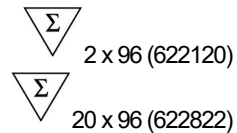


april 2019.

QuantiFERON[®]-TB Gold Plus (QFT[®]-Plus) ELISA uputstvo za upotrebu



Verzija 1

IVD

Za korišćenje u in vitro dijagnostici

Interferon-gama (IFN- γ) test pune krvi koji meri reakcije na peptidne antigene ESAT-6 i CFP-10



REF

622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
Nemačka

R6 **MAT**

1083163SR

Sadržaj

Namena.....	5
Rezime i objašnjenje testa.....	5
Principi ispitivanja.....	7
Vreme potrebno za obavljanje ispitivanja.....	9
Komponente i skladištenje.....	10
Potreban materijal koji se ne isporučuje.....	12
Čuvanje i rukovanje uzorcima.....	13
Epruvete za prikupljanje uzoraka krvi.....	13
Komplet reagenasa.....	13
Rekonstituisani i neupotrebljeni reagensi.....	13
Upozorenja i mere opreza.....	14
Upozorenja.....	14
Mere opreza.....	15
Prikupljanje uzoraka i rukovanje njima.....	18
Uputstva za upotrebu.....	24
Faza 1 – Inkubacija krvi i prikupljanje plazme.....	24
Faza 2 – IFN- γ ELISA.....	25
Izračunavanje i tumačenje testa.....	30
Generisanje krive standarda.....	30
Kontrola kvaliteta testa.....	31
Tumačenje rezultata.....	31
Ograničenja.....	34

Karakteristike učinka	35
Kliničke studije	35
Karakteristike učinka ispitivanja	41
Tehničke informacije.....	46
Nejasni rezultati.....	46
Zgrušani uzorci plazme	46
Vodič za rešavanje problema	47
Reference.....	49
Simboli.....	58
Kontakt informacije	59
Skraćena procedura testiranja.....	60
Faza 1 – Inkubacija krvi	60
Faza 2 – IFN- γ ELISA.....	60
Važne promene	62
Istorija revizija priručnika	62

Namena

Ispitivanje QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) je in vitro dijagnostički test koji stimulira ćelije u hepariziranoj punoj krvi pomoću koktela peptida koji simuliraju proteine ESAT-6 i CFP-10. Otkrivanje proteina interferon- γ (IFN- γ) putem ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) ispitivanja služi za identifikaciju in vitro reakcija na ove peptidne antigene koji su povezani sa *Mycobacterium tuberculosis* infekcijom.

QFT-Plus je indirektan test za *M. tuberculosis* infekciju (uključujući oboljenje) i predviđen je za upotrebu u kombinaciji sa procenom rizika, radiografijom i drugim medicinskim i dijagnostičkim procenama.

Rezime i objašnjenje testa

Tuberkuloza je prenosiva bolest koju uzrokuje infekcija složenim *M. tuberculosis* (MTB) organizmima (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*) koja se najčešće prenosi na nove domaćine vazдушnim putem preko kapljičnih jezgara sa pacijenata obolelih od respiratorne tuberkuloze. Osoba koja je prvi put zaražena može da se razboli od tuberkuloze u roku od nekoliko nedelja ili par meseci, ali većina inficiranih osoba se ne razboli. Kod pojedinih osoba postoji latentna infekcija tuberkulozom (latent tuberculosis infection, LTBI), asimptomatsko stanje koje se ne prenosi na druge, a te osobe mogu da se razbole od tuberkuloze mesecima ili godinama kasnije. Glavna svrha dijagnostifikovanja LTBI stanja je razmatranje lečenja kojim se sprečava oboljevanje od tuberkuloze. Do nedavno, tuberkulinski kožni test (Tuberculin Skin Test, TST) predstavljao je jedini dostupan način za dijagnostifikovanje LTBI stanja. Kožna osetljivost na tuberkulin razvija se od 2 do 10 nedelja nakon inficiranja. Međutim, pojedine inficirane osobe, uključujući osobe sa širokim opsegom oboljenja koja umanjuju imunološke funkcije, ali i osobe bez ovih oboljenja, ne reaguju na tuberkulin. Suprotno tome, pojedine osobe kod kojih postoji mala verovatnoća da su zaraženi *M. tuberculosis* infekcijom pokazuju osetljivost na tuberkulin i imaju pozitivne TST rezultate

nakon vakcinacije bacilom Calmette-Guérin (BCG), infekciju mikobakterijom koja nije iz grupe *M. tuberculosis* ili druge neodređene faktore.

Mora se napraviti razlika između LTBI stanja i bolesti tuberkuloze, stanja koje se mora prijaviti i koje najčešće pogađa pluća i donje disajne puteve, iako sistemi drugih organa takođe mogu da budu zaraženi. Dijagnoza tuberkuloze se uspostavlja na osnovu istorijskih, fizičkih, radioloških, histoloških i mikrobakterioloških rezultata.

QFT-Plus je test za ćelijske imunske odgovore (cell-mediated immune, CMI) na peptidne antigene koji simuliraju mikobakterijske proteine. Ovi proteini, ESAT-6 i CFP-10 ne nalaze se ni u jednoj BCG vrsti, niti u većini netuberkuloznih mikobakterija, sa izuzetkom sledećih: *M. kansasii*, *M. szulgai* i *M. marinum* (1). Osobe inficirane složenim MTB organizmima najčešće imaju limfocite u krvi koji prepoznaju ove i druge mikobakterijske antigene. Ovaj proces prepoznavanja uključuje generisanje i sekreciju citokina, IFN- γ . Otkrivanje i naknadna kvantifikacija IFN- γ proteina čine osnovu ovog testa.

Antigeni koji se koriste u QFT-Plus su peptidni kokteli koji stimulišu proteine ESAT-6 i CFP-10. Veliki broj studija pokazao je da ovi peptidni antigeni stimulišu IFN- γ odgovore u T ćelijama kod osoba zaraženih bakterijom *M. tuberculosis*, ali generalno ne kod osoba koje nisu zaražene niti kod osoba koje su primile BCG vakcinu i koje nisu obolele ili kod kojih ne postoji rizik od LTBI infekcije (1–32). Međutim, medicinska lečenja ili stanja koja mogu da oslabe funkcije imunološkog sistema potencijalno mogu da smanje IFN- γ odgovore. Pacijenti sa određenim mikobakterijskim infekcijama takođe mogu da budu responsivni na ESAT-6 i CFP-10, jer se geni koji kodiraju ove proteine nalaze u *M. kansasii*, *M. szulgai* i *M. marinum* (1, 23). QFT-Plus je test za LTBI i korisno sredstvo za dijagnostifikovanje složene *M. tuberculosis* infekcije kod bolesnih pacijenata. Pozitivan rezultat podržava dijagnostifikovanje bolesti tuberkuloze, ali i infekcije koje izaziva druga mikobakterija (npr., *M. kansasii*) takođe mogu da dovedu do pozitivnih rezultata. Druge medicinske i dijagnostičke procene neophodne su da bi se potvrdila ili isključila tuberkuloza.

QFT-Plus ima dve posebne epruvete sa TB antigenom: TB Antigen Tube 1 (TB1) i TB Antigen Tube 2 (TB2). Obe epruvete sadrže peptidne antigene iz antigena povezanih sa MTB kompleksom, ESAT-6 i CFP-10. Epruveta TB1 sadrži peptide iz ESAT-6 i CFP-10 koji su napravljeni da podstaknu CMI odgovore od CD4⁺ T-pomoćnih limfocita, dok epruveta TB2 sadrži dodatni komplet peptida koji ima za cilj indukciju CMI odgovora od CD8⁺ citotoksičnih T limfocita. Tokom prirodnog toka MTB infekcije, CD4⁺ T ćelije igraju ključnu ulogu u imunološkoj kontroli preko sekrecije citokina IFN- γ . Dokazi sada podržavaju ulogu CD8⁺ T ćelija koje doprinose odbrani domaćina od MTB-a tako što proizvode IFN- γ i druge rastvorljive faktore, koji aktiviraju makrofage kako bi se smanjio rast MTB-a, ubile inficirane ćelije ili direktno rastvorio međućelijski MTB (33–35). CD8⁺ ćelije specifične za MTB su otkrivene kod subjekata sa LTBI-om i sa aktivnom TB bolešću, gde je često moguće pronaći CD8⁺ ćelije koje proizvode IFN- γ (36–38). Pored toga, ESAT-6 i CFP-10 specifični CD8⁺ T limfociti su opisani kao oni koji se često otkrivaju kod subjekata sa aktivnom TB bolešću u poređenju sa LTBI-om, i mogu da se povežu sa nedavnom izloženošću MTB-u (39–41). Pored toga, MTB specifične CD8⁺ T ćelije koje proizvode IFN- γ takođe su otkrivene kod aktivnih TB subjekata sa HIV koinfekcijom (42, 43), kao i kod male dece sa TB bolešću (44).

Principi ispitivanja

QFT-Plus ispitivanje koristi specijalne epruvete za prikupljanje krvi, koje se koriste za prikupljanje pune krvi. Inkubacija krvi se odvija u epruvetama tokom 16 do 24 sati, nakon čega se plazma prikuplja i testira na prisustvo proteina IFN- γ dobijenog kao odgovor na peptidne antigene.

QFT-Plus test se obavlja u dve faze. Prvo se prikuplja puna krv u svaku od QFT-Plus Blood Collection Tubes, a to su: Nil epruveta, TB1 epruveta, TB2 epruveta i Mitogen epruveta. Druga mogućnost je da krv prikupite u jednu generičku epruvetu za prikupljanje uzoraka krvi koja sadrži litijum heparin ili natrijum heparin kao antikoagulant, a zatim da je prebacite u QFT-Plus epruvete.

Mitogen epruveta se koristi u QFT-Plus testu kao pozitivna kontrola. Ovo može da bude važno tamo gde postoji sumnja na status imuniteta pojedinca. Mitogen epruveta takođe može da se koristi kao kontrola za pravilno rukovanje krvlju i za inkubaciju.

QFT-Plus epruvete treba da se protresu za mešanje antigena sa krvlju i moraju da se inkubiraju na temperaturi od 37 °C u najkraćem mogućem roku, a najkasnije 16 sati nakon prikupljanja. Nakon perioda inkubacije od 16 do 24 sati, epruvete se centrifugiraju, uklanja se plazma, a količina proteina IFN- γ (IU/ml) se meri ELISA testom. QFT-Plus ELISA koristi rekombinantni humani IFN- γ standard, koji je testiran u odnosu na referentnu pripremu IFN- γ (NIH ref: Gxg01-902-535). Rezultati test uzorka su navedeni u internacionalnim jedinicama po mililitru (IU/ml) u odnosu na krivu standarda pripremljenu probnim razblaživanjima standarda koji se dobija u kompletu.

Poznato je da heterofilna (npr. humana anti-mišja) antitela u serumu ili plazmi određenih pojedinaca ometaju imunotestove. Efekat heterofilnih antitela na test QFT-Plus ELISA umanjen je najmanju moguću meru dodavanjem normalnog mišjeg seruma u zeleni razblaživač i primenom fragmenata F(ab')₂ monoklonalnih antitela kao antitela koja se vezuju za IFN- γ i oblažu mikroploču.

QFT-Plus ispitivanje se smatra pozitivnim na IFN- γ odgovor kada su vrednosti u epruveti sa TB antigenom znatno iznad vrednosti za IFN- γ IU/ml u Nil epruveti. Uzorak plazme iz Mitogen epruvete služi kao IFN- γ pozitivna kontrola za svaki testirani uzorak. Nizak odgovor na Mitogen (< 0,5 IU/ml) ukazuje na nejasan rezultat kada uzorak krvi ima i negativan odgovor na TB antigene. Ovaj šablon može da se pojavi u slučaju nedovoljnog broja limfocita, smanjene aktivnosti limfocita usled nepravilnog rukovanja uzorkom, usled nepravilnog punjenja ili mešanja Mitogen epruvete ili u slučaju nemogućnosti limfocita pacijenta da generišu IFN- γ . Može doći do povišenih nivoa IFN- γ u Nil uzorku usled prisustva heterofilnih antitela ili intrinzične sekrecije IFN- γ . Nil epruveta se podešava za pozadinu (npr. povišeni nivoi cirkulisanja IFN- γ proteina ili prisustvo heterofilnih antitela). Nivo IFN- γ proteina u Nil epruveti oduzima se od nivoa IFN γ proteina za epruvetu sa TB antigenom i Mitogen epruvetu.

