

Nisan 2022

# QuantiFERON® SARS-CoV-2 ELISA Kit Kullanım Talimatları



Versiyon 1

**IVD**

İn Vitro Tanı Amaçlı Kullanım İçindir

QuantiFERON® SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes ile kullanıma  
yöneliktir



**REF**

626420



QIAGEN, 19300 Germantown Road, Germantown, MD 20874, ABD  
Telefon: +1-800-426-8157

**ECREP**

QIAGEN GmbH  
QIAGEN Strasse 1, 40724  
Hilden, Almanya

R3 **MAT**

1124420TR



# İçerik

Kullanım Amacı .....	5
Planlanmış Kullanıcılar .....	6
Açıklama ve İlke .....	7
Özet ve açıklama .....	7
Sağlanan Materyaller.....	9
Kit içeriği.....	9
Kit bileşenleri.....	10
Platform ve yazılım.....	10
Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Materyaller .....	11
Ek reaktifler .....	11
Ekipman .....	11
Uyarılar ve Önlemler.....	12
Güvenlik bilgileri.....	12
Önlemler.....	13
Reaktif Saklama ve Kullanma.....	16
Kullanımda stabilite .....	16
Sulandırılmış ve kullanılmamış reaktifler .....	16
Numune Saklama ve Kullanma .....	17
Prosedür: ELISA Gerçekleştirme.....	18
Protokol: IFN- $\gamma$ ELISA .....	18
Sonuçlar (Hesaplamalar).....	23
Standart eğri ve örnek değerleri oluşturma .....	23

---

Testin kalite kontrolü .....	25
Sonuçların Yorumlanması .....	27
Sınırlamalar .....	28
Test Performans Özellikleri .....	29
<b>Analitik Performans</b> .....	<b>29</b>
Klinik Performans .....	38
Referanslar .....	44
Sorun Giderme Kılavuzu .....	49
Semboller .....	52
İletişim Bilgileri.....	53
Ek A: Teknik Bilgiler .....	54
Şüpheli sonuçlar.....	54
Pıhtılaşmış plazma örnekleri .....	54
Lipemik plazma örnekleri .....	54
Ek B: Kısaltılmış ELISA Test Prosedürü.....	55
Sipariş Bilgileri.....	57
Belge Revizyon Geçmişi.....	58

# Kullanım Amacı

QuantiFERON SARS-CoV-2 tahlili, heparinize tam kandaki SARS-CoV-2 peptid kokteyli tarafından stimülasyona yanıt olarak CD4+ ve CD8+ T hücreleri tarafından üretilen interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) kalitatif saptaması için tasarlanan in vitro tanı amaçlı bir testtir. Üretilen IFN- $\gamma$  miktarı, enzime bağlı immünosorbent tahlili (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) kullanılarak ölçülür.

QuantiFERON SARS-CoV-2 tahlili, SARS-CoV-2 virüsünün viral spayk (S) proteinini hedef alan aşılardan kullanılarak COVID-19 aşılması yapılan ve SARS-CoV-2 enfeksiyonu öyküsü olmayan bireylerde hücre aracılı immün (Cell-Mediated Immune, CMI) yanıtın değerlendirilmesine yardımcı olmaya yöneliktir.

QuantiFERON SARS-CoV-2 tahlili, bir bireyin COVID-19 aşılması nedeniyle immün yanıtını değerlendirmek için diğer laboratuvar testleri ve epidemiyolojik/klinik değerlendirme ile birlikte kullanılmalıdır.

Aşılanmış bireylerde T hücresi immün yanıtların bulunduğu süre iyi karakterize edilmemiş olsa da, T hücresi immün yanıtları geliştirmek aşılama sonrası birkaç gün sürebilir.

