

april 2019

Navodila za uporabo QuantiFERON[®]-TB Gold Plus (QFT[®]-Plus) ELISA



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Različica 1

IVD

Za diagnostično uporabo in vitro

Test interferona gama (IFN- γ) za merjenje reakcij polne krvi na peptidne antigene ESAT-6 in CFP-10



REF

622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
Nemčija

R6

MAT

1083163SL

Sample to Insight



Vsebina

Namen uporabe	5
Povzetek in obrazložitev testa	5
Princip testa	7
Trajanje testa	9
Sestavni deli in shranjevanje	10
Potrebna oprema, ki ni vključena v dobavo	12
Shranjevanje vzorca in ravnanje z njim	13
Epruvete za odvzem krvi	13
Reagenti kompleta	13
Rekonstituirani in odvečni reagenti	13
Opozorila in previdnostni ukrepi	14
Opozorila	14
Varnostni ukrepi	15
Odvzem vzorcev in ravnanje z njimi	18
Navodilo za uporabo	24
1. faza – inkubacija vzorca krvi in odvzem plazme	24
2. faza – IFN- γ ELISA	25
Izračunavanje in interpretacija rezultatov	30
Izdelava standardne krivulje	30
Kontrola kakovosti	31

Interpretacija rezultatov	31
Omejitve	34
Značilnosti učinkovitosti	35
Klinične študije	35
Značilnosti izvedbe testa	41
Tehnične informacije	46
Nejasni rezultati	46
Vzorci strjene plazme	46
Navodila za odpravljanje težav	47
Reference	49
Simboli	59
Kontaktni podatki	60
Skrajšani testni postopek	61
1. faza – inkubacija krvi	61
2. faza – IFN - γ ELISA	61
Večje spremembe	63
Priročnik zgodovine revizij	63

Namen uporabe

QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) je diagnostični test in vitro, pri katerem se z uporabo peptidnega koktajla simulira beljakovine ESAT-6 in CFP-10 za stimulacijo celic v heparinizirani polni krvi. Zaznavanje interferona gama- γ (IFN- γ) z encimskoimunsko metodo (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) se uporablja za prepoznavanje reakcij in vitro na peptidne antigene, ki so povezani z okužbo z bakterijo *Mycobacterium tuberculosis*.

QFT-Plus je posredni test za okužbo z bakterijo *M. tuberculosis* (vključno z boleznijo) in je namenjen za uporabo skupaj z oceno tveganja, radiografijo ter drugimi medicinskimi in diagnostičnimi ocenami.

Povzetek in obrazložitev testa

Tuberkuloza je nalezljiva bolezen, ki jo povzroči okužba s kompleksnimi organizmi *M. tuberculosis* (MTB) (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*), ki se običajno prek zraka kapljično širijo na nove gostitelje z bolnikov s tuberkulozo. Na novo okuženi posameznik lahko zboli za tuberkulozo v nekaj tednih ali mesecih, vendar večina okuženih posameznikov ostane zdravih. Pri nekaterih posameznikih se pojavi latentna okužba s tuberkulozo (latent tuberculosis infection, LTBI), tj. nenalezljiva asimptomatska okužba, ki bi se lahko razvila v tuberkulozo čez več mesecev ali let. Glavni namen diagnosticiranja LTBI je zagotavljanje možnosti za preprečitev tuberkuloze. Do nedavnega je bil tuberkulinski test na koži (tuberculin skin test, TST) edina metoda za diagnosticiranje LTBI. Občutljivost kože na tuberkulin se razvije v od 2 do 10 tednih po okužbi. Nekateri okuženi posamezniki, vključno takšni z različnimi boleznimi, ki ovirajo delovanje imunskega sistema, in takšnimi, ki takih bolezni nimajo, nimajo reakcije na tuberkulin. Nasprotno pa nekateri posamezniki, pri katerih okužba z bakterijo *M. tuberculosis* ni verjetna, kažejo občutljivost na tuberkulin in imajo pozitivne rezultate TST po cepljenju z bacilom Calmette-Guérin (Bacille Calmette-Guérin, BCG), okužbo z mikobakterijo, ki ni kompleksna *M. tuberculosis*, ali drugih nedoločenih dejavnikov.

LTBI je treba razlikovati od tuberkuloze, bolezni, o kateri je treba poročati, ki običajno vključuje pljuča in spodnji dihalni trakt, čeprav lahko prizadene tudi druge sisteme organov. Diagnoza tuberkuloze se določi na podlagi ugotovitev iz anamneze, telesnega stanja ter radioloških, histoloških in mikobakterioloških preiskav.

QFT-Plus je test za merjenje imunskih celičnih reakcij (cell-mediated immune, CMI) na peptidne antigene, ki simulirajo mikobakterijske beljakovine. Beljakovin ESAT-6 in CFP-10 ni v sevih BCG niti v večini netuberkuloznih mikobakterijah, razen v *M. kansasii*, *M. szulgai* in *M. marinum* (1). Posamezniki, okuženi s kompleksnimi organizmi *M. tuberculosis*, imajo običajno v svoji krvi limfocite, ki prepoznajo navedene in druge mikobakterijske antigene. Pri tem procesu prepoznavanja nastaja in se sprošča citokin IFN- γ . Podlaga za ta test je ugotavljanje in posledično količinska opredelitev citokina IFN- γ .

Antigeni, ki se uporabljajo pri QFT-Plus, so peptidni koktajl, ki simulira beljakovine ESAT-6 in CFP-10. Številne študije so pokazale, da ti peptidni antigeni stimulirajo reakcije IFN- γ v celicah T posameznikov, okuženih z *M. tuberculosis*, vendar na splošno ne v celicah T neokuženih oseb ali oseb, cepljenih z BCG, brez bolezni ali tveganja za LTBI (1–32). Toda zdravljenja ali bolezni, ki oslabijo delovanje imunskega sistema, lahko zmanjšajo reakcije IFN- γ . Bolniki z nekaterimi drugimi mikobakterijskimi okužbami imajo lahko tudi reakcijo na ESAT-6 in CFP-10, saj so geni, ki kodirajo te beljakovine, prisotni v *M. kansasii*, *M. szulgai* in *M. marinum* (1, 23). Test QFT-Plus je primeren za testiranje za LTBI in je uporaben pripomoček za postavljanje diagnoze kompleksne okužbe z *M. tuberculosis* pri bolnikih. Pozitiven rezultat podpira diagnozo tuberkuloze, vendar je lahko tudi posledica drugih okužb z mikobakterijami (npr. *M. kansasii*). Za potrditev ali izključitev tuberkuloze so potrebne druge medicinske ali diagnostične ocene.

QFT-Plus ima dve različni epruveti antigena TB: TB Antigen Tube 1 (TB1) in TB Antigen Tube 2 (TB2). Obe epruveti vsebujeta peptidne antigene iz antigenov, povezanih s kompleksnim organizmi MTB, in sicer ESAT-6 in CFP-10. Medtem ko epruveta TB1 vsebuje peptide iz antigenov ESAT-6 in CFP-10, ki so zasnovani tako, da izzovejo reakcije CMI v celicah T-pomagalkah – limfocitih CD4⁺, epruveta TB2 vsebuje dodatne peptide, ki so

usmerjeni k indukciji reakcij CMI v CD8⁺ citotoksičnih T-limfocitih. Pri poteku okužbe z MTB celice T CD4⁺ igrajo ključno vlogo pri imunološkem nadzoru prek sproščanja citokina IFN- γ . Dokazi podpirajo vlogo celic T CD8⁺, ki sodelujejo pri obrambi gostitelja pred MTB, tako da proizvajajo IFN- γ in druge topne dejavnike, ki aktivirajo makrofage za zaviranje rasti organizmov MTB, ubijanje okuženih celic ali neposredno razgradnjo znotrajceličnih organizmov MTB (33–35). MTB-specifične celice CD8⁺ so bile zaznane pri osebah z LTBI in aktivno TB, kjer je celice CD8⁺, ki proizvajajo IFN- γ , mogoče pogosto najti (36–38). Poleg tega so ESAT-6- in CFP-10-specifični T-limfociti CD8⁺ opisani kot bolj pogosto zaznani pri osebah z aktivno TB v primerjavi z LTBI in jih je mogoče povezati z nedavno izpostavljenostjo MTB (39–41). MTB-specifične celice T CD8⁺, ki proizvajajo IFN- γ , so bile prav tako odkrite pri osebah z aktivno TB, ki so hkrati okužene z virusom HIV (42, 43), in pri majhnih otrocih s TB (44).

Princip testa

Test QFT-Plus uporablja specializirane epruvete za odvzem krvi, namenjene odvzemanju polne krvi. Kri v epruveh se najprej od 16 do 24 ur inkubira, nato se odvzame plazma in se jo testira za prisotnost IFN- γ , ki nastaja kot reakcija na peptidne antigene.

Test QFT-Plus se izvaja v dveh fazah. Najprej se v posebne epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes, ki vključujejo epruveto Nil, epruveto TB1, epruveto TB2 in epruveto Mitogen, odvzame polna kri. Kri lahko odvezmete tudi v posamezno epruveto za odvzem krvi, ki vsebuje litijev ali natrijev heparin kot antikoagulant in jo nato prenesete v epruvete za odvzem krvi QFT-Plus.

Epruveta Mitogen se v testu QFT-Plus uporablja kot pozitivna kontrola. Prikaz le-te je lahko pomemben, kadar je pacientovo imunsko stanje vprašljivo. Epruveta Mitogen je tudi kontrola za pravilno ravnanje s krvjo in pravilno inkubacijo.

Epruvete QFT-Plus je treba zmešati, da se antigen zmeša s krvjo in inkubirati pri temperaturi 37 °C, obvezno pa v 16 urah po odvzemu krvi. Po 16- oziroma 24-urnem obdobju inkubacije

se epruvete centrifugirajo, nato se odvzame plazma in s pomočjo metode ELISA ugotovi količina IFN- γ (IE/ml). Metoda QFT-Plus ELISA uporablja rekombinantni človeški standardni IFN- γ , ki je bil testiran za pripravo referenčnega IFN- γ (NIH Ref: Gxg01-902-535). Rezultati za testni vzorec so posredovani v mednarodnih enotah (IE/ml) relativno glede na standardno krivuljo, ki se izdelava s testnim redčenjem standarda, priloženega kompletu.

Znano je, da heterofilna protitelesa (npr. človeška protitelesa proti mišjemu antigenu) v serumu ali plazmi določenih posameznikov povzročajo motnje pri testih imunosti. Vpliv heterofilnih protiteles pri metodi QFT-Plus ELISA se zmanjša z dodajanjem običajnega mišjega seruma v zeleno raztopino in uporabo delcev F(ab')₂ monoklonskih protiteles kot protitelesa za zajemanje IFN- γ , ki prekriva mikroplošče.

Test QFT-Plus se šteje za pozitivnega pri reakciji IFN- γ v epruveti antigena TB, če je vrednost znatno nad vrednostjo Nil kontrole IFN- γ IE/ml. Vzorec plazme v epruveti Mitogen deluje kot pozitivna kontrola IFN- γ za vsak testirani vzorec. Majhna reakcija na Mitogen (< 0,5 IE/ml) velja kot nejasen rezultat, če vzorec krvi izkazuje tudi negativno reakcijo na antigene TB. Takšen vzorec lahko nastane pri nezadostnem številu limfocitov, zmanjšani aktivnosti limfocitov zaradi nestrokovnega ravnanja z vzorcem, nestrokovnega polnjenja ali mešanja epruvete Mitogen ali v primeru, da pacientovi limfociti niso sposobni proizvajati IFN- γ . Povišane vrednosti IFN- γ v vzorcu Nil se lahko pojavijo ob prisotnosti heterofilnih protiteles ali z notranjim izločanjem IFN- γ . Epruveta Nil se uporablja za korekcijo ozadja (npr. zvišane ravni kroženja IFN- γ ali prisotnost heterofilnih protiteles). Raven IFN- γ epruvete Nil se odšteje od ravni IFN- γ za epruveti antigena TB in epruveto Mitogen.

