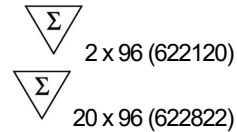


Duben 2019

Příbalový leták QuantiFERON[®]- TB Gold Plus (QFT[®]-Plus) ELISA



Verze 1

IVD

Pro diagnostiku in vitro

Test plné krve IFN- γ ke zjištění odpovědí na peptidové antigeny
ESAT-6 a CFP-10



REF

622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, D-40724 Hilden,
Německo

R6 **MAT**

1083163CS

Sample to Insight



Obsah

Účel použití.....	5
Souhrn a princip testu.....	5
Princip analýzy.....	7
Čas potřebný k provedení analýzy.....	9
Komponenty a skladování.....	10
Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky.....	12
Uchovávání a nakládání se vzorkem.....	13
Zkumavky pro odběr krve.....	13
Činidla soupravy.....	13
Rekonstituovaná a nepoužitá činidla.....	13
Varování a bezpečnostní opatření.....	14
Varování.....	14
Bezpečnostní opatření.....	15
Odběr vzorku a manipulace.....	18
Návod k použití.....	24
Fáze 1 – Inkubace krve a sběr plazmy.....	24
Fáze 2 – IFN- γ ELISA.....	25
Výpočty a interpretace testu.....	30
Vytvoření standardní křivky.....	30
Kontrola kvality testu.....	31

Interpretace výsledků	31
Omezení	34
Výkonostní charakteristiky	35
Klinické studie	35
Funkční vlastnosti analýzy	41
Technické údaje	46
Nejednoznačné výsledky	46
Sražení vzorků plazmy	46
Návod na řešení potíží	47
Literatura	49
Symboly	58
Kontaktní údaje	59
Zkrácený postup testu	60
Fáze 1 – inkubace krve	60
Fáze 2 – IFN- γ ELISA	60
Významné změny	62
Historie revízi příručky	62

Účel použití

Analýza QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) je diagnostický test in vitro s použitím směsi peptidů simulující bílkoviny ESAT-6 a CFP-10 ke stimulaci buněk v heparinizované plné krvi. Detekce interferon- γ (IFN- γ) pomocí analýzy ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) se používá ke zjištění in vitro reakcí na tyto peptidové antigeny, které souvisí s infekcí *Mycobacterium tuberculosis*.

QFT-Plus je nepřímý test infekce bacilem *M. tuberculosis* (včetně onemocnění) a je určen pro použití ve spojení s posouzením rizik, radiografií a dalšími zdravotními a diagnostickými hodnoceními.

Souhrn a princip testu

Tuberkulóza je nakažlivé onemocnění způsobené infekcí mikroorganismy *M. tuberculosis* (MTB) (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*), které se typicky přenáší na nové hostitele vzduchem v podobě kapének šířených od pacientů s tuberkulózou plic. Nově nakažený jedinec může onemocnět tuberkulózou v době od několika týdnů až po několik měsíců, ale stav většiny nakažených osob zůstává dobrý. Latentní tuberkulóza (LTBI) je nenakažlivý asymptomatický stav, který přetrvává u některých osob, u nichž se onemocnění tuberkulózou může rozvinout o několik měsíců nebo let později. Hlavním účelem diagnostikování LTBI je zvážit léčbu pro prevenci rozvoje tuberkulózy. Až do nedávné doby byl tuberkulinový kožní test (Tuberculin Skin Test, TST) jedinou dostupnou možností pro diagnostiku LTBI. Kožní reakce na tuberkulin se rozvine 2 až 10 týdnů po infekci. u některých infikovaných osob, včetně těch se širokou škálou zdravotních stavů, které narušují funkci imunitního systému, ale také bez těchto stavů, však nedochází k reakci na tuberkulin. Naopak některé osoby, u nichž je nepravděpodobné, že jsou infikováni *M. tuberculosis*, vykazují citlivost na tuberkulin a mají pozitivní výsledky TST po očkování

bacilem Calmette-Guérin (BCG), infekci jinou mykobakterií než komplexem mikroorganismů *M. tuberculosis*, nebo u nich nejsou stanoveny jiné faktory.

LTBI musí být odlišena od aktivní tuberkulózy, což je zaznamenatelný stav, který obvykle zasahuje plicí a dolní cesty dýchací, ale postiženy mohou být i jiné orgánové soustavy. Tuberkulóza je diagnostikována na základě anamnézy, fyzických, radiologických, histologických a mykobakteriologických nálezů.

QFT-Plus je test buněčné imunitní odpovědi (Cell-Mediated Immune, CMI) na peptidové antigeny, které simulují mykobakteriální bílkoviny. Tyto bílkoviny, ESAT-6 a CFP-10, chybí u všech kmenů BCG a většiny netuberkulózních mykobakterií s výjimkou *M. kansasii*, *M. szulgai* a *M. marinum* (1). Krev osob infikovaných komplexem MTB obvykle obsahuje lymfocyty, které tyto a jiné mykobakteriální antigeny rozpoznají. Tento proces rozpoznání zahrnuje vytvoření a sekreci cytokinu, IFN- γ . Detekce a následná kvantifikace IFN- γ tvoří základ tohoto testu.

Antigeny použité v testu QFT-Plus jsou směsí peptidů simulující bílkoviny ESAT-6 a CFP-10. V četných studiích se ukázalo, že tyto peptidové antigeny stimulují odpovědi IFN- γ T-buněk získaných od osob infikovaných *M. tuberculosis*, ale obecně nikoli od neinfikovaných osob nebo osob očkovanych BCG bez onemocnění nebo rizika LTBI (1–32). Nicméně léčby či stavy, které narušují funkci imunitního systému, můžou potenciálně omezit odpovědi IFN- γ . u pacientů s některými dalšími mykobakteriálními infekcemi se také mohou vyskytnout reakce na ESAT-6 a CFP-10, protože geny těchto bílkovin se vyskytují u *M. kansasii*, *M. szulgai* a *M. marinum* (1, 23). Test QFT-Plus je testem na LTBI a je také užitečným pomocníkem při diagnostice infekce komplexem *M. tuberculosis* u nemocných pacientů. Pozitivní výsledky slouží jako pomoc při diagnostice tuberkulózy, avšak k pozitivním výsledkům může vést také infekce jinými mykobaktériemi (např. *M. kansasii*). Pro potvrzení nebo vyloučení onemocnění tuberkulózou jsou nutná další lékařská a diagnostická hodnocení.

QFT-Plus obsahuje dvě odlišné zkumavky s antigenem TBC: zkumavku TBC Antigen 1 (TB1) a zkumavku TBC Antigen 2 (TB2). Obě zkumavky obsahují peptidové antigeny z antigenů spojené s komplexem MTB, ESAT-6 a CFP-10. Zatímco zkumavka TB1 obsahuje peptidy z ESAT-6 a CFP-10, které jsou navrženy ke zjištění buněčných imunitních odpovědí (CMI) z CD4⁺ T-pomocných lymfocytů, zkumavka TB2 obsahuje dodatečnou sadu peptidů zaměřenou na indukcii CMI odpovědí z CD8⁺ cytotoxických T-lymfocytů. V přirozené historii MTB infekce hrají CD4⁺ T-buňky důležitou úlohu v imunologické kontrole prostřednictvím jejich sekrece cytokinu IFN- γ . Nyní existují důkazy, že se CD8⁺ T-buňky účastní základní obrany před infekcí MTB produkcí IFN- γ a dalších rozpustných faktorů, které aktivují makrofágy k potlačení růstu MTB, ničení infikovaných buněk nebo přímým rozkladem MTB uvnitř buněk (33–35). CD8⁺ buňky specifické pro MTB byly detekovány u subjektů s LTBI a s aktivní TBC, kde lze často nalézt buňky CD8⁺ produkující IFN- γ (36–38). Kromě toho bylo popsáno, že CD8⁺ T-lymfocyty specifické pro ESAT-6 a CFP-10 byly častěji detekovány u subjektů s aktivní TBC v porovnání s LTBI a mohou souviset s nedávnou expozicí MTB (39–41). Dále CD8⁺ T-buňky specifické pro MTB produkující IFN- γ byly také detekovány u subjektů s aktivní TBC se souběžnou infekcí HIV (42, 43) a u malých dětí s onemocněním TBC (44).

Princip analýzy

Analýza QFT-Plus využívá speciální zkumavky na odběr krve, které se používají k odběru plné krve. Inkubace krve probíhá ve zkumavkách po dobu 16 až 24 hodin. Po této době se odebere plazma, která je testována na přítomnost IFN- γ v reakci na peptidové antigeny.

Test QFT-Plus se provádí ve dvou fázích. Nejprve se odebere plná krev do každé zkumavky QFT-Plus Blood Collection Tubes, mezi které patří zkumavka Nil, zkumavka TB1, TB2 a zkumavka Mitogen. Krev může být také odebrána do jedné běžné odběrové zkumavky obsahující heparin lithný nebo heparin sodný jako antikoagulant a poté přenesena do zkumavek QFT-Plus.

Zkumavka Mitogen se používá při testu QFT-Plus jako pozitivní kontrola. To může být důležité obzvláště v případech, kdy existují pochybnosti o stavu imunitního systému osoby. Zkumavka Mitogen také slouží jako kontrola pro správné zacházení s krví a inkubaci.

Zkumavky QFT-Plus se protřepají, aby došlo ke smísení protilátky s krví a je nutné je co nejdříve inkubovat při teplotě 37 °C (do 16 hodin od odběru). Po uplynutí 16 až 24 hodin inkubace se zkumavky odstředí, odstraní plazma a změří se množství IFN- γ (IU/ml) pomocí analýzy ELISA. Analýza QFT-Plus ELISA využívá rekombinantní lidský IFN- γ standard, jenž byl srovnán s referenčním přípravkem IFN- γ (ref. NIH: Gxg01-902-535). Výsledky testu vzorku jsou uvedeny v mezinárodních jednotkách IU na ml (IU/ml) podle standardní křivky připravené testováním ředění standardu dodaného spolu se soupravou.

Je známo, že heterofilní (např. lidské protimyší) protilátky v séru nebo plazmě určitých jedinců způsobují interferenci s imunitními analýzami. Vliv heterofilních protilátek je v testu QFT-Plus ELISA minimalizován přidáním normálního myšího séra do zeleného ředícího roztoku a použitím monoklonálních fragmentů protilátek F(ab')₂ jako protilátky k zachycení IFN- γ , kterou je potažena mikrotitrační destička.

Analýza QFT-Plus je považována za pozitivní na odpověď IFN- γ , pokud je hodnota kterékoliv zkumavky TBC Antigen významně vyšší než hodnota Nil IFN- γ IU/ml. Vzorek plazmy ze zkumavky Mitogen slouží jako pozitivní kontrola IFN- γ pro každý testovaný vzorek. Nízká odezva na mitogen (< 0,5 IU/ml) označuje nejednoznačný výsledek, pokud má vzorek krve také negativní odezvu na antigeny TBC. K této situaci může docházet při nedostatku lymfocytů, snížené aktivitě lymfocytů v důsledku nesprávného zacházení se vzorkem, nesprávného plnění/mísení zkumavky Mitogen nebo neschopnosti lymfocytů pacienta vytvářet IFN- γ . Při přítomnosti heterofilních protilátek nebo vlastního sekretu IFN- γ se mohou ve vzorku Nil objevit zvýšené hladiny IFN- γ . Zkumavka Nil upravuje pozadí (např. zvýšené hladiny IFN- γ v krevním oběhu nebo přítomnost heterofilních protilátek). Hladina IFN- γ ze zkumavky Nil je odečtena od hladiny IFN- γ ze zkumavek TBC Antigen a Mitogen.