Reaktif olmayan sonuçlar aktif SARS-CoV-2 enfeksiyonunu olasılık dışı bırakmaz veya COVID-19 aşılarının etkililiğini belirlemez. Aktif enfeksiyondan şüpheleniliyorsa SARS-CoV-2 için başka bir moleküler test veya antijen testi kullanarak doğrulayın. Tahlil sonuçları her zaman klinik muayene, hastanın tıbbi öyküsü ve diğer bulgular ile birlikte kullanılmalıdır.

İn vitro tanı amaçlı kullanım içindir.

---

# Planlanmış Kullanıcılar

Bu kit, profesyonel kullanım için üretilmiştir.

Ürün yalnızca özel eğitim almış, moleküler biyoloji teknikleri konusunda öğrenim görmüş ve bu teknolojiyle ilgili bilgi sahibi olan personel tarafından kullanılmalıdır.

# Açıklama ve İlke

## Özet ve açıklama

QuantIFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS), SARS-CoV-2 spesifik proteinlerini kullanarak immün hücreleri stimüle eden peptid antijenleri içeren özel kan toplama tüpleri kullanılan kalitatif bir tahlildir. Tüpler içinde 16 ila 24 saatte meydana gelen kan inkübasyonundan sonra plazma toplanır ve peptid antijenlerine yanıt olarak üretilen IFN- $\gamma$  varlığı bakımından test edilir. Spayk proteinini hedef alan farklı aşı türleriyle aşılardan sonra SARS-CoV-2 enfeksiyonuna karşı spesifik T hücresi aracılı yanıtlar rapor edilmiştir [1-34].

Öncelikle, bir Nil tüpü, Ag1 tüpü, Ag2 tüpü ve bir Mitogen tüpünden oluşan QuantIFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tube'lerin her birine tam kan alınır. Alternatif olarak kan, antikoagülan olarak lityum veya sodyum heparin içeren tek bir kan toplama tüpüne alınabilir ve ardından QuantIFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tube'lere aktarılabilir.

QuantIFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tube'leri, antijeni kanla karıştırmak için çalkalanır ve mümkün olan en kısa zamanda, kan alımından sonraki 16 saat içinde  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de inkübe edilmesi gerekir. 16 ila 24 saatlik bir inkübasyon süresinin ardından, tüpler santrifüjlenir, plazma işlenir ve ELISA aracılığıyla IFN- $\gamma$  (IU/ml) miktarı ölçülür. QuantIFERON SARS-CoV-2 ELISA, referans IFN- $\gamma$  preparatına göre tahlil edilmiş rekombinant insan IFN- $\gamma$  standardı kullanır (NIH Ref: Gxg01-902-535). Test örneklerinin sonuçları, kitle birlikte verilen standardın test dilüsyonlarında hazırlanan standart eğriye göre ml başına Uluslararası Birimlerde (International Units, IU/ml) raporlanır.

Bazı kişilerin serumunda veya plazmasında bulunan heterofil (örn. insan antifare) antikorların bağışıklık testleriyle etkileşime neden olduğu bilinmektedir. QuantIFERON SARS-CoV-2 ELISA'da heterofil antikorların etkisi, Yeşil Seyrelticiye normal fare serumu eklenmesiyle ve F(ab')<sub>2</sub> monoklonal antikor parçalarının mikropilaya kuyularına kaplanan IFN- $\gamma$  yakalama antikorları olarak kullanılmasıyla minimum düzeye düşürülür.

---

Mitogen tüpündeki plazma  rneđi, test edilen her numune için bir IFN-  pozitif kontrolü olarak işlev görür. Nil tüpü arka plana göre ayarlanır ( rn. yüksek seviyelerde IFN-  dolaşımı veya heterofil antikorların varlığı). Nil tüpünün IFN-  seviyesi Ag1, Ag2 ve Mitogen tüpleri için IFN-  seviyesinden çıkarılır.



