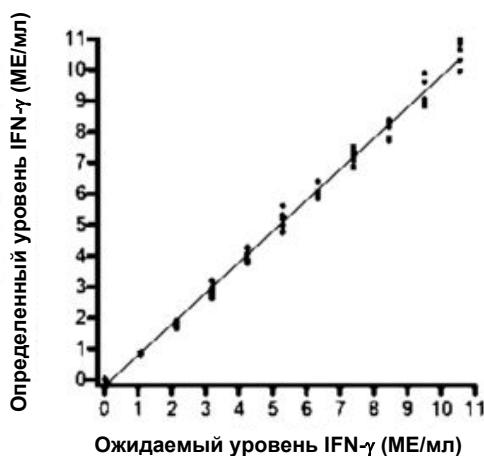
Продолжение таблицы, начало см. на предыдущей странице

**Таблица 13. Значения чувствительности и специфичности анализа ELISA при различных пороговых значениях**

Пороговое значение IFN- $\gamma$ , МЕ/мл	Чувствительность, %	95 % ДИ	Специфичность, %	95 % ДИ	Чувствительность + специфичность
0,47	85,59	от 77,94 % до 91,38 %	99,08	от 96,71 % до 99,89 %	184,67
0,48	84,75	от 76,97 % до 90,70 %	99,08	от 96,71 % до 99,89 %	183,83
0,50	83,90	от 76,00 % до 90,02 %	99,08	от 96,71 % до 99,89 %	182,98

## Линейность

Линейность QFT-Plus ELISA была подтверждена путем анализа 5 повторностей из 11 пулов плазмы с известными концентрациями IFN- $\gamma$ , размещенных в случайном порядке на планшете для ELISA. Линия линейной регрессии имеет наклон  $1,002 \pm 0,011$  и коэффициент корреляции 0,99 (рис. 9).



**Рис. 9. Иллюстрация анализа регрессии в исследовании линейности — среднее значение пула с высоким риском =  $-0,24 + 0,9964 \cdot \text{ожидаемый результат}$ .**

## Воспроизводимость

Было проведено многоцентровое исследование воспроизводимости результатов для оценки эффективности тест-системы QFT-Plus в разных исследовательских центрах с несколькими операторами. Это проспективное исследование проводилось в трех внешних исследовательских центрах и одном центре забора крови. В него было включено в общей сложности 32 субъекта с положительным результатом и 34 — с отрицательным (по определению с помощью тест-системы QFT). В число субъектов исследования входили медицинские работники в Соединенных Штатах Америки. Субъекты исследования представляли группы со смешанным риском заражения туберкулезом в силу профессии или являлись медицинскими работниками с происхождением из стран, где уровень заболеваемости туберкулезом превышает 50/100 000.

В центре забора крови у каждого субъекта было взято три образца в пробирки для забора крови с литий-гепарином. Затем по одной пробирке для забора крови с литий-гепарином было передано в каждый исследовательский центр, где путем аликвотирования образцы были разделены по двум наборам пробирок для забора крови QFT-Plus Blood Collection Tubes (QFT-Plus TB1, TB2, Mitogen и нулевой контроль Nil) и протестированы согласно процедуре выполнения анализа QFT-Plus. В каждом центре по меньшей мере два оператора проводили два независимых анализа для каждого субъекта исследования. Все операторы не знали о результатах, полученных другим оператором, а также результатах анализа QFT для субъекта исследования.

В трех исследовательских центрах было получено шесть результатов для каждого из 66 субъектов исследования, что составляло в целом 396 результатов. Резюме результатов исследования воспроизводимости приведено в таблице 14.

**Таблица 14. Резюме результатов исследования воспроизводимости — процент внутрицентрового совпадения качественных результатов между операторами; N = 66 образцов пациентов**

Центр 1 — 2 оператора	Центр 2 — 2 оператора	Центр 3 — 3 оператора
64/66 = 96,97 %	64/66 = 96,97 %	59/66 = 89,39 %
Совпадение качественных результатов набора пробирок 1 и набора пробирок 2	Совпадение качественных результатов набора пробирок 1 и набора пробирок 2	Совпадение качественных результатов набора пробирок 1 и набора пробирок 2

Процентное качественное совпадение по всем центрам исследования составило 94,7 % (375/396). В этом расчете общее число совпадений результатов тестирования (375) включает в себя вместе взятые случаи, когда имелось совпадение всех 6 результатов, совпадение 5 из 6 результатов, совпадение 4 из 6 результатов и совпадение 3 из 6 результатов.