Trajanje testa

V nadaljevanju besedila so navedeni podatki o ocenjenem trajanju testa QFT-Plus ELISA in o času, ki je potreben pri testiranju več vzorcev v seriji:

Inkubacija epruвет z vzorci pri 37 °C: od 16 do 24 ur

ELISA: Približno 3 ure za eno ploščo ELISA
(22 posameznikov)
< 1 ura dela
še od 10 do 15 minut za vsako dodatno ploščo

Sestavni deli in shranjevanje

Epruvete za odvzem krvi*		200 epruvet	Pakiranje za posameznega bolnika	Pakiranje za razdeljevanje	Epruvete HA 200	HA Pakiranje za posameznega bolnika	HA Pakiranje za razdeljevanje
Kataloška številka		622526	622222	622423	623526	623222	623423
Število testov/paket		50	10	25	50	10	25
QuantiFERON Nil Tube (siv pokrov, bel obroč)	Nil	50 epruvet	10 epruvet	25 epruvet			
QuantiFERON TB1 Tube (zelen pokrov, bel obroč)	TB1	50 epruvet	10 epruvet	25 epruvet			
QuantiFERON TB2 Tube (rumen pokrov, bel obroč)	TB2	50 epruvet	10 epruvet	25 epruvet			
QuantiFERON Mitogen Tube (vijoličen pokrov, bel obroč)	Mitogen	50 epruvet	10 epruvet	25 epruvet			
QuantiFERON Nil HA Tube (siv pokrov, rumen obroč)	Nil HA				50 epruvet	10 epruvet	25 epruvet
QuantiFERON TB1 HA Tube (zelen pokrov, rumen obroč)	TB1 HA				50 epruvet	10 epruvet	25 epruvet
QuantiFERON TB2 HA Tube (rumen pokrov, rumen obroč)	TB2 HA				50 epruvet	10 epruvet	25 epruvet
QuantiFERON Mitogen HA Tube (vijoličen pokrov, rumen obroč)	Mitogen HA				50 epruvet	10 epruvet	25 epruvet
Navodila za uporabo QFT-Plus Blood Collection Tubes		1	1	1	1	1	1

* Vse konfiguracije izdelka niso na voljo v vseh državah. Več informacij o konfiguracijah, ki so na voljo za naročanje, vam bo posredovala služba za stranke QIAGEN (podrobnosti najdete na spletnem mestu www.qiagen.com).

Sestavni deli ELISA†	Komplet 2 plošč ELISA	Referenčni laboratorijski paket
Kataloška številka	622120	622822
Microplate Strips (Trakovi mikroplošče) (12 x 8 vdolbinic), prekriti z glodalskim nečloveškim monoklonskim protitelesom IFN- γ	2 x 96-vdolbinskih trakov mikroplošče	20 x 96-vdolbinskih trakov mikroplošče
IFN- γ Standard (Standardni IFN), liofiliziran (vsebuje rekombinantni človeški IFN γ , goveji kazein, 0,01 % w/v tiomersala)	1 x steklenička (8 IE/ml ob rekonstituciji)	10 x steklenička (8 IE/ml ob rekonstituciji)
Green Diluent (Zelena raztopina) (vsebuje goveji kazein, normalni mišji serum, 0,01 % t/p tiomersala)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Koncentrat konjugata 100x), liofiliziran (glodalski nečloveški HRP IFN γ , vsebuje 0,01 % t/p tiomersala)	1 x 0,3 ml (ob rekonstituciji)	10 x 0,3 ml (ob rekonstituciji)
Wash Buffer 20x Concentrate (Koncentrat pralnega pufra 20x) (pH 7,2, vsebuje 0,05 % p/p ProClin® 300)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Raztopina encimskega substrata) (vsebuje H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetrametilbenzidin)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Raztopina za blokiranje encimov) (vsebuje 0,5 M H ₂ SO ₄)	1 x 15 ml	10 x 15 ml
Navodila za uporabo QFT-Plus ELISA	1	1

† Varnostni ukrepi in izjave o tveganju so navedeni na stran15 .

Potrebna oprema, ki ni vključena v dobavo

- Inkubator ($37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$)*. CO₂ ni potreben
- Kalibrirane pipete s spremenljivim volumnom* od 10 do 1000 µl in konicami za enkratno uporabo
- Kalibrirane večkanalne pipete* za oddajanje od 50 do 100 µl s konicami za enkratno uporabo
- Pokrov plošče
- Vibrator za mikroplošče*
- Deionizirana ali destilirana voda, 2 litra
- Pralni aparat za mikroplošče (priporočen je avtomatski)
- Bralnik mikroplošč* s filtrom 450 nm in referenčnim filtrom od 620 do 650 nm

* Zagotovite, da so vsi instrumenti preverjeni in kalibrirani v skladu s priporočili proizvajalca.

Shranjevanje vzorca in ravnanje z njim

Epruvete za odvzem krvi

- Epruvete za odvzem krvi skladiščite pri temperaturi od 4 do 25 °C.

Reagenti kompleta

- Reagente kompleta shranjujte pri temperaturi od 2 do 8 °C.
- Raztopine encimskega substrata ne izpostavljajte neposredni sončni svetlobi.

Rekonstituirani in odvečni reagenti

Navodila za rekonstitucijo reagentov si lahko ogledate na strani 26.

- Rok uporabnosti rekonstituiranega standarda kompleta je 3 mesece pri shranjevalni temperaturi od 2 do 8 °C.

Zabeležite si datum rekonstitucije standarda kompleta.

- Po rekonstituciji je treba preostali koncentrat konjugata 100x znova uskladiščiti pri temperaturi od 2 do 8 °C in porabiti v 3 mesecih.

Zabeležite si datum rekonstitucije konjugata.

- Konjugat, pripravljen za uporabo, je treba porabiti v 6 urah po pripravi.
- Rok uporabnosti pralnih pufrov, pripravljenih za uporabo in shranjenih pri sobni temperaturi, je največ 2 tedna.

Opozorila in previdnostni ukrepi

Le za diagnostično uporabo in vitro.

Opozorila

- Negativni rezultat QFT-Plus ne izključuje možnosti okužbe z *M. tuberculosis* ali tuberkulozo: lažni negativni rezultati so lahko posledica faze okužbe (npr. vzorec odvzet pred razvojem imunske reakcije celic), komorbidnih bolezni, ki vplivajo na delovanje imunskega sistema, nepravilnega ravnanja z epruvetami za odvzem krvi po venski punkciji, nepravilnega izvajanja analize ali drugih imunoloških spremenljivk.
- Pozitivni rezultat QFT-Plus ne sme biti edina ali dokončna podlaga za ugotavljanje okužbe z *M. tuberculosis*. Nepravilno izvajanje analize lahko povzroči lažne pozitivne reakcije.
- Pozitivnemu rezultatu QFT-Plus bi morale slediti nadaljnje medicinske in diagnostične ocene aktivne tuberkuloze (npr. odvzem brisa in kultura izpljunka, rentgenske preiskave prsnega koša).
- Čeprav beljakovin ESAT-6 in CFP-10 ni v sevih BCG, niti v večini poznanih netuberkuloznih mikobakterijah, je pozitiven rezultat QFT-Plus lahko posledica okužbe z *M. kansasii*, *M. szulgai* ali *M. marinum*. Če obstaja sum na takšne okužbe, je treba opraviti alternativne teste.

Varnostni ukrepi

Pri delu s kemikalijami vedno nosite ustrezno laboratorijsko haljo, rokavice za enkratno uporabo in zaščitna očala. Več informacij poiščite v ustreznih SDS-jih. Ti so v priročni kompaktni obliki PDF na voljo v spletu na naslovu www.qiagen.com/safety, kjer lahko najdete, preberete in natisnete varnostne liste za vse komplete QIAGEN ter njihove sestavne dele.



POZOR: s človeško krvjo in plazmo ravnajte, kot da sta kužni. Upoštevajte ustrezna navodila za ravnanje s krvjo in krvnimi pripravki. Vzorce in materiale, ki so bili v stiku s krvjo ali krvnimi pripravki, zavrzite v skladu z lokalnimi in nacionalnimi predpisi.

Za sestavne dele QuantiFERON-TB Gold PLUS ELISA veljajo naslednje izjave o tveganju in varnostnih ukrepih.

Izjave o tveganju



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

Vsebuje: žveplova kislina. Pozor! Morda je korozivno za kovine. Povzroča draženje kože. Povzroča hudo draženje oči. Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za obraz/oči.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Pozor! Povzroča blago draženje kože. Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za obraz/oči.



QuantiFERON Green Diluent

Vsebuje: trinatrijev 5-hidroksi-1-(4-sulfofenil)-4-(4-sulfofenilazo)pirazol-3-karboksilat. Vsebuje: tartrazin. Pozor! Lahko povzroči alergijski odziv kože. Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za obraz/oči.

QuantiFERON Wash Buffer 20× Concentrate

Vsebuje: mešanico 5-kloro-2-metil-4-izotiazolin-3-on in 2-metil-2H-izotiazolin-3-on (v razmerju 3 : 1). Škodljivo za vodne organizme, z dolgotrajnimi učinki. Izogibajte se izpuščanju v okolje.

Izjave o previdnostnih ukrepih

Pred uporabo preberite posebna navodila. Nositi zaščitne rokavice/zaščitno obleko/zaščito za obraz/oči. V PRIMERU STIKA S KOŽO (ali lasmi): takoj odstranite/slecite vse kontaminirane obleke. Izperite kožo z vodo/tušem. PRI STIKU Z OČMI: previdno izpirajte z vodo nekaj minut. Odstranite kontaktne leče, če jih imate in če to lahko storite brez težav. Nadaljujte z izpiranjem. V primeru izpostavljenosti ali zaskrbljenosti: poiščite zdravniško pomoč. Takoj pokličite CENTER ZA ZASTRUPITVE ali zdravnika. Če se pojavi draženje kože ali izpuščaj: poiščite zdravniško pomoč. Sleči kontaminirana oblačila in jih oprati pred ponovno uporabo. Hranite pod ključem. Vsebino/posode je treba zavreči na odobrena odlagališča.

Dodatne informacije

Varnostni listi (safety data sheet, SDS): www.qiagen.com/safety

- Odmiki od *navodil za uporabo QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA* lahko povzročijo nepravilne rezultate. Pred uporabo pozorno preberite navodila.
- Komplet ne uporabljajte, če steklenica reagenta pred uporabo kaže znake poškodb ali puščanja.

- **Pomembno:** pred uporabo preglejte vial. Ne uporabljajte vial konjugata ali standardnih IFN- γ vial, ki kažejo znake poškodbe ali če gumijasto tesnilo ni v brezhibnem stanju. S poškodovanimi vialami ne rokujte. Za odstranjevanje vial upoštevajte primerne varnostne ukrepe. Priporočilo: Uporabite klešče za odtegotanje, da odprete vial konjugata ali standardne IFN- γ Standard ter tako zmanjšate tveganje za poškodbo zaradi kovinskega pokrovčka crimp.
- Ne mešajte ali uporabljajte trakov mikroplošč, človeškega standardnega IFN- γ , zelene raztopine ali koncentrata konjugata 100 \times iz različnih serij kompletov QFT-Plus. Ostale reagente (koncentrat pralnega pufru 20 \times , raztopino encimskega substrata in raztopino za blokiranje encimov) lahko uporabljate z več kompleti, če imajo veljavni rok uporabnosti in zabeležene podrobnosti o seriji.
- Reagente in biološke vzorce, ki jih ne potrebujete več, zavrzite v skladu z lokalnimi in nacionalnimi predpisi.
- Uporaba epruвет za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes oziroma kompleta ELISA po preteku roka uporabnosti ni dovoljena.
- Ves čas je treba upoštevati pravilne laboratorijske postopke.
- Preverite, ali je bila laboratorijska oprema pred uporabo kalibrirana/potrjena za uporabo.