Vreme potrebno za obavljanje ispitivanja

Procene vremena potrebnog za obavljanje QFT-Plus ELISA testa date su u nastavku; navedeno je i vreme za istovremeno testiranje više uzoraka:

Inkubacija na 37 °C za epruvete sa uzorkom krvi: 16 do 24 sati

ELISA: Približno 3 sata za jednu ELISA ploču
(22 osobe)
< 1 sat rada
Dodajte od 10 do 15 minuta za svaku narednu ploču

Komponente i skladištenje

Epruvete za prikupljanje uzoraka krvi*		200 epruveta	Pakovanje za jednog pacijenta	Pakovanje za raspoređivanje	HA 200 epruveta	HA pakovanje za jednog pacijenta	HA pakovanje za raspoređivanje
Kataloški br.		622526	622222	622423	623526	623222	623423
Broj testova/pakovanja		50	10	25	50	10	25
QuantiFERON Nii Tube (sivi poklopac, beli prsten)	Nil	50 epruveta	10 epruveta	25 epruveta			
QuantiFERON TB1 Tube (zeleni poklopac, beli prsten)	TB1	50 epruveta	10 epruveta	25 epruveta			
QuantiFERON TB2 Tube (žuti poklopac, beli prsten)	TB2	50 epruveta	10 epruveta	25 epruveta			
QuantiFERON Mitogen Tube (ljubičasti poklopac, beli prsten)	Mitogen	50 epruveta	10 epruveta	25 epruveta			
QuantiFERON Nii HA Tube (sivi poklopac, žuti prsten)	Nil HA				50 epruveta	10 epruveta	25 epruveta
QuantiFERON TB1 HA Tube (zeleni poklopac, žuti prsten)	TB1 HA				50 epruveta	10 epruveta	25 epruveta
QuantiFERON TB2 HA Tube (žuti poklopac, žuti prsten)	TB2 HA				50 epruveta	10 epruveta	25 epruveta
QuantiFERON Mitogen HA Tube (ljubičasti poklopac, žuti prsten)	Mitogen HA				50 epruveta	10 epruveta	25 epruveta
QFT-Plus Blood Collection Tubes uputstvo za upotrebu		1	1	1	1	1	1

* Nisu sve konfiguracije proizvoda dostupne u svakoj zemlji. Posetite QIAGEN korisnički centar (više detalja na adresi www.qiagen.com) da biste pronašli informacije o tome koje konfiguracije su dostupne za poručivanje.

ELISA komponente[†]	ELISA komplet sa 2 ploče	Referentno laboratorijsko pakovanje
Kataloški br.	622120	622822
Microplate Strips (Trake za mikroploču) (12 x 8 udubljenja) premazane slojem mišjeg anti-humanog IFN- γ monoklalnog antitela	2 x trake za mikroploču sa 96 udubljenja	20 x traka za mikroploču sa 96 udubljenja
IFN- γ Standard (IFN- γ standard), liofilizovani (sadrži rekombinantni humani IFN- γ , goveđi kazein, 0,01% w/v timerosal)	1 x bočica (8 IU/ml kada se rekonstituiše)	10 x bočica (8 IU/ml kada se rekonstituiše)
Green Diluent (Zeleni razblaživač) (sadrži goveđi kazein, normalni mišji serum, 0,01% w/v timerosal)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Koncentrovani konjugat od 100x), liofilizovani (mišji anti-humani IFN- γ HRP, sadrži 0,01% w/v timerosal)	1 x 0,3 ml (kada se rekonstituiše)	10 x 0,3 ml (kada se rekonstituiše)
Wash Buffer 20x Concentrate (Koncentrovani pufer za ispiranje od 20x) (pH 7,2, sadrži 0,05% v/v ProClin [®] 300)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Rastvor enzimskog supstrata) (sadrži H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetrametilbenzidin)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Enzimski rastvor za zaustavljanje reakcije) (sadrži 0,5M H ₂ SO ₄)	1 x 15 ml	10 x 15 ml
QFT-Plus ELISA uputstvo za upotrebu	1	1

[†] Pogledajte stranu 15 da biste videli mere opreza i izjave o opasnosti.

Potreban materijal koji se ne isporučuje

- 37 °C ± 1 °C inkubator*. Nije potreban CO₂
- Kalibrisane pipete sa promenljivom zapreminom* koje mogu da doziraju od 10 µl do 1000 µl sa vrhovima za jednokratnu upotrebu
- Kalibrisana pipeta sa više kanala* koja može da dozira 50 µl i 100 µl, sa vrhovima za jednokratnu upotrebu
- Poklopac ploče
- Šejker za mikroploče*
- Dejonizovana ili destilovana voda, 2 litra
- Perač mikroploče (preporučuje se automatski perač)
- Čitač mikroploče* opremljen filterom od 450 nm i referentnim filterom od 620 nm do 650 nm

* Proverite da li su instrumenti provereni i kalibrisani u skladu sa preporukama proizvođača.

Čuvanje i rukovanje uzorcima

Epruvete za prikupljanje uzoraka krvi

- Epruvete za prikupljanje uzoraka krvi čuvajte na temperaturi od 4 °C do 25 °C.

Komplet reagenasa

- Komplet reagenasa čuvajte na temperaturi od 2 °C do 8 °C.
- Rastvor enzimskog supstrata uvek štitite od direktne sunčeve svetlosti.

Rekonstituisani i neupotrebljeni reagensi

Uputstva o tome kako da rekonstituišete reagense potražite na strani 26.

- Rekonstituisani standard iz kompleta može da se čuva najviše 3 meseca ako se skladišti na temperaturi od 2 °C do 8 °C.

Zabeležite datum kada je standard iz kompleta rekonstituisan.

- Kada se rekonstituiše, neiskorišćeni koncentrovani konjugat od 100x mora da se vrati u skladište na temperaturu od 2 °C do 8 °C i mora da se iskoristi u roku od 3 meseca.

Zabeležite datum kada je konjugat rekonstituisan.

- Konjugat spreman za upotrebu mora da se upotrebi u roku od 6 sati od pripreme.
- Pufer za ispiranje spreman za upotrebu može da se čuva na sobnoj temperaturi najviše 2 nedelje.

Upozorenja i mere opreza

Samo za korišćenje u in vitro dijagnostici.

Upozorenja

- Negativni QFT-Plus rezultat ne eliminiše mogućnost *M. tuberculosis* infekcije ili bolest tuberkuloze: do lažno negativnih rezultata može da dođe zbog stadijuma infekcije (npr. uzorak dobijen pre razvoja ćelijskog imunološkog odgovora), komorbidnosti koja može da utiče na funkcije imuniteta, nepravilnog rukovanja epruvetama za prikupljanje uzorka krvi nakon venske punkture, nepravilne performanse ispitivanja ili drugih imunologičkih promenljivih.
- Pozitivan QFT-Plus rezultat ne bi trebalo da bude jedina ili definitivna osnova za utvrđivanje *M. tuberculosis* infekcije. Netačne performanse ispitivanja mogu da dovedu do lažno pozitivnih odgovora.
- Nakon pozitivnog QFT-Plus rezultata, trebalo bi nastaviti sa daljom medicinskom procenom i dijagnostikom za aktivnu tuberkulozu (npr. AFB razmaz i kultura, rendgenski snimak grudi).
- Iako se ESAT-6 i CFP-10 ne nalaze u BCG vrstama niti u najpoznatijim mikobakterijama koje ne izazivaju tuberkulozu, pozitivan QFT-Plus rezultat može da se pojavi usled infekcije bakterijom *M. kansasii*, *M. szulgai* ili *M. marinum*. Ako se sumnja na takve infekcije, trebalo bi obaviti i druge testove.

Mere opreza

Kada radite sa hemikalijama, uvek nosite odgovarajući laboratorijski mantil, rukavice za jednokratnu upotrebu i zaštitne naočare. Više informacija potražite u odgovarajućim listovima sa bezbednosnim podacima (safety data sheets, SDSs). Dostupni su na mreži u praktičnom i kompaktnom PDF formatu na adresi www.qiagen.com/safety, na kojoj možete da pronađete, pogledate i odštampate SDS-ove za svaki QIAGEN komplet i komponentu kompleta.



OPREZ: Rukujte humanom krvlju i plazmom kao da su potencijalno zarazne. Obratite pažnju na važne smernice za rukovanje krvlju i proizvodima za krv. Odložite uzorke i materijale koji su došli u kontakt sa krvlju ili sa proizvodima za krv u skladu sa državnim i lokalnim zakonima.

Sledeće izjave o opasnostima i merama opreza se odnose na komponente QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA.

Izjave o opasnosti



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

Sadrži sumpornu kiselinu. Upozorenje! Dovodi do korozije metala. Dovodi do iritacije kože. Dovodi do ozbiljne iritacije kože. Nosite zaštitne rukavice/zaštitnu odeću/zaštitu za oči i zaštitu za lice.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Upozorenje! Dovodi do blage iritacije kože. Nosite zaštitne rukavice/zaštitnu odeću/zaštitu za oči i zaštitu za lice.



QuantiFERON Green Diluent

Sadrži: trisodijum 5-hidroksi-1-(4-sulfofenil)-4-(4-sulfofenilazo)pirazol-3-karboksilat. Sadrži: tartrazin. Upozorenje! Može da dovede do alergijske reakcije na koži. Nosite zaštitne rukavice/zaštitnu odeću/zaštitu za oči i zaštitu za lice.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Sadrži: mešavinu 5-hloro-2-metil-4-izotiazolin-3-on i 2-metil-2H-izotiazol-3-on (3:1). Štetno po vodene organizme sa dugoročnim posledicama. Izbegavajte ispuštanje u okruženje.

Mere opreza

Nabavite posebna uputstva pre upotrebe. Nosite zaštitne rukavice/zaštitnu odeću/zaštitu za oči i zaštitu za lice. **AKO SE NAĐE NA KOŽI** (ili kosi): Odmah uklonite/skinite svu kontaminiranu odeću. Kožu isperite vodom/istuširajte se. **AKO UĐE U OČI**: Pažljivo ispirajte vodom nekoliko minuta. Uklonite sočiva ako ih nosite i nastavite sa ispiranjem. Ako ste bili izloženi ili mislite da je došlo do toga: Posetite lekara ili zatražite lekarski savet. Odmah pozovite lekara ili CENTAR ZA TROVANJE. Ako dođe do iritacije kože ili osipa: Posetite lekara ili zatražite lekarski savet. Skinite kontaminiranu odeću i operite je pre sledeće upotrebe. Čuvajte zaključano. Odložite sadržaj/kontejner na odobreno mesto za odlaganje otpada.

Dodatne informacije

Listovi sa bezbednosnim podacima: www.qiagen.com/safety

-
- Odstupanja od *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA uputstva za upotrebu* mogu da dovedu do pogrešnih rezultata. Pažljivo pročitajte uputstva pre upotrebe.
 - Nemojte da koristite komplet ako neka od bočica sa reagensima pokazuje znake oštećenja ili curenja pre upotrebe.
 - **Važno:** Pregledajte bočice pre upotrebe. Nemojte da koristite bočice za konjugat ili IFN- γ standard ako na bočicama postoje znaci oštećenja ili ako je oštećen gumeni poklopac. Nemojte da radite sa slomljenim bočicama. Preduzmite odgovarajuće mere opreza prilikom bezbednog odlaganja bočica. **Preporuka:** Za otvaranje bočica za konjugat ili IFN- γ standard koristite klešta za otvaranje bočica da biste smanjili rizik od povrede metalnim poklopcem.
 - Nemojte da mešate ili da koristite trake za mikroploču, IFN- γ standard, zeleni razblaživač ili koncentrovani konjugat od 100x iz različitih QFT-Plus serija kompleta. Drugi reagensi (koncentrovani bafer za ispiranje od 20x, rastvor enzimskog supstrata i enzimski rastvor za zaustavljanje reakcije) mogu da se razmenjuju između kompleta, pod uslovom da su reagensi u okviru svog roka upotrebe i da su zabeleženi detalji o seriji.
 - Neupotrebljene reagense i biološke uzorke odložite na otpad u skladu sa lokalnim, državnim i federalnim zakonskim regulativama.
 - Nemojte da koristite QFT-Plus Blood Collection Tubes ili ELISA komplete nakon isteka roka upotrebe.
 - Uvek se treba pridržavati ispravnih laboratorijskih procedura.
 - Uverite se da je laboratorijska oprema kalibrisana/proverena za upotrebu.

Prikupljanje uzoraka i rukovanje njima

QFT Plus koristi sledeće epruvete za prikupljanje uzoraka krvi:

1. Quantiferon Nil epruvete (sivi poklopac sa belim prstenom)
2. QuantiFERON TB1 epruvete (zeleni poklopac sa belim prstenom)
3. QuantiFERON TB2 epruvete (žuti poklopac sa belim prstenom)
4. QuantiFERON Mitogen epruvete (ljubičasti poklopac sa belim prstenom)
5. QuantiFERON HA Nil epruvete (sivi poklopac sa žutim prstenom)
6. QuantiFERON HA TB1 epruvete (zeleni poklopac sa žutim prstenom)
7. QuantiFERON HA TB2 epruvete (žuti poklopac sa žutim prstenom)
8. QuantiFERON HA Mitogen epruvete (ljubičasti poklopac sa žutim prstenom)

Antigeni su nataloženi u suvom obliku na unutrašnji zid epruveta za prikupljanje uzoraka krvi, tako da je izuzetno bitno da se sadržaj epruvete dobro promeša sa krvlju. Za krv koja je direktno prikupljena u QFT-Plus epruvete, QFT-Plus epruvete treba da se čuvaju i transportuju na sobnoj temperaturi ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) i prenesu u inkubator sa temperaturom od 37 °C u najkraćem mogućem roku, a najkasnije 16 sati nakon prikupljanja. Druga mogućnost je da krv prikupite u jednu epruvetu koja sadrži litijum heparin ili natrijum heparin kao antikoagulant za čuvanje pre prebacivanja u QFT-Plus i inkubacije. Uzorci krvi prikupljeni u epruvetu sa litijum heparinom ili natrijum heparinom mogu se čuvati do 16 sati na sobnoj temperaturi ($17 - 25\text{ °C}$) nakon čega ih treba prebaciti u QFT-Plus epruvete. Uzorci krvi u epruvetama sa litijum heparinom ili natrijum heparinom se takođe mogu čuvati na temperaturi od $2 - 8\text{ °C}$ do 48 sati pre prebacivanja u QFT-Plus epruvete. Pogledajte odeljak „Prikupljanje krvi u jednu epruvetu sa litijum heparinom ili natrijum heparinom i prebacivanje u QFT-Plus Blood Collection Tubes“.

Direktno prikupljanje u QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Ispravno obeležite epruvete.