### Воспроизводимость результатов из одной партии

Проводилось исследование для определения вариабельности внутри одной партии пробирок для забора крови QFT-Plus Blood Collection Tubes по сравнению с пробирками QFT. Всего было протестировано 30 субъектов (15 с положительным результатом на туберкулез и 15 с отрицательным результатом, подтвержденным при помощи тест-системы QFT). В исследовании использовали три отдельные партии пробирок для забора крови QFT-Plus TB1, TB2 и QFT-TB Blood Collection Tubes. Были протестированы три повторности для каждого донора для каждой серии пробирок для забора крови. Пробирка с нулевым контролем Nil и пробирка Mitogen тестировались в одной повторности.

Кровь каждого субъекта собирали в пробирки для забора крови с литий-гепарином, переносили по 1 мл крови в пробирки QFT-Plus и QFT Blood Collection Tubes и тестировали согласно процедуре анализа. Для каждой группы положительных и отрицательных образцов общая дисперсия результатов в пробирках QFT-Plus не должна была значимо превышать общую дисперсию результатов в пробирках QFT. Это условие проверялось по значению  $p$ , полученному с помощью критерия



однородности дисперсии Левене (HOV). Если значение  $p$  было статистически незначимым ( $p > 0,05$ ) и/или вариабельность пробирок QFT-Plus TB была ниже, чем вариабельность пробирок QFT TB, регистрировалась дисперсия между пробирками QFT-Plus и QFT TB.

**Таблица 15. Сравнение дисперсии между пробирками для забора крови QFT-Plus и QFT TB Blood Collection Tubes с помощью критерия Левене HOV**

Тип образца	Разница	Влияние	Зависимое	Значение $p$	Значимое
Положительный	TB2 и QFT	Sub_Type	Остаток	0,0378	Да
Положительный	TB2 и QFT	Sub_Type	Остаток	0,0540	Нет
Отрицательный	TB2 и QFT	Sub_Type	Остаток	0,1025	Нет
Отрицательный	TB2 и QFT	Sub_Type	Остаток	0,6344	Нет

Вариабельность между пробирками для забора крови QFT-Plus и QFT TB Blood Collection Tubes не была значимой, за исключением пробирки QFT-Plus TB2 при анализе проб субъектов с положительным результатом. При анализе оценочного стандартного отклонения наблюдаемая для пробирки QFT-Plus TB2 вариабельность была меньше (0,06089), чем для пробирки QFT TB (0,07641), как показано в таблице 16. Таким образом, дисперсия для пробирок для забора крови QFT-Plus TB1 и TB2 Blood Collection Tubes не превышала дисперсию для пробирок QFT TB Blood Collection Tubes.

**Таблица 16. Стандартное отклонение для остатка и 95 % доверительный интервал для субъектов с положительным результатом**

Тип образца	Sub_Type	Оценочное стандартное отклонение	95 % НДП	95 % ВДП
Положительный	QFT	0,07641	0,06826	0,08680
Положительный	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Положительный	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

## Воспроизводимость в одной партии

Было проведено исследование по оценке воспроизводимости в одной партии пробирок для забора крови QFT-Plus Blood Collection Tubes путем сравнения уровней концентрации IFN- $\gamma$  в повторностях пробирок для забора крови QFT-Plus TB Blood Collection Tubes с кровью.

Выполняли анализ шести аликвот одной пробы крови, взятой у одних и тех же субъектов с подтвержденным туберкулезом, в 6 пробирках для забора крови, каждая из одной партии QFT-Plus tubes и одной партии пробирок (TB1 и TB2). Тест проводился для 13 субъектов. Коэффициент вариации в % (%CV) рассчитывался для каждого донора, а также по всем донорам для получения среднего %CV, как показано в таблице 17.