Čas potřebný k provedení analýzy

Odhadovaný čas potřebný k provedení analýzy QFT-Plus ELISA je uveden níže; čas potřebný k testování více vzorků v dávkovém zpracování je také uveden:

Inkubace zkumavek s krví při 37 °C: 16 až 24 hodin

ELISA:

Cca. 3 hodiny pro jednu destičku ELISA

(22 osob)

< 1 hodina práce

Pro každou další destičku přidejte 10 až 15 minut

Komponenty a skladování

Zkumavky pro odběr krve*		200 zkumavek	Balení pro jednoho pacienta	Dávkovací balení	200 zkumavek HA (pro vysoké nadmořské výšky)	Balení HA pro jednoho pacienta (pro vysoké nadmořské výšky)	Dávkovací balení HA (pro vysoké nadmořské výšky)
Katalogové číslo		622526	622222	622423	623526	623222	623423
Počet testů/balení		50	10	25	50	10	25
QuantiFERON Nil Tube (šedý uzávěr, bílý kroužek)	Nil	50 zkumavek	10 zkumavek	25 zkumavek			
QuantiFERON TB1 Tube (zelený uzávěr, bílý kroužek)	TB1	50 zkumavek	10 zkumavek	25 zkumavek			
QuantiFERON TB2 Tube (žlutý uzávěr, bílý kroužek)	TB2	50 zkumavek	10 zkumavek	25 zkumavek			
QuantiFERON Mitogen Tube (fialový uzávěr, bílý kroužek)	Mitogen	50 zkumavek	10 zkumavek	25 zkumavek			
QuantiFERON HA Tube (šedý uzávěr, žlutý kroužek)	Nil HA				50 zkumavek	10 zkumavek	25 zkumavek
QuantiFERON TB1 HA Tube (zelený uzávěr, žlutý kroužek)	TB1 HA				50 zkumavek	10 zkumavek	25 zkumavek
QuantiFERON TB2 HA Tube (žlutý uzávěr, žlutý kroužek)	TB2 HA				50 zkumavek	10 zkumavek	25 zkumavek
QuantiFERON Mitogen HA Tube (fialový uzávěr, žlutý kroužek)	Mitogen HA				50 zkumavek	10 zkumavek	25 zkumavek
Příbalový leták QFT-Plus Blood Collection Tubes		1	1	1	1	1	1

* Ne všechny konfigurace výrobků jsou k dispozici ve všech zemích. Další informace o dostupných konfiguracích pro objednávku získáte na oddělení péče o zákazníky společnosti QIAGEN (podrobnosti na stránkách www.qiagen.com).

Součásti analýzy ELISA[†]	Souprava ELISA se 2 destičkami	Referenční laboratorní balení
Katalogové číslo	622120	622822
Microplate Strips (Stripy s mikrotitračními destičkami) (12 × 8 jamek) pokryté myší monoklonální protilátkou proti lidskému IFN- γ	2 × stripy s mikrotitračními destičkami s 96 jamkami	20 × stripy s mikrotitračními destičkami s 96 jamkami
IFN- γ Standard (Standardní IFN- γ), lyofilizovaný (obsahuje rekombinantní lidský IFN- γ , bovinní kasein, Thimerosal 0,01 % hm.)	1 × lahvička (8 IU/ml po rekonstituci)	10 × lahvička (8 IU/ml po rekonstituci)
Green Diluent (Zelený ředící roztok) (obsahuje bovinní kasein, normální myší sérum, Thimerosal 0,01 % hm.)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Konjugát 100× koncentrát), lyofilizovaný (myší protilátkou proti lidskému IFN- γ HRP, obsahuje Thimerosal 0,01 % hm.)	1 × 0,3 ml (po rekonstituci)	10 × 0,3 ml (po rekonstituci)
Wash Buffer 20x Concentrate (20× koncentrát promývacího činidla) (pH 7,2; obsahuje 0,05 % obj. ProCln® 300)	1 × 100 ml	10 × 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Roztok enzymového substrátu) (obsahuje H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' Tetramethylbenzidin)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Zastavovací roztok enzymů) (obsahuje 0,5M H ₂ SO ₄)	1 × 15 ml	10 × 15 ml
Příbalový leták QFT-Plus ELISA	1	1

[†] Viz strana 15, kde naleznete bezpečnostní opatření a věty o nebezpečnosti.

Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky

- Inkubátor $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}^*$. CO₂ není nutné.
- Kalibrované pipety* s proměnným objemem pro dávkování 10 µl až 1000 µl s jednorázovými špičkami
- Kalibrovaná vícekanálová pipeta* pro dávkování 50 µl a 100 µl s jednorázovými špičkami
- Víčko destičky
- Třepačka mikrotitračních destiček*
- Deionizovaná nebo destilovaná voda, 2 litry
- Promývačka mikrotitračních destiček (doporučuje se automatizovaná promývačka).
- Čtečka mikrotitračních destiček* s filtrem 450 nm a referenčním filtrem 620 nm až 650 nm

* Zajistěte, aby byly přístroje zkontrolovány a nakalibrovány podle doporučení výrobce.

Uchovávání a nakládání se vzorkem

Zkumavky pro odběr krve

- Zkumavky pro odběr krve skladujte při teplotě 4 °C až 25 °C.

Činidla soupravy

- Činidla soupravy skladujte při teplotě 2 °C až 8 °C.
- Roztok enzymového substrátu vždy chraňte před přímým slunečním světlem.

Rekonstituovaná a nepoužitá činidla

Pokyny ke způsobu rekonstituce činidel naleznete na straně 26.

- Rekonstituovaný standard soupravy může být uchován až po dobu 3 měsíců, pokud je skladován při teplotě 2 až 8 °C.

Poznačte si datum, kdy byl standard soupravy rekonstituován.

- Po rekonstituci musí být nespotřebovaný konjugát 100× koncentrát vrácen do skladovací teploty 2 °C až 8 °C a musí být spotřebován do 3 měsíců.

Poznačte si datum, kdy byl konjugát rekonstituován.

- Pracovní roztok konjugátu musí být použit do 6 hodin od přípravy.
- Pracovní promývací pufr může být uchován při pokojové teplotě po dobu až 2 týdnů.

Varování a bezpečnostní opatření

Pouze pro diagnostiku in vitro.

Varování

- Negativní výsledek QFT-Plus nevyklučuje možnost infekce *M. tuberculosis* nebo onemocnění tuberkulózou: falešně negativní výsledky mohou být způsobeny stádiem infekce (např. vzorek získaný před rozvojem buněčné imunitní reakce), komorbidním stavem, který ovlivňuje funkce imunitního systému, nesprávnou manipulací se zkumavkami na odběr krve po odběru ze žíly, nesprávným provedením analýzy nebo jinými imunologickými proměnnými.
- Pozitivní výsledek QFT-Plus by neměl být jediným nebo definitivním základem pro stanovení infekce *M. tuberculosis*. Nesprávné provedení analýzy může způsobit falešně pozitivní výsledky.
- Pozitivní výsledek QFT-Plus by měl být ověřen dalšími lékařskými hodnoceními a diagnostickými hodnoceními aktivní tuberkulózy (např. stěr a kultivace AFB, rtg hrudníku).
- Zatímco ESAT-6 a CFP-10 u všech kmenů BCG a u většiny známých netuberkulózních mykobakterií chybí, je možné, že pozitivní výsledek QFT-Plus může být způsoben v důsledku infekce *M. kansasii*, *M. szulgai* nebo *M. marinum*. Pokud existuje podezření na takové infekce, je nutné provést alternativní testy.

Bezpečnostní opatření

Při manipulaci s chemikáliemi vždy používejte vhodný laboratorní pracovní oděv, jednorázové rukavice a ochranné brýle. Bližší informace jsou uvedeny v příslušných bezpečnostních listech (Safety Data Sheets, SDS). Jsou k dispozici také online v PDF formátu na stránkách www.qiagen.com/safety, kde můžete najít, přečíst a vytisknout bezpečnostní listy všech souprav a součástí souprav QIAGEN.



UPOZORNĚNÍ: S lidskou krví a plazmou zacházejte jako s potenciálně infekční. Dodržujte příslušné pokyny pro zacházení s krví a krevními produkty. Vzorky a materiály, které byly v kontaktu s krví nebo krevními produkty, likvidujte v souladu s federálními, státními a místními předpisy.

Na komponenty soupravy QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA se vztahují následující pokyny pro bezpečné zacházení a věty o nebezpečnosti.

Věty o nebezpečnosti



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

Obsahuje: kyselinu sírovou. Varování! Může způsobovat korozi kovů. Způsobuje podráždění kůže. Způsobuje vážné podráždění očí. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Varování! Způsobuje mírné podráždění kůže. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.



QuantiFERON Green Diluent

Obsahuje: 5-hydroxy-1-(4-sulfofenyl)-4-(4-sulfofenylazo)pyrazol-3-karboxylát sodný. Obsahuje: tartrazin. Varování! Může vyvolat alergickou kožní reakci. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Obsahuje: Směs 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-onu a 2-methyl-2H-isothiazol-3-onu (3:1). Škodlivý pro život ve vodním prostředí s dlouhodobými nepříznivými účinky. Zabraňte uvolnění do prostředí.

Pokyny pro bezpečné zacházení

Před použitím získejte zvláštní pokyny. Používejte ochranné rukavice/ochranný oděv/ochranné brýle/obličejový štít. **PŘI STYKU S KŮŽÍ** (nebo s vlasy): Okamžitě odstraňte/svlékněte veškeré kontaminované oblečení. Opláchněte pokožku vodou/sprchou. **PŘI ZASAŽENÍ OČÍ**: Opatrně oplachujte vodou po dobu několika minut. Pokud zasažená osoba používá kontaktní čočky, vyjměte je (pokud je to možné). Pokračujte v oplachování. Pokud dojde k zasažení nebo důvodné obavě, že došlo k zasažení: Vyhledejte lékařskou pomoc. Ihned kontaktujte TOXIKOLOGICKÉ STŘEDISKO nebo lékaře. V případě, že dojde k podráždění pokožky nebo vyrážce: Vyhledejte lékařskou pomoc. Sundejte kontaminovaný oděv a před opětovným použitím jej vyperte. Uchovávejte v uzamčeném prostoru. Obsah/nádobu likvidujte ve schváleném zařízení na likvidaci odpadu.

Další informace

Bezpečnostní listy: www.qiagen.com/safety

- Odchytky od informací uvedených v *příbalovém letáku QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA* mohou způsobit chybné výsledky. Před použitím si prosím pečlivě přečtete pokyny.

- Nepoužívejte soupravu, pokud jakákoliv láhev s činidlem vykazuje před použitím známky poškození nebo netěsnosti.
- **Důležité:** Před použitím zkontrolujte lahvičky. Nepoužívejte konjugované lahvičky ani lahvičky standardního IFN- γ , pokud vykazují známky poškození nebo pokud došlo k porušení pryžového těsnění. Nemanipulujte s poškozenými lahvičkami. S použitím náležitých bezpečnostních opatření lahvičky bezpečně zlikvidujte. **Doporučení:** K otevření konjugovaných lahviček nebo lahviček standardního IFN- γ použijte dekrimpovací kleštičky, čímž se minimalizuje riziko zranění kovovým zvlněným víčkem.
- Nepoužívejte společně stripy mikrotitračních destiček, standardní IFN- γ Standard, zelešný ředící rozok nebo konjugát 100 \times koncentrát z různých šarží souprav QFT-Plus.. Ostatní činidla (20 \times koncentrát promývacího činidla, roztok enzymového subsbtrátu a zastavovací roztok enzymů) mohou být používána z různých šarží souprav za předpokladu, že u činidel nevypršela doba použitelnosti a že jsou zaznamenány informace o dané šarži.
- Zlikvidujte nepoužitá činidla a biologické vzorky v souladu s místními, státními a federálními předpisy.
- Nepoužívejte zkumavky na odběr krve QFT-Plus Blood Collection Tubes ani soupravu ELISA po vypršení doby použitelnosti.
- Vždy je nutno dodržovat správné laboratorní postupy.
- Ujistěte se, že laboratorní vybavení bylo kalibrováno/validováno pro použití.