Odvzem vzorcev in ravnanje z njimi

QFT Plus obsega naslednje epruvete za odvzem krvi:

1. Epruvete QuantiFERON Nil Tube (siv pokrov z belim obročem)
2. Epruvete QuantiFERON TB1 Tube (zelen pokrov z belim obročem)
3. Epruvete QuantiFERON TB2 Tube (rumen pokrov z belim obročem)
4. Epruvete QuantiFERON Mitogen Tube (vijoličen pokrov z belim obročem)
5. Epruvete QuantiFERON HA Nil Tube (siv pokrov z rumenim obročem)
6. Epruvete QuantiFERON HA TB1 Tube (zelen pokrov z rumenim obročem)
7. Epruvete QuantiFERON HA TB2 Tube (rumen pokrov z rumenim obročem)
8. Epruvete QuantiFERON HA Mitogen Tube (vijoličen pokrov z rumenim obročem)

Antigeni so posušeni v oblogi notranje stene epruvete za odvzem krvi, zato je treba vzorce krvi obvezno dobro premešati z vsebino epruvete. Za kri, odvzeto neposredno v epruvete QFT-Plus, je treba epruvete QFT-Plus vzdrževati in prevažati pri sobni temperaturi ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) in jih čim prej, obvezno pa v 16 urah od odvzema, prenesti v inkubator (37 °C). Kri je mogoče odvzeti v posamezno epruveto z litijevim ali natrijevim heparinom za shranjevanje pred prenosom v QFT-Plus in inkubacijo. Vzorce krvi, odvzete v epruvete z litijevim ali natrijevim heparinom, lahko do 16 ur hranite pri sobni temperaturi ($17\text{--}25\text{ °C}$), nato pa jih prenesite v epruvete QFT-Plus. Vzorce krvi v epruvetah z litijevim ali natrijevim heparinom lahko pred prenosom v epruvete QFT-Plus do 48 ur hranite pri temperaturi $2\text{--}8\text{ °C}$. Glejte razdelek »Odvzem krvi v posamezno epruveto z litijevim ali natrijevim heparinom in prenos v epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes«.

Odvzem neposredno v epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Epruvete opremite z napisi.

Zagotovite, da je mogoče po odstranitvi pokrovčka vsako epruveto (Nil, TB1, TB2 in Mitogen) prepoznati po etiketi ali kako drugače.

Priporočljivo je, da zabeležite čas in datum odvzema krvi.

2. Vsakemu pacientu odvezmite po 1 ml venozne krvi v vsako epruveto za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes. Ta postopek mora opraviti usposobljeni flebotomist.

Pomembno opozorilo: epruvete morajo imeti v času polnjenja s krvjo temperaturo 17–25 °C.

Standardne epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes se lahko uporabljajo na nadmorskih višinah do 810 metrov. Epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes na velikih nadmorskih višinah se lahko uporabljajo na nadmorskih višinah med 1020 in 1875 metrov.

Ker se epruveta za odvzem relativno počasi napolni z 1 ml krvi, pustite epruveto po na videz dokončanem polnjenju še 2–3 sekunde na igli. Tako zagotovite odvzem potrebne količine krvi.

- Črna oznaka ob strani epruvete označuje ustrezen razpon od 0,8 do 1,2 ml. Če je raven krvi v kateri koli epruveti zunaj razpona oznake, je treba odvzeti nov vzorec krvi. Če so epruvete napolnjene zunaj razpona od 0,8 do 1,2 ml, so lahko rezultati napačni.
- Pri uporabi „metuljčkov“ za odvzem krvi je treba s pomočjo prazne epruvete poskrbeti za to, da bo pred namestitvijo epruвет QFT-Plus zagotovljena napolnjenost cevnega spoja.
- Če uporabljate epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes na nadmorski višini več kot 810 metrov ali je volumen odvzete krvi premajhen, lahko odvzem krvi izvedete z injekcijsko brizgalko in nato 1 ml krvi takoj prenesete v vsako od 4 epruвет. Iz varnostnih razlogov je najbolje, če pri tem odstranite injekcijsko iglo, upoštevate običajne previdnostne ukrepe, odstranite pokrovčke s 4 epruвет QFT-Plus in napolnite vsako z 1 ml krvi (do

središča črne oznake na stranskem robu etikete na epruveti). Nato znova namestite pokrovčke in premešajte, kot je opisano spodaj. Zagotovite, da je mogoče po odstranitvi pokrovčka vsako epruveto (Nil, TB1, TB2 in Mitogen) prepoznati po etiketi ali kako drugače.

3. Takoj po polnjenju epruvel jih desetkrat (10x) ustrezno pretresite, da se celotna notranja površina epruvete prekrije s krvjo. Tako se raztopijo antigeni na stenah epruvete.

Pomembno: epruvete morajo imeti v času pretresanja temperaturo 17–25 °C. Premočno stresanje lahko povzroči motnje gela in privede do napačnih rezultatov.

4. Po etiketiranju, polnjenju in pretresanju je treba epruvete čim prej, obvezno pa v 16 urah po odvzemu krvi, prenesti v inkubator z 37 °C ± 1 °C. Pred pričetkom inkubacije morate epruvete hraniti in transportirati pri sobni temperaturi (22 ± 5 °C). Če epruvete za odvzem krvi QFT-Plus niso v inkubaciji pri temperaturi 37 °C neposredno po odvzemu krvi in pretresanju, jih je treba pred inkubacijo pri temperaturi 37 °C premešati, tako da se 10-krat obrnejo na glavo.
5. Epruvete QFT-Plus inkubirajte v STOJEČEM POLOŽAJU pri 37 °C ± 1 °C od 16 do 24 ur. CO₂ali vlaženje pri tem nista potrebna.

Odvzem krvi v posamezno epruveto z litijevim ali natrijevim heparinom in prenos v epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Kri lahko odzimate tudi v posamezno epruveto za odvzem krvi, ki vsebuje litijev ali natrijev heparin kot antikoagulant in jo nato prenesete v epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes. Kot krvni antikoagulant uporabite le litijev ali natrijev heparin, saj drugi antikoagulant ovirajo analizo. Epruvete opremite z napisi.

Priporočljivo je, da epruveto označite s časom in datumom odvzema krvi.

Pomembno: Epruvete za odvzem krvi morajo imeti času odvzema krvi sobno temperaturo (od 17 do -25 °C).

2. Napolnite epruveto za odvzem krvi z litijevim ali natrijevim heparinom (najmanjši volumen 5 ml) in jo nežno premešajte, tako da jo večkrat obrnete, da se litijev heparin raztopi. Ta postopek mora opraviti usposobljeni flebotomist.
3. Možnosti časa zadrževanja in temperature za epruvete z litijevim ali natrijevim heparinom pred prenosom in pričetkom inkubacije v epruvetah za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes (glejte slike 1-3 Možnosti odvzema krvi).

Možnost 1 - Shranjevanje pri sobni temperaturi in ravnanje z epruvetami z litijevim ali natrijevim heparinom. Kri, odvzeta v epruveto z litijevim ali natrijevim heparinom, se lahko hrani pri sobni temperaturi ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) največ 16 ur od trenutka odvzema pred prenosom v epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes in nadaljnjo inkubacijo.

Možnost 2 - Shranjevanje v hladilniku in ravnanje z epruvetami z litijevim ali natrijevim heparinom

Pomembno: Korake postopka a-d morate upoštevati zaporedno.

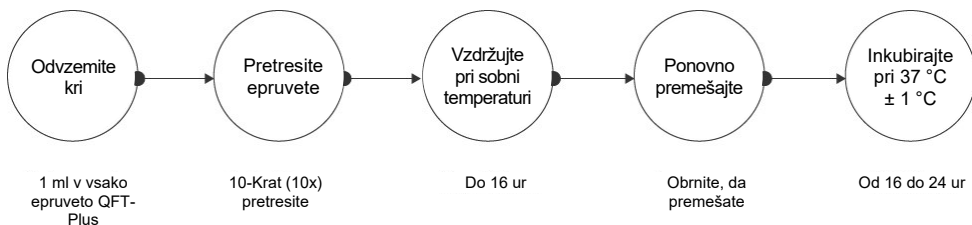
- a. Kri, odvzeta v epruveto z litijevim ali natrijevim heparinom, se lahko hrani pri sobni temperaturi ($17\text{--}25\text{ °C}$) do 3 ure po odvzemu krvi.
- b. Kri, odvzeta v epruveto z litijevim ali natrijevim heparinom, se lahko hrani v hladilniku ($2\text{--}8\text{ °C}$) do 48 ur.
- c. Po hranjenju v hladilniku je treba epruvete z litijevim ali natrijevim heparinom pred prenosom v epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes pustiti na sobni temperaturi ($17\text{--}25\text{ °C}$).
- d. Alikvotirane epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes je treba v dveh urah po odvzemu krvi prenesti v inkubator (37 °C).

Če epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes niso v inkubaciji pri temperaturi 37 °C neposredno po prenosu v epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes in pretresanju, jih je treba pred inkubacijo pri temperaturi 37 °C premešati, tako da se 10-krat obrnejo na glavo. Skupni čas od odvzema krvi do inkubacije v epruvetah za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes ne sme preseči 53 ur.

4. Prenos vzorca krvi iz epruvete z litijevim ali natrijevim heparinom v epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes:
 - a. Vsako epruveto za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tube ustrezno označite. Zagotovite, da je mogoče po odstranitvi pokrovčka vsako epruveto (Nil, TB1, TB2 in Mitogen) prepoznati po etiketi ali kako drugače. Priporočljivo je, da se zabeleženi čas in datum odvzema krvi preneseta iz epruvete z litijevim ali natrijevim heparinom na epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes.
 - b. Preden se vzorci razdelijo v epruvete za odvzem krvi QFT Plus Blood Collection Tubes, morate vzorce enakomerno premešati z rahlim obračanjem.
 - c. Porazdelitev bi morala biti izvedena aseptično, z zagotovitvijo ustreznih varnostnih ukrepov. Odstranite pokrovčke z vseh 4 epruvet za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes in napolnite vsako z 1 ml krvi. Nato ponovno namestite pokrovčke in premešajte, kot je opisano spodaj. Zagotovite, da je mogoče po odstranitvi pokrovčka vsako epruveto (Nil, TB1, TB2 in Mitogen) prepoznati po etiketi ali kako drugače.
5. Epruvete premešajte. Takoj po polnjenju epruvet za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes jih desetkrat (10x) ustrezno pretresite, da se celotna notranja površina epruvete prekrije s krvjo. Tako se raztopijo antigeni na stenah epruvete.