Uverite se da svaka epruveta (Nil, TB1, TB2 i Mitogen) posle skidanja poklopca može da se identifikuje na osnovu nalepnice ili na neki drugi način.

Preporučuje se da zabeležite vreme i datum prikupljanja krvi.

2. Za svakog pacijenta prikupite 1 ml venske krvi direktno u svaku QFT-Plus Blood Collection Tubes. Ovaj postupak bi trebalo da obavlja obučeni tehničar.

Važna napomena: U trenutku punjenja temperatura epruveta bi trebalo da bude od 17 °C do 25 °C.

Standardne QFT-Plus Blood Collection Tubes mogu da se koriste na nadmorskim visinama od najviše 810 metara iznad nivoa mora. High Altitude QFT-Plus Blood Collection Tubes mogu da se koriste na visinama između 1020 i 1875 metara iznad nivoa mora.

Pošto epruvete od 1 ml relativno sporo prikupljaju krv, zadržite epruvetu na igli oko 2–3 sekunde nakon što se punjenje naizgled završi. Tako se omogućava prikupljanje tačne količine.

- Crna oznaka sa strane epruveta ukazuje potvrđen opseg od 0,8 do 1,2 ml. Ako je nivo krvi u nekoj od epruveta van opsega oznake na indikatoru, potrebno je pribaviti nov uzorak krvi. Ako su epruvete nedovoljno popunjene ili prepunjene izvan opsega od 0,8 do 1,2 ml, to može da dovede do pogrešnih rezultata.
- Ako se krv prikuplja pomoću leptir igle, morate da koristite epruvetu za „pročišćavanje“ kako biste se uverili da je cev puna krvi pre upotrebe QFT-Plus epruveta.
- Ako koristite QFT-Plus Blood Collection Tubes na nadmorskoj visini koja je veća od 810 metara, a zapremina prilikom prikupljanja krvi bude mala, korisnici mogu da prikupe krv pomoću šprica i da odmah prebace po 1 ml krvi u svaku od 4 epruvete. Iz bezbednosnih razloga, najbolji način za to je da se skine igla sa šprica uz praćenje odgovarajućih bezbednosnih procedura, da se skinu poklopci sa 4 QFT-Plus epruveta i da se doda po 1 ml krvi u svaku (do centra

crne oznake na bočnoj strani nalepnice na epruveti). Vratite poklopce i čvrsto ih zatvorite, a zatim promešajte kao što je opisano u nastavku. Uverite se da svaka epruveta (Nil, TB1, TB2 i Mitogen) posle skidanja poklopca može da se identifikuje na osnovu nalepnice ili na neki drugi način.

3. Odmah nakon popunjavanja epruveta, protresite ih deset (10) puta dovoljno jako da se uverite da je cela unutrašnja površina epruvete prekrivena krvlju. Ovo će rastvoriti antigene na zidovima epruvete.

Važna napomena: U trenutku protresanja temperatura epruveta bi trebalo da bude od 17 °C do 25 °C. Ukoliko epruvetu tresete previše snažno, to može da dovede do razlaganja gela i dobijanja netačnih rezultata.

4. Nakon označavanja, punjenja i mešanja, epruvete moraju da se prenesu u inkubator sa temperaturom od 37 °C ± 1 °C u najkraćem mogućem roku, a najkasnije 16 sati nakon prikupljanja uzorka. Pre inkubacije, držite i transportujte epruvete na sobnoj temperaturi (22 °C ± 5 °C). Ako se QFT-Plus epruvete ne inkubiraju na 37 °C direktno nakon prikupljanja krvi i mešanja, okrenite epruvete 10 puta za mešanje pre inkubacije na 37 °C.
5. Inkubirajte QFT-Plus epruvete u USPRAVNOM položaju, na temperaturi od 37 °C ± 1 °C, u trajanju od 16 do 24 sata. Inkubator ne zahteva CO₂ ili vlaženje.

Prikupljanje krvi u jednu epruvetu sa litijum heparinom ili natrijum heparinom i prebacivanje u QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Krv može da se prikupi u jednu epruvetu za prikupljanje uzoraka krvi koja sadrži litijum heparin ili natrijum heparin kao antikoagulant a zatim da je prebacite u QFT-Plus Blood Collection Tubes. Koristite samo litijum heparin ili natrijum heparin kao antikoagulant za krv jer drugi antikoagulanti ometaju ispitivanje. Ispravno obeležite epruvete.

Preporučuje se da obeležite epruvetu sa vremenom i datum prikupljanja krvi.

Važno: Epruvete za prikupljanje uzoraka krvi bi trebalo da budu na sobnoj temperaturi (17 – 25 °C) u vreme prikupljanja krvi.

2. Epruvetu za prikupljanje uzoraka krvi sa litijum heparinom ili natrijum heparinom (minimalna zapremina 5 ml) napunite i lagano promešajte tako što ćete okrenuti epruvetu nekoliko puta da bi se rastvorio heparin. Ovaj postupak bi trebalo da obavlja obučeni tehničar.
3. Trajanje i temperatura čuvanja za epruvete sa litijum heparinom ili natrijum heparinom pre prebacivanja i inkubacije u QFT-Plus Blood Collection Tubes (pogledajte Slike 1 – 3 Opcije za prikupljanje krvi).

Opcija 1 – Čuvanje epruvete sa litijum heparinom ili natrijum heparinom na sobnoj temperaturi i rukovanje

Krv prikupljena u epruvetu sa litijum heparinom ili natrijum heparinom treba da se čuva na sobnoj temperaturi ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) najviše 16 sati od prikupljanja uzorka pre prebacivanja u QFT Plus Blood Collection Tubes i naknadne inkubacije.

Opcija 2 – Čuvanje epruvete sa litijum heparinom ili natrijum heparinom u frižideru i rukovanje

Važno: Proceduralni koraci a – d moraju se slediti u sekvenci.

- a. Krv prikupljena u epruvetu sa litijum heparinom ili natrijum heparinom može se čuvati na sobnoj temperaturi ($17 - 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) do 3 sata nakon prikupljanja.
- b. Krv prikupljena u epruvetu sa litijum heparinom ili natrijum heparinom može se čuvati u frižideru ($2 - 8\text{ }^{\circ}\text{C}$) do 48 sati.
- c. Nakon čuvanja u frižideru, epruveta sa litijum heparinom ili natrijum heparinom mora se kalibrisati na sobnu temperaturu ($17 - 25\text{ }^{\circ}\text{C}$) pre prebacivanja u QFT-Plus Blood Collection Tubes.
- d. Alikvotirane QFT-Plus Blood Collection Tubes moraju se staviti u inkubator na $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ u roku od 2 sata od prebacivanja krvi.

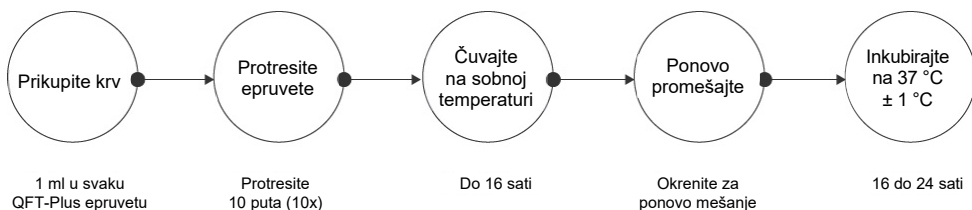
Ako se QFT-Plus Blood Collection Tubes ne inkubiraju na $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ direktno nakon prebacivanja u QFT-Plus Blood Collection Tubes i mešanja, okrenite epruvete 10 puta za mešanje pre inkubacije na $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Ukupno vreme od prikupljanja krvi do inkubacije u QFT-Plus Blood Collection Tubes ne sme da pređe 53 sata.

4. Prebacite uzorak krvi iz epruvete sa litijum heparinom ili natrijum heparinom u QFT-Plus Blood Collection Tubes:
 - a. Ispravno obeležite svaku QFT-Plus Blood Collection Tube.

Uverite se da svaka epruveta (Nil, TB1, TB2 i Mitogen) posle skidanja poklopca može da se identifikuje na osnovu nalepnice ili na neki drugi način. Preporučuje se da se zabeleženo vreme i datum prikupljanja krvi prenese sa epruveta sa litijum heparinom ili natrijum heparinom na QFT-Plus Blood Collection Tubes.
 - b. Uzorci se moraju ravnomerno promešati blagim okretanjem pre raspoređivanja u QFT-Plus Blood Collection Tubes.
 - c. Raspoređivanje se najbolje obavlja aseptično, prateći odgovarajuće bezbednosne procedure, skidanjem poklopca sa 4 QFT-Plus Blood Collection Tubes i dodavanjem po 1 ml krvi u svaku epruvetu. Vratite poklopce epruveta i čvrsto ih zatvorite, a zatim promešajte kao što je opisano u nastavku. Uverite se da svaka epruveta (Nil, TB1, TB2 i Mitogen) posle skidanja poklopca može da se identifikuje na osnovu nalepnice ili na neki drugi način.
5. Promešajte epruvete. Odmah nakon popunjavanja QFT-Plus Blood Collection Tubes, protresite ih deset (10) puta dovoljno jako da se uverite da je cela unutrašnja površina epruvete prekrivena krvlju. Ovo će rastvoriti antigene na zidovima epruvete.

Ukoliko epruvetu tresete previše snažno, to može da dovede do razlaganja gela i dobijanja netačnih rezultata.
6. Nakon označavanja, punjenja i mešanja, epruvete moraju da se prenesu u inkubator sa temperaturom od $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ u roku od 2 sata. Ako se QFT-Plus Blood Collection Tubes ne inkubiraju na 37 °C direktno nakon prikupljanja krvi i mešanja, okrenite epruvete 10 puta (10x) za mešanje pre inkubacija na 37 °C . (Pogledajte Slike 1 – 3 na sledećoj strani za opcije za prikupljanje krvi).
7. Inkubirajte QFT-Plus Blood Collection Tubes u USPRAVNOM položaju, na temperaturi od $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$, u trajanju od 16 do 24 sata. Inkubator ne zahteva CO₂ ili vlaženje.

Prikupite krv u QFT-Plus Blood Collection Tubes i čuvajte ih na sobnoj temperaturi.



Slika 1. Opcija za prikupljanje krvi: Direktno prikupite u QFT-Plus Blood Collection Tubes i čuvajte na sobnoj temperaturi.

Ukupno vreme od prikupljanja krvi u QFT-Plus Blood Collection Tubes do inkubacije na 37 °C ne sme da pređe 16 sati.

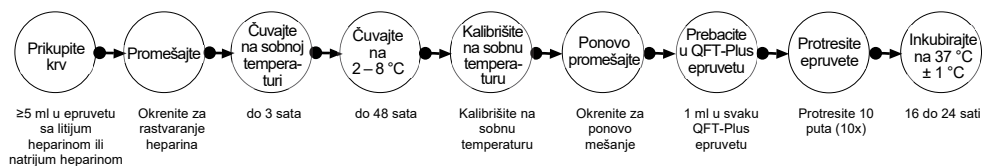
Prikupite krv u epruvetu sa litijum heparinom ili natrijum heparinom i čuvajte je na sobnoj temperaturi.



Slika 2. Opcija za prikupljanje krvi: Prikupite krv u epruvetu sa litijum heparinom ili natrijum heparinom i čuvajte je na sobnoj temperaturi.

Ukupno vreme od prikupljanja krvi u epruvetu sa litijum heparinom ili natrijum heparinom do inkubacije na 37 °C ne sme da pređe 16 sati.

Prikupite krv u epruvete sa litijum heparinom ili natrijum heparinom i čuvajte ih na 2 – 8 °C.



Slika 3. Opcija za prikupljanje krvi: Prikupite krv u epruvetu sa litijum heparinom ili natrijum heparinom i čuvajte je na 2 – 8 °C.

Ukupno vreme od prikupljanja krvi u epruvetu sa litijum heparinom ili natrijum heparinom do inkubacije na 37 °C ne sme da pređe 53 sata.

Uputstva za upotrebu

Faza 1 – Inkubacija krvi i prikupljanje plazme

Obezbeđeni materijal

- QFT-Plus Blood Collection Tubes (pogledajte odeljak 3)

Potreban materijal (koji se ne isporučuje)

- Pogledajte odeljak 3

Procedura

1. **Ako se krv ne inkubira odmah posle prikupljanja, neposredno pre inkubacije sadržaj epruveta se mora ponovo promešati okretanjem epruveta 10 puta.**
2. **Inkubirajte epruvete u USPRAVNOM položaju, na temperaturi od 37 °C ± 1 °C, u trajanju od 16 do 24 sata. Inkubator ne zahteva CO₂ ili vlaženje.**
3. **Nakon inkubacije na temperaturi od 37 °C, epruvete za prikupljanje uzoraka krvi mogu da se čuvaju na temperaturi od 4 °C do 27 °C najviše 3 dana pre centrifugiranja.**
4. **Nakon inkubacije epruveta na temperaturi od 37 °C, prikupljanje plazme se olakšava centrifugiranjem epruvete u trajanju od 15 minuta na 2000 do 3000 x RCF (g). Sloj gela će odvojiti ćelije od plazme. Ukoliko se to ne desi, epruvete je potrebno ponovo centrifugirati.**

Plazma može da se prikupi i bez centrifugiranja, ali je potreban dodatni oprez da bi se plazma uklonila bez remećenja ćelija.

5. **Uzorke plazme prikupljajte isključivo pomoću pipete.**

Važna napomena: Nakon centrifugiranja nemojte da pomerate pipetu gore-dole prilikom korišćenja niti da mešate plazmu na bilo koji način pre prikupljanja. U svakom trenutku pazite da ne oštetite materijal na površini gela.