Odběr vzorku a manipulace

QFT-Plus využívá následující zkumavky na odběr krve:

1. Zkumavky QuantiFERON Nil (šedý uzávěr s bílým kroužkem)
2. Zkumavky QuantiFERON TB1 (zelený uzávěr s bílým kroužkem)
3. Zkumavky QuantiFERON TB2 (žlutý uzávěr s bílým kroužkem)
4. Zkumavky QuantiFERON Mitogen (fialový uzávěr s bílým kroužkem)
5. Zkumavky QuantiFERON HA Nil (šedý uzávěr se žlutým kroužkem)
6. Zkumavky QuantiFERON HA TB1 (zelený uzávěr se žlutým kroužkem)
7. Zkumavky QuantiFERON HA TB2 (žlutý uzávěr se žlutým kroužkem)
8. Zkumavky QuantiFERON HA Mitogen (fialový uzávěr se žlutým kroužkem)

Antigeny byly vysušeny na vnitřní stěně zkumavek na odběr krve, proto je nezbytné, aby byl obsah zkumavek důkladně promísen s krví. Pokud je krev nabírána přímo do zkumavek QFT-Plus, musí být zkumavky QFT-Plus uchovány a přepravovány při pokojové teplotě ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) a co nejdříve přeneseny do inkubátoru o teplotě 37 °C , a to do 16 hodin po odběru. Krev může být případně odebrána do jednorázové zkumavky s heparinem lithným nebo heparinem sodným pro uskladnění před přenosem do zkumavky QFT-Plus a inkubací. Vzorky krve odebrané do zkumavky s heparinem lithným nebo heparinem sodným lze skladovat až po dobu 16 hodin při pokojové teplotě ($17\text{--}25\text{ °C}$), po kterých následuje přenos do zkumavek QFT-Plus. Vzorky krve ve zkumavkách s heparinem lithným nebo heparinem sodným mohou být rovněž před přenosem do zkumavek QFT-Plus skladovány při teplotě $2\text{--}8\text{ °C}$ po dobu až 48 hodin. Viz část „Odběr krve do jedné zkumavky s heparinem lithným nebo heparinem sodným, a poté přenos do zkumavek QFT-Plus Blood Collection Tubes.“

Přímý odběr do zkumavek QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Označte zkumavky příslušným způsobem.

Ujistěte se, že je možné každou zkumavku (Nil, TB1, TB2 a Mitogen) po odstranění víčka identifikovat štítkem nebo jinými prostředky.

Doporučuje se zaznamenat si čas a datum odběru krve.

2. Od každého pacienta odeberte 1 ml krve ze žíly přímo do každé ze zkumavek QFT-Plus Blood Collection Tubes. Tento postup musí provádět pracovník vyškolený ve flebotomii.

Důležitá poznámka: Zkumavky by v době plnění krví měly mít teplotu od 17 do 25 °C.

Standardní zkumavky QFT-Plus Blood Collection Tubes je možné použít až do nadmořské výšky 810 metrů nad mořem. Zkumavky na odběr krve High Altitude QFT-Plus Blood Collection Tubes (HA) pro velkou nadmořskou výšku je možné použít od nadmořské výšky 1020 metrů až do nadmořské výšky 1875 metrů.

Vzhledem k tomu, že krev do zkumavek o objemu 1 ml vtéká relativně pomalu, udržujte zkumavku na jehle po dobu 2–3 sekund po zjevném naplnění zkumavky. Tím se zajistí odběr správného objemu krve.

- Černá značka na boční straně zkumavek označuje schválený rozsah objemu 0,8–1,2 ml. Jestliže je hladina krve v kterékoliv zkumavce mimo rozsah značky, je nutné odebrat nový vzorek krve. Nedostatečné naplnění nebo přeplnění zkumavek mimo požadovaný rozsah 0,8–1,2 ml může vést k chybným výsledkům.
- Jestliže se k odběru krve používá motýlková jehla, je nutné před použitím zkumavek na odběr krve QFT-Plus použít „odvzdušňovací“ zkumavku k zajištění, že bude hadička naplněna krví.
- Jestliže používáte zkumavky QFT-Plus Blood Collection Tubes ve výšce vyšší než 810 metrů nad mořem nebo pokud je odebrán malý objem krve, mohou uživatelé odebrat krev pomocí stříkačky a ihned přenést 1 ml krve do každé ze 4 zkumavek. Z bezpečnostních důvodů je nejvhodnější odstranit jehlu ze stříkačky, zajistit náležitě bezpečnostní postupy, odstranit víčka ze 4 zkumavek QFT-Plus a přidat 1 ml krve do každé z nich (po střed černé značky na boční straně štítku každé zkumavky). Opět nasadte pevně víčka

a promíchejte dle níže uvedeného popisu. Ujistěte se, že je možné každou zkumavku (Nil, TB1, TB2 a Mitogen) po odstranění víčka identifikovat štítkem nebo jinými prostředky.

3. Ihned po naplnění desetkrát (10) dobře protřepejte zkumavky tak, aby došlo ke smočení celé vnitřní stěny zkumavek krví. Tím se rozpustí antigeny na stěnách zkumavky.

Důležitá poznámka: Zkumavky mají při protřepávání mít teplotu od 17 °C do 25 °C. Příliš silné třepání může narušit gel a mohlo by vést k neplatným výsledkům.

4. Po označení štítkem, naplnění a protřepání musí být zkumavky co nejdříve přeneseny do inkubátoru při teplotě 37 °C ± 1 °C (do 16 hodin od odběru). Před inkubací uchovávejte a přenášejte zkumavky při pokojové teplotě (22 °C ± 5 °C). Nebudou-li zkumavky QFT-Plus inkubovány při teplotě 37 °C ihned po odběru krve a protřepání, zkumavky před inkubací při teplotě 37 °C 10krát otočte, aby se promíchaly.
5. Zkumavky QFT-Plus inkubujte ve VZPŘÍMENÉ poloze při teplotě 37 °C ± 1 °C po dobu 16 až 24 hodin. Inkubátor nevyžaduje CO₂ ani zvlhčování.

Odběr krve do jedné zkumavky s heparinem lithným nebo sodným, a poté přenos do zkumavek QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Krev může být také odebrána do jedné odběrové zkumavky obsahující heparin lithný nebo sodný jako antikoagulant a poté přenesena do zkumavek QFT-Plus Blood Collection Tubes. Jako antikoagulant používejte pouze heparin lithný nebo sodný, protože ostatní antikoagulanty mohou narušovat průběh analýzy. Označte zkumavky příslušným způsobem.

Doporučuje se zkumavku označit štítkem s časem a datem odběru krve.

Důležité: Zkumavky na odběr krve mají mít v době odběru krve pokojovou teplotu (17–25 °C).

2. Naplňte zkumavku na odběr krve s heparinem lithným nebo sodným (minimální objem 5 ml) a jemně promíchejte tak, že zkumavku několikrát převrátíte dnem vzhůru, aby došlo k rozpouštění heparinu. Tento postup musí provádět pracovník vyškolený ve flebotomii.

3. Doba výdrže a teplota pro zkumavky s heparinem lithným nebo sodným před přenosem a inkubací ve zkumavkách QFT-Plus Blood Collection Tubes (viz obrázky 1–3 Možnosti odběru krve).

Možnost 1 – Zkumavky s heparinem lithným nebo sodným, při pokojové teplotě, skladování a manipulace Krev odebraná do zkumavky s obsahem heparinu lithného nebo sodného smí být před přenosem do zkumavek QFT-Plus Blood Collection Tubes a následnou inkubací uchovávána při pokojové teplotě ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) maximálně po dobu 16 hodin od odběru.

Možnost 2 – Zkumavky s heparinem lithným nebo sodným, chlazené, skladování a manipulace

Důležité: Kroky postupu a–d musí být dodržovány v daném pořadí.

- a. Krev odebraná do zkumavky s heparinem lithným nebo sodným může být uchovávána při pokojové teplotě ($17\text{--}25\text{ °C}$) až po dobu 3 hodin po odběru krve.
- b. Krev odebraná do zkumavky s heparinem lithným nebo sodným může být chlazená v chladničce ($2\text{--}8\text{ °C}$) až po dobu 48 hodin.
- c. Po chlazení musí být zkumavka s heparinem lithným nebo sodným před přenosem do zkumavek QFT-Plus Blood Collection Tubes zahřívána na pokojovou teplotu ($17\text{--}25\text{ °C}$).
- d. Zkumavky QFT-Plus Blood Collection Tubes s alikvotními podíly mají být uloženy do inkubátoru o teplotě 37 °C do 2 hodin po přenosu krve.

Pokud nebudou zkumavky QFT-Plus Blood Collection Tubes inkubovány při teplotě 37 °C přímo po přenosu do zkumavek QFT-Plus Blood Collection Tubes a protřepání, zkumavky před inkubací při teplotě 37 °C 10krát otočte. Celková doba od odběru krve do inkubace ve zkumavkách QFT-Plus Blood Collection Tubes nemá překročit 53 hodin.

4. Přenos krevních vzorků ze zkumavky obsahující heparin lithný nebo sodný do zkumavek QFT-Plus Blood Collection Tubes:
 - a. Každou zkumavku QFT-Plus Blood Collection Tube řádně označte štítkem.
Ujistěte se, že je možné každou zkumavku (Nil, TB1, TB2 a Mitogen) po odstranění víčka identifikovat štítkem nebo jinými prostředky. Doporučuje se přenést

zaznamenaný čas a datum odběru krve ze zkumavek obsahujících heparin lithný nebo sodný na zkumavky QFT-Plus Blood Collection Tubes.

- b. Vzorky musí být před přenesením do zkumavek QFT-Plus Blood Collection Tubes rovnoměrně promíchány jemným převrácením.
- c. Přenos je nutné provést asepticky, zajistit náležitě bezpečnostní postupy, odstranit víčka ze 4 zkumavek QFT-Plus Blood Collection Tubes a přidat 1 ml krve do každé z nich. Na zkumavky opět nasadte pevně víčka a promíchejte dle níže uvedeného popisu. Ujistěte se, že je možné každou zkumavku (Nil, TB1, TB2 a Mitogen) po odstranění víčka identifikovat štítkem nebo jinými prostředky.

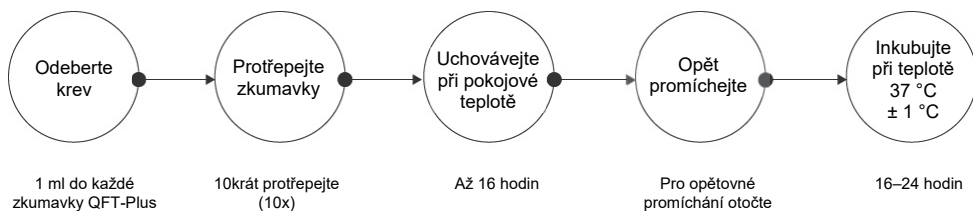
5. Zkumavky promíchejte. Ihned po naplnění zkumavky QFT-Plus Blood Collection Tubes desetkrát (10) dobře protřepejte tak, aby došlo ke smočení celé vnitřní stěny zkumavek krví. Tím se rozpustí antigeny na stěnách zkumavky.

Příliš silné třepání může narušit gel a mohlo by vést k neplatným výsledkům.