Premočno stresanje lahko povzroči motnje gela in privede do napačnih rezultatov.
6. Po etiketiranju, polnjenju in pretresanju je treba epruvete v 2 urah prenesti v inkubator ($37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$). Če epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes niso v inkubaciji pri temperaturi 37 °C neposredno po prenosu v epruvete za odvzem krvi QFT-Plus in pretresanju, jih je treba pred inkubacijo pri 37 °C premešati, tako da se 10-krat (10x) obrnejo na glavo. (Za možnosti odvzema krvi glejte slike 1–3 na naslednji strani).
7. Epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes inkubirajte v **STOJEČEM POLOŽAJU** pri $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ od 16 do 24 ur. CO_2 ali vlaženje pri tem nista potrebna.

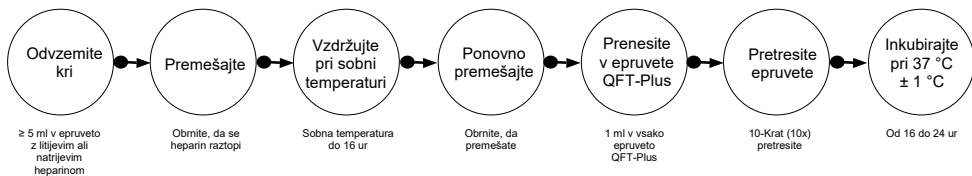
Odvzemite v epruvete za odvzem krvi QFT Plus Blood Collection Tubes in vzdržujte pri sobni temperaturi.



Slika 1. Možnost odvzema krvi: Odvzemite neposredno v epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes in vzdržujte pri sobni temperaturi.

Skupni čas od odvzema krvi v epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes do inkubacije pri 37 °C ne sme preseči 16 ur.

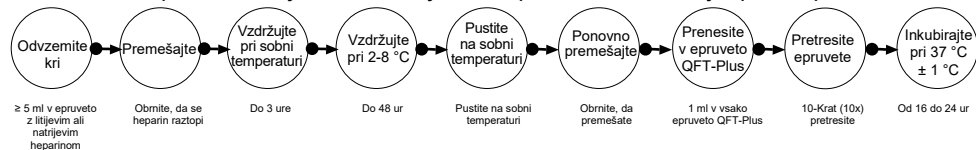
Odvzemite v epruveto z litijevim ali natrijevim heparinom in vzdržujte pri sobni temperaturi.



Slika 2. Možnost odvzema krvi: Odvzemite v epruveto z litijevim ali natrijevim heparinom in vzdržujte pri sobni temperaturi.

Skupni čas od odvzema krvi v epruveto z litijevim ali natrijevim heparinom do inkubacije pri 37 °C ne sme preseči 16 ur.

Odvzemite v epruvete z litijevim ali natrijevim heparinom in vzdržujte pri temperaturi 2–8°C.



Slika 3. Možnost odvzema krvi: Odvzemite v epruveto z litijevim ali natrijevim heparinom in vzdržujte pri temperaturi 2–8 °C.

Skupni čas od odvzema krvi v epruveto z litijevim ali natrijevim heparinom do inkubacije pri 37 °C ne sme preseči 53 ur.

Navodilo za uporabo

1. faza – inkubacija vzorca krvi in odvzem plazme

Potrebna oprema, ki je vključena v dobavo

- Epruvete za odvzem krvi QFT-Plus Blood Collection Tubes (glejte 3. poglavje)

Potrebna oprema, ki ni vključena v dobavo

- Glejte 3. poglavje

Postopek

1. Če epruвет ne inkubirate takoj po odvzemu, jih morate neposredno pred inkubacijo premešati, tako da jih 10-krat obrnete na glavo.
2. Epruvete inkubirajte v **STOJEČEM POLOŽAJU** pri $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ od 16 do 24 ur. CO_2 ali vlaženje pri tem nista potrebna.
3. Po inkubaciji pri 37 °C lahko epruvete za odvzem krvi pred centrifugiranjem do 3 dni hranite pri temperaturi od 4 do 27 °C .
4. Po inkubaciji epruвет pri 37 °C opravite 15-minutno centrifugiranje pri od 2000 do 3000 x g RCF (g), kar olajša odvzem plazme. Vtič z gelom bo celice ločil od plazme. Če se to ne zgodi, ponovno centrifugirajte epruvete.

Odvzem plazme je mogoč tudi brez centrifugiranja, vendar je treba pri tem postopati zelo previdno, ker to lahko povzroči motnje pri odvzemu celice.

5. **Vzorke plazme odvezajte le s pomočjo pipete.**

Pomembno: Po centrifugiranju se izogibajte pipetiranju gor in dol ali kakršnemu koli mešanju plazme pred odvzemanjem. Vseskozi pazite, da ne poškodujete materiala na površini gela.

Vzorci plazme se lahko iz epruвет za odvzem krvi prenesejo neposredno v ploščo QFT-Plus ELISA, tudi pri uporabi avtomata ELISA.

Vzorke plazme je mogoče do 28 dni hraniti pri temperaturi 2–8 °C oziroma dalj časa pri temperaturi, nižji od –20 °C, če se plazma odvzame.

Za primerne testne vzorce odvezmite vsaj 150 µl plazme.

2. faza – IFN- γ ELISA

Potrebna oprema, ki je vključena v dobavo

- Komplet QFT-Plus ELISA (glejte 3. poglavje)

Potrebna oprema, ki ni vključena v dobavo

- Glejte 3. poglavje.

Postopek

1. Vsi vzorci plazme in reagentov z izjemo koncentrata konjugata 100x morajo pred uporabo doseči sobno temperaturo (22 ± 5 °C). Za ta proces načrtujte najmanj 60 minut.

2. Iz okvira odstranite nepotrebne trakove, jih spravite nazaj v folijsko embalažo in jih do uporabe shranjujte v hladilniku.

Zagotovite vsaj 1 trak za standarde QFT-Plus in zadostno število trakov za število testiranih oseb (glejte sliko Slika 5). Po uporabi okvir shranite za uporabo z ostalimi trakovi.

3. Rekonstituirajte standardni IFN- γ s količino deionizirane ali destilirane vode, ki je navedena na etiketi stekleničke. Previdno premešajte stekleničko (da se vsebina čim manj peni) in preverite, ali se je vsebina popolnoma razpustila. Z rekonstitucijo standarda v kompletu na navedeni volumen pripravite raztopino s koncentracijo 8,0 IE/ml.

Pomembno: rekonstituiran volumen standarda kompleta se bo med serijami razlikoval.

Uporabite rekonstituiran standard kompleta za izdelavo 1 od 2 serij, ki ji sledi 1 od 4 serij raztopine IFN- γ v zeleni raztopini (Green Diluent, GD) (glejte sliko Slika 4). S1 (standard 1) vsebuje 4,0 IE/ml, S2 (standard 2) vsebuje 1,0 IE/ml, S3 (standard 3) vsebuje 0,25 IE/ml in S4 (standard 4) vsebuje 0 IE/ml (samo GD). Standardi morajo biti analizirani vsaj podvojeno. Za vsak postopek ELISA izdelajte novo razredčilo standarda kompleta.

Prporočen postopek za podvojene standarde

4 epruvete opremite z napisi „S1“, „S2“, „S3“, „S4“.

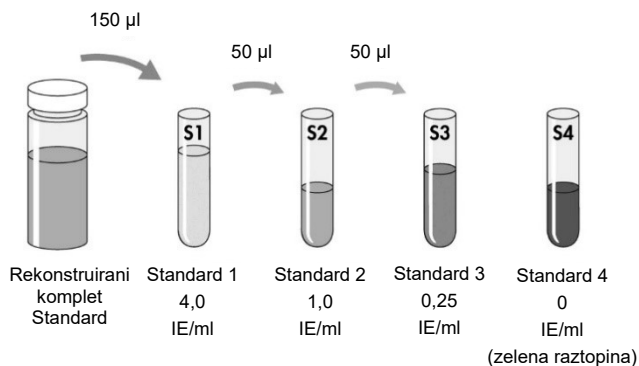
Dodajte 150 μ l GD v S1, S2, S3, S4.

Dodajte 150 μ l standarda kompleta v S1 in skrbno premešajte.

Prenesite 50 μ l iz S1 v S2 in skrbno premešajte.

Prenesite 50 μ l iz S2 v S3 in skrbno premešajte.

Samo GD velja kot nični standard (S4).



Slika 4. Priprava standardne krivulje.

4. Rekonstituirajte liofiliziran koncentrat konjugata 100x z 0,3 ml deionizirane ali destilirane vode. Previdno premešajte stekleničko, da je penjenja čim manj, in preverite, ali se je konjugat popolnoma razpustil.

Konjugat je pripravljen za uporabo, ko potrebno količino rekonstituiranega koncentrata konjugata 100x razredčite v zeleni raztopini (Preglednica 1. Priprava konjugata). Koncentrata konjugat 100x, ki ga ne potrebujete, takoj po uporabi shranite pri temperaturi od 2 do 8 °C. Kot razredčilo uporabljajte samo zeleno raztopino.

Preglednica 1. Priprava konjugata

Število trakov	Količina koncentrata konjugata 100x	Količina zelene raztopine
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. Vzorce plazme, ki jih odvzamete iz epruвет za odvzem krvi in nato shranite (ohlajene ali zamrznjene), pred dodajanjem v vdolbino ELISA premešajte.

Pomembno: če vzorce plazme dodate neposredno iz centrifugiranih epruвет QFT-Plus, kakršno koli mešanje plazme ni primerno. Vseskozi pazite, da ne poškodujete materiala na površini gela.

6. Z večkanalno pipeto dodajte v vdolbine ELISA po 50 µl sveže pripravljenega konjugata.

7. Z večkanalno pipeto dodajte 50 µl testnih vzorcev plazme v ustrezne vdolbine (glejte priporočeno postavitev plošče na Slika 5). Nazadnje dodajte še po 50 µl standardov 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. Priporočena postavitev vzorcev (22 testov na ploščo)

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

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

8. Vsako ploščo pokrijte ter konjugat in vzorce plazme/standarde 1 minuto skrbno mešajte v vibratorju za mikroplošče. Preprečite škropljenje.

9. Vsako ploščo pokrijte in jih 120 ± 5 minut inkubirajte pri sobni temperaturi (22 ± 5 °C).

Med inkubacijo morajo biti plošče zaščitene pred neposrednimi sončnimi žarki.

10. Med inkubacijo razredčite en del koncentrata pralnega pufra 20x z 19 deli deionizirane ali destilirane vode in skrbno premešajte. Ob dobavi je priloženega dovolj koncentrata pralnega pufra 20x za izdelavo 2 litrov delovne raztopine pralnega pufra.

Vdolbine najmanj 6-krat operite s 400 µl pralnega pufra, pripravljenega za uporabo. Priporočamo uporabo pralnega avtomata za mikroplošče.

Temeljito pranje je zelo pomembno za učinkovitost testiranja. Pri vsakem pralnem ciklusu preverite, ali so vdolbine popolnoma napolnjene s pralnim pufrom, torej do zgornjega roba. Med posameznimi pralnimi cikli priporočamo fazo namakanja, ki naj traja vsaj 5 sekund.

V lolilno posodo za odpadno tekočino dajte standardno razkužilo, ki se uporablja v laboratorijih. Poleg tega upoštevajte navodila za dekontaminacijo potencialno kužnega materiala, ki veljajo v vašem laboratoriju.

11. Plošče z vdolbinami, obrnjenimi navzdol, potresite nad brisačo z malo bombažnih vlaken in tako odstranite ostanke pralnega puфра. V vsako vdolbino nato dodajte 100 μ l raztopine encimskega substrata, pokrijte vsako ploščo in premešajte ploščo v vibratorju za mikroploščo.

12. Vsako ploščo pokrijte in jih 30 minut inkubirajte pri sobni temperaturi (22 ± 5 °C).

Med inkubacijo morajo biti plošče zaščitene pred neposrednimi sončnimi žarki.