Uzorci plazme mogu da se ubace direktno iz centrifugiranih epruveta za prikupljanje uzoraka krvi u QFT-Plus ELISA ploču, čak i kada se koriste automatizovane ELISA radne stanice.

Uzorci plazme mogu da se čuvaju do 28 dana na temperaturi od 2 °C do 8 °C ili, ako su prikupljeni, ispod -20 °C duži vremenski period.

Da biste dobili valjane uzorke za testiranje, prikupite najmanje 150 µl plazme.

Faza 2 – IFN- γ ELISA

Obezbeđeni materijal

- QFT-Plus ELISA komplet (pogledajte odeljak 3)

Potreban materijal koji se ne isporučuje

- Pogledajte odeljak 3.

Procedura

- 1. Svi uzorci plazme i reagensi, osim koncentrovanog konjugata od 100x, moraju postići sobnu temperaturu (22 °C \pm 5 °C) pre korišćenja. Planirajte najmanje 60 minuta za nivelisanje temperature.**
- 2. Iz okvira uklonite suvišne trake, vratite ih u foliju, a zatim ih čuvajte u frižideru dok ne budu potrebne.**

Obezbedite najmanje 1 traku za QFT-Plus standarde i dovoljno traka za broj testiranih pacijenata (pogledajte Slika 5). Nakon korišćenja, sačuvajte okvir za preostale trake.
- 3. Rekonstituišite IFN- γ standard pomoću određene količine dejonizovane ili destilovane vode navedene na etiketi bočice. Mešajte lagano da biste smanjili stvaranje pene i uverite se da je u potpunosti rastopljen. Rekonstitucija standarda na navedeni volumen proizvodi rastvor sa koncentracijom od 8,0 IU/ml.**

Važna napomena: Rekonstitucija volumena standarda iz kompleta razlikovaće se između verzija.

Koristite rekonstituisani standard iz kompleta da biste proizveli rastvor 1 prema 2, a nakon toga seriju rastvora 1 prema 4 za IFN- γ u zelenom razblaživaču (Green Diluent, GD) (pogledajte Slika 4). S1 (Standard 1) sadrži 4,0 IU/ml, S2 (Standard 2) sadrži 1,0 IU/ml, S3 (Standard 3) sadrži 0,25 IU/ml i S4 (Standard 4) sadrži 0 IU/ml (samo GD). Standardi moraju da se analiziraju najmanje u dva primerka. Pripremite sveže rastvore standarda iz kompleta za svaku ELISA sesiju.

Preporučena procedura za standarde u dva primerka

Označite 4 epruvete „S1“, „S2“, „S3“, „S4“.

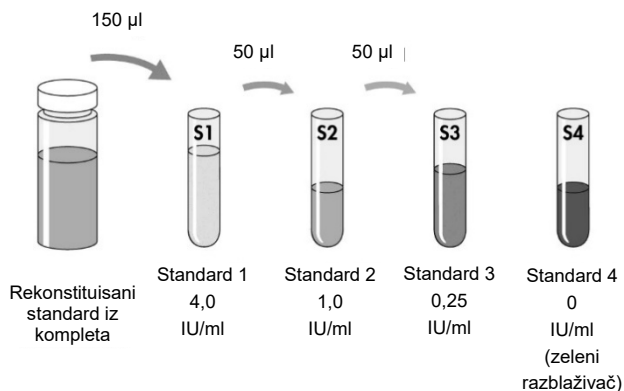
Dodajte **150 μ l** GD u S1, S2, S3, S4.

Dodajte **150 μ l** standarda iz kompleta u S1 i dobro promešajte.

Preнесите **50 μ l** iz S1 u S2 i dobro promešajte.

Preнесите **50 μ l** iz S2 u S3 i dobro promešajte.

Sam GD služi kao nulti standard (S4).



Slika 4. Priprema krive standarda.

4. **Rekonstituišite liofilizovani koncentrovani konjugat od 100x pomoću 0,3 ml dejonizovane ili destilovane vode. Mešajte lagano da biste smanjili stvaranje pene i uverite se da je konjugat u potpunosti rastopljen.**

Konjugat spreman za upotrebu priprema se razređivanjem potrebne količine rekonstituisanog koncentrovanog konjugata od 100x u zelenom razblaživaču (Tabela 1. Priprema konjugata). Vratite sav neiskorišćen koncentrovani konjugat od 100x na temperaturu od 2 °C do 8 °C odmah nakon upotrebe. Koristite samo zeleni razblaživač.

Tabela 1. Priprema konjugata

Broj traka	Zapremina koncentrovanog konjugata od 100x	Zapremina zelenog razblaživača
2	10 µl	1,0 ml
3	15 µl	1,5 ml
4	20 µl	2,0 ml
5	25 µl	2,5 ml
6	30 µl	3,0 ml
7	35 µl	3,5 ml
8	40 µl	4,0 ml
9	45 µl	4,5 ml
10	50 µl	5,0 ml
11	55 µl	5,5 ml
12	60 µl	6,0 ml

5. **Za uzorke plazme prikupljene iz epruveta za uzimanje uzoraka krvi koji se naknadno skladište (u frižideru ili se zamrzavaju), promešajte uzorke pre dodavanja u ELISA udubljenje.**

Važna napomena: Ako se uzorci plazme dodaju direktno iz centrifugiranih QFT-Plus epruveta, izbegavajte bilo kakvo mešanje plazme. U svakom trenutku pazite da ne oštetite materijal na površini gela.

6. **Dodajte 50 µl sveže pripremljenog konjugata spremnog za upotrebu u odgovarajuća ELISA udubljenja pomoću višekanalne pipete.**

7. Dodajte 50 µl uzoraka plazme za testiranje u odgovarajuća udubljenja pomoću višekanalne pipete (pogledajte preporučeni izgled ploče na Slika 5). Na kraju, dodajte po 50 µl standarda od 1 do 4.

	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

Slika 5. Preporučeni raspored uzoraka (22 testa po ploči)

S1 (Standard 1), S2 (Standard 2), S3 (Standard 3), S4 (Standard 4)

1 N (uzorak 1. Nil plazma), 1 TB1 (uzorak 1. TB1 plazma), 1 TB2 (uzorak 1. TB2 plazma), 1 M (uzorak 1. Mitogen plazma)

8. Stavite poklopac preko svake ploče i temeljno pomešajte rastvor i uzorke plazme/standarde korišćenjem šejkera za mikroploče tokom 1 minuta. Izbegavajte prskanje.
9. Stavite poklopac preko svake ploče i inkubirajte na sobnoj temperaturi ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) u trajanju od 120 ± 5 minuta.
10. Tokom inkubacije, razblažite jedan deo koncentrovanog pufera za ispiranje od 20x sa 19 delova dejonizovane ili destilovane vode i dobro promešajte. Obezbeđeno je dovoljno koncentrovanog pufera za ispiranje od 20x za pripremu 2 litra pufera za ispiranje spremnog za upotrebu.

Ispirajte udubljenja sa 400 µl pufera za ispiranje spremnog za upotrebu u najmanje 6 ciklusa. Preporučuje se upotreba automatskog uređaja za pranje ploče.

Detaljno pranje je veoma važno za učinak ispitivanja. Uverite se da je svako udubljenje u potpunosti ispunjeno puferom za ispiranje do vrha u svakom ciklusu pranja. Preporučuje se potapanje od najmanje 5 sekundi između ciklusa.

Potrebno je da se standardno laboratorijsko sredstvo za dezinfekciju doda u odvodni rezervoar i da se prate procedure za dekontaminaciju potencijalno zaraznog materijala.

11. **Ploče sa udubljenjima okrenite na upijajući ubrus koji ne ostavlja vlakna da biste uklonili ostatke pufera za ispiranje. Dodajte 100 µl rastvora enzimskog supstrata u svako udubljenje, stavite poklopac preko svake ploče i dobro promešajte pomoću šejkera za mikroploče.**
12. **Stavite poklopac preko svake ploče i inkubirajte na sobnoj temperaturi (22 °C ± 5 °C) u trajanju od 30 minuta.**

Ploče ne smeju da se izlažu direktnoj sunčevoj svetlosti tokom inkubacije.

13. **Nakon inkubacije od 30 minuta, dodajte 50 µl enzimskog rastvora za zaustavljanje reakcije u svako udubljenje i promešajte.**
- Enzimski rastvor za zaustavljanje reakcije trebalo bi da se doda u udubljenja istim redosledom i istom brzinom kao i supstrat u koraku 11.

14. **Izmerite optičku gustinu (Optical Density, OD) svakog udubljenja u roku od 5 minuta od dodavanja rastvora za zaustavljanje reakcije pomoću čitača za mikroploče sa filterom od 450 nm i referentnim filterima od 620 nm do 650 nm. Vrednosti OD se koriste za izračunavanje rezultata.**

Izračunavanje i tumačenje testa

QFT Plus Analysis Software se koristi za analizu neobrađenih podataka i izračunavanje rezultata. Dostupan je na adresi www.QuantiFERON.com. Uverite se da se koristi najnovija verzija QFT-Plus Analysis Software.

Ovaj softver obavlja procenu kontrole kvaliteta ispitivanja, generiše krivu standarda i obezbeđuje rezultate testiranja za svakog pacijenta, kao što je detaljno navedeno u odeljku „Tumačenje rezultata“.

Kao alternativno rešenje u odnosu na QFT-Plus Analysis Software, rezultati mogu da se utvrde i korišćenjem sledećeg metoda.

Generisanje krive standarda

(Ako se ne koristi QFT-Plus Analysis Software)

Odredite srednju vrednost OD replikata standarda iz kompleta na svakoj ploči.

Konstruišite $\log_{(e)}\text{-}\log_{(e)}$ krivu standarda tako što ćete grafički prikazati $\log_{(e)}$ srednje vrednosti OD (y-osa) u odnosu na $\log_{(e)}$ IFN- γ koncentracije standarda u IU/ml (x-osa), izuzimajući nulti standard iz ovog proračuna. Regresionom analizom izračunajte najbolju liniju krive standarda.

Pomoću krive standarda odredite IFN- γ koncentraciju (IU/ml) za svaki od uzoraka plazme za testiranje, koristeći vrednost OD svakog uzorka.

Ove proračune možete da obavite pomoću softverskih paketa koji su dostupni uz čitače za mikroploču i standardnih unakrsnih tabela ili programa za statistiku (kao što je Microsoft® Excel®). Preporučuje se da se ovi paketi koriste za izračunavanje regresione analize,

koeficijenta varijacije (coefficient of variation, %CV) za standarde i koeficijenta korelacije (r) krive standarda.

Kontrola kvaliteta testa

Tačnost rezultata testa zavisi od pravilnog formiranja krive standarda. Zbog toga je neophodno da se ispitaju rezultati dobijeni iz standarda da bi rezultati testiranja uzoraka mogli da se protumače.

ELISA test je važeći ako su ispunjeni sledeći uslovi:

- Srednja vrednost OD za standard 1 mora da bude $\geq 0,600$.
- %CV za ponovljene vrednosti OD za standard 1 i standard 2 mora da bude $\leq 15\%$.
- Ponovljene vrednosti optičke gustine za standarde 3 i 4 ne smeju da odstupaju za više od 0,040 jedinica optičke gustine od svoje srednje vrednosti.
- Koeficijent korelacije (r) izračunat iz srednjih vrednosti apsorpcije standarda mora da bude $\geq 0,98$.

QFT-Plus Analysis Software izračunava i prijavljuje ove parametre za kontrolu kvaliteta.

Ako gorenavedeni kriterijumi nisu ispunjeni, test nije važeći i mora da se ponovi.

Srednja vrednost OD nultog standarda (zeleni razblaživač) trebalo bi da bude $\leq 0,150$.

Ako je srednja vrednost OD $> 0,150$, mora da se istraži procedura ispiranja ploče.

Tumačenje rezultata

QFT-Plus rezultati se tumače na osnovu sledećih kriterijuma (Tabela 2):

Važna napomena: Dijagnostifikovanje ili isključivanje bolesti tuberkuloze, kao i procena mogućnosti LTBI stanja zahteva kombinaciju epidemioloških, istorijskih, medicinskih i dijagnostičkih rezultata koje bi trebalo uzeti u obzir kada se tumače QFT-Plus rezultati.