**Таблица 17. %CV для среднего значения, стандартного отклонения, минимума, медианы и максимума для каждой пробирки для забора крови QFT-Plus TB Blood Collection Tube у субъектов с положительным результатом анализа на туберкулез**

QFT-Plus Tube	Размер выборки	Среднее значение (%CV)	Стандартное отклонение	Минимум	Медиана	Максимум
TB1	13	13,31	6,88	4,17	12,87	29,56
TB2	13	13,04	7,48	4,86	10,75	29,44

Результаты продемонстрировали, что среднее значение %CV для TB1 и TB2 составило ~13 %, что соответствовало критерию приемлемости  $\leq 30$  % и доказало воспроизводимость в одной партии.

### Предел для холостой пробы (Limit of Blank, LoB)

Предел для холостой пробы (LoB) оценивался для тест-системы QFT-Plus. Две повторности, каждая из которых состоит из 14 отдельных образцов плазмы здоровых людей (в качестве холостой пробы), тестировали с 2 партиями набора QFT-Plus ELISA с участием 3 операторов в течение 3 дней, один оператор для одного дня, что дало в общей сложности 84 повторности для каждой партии набора ELISA.

Значения LoB (МЕ/мл) для 2 партий набора ELISA рассчитывались отдельно, как показано в таблице 18.

**Таблица 18. Значения LoB (МЕ/мл) для 2 партий набора QFT-Plus ELISA Kit**

QFT-Plus ELISA Kit	Приблизительное значение LoB (МЕ/мл)
Набор 1	0,030
Набор 2	0,040

Большее значение LoB, равное 0,040 МЕ/мл, для обеих партий набора QFT-Plus ELISA Kit, было зарегистрировано как окончательное значение LoB.

## Предел обнаружения (Limit of Detection, LoD)

Предел обнаружения (LoD) оценивался для тест-системы QFT-Plus. Пул плазмы человека, отрицательной по туберкулезу, создали путем объединения 14 отдельных образцов плазмы. Каждый из 3 операторов приготовил эталонный стандартный раствор IFN- $\gamma$  с концентрацией 1,0 МЕ/мл, разведенный в буфере. Провели серию разведений с 8 уровнями концентрации. Исследование проводилось в течение 3 дней, 3 чередующимися операторами с использованием 2 партий набора QFT-Plus ELISA Kit. В каждый день исследования тестировали 5 повторностей каждого уровня концентрации в каждом наборе серий последовательного разведения. Всего было протестировано 45 повторностей каждого уровня концентрации IFN- $\gamma$  для каждой партии набора QFT-Plus ELISA Kit.

Значение LoD для каждой партии набора QFT-Plus ELISA Kit рассчитывалось отдельно, как показано в таблице 19.

**Таблица 19. Рассчитанные значения LoD (МЕ/мл) для 2 партий набора QFT-Plus ELISA Kit**

<b>QFT-Plus ELISA Kit</b>	<b>Вероятность</b>	<b>Расчетная концентрация (МЕ/мл)</b>	<b>Нижний 95 % доверительный предел для рассчитанного значения</b>	<b>Верхний 95 % доверительный предел для рассчитанного значения</b>
Набор 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Набор 2	0,95	0,065	0,060	0,073

Большее значение LoD, рассчитанное для обеих партий набора QFT-Plus ELISA Kit, которое составляло 0,065 МЕ/мл, было зарегистрировано в качестве окончательного значения LoD.

## Интерферирующие вещества

Проводили исследование с целью определения влияния потенциальных интерферирующих веществ на эффективность детектирования IFN- $\gamma$  с помощью тест-системы QFT-Plus ELISA. В анализ были включены следующие интерферирующие вещества: триглицериды (общие), гемоглобин, белок (общий сывороточный), билирубин (связанный), билирубин (несвязанный), абакавира сульфат, циклоспорин и преднизолон. Приготовили пять пулов плазмы с известными уровнями концентрации IFN- $\gamma$  с использованием разных концентраций интерферирующих веществ. Приготовили основной пул IFN- $\gamma$ , содержащий заданное количество IFN- $\gamma$  (примерно 0,21, 0,45 и 1,4 МЕ/мл). Этот пул в дальнейшем использовали для приготовления пулов интерферирующих веществ. Исследовали концентрации интерферирующих веществ 0 мг/дл, 5 мг/дл, 10 мг/дл, 15 мг/дл и 20 мг/дл. Целевые концентрации интерферирующих веществ основывались на референтных интервалах, патологических значениях, терапевтических диапазонах, диапазонах токсичности, рекомендациях поставщиков или общих клинических уровнях. Протестировали шесть повторностей для каждого уровня концентрации образца интерферирующего вещества.