13. Po 30-minutni inkubaciji nalijte v vsako vdolbino 50 μ l raztopine za blokiranje encimov in premešajte.

Raztopino za blokiranje encimov dodajajte v vdolbine v enakem zaporedju in približno enako hitro kot substrat v 11. koraku.

14. S čitalnikom za mikroploščo izmerite optično gostoto (Optical Density, OD) vsake vdolbine v 5 minutah po dodajanju raztopine za blokiranje – pri tem uporabljajte filter s 450 nm in referenčni filter z med 620 in 650 nm. Za izračunavanje rezultatov se uporabijo vrednosti OD.

Izračunavanje in interpretacija rezultatov

Programska oprema za analizo QFT Plus se lahko uporablja za analizo neobdelanih podatkov in izračun rezultatov. Na voljo je na spletnem mestu **www.QuantiFERON.com**. Uporabite najnovejšo različico programske opreme QFT-Plus za analizo.

Programska oprema izvaja kontrolno oceno kakovosti testiranja, izdela standardno krivuljo in za vsako testirano osebo posreduje rezultat, kot je opisano v poglavju „Interpretacija rezultatov“.

Pri alternativni uporabi programske opreme QFT-Plus za analizo podatkov se lahko rezultati izračunavajo tudi po spodaj opisani metodi.

Izdelava standardne krivulje

(Če ne uporabljate programske opreme za analizo QFT-Plus)

Ugotovite srednje vrednosti OD pri ponovitvah standarda kompleta na vsaki plošči.

Izdelajte standardno krivuljo $\log_{(e)}\text{-}\log_{(e)}$ z grafičnim prikazom srednje vrednosti OD $\log_{(e)}$ (y os) proti $\log_{(e)}$ koncentracije standarda IFN- γ v IE/ml (x os); nični standard pri tem izpustite. S pomočjo regresivne analize izračunajte linijo, ki se oblikovno najbolj prilagaja standardni krivulji.

S pomočjo standardne krivulje izračunajte koncentracije IFN- γ (IE/ml) za vsak testirani vzorec plazme, pri čemer uporabite vrednost OD vsakega vzorca.

Za te izračune lahko uporabljate pakete programske opreme, ki so v ponudbi za bralnike mikroplošč, oziroma standardne programe z razpredelnicami ali statistične programe (na primer Microsoft® Excel®). Uporabo teh paketov programske opreme priporočamo za izračunavanje regresijske analize in variacijskih koeficientov (coefficient of variation, % CV) za standard ter korelacijskih koeficientov (r) za standardno krivuljo.

Kontrola kakovosti

Pravilnost testnih rezultatov je odvisna od izdelave pravilne standardne krivulje. Zato je treba rezultate, ki so pridobljeni s standardi, preveriti pred interpretiranjem testnih rezultatov.

ELISA velja, če so izpolnjeni vsi naslednji kriteriji:

- Srednja vrednost OD standarda 1 mora biti $\geq 0,600$.
- % CV repliciranih vrednostih OD standarda 1 in standarda 2 mora biti $\leq 15\%$.
- Replicirane vrednosti OD standarda 3 in standarda 4 ne smejo za več kot 0,040 enote OD odstopati od srednje vrednosti vsakega od njiju.
- Korelacijski koeficient (r), izračunan iz srednjih absorpcijskih vrednosti, mora biti $\geq 0,98$.

Programska oprema za analizo QFT-Plus izračuna parametre kontrole kakovosti in o njih poroča.

Če ti kriteriji niso izpolnjeni, je test neveljaven in ga je treba ponoviti.

Srednja vrednost OD ničnega standarda (zelene raztopine) mora biti $\leq 0,150$. Če je srednja vrednost OD $> 0,150$, priporočamo, da preverite postopek za pranje plošč.

Interpretacija rezultatov

Rezultati QFT-Plus se interpretirajo po naslednjih merilih (Preglednica 2):

Pomembno: za postavljanje in izključevanje diagnoze tuberkuloze ter ocenjevanje verjetnosti LTBI je potrebno upoštevati kombinacijo ugotovitev anamneze ter epidemioloških, medicinskih in diagnostičnih preiskav pri interpretiranju rezultatov QFT-Plus.

Preglednica 2. Interpretacija rezultatov QFT-Plus

Nil (IE/ml)	TB1 minus Nil (IE/ml)	TB2 minus Nil (IE/ml)	Mitogen minus Nil (IE/ml)*	Rezultati QFT-Plus	Poročilo/interpretacija
≤ 8,0	≥ 0,35 in ≥ 25 % vrednosti Nil	poljubno	poljubno	Pozitivno [†]	okužba z <i>M. tuberculosis</i> je verjetna
	poljubno	≥ 0,35 in ≥ 25 % vrednosti Nil			
	< 0,35 ali ≥ 0,35 in < 25 % vrednosti Nil	< 0,35 ali ≥ 0,35 in < 25 % vrednosti Nil	≥ 0,5	Negativno	okužba z <i>M. tuberculosis</i> NI verjetna
	< 0,35 ali ≥ 0,35 in < 25 % vrednosti Nil	< 0,35 ali ≥ 0,35 in < 25 % vrednosti Nil	< 0,5	nejasno [‡]	Verjetnosti okužbe z <i>M. tuberculosis</i> ni mogoče določiti
> 8,0 [§]		Poljubno		Nejasno [‡]	Verjetnosti okužbe z <i>M. tuberculosis</i> ni mogoče določiti

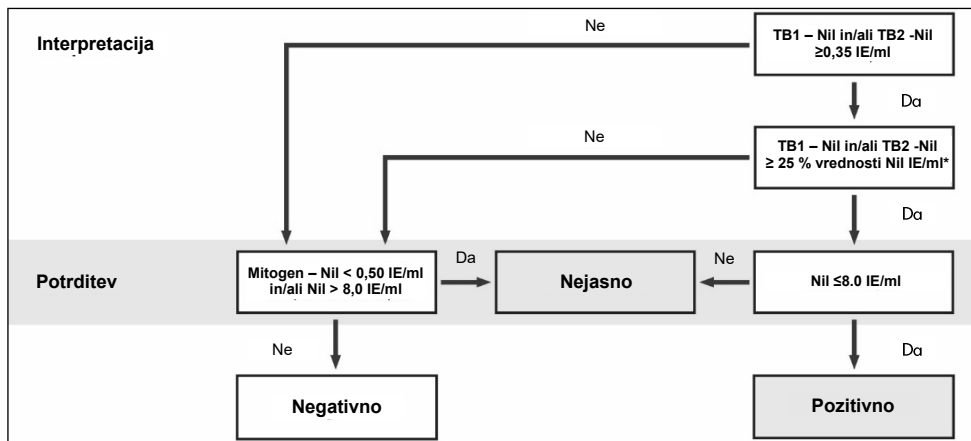
* Reakcije na pozitivno kontrolo Mitogen (in občasno antigenov TB) so lahko zunaj obsega bralnika mikroplošč. To ne vpliva na rezultate testa. Vrednosti > 10 ml programska oprema QFT-Plus sporoči kot > 10 IE/ml.

[†] Če ni suma na okužbo z *M. tuberculosis*, je mogoče prvotno pozitivne rezultate potrditi s ponovnim testiranjem podvojenih izhodiščnih vzorcev plazme v QFT-Plus ELISA. Če je ponovljeni test enega ali obeh podvojenih primerkov pozitiven, se test posameznika obravnava kot pozitiven.

[‡] Možne vzroke poiščite v poglavju „Odpravljanje težav“.

[§] V kliničnih študijah je imelo manj kot 0,25 % subjektov za vrednosti Nil ravni IFN- γ > 8,0 IE/ml.

Velikosti izmerjene ravni IFN- γ ni mogoče postaviti v soodnosnost s fazo ali stopnjo okužbe, ravno imunske reakcije ali verjetnostjo za napredovanje v aktivno bolezen. Pozitivna reakcija na TB pri osebah, ki so negativne na Mitogen je redka, vendar se je pojavila pri bolnikih s TB. To pomeni, da je reakcija IFN- γ na antigen TB večja od reakcije na Mitogen, kar je mogoče, ker raven Mitogen ne stimulira maksimalno limfocitov, da proizvajajo IFN- γ .



* Za veljavno vrednost TB1 minus Nil ali TB2 minus Nil mora biti količina $\geq 25\%$ nične vrednosti IE/ml iz iste epruvete kot izhodiščni rezultat $\geq 0,35$ IE/ml.

Slika 6. Interpretacija diagrama poteka QFT-Plus

Omejitve

Rezultate testa QFT-Plus je treba obravnavati v kombinaciji z epidemiologijo vsakega pacienta, njegovim trenutnim zdravstvenim stanjem in drugimi diagnostičnimi preiskavami.

Rezultati pri posameznikih z vrednostmi Nil, višjimi od 8,0 IE/ml, so uvrščeni v kategorijo „nejasno“, saj je lahko 25-odstotno višja reakcija na antigene TB zunaj merilnega obsega analize.

Vzroki za nezanesljive ali nejasne rezultate so lahko naslednji:

- Odstopanja od postopka, ki je opisan v navodilih za uporabo
- Čezmerne ravni kroženja IFN- γ ali prisotnost heterofilnih protiteles
- Več kot 16 ur med odvzemom vzorca krvi in inkubacijo pri 37 °C. To se ne uporablja, če uporabljate epruvete z litijevim ali natrijevim heparinom pri temperaturi 2-8 ° C.

Značilnosti učinkovitosti

Klinične študije

Ker za diagnozo LTBI ne obstaja noben dokončen standard, analiza občutljivosti in specifikke testa QFT-Plus praktično ni mogoča. Specifika QFT-Plus je bila približno izračunana z oceno lažnih pozitivnih stopenj pri osebah z nizko stopnjo tveganja (ni znanih dejavnikov tveganja) okužbe s tuberkulozo. Občutljivost je bila približno izračunana z ocenjevanjem skupine bolnikov, pri katerih je bila s kulturami potrjena aktivna tuberkuloza.

Specifičnost

Izvedena je bila študija ocene specifikke QFT-Plus pri 409 osebah. Z uporabo standardizirane ankete so v času testiranja določili demografske informacije in dejavnike tveganja za izpostavljenost TB.

V povzetku ugotovitev v 2 skupinah bolnikov z nizko stopnjo tveganja (ni znanih dejavnikov tveganja) okužbe s tuberkulozo je skupna specifika QFT-Plus znašala 97,6 % (399/409) (Preglednica 3 in Preglednica 4).

Preglednica 3. Rezultati študije specifikke QFT-Plus glede na mesto izvajanja študije

Študija	Pozitivno	Negativno	Nejasno	Specifika (95 % CI)
Japonska	4	203	0	98% (95–100%)
Avstralija	6	196	0	97% (94–99%)

Preglednica 4. Rezultati študije specifikke QFT-Plus glede na epruveto antigena TB

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

Občutljivost na aktivno TB

Dokončen standardni test za LTBI ne obstaja, toda primerno nadomestilo zanj je ugotavljanje mikrobiološke kulture *M. tuberculosis*, saj so bolniki s to boleznijo po definiciji okuženi. Posameznike s sumom na TB na 4 mestih izvajanja študije v Avstraliji in na Japonskem, pri katerih so pozneje s kulturami potrdili okužbo z *M. tuberculosis*, so testirali, da bi ocenili občutljivost na QFT-Plus (Preglednica 5 in Preglednica 6). Bolniki so pred odvzemom krvi za testiranje QFT-Plus prejeli manj kot 14 dni zdravljenja.