Tabela 2. Tumačenje QFT-Plus rezultata

Nil (IU/ml)	TB1 minus Nil (IU/ml)	TB2 minus Nil (IU/ml)	Mitogen minus Nil (IU/ml)*	QFT-Plus rezultat	Izveštaj/tumačenje
≤ 8,0	≥ 0,35 i ≥ 25% od Nil vrednosti	Bilo koja vrednost	Bilo koja vrednost	Pozitivno [†]	<i>M. tuberculosis</i> infekcija jeste verovatna
	Bilo koja vrednost	≥ 0,35 i ≥ 25% od Nil vrednosti	≥ 0,5	Negativno	<i>M. tuberculosis</i> infekcija NIJE verovatna
	< 0,35 ili ≥ 0,35 i < 25% od Nil vrednosti	< 0,35 ili ≥ 0,35 i < 25% od Nil vrednosti	< 0,5	Nejasno [‡]	Verovatnoća <i>M. tuberculosis</i> infekcije ne može da se odredi
> 8,0 [§]		Bilo koja vrednost		Nejasno [‡]	Verovatnoća <i>M. tuberculosis</i> infekcije ne može da se odredi

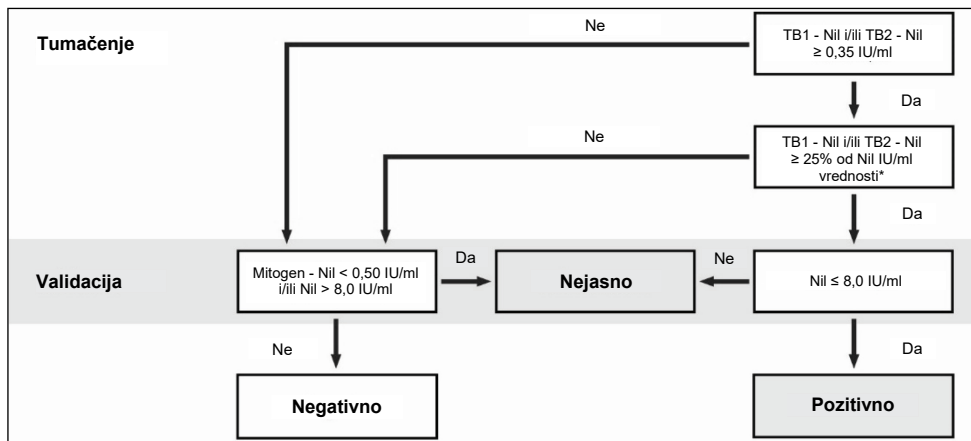
* Odgovori na Mitogen pozitivnu kontrolu (i povremeno TB antigeni) mogu da budu izvan opsega čitača mikroploče. Ovo nema uticaja na rezultate testa. Vrednosti > 10 IU/ml softver QFT-Plus prijavljuje kao > 10 IU/ml.

[†] U slučajevima u kojima ne postoji sumnja na *M. tuberculosis* infekciju, prvobitno pozitivni rezultati mogu da se potvrde ako se ponovo testiraju originalni uzorci plazme u duplom QFT-Plus ELISA testu. Ako je ponovljeno testiranje jednog ili oba replikata pozitivno, smatra se da osoba ima pozitivan rezultat testa.

[‡] Pogledajte odeljak „Rešavanje problema“ da biste saznali moguće uzroke.

[§] U kliničkim studijama, manje od 0,25% pacijenata imalo je nivoe IFN- γ u vrednosti od > 8,0 IU/ml za Nil vrednost.

Magnituda izmerenog nivoa IFN- γ ne može da se poveže sa stadijumom ili stepenom infekcije, nivoom imunološkog odgovora ili mogućnosti napredovanja ka aktivnoj bolesti. Pozitivan TB rezultat kod osoba koje su negativne na Mitogen je redak, ali je viđen kod pacijenata sa TB zarazom. Ovo pokazuje da je IFN- γ odgovor na TB antigen veći od odgovora na Mitogen, što je moguće jer Mitogen nivo ne stimuliše maksimalno proizvodnju IFN- γ od strane limfocita.



* Da bi vrednosti TB1 minus Nil ili TB2 minus Nil bile važeće, iznos $\geq 25\%$ za Nil IU/ml vrednost mora da bude iz iste epruvete kao i originalni rezultat $\geq 0,35$ IU/ml.

Slika 6. Grafikon za tumačenje QFT-Plus testa

Ograničenja

Rezultati QFT-Plus testiranja moraju da se koriste u kombinaciji sa epidemiologijom svakog pojedinca, trenutnim medicinskim statusom i drugim dijagnostičkim procenama.

Osobe sa Nil vrednostima većim od 8,0 IU/ml se klasifikuju kao „nejasne“ zato što 25% veći odgovor na TB antigene može da bude izvan opsega merenja ispitivanja.

Nepouzdana ili nejasni rezultati mogu da se pojave u sledećim slučajevima:

- Odstupanja od procedure opisane u uputstvu za upotrebu
- Previsoki nivo cirkulacije IFN- γ ili prisustvo heterofilnih antitela
- Od prikupljanja uzoraka krvi do inkubacije na 37 °C proteklo je više od 16 sati. Ovo nije primenljivo ako koristite epruvetu sa litijum heparinom ili natrijum heparinom za prikupljanje krvi na 2 – 8 °C.

Karakteristike učinka

Kliničke studije

Pošto ne postoji definitivni standardni test za LTBI, procena osetljivosti i specifičnosti za QFT-Plus ne može praktično da se proceni. Specifičnost testa QFT-Plus je približno određena na osnovu procene stope lažno pozitivnih stopa kod osoba sa niskim rizikom (bez poznatih faktora rizika) od infekcije tuberkulozom. Osetljivost je približno određena procenom grupe pacijenata sa aktivnom TB zarazom kod kojih je potvrđena kultura.

Specifičnost

Obavljena je studija koja procenjuje specifičnost testa QFT-Plus kod 409 subjekata. Demografski podaci i faktori rizika za izloženost TB-u određeni su pomoću standardne ankete u vreme testiranja.

U rezimiranim rezultatima dobijenim od 2 grupe pacijenata sa malim rizikom (bez poznatih faktora rizika) od infekcije tuberkulozom, ukupna specifičnost QFT-Plus testa iznosila je 97,6% (399/409) (Tabela 3 i Tabela 4).

Tabela 3. Rezultati studije specifičnosti testa QFT-Plus prema lokaciji studije

Studija	Pozitivno	Negativno	Nejasno	Specifičnost (95% CI)
Japan	4	203	0	98% (95 – 100%)
Australija	6	196	0	97% (94 – 99%)

Tabela 4. Rezultati studije specifičnosti testa QFT-Plus prema epruveti sa TB antigenom

Studija	TB1	TB2	QFT-Plus
Pozitivno	5	10	10
Negativno	404	399	399
Nejasno	0	0	0
Specifičnost (95% CI)	98,8% (97,2 – 99,6)	97,6% (95,6 – 98,8)	97,6% (95,6 – 98,8)

Osetljivost za aktivni TB

Iako ne postoji određeni standardni test za LTBI, odgovarajući surogat je mikrobiološka kultura bakterije *M. tuberculosis*, zato što su oboleli pacijenti prema definiciji već zaraženi. Osobe za koje je postojala sumnja na TB na 4 lokacije studije u Australiji i Japanu, a za koje je kasnije potvrđeno da imaju *M. tuberculosis* infekciju na osnovu kulture, testirani su kako bi se procenila osetljivost QFT-Plus (Tabela 5 i Tabela 6). Pacijenti su lečeni manje od 14 dana pre prikupljanja krvi za QFT-Plus testiranje.

U rezimiranim rezultatima dobijenim od 4 grupe pacijenata pozitivnih na *M. tuberculosis* kulturu, ukupna osetljivost QFT-Plus na aktivnu TB zarazu iznosila je 95,3% (164/172). U 4 grupe, 159 pacijenata je bilo pozitivno u obe TB1 i TB2 epruvete, 1 pacijent je bio pozitivan samo u TB1 epruveti, a 4 je bilo pozitivno samo u TB2 epruveti. Ukupno 1,1% (2/174) rezultata bilo je neodređeno. TB2 rezultat je pravilno identifikovao 1 pacijenta sa potvrđenom kulturom koji bi bio neodređen (nizak Mitogen), da se uzimao u obzir samo TB1 rezultat (pogledajte Tabela 5 i Tabela 6).

Tabela 5. Rezultati studije osetljivosti QFT-Plus prema lokaciji studije

Lokacije studije	Pozitivno	Negativno	Nejasno	QFT-Plus osetljivost* (95% CI)
Lokacija 1 u Japanu	36	7	0	84% (69 – 93)
Lokacija 2 u Japanu	53	1	2	98% (90 – 100)
Lokacija 3 u Japanu	54	0	0	100% (93 – 100)
Lokacija u Australiji	21	0	0	100% (84 – 100)

* Osetljivost se zasniva na ukupnom broju važećih testova, isključujući neodređene rezultate.

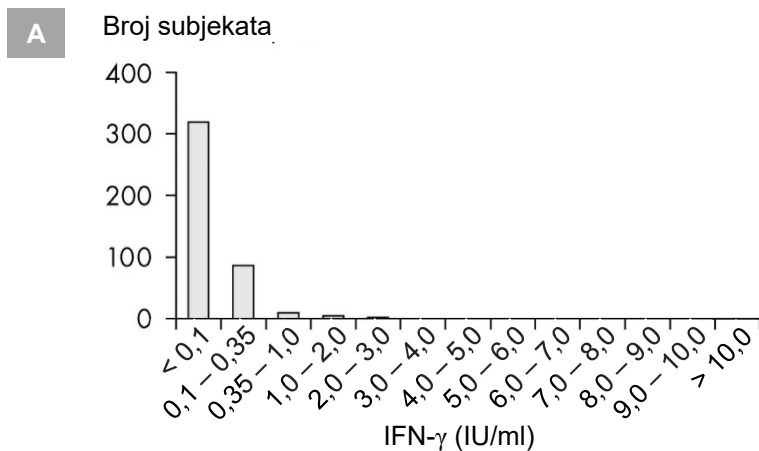
Tabela 6. Rezultati studije osetljivosti QFT-Plus prema epruveti sa TB antigenom

	TB1	TB2	QFT-Plus
Pozitivno	160	163	164
Negativno	11	9	8
Nejasno	3	2	2
Osetljivost [†] (95% CI)	93,6% (88,8 – 96,7)	94,8% (90,3 – 97,6)	95,3% (90,9 – 97,9)

* Osetljivost se zasniva na ukupnom broju važećih testova, isključujući neodređene rezultate.

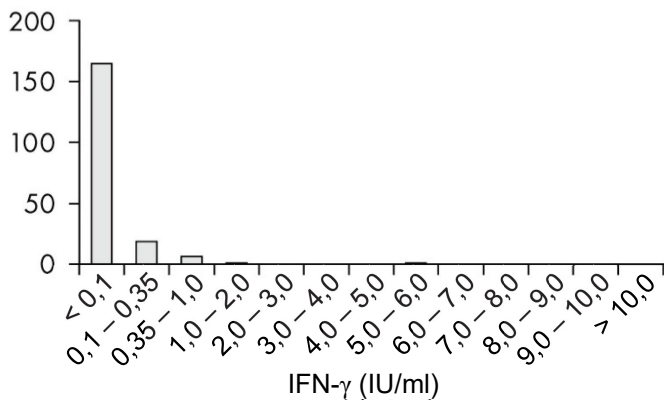
Primećena raspodela odgovora – raslojavanje rizika

Opseg IFN- γ odgovora na TB1, TB2 i kontrolne epruvete posmatran je u kliničkim istraživanjima i raslojavan prema riziku od *M. tuberculosis* infekcije (Slike 7 – 9). Mešana rizična grupa sastoji se od subjekata opšte populacije za testiranje, uključujući subjekte sa ili bez faktora rizika za izloženost TB-u i gde je izloženost TB-u malo verovatna (npr. LTBI).

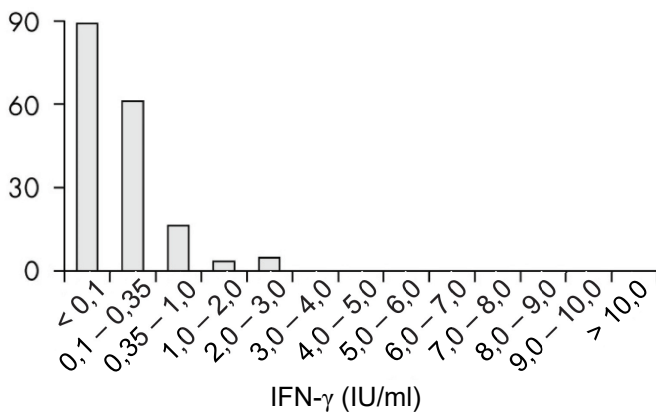


B

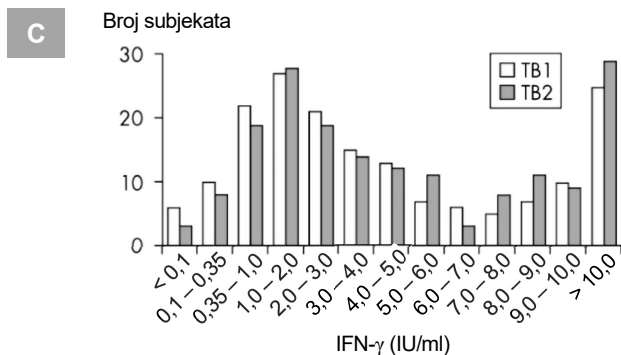
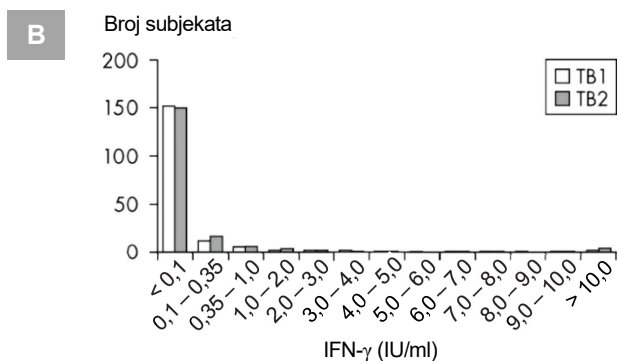
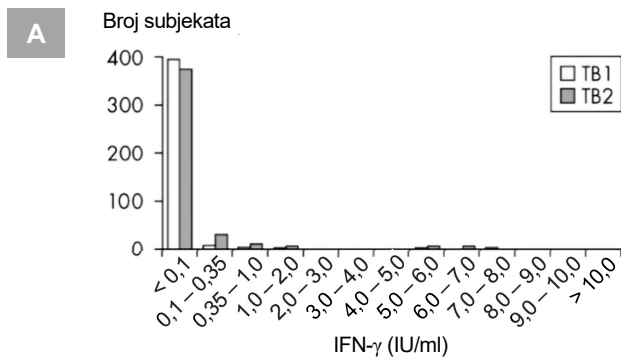
Broj subjekata