Для образца каждой концентрации проводили двухвыборочный t-тест для сравнения различий в среднем значении  $\log_{10}$  (МЕ/мл) основного уровня интерферирующего вещества по сравнению с контрольным уровнем (т. е. без интерферирующего вещества); данные представлены в таблицах 20 и 21. Кроме того, регистрировали рассчитанную разницу среднего ответа вместе с соответствующими двусторонними 95 % доверительными пределами и значением p.

**Таблица 20. Log10, МЕ/мл: Таблица результатов Т-теста в отношении различий в средних значениях между контрольными и основными уровнями интерферирующих веществ по каждому интерферирующему веществу и уровню концентрации IFN- $\gamma$**

Интерферирующее вещество	Уровень интерферирующего вещества	Концентрация образца (МЕ/мл)	Дисперсия	Средняя разница	Нижний 95 % ДИ	Верхний 95 % ДИ	Значение р	Пройдено
Триглицериды	Высокий	1,4	Равноценно	0,019	-0,040	0,077	0,491	Да
		0,45	Равноценно	0,004	-0,022	0,030	0,732	Да
		0,21	Равноценно	0,006	-0,035	0,047	0,759	Да
Гемоглобин	Высокий	1,4	Равноценно	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Да
		0,45	Равноценно	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Да
		0,21	Равноценно	0,000	-0,034	0,035	0,980	Да
Белок	Высокий	1,4	Равноценно	0,004	-0,034	0,042	0,836	Да
		0,45	Равноценно	0,001	-0,38	0,040	0,962	Да
		0,21	Равноценно	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Да
Связанный билирубин	Высокий	1,4	Равноценно	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Да
		0,45	Равноценно	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Да
		0,21	Равноценно	-0,014	0,074	0,046	0,625	Да
Несвязанный билирубин	Высокий	1,4	Равноценно	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Да
		0,45	Равноценно	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Да
		0,21	Равноценно	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Да
Абакавир	Высокий	1,4	Равноценно	0,008	-0,025	0,041	0,601	Да
		0,45	Равноценно	0,012	-0,019	0,044	0,412	Да
		0,21	Равноценно	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Да

См. продолжение таблицы на следующей странице

Продолжение таблицы, начало см. на предыдущей странице

**Таблица 20. Log10, МЕ/мл: Таблица результатов Т-теста в отношении различий в средних значениях между контрольными и основными уровнями интерферирующих веществ по каждому интерферирующему веществу и уровню концентрации IFN- $\gamma$**

Интерферирующее вещество	Уровень интерферирующего вещества	Концентрация образца (МЕ/мл)	Дисперсия	Средняя разница	Нижний 95 % ДИ	Верхний 95 % ДИ	Значение р	Пройдено
Циклоспорин	Высокий	1,4	Равноценно	0,014	-0,020	0,047	0,383	Циклоспорин
		0,45	Равноценно	0,005	-0,035	0,045	0,773	Да
		0,21	Равноценно	0,024	-0,008	0,056	0,131	Да
Преднизолон	Высокий	1,4	Равноценно	0,017	-0,017	0,050	0,293	Преднизолон
		0,45	Равноценно	0,000	-0,036	0,036	0,979	Да
		0,21	Равноценно	0,015	-0,035	0,065	0,524	Да

**Таблица 21. Log10, МЕ/мл: Таблица результатов Т-теста в отношении различий в средних значениях между контрольными и высокими уровнями интерферирующих веществ по каждому интерферирующему веществу и уровню концентрации IFN- $\gamma$**