# Sağlanan Materyaller

## Kit içeriği

<b>ELISA bileşenleri</b>	<b>2 plakalı kit</b>
<b>Katalog no.</b>	<b>626420</b>
Murin anti-insan IFN- $\gamma$ monoklonal antikorlu kaplı Microplate strips (Mikroplaka stripleri) (12 x 8 kuyulu)	2 set 12 x 8 Mikroplaka Stripleri
IFN- $\gamma$ Standard (IFN- $\gamma$ Standardı), liyofilize (rekombinant insan IFN- $\gamma$ , bovin kazein, %0,01 a/h Timerosal içerir)	1 x şişe (sulandırıldığında 8 IU/ml)
Green Diluent (Yeşil Seyreltici) (bovin kazein, normal fare serumu, %0,01 a/h Timerosal içerir)	1 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Konjugat 100x Konsantre), liyofilize (murin anti-insan IFN- $\gamma$ HRP, %0,01 Timerosal içerir)	1 x 0,3 ml (sulandırıldığında)
Wash Buffer 20x Concentrate (Yıkama Tamponu 20x Konsantre) (pH 7,2, %0,05 h/h ProClin® 300 içerir)	1 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Enzim Substrat Solüsyonu) (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3',5,5' Tetrametilbenzidin içerir)	1 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Enzim Durdurma Solüsyonu) (0,5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> içerir)*	1 x 15 ml
<i>QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA Kit Kullanım Talimatları</i>	1

\* Sülfürik asit içerir

---

## Kit bileşenleri

### Kontroller ve kalibratörler

QFN SARS ELISA, referans IFN- $\gamma$  preparatına göre tahlil edilmiş rekombinant insan IFN- $\gamma$  standardı kullanır (NIH Ref: Gxg01-902-535).

### Platform ve yazılım

QFN SARS Analysis Software isteğe bağlıdır ve ham verilerin analizi ve sonuçların hesaplanmasında kullanılabilir. [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinden indirilebilir.

# Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Materyaller

## Ek reaktifler

- 2 litre deiyonize veya distile su

## Ekipman\*

- $37 \pm 1^\circ\text{C}$  inkübatör (CO<sub>2</sub> olan veya olmayan)
- 10 µl ila 1000 µl uygulama için kalibre edilmiş değişken hacimli pipetler ve tek kullanımlık uçları
- 50 µl ve 100 µl uygulama kapasiteli, kalibre edilmiş çok kanallı pipet ve tek kullanımlık uçları
- 500 ile 1000 rpm arasında hız kapasiteli mikroplaka çalkalayıcı
- Mikroplaka yıkayıcı (plazma örneklerini kullanırken güvenlik amaçlı, otomatik bir plaka yıkayıcı önerilir)
- 450 nm filtrelili ve 620 nm ila 650 nm referans filtrelili mikroplaka okuyucu
- Değişken hızlı vorteks
- Kan toplama tüplerini en az 3000 RCF'ye (g) kadar santrifüjleme kapasitesine sahip santrifüj
- Dereceli silindir, 1 litre veya 2 litre
- Plaka kapağı
- Düşük havlı, emici havlular

\* Kullanım öncesinde cihazların üreticinin önerilerine göre kontrol edildiği ve kalibre edildiğinden emin olun.

# Uyarılar ve Önlemler

Avrupa Birliğindeki müşteriler için cihazla ilgili olarak meydana gelen ciddi olayları üreticiye ve kullanıcı ve/veya hastanın bulunduğu Üye Devletteki yetkili makama bildirmeniz gerektiğini lütfen dikkate alın.


## Güvenlik bilgileri

Kimyasallar ile çalışırken, her zaman uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için lütfen uygun güvenlik veri sayfalarına (Safety Data Sheet, SDS) başvurun. Bunlar, her bir QIAGEN kiti ve kit bileşenlerine ait SDS'yi bulabileceğiniz, görüntüleyebileceğiniz ve yazdırabileceğiniz [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) adresinde çevrimiçi olarak uygun ve kompakt PDF biçiminde mevcuttur.