6. Po označení štítkem, naplnění a protřepání musí být zkumavky přeneseny do inkubátoru při teplotě $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ do 2 hodin od odběru. Nebudou-li zkumavky QFT-Plus Blood Collection Tubes inkubovány při teplotě 37 °C hned po odběru krve a protřepání, před inkubací při teplotě 37 °C zkumavky 10krát (10x) převratte. (Viz možnosti odběru krve na obrázcích 1–3 na další straně).

7. Zkumavky QFT-Plus Blood Collection Tubes inkubujte ve VZPŘÍMENÉ poloze při teplotě $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ po dobu 16 až 24 hodin. Inkubátor nevyžaduje CO_2 ani zvlhčování.

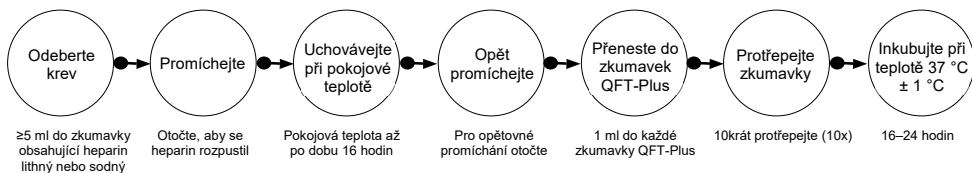
Krev naberte do zkumavek QFT-Plus Blood Collection Tubes a uchovávejte při pokojové teplotě.



Obrázek 1. Možnost odběru krve: Krev naberte přímo do zkumavek QFT-Plus Blood Collection Tubes a uchovávejte při pokojové teplotě.

Celková doba od odběru krve do zkumavek QFT-Plus Blood Collection Tubes do inkubace při teplotě 37 °C nesmí překročit 16 hodin.

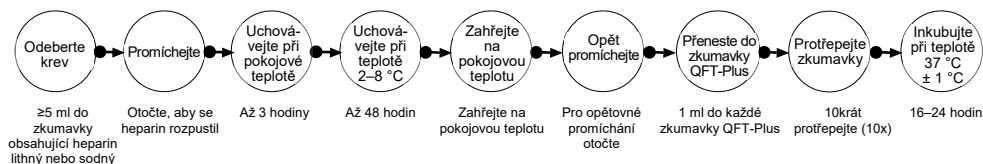
Krev naberte do zkumavky obsahující heparin lithný nebo sodný a uchovávejte při pokojové teplotě.



Obrázek 2. Možnost odběru krve: Krev naberte do zkumavky obsahující heparin lithný nebo sodný a uchovávejte při pokojové teplotě.

Celková doba od odběru krve do zkumavky obsahující heparin lithný nebo sodný do inkubace při teplotě 37 °C nesmí překročit 16 hodin.

Krev odeberte do zkumavek obsahujících heparin lithný nebo sodný a uchovávejte při teplotě 2–8 °C.



Obrázek 3. Možnost odběru krve: Krev odeberte do zkumavky obsahujících heparin lithný nebo sodný a uchovávejte při teplotě 2–8 °C.

Celková doba od odběru krve do zkumavky obsahující heparin lithný nebo sodný do inkubace při teplotě 37 °C nesmí překročit 53 hodin.

Návod k použití

Fáze 1 – Inkubace krve a sběr plazmy

Dodávané materiály

- Zkumavky QFT-Plus Blood Collection Tubes (viz část 3)

Potřebné materiály (nejsou součástí dodávky)

- Viz část 3

Postup

1. **Jestliže krev brzy po odběru nebude inkubována, je nutné těsně před inkubací zkumavky opět promíchat tak, že je 10krát převrátíte.**
2. **Zkumavky inkubujte ve VZPŘÍMENÉ poloze při teplotě $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ po dobu 16 až 24 hodin. Inkubátor nevyžaduje CO_2 ani zvlhčování.**
3. **Po inkubaci při teplotě 37 °C mohou být zkumavky na odběr krve uchovány před odstředěním při teplotě od 4 °C do 27 °C po dobu až 3 dnů.**
4. **Po inkubaci zkumavek při teplotě 37 °C usnadníte sběr plazmy tím, že zkumavky odstředíte po dobu 15 minut při 2000 až 3000 x RCF (g). Gelová zátka oddělí buňky od plazmy. Pokud k tomu nedojde, je nutné zkumavky opětovně odstředit.**

Plazmu je možné sbírat bez odstředění, avšak je nutné věnovat větší péči při odstraňování plazmy, aniž by došlo k rozvíření buněk.

5. **Vzorky plazmy je možné odebírat pouze pomocí pipety.**

Důležitá poznámka: Po odstředění se před odběrem plazmy vyhněte pipetování nahoru a dolů nebo míchání plazmy. Vždy dbejte na to, abyste nenarušili materiál na povrchu gelu.

Vzorky plazmy je možné naplnit přímo z odstředěných zkumavek na odběr krve do destičky QFT-Plus ELISA, včetně případů, kdy jsou použity automatizované pracovní stanice ELISA.

Vzorky plazmy je možné uchovat až po dobu 28 dní při teplotě 2 až 8 °C nebo, pokud je sebrána, při teplotě nižší než –20 °C po delší dobu.

Pro dostatečný objem vzorků k testu odeberte alespoň 150 µl plazmy.

Fáze 2 – IFN- γ ELISA

Dodávané materiály

- Souprava QFT-Plus ELISA (viz část 3)

Potřebné materiály, které nejsou součástí dodávky

- Viz část 3.

Postup

- 1. Všechny vzorky plazmy a činidla, kromě konjugátu 100× koncentrátu, musí být před použitím ohřáty na pokojovou teplotu (22 °C \pm 5 °C). Nechejte je temperovat alespoň po dobu 60 minut.**
- 2. Z rámečku vyjměte stripy, které nejsou vyžadovány, opět zalepte fólií, a vraťte do chladničky do doby, kdy je budete potřebovat.**

Ponechte alespoň 1 strip pro QFT-Plus standardy a dostatečný počet stripů pro počet testovaných pacientů (viz Obrázek 5). Po použití rámeček uchovejte pro použití se zbývajícimi stripy.
- 3. Rekonstituuje standardní IFN- γ pomocí objemu deionizované nebo destilované vody uvedeného na štítku lahvičky. Opatrně promíchejte, aby nedošlo k napěnění, a ujistěte se, že dojde k dokonalému rozpuštění. Rekonstitucí standardu na uvedený objem se získá roztok o koncentraci 8,0 IU/ml.**

Důležitá poznámka: Rekonstituční objem standardu soupravy se bude mezi jednotlivými dávkami lišit.

Použijte rekonstituovaný standard soupravy k vytvoření série ředění 1 ku 2 a následně ředění 1 ku 4 IFN- γ se zeleným ředícím roztokem (Green Diluent, GD) (viz Obrázek 4). S1 (Standard 1) obsahuje 4,0 IU/ml, S2 (Standard 2) obsahuje 1,0 IU/ml, S3 (Standard 3) obsahuje 0,25 IU/ml a S4 (Standard 4) obsahuje 0 IU/ml (samotný roztok GD). Standardy musí být otestovány alespoň v duplikátu. Připravte čerstvá ředění standardu soupravy pro každou relaci analýzy ELISA.

Doporučený postup pro duplikát standardů

Označte 4 zkumavky štítkem „S1“, „S2“, „S3“, „S4“.

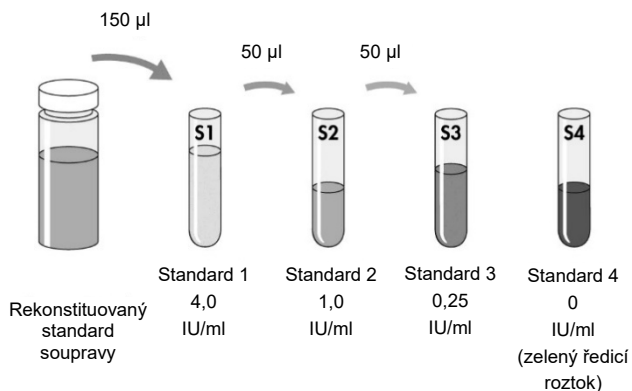
Přidejte 150 μ l GD do zkumavek S1, S2, S3, S4.

Přidejte 150 μ l standardu soupravy do zkumavky S1 a důkladně promíchejte.

Přenešte 50 μ l ze zkumavky S1 do S2 a důkladně promíchejte.

Přenešte 50 μ l ze zkumavky S2 do S3 a důkladně promíchejte.

Samotný roztok (GD) slouží jako nulový standard (S4).



Obrázek 4. Příprava standardní křivky

4. **Rekonstituujte lyofylizovaný konjugát 100× koncentrát pomocí 0,3 ml deionizované nebo destilované vody. Opatrně promíchejte, aby nedošlo k napěnění a ujistěte se, že dojde k dokonalému rozpuštění konjugátu.**

Pracovní konjugát se připravuje zředěním požadovaného množství rekonstituovaného konjugátu 100× koncentrátu v zeleném ředícím roztoku (Tabulka 1. Příprava konjugátu). Ihned po použití vraťte případný nespotřebovaný konjugát 100× koncentrát do skladovací teploty 2 °C až 8 °C. Použijte pouze zelený ředící roztok .

Tabulka 1. Příprava konjugátu

Počet stripů	Objem konjugátu 100× koncentrátu	Objem zeleného ředícího roztoku
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. **Vzorky plazmy získané ze zkumavek na odběr krve, které byly následně uloženy (ochlazeny nebo zmrazeny), před přidáním do jamky analýzy ELISA dobře promíchejte.**

Důležitá poznámka: Jestliže mají být vzorky plazmy přidány přímo z odstředěných zkumavek QFT-Plus, plazmu nepromíchejte. Vždy dbejte na to, abyste nenarušili materiál na povrchu gelu.

6. **Přidejte 50 µl čerstvě připraveného pracovního konjugátu do požadovaných jamek ELISA pomocí vícekanálové pipety.**

7. Přidejte 50 µl vzorků plazmy pro test do příslušných jamek pomocí vícekanálové pipety (viz doporučené rozvržení destičky na Obrázek 5). Nakonec přidejte 50 µl každého ze standardů 1 až 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

Obrázek 5. Doporučené rozvržení vzorků (22 testů na jednu destičku)

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

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

8. **Zakryjte každou destičku a promíchejte důkladně konjugát a vzorky plazmy/standarty pomocí třepačky mikrotitračních destiček po dobu 1 minuty. Zabraňte stříkání.**
9. **Zakryjte každou destičku a inkubujte při pokojové teplotě (22 °C ±5 °C) po dobu 120 ± 5 minut.**
- Destičky by během inkubace neměly být vystaveny přímému slunečnímu světlu.
10. **Během inkubace zřeďte jeden díl 20× koncentrátu promývacího činidla 19 díly deionizované nebo destilované vody a důkladně promíchejte. K dispozici je dostatek 20× koncentrátu promývacího činidla k přípravě 2 litrů pracovního promývacího pufru.**
- Promývejte jamky 400 µl pracovního promývacího pufru alespoň 6 cyklů. Doporučuje se použít automatizovanou promývačku destiček.

Důkladné promytí je velmi důležité pro výkon analýzy. Ujistěte se, že je každá jamka při každém promývacím cyklu úplně naplněna promývacím pufrům až po okraj. Doporučuje se ponechat jamky mezi každým cyklem namočený alespoň po dobu 5 sekund.

Do odpadního zásobníku přidejte standardní laboratorní dezinfekční prostředek a je nutné dodržovat zavedené postupy pro dekontaminaci potenciálně infekčního materiálu.