Интерферирующее вещество	Уровень интерферирующего вещества	Концентрация образца (МЕ/мл)	Дисперсия	Средняя разница	Нижний 95 % ДИ	Верхний 95 % ДИ	Значение р	Пройдено
Триглицериды	Высокий	1,4	Равноценно	0,053	-0,004	0,110	0,063	Да
		0,45	Равноценно	0,039	-0,021	0,058	< 0,001	Да
		0,21	Равноценно	0,034	-0,002	0,071	0,061	Да
Гемоглобин	Высокий	1,4	Равноценно	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Да
		0,45	Равноценно	0,016	-0,007	0,040	0,152	Да
		0,21	Равноценно	0,014	-0,030	0,059	0,489	Да
Белок	Высокий	1,4	Равноценно	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Да
		0,45	Равноценно	0,000	-0,046	0,046	0,992	Да
		0,21	Равноценно	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Да
Связанный билирубин	Высокий	1,4	Равноценно	0,001	-0,046	0,048	0,961	Да
		0,45	Равноценно	0,012	-0,043	0,067	0,639	Да
		0,21	Равноценно	0,015	-0,044	0,074	0,586	Да
Несвязанный билирубин	Высокий	1,4	Равноценно	0,015	-0,011	0,042	0,231	Да
		0,45	Равноценно	0,015	-0,023	0,052	0,411	Да
		0,21	Равноценно	0,012	-0,033	0,057	0,566	Да
Абакавир	Высокий	1,4	Равноценно	0,013	-0,015	0,040	0,322	Да
		0,45	Равноценно	0,015	-0,014	0,044	0,283	Да
		0,21	Равноценно	0,008	-0,034	0,050	0,677	Да

См. продолжение таблицы на следующей странице



Продолжение таблицы, начало см. на предыдущей странице

**Таблица 21. Log<sub>10</sub>, МЕ/мл: Таблица результатов Т-теста в отношении различий в средних значениях между контрольными и высокими уровнями интерферирующих веществ по каждому интерферирующему веществу и уровню концентрации IFN- $\gamma$**

Интерферирующее вещество	Уровень интерферирующего вещества	Концентрация образца (МЕ/мл)	Дисперсия	Средняя разница	Нижний 95 % ДИ	Верхний 95 % ДИ	Значение р	Пройдено
Циклоспорин	Высокий	1,4	Равноценно	0,002	-0,019	0,024	0,816	Да
		0,45	Равноценно	0,007	-0,030	0,043	0,682	Да
		0,21	Равноценно	0,015	-0,007	0,038	0,155	Да
Преднизолон	Высокий	1,4	Равноценно	0,007	-0,016	0,030	0,518	Да
		0,45	Равноценно	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Да
		0,21	Равноценно	0,021	-0,025	0,068	0,334	Да

Результаты не показали значимых различий между основным и контрольным уровнем интерферирующих веществ (без интерферирующих веществ), в том числе при высоких концентрациях, за исключением уровня концентрации триглицеридов 0,45 МЕ/мл. Среднее различие было определено как находящееся в диапазоне стандартного отклонения +/- 2. Это демонстрирует, что различия находятся в пределах ожидаемой вариабельности анализа, и триглицерид не оказывает интерферирующего воздействия на тест-систему QFT-Plus ELISA.

## Утилизация

Соблюдайте соответствующие инструкции по работе с кровью. Утилизировать образцы и материалы, находившиеся в контакте с кровью или ее продуктами, следует в соответствии с местным, региональным и федеральным законодательством.

# Литература

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.

# Руководство по поиску и устранению неисправностей

Данное руководство по поиску и устранению неисправностей может быть полезным в решении любых проблем, которые могут возникнуть. Для получения технической поддержки или дополнительной информации посетите наш Центр технической поддержки [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) (контактные данные см. на сайте [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Комментарии и рекомендации

---

### Поиск и устранение неисправностей при выполнении анализа ELISA

#### Неспецифическое окрашивание

- |   |   |
|---|---|
| а) Неполное промывание планшета   | Промойте планшет как минимум шесть раз промывочным буфером из расчета 400 мкл на каждую лунку. В зависимости от типа промывочной жидкости может понадобиться больше шести промывочных циклов. Время замачивания между промывочными циклами должно составлять не менее 5 секунд. |
| б) Перекрестное загрязнение лунок при проведении ELISA  | Соблюдайте осторожность при пипетировании и перемешивании образцов, чтобы свести риск загрязнения к минимуму.   |
| в) Истечение срока годности набора либо его компонентов                                       | Убедитесь, что набор используется до истечения срока годности. Используйте стандартный раствор и 100-кратный концентрат конъюгата в течение трех месяцев с момента разведения.  |
| г) Раствор ферментного субстрата загрязнен  | Утилизируйте субстрат при окрашивании в синий цвет. Используйте чистые емкости для реактивов.   |
| д) Перемешивание плазмы в пробирках для забора крови QFT-Plus Blood Collection Tubes до сбора | После центрифугирования перед сбором плазмы не допускайте ее набора и выпуска пипеткой или перемешивания. Необходимо соблюдать осторожность, чтобы не потревожить материал на поверхности геля.   |