**C**

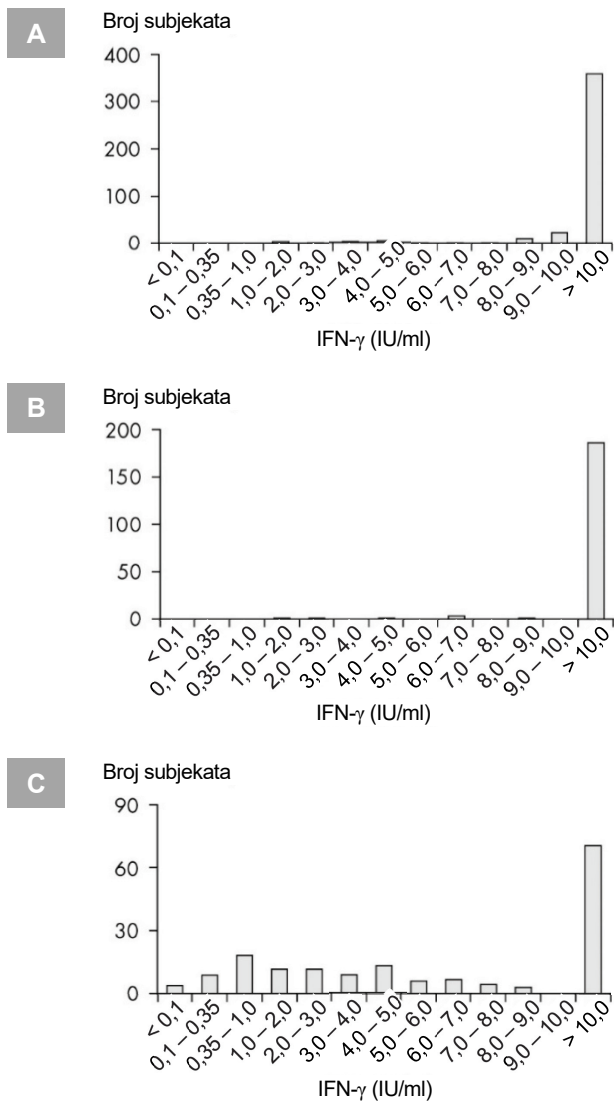
Broj subjekata



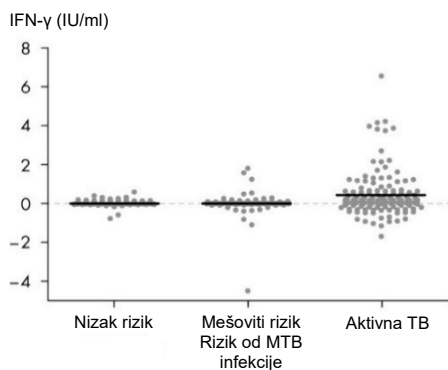
Slika 7. Raspodela Nil vrednosti. **A.** Raspodela Nil vrednosti kod nisko rizične populacije (n = 409). **B.** Raspodela Nil vrednosti kod populacije srednjeg rizika (n = 194). **C.** Raspodela Nil vrednosti kod populacije sa potvrđenom infekcijom kulturom *M. tuberculosis* (n=174).



Slika 8. Raspodela za TB1 i TB2 (nulta vrednost je oduzeta). **A.** Raspodela za TB1 i TB2 (nulta vrednost je oduzeta) vrednosti kod populacije niskog rizika (n = 409). **B.** Raspodela za TB1 i TB2 (nulta vrednost je oduzeta) vrednosti kod populacije srednjeg rizika (n = 194). **C.** Raspodela za TB1 i TB2 (nulta vrednost je oduzeta) vrednosti kod populacije sa potvrdenom infekcijom kulturom *M. tuberculosis* (n = 174).



Slika 9. Raspodela za Mitogen (nulta vrednost je oduzeta). **A.** Raspodela za Mitogen (nulta vrednost je oduzeta) kod nisko rizične populacije (n = 409). **B.** Raspodela za Mitogen (nulta vrednost je oduzeta) kod populacije mešovito rizika (n = 194). **C.** Raspodela za Mitogen (nulta vrednost je oduzeta) kod populacije sa potvrđenom infekcijom kulturom *M. tuberculosis* (n = 169).

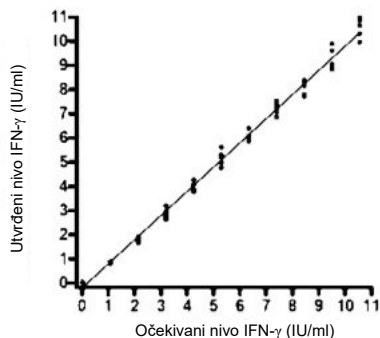


Slika 10. Primećena razlika između TB1 i TB2 vrednosti (nulta vrednost je oduzeta), podeljena prema rizicima. Populacija niskog rizika (n = 409), populacija mešovitog rizika (n = 189), i populacija sa potvrđenom infekcijom kulturom *M. tuberculosis* (n = 141). TB1 vrednosti se oduzimaju od TB2 vrednosti. Subjekti sa vrednostima za TB1 i TB2 > 10,0 IU/ml isključeni su zato što su bili izvan linernog opsega ispitivanja.

Karakteristike učinka ispitivanja

QFT-Plus ELISA test se pokazao kao linearan jer postavlja 5 replikata od 11 uzoraka plazme sa poznatom koncentracijom IFN- γ , nasumično postavljenih na ELISA ploči. Prava linearne regresije ima nagib od $1,002 \pm 0,011$ i koeficijent korelacije od 0,99 (Slika 11).

Ograničenje otkrivanja testa QFT-Plus ELISA je 0,065 IU/ml i ne pokazuje da postoji efekat prozona pri koncentracijama IFN- γ od najviše 10.000 IU/ml.



Slika 11. Profil linearnosti testa QFT-Plus ELISA

Nepreciznost unutar ispitivanja i između ispitivanja (%CV) za QFT-Plus ELISA test procenjena je na osnovu testiranja 20 uzoraka plazme sa promenljivim koncentracijama IFN- γ u 3 replikata, u 3 laboratorije na 3 dana koja nisu uzastopna i od strane 3 operatera. Na taj način, svaki uzorak je testiran 27 puta u 9 nezavisnih ispitivanja. Jedan uzorak je bila nulta kontrola i imao je izračunatu koncentraciju IFN- γ od 0,08 IU/ml (95% CI: 0,07 – 0,09). Na preostalih 19 uzoraka plazme, koncentracije su imale opseg od 0,33 (95% CI: 0,31 – 0,34) do 7,7 IU/ml (95% CI: 7,48 – 7,92).

Nepreciznost unutar obrade ili unutar ispitivanja procenjena je na osnovu proseka %CV za svaku testiranu plazmu sa IFN- γ sa svake obrađene ploče (n = 9) i iznosi od 4,1 do 9,1% CV. Prosek u okviru kovarijanse obrade (\pm 95% CI) iznosio je 6,6% \pm 0,6%. Prosek za nultu IFN- γ plazmu iznosio je 14,1% CV.

Ukupna nepreciznost ili nepreciznost između ispitivanja je određena upoređivanjem 27 izračunatih koncentracija IFN- γ za svaku testnu plazmu. Nepreciznost između ispitivanja bila je u opsegu od 6,6 do 12,3% CV. Ukupan prosečni %CV (\pm 95% CI) iznosio je 8,7 \pm 0,7%. Nulta IFN- γ plazma pokazala je vrednost od 26,1% CV. Ovaj nivo varijacija je očekivan zato što je izračunata koncentracija IFN- γ niska, a varijacije u odnosu na nisku koncentraciju će biti veće nego kada je u pitanju visoka koncentracija.

Sposobnost reprodukcije QFT-Plus testa određena je korišćenjem uzoraka krvi od 102 subjekta sa mešovitim faktorima rizika od *M. tuberculosis* infekcije. Procenjena su tri različita operatera i laboratorijski uslovi.

Ukupno su obavljena 3 dijagnostička posmatranja za svaki subjekat, a ukupno 306 za sve subjekte. Ukupno, dijagnostička reprodukcija iznosila je 99% (95% CI: 97,2 – 99,7), gde je dijagnostički rezultat bio u skladu sa 303 od 306 posmatranja. Rezultati 3 subjekta koji su bili blizu granične vrednosti odgovorni su za varijacije.

Dijagnostifikovanje LTBI-a

Objavljen je veliki broj studija koje pokazuju performanse QFT-a, prethodnika verzije QFT-Plus, kod različite populacije kod koje postoji rizik od infekcije MTB-om. Osnovni rezultati izabranih studija prikazani su u Tabela 7.

Tabela 7. Izabrane objavljene studije u vezi sa QFT-om

Populacija/stanje	Rezultati i otkrića	Ukupan broj obavljenih studija
Pedijatrija	Dokazana učinkovitost kod dece, uključujući decu mlađu od 5 godina (45–46) sa većim stepenom preciznosti od IGRA (8) testa zasnovanog na ELISpot-u. Najveća studija do sada, koja poredi QFT i TST kod dece iz Vijetnama, Filipina i Meksika, podržava korišćenje QFT-a u poređenju sa TST-om, za testiranje dece rođene u inostranstvu na LTBI (46). Istraživanje sa ograničenim kontaktima prikazuje bolje prediktivne vrednosti od TST-a kod dece (47) i 8 puta veći rizik od napretka TB bolesti u roku od dve godine kod QFT pretvarača u poređenju sa ne pretvaračima (48). Neslaganje između rezultata QFT-negativno/TST-pozitivno je veliko kod dece koja su primila BCG vakcinu (46, 49), ali nije imalo uticaja na odgovor na Mitogen kod dece mlađe od 5 godina (49), kao i niske neodređene vrednosti tokom rutinskog skeniranja dece imigranata (46).	152
Trudnoća	U okruženju sa niskim opterećenjem, QFT se dobro pokazao u svakom tromesečju trudnoće, sa rezultatima koje je moguće porediti sa ženama koje nisu u drugom stanju, mnogo je precizniji, podjednako osetljiv i može bolje da predviđi napredak bolesti u odnosu na TST (50). U okruženju sa visokim opterećenjem, QFT je bio stabilniji tokom trudnoće i bliže je određivao pozadinsku LTBI prevalenciju u poređenju sa TST-om, iako su autori zaključili da trudnoća utiče na QFT i TST (51).	6

Nastavak tabelle na sledećoj strani

Tabela 7. Izabrane objavljene studije u vezi sa QFT-om (nastavak)

Populacija/stanje	Rezultati i otkrića	Ukupan broj obavljenih studija
HIV/SIDA	Infekcija virusom HIV-a utiče na IGRA i TST testove, a veliki broj dokaza ukazuje na to da je potrebno preduzeti dodatne mere opreza kada se tumače rezultati kod osoba sa CD4+ brojem < 200 (52). Pokazalo se da na QFT manje utiču IGRA testovi zasnovani na ELISpot-u i TST (53–55). Jedan IGRA test rešava TST problem loših povratnih rezultata kod ove populacije (53).	101
Imunosupresivne terapije	Imunosupresivne terapije manje utiču na QFT nego na TST i u boljem su odnosu sa TB faktorima rizika (23, 27). QFT pokazuje visoku osetljivost kod pacijenata sa reumatskom bolešću (23, 56, 57) i veću specifičnost od TST-a, umanjujući lažno pozitivne rezultate i smanjujući nepotrebno lečenje do kojeg bi došlo sa TST testom (23, 57, 58).	112
Zdravstveni radnici	Pokazalo se da je precizniji sa manje lažno pozitivnih rezultata od TST-a, a i ekonomičniji je od TST testa (59–62). Promenljivost granične vrednosti je očekivani rezultat kod serijskog testiranja, usled dihotomne granične vrednosti i prirodne varijabilnosti biološkog testa (63). Istraživanja su pokazala više stope konverzije/reverzije u odnosu na TST kod serijskog testiranja zdravstvenih radnika niskog rizika (64, 65). US CDC prihvata da blag kriterijum koji definiše IGRA konverziju može da dovede do veće konverzije nego što se prikazuje strožim kvantitativnim kriterijumima TST-a, a strategije ponovnog testiranja su se pokazale kao efikasne tokom upravljanja fenomenom konverzije/revizije (65–68).	111
TB kontakti	Viši PPV i NPV od TST (47) testa; pogodnost jednokratnog testiranja za sve koji verovatno neće moći da ponove testiranje (63), bolja povezanost sa izloženošću (69), što se posebno primećuje kod osoba koje su primile BCG vakcinu i kod populacija iz zemalja u kojima se daje BCG vakcina (70, 71).	89
Transplantacija	Pokazano je da je efikasan kao i TST, ali na njega manje utiče krajnji stadijum bolesti organa, u odnosu na TST (22).	23

Nastavak tabele na sledećoj strani

Tabela 7. Izabrane objavljene studije u vezi sa QFT-om (nastavak)

Populacija/stanje	Rezultati i otkrića	Ukupan broj obavljenih studija
Dijabetes	Neusaglašeni dokazi na osnovu malog broja publikacija, sa ograničenim brojem subjekata. Istraživanje iz oblasti sa malim opterećenjem pokazalo je da QFT osetljivost nije ugrožena dijabetesom kod pacijenata sa TB-om (72). Istraživanje iz Tanzanije, okruženja visokog rizika, pokazalo je negativni uticaj dijabetesa na proizvodnju IFN- γ proteina, ali nije uzelo u obzir i druge faktore kao što su infekcija virusom HIV-a i crvima (73). U istraživanjima u Vijetnamu, za 838 osoba koje su samostalno prijavile da boluju od dijabetesa, sumnjalo se da boluju od TB-a usled veoma visokih vrednosti CXR-a ili je kultura potvrdila da imaju aktivan TB (n = 128), QFT pozitivnost je bila jednaka ili veća od TST graničnih vrednosti od 10 i 15 mm (74).	9
Bubrežna insuficijencija krajnjeg stadijuma	QFT pozitivni rezultati u vezi su sa faktorima rizika za TB, bolje od TST-a i manje su povezani sa BCG-om (75).	45
Migranti	Istraživanja pokazuju da na QFT ne utiče BCG i uzrast, za razliku od TST testa (74). QFT se pokazao kao najekonomičniji metod (76). U okruženjima sa manjim rizikom, većina obolelih od TB-a dolazi iz inostranstva ili do dolazi do reaktivacije latentnog TB-a nakon dolaska (77). Najveća studija do sada, koja poredi QFT i TST kod dece emigranata, podržava korišćenje QFT-a u poređenju sa TST-om, za testiranje dece rođene u inostranstvu na latentnu TB infekciju (46).	29

Tehničke informacije

Nejasni rezultati

Nejasni rezultati ne bi trebalo da budu česti i mogu da budu u vezi sa stanjem imunološkog sistema testiranog pojedinca, ali mogu i da budu u vezi sa nekim tehničkim faktorima, ako se ne poštuju gorenavedena uputstva za upotrebu.