11. **Poklepejte destičkami čelem dolů na absorpční utěrku nepouštějící vlas, abyste odstranili zbytky pufru. Do každé jamky přidejte 100 µl roztoku enzymového substrátu, zakryjte každou destičku a důkladně promíchejte pomocí třepačky mikrotitračních destiček.**
12. **Zakryjte každou destičku a inkubujte při pokojové teplotě (22 °C ± 5 °C) po dobu 30 minut.**

Destičky by během inkubace neměly být vystaveny přímému slunečnímu světlu.

13. **Po uplynutí 30 minut inkubace do každé jamky přidejte 50 µl zastavovacího roztoku enzymů a promíchejte.**

Zastavovací roztok enzymů přidejte do jamek ve stejném pořadí a přibližně stejnou rychlostí jako substrát v kroku 11.

14. **Změřte optickou hustotu (Optical Density, OD) každé jamky během 5 minut od zastavení reakce pomocí čtečky mikrotitračních destiček s filtrem 450 nm a s referenčním filtrem 620 nm až 650 nm. Hodnoty OD budou použity k výpočtu výsledků.**

Výpočty a interpretace testu

Pro analýzu nezpracovaných dat a výpočet výsledků může být použit software pro analýzu QFT Plus. Je k dispozici na stránkách www.QuantiFERON.com. Ujistěte se, že používáte nejnovější verzi softwaru pro analýzu QFT-Plus.

Software provádí vyhodnocení kontroly kvality analýzy, vytváří standardní křivku a poskytuje výsledky testu pro každého pacienta, jak je uvedeno v části Interpretace výsledků.

Jako alternativa k použití softwaru pro analýzu QFT-Plus je možné výsledky stanovit dle následující metody.

Vytvoření standardní křivky

(pokud není použit software pro analýzu QFT-Plus)

Určete střední hodnoty OD replikátů standardů soupravy na každé destičce.

Vytvořte standardní křivku $\log_{(e)}$ - $\log_{(e)}$ pomocí grafického znázornění $\log_{(e)}$ střední hodnoty OD (osa y) oproti koncentraci $\log_{(e)}$ standardů IFN- γ v IU/ml (osa x), s vynecháním nulového standardu z těchto výpočtů. Vypočtete čáru nejlepšího výsledku pro standardní křivku pomocí regresní analýzy.

Použijte standardní křivku ke stanovení koncentrace IFN- γ (IU/ml) pro každý testovaný vzorek plazmy s použitím hodnoty OD pro každý vzorek.

Tyto výpočty je možné provádět pomocí softwarových balíčků, které jsou k dispozici se čtečkami mikrotitračních destiček a standardního tabulkového procesoru nebo statistického softwaru (například Microsoft® Excel®). Doporučuje se, aby byly tyto balíčky použity k výpočtu regresní analýzy, koeficientu variace (Coefficient of Variation, %CV) pro standardy a korelačního koeficientu (r) standardní křivky.

Kontrola kvality testu

Přesnost výsledků testu závisí na vytvoření přesné standardní křivky. Proto musí být výsledky odvozené od standardů před interpretací výsledky testů vzorků prošetřeny.

Aby byla analýza ELISA platná:

- Střední hodnota OD pro standard 1 musí být $\geq 0,600$.
- %CV pro OD hodnoty replikátu standardu 1 a standardu 2 musí být $\leq 15 \%$.
- OD hodnoty replikátu pro standardy 3 a 4 se nesmí lišit o více než 0,040 jednotek optické hustoty od jejich střední hodnoty.
- Korelační koeficient (r) vypočtený ze středních hodnot absorbance těchto standardů musí být $\geq 0,98$.

Software pro analýzu QFT-Plus vypočítá tyto parametry kontroly kvality a vytvoří zprávu.

Pokud výše uvedená kritéria nejsou splněna, bude cyklus testu neplatný a musí být zopakován.

Střední hodnota OD pro nulový standard (zelený ředící roztok) musí být $\leq 0,150$. Jestliže je střední hodnota OD $> 0,150$, je nutné prověřit postup promývání destiček.

Interpretace výsledků

Výsledky testu QFT-Plus jsou interpretovány pomocí následujících kritérií (Tabulka 2):

Důležitá poznámka: Diagnostika nebo vyloučení onemocnění tuberkulózu a posouzení pravděpodobnosti LTBI vyžaduje použití kombinace epidemiologických, historických, zdravotních a diagnostických nálezů, které musí být vzaty v úvahu při interpretaci výsledků QFT-Plus.

Tabulka 2. Interpretace výsledků QFT-Plus

Nil (IU/ml)	TB1 minus Nil (IU/ml)	TB2 minus Nil (IU/ml)	Mitogen minus Nil (IU/ml)*	Výsledek QFT-Plus	Zpráva/Interpretace
≤ 8,0	≥ 0,35 a ≥ 25 % hodnoty Nil	Jakákoliv	Jakákoliv	Pozitivní†	Infekce <i>M. tuberculosis</i> je pravděpodobná
	Jakákoliv	≥ 0,35 a ≥ 25 % hodnoty Nil			
	< 0,35 nebo ≥ 0,35 a < 25 % hodnoty Nil	< 0,35 nebo ≥ 0,35 a < 25 % hodnoty Nil	≥ 0,5	Negativní	Infekce <i>M. tuberculosis</i> NENÍ pravděpodobná
> 8,0§	< 0,35 nebo ≥ 0,35 a < 25 % hodnoty Nil	< 0,35 nebo ≥ 0,35 a < 25 % hodnoty Nil	< 0,5	Nejednoznačný‡	Pravděpodobnost infekce <i>M. tuberculosis</i> není možné stanovit
		Jakákoliv		Nejednoznačný‡	Pravděpodobnost infekce <i>M. tuberculosis</i> není možné stanovit

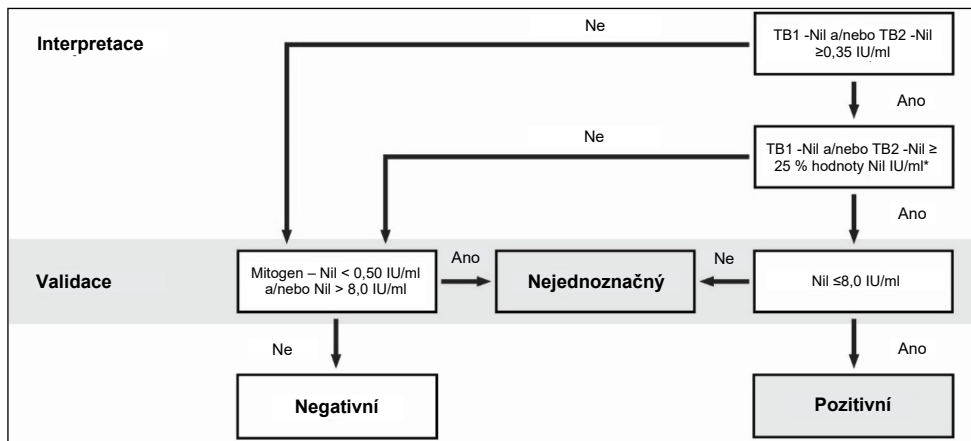
* Odezvy na pozitivní kontrolu Mitogen (a občas na TBC Antigeny) mohou být mimo rozsah čtečky mikrotitračních destiček. To nemá žádný dopad na výsledky testu. Hodnoty > 10 ml označuje software QFT-Plus jako > 10 IU/ml.

† V případech, kdy neexistuje podezření na infekci *M. tuberculosis*, mohou být původně pozitivní výsledky ověřeny opakovaným testováním původních vzorků plazmy v duplikátu analýzou QFT-Plus ELISA. Pokud je opakované testování jednoho nebo obou replikátů pozitivní, musí být test dané osoby považován za pozitivní.

‡ Možné příčiny viz část „Řešení potíží“.

§ V klinických studiích mělo méně než 0,25 % subjektů hladiny IFN- γ > 8,0 IU/ml u hodnoty Nil.

Magnituda měřené hladiny IFN- γ se nemůže korelovat se stádiem nebo stupněm infekce, úrovní imunitní odpovědi nebo pravděpodobností progresu do aktivního onemocnění. Pozitivní odezva TBC u osob, které jsou negativní na Mitogen je vzácná, ale docházelo k ní u pacientů s aktivní TBC. To indikuje, že odezva IFN- γ na TBC Antigen je větší než na Mitogen, což je možné, protože hladina Mitogenu nestimuluje maximálně produkci IFN- γ lymfocyty.



* Aby byly platné výsledky TB1 mínus Nil nebo TB2 mínus Nil, musí být hodnota množství $\geq 25\%$ Nil IU/ml ze stejné zkumavky jako původní výsledek $\geq 0,35$ IU/ml.

Obrázek 6. Schématické znázornění interpretace QFT-Plus

Omezení

Výsledky testů QFT-Plus musí být použity společně s epidemiologií každého jedince, současným zdravotním stavem a dalšími diagnostickými hodnoceními.

Výsledky osob s hodnotami Nil většími než 8,0 IU/ml jsou klasifikovány jako „nejednoznačné“, protože o 25 % vyšší odezva na antigeny TBC může být mimo rozsah měření analýzy.

Nespolehlivé nebo neprůkazné výsledky se mohou objevit v důsledku:

- Odchyly od postupu popsaného v tomto příbalovém letáku.
- Nadměrné hladiny IFN- γ v krevním oběhu nebo přítomnost heterofilních protilátek
- Uplynutí delší doby od odběru vzorku krve do inkubace při 37 °C než 16 hodin. Toto neplatí, pokud se používá pracovní postup se zkumavkou obsahující heparin lithný nebo sodný při teplotě 2–8 °C.

Výkonostní charakteristiky

Klinické studie

Vzhledem k tomu, že neexistuje žádný definitivní standardní test pro potvrzení nebo vyloučení latentní tuberkulózy (LTBI), nelze prakticky vyhodnotit odhad citlivosti a specificity pro QFT-Plus. Přibližná specificita testu QFT-Plus byla stanovena vyhodnocením míry falešně pozitivních výsledků u osob s nízkým rizikem (bez známých rizikových faktorů) nakažení tuberkulózou. Přibližná citlivost byla stanovena vyhodnocením skupin pacientů nemocných tuberkulózou, která byla potvrzena kultivací.

Specificita

Byla provedena studie ke stanovení specificity testu QFT-Plus u 409 subjektů. Demografické informace a rizikové faktory expozice TBC byly stanoveny pomocí standardizovaného dotazníku během testování.

V souhrnu zjištění u 2 skupin pacientů s nízkým rizikem (bez známých rizikových faktorů) infekce tuberkulózou, činila celková specificita QFT-Plus 97,6 % (399/409) (Tabulka 3 a Tabulka 4).

Tabulka 3. Výsledky studie specificity testu QFT-Plus podle pracoviště studie

Studie	Pozitivní	Negativní	Nejednoznačný	Specificita (95 % CI)
Japonsko	4	203	0	98 % (95–100 %)
Austrálie	6	196	0	97 % (94–99 %)

Tabulka 4. Výsledky studie specifacity testu QFT-Plus podle zkumavky TBC Antigen

Studie	TB1	TB2	QFT-Plus
Pozitivní	5	10	10
Negativní	404	399	399
Nejednoznačný	0	0	0
Specifická (95 % CI)	98,8 % (97,2–99,6)	97,6 % (95,6–98,8)	97,6 % (95,6–98,8)

Citlivost u aktivní TBC

Vzhledem k tomu, že neexistuje žádný definitivní standardní test pro LTBI, je vhodnou náhradou mikrobiologická kultivace *M. tuberculosis*, protože pacienti s aktivním onemocněním jsou zjevně infikováni. K vyhodnocení citlivosti QFT-Plus byly testovány osoby s podezřením na TBC ve 4 pracovištích v Austrálii a Japonsku, u nichž byla následně kultivací potvrzena infekce *M. tuberculosis* (Tabulka 5 a Tabulka 6). Pacienti byli před odběrem krve pro účely testu QFT-Plus léčeni po dobu kratší než 14 dní.