- Tüm kimyasallar ve biyolojik materyaller potansiyel olarak tehlikeli maddedir. Numuneler ve örnekler potansiyel olarak enfeksiyözdür ve bunlara biyotehlikeli madde olarak davranılmalıdır.
- Örneği ve tahlil atıklarını, yerel güvenlik prosedürlerinize uygun olarak imha edin.
- Numuneler ve örnekler potansiyel olarak enfeksiyözdür. Örneği ve tahlil atıklarını, yerel güvenlik prosedürlerinize uygun olarak imha edin.
- QFN SARS tahlili, bir bireyin COVID-19 aşılması nedeniyle immün yanıtını değerlendirmek için diğer laboratuvar testleri ve epidemiyolojik/klinik değerlendirme ile birlikte kullanılmalıdır.
- Reaktif olmayan bir QFN SARS sonucu, SARS-CoV-2 enfeksiyonu olasılığını dışlamaz veya COVID-19 aşılmasının etkililiğini belirlemez. Yanlış reaktif olmayan sonuçlar; venipunktür sonrası kan toplama tüplerinin yanlış kullanılması, hatalı tahlil performansı veya komorbiditelerle ilgili olanlar dahil diğer immünolojik değişkenlerden kaynaklanabilir. Diğer inflamatuvar rahatsızlıklardan kaynaklanan heterofil antikorlar veya spesifik olmayan IFN- $\gamma$  üretimi, SARS-CoV-2 peptidlerine verilen spesifik yanıtları maskeleyebilir.

- Reaktif QFN SARS sonucu, COVID-19 aşısının etkililiğini belirlemede tek veya kesin dayanak olmamalıdır. Hatalı tahlil performansı yanlış reaktif QFN SARS sonuçlarına neden olabilir.
- Yanlış reaktif QFN SARS sonucu, hatalı kan örneği alımından veya lenfosit fonksiyonunu etkileyen hatalı numune kullanımından kaynaklanabilir. Kan numunelerinin doğru kullanımı için lütfen bkz. "Prosedür: ELISA Gerçekleştirme" bölümü, sayfa 18. İnkübasyonda gecikme yanlış reaktif olmayan veya şüpheli sonuçlara neden olabilir ve diğer teknik parametreler anlamlı bir IFN- $\gamma$  yanıtını saptama kapasitesini etkileyebilir.
- Mitogen'e düşük yanıt alınması (<0,5 IU/ml), kan örneği aynı zamanda SARS CoV-2 proteinlerine reaktif olmayan bir yanıt veriyorsa şüpheli bir sonuca işaret eder. Bu durum, yetersiz lenfosit, hatalı numune kullanımına bağlı düşük lenfosit aktivitesi, Mitogen tüpünün doldurulması/karıştırılması veya hastanın lenfositlerinin IFN- $\gamma$  üretememesi halinde görülebilir. Heterofil antikorların varlığında veya intrensek IFN- $\gamma$  sekresyonu durumunda Nil örneğinde yüksek IFN- $\gamma$  seviyeleri görülebilir.

## Önlemler

<p><b>DİKKAT</b></p> 	<p>İnsan kanını kullanırken potansiyel enfeksiyöz olarak değerlendirin.</p> <p>İlgili kan kullanımı yönergelerine uyun. Kan veya kan ürünleri ile temas eden örnekleri ve materyalleri federal, ulusal ve yerel düzenlemelere uygun şekilde imha edin.</p>
---	--

### QuantIFERON Enzyme Stopping Solution



İçerik: sülfürik asit. Uyarı! Metaller için aşındırıcı olabilir. Cilt tahrişine neden olur. Ciddi göz tahrişine neden olur. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın.

### QuantIFERON Enzyme Substrate Solution

Uyarı! Hafif derecede cilt tahrişine neden olur. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın.

### QuantIFERON Green Diluent



İçerik: tartrazin. Uyarı! Alerjik cilt reaksiyonuna neden olabilir. Koruyucu eldiven/koruyucu giysi/göz koruması/yüz koruması kullanın.

### QuantIFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Sudaki organizmalar üzerinde uzun dönemli etkilere sahiptir ve zararlıdır. Çevreye salınımindan kaçının.

Daha fazla bilgi

Güvenlik Veri Sayfaları: [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)

- Timerosal bazı QFN SARS reaktiflerinde koruyucu olarak kullanılır. Yutma, soluma veya ciltle temas durumunda toksik olabilir.
- *QuantIFERON ELISA Kit Kullanım Talimatlarından* farklı işlemler, hatalı sonuçlara yol açabilir. Lütfen kullanmadan önce talimatları dikkatlice okuyun.
- Kullanım öncesinde bir reaktif şişesinde hasar veya akma ibaresi görülüyorsa, kiti kullanmayın.
- **Önemli:** Şişeleri kullanmadan önce inceleyin. Konjugat veya IFN- $\gamma$  Standardı şişelerinde hasar belirtileri görülüyorsa veya kauçuk mühür bozulmuş durumdaysa şişeleri kullanmayın. Kırık şişeleri işleme koymayın. Şişeleri güvenli biçimde bertaraf etmek için güvenlik önlemlerini alın. Metal kıvrımlı kapak nedeniyle yaralanma riskini en aza indirmek için Konjugat veya IFN- $\gamma$  Standardı şişelerini açmak üzere şişe kıvrım açıcı kullanmanız önerilir.
- Farklı QFN SARS kit gruplarından alınan Mikroplaka striplerini IFN- $\gamma$  Standardını, Yeşil Seyrelticiyi veya Konjugat 100x Konsantreyi karıştırmayın veya kullanmayın.

---

Reaktiflerin son kullanma tarihleri içinde kullanılması ve lot ayrıntılarının kaydedilmesi şartıyla, diğer reaktifler (Yıkama Tamponu 20x Konsantre, Enzim Substrat Solüsyonu ve Enzim Durdurma Solüsyonu) kitler arasında değiştirilebilir.

- Kullanılmamış reaktifleri ve biyolojik örnekleri yerel, ulusal ve federal düzenlemelere uygun şekilde atın.
- QFN SARS ELISA kitini son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
- Daima doğru laboratuvar prosedürlerine daima uyulmalıdır.
- Plaka yıkayıcılar ve okuyucular gibi laboratuvar ekipmanının kullanım için kalibre edilmiş/onaylanmış olduğundan emin olun.

# Reaktif Saklama ve Kullanma

Tüm bileşenlerin kutusunda ve etiketlerinin üstünde yazılı olan son kullanma tarihlerine ve saklama koşullarına dikkat edilmelidir. Süresi dolmuş veya yanlış saklanmış bileşenleri kullanmayın.

## Kullanımda stabilite

- ELISA kitini 2-8°C'de saklayın.
- Enzim Substrat Solüsyonunu daima doğrudan güneş ışığından koruyun.

## Sulandırılmış ve kullanılmamış reaktifler

- Reaktiflerin sulandırılmasına yönelik talimatlar için bkz. "Prosedür: ELISA Gerçekleştirme", sayfa 18.
- Sulandırılan kit standardı, 2-8°C'de saklandığı takdirde 3 aya kadar muhafaza edilebilir. Kit standardının sulandırıldığı tarihi kaydedin.
- Sulandırılan Konjugat 100X Konsantre 2-8°C'de saklanmaya devam edilmeli ve 3 ay içinde kullanılmalıdır. Konjugatın sulandırıldığı tarihi kaydedin.
- Kullanıma hazır konjugat, hazırlanmasından itibaren 6 saat içinde kullanılmalıdır.
- Kullanıma hazır yıkama tamponu oda sıcaklığında 2 haftaya kadar saklanabilir.



---

## Numune Saklama ve Kullanma

QFN SARS testinin kan