Ako sumnjate da je došlo do tehničkih problema prilikom skladištenja reagenasa, prikupljanja uzoraka krvi ili prilikom rukovanja njima, ponovite ceo QFT-Plus test na novim uzorcima krvi. Može da se obavi ponavljanje ELISA testiranja stimulisanih plazmi ako se sumnja na neodgovarajuće pranje ili na odstupanje od procedure za ELISA test. Nejasni rezultati dobijeni na osnovu niskih vrednosti u Mitogen epruветama ili visokih vrednosti u Nil epruветama, neće se promeniti prilikom ponavljanja, osim u slučaju da je došlo do greške prilikom ELISA testiranja. Nejasne rezultate treba prijaviti takve kakvi jesu. Lekari mogu da odluče da ponovo uzmu uzorak krvi ili da obave druge odgovarajuće procedure.

Zgrušani uzorci plazme

Ako dođe do zgrušavanja plazme fibrinskim vlaknima tokom dugotrajnog skladištenja uzoraka plazme, centrifugirajte uzorke da biste sedimentirali zgrušani materijal i da biste olakšali prikupljanje plazme pipetom.

Vodič za rešavanje problema

Ovaj vodič za rešavanje problema može da bude koristan pri rešavanju svih problema do kojih može doći. Više informacija potražite u tehničkim informacijama navedenim na adresi www.QuantiFERON.com. Kontakt informacije možete pronaći na poslednjoj strani.

Rešavanje problema sa ELISA testom

Pojavljivanje nespecifične boje

Mogući uzrok	Rešenje
a) Nedovršeno pranje ploče	Ploču operite najmanje 6 puta sa 400 μ l po udubljenju koristeći pufer za ispiranje. Možda će biti potrebno više od 6 ciklusa pranja, u zavisnosti od sredstva za čišćenje. Preporučuje se vreme potapanja od najmanje 5 sekundi između ciklusa.
b) Unakrsna kontaminacija ELISA udubljenja	Budite pažljivi kada koristite pipetu i mešate uzorke da biste smanjili rizik.
c) Istekao je rok upotrebe kompleta/komponenti	Uverite se da se komplet upotrebljava pre isteka roka upotrebe. Uverite da su rekonstituisani standard i koncentrovani konjugat od 100x upotrebljeni u roku od tri meseca od datuma rekonstituisanja.
d) Rastvor enzimskog supstrata je kontaminiran	Bacite supstrat ako se pojavi plava boja. Obavezno koristite čiste rezervoare za reagense.
e) Mešanje plazme u QFT-Plus epruветama pre prikupljanja	Nakon centrifugiranja nemojte da pomerate pipetu gore-dole prilikom korišćenja niti da mešate plazmu na bilo koji način pre prikupljanja. U svakom trenutku pazite da ne oštetite materijal na površini gela.

Očitavanje niske optičke gustine za standarde

Mogući uzrok	Rešenje
a) Greška u razređivanju standarda	Uverite se da su rastvori standarda iz kompleta pravilno pripremljeni u skladu sa ovim uputstvima.
b) Greška pri pipetiranju	Uverite se da su pipete kalibrisane i da se koriste u skladu sa uputstvima proizvođača.
c) Temperatura inkubacije je suviše niska	Inkubacija ELISA testova mora da se obavlja na sobnoj temperaturi ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$).
d) Vreme inkubacije je prekratko	Inkubacija ploče sa konjugatom, standardima i uzorcima trebalo bi da traje 120 ± 5 minuta. Rastvor enzimskog supstrata se inkubira na ploči 30 minuta.

Rešavanje problema sa ELISA testom

- | | |
|--|---|
| e) Korišćen je pogrešan filter čitača ploče | Ploča se očitava pri 450 nm sa referentnim filterom između 620 i 650 nm. |
| f) Reagensi su suviše hladni | Svi reagensi, osim koncentrovanog konjugata od 100x, moraju da se dovedu na sobnu temperaturu pre započinjanja ispitivanja. Za to je potreban približno jedan sat. |
| g) Istekao je rok upotrebe kompleta/komponenti | Uverite se da se komplet upotrebljava pre isteka roka upotrebe. Uverite da su rekonstituisani standard i koncentrovani konjugat od 100x upotrebljeni u roku od 3 meseca od datuma rekonstituisanja. |

Visoka pozadina

- | Mogući uzrok | Rešenje |
|--|---|
| a) Nedovršeno pranje ploče | Ploču operite najmanje 6 puta sa 400 µl po udubljenju koristeći pufer za ispiranje. Možda će biti potrebno više od 6 ciklusa pranja, u zavisnosti od sredstva za čišćenje. Preporučuje se vreme potapanja od najmanje 5 sekundi između ciklusa. |
| b) Temperatura inkubacije je suviše visoka | Inkubacija ELISA testova mora da se obavlja na sobnoj temperaturi (22 °C ± 5 °C). |
| c) Istekao je rok upotrebe kompleta/komponenti | Uverite se da se komplet upotrebljava pre isteka roka upotrebe. Uverite da su rekonstituisani standard i koncentrovani konjugat od 100x upotrebljeni u roku od 3 meseca od datuma rekonstituisanja. |
| d) Rastvor enzimskog supstrata je kontaminiran | Bacite supstrat ako se pojavi plava boja. Obavezno koristite čiste rezervoare za reagense. |

Nelinearna standardna kriva i promenljivost duplikata

- | Mogući uzrok | Rešenje |
|--|---|
| a) Nedovršeno pranje ploče | Ploču operite najmanje 6 puta sa 400 µl po udubljenju koristeći pufer za ispiranje. Možda će biti potrebno više od 6 ciklusa pranja, u zavisnosti od sredstva za čišćenje. Preporučuje se vreme potapanja od najmanje 5 sekundi između ciklusa. |
| b) Greška u razređivanju standarda | Uverite se da su rastvori standarda pravilno pripremljeni u skladu sa ovim uputstvima. |
| c) Nedovoljno mešanje | Dobro promešajte reagense tako što ćete ih okretati ili lagano promešati pre postavljanja na ploču. |
| d) Nedosledna upotreba pipete ili prekid tokom podešavanja ispitivanja | Dodavanje uzorka i standarda trebalo bi da se obavlja bez prekida. Svi reagensi bi trebalo da se pripreme pre započinjanja ispitivanja. |

Informacije o proizvodu i tehnička uputstva možete dobiti besplatno od kompanije QIAGEN, od vašeg prodavca ili ih možete pronaći na lokaciji www.QuantiFERON.com.

Reference

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. Bartalesi, F. et al. (2009) QuantiFERON-TB Gold and TST are both useful for latent TB screening in autoimmune diseases. *Eur. Respir. J.* 33, 586.
4. Bocchino, M. et al. (2008) Performance of two commercial blood IFN-gamma release assays for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in patient candidates for anti-TNF-alpha treatment. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 27,907.
5. Brock, I. et al. (2006) Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the *M. tuberculosis* specific interferon-gamma test. *Respir. Res.* 7, 56.
6. Chun, J.K. et al. (2008) The role of a whole blood interferon gamma assay for the detection of latent tuberculosis infection in bacille Calmette-Guerin vaccinated children. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 62, 389.
7. Connell, T.G. et al. (2008) A three-way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB gold and T-SPOT.TB in children. *PLoS ONE* 3, e2624. doi: 10.1371/journal.pone.0002624.
8. Detjen, A.K. et al. (2007) Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis. *Clin. Infect. Dis.* 45, 322.

-
9. Diel, R. et al. (2009) Comparative performance of tuberculin skin test, QuantiFERON-TB-Gold In-Tube assay, and T-Spot. TB test in contact investigations for tuberculosis. *Chest* 135, 1010.
 10. Diel, R. et al. (2008) Predictive value of a whole-blood IFN- γ assay for the development of active TB disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 177, 1164.
 11. Diel, R. et al. (2006) Tuberculosis contact investigation with a new, specific blood test in a low-incidence population containing a high proportion of BCG-vaccinated persons. *Respir. Res.* 7, 77.
 12. Dogra, S. et al. (2007) Comparison of a whole blood interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. *J. Infect.* 54, 267.
 13. Drobniowski, F. et al. (2007) Rates of latent tuberculosis in health care staff in Russia. *PLoS Med.* 4, e55.
 14. Gerogianni, I. et al. (2008) Whole-blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection in an unselected Greek population. *Respirology* 13, 270.
 15. Harada, N. et al. (2008) Comparison of the sensitivity and specificity of two whole blood interferon-gamma assays for *M. tuberculosis* infection. *J. Infect.* 56, 348.
 16. Higuchi, K. et al. (2009) Comparison of performance in two diagnostic methods for tuberculosis infection. *Med. Microbiol. Immunol.* 198, 33.
 17. Kang, Y.A. et al. (2005) Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. *JAMA* 293, 2756.

-
18. Katiyar, S.K. et al. (2008) Use of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test to monitor treatment efficacy in active pulmonary tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 12, 1146.
 19. Kipfer, B. et al. (2008) Tuberculosis in a Swiss army training camp: contact investigation using an Interferon gamma release assay. *Swiss. Med. Wkly.* 138, 267.
 20. Luetkemeyer, A. et al. (2007) Comparison of an interferon-gamma release assay with tuberculin skin testing in HIV-infected individuals. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 175, 737.
 21. Mackensen, F. et al. (2008) QuantiFERON TB-Gold - A new test strengthening long-suspected tuberculous involvement in serpiginous-like choroiditis. *Am. J. Ophthalmol.* 146, 761.
 22. Manuel, O. et al. (2007) Comparison of Quantiferon-TB Gold with tuberculin skin test for detecting latent tuberculosis infection prior to liver transplantation. *Am. J. Transplant.* 7, 2797.
 23. 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.
 24. Mirtskhulava, V. et al. (2008) Prevalence and risk factors for latent tuberculosis infection among health care workers in Georgia. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 12, 513.
 25. Nakaoka, H. et al. (2006) Risk for tuberculosis among children. *Emerging Infect. Dis.* 12, 1383.
 26. Pai, M. et al. (2005) *Mycobacterium tuberculosis* infection in health care workers in rural India: comparison of a whole-blood, interferon-g assay with tuberculin skin testing. *JAMA* 293, 2746.

-
27. Ponce de Leon, D. et al. (2008) Comparison of an interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for detection of tuberculosis (TB) infection in patients with rheumatoid arthritis in a TB-endemic population. *J Rheumatol.* 35, 776.
 28. Richeldi, L. et al. (2008) Prior tuberculin skin testing does not boost QuantiFERON-TB results in paediatric contacts. *Eur. Respir. J.* 32, 524.
 29. Rothel, J.S. and Andersen, P. (2005) Diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: is the demise of the Mantoux test imminent? *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 3, 981.
 30. Schoepfer, A.M. et al. (2008) Comparison of interferon-gamma release assay versus tuberculin skin test for tuberculosis screening in inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol.* 103, 2799.
 31. Silverman, M.S. et al. (2007) Use of an interferon-gamma based assay to assess bladder cancer patients treated with intravesical BCG and exposed to tuberculosis. *Clin. Biochem.* 40, 913.
 32. 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.
 33. Turner, J. et al. (1996) Stimulation of human peripheral blood mononuclear cells with live *Mycobacterium bovis* BCG activates cytolytic CD8+ T cells in vitro. *Immunology* 87, 339.
 34. Brookes, R.H. et al. (2003) CD8+ T cell-mediated suppression of intracellular *Mycobacterium tuberculosis* growth in activated human macrophages. *Eur. J. Immunol.* 33, 3293.
 35. Stenger, S. et al. (1998) An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science* 282, 121.

-
36. Lalvani, A. et al. (1998) Human cytolytic and interferon gamma-secreting CD8+ T lymphocytes specific for *Mycobacterium tuberculosis*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95, 270.
 37. 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.
 38. Lewinsohn, D.A. et al. (2007) Immunodominant tuberculosis CD8 antigens preferentially restricted by HLA-B. PLoS Pathol. 3, 1240.
 39. 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.
 40. 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.
 41. Nikolova, M. et al. (2013) Antigen-specific CD4- and CD8-positive signatures in different phases of *Mycobacterium tuberculosis* infection. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 75, 277.
 42. Chicchio, T. et al. (2014) Polyfunctional T-cells and effector memory phenotype are associated with active TB in HIV-infected patients. J. Infect. doi: 10.1016/j.jinf.2014.06.009. Epub.
 43. Ongaya, A. et al. (2013) Mycobacterium tuberculosis-specific CD8+ T cell recall in convalescing TB subjects with HIV co-infection. Tuberculosis 93, S60.
 44. 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.