Ve shrnutí výsledků 4 skupin pacientů s pozitivní kultivací na *M. tuberculosis* byla stanovena celková citlivost testu QFT-Plus u aktivní TBC 95,3 % (164/172). Ve 4 skupinách bylo 159 pacientů pozitivních podle zkumavek TB1 i TB2, 1 pacient byl pozitivní pouze dle zkumavky TB1 a 4 pacienti byli pozitivní pouze dle TB2. Celkem 1,1 % (2/174) výsledků bylo nejednoznačných. Výsledek TB2 správně identifikoval 1 pacienta s potvrzenou kultivací, jehož výsledek by byl jinak nejednoznačný (nízký Mitogen) dle samotného výsledku TB1 (viz Tabulka 5 a Tabulka 6).

Tabulka 5. Výsledky studie citlivosti testu QFT-Plus podle pracoviště studie

Pracoviště studie	Pozitivní	Negativní	Nejednoznačný	Citlivost* QFT-Plus (95 % CI)
Pracoviště 1 v Japonsku	36	7	0	84 % (69–93)
Pracoviště 2 v Japonsku	53	1	2	98 % (90–100)
Pracoviště 3 v Japonsku	54	0	0	100 % (93–100)
Australské pracoviště	21	0	0	100 % (84–100)

* Citlivost je založena na celkovém počtu platných testů, s vyloučením nejednoznačných výsledků.

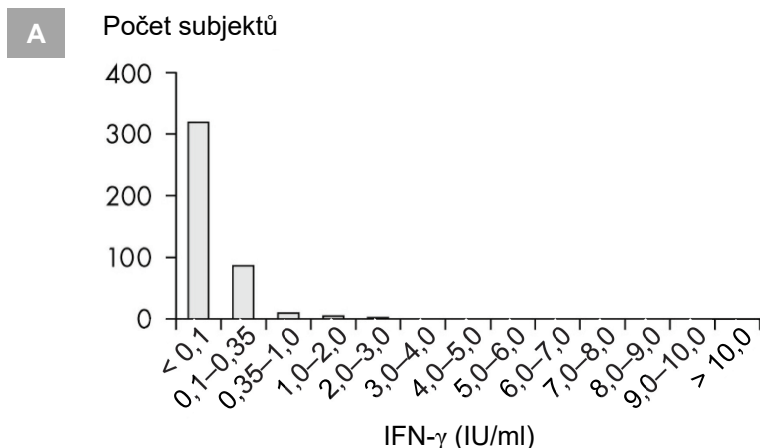
Tabulka 6. Výsledek studie citlivosti testu QFT-Plus podle zkumavky TBC antigen

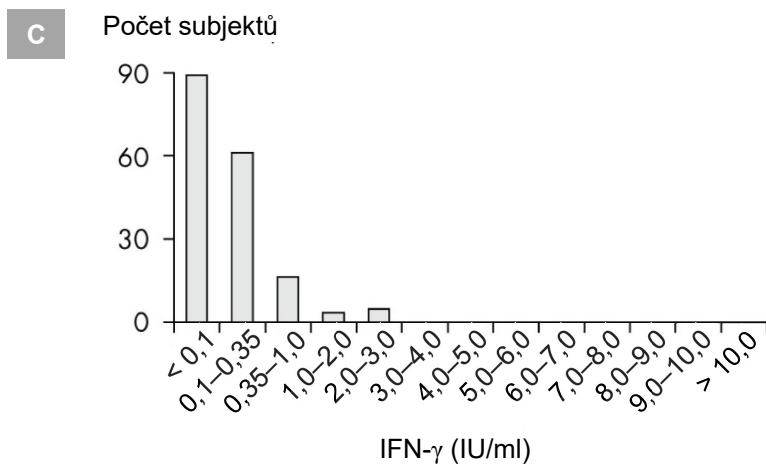
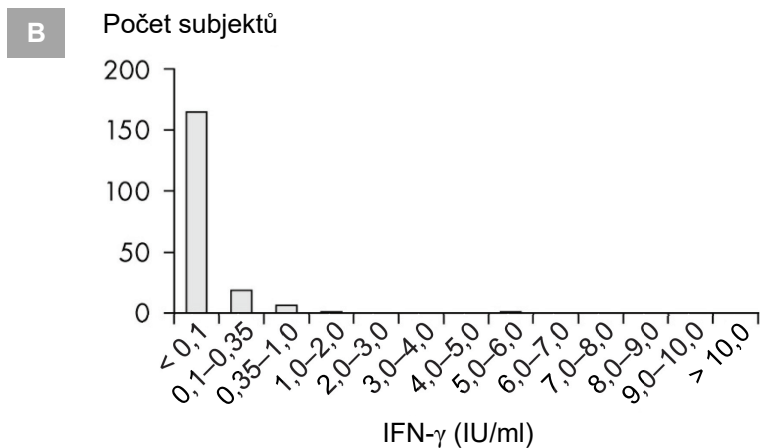
	TB1	TB2	QFT-Plus
Pozitivní	160	163	164
Negativní	11	9	8
Nejednoznačný	3	2	2
Citlivost [†] (95 % CI)	93,6% (88,8–96,7)	94,8 % (90,3–97,6)	95,3 % (90,9–97,9)

* Citlivost je založena na celkovém počtu platných testů, s vyloučením nejednoznačných výsledků.

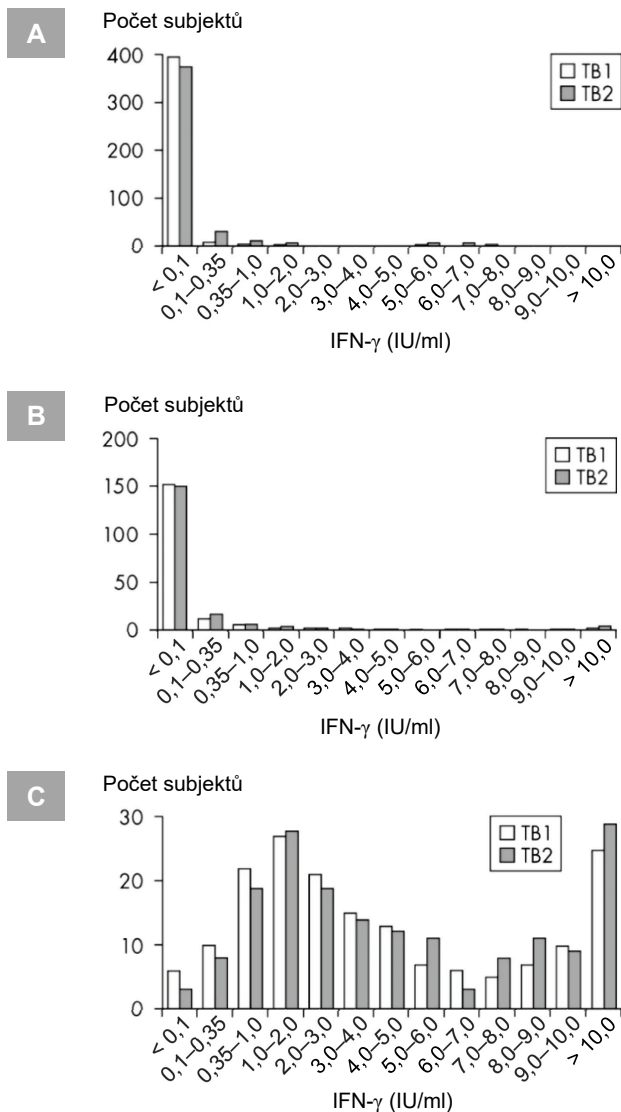
Pozorované distribuce reakcí – stratifikace dle rizika

Během klinických hodnocení byla pozorována řada různých reakcí testu IFN- γ na zkumavky TB1, TB2 a kontrolní zkumavky a byly stratifikovány podle rizika infekce *M. tuberculosis* (obrázky 7–9). Skupina se smíšeným rizikem se skládá ze zástupců pacientů a subjektů ze všeobecné testované populace, včetně subjektů s rizikovými faktory expozice TBC i bez nich a u nichž nebyl pravděpodobný výskyt aktivní TBC (tj. LTBI).

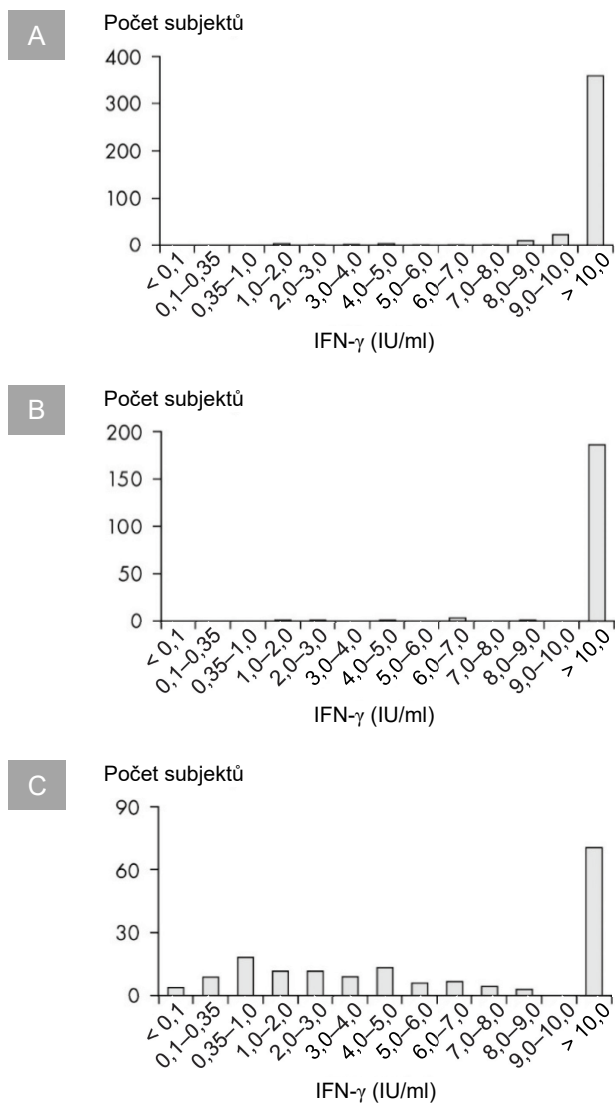




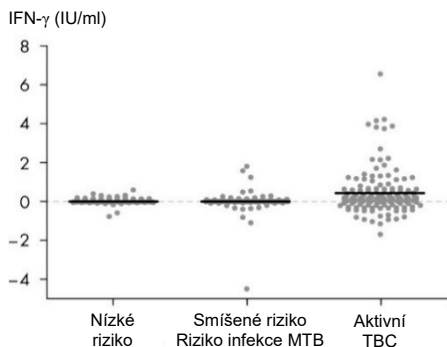
Obrázek 7. Distribuce Nil. **A.** Distribuce hodnot Nil u populace s nízkým rizikem (n = 409). **B.** Distribuce hodnot Nil u populace se smíšeným rizikem (n = 194). **C.** Distribuce hodnot Nil u populace s kultivací potvrzenou infekcí *M. tuberculosis* (n = 174).



Obrázek 8. Distribuce TB1 a TB2 (bez nulové kontroly). **A.** Distribuce hodnot TB1 a TB2 (bez nulové kontroly) u populace s nízkým rizikem (n = 409). **B.** Distribuce hodnot TB1 a TB2 (bez nulové kontroly) u populace se smíšeným rizikem (n = 194). **C.** Distribuce hodnot TB1 a TB2 (bez nulové kontroly) u populace s kultivací potvrzenou infekcí *M. tuberculosis* (n = 174).