## Комментарии и рекомендации

---

### Низкие показатели оптической плотности у стандартов

- |   |   |
|---|---|
| а) Ошибка при разведении стандарта  | Обеспечьте правильное приготовление разведений входящего в набор стандарта согласно настоящей инструкции по применению.   |
| б) Ошибка при пипетировании   | Убедитесь, что пипетки откалиброваны и используются в соответствии с инструкциями производителя.  |
| в) Слишком низкая температура инкубации                                     | Инкубация при проведении ELISA должна осуществляться при комнатной температуре ( $22 \pm 5$ °C).  |
| г) Слишком малое время инкубации  | Инкубация планшета с конъюгатом, стандартами и образцами должна продолжаться $120 \pm 5$ мин. Инкубация планшета с раствором ферментного субстрата должна проводиться в течение 30 мин. |
| д) На считывающем устройстве для планшетов используется неподходящий фильтр | Считывание результатов с планшета должно осуществляться при длине волны 450 нм с использованием эталонного фильтра на 620–650 нм.   |
| е) Реактивы слишком холодные  | Перед проведением анализа все реактивы, за исключением концентрата конъюгата (100-кратная концентрация), необходимо довести до комнатной температуры. Это занимает около 1 часа.        |
| ж) Истек срок годности набора/компонентов                                   | Используйте набор до истечения срока годности. Используйте разведенный стандарт и концентрат конъюгата со 100-кратной концентрацией в течение 3 месяцев с момента разведения.           |

### Высокий фон

- |                                 |   |
|---------------------------------|---|
| а) Неполное промывание планшета | Промойте планшет как минимум шесть раз промывочным буфером из расчета 400 мкл на каждую лунку. Может потребоваться более 6 циклов промывки. Время замачивания между промывочными циклами должно составлять не менее 5 секунд. |
|---------------------------------|---|

## Комментарии и рекомендации

---

- |   |  |
|---|--|
| б) Температура инкубации слишком высокая                | Инкубация при проведении ELISA должна осуществляться при комнатной температуре ( $22 \pm 5$ °C).   |
| в) Истечение срока годности набора либо его компонентов | Используйте набор до истечения срока годности. Используйте стандартный раствор и 100-кратный концентрат конъюгата в течение трех месяцев с момента разведения. |
| г) Раствор ферментного субстрата загрязнен              | Утилизируйте субстрат при окрашивании в синий цвет. Используйте чистые емкости для реактивов.  |

## Нелинейность стандартной кривой, вариабельность результатов параллельного анализа

- |  |   |
|--|---|
| а) Неполное промывание планшета  | Промойте планшет как минимум шесть раз промывочным буфером из расчета 400 мкл на каждую лунку. Может потребоваться более 6 циклов промывки. Время замачивания между промывочными циклами должно составлять не менее 5 секунд. |
| б) Ошибка при разведении стандарта   | Обеспечьте правильное приготовление разведений стандарта согласно настоящей инструкции по применению.   |
| в) Плохое смешивание   | Тщательно перемешивайте реактивы путем перевертывания или вихревым способом перед внесением на планшет.   |
| г) Непоследовательная техника пипетирования или приостановка рабочего процесса на этапе постановки теста | Внесение проб и стандартов должно осуществляться непрерывно. Все реактивы должны быть подготовлены до проведения теста.   |

# Символы

В инструкциях по эксплуатации, на упаковке и этикетках присутствуют следующие символы.

## Символ

## Значение символа



<N>

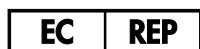
Содержит реактивы для <N> реакций



Срок годности



Данное изделие соответствует требованиям Европейского регламента 2017/746 о медицинских изделиях для диагностики in vitro.