-
45. Long, G., Ji-Chun, M., Min, Jin-Long, L., Jin-Hui, T. (2014) Interferon- γ release assay for the diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in children younger than 5 years: a meta-analysis. Clin. Pediatr. 53, 1255.
 46. Howley, M.M. et al. (2015) Evaluation of QuantiFERON-TB Gold In-Tube and tuberculin skin tests among immigrant children being screened for latent tuberculosis infection. Ped. Infect. Dis. 34, 35.
 47. Diel, R., Loddenkemper, R., Niemann, S., Meywald-Walter, K., and Nienhaus, A. (2011) Negative and positive predictive value of a whole-blood interferon- γ release assay for developing active tuberculosis. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 183, 88.
 48. Machingadaize, S. et al. (2012) Predictive value of recent QuantiFERON conversion for tuberculosis disease in adolescents. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 186, 1051.
 49. Riazi, S. et al. (2012) Rapid diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children using interferon-gamma release assays (IGRAs). Allergy Asthma Proc. 33, 217.
 50. Lighter-Fisher, J. and Surette, A-M. (2012) Performance of an interferon-gamma release assay to diagnose latent tuberculosis infection during pregnancy. Obstet. Gynecol. 119, 1088.
 51. Mathud, J.S. et al. (2014) Pregnancy differentially impacts performance of latent tuberculosis diagnostics in a high-burden setting. PLoS ONE 9, e92308.
 52. Hoffman, M. and Ravn, P. (2010) The use of interferon-gamma release assays in HIV-positive individuals. Eur. Infect. Dis. 4, 23.
 53. Cheallagh, C.N. et al. (2013) Interferon gamma release assays for the diagnosis of latent TB infection in HIV-infected individuals in a low TB burden country. PLoS ONE 8, e53330.














-
54. Ramos, J. M. et al. (2012) Contribution of interferon gamma release assays testing to the diagnosis of latent tuberculosis infection in HIV-infected patients: A comparison of QuantiFERON-TB gold in tube, T-SPOT.TB and tuberculin skin test. *BMC Infect. Dis.* 12, 169.
 55. Wolf, T. et al. (2013) Tuberculosis skin test, but not interferon- γ releasing assays is affected by BCG vaccination in HIV patients. *J. Infect.* 66, 376.
 56. Hsia, E.C. et al. (2012) Interferon- γ release assay versus tuberculin skin test prior to treatment with golimumab, a human anti-tumor necrosis factor antibody, in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, or ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum.* 64, 2068.
 57. Garcovich, S. et al. (2012) Clinical applicability of QuantiFERON-TB-Gold testing in psoriasis patients during long-term anti-TNF-alpha treatment: a prospective, observational study. *J. Eur. Acad. Dermatol. Ven.* 26, 1572.
 58. Kwakernaak, A.J. et al. (2011) A comparison of an interferon-gamma release assay and tuberculin skin test in refractory inflammatory disease patients screened for latent tuberculosis prior to the initiation of a first tumor necrosis factor α inhibitor. *Clin. Rheumatol.* 30, 505.
 59. Vinton, P. et al. (2009) Comparison of QuantiFERON-TB Gold In-Tube test and tuberculin skin test for identification of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in healthcare staff and association between positive test results and known risk factors for infection. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 30, 215.
 60. de Perio, M.A., Tsevat, J., Roselle, G.A., Kralovic, S.M., and Eckman, M.H. (2009) Cost-effectiveness of interferon gamma release assays vs tuberculin skin tests in health care workers. *Arch. Intern. Med.* 169, 179.

-
61. Nienhaus, A. et al. (2008) Evaluation of the interferon- γ release assay in healthcare workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 81, 295.
 62. Nienhaus, A. et al. (2011) Systematic review of cost and cost-effectiveness of different TB-screening strategies. *BMC Health Serv. Res.* 11, 247.
 63. Centers for Disease Control and Prevention (2010) Updated guidelines for using interferon-gamma release assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection — United States, 2010. *MMWR Recomm. Rep.* 59 (RR-5), 1.
 64. Dorman, S.E. et al. (2014) Interferon- γ release assays and tuberculin skin testing for diagnosis of latent tuberculosis infection in healthcare workers in the United States. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 189, 77.
 65. Fong, K.S. et al. (2012) Challenges of interferon-gamma release assay conversions in serial testing of health care workers in a tuberculosis control program. *Chest* 142, 55.
 66. Thanassi, W. et al. (2012) Delineating a retesting zone using receiver operating characteristic analysis on serial QuantiFERON tuberculosis test results in US healthcare workers. *Pulm. Med.* doi: 10.1155/2012/291294. Epub.
 67. Behrman, A. et al. (2013) Protecting Health Care Workers from Tuberculosis, 2013: ACOEM Medical Center Occupational Health Section Task Force on Tuberculosis and Health Care Workers. *J. Occup. Environ. Med.* 55, 985.
 68. Nienhaus, A., Ringshausen, F.C., Costa, J.T, Schablon, A., and Tripodi, D. (2013) IFN- γ release assay versus tuberculin skin test for monitoring TB infection in healthcare workers. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 11, 37.
 69. Arend, S.M. et al. (2007) Comparison of two interferon-gamma assays and tuberculin skin test for tracing TB contact. *Amer. J. Respir. Crit. Care Med.* 175, 618.

-
70. Mandalakas, A.M., Detjen, A.K., Hesselning, A.C., Benedetti, A., and Menzies, D. (2011) Interferon-gamma release assays and childhood tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15, 1018.
 71. Grinsdale, J.A., Ho, C.S., Banouvong, H., Kwamura, L.M. (2011) Programmatic impact of using QuantiFERON-TB Gold in routine contact investigation activities. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15, 1614.
 72. Walsh, M.C. et al. (2011) Sensitivity of interferon- γ release assays is not compromised in tuberculosis patients with diabetes. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15, 179.
 73. Faurholt-Jespén, D. et al. (2014) Diabetes is associated with lower tuberculosis antigen-specific interferon gamma release in Tanzanian tuberculosis patients and non-tuberculosis controls. *Scand. J. Infect. Dis.* 46, 384.
 74. Painter, J.A. et al. (2013) Tuberculosis screening by tuberculosis skin test or QuantiFERON-TB Gold In-Tube Assay among an immigrant population with a high prevalence of tuberculosis and BCG vaccination. *PLoS ONE* 8, e82727.
 75. Rogerson, T.E. et al. (2012) Tests for latent tuberculosis in people with ESRD: a systematic review. *Amer. J. Kidney Dis.* 61, 33.
 76. Pareek, M. et al. (2013) Community-based evaluation of immigrant tuberculosis screening using interferon γ release assays and tuberculin skin testing: observational study and economic analysis. *Thorax.* 68, 230.
 77. CDC, Tuberculosis — United States, 2018.
https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/68/wr/mm6811a2.htm?s_cid=mm6811a2_w
Accessed 22 March 2019.

Simboli

Sledeći simboli mogu da se nalaze na pakovanju i oznakama:

Simbol	Definicija simbola
 2 × 96	Dovoljno za pripremu uzorka 2 × 96
	Zakonski proizvođač
	Simbol CE-IVD oznake
	Za korišćenje u in vitro dijagnostici
	Šifra serije
	Kataloški broj
	Globalni broj trgovinske jedinice
	Rok upotrebe
	Temperaturno ograničenje
	Pogledajte uputstvo za upotrebu
	Nemojte ponovo da koristite
	Držite dalje od sunčeve svetlosti
	Broj materijala
Rn	„R“ označava reviziju uputstva za upotrebu, a „n“ je broj revizije

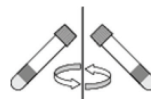
Kontakt informacije

Da biste dobili tehničku pomoć i dodatne informacije, pozovite besplatan broj 00800-22-44-6000, pogledajte naš Centar za tehničku podršku na adresi **www.qiagen.com/contact** ili se obratite jednom od QIAGEN odeljenja za tehničku pomoć (pogledajte poledfinu ili posetite adresu **www.qiagen.com**).

Skraćena procedura testiranja

Faza 1 – Inkubacija krvi

1. Prikupite krv pacijenata u epruvete za prikupljanje krvi i promešajte tako što ćete ih protresti deset (10) puta dovoljno jako da budete sigurni da je cela unutrašnja površina epruvete prekrivena krvlju. Ovo će rastvoriti antigene na zidovima epruvete.
2. Inkubirajte epruvete u uspravnom položaju na $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ u trajanju od 16 do 24 sata.
3. Nakon inkubacije centrifugirajte epruvete tokom 15 minuta pri 2000 do $3000 \times g$ RCF (*g*) da biste razdvojili plazmu i crvena krvna zrnca.
4. Nakon centrifugiranja nemojte da pomerate pipetu gore-dole prilikom korišćenja niti da mešate plazmu na bilo koji način pre prikupljanja. U svakom trenutku pazite da ne oštetite materijal na površini gela.



Faza 2 – IFN- γ ELISA

1. Kalibrišite ELISA komponente, sa izuzetkom koncentrovanog konjugata od 100x, na sobnoj temperaturi ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) u trajanju od najmanje 60 minuta.
2. Rekonstituišite standard iz kompleta na 8,0 IU/ml sa destilovanom ili dejonizovanom vodom. Pripremite četiri (4) rastvora standarda.
3. Rekonstituišite suvo zamrznuti kocentrovani konjugat od 100x sa destilovanom ili dejonizovanom vodom.



4. Pripremite konjugat spreman za upotrebu u zelenom razblaživaču i dodajte 50 µl u sva udubljenja.



5. Dodajte 50 µl uzoraka plazme za testiranje i 50 µl standarda u odgovarajuća udubljenja. Promešajte pomoću šejkera.

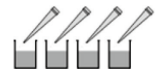
6. Inkubirajte 120 ± 5 minuta na sobnoj temperaturi.



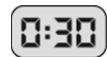
7. Udubljenja operite najmanje 6 puta sa 400 µl po udubljenju koristeći pufer za ispiranje.



8. Dodajte 100 µl rastvora enzimskog supstrata u udubljenja. Promešajte pomoću šejkera.



9. Inkubirajte 30 minuta na sobnoj temperaturi.



10. Dodajte 50 µl rastvora enzimskog supstrata u sva udubljenja. Promešajte pomoću šejkera.



11. Pročitajte rezultate na 450 nm sa referentnim filterom od 620 do 650 nm.



12. Analizirajte rezultate.



Važne promene

Odeljak	Strana	Promene
Više	Više	Dodata su uputstva vezana za upotrebu epruvete sa litijum heparinom ili natrijum heparinom
Više	Više	Dodata su uputstva vezana za radni tok za prikupljanje krvi na 2 – 8 °C
Više	Više	Poklopac ploče je sada potreban materijal koji se ne isporučuje

Istorija revizija priručnika

Dokument	Promene
R6 04/2019	Izmene u vezi sa litijum heparinom/natrijum heparinom Nova uputstva za radni tok za prikupljanje krvi na 2 – 8 °C Poklopci ploče uklonjeni su iz QF poklopaca

Zaštićeni znakovi: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (QIAGEN grupa); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.).

Ugovor o ograničenom licenciranju za QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA

Korišćenje ovog proizvoda označava da je kupac ili korisnik ovog proizvoda saglasan sa sledećim uslovima:

1. Ovaj proizvod sme da se koristi samo u skladu sa protokolima navedenim uz proizvod i u ovom uputstvu i samo sa komponentama koje se nalaze u kompletu. QIAGEN ne odobrava licencu u okviru svoje intelektualne svojine za korišćenje ili kombinovanje isporučenih komponenti sa komponentama koje nisu deo ovog panela, osim kao što je opisano u protokolima navedenim uz proizvod, u ovom uputstvu.
2. Osim izričito navedenih licenci, QIAGEN ne garantuje da ovaj komplet i/ili njegovo korišćenje ne krše prava nezavisnih proizvođača.
3. Ovaj komplet i njegove komponente su licencirani za jednokratnu upotrebu i ne smeju da se ponovo koriste, doraduju ili ponovo prodaju, osim u slučaju da je kompanija QIAGEN drugačije navela.
4. Kompanija QIAGEN posebno se odriče svih drugih licenci, izričitih ili impliciranih, osim onih izričito navedenih.
5. Kupac i korisnik ovog kompleta saglasni su da neće preduzeti i da neće drugim licima dozvoliti da preduzmu korake koji bi mogli da prouzrokuju ili omoguće bilo koje postupke zabranjene u prethodnom tekstu. QIAGEN može da primeni zabrane ovog Ugovora o ograničenoj licenci na bilo kom sudu i povratice sve svoje istražne i sudske troškove, uključujući advokatske troškove, koji su u vezi sa primenom ovog Ugovora o ograničenoj licenci ili prava na intelektualnu svojinu koja se odnose na komplet i/ili njegove komponente.

Da biste videli ažurirane uslove licenciranja, posetite www.qiagen.com.

© 2019 QIAGEN, sva prava zadržana.

www.QuantiFERON.com

Azijsko-pacifički region | techservice-ap@qiagen.com

Evropa | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Bliski istok/Afrika | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Južna Amerika (ne uključujući Brazil ni Meksiko) | techservice-latam@qiagen.com

Napomene

Napomene