Obrázek 9. Distribuce Mitogenu (bez nulové kontroly). **A.** Distribuce hodnot Mitogenu (bez nulové kontroly) u populace s nízkým rizikem (n = 409). **B.** Distribuce hodnot Mitogenu (bez nulové kontroly) u populace se smíšeným rizikem (n = 194). **C.** Distribuce hodnot Mitogenu (bez nulové kontroly) u populace s kultivací potvrzenou infekcí *M. tuberculosis* (n=169).

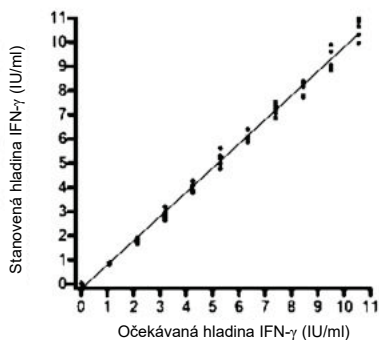


Obrázek 10. Pozorovaný rozdíl mezi hodnotami TB1 a TB2 (bez nulové kontroly), stratifikovaný podle rizika. Populace s nízkým rizikem (n = 409), populace se smíšeným rizikem (n = 189), a populace s kultivací potvrzenou infekcí *M. tuberculosis* (n = 141). Hodnoty TB1 byly odečteny od hodnot TB2. Subjekty s hodnotami pro TB1 nebo TB2 > 10,0 IU/ml byly vyloučeny, protože byly mimo lineární rozmezí analýzy.

Funkční vlastnosti analýzy

Linearita analýzy QFT-Plus ELISA se prokázala náhodným umístěním 5 replikátů 11 směsí plazmy se známými koncentracemi IFN- γ na destičku ELISA. Lineární regresní čára měla sklon $1,002 \pm 0,011$ a korelační koeficient 0,99 (Obrázek 11).

Mez detekce analýzy QFT-Plus ELISA je 0,065 IU/ml a nebyl prokázán žádný důkaz efektu „high-dose hook“ (prozóna) u koncentrací IFN- γ 10 000 IU/ml.



Obrázek 11. Profil linearity analýzy QFT-Plus ELISA

Nepřesnost mezi analýzami a v rámci analýz (% CV) u analýzy QFT-Plus ELISA byla stanovena testováním 20 vzorků plazmy s různými koncentracemi IFN- γ ve 3 replikátech, 3 laboratořích, ve 3 dnech, které po sobě nenásledovaly, a 3 různými obsluhami. Každý vzorek byl tedy testován 27krát, v 9 nezávislých testovacích cyklech. Jedním ze vzorků byla kontrola Nil, u níž byla vypočtena koncentrace IFN- γ 0,08 IU/ml (95 % CI: 0,07–0,09). u zbývajících 19 vzorků plazmy byly koncentrace v rozsahu 0,33 (95 % CI: 0,31–0,34) až 7,7 IU/ml (95 % CI: 7,48–7,92).

Nepřesnost během jednoho cyklu analýzy nebo mezi jednotlivými analýzami byla stanovena dle průměru hodnot %CV pro každý test plazmy obsahující IFN- γ z každého cyklu testu destičky (n = 9) a v rozsahu od 4,1 do 9,1 % CV. Průměrná hodnota kovariance v rámci cyklu testu (\pm 95 % CI) činila 6,6 % \pm 0,6 %. Průměrná nulová hodnota IFN- γ plazmy činila 14,1 % CV.

Celková nepřesnost nebo nepřesnost mezi analýzami byla stanovena porovnáním 27 vypočítaných koncentrací IFN- γ pro každý testovaný vzorek plazmy. Nepřesnost mezi analýzami byla v rozsahu od 6,6 do 12,3 % CV. Celková průměrná hodnota % CV (\pm 95 % CI) činila 8,7 % \pm 0,7 %. Hodnota plazmy s nulovou hodnotou IFN- γ činila 26,1 % CV. Tato úroveň odchylky se dala očekávat, protože vypočítaná koncentrace IFN- γ je nízká a odchylka v okolí nízkého odhadu koncentrace bude větší než při vyšších koncentracích.

Reprodukovatelnost testu QFT-Plus byla stanovena pomocí vzorků krve od 102 subjektů se smíšenými rizikovými faktory infekce *M. tuberculosis*. Byli posuzováni tři různí pracovníci obsluhy a laboratorní podmínky.

Pro každý subjekt a celkem pro všech 306 subjektů byla stanovena celkem 3 diagnostická stanovení. Celkově činila diagnostická reprodukovatelnost 99 % (95 % CI: 97,2–99,7), přičemž diagnostický výsledek byl shodný u 303 z 306 stanovení. Výsledky 3 subjektů, které se blížily mezní hodnotě, byly přičítány celkové odchylce.

Diagnóza LTBI

Bylo publikováno množství studií, které prokazují účinnost testu QFT, předchůdce testu QFT-Plus u populací s různým rizikem infekce MTB. Nejdůležitější zjištění z některých vybraných studií jsou uvedena v Tabulka 7.

Tabulka 7. Vybrané publikované studie o QFT

Populace/podmínka	Výsledky a zjištění	Celkový počet publikovaných studií
Pediatrické	Prokázána účinnost u dětí, včetně dětí mladších 5 let věku (45–46) s vyšší přesností než u kožního testu ELISpot-based IGRAs (8). Do současné doby nejrozsáhlejší studie porovnávající QFT a TST u dětí z Vietnamu, Filipín a Mexika podporuje preferenci použití testu QFT před tuberkulinovým kožním testem (TST) při testování dětí narozených v zahraničí na LTBI (46). Studie s omezeným kontaktem ukazuje lepší prediktivní hodnotu než u TST u dětí (47) a 8násobně vyšší predikci rizika progresu k aktivní TBC během dvou let mezi těmi, kteří přešli na test QFT v porovnání s těmi, kteří k použití tohoto testu nepřešli (48). Neshoda mezi výsledky negativními u QFT/pozitivními u TST je vysoká u dětí očkovaných BCG (46, 49), avšak to nemělo vliv na reakci na Mitogen u dětí do věku 5 let (49) a nízké nejednoznačné výsledky během rutinního skríningu dětí imigrantů (46).	152
Těhotenství	V prostředí nízké zátěže byla účinnost testu QFT stejně dobrá u každého trimestru těhotenství s porovnatelnými výsledky u netěhotných žen; test je mnohem více specifický, nejméně stejně tak citlivý a může představovat lepší predikci progresu onemocnění než je tomu u TST (50). V prostředí s vysokou zátěží byl test QFT v průběhu těhotenství stabilnější a lépe stanovil prevalenci LTBI v porovnání s TST, i když závěr autorů byl, že těhotenství má vliv na test QFT i TST (51).	6

Tabulka pokračuje na další straně

Tabulka 7. Vybrané publikované studie o QFT (pokračování)

Populace/podmínka	Výsledky a zjištění	Celkový počet publikovaných studií
HIV/AIDS	Na test IGRA i TST má vliv infekce HIV a důkazy naznačují, že je při interpretaci výsledků u pacientů s počtem CD4+ < 200 (52) nutné postupovat s opatrností. Ukázalo se, že test QFT je ovlivněn méně než ELISpot-based IGRA a TST (53–55). Jedna návštěva s testem IGRA překonává problémy testu TST se špatnými výsledky v této populaci (53).	101
Imunosupresivní léčby	Test QFT je méně ovlivněn imunosupresivní léčbou než TST a lépe koreluje s rizikovými faktory TBC (23, 27). Test QFT má vyšší citlivost u pacientů s revmatickým onemocněním (23, 56, 57) a vyšší specifitu než TST, což minimalizuje falešně pozitivní výsledky a snižuje riziko zbytečné léčby, které by hrozilo u TST (23, 57, 58).	112
Pracovníci ve zdravotnictví	Ukázalo se, že je specifitější s méně falešně pozitivními výsledky než TST a také nákladově efektivnější než TST (59–62). Při sériovém testování se očekává variabilita v okolí prahové hodnoty vzhledem k dichotomnímu meznímu bodu a vlastní variabilitě biologického testu (63). Studie ukázaly vyšší míru konverze/reverze než u TST při sériovém testování pracovníků ve zdravotnictví s nízkým rizikem (64, 65). Americké centrum pro kontrolu a prevenci nemocí (CDC) potvrzuje, že mírná kritéria k definici konverze IGRA může vytvořit větší konverzi, než je pozorována u přísnějších kvantitativních kritérií TST a ukázalo se, že strategie opakovaného testování jsou účinné při zvládnutí jevu konverze/reverze (65–68).	111
Kontakty s osobami s TBC	Vyšší PPV a NPV než u TST (47); výhoda jediné návštěvy pro ty, kteří se pravděpodobně již nedostaví (63), lepší korelace vůči expozici (69), což je obzvláště významné u osob očkováných BCG a populací ze zemí, kde probíhá očkování BCG (70, 71).	89
Transplantace	Prokázalo se, že je alespoň tak účinný jako TST, avšak je méně ovlivněn konečnou fází onemocnění orgánu než TST (22).	23

Tabulka pokračuje na další straně

Tabulka 7. Vybrané publikované studie o QFT (pokračování)

Populace/podmínka	Výsledky a zjištění	Celkový počet publikovaných studií
Diabetes	Rozporuplný důkaz z malého počtu publikací s omezeným počtem subjektů. Při studii z oblasti s nízkou zátěží se zjistilo, že citlivost QFT není snížena diabetem u pacientů s TBC (72). Studie prováděná v Tanzanii, v prostředí s vysokou zátěží, ukázala negativní vliv diabetu na produkci IFN γ , nebrala však v úvahu negativně ovlivňující faktory jako infekce HIV a napadení cizopasníky (73). Ve vietnamských studiích u 838 diabetiků s podezřením na TBC v důsledku abnormálních výsledků CXR nebo s aktivní TBC potvrzenou kultivací (n = 128), pozitivita QFT byla stejná nebo vyšší než u mezních hodnot TST 10 a 15 mm (74).	9
Onemocnění ledvin v konečném stádiu	Pozitivní výsledky QFT korelují s rizikovými faktory pro TBC lépe než TST a jsou méně spojovány s BCG (75).	45
Migranti	Studie prokázaly, že test QFT není ovlivněn BCG a věkem, na rozdíl od TST (74). Ukázalo se, že test QFT je nákladově neefektivnější způsob (76). V prostředí s nízkou zátěží pochází většina zjištěných infekcí TBC od osob narozených v cizině a z reaktivece latentní TBC po jejich příjezdu (77). Do současné doby nejrozsáhlejší studie porovnávající QFT a TST u dětí imigrantů podporuje preferenci použití testu QFT před tuberkulinovým kožním testem (TST) při testování dětí narozených v zahraničí na latentní infekci TBC (46).	29

Technické údaje

Nejednoznačné výsledky

Nejednoznačné výsledky jsou vzácné a mohou souviset se stavem imunity testovaných osob, avšak mohou se také vztahovat k množství technických faktorů, pokud není dodržován výše uvedený návod k použití.

Pokud existuje podezření, že došlo k technickým problémům při skladování činidel, odběru nebo manipulaci se vzorky krve, zopakujte celý test QFT-Plus s novým vzorkem krve. Zopakování testování ELISA stimulované plazmy je možné provést, pokud je podezření na nedostatečné promytí nebo jakoukoliv jinou odchylku od postupu pro test ELISA. Nejednoznačné výsledky testů v důsledku nízkých hodnot mitogenu nebo vysokých hodnot Nil by se neměly při opakovaném testování změnit, pokud nedošlo k chybě při testování ELISA. Neurčité výsledky je nutné vykazovat tak, jak jsou. Lékaři si mohou zvolit opakovaný odběr vzorků nebo provedení jiných postupů dle potřeby.