Уполномоченный представитель в Европейском сообществе / Европейском союзе



Изделие медицинского назначения для диагностики in vitro



Номер по каталогу



Номер партии



Номер материала (напр., маркировка компонентов)



Компоненты



Содержит



Номер



Глобальный идентификационный номер единицы товара

Rn

«R» — редакция инструкции по применению, «n» — номер редакции



## Символ

## Значение символа



Ограничение по температуре



Изготовитель



См. инструкцию по применению



Подлежит защите от воздействия света



Осторожно/внимание или Предупреждение — ознакомьтесь с сопровождающей документацией

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

Тест-система для диагностики in vitro, принцип действия которой состоит в использовании пептидной смеси, имитирующей белки ESAT-6 и CFP-10, для стимулирования клеток в гепаринизированной цельной крови



Содержит биологический материал животного происхождения



Содержит биологические материалы человеческого происхождения

**Символ****Значение символа**

---

**UDI**

Уникальный идентификационный номер изделия

**tartrazine**

Содержит тартразин

**sulfuric acid**

Содержит серную кислоту

# Приложение А. Техническая информация

## Неопределенные результаты

Получение неопределенных результатов — редкое явление, которое может быть связано с особенностями иммунного статуса пациента (5), а также с рядом технических факторов (например, ненадлежащее обращение с пробирками для забора крови / их хранение, неполное промывание планшета ELISA), если не соблюдаются изложенные выше инструкции.

При подозрении на такие проблемы технического характера, как неправильное хранение реактивов, неправильный забор образцов крови либо ненадлежащее обращение с ними, повторите всю процедуру анализа QFT-Plus с новым образцом крови. В случае подозрения на некачественную промывку или другие отклонения от инструкций при проведении ELISA анализ стимулированной плазмы можно повторить. Врач может принять решение либо в пользу забора нового образца крови, либо в пользу проведения других надлежащих мероприятий.

## Образцы плазмы со сгустками

В случае образования в образцах плазмы, хранившихся длительное время, фибриновых сгустков необходимо центрифугировать образцы. При этом сгустки выпадут в осадок, что облегчит пипетирование плазмы.

## Образцы липемической плазмы

При пипетировании образцов липемической плазмы необходимо соблюдать осторожность, поскольку жировые отложения могут блокировать наконечник пипетки.

## Приложение В: Краткое описание порядка выполнения теста ELISA

1. Выдержите все компоненты тест-системы для ELISA (кроме концентрата конъюгата со 100-кратной концентрацией) при комнатной температуре не менее 60 минут.



2. Разведите стандарт, входящий в комплект поставки, деионизированной или дистиллированной водой до концентрации 8,0 МЕ/мл. Приготовьте 4 (четыре) разведения стандарта.



3. Разведите лиофилизированный концентрат конъюгата со 100-кратной концентрацией деионизированной или дистиллированной водой.

4. Разбавьте конъюгат зеленым разбавителем до рабочей концентрации и внесите по 50 мкл во все лунки.



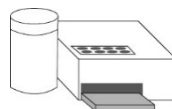
5. Внесите по 50 мкл каждого исследуемого образца плазмы и 50 мкл каждого стандарта в соответствующие лунки. Перемешайте содержимое с помощью шейкера.



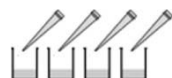
6. Инкубируйте в течение 120 минут при комнатной температуре.



7. Не менее 6 раз промойте лунки промывочным буфером (400 мкл на каждую лунку).



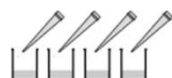
8. Внесите по 100 мкл раствора ферментного субстрата в каждую лунку. Перемешайте содержимое с помощью шейкера.



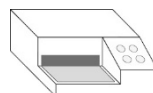
9. Инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре.



10. Внесите в каждую лунку по 50 мкл стоп-реактива для ферментативной реакции. Перемешайте содержимое с помощью шейкера.



11. Считайте результаты при 450 нм, используя референсный фильтр 620–650 нм.



12. Проанализируйте результаты.