V povzetku ugotovitev v 4 skupinah bolnikov, ki so imeli pozitivne kulture *M. tuberculosis*, je skupna občutljivost QFT-Plus za aktivno TB znašala 95,3 % (164/172). V 4 skupinah je bilo 159 bolnikov pozitivnih z epruvetami TB1 in TB2, 1 bolnik je bil pozitiven samo z epruveto TB1, in 4 bolniki so bili pozitivni samo z epruveto TB2. Skupaj je bilo nejasnih 1,1 % (2/174) rezultatov. Rezultat TB2 je pravilno prepoznal 1 s kulturo potrjenega bolnika, pri katerem bil rezultat samega TB1 nejasen (nizka vrednost Mitogen) (glejte Preglednica 5 in Preglednica 6).

Preglednica 5. Rezultati študije občutljivosti QFT-Plus glede na mesto izvajanja študije

Mesta izvajanja študije	Pozitivno	Negativno	Nejasno	Občutljivost QFT-Plus* (95 % CI)
Japonska 1	36	7	0	84% (69–93)
Japonska 2	53	1	2	98 % (90–100)
Japonska 3	54	0	0	100% (93–100)
Avstralija	21	0	0	100% (84–100)

* Občutljivost temelji na skupnem številu veljavnih testov brez upoštevanja nejasnih rezultatov.

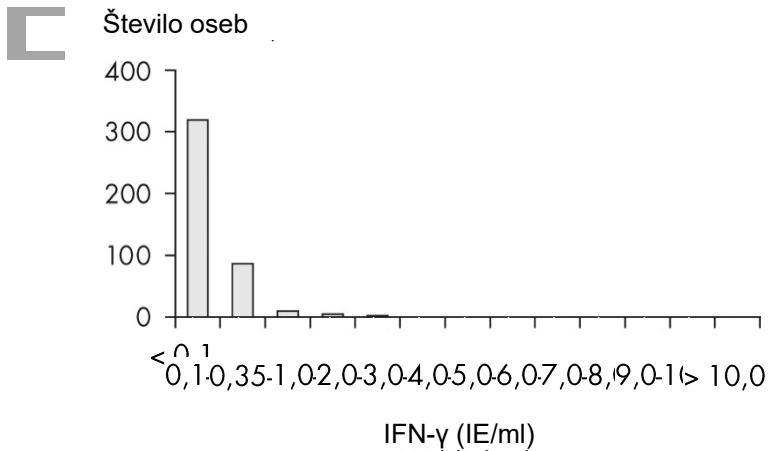
Preglednica 6. Rezultati študije občutljivosti QFT-Plus glede na epruveto antigena TB

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

* Občutljivost temelji na skupnem številu veljavnih testov brez upoštevanja nejasnih rezultatov.

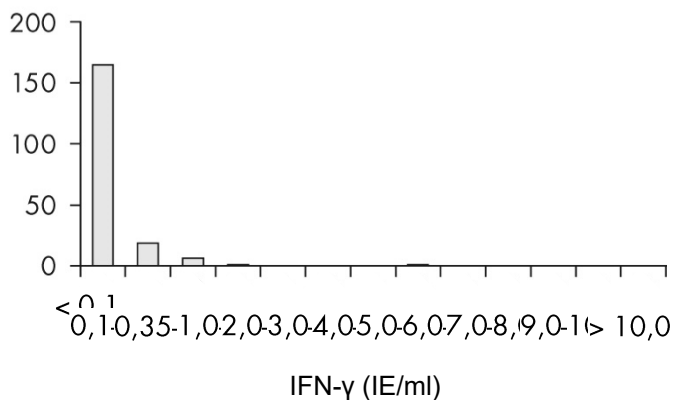
Opažene porazdelitve reakcij – stratifikacija tveganja

Različne reakcije IFN- γ na TB1, TB2 in kontrolne epruvete so bile opažene pri kliničnih raziskavah in stratificirane glede na tveganje okužbe z *M. tuberculosis* (slike 7-9). Skupino z mešano stopnjo tveganja sestavljajo osebe, ki predstavljajo splošno populacijo testiranja, vključno z osebami z ali brez dejavnikov tveganja za izpostavljenost TB, pri kateri aktivna TB ni verjetna (tj. LTBI).

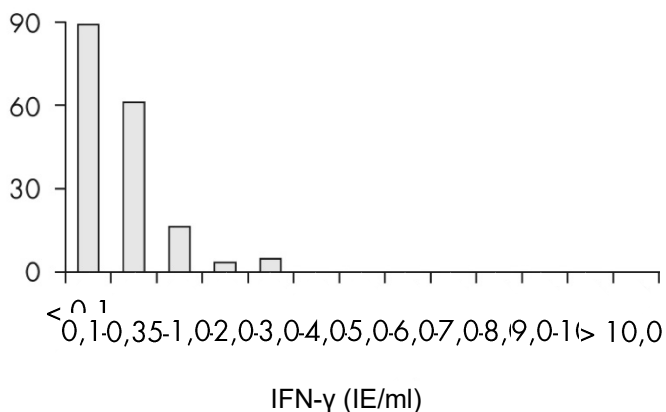




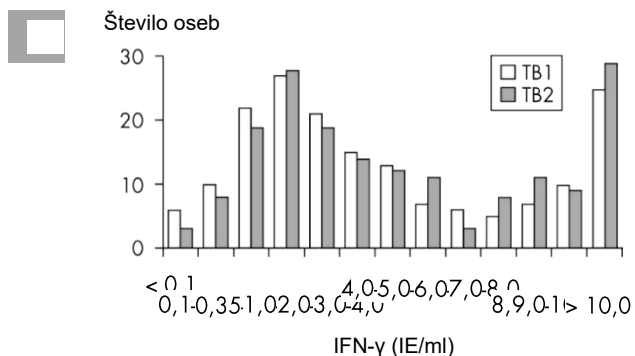
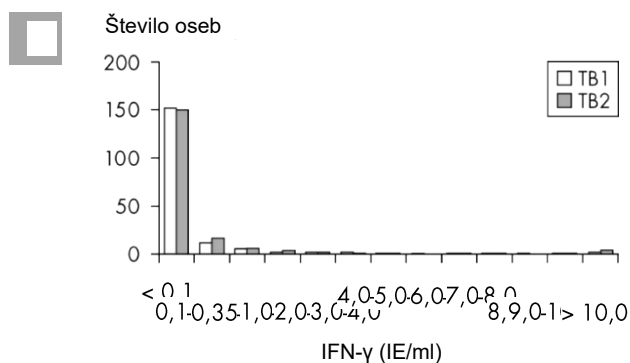
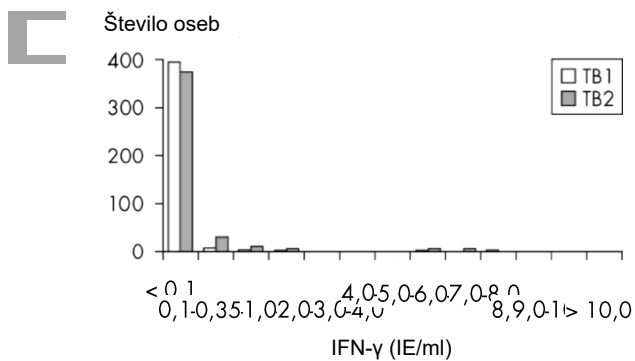
Število oseb



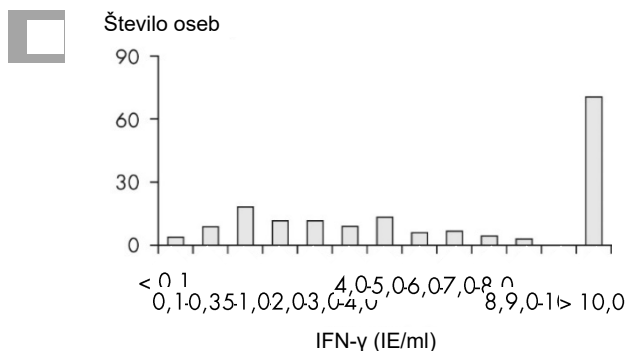
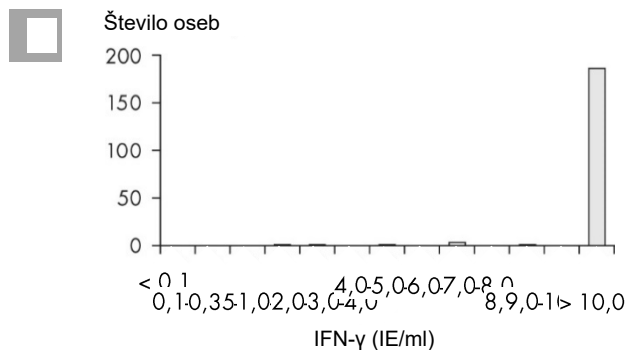
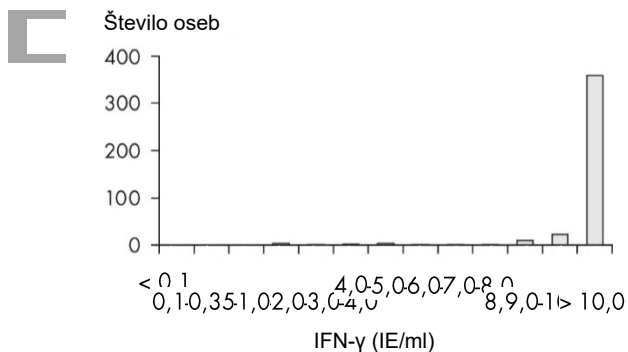
Število oseb



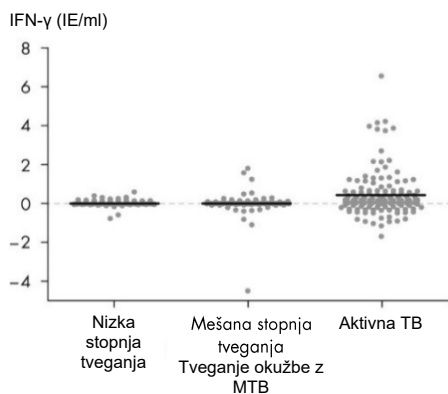
Slika 7. Porazdelitev vrednosti Nil. **A.** Porazdelitev vrednosti Nil pri populaciji z nizko stopnjo tveganja (n = 409). **B.** Porazdelitev vrednosti Nil pri populaciji z mešano stopnjo tveganja (n = 194). **C.** Porazdelitev vrednosti Nil pri populaciji s kulturno potrjeno okužbo z *M. tuberculosis* (n = 174).



Slika 8. Porazdelitev vrednosti TB1 in TB2 (odštetna nična vrednost). **A.** Porazdelitev vrednosti TB1 in TB2 (odštetna nična vrednost) pri populaciji z nizko stopnjo tveganja (n = 409). **B.** Porazdelitev vrednosti TB1 in TB2 (odštetna nična vrednost) pri populaciji z mešano stopnjo tveganja (n = 194). **C.** Porazdelitev vrednosti TB1 in TB2 (odštetna nična vrednost) pri populaciji s kulturno potrjeno okužbo z *M. tuberculosis* (n = 174).



Slika 9. Porazdelitev vrednosti Mitogen (odštetá nična vrednost). **A.** Porazdelitev vrednosti Mitogen (odštetá nična vrednost) pri populaciji z nizko stopnjo tveganja (n = 409). **B.** Porazdelitev vrednosti Mitogen (odštetá nična vrednost) pri populaciji z mešano stopnjo tveganja (n = 194). **C.** Porazdelitev vrednosti Mitogen (odštetá nična vrednost) pri populaciji s kulturno potrjeno okužbo z *M. tuberculosis* (n = 169).

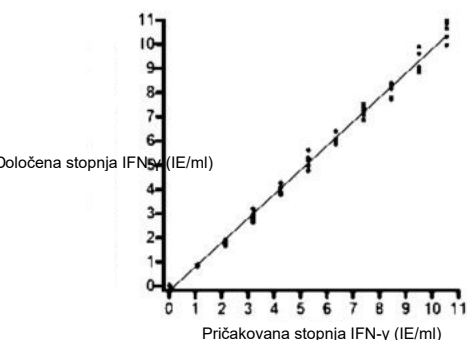


Slika 10. Opažena razlika med vrednostmi TB1 in TB2 (odštetá nična vrednost), stratificirana glede na tveganje. Populacija z nizko stopnjo tveganja (n = 409), populacija z mešano stopnjo tveganja (n = 189) in populacija s kulturno potrjeno okužbo z *M. tuberculosis* (n = 141). Vrednosti TB1 so bile odštete od vrednosti TB2. Osebe z vrednostmi TB1 ali TB2 > 10,0 IE/ml so bile izključene, ker so bile zunaj linearnega obsega testa.

Značilnosti izvedbe testa

QFT-Plus ELISA je dokazano linearna z naključno postavitvijo 5 replikacij 11 skupin znanih koncentracij IFN- γ na ploščo ELISA. Linearna črta regresije ima nagib $1,002 \pm 0,011$ in koeficient korelacije 0,99 (Slika 11).

Meja zaznavanja QFT-Plus ELISA je 0,065 IE/ml in ni opaziti krivulje zaradi učinka visoke- koncentracije (prozonski) pri koncentracijah IFN- γ 10.000 IE/ml.



Slika 11. Profil linearnosti QFT-Plus ELISA

Intra- in inter-testna nenatančnost (% CV) QFT-Plus ELISA je bila ocenjena s testiranjem 20 vzorcev plazme z različnimi koncentracijami IFN- γ s 3 replikacijami, v 3 različnih laboratorijih, v 3 ne-zaporednih dneh in s strani 3 različnih ponudnikov. Vsak vzorec je bil tako testiran 27-krat, v 9 neodvisnih testiranjih. En vzorec je bil nična kontrola z izračunano koncentracijo IFN- γ 0,08 IE/ml (95 % CI: 0,07–0,09). Od preostalih 19 vzorcev plazme so bile koncentracije v razponu od 0,33 (95 % CI: 0,31–0,34) do 7,7 IE/ml (95 % CI: 7,48–7,92).

Intra-testna nenatančnost ali nenatančnost znotraj testiranja je bila izračunana s povprečkom % CV za vsako testno plazmo z IFN- γ v vsakem testiranju ($n = 9$) v razponu nenatančnosti od 4,1 do 9,1 % CV. Povprečje znotraj testiranja kovariance (± 95 % CI) je bilo 6,6 % \pm 0,6 %. Povprečje ničelne IFN- γ plazme je bilo 14,1 % CV.

Skupna nenatančnost ali nenatančnost med testi je bila določena s primerjavo 27 izračunanih koncentracij IFN- γ za vsak vzorec plazme. Nenatančnost med testi je bila v razponu od 6,6 do 12,3 % CV. Skupno povprečje % CV (± 95 % CI) je bilo 8,7 \pm 0,7 %. Povpreček ničelne IFN- γ plazme je bil 26,1 % CV. Ta stopnja odklona je pričakovana, ker je izračunana koncentracija IFN- γ nizka, tako da bo odklon okoli nizke ocenjene koncentracije večji kot pri višjih koncentracijah.

Zmožnost reprodukcije testa QFT-Plus je bila določena z vzorci krvi 102 oseb z mešano stopnjo tveganja za okužbo z *M. tuberculosis*. Ocenjeni so bili trije različni ponudniki in laboratorijski pogoji.

Pri vsaki osebi so bila uporabljena skupaj 3 diagnostična določanja, skupaj 306 pri vseh osebah. Skupna zmožnost reprodukcije diagnostike je bila 99 % (95 % CI: 97,2–99,7), pri čemer se je rezultat diagnostike ujema s 303 določanji od 306. Rezultati 3 oseb, ki so bili blizu mejnih vrednosti, so se šteli za vse variacije.

Diagnoza LTBI

Objavljenih je bilo več študij, ki prikazujejo delovanje QFT, predhodnika QFT-Plus, v različnih populacijah, pri katerih obstaja tveganje za okužbo z MTB. Osnovne ugotovitve nekaterih izbranih študij so prikazane v Preglednica 7.

Preglednica 7. Izbrane objavljene študije o QFT

Populacija/pogoj	Izidi in ugotovitve	Skupno število objavljenih študij
Pediatrija	Dokazano delovanje pri otrocih, vključno z otroki, mlajšimi od 5 let (45–46), z višjo pravilnostjo kot IGRa na osnovi ELISpot (8). Trenutno največja študija s primerjavo testov QFT in TST pri otrocih iz Vietnoma, Filipinov in Mehike podpira prednostno uporabo testov QFT pred testi TST za testiranje otrok, rojenih v tujini, za LTBI (46). Študija omejenih stikov kaže boljšo napovedno vrednost testa TST pri otrocih (47) in 8-krat večje tveganje za napredovanje v TB v dveh letih med konverterji QFT v primerjavi z nekonverterji (48). QFT-negativna/TST-pozitivna neskladnost je visoka pri otrocih, cepljenih s cepivom BCG (46, 49), vendar pri otrocih, mlajših od 5 let (49), ni bilo vpliva na reakcijo na Mitogen. Prav tako je bila stopnja nejasnih rezultatov pri rutinskem pregledu otrok imigrantov nizka (46).	152
Nosečnost	V okoljih z nizko obremenitvijo je test QFT enako zmogljiv v vseh trimesečnih nosečnosti (pri čemer so rezultati primerljivi z ženskami, ki niso noseče), pri čemer je veliko bolj specifičen, vsaj tako občutljiv in morda boljši napovednik napredovanja boleznih kot test TST (50). V okoljih z višjo obremenitvijo je bil test QFT bolj stabilen skozi celotno nosečnost in je natančneje določil približek prevalence LTBI v ozadju v primerjavi s testom TST, čeprav so avtorji zaključili, da nosečnost vpliva tako na QFT kot TST (51).	6

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani

Preglednica 8. Izbrane objavljene študije o QFT (nadaljevanje)

Populacija/pogoj	Izidi in ugotovitve	Skupno število objavljenih študij
HIV/AIDS	Okužba s HIV vpliva na teste IGRA in TST, pri čemer število dokazov kaže, da je treba rezultate s številom celic CD4+ < 200 interpretirati s previdnostjo (52). Učinkovitost testa QFT je večja od učinkovitosti IGRA na osnovi ELISpot in TST (53–55). Ena sama uporaba testa IGRA presega težavo s testom TST glede slabih rezultatov pri tej populaciji (53).	101
Imunosupresivne terapije	Na test QFT imajo imunosupresivne terapije manjši učinek kot na test TST, pri čemer je soodnosnost s faktorji tveganja za TB boljša (23, 27). Test QFT je visoko občutljiv pri bolnikih z revmatskimi obolenji (23, 56, 57) in ima višjo specifičnost kot TST, saj zmanjšuje lažne pozitivne rezultate in nepotrebno zdravljenje, do katerih bi prišlo pri testu TST (23, 57, 58).	112
Zdravstveni delavci	QFT se je izkazal za bolj specifičnega z manjšim številom lažnih pozitivnih rezultatov kot TST in je stroškovno učinkovitejši od TST (59–62). Variabilnost ob pragu je pričakovana ugotovitev pri serijskem testiranju zaradi dihotomne mejne vrednosti in povezane spremenljivosti biološkega testa (63). Študije so pokazale višjo stopnjo konverzije/povrnitve kot TST pri serijskem testiranju zdravstvenih delavcev z nizko stopnjo tveganja (64, 65). Center za nadzor in preprečevanje boleznih v ZDA priznava, da lahko milejši kriteriji za določanje konverzije IGRA proizvedejo večjo konverzijo od opažene s strožimi kvantitativnimi kriteriji za TST, pri čemer so se strategije ponovnega testiranja izkazale za učinkovite pri upravljanju fenomena konverzije/povrnitve (65–68).	111
Stiki s TB	Višji PVP in NPV kot pri testu TST (47); korist enega obiska pri osebah, ki se verjetno ne bodo vrnila (63), boljše korelacije do izpostavljenosti (69), ki je posebej zabeležena pri osebah, cepljenih s cepivom BCG, in pri populacijah v državah, kjer se uporablja BCG (70, 71).	89
Presajanje	Izkazal se je za vsaj tako učinkovitega kot TST, vendar je vpliv končne odpovedi organov nanj manjši kot na TST (22).	23

Preglednica se nadaljuje na naslednji strani

Preglednica 9. Izbrane objavljene študije o QFT (nadaljevanje)

Populacija/pogoj	Izidi in ugotovitve	Skupno število objavljenih študij
Sladkorna bolezen	Nasprotujoči si dokazi iz majhnega števila publikacij z omejenim številom oseb. Študija v okolju z nizko obremenitvijo je odkrila, da občutljivost QFT ni slabša zaradi sladkorne bolezni pri bolnikih s TB (72). Študija iz Tanzanije v okolju z visoko obremenitvijo, ki kaže negativen vpliv sladkorne bolezni na proizvodnjo IFN- γ , ni upoštevala dejavnikov, kot so okužbe s HIV in helminti (73). Študije v Vietnamu z 838 sladkornimi bolniki s TB na podlagi samoporočanja, ki imajo aktivno TB na podlagi nenormalnih rentgenskih slik pljuč ali potrjeno s kulturami (n = 128), kažejo, da je bila pozitivnost testa QFT enaka ali večja od mejnih vrednosti testa TST 10 in 15 mm (74).	9
Končna odpoved ledvic	Pozitivni rezultati testa QFT imajo večjo soodnosnost z dejavniki tveganja za TB kot test TST in so manj povezani z BCG (75).	45
Migranti	Študije kažejo, da BCG in starost ne vplivata na test QFT kot v primeru testa TST (74). QFT je dokazano najbolj stroškovno učinkovita metoda (76). V okoljih z nizko obremenitvijo je večina obolelih s TB rojenih v tujini in z reaktivirano latentno TB po prihodu (77). Trenutno največja študija s primerjavo testov QFT in TST pri otrocih imigrantov podpira prednostno uporabo testov QFT pred testi TST za testiranje otrok, rojenih v tujini, za latentno okužbo s TB (46).	29

Tehnične informacije

Nejasni rezultati

Nejasni rezultati so neobičajni in povezani s stanjem imunosti testiranega posameznika, vzrok zanje pa so lahko tudi naslednji tehnični dejavniki, če zgornja navodila za uporabo niso upoštevana.

Pri domnevnih tehničnih težavah pri shranjevanju reagentov, odvzemu krvi ali med rokovanjem z vzorci krvi je treba celoten test QFT-Plus ponoviti z novim vzorcem krvi. Če sumite, da je pri testu ELISA stimuliranih vzorcev plazme prišlo do neustreznega pranja ali drugih odstopanj od postopka, ga lahko ponovite. Nejasni rezultati, ki si jih lahko razlagamo z nizkimi vrednostmi Mitogen ali visokimi vrednostmi Nil, se pri ponovnem testiranju ne smejo ponoviti, razen če je pri testu ELISA prišlo do napake. Nejasni rezultati morajo biti tudi sporočeni kot taki. Zdravniki se lahko odločijo ponovno odvzeti vzorec ali izvesti druge postopke, kot je primerno.

Vzorci strjene plazme

Če se med dolgotrajnim shranjevanjem vzorcev plazme pojavijo fibrinski strdki, vzorce centrifugirajte do usedline strjenega materiala in s tem olajšajte pipetiranje plazme.

Navodila za odpravljanje težav

Ta navodila za odpravljanje težav vam lahko pomagajo pri odpravljanju morebitnih težav. Za več informacij glejte tudi tehnične informacije, ki so na voljo na spletnem mestu www.QuantiFERON.com. Kontaktne informacije najdete na hrbtni platnici.

ELISA – odpravljanje težav

Razvoj nespecifične barve

Možen vzrok	Rešitev
a) Nezdostno pranje plošče	Ploščo operite najmanj 6x s 400 µl pufra na vsako vdolbino. Glede na vrsto uporabljenega pralnega aparata bo morda potrebnih več kot 6 pralnih ciklusov. Priporočamo, da med pralnimi cikli napravite 5-sekundni premor za namakanje.
b) Navzkrižna kontaminacija vdolbin ELISA	Med pipetiranjem in mešanjem vzorcem ravnajte previdno, da zmanjšate tveganje.
c) Pretečen rok uporabe kompleta/sestavin kompleta	Komplet uporabite, preden mu poteče rok. Rekonstituirani standard in koncentrat konjugata 100x morate porabiti v treh mesecih po datumu rekonstitucije.
d) Kontaminirana raztopina encimskega substrata	Modrikasto obarvan substrat zavržite. Poskrbite, da bodo uporabljeni čisti rezervoarji reagentov.
e) Mešanje plazme v epruvetah QFT-Plus pred odvzemom	Po centrifugiranju se izogibajte pipetiranju gor in dol ali kakršnemu koli mešanju plazme pred odvzemanjem. Vseskozi pazite, da ne poškodujete materiala na površini gela.

Nizke vrednosti optične gostote za standarde

Možen vzrok	Rešitev
a) Napaka pri redčenju standarda	Redčenje kompleta standarda opravite natančno po priloženih navodilih.
b) Napaka pri pipetiranju	Preverite, ali so pipete kalibrirane in uporabljene točno v skladu z navodili proizvajalca.
c) Prenizka inkubacijska temperatura	Inkubacija za metodo ELISA mora biti opravljena pri sobni temperaturi (22 ± 5 °C).
d) Prekratek čas inkubacije	Čas inkubacije plošče s konjugatom, standardi in vzorci mora biti 120 ± 5 minut. Raztopina encimskega substrata naj se na plošči inkubira 30 minut.
e) Uporabljen je napačen filter čitalnika plošč	Plošča se mora odčitati pri 450 nm z referenčnim filtrom od 620 do 650 nm.

ELISA – odpravljanje težav

- | | |
|---|---|
| f) Prehladni reagenti | Vsi reagenti (razen koncentrat konjugata 100x) morajo biti pred začetkom testa segreti na sobno temperaturo. To traja približno eno uro. |
| g) Pretečen rok uporabe kompleta/sestavlin kompleta | Komplet uporabite, preden mu poteče rok. Rekonstituirani standard in koncentrat konjugata 100x morate porabiti v treh mesecih po datumu rekonstitucije. |

Visoko ozadje

- | | |
|---|---|
| Možen vzrok | Rešitev |
| a) Nezadostno pranje plošče | Ploščo operite najmanj 6x s 400 µl pufru na vsako vdolbino. Glede na vrsto uporabljenega pralnega aparata bo morda potrebnih več kot 6 pralnih ciklov. Priporočamo, da med pralnimi ciklusi napravite 5-sekundni premor za namakanje. |
| b) Previsoka temperatura inkubacije | Inkubacija za metodo ELISA mora biti opravljena pri sobni temperaturi (22 ± 5 °C). |
| c) Pretečen rok uporabe kompleta/sestavlin kompleta | Komplet uporabite, preden mu poteče rok. Rekonstituirani standard in koncentrat konjugata 100x morate porabiti v treh mesecih po datumu rekonstitucije. |
| d) Kontaminirana raztopina encimskega substrata | Modrikasto obarvan substrat zavrzite. Poskrbite, da bodo uporabljeni čisti rezervoarji reagentov. |

Nelinearna standardna krivulja in spremenljivost podvojenega vzorca

- | | |
|---|---|
| Možen vzrok | Rešitev |
| a) Nezadostno pranje plošče | Ploščo operite najmanj 6x s 400 µl pufru na vsako vdolbino. Glede na vrsto uporabljenega pralnega aparata bo morda potrebnih več kot 6 pralnih ciklov. Priporočamo, da med pralnimi ciklusi napravite 5-sekundni premor za namakanje. |
| b) Napaka pri redčenju standarda | Redčenje standarda opravite natančno po priloženih navodilih. |
| c) Slabo mešanje | Skrbno premešajte reagente z obračanjem na glavo ali z nežnim vrtenjem, preden jih dodate na ploščo. |
| d) Nedosledna tehnika pipetiranja ali motnje med pripravo analize | Dodajanje vzorcev in standardov se mora izvajati neprekinjeno. Vsi reagenti morajo biti pripravljene pred začetkom analize. |

Informacije o izdelku in tehnični vodiči so brezplačno na voljo pri družbi QIAGEN, prek vašega distributerja oziroma na spletnem mestu 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. Cheallaigh, 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., Hesselting, 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

Na embalaži in oznakah so lahko prikazani naslednji simboli:

Simbol	Opredelitev simbola
 2 × 96	Zadostuje za 2 × 96 pripravkov vzorca
	Zakonit proizvajalec
	Simbol z oznako CE-IVD
	Za diagnostično uporabo in vitro
	Koda serije
	Kataloška številka
	Globalna trgovinska identifikacijska številka
	Rok uporabnosti
	Omejitev temperature
	Glejte navodila za uporabo
	Neprimerno za ponovno uporabo
	Ne izpostavljajte sončni svetlobi
	Številka materiala
Rn	R pomen revizijo navodil za uporabo, n pa številko revizije

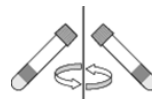
Kontaktni podatki

Za tehnično pomoč in dodatne informacije pokličite brezplačno številko 00800-22-44-6000, obiščite naš center za tehnično podporo na naslovu **www.qiagen.com/contact** ali se obrnite na enega od oddelkov za tehnične storitve družbe QIAGEN (glejte hrbtno platnico ali obiščite **www.qiagen.com**).

Skrajšani testni postopek

1. faza – inkubacija krvi

1. Kri pacientov shranite v epruvete za odvzem krvi in jo premešajte, tako da epruvete desetkrat (10x) ustrezno pretresete, da se celotna notranja površina epruvete prekrije s krvjo. Tako se raztopijo antigeni na stenah epruvete.
2. Epruvete inkubirajte v pokončnem položaju pri temperaturi $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ od 16 do 24 ur.
3. Po inkubaciji epruvete 15 minut centrifugirajte pri 2000 do 3000 x g RCF (g), da ločite plazmo in rdeče krvničke.
4. Po centrifugiranju se izogibajte pipetiranju gor in dol ali kakršnemu koli mešanju plazme pred odvzemanjem. Vseskozi pazite, da ne poškodujete materiala na površini gela.



2. faza – IFN - γ ELISA

1. Sestavine ELISA z izjemo koncentrata konjugata 100x postavite na sobno temperaturo ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) za vsaj 60 minut.
2. Rekonstruirajte standardni komplet na 8,0 IE/ml z destilirano ali deionizirano vodo. Pripravite štiri (4) standardne raztopine.
3. Rekonstituirajte suho zamrznjen koncentrat konjugata 100x z destilirano ali deionizirano vodo.

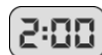


4. V zeleni raztopini pripravite konjugat za uporabo in dodajte 50 μ l v vse vdolbine.

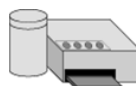


5. V ustrezne vdolbine dodajte 50 μ l testnih vzorcev plazme in 50 μ l standarda. Premešajte v vibratorju.

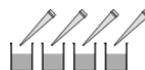
6. Inkubirajte 120 \pm 5 minut pri sobni temperaturi.



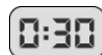
7. Vdolbine operite najmanj 6-krat s 400 μ l pufru na vsako vdolbino.



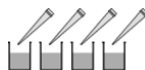
8. V vdolbine dodajte 100 μ l raztopine encimskega substrata. Premešajte v vibratorju.



9. Inkubirajte 30 minut pri sobni temperaturi.



10. V vse vdolbine dodajte 50 μ l raztopine za blokiranje encimov. Premešajte v vibratorju.



11. Rezultate odčitajte pri 450 nm z referenčnim filtrom od 620 do 650 nm.



12. Analizirajte rezultate.



Večje spremembe

Poglavje	Stran	Sprememba/e
Razno	Razno	Dodana navodila v zvezi z uporabo epruvete z litijevim ali natrijevim heparinom
Razno	Razno	Dodana navodila za odvzem krvi pri temperaturi od 2 do 8 °C
Razno	Razno	Pokrov plošče je zdaj oprema, ki je potrebna, vendar ni vključena v dobavo

Priročnik zgodovine revizij

Dokument	Spremembe
R6 04/2019	Spremembe litijevega/natrijevega heparina Nova delovna navodila za odvzem krvi pri temperaturi 2–8 °C Odstranjeni pokrovi plošč iz QF plošč

Blagovne znamke: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (skupina QIAGEN); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.).

Omejena licenčna pogodba QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA

Kupec ali uporabnik izdelka z njegovo uporabo soglašša z naslednjimi pogoji:

1. Izdelek se lahko uporablja zgolj v skladu s protokoli, ki so zagotovljeni z izdelkom, in s temi navodili za uporabo ter skupaj s sestavnimi deli v kompletu. QIAGEN v okviru svoje intelektualne lastnine ne ponuja licenc za uporabo priloženih sestavnih delov te plošče s sestavnimi deli, ki niso priloženi temu kompletu, razen kot je opisano v protokolih, ki so zagotovljeni z izdelkom, in v teh navodilih za uporabo.
2. Razen izrecno navedenih licenc družba QIAGEN ne daje drugih jamstev, da ta panel in/ali njegova uporaba ne krši pravic tretjih strank.
3. Ta komplet in njegovi sestavni deli so licencirani za enkratno uporabo in jih ni dovoljeno znova uporabiti, obnoviti ali prodajati naprej, razen če QIAGEN določi drugače.
4. QIAGEN zlasti zavrača kakršne koli druge licence, izrecne ali nakazane, razen tistih, ki so izrecno navedene.
5. Kupec in uporabnik tega kompleta se strinjata, da ne bosta ukrepala ali dovolila drugim, da ukrepajo v smeri, ki bi vodila v ali omogočala katero od zgoraj prepovedanih dejanj. QIAGEN lahko prepovedi iz tega Sporazuma o licenčnih omejitvah uveljavlja na katerem koli sodišču ter dobi povrnjene vse svoje stroške za preiskavo in sodišče, vključno s stroški za odvetnika, pri katerem koli dejanju za uveljavitev tega Sporazuma o licenčnih omejitvah ali pravice intelektualne lastnine v povezavi s tem kompletom in/ali njegovimi sestavnimi deli.

Za posodobljene licenčne pogoje glejte www.qiagen.com.

© 2019 QIAGEN. Vse pravice pridržane.

www.QuantiFERON.com

Azija – Pacifik | techservice-ap@qiagen.com

Evropa | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Bližnji vzhod/Afrika | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Latinska Amerika (brez Brazilije in Mehike) | techservice-latam@qiagen.com

Opombe

Opombe