Sražení vzorků plazmy

Pokud se při dlouhodobém skladování plazmy objeví ve vzorcích sraženiny fibrinu, odstředte vzorky, aby se sražený materiál usadil a napipetování bylo snadnější.

Návod na řešení potíží

Uvedené návody mohou pomoci při řešení potíží, které mohou nastat při práci se systémem. Další informací naleznete také v technických údajích uvedených na stránkách www.QuantiFERON.com. Kontaktní údaje naleznete na zadní straně.

Řešení potíží s analýzou ELISA

Nespecifické zbarvení

Možná příčina	Řešení
a) Nedostatečné promytí destičky	Promyjte destičku alespoň 6krát pomocí 400 µl promývacího pufru na jamku. V závislosti na použitém promývacím činidle může být zapotřebí více než 6 promývacích cyklů. Jamky by se měly ponechat mezi každým cyklem namočený alespoň po dobu 5 sekund.
b) Křížová kontaminace jamek ELISA	Při pipetování a mísení vzorku buďte opatrní, aby se minimalizovalo riziko kontaminace.
c) Prošlá doba použitelnosti soupravy/komponent	Ujistěte se, že je souprava použita do data použitelnosti. Ujistěte se, že je rekonstituovaný standard a konjugát 100× koncentrát použit do tří měsíců od data rekonstituce.
d) Kontaminace roztoku enzymového substrátu	Pokud se objeví modré zbarvení, roztok zlikvidujte. Ujistěte se, že používáte čisté nádoby na činidla.
e) Mísení plazmy ve zkumavkách QFT-Plus před odběrem	Po odstředění se před odběrem plazmy vyhněte pipetování nahoru a dolů nebo míchání plazmy. Vždy dbejte na to, abyste nenarušili materiál na povrchu gelu.

Nízké hodnoty optické hustoty pro standardy

Možná příčina	Řešení
a) Chyba ředění standardu	Ujistěte se, že ředění standardu soupravy jsou připravena správně dle pokynů v tomto příbalovém letáku.
b) Chyba pipetování	Ujistěte se, že je zařízení kalibrováno a používáno dle pokynů výrobce.
c) Příliš nízká teplota inkubace	Inkubaci při analýze ELISA provádějte při pokojové teplotě (22 ± 5 °C).
d) Příliš krátká doba inkubace	Inkubace destičky s konjugátem, standardy a vzorky musí trvat 120 ± 5 minut. Roztok enzymového substrátu se inkubuje na destičce po dobu 30 minut.
e) Nesprávný filtr čtečky destiček	Hodnoty destičky musí být načteny s filtrem o vlnové délce 450 nm s referenčním filtrem od 620 do 650 nm.

Řešení potíží s analýzou ELISA

- | | |
|---|--|
| f) Příliš chladná činidla | Všechna činidla, s výjimkou konjugátu 100× koncentrátu, musí být před zahájením analýzy temperována na pokojovou teplotu. To může trvat přibližně jednu hodinu. |
| g) Prošlá doba použitelnosti soupravy/komponent | Ujistěte se, že je souprava použita do data použitelnosti. Ujistěte se, že je rekonstituovaný standard a konjugát 100× koncentrát použit do 3 měsíců od data rekonstituce. |

Vysoké pozadí

- | Možná příčina | Řešení |
|---|--|
| a) Nedostatečné promytí destičky | Promyjte destičku alespoň 6krát pomocí 400 µl promývacího pufru na jamku. V závislosti na použitém promývacím činidle může být zapotřebí více než 6 promývacích cyklů. Jamky by se měly ponechat mezi každým cyklem namočený alespoň po dobu 5 sekund. |
| b) Příliš vysoká teplota inkubace | Inkubaci při analýze ELISA provádějte při pokojové teplotě (22 ± 5 °C). |
| c) Prošlá doba použitelnosti soupravy/komponent | Ujistěte se, že je souprava použita do data použitelnosti. Ujistěte se, že je rekonstituovaný standard a konjugát 100× koncentrát použit do 3 měsíců od data rekonstituce. |
| d) Kontaminace roztoku enzymového substrátu | Pokud se objeví modré zbarvení, roztok zlikvidujte. Ujistěte se, že používáte čisté nádoby na činidla. |

Nelineární standardní křivka a variabilita duplikátu

- | Možná příčina | Řešení |
|---|--|
| a) Nedostatečné promytí destičky | Promyjte destičku alespoň 6krát pomocí 400 µl promývacího pufru na jamku. V závislosti na použitém promývacím činidle může být zapotřebí více než 6 promývacích cyklů. Jamky by se měly ponechat mezi každým cyklem namočený alespoň po dobu 5 sekund. |
| b) Chyba ředění standardu | Ujistěte se, že ředění standardu jsou připravena správně dle pokynů v tomto příbalovém letáku. |
| c) Nedostatečné promíchání | Činidla důkladně promíchejte tak, že před jejich přidáním na destičku zkumavku převrátíte nebo lehce protřepete na třepače. |
| d) Nejednotná technika pipetování nebo přerušení během přípravy analýzy | Přidání vzorku a standardu proveďte bez přerušení procesu. Všechna činidla musí být připravena před zahájením analýzy. |

Informace o výrobku a technické pokyny jsou zdarma k dispozici u společnosti QIAGEN, prostřednictvím vašeho dodavatele nebo na stránce www.QuantiFERON.com.

Literatura

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.

Symbols

Na obalu a značení se mohou objevit následující symboly:

Symbol	Definice symbolu
 2 × 96	Dostatečné pro přípravu 2 × 96 vzorků
	Zákonný výrobce
	Symbol CE-IVD
	Pro diagnostiku in vitro
	Číslo šarže
	Katalogové číslo
	Globální číslo obchodní položky
	Datum použitelnosti
	Teplotní omezení
	Viz návod k použití
	Nepoužívejte opakovaně
	Chraňte před slunečním světlem
	Číslo materiálu
Rn	R označuje revizi návodu k použití a n je číslo revize

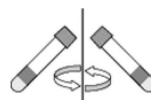
Kontaktní údaje

Pro technickou podporu a další informace volejte na bezplatnou linku 00800-22-44-6000, navštivte náš technický servis na adrese **www.qiagen.com/contact** nebo kontaktujte oddělení technické podpory QIAGEN (viz zadní strana nebo navštivte webové stránky **www.qiagen.com**).

Zkrácený postup testu

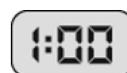
Fáze 1 – inkubace krve

1. Odeberte krev pacienta do odběrových zkumavek a poté desetkrát (10) dobře protřepejte zkumavky tak, aby došlo ke smočení celé vnitřní stěny zkumavek krví. Tím se rozpustí antigeny na stěnách zkumavky.
2. Zkumavky inkubujte ve vzpřímené poloze při teplotě $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ po dobu 16 až 24 hodin.
3. Po inkubaci odstředte zkumavky po dobu 15 minut při 2000 až $3000\times g$ RCF (g), aby se oddělila plazma a červené krvinky.
4. Po odstředění se před odběrem plazmy vyhněte pipetování nahoru a dolů nebo míchání plazmy. Vždy dbejte na to, abyste nenarušili materiál na povrchu gelu.



Fáze 2 – IFN- γ ELISA

1. Ponechte temperovat součásti analýzy ELISA, s výjimkou konjugátu $100\times$ koncentrátu, na pokojovou teplotu ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) alespoň po dobu 60 minut.
2. Rekonstituujte standard soupravy na $8,0\text{ IU/ml}$ pomocí deionizované nebo destilované vody. Připravte čtyři (4) standardní ředění.
3. Rekonstituujte mrazem sušený konjugát $100\times$ koncentrát pomocí destilované nebo deionizované vody.

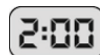


4. Připravte pracovní roztok konjugátu v zeleném ředícím roztoku a do všech jamek přidejte 50 μ l.



5. Do příslušných jamek přidejte 50 μ l testovaných vzorků plazmy a 50 μ l standardů. Promíchejte pomocí třepačky.

6. Inkubujte po dobu 120 ± 5 minut při pokojové teplotě.



7. Promyjte jamky alespoň 6krát pomocí 400 μ l promývacího pufru na jamku.



8. Přidejte do jamek 100 μ l roztoku enzymového substrátu. Promíchejte pomocí třepačky.



9. Inkubujte po dobu 30 minut při pokojové teplotě.



10. Přidejte do jamek 50 μ l roztoku enzymového substrátu. Promíchejte pomocí třepačky.



11. Zjistěte výsledné hodnoty při 450 nm pomocí referenčního filtru 620 až 650 nm.



12. Provedte analýzu výsledků.



Významné změny

Část	Strana	Změny
Různé	Různé	Přidány pokyny týkající se použití zkumavky obsahující heparin lithný nebo sodný
Různé	Různé	Přidány pokyny týkající se pracovního postupu odběru krve při teplotě 2–8 °C
Různé	Různé	Víčko destičky je nyní potřebný materiál, který není součástí soupravy

Historie revizí příručky

Dokument	Změny
R6 04/2019	Změny týkající se heparinu lithného/sodného Nové pracovní pokyny týkající se pracovního postupu odběru krve při teplotě 2–8 °C Víčka destiček odstraněna z destiček QF

Ochranné známky: QIAGEN®, QFT®, QuantIFERON® (skupina QIAGEN); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.).

Omezená licenční smlouva pro QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA

Používáním tohoto produktu vyjadřuje kterýkoliv kupující nebo uživatel produktu svůj souhlas s následujícími podmínkami:

1. Tento výrobek se může používat výhradně v souladu s protokoly poskytnutými s tímto výrobkem a tímto příbalovým letákem a pro použití pouze s komponenty dodanými v soupravě. Společnost QIAGEN neposkytuje žádnou licenci svých práv k duševnímu vlastnictví k používání nebo začlenění součástí, které jsou obsaženy v tomto panelu, společně s kterýmikoliv součástmi, které nejsou v této soupravě obsaženy, s výjimkou případů popsanych v protokolech, které jsou dodávány s výrobkem, a tomto příbalovém letáku.
2. Společnost QIAGEN neposkytuje žádnou jinou záruku než výslovně stanovené licence v tom smyslu, že tento panel a/nebo jeho použití nenarušuje práva třetích stran.
3. Tato souprava a její součásti jsou licencovány jen k jednorázovému použití a je zakázáno je znovu používat, renovovat nebo znovu prodávat, pokud není stanoveno jinak společností QIAGEN.
4. Společnost QIAGEN specificky odmítá jakékoliv další výslovné nebo nepřímé licence s výjimkou těch, které jsou uvedeny výslovně.
5. Kupující a uživatel této sady souhlasí s tím, že nepodnikne ani nikomu jinému neumožní podniknout žádné kroky, které by mohly vést k jakémukoli shora zakázané činnosti nebo ji usnadnit. Společnost QIAGEN může prosazovat zájazy tohoto ujednání o omezené licenci u kteréhokoliv soudu, a bude vyžadovat kompenzaci za veškeré náklady vynaložené na vyšetřování a soudní výlohy včetně poplatků za právní zástupce v případě jakéhokoliv soudního sporu s cílem prosadit toto ujednání o omezené licenci nebo kteréhokoliv ze svých práv k duševnímu vlastnictví v souvislosti se soupravou nebo jejími součástmi.

Pro aktualizovanou licenční ustanovení viz www.qiagen.com.

© 2019 QIAGEN. Všechna práva vyhrazena.

www.QuantiFERON.com

Asie a Pacifik | techservice-ap@qiagen.com

Evropa | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Střední východ/Afrika | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Latinská Amerika (mimo Brazílii nebo Mexiko) | techservice-latam@qiagen.com

Poznámky

Poznámky