# Информация для заказа

Продукт	Содержание	№ по каталогу
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit	Набор ELISA с 2 планшетами	622120
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Reference Lab Pack	Набор ELISA с 20 планшетами	622822
<b>Related products</b>		
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes	200 пробирок (по 50 пробирок Nil, TB1, TB2 и Mitogen)	622526
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 пробирок (по 25 пробирок Nil, TB1, TB2 и Mitogen)	622423
QuantiFERON-TB Gold Plus Single Patient Pack	40 пробирок (по 1 пробирке Nil, TB1, TB2 и Mitogen в упаковке), 10 упаковок	622222
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes	200 пробирок (по 50 пробирок Nil, TB1, TB2 и Mitogen)	623526
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 пробирок (по 50 пробирок Nil, TB1, TB2 и Mitogen)	623423
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Single Patient Pack	40 пробирок (по 1 пробирке Nil, TB1, TB2 и Mitogen в упаковке), 10 упаковок	623222

Актуальную информацию о лицензировании и заявления об отказе от ответственности для конкретных изделий см. в соответствующей инструкции по применению набора QIAGEN. С инструкциями по применению набора QIAGEN можно ознакомиться на веб-сайте по адресу [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Их также можно заказать через техническую службу QIAGEN или регионального дистрибьютора.

## История изменений документа

Дата	Изменения
R2, июнь 2021 г.	Включена информацию об упаковке для одного пациента Пересмотрены таблицы 10 и 11 с целью разделения данных по QFT-GIT и QFT-Plus Обновлен раздел «Описание и принцип действия», добавлена информация о популяции для анализа и диапазоне измерения. Добавлена таблица 9 с данными о соотношении вероятности для QFT-Plus
R3, октябрь 2021 г.	Номера по каталогу изменены на оригинальные номера по каталогу. Добавлено заявление об одноразовом использовании микропланшетных стрипов в комплектации набора.
R4, март 2023 г.	Исправления, касающиеся формата



Эта страница оставлена пустой намеренно

### **Ограниченное лицензионное соглашение для набора QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit**

Использование настоящего продукта означает согласие покупателя или пользователя продукта со следующими условиями.

1. Изделие подлежит использованию исключительно в соответствии с протоколами, прилагаемыми к изделию, и настоящей инструкцией по применению и только с компонентами, которые входят в состав набора. Компания QIAGEN не дает разрешения в рамках своей интеллектуальной собственности на использование или объединение компонентов, входящих в состав настоящего набора, с любыми компонентами, не входящими в настоящий набор, за исключением случаев, описанных в протоколах, прилагаемых к изделию, настоящей инструкции по применению и дополнительных протоколах, опубликованных по адресу [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Некоторые из таких дополнительных протоколов предоставлены пользователями продукции компании QIAGEN для пользователей продукции компании QIAGEN. Такие протоколы не были всесторонне проверены или оптимизированы компанией QIAGEN. Компания QIAGEN не гарантирует их правильности, а также не гарантирует того, что они не нарушают прав третьих лиц.
2. Кроме официально заявленных лицензий, компания QIAGEN не предоставляет никаких гарантий того, что данный набор и/или его использование не нарушают прав третьих лиц.
3. Данный набор и его компоненты лицензированы для одноразового использования и не подлежат повторному использованию, восстановлению или перепродаже.
4. Компания QIAGEN прямо отказывается от всех прочих лицензий, заявленных или подразумеваемых, кроме тех, о которых заявлено официально.
5. Покупатель и пользователь данного набора соглашаются не совершать и не допускать совершения другими лицами каких-либо действий, которые могут привести к любым действиям, запрещенным выше, или способствовать им. Компания QIAGEN может требовать исполнения запретов, предусмотренных настоящим ограниченным лицензионным соглашением, в судебном порядке в любом суде и получать возмещение всех понесенных ею следственных и судебных издержек, включая стоимость юридических услуг, по любому иску, направленному на исполнение настоящего ограниченного лицензионного соглашения или любого из своих прав на интеллектуальную собственность, связанных с набором и/или его компонентами.

Актуальные условия лицензии см. на веб-сайте по адресу [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Товарные знаки: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (Группа QIAGEN) Proclin®, Зарегистрированные наименования, товарные знаки и т. п., используемые в данном документе, даже не отмеченные как таковые, не должны рассматриваться как не защищенные законодательством.

03/2023 L1123669 1123669RU © QIAGEN, 2023 г. Все права защищены.

Для заказа: [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Техническая поддержка: [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) |  
Веб-сайт: [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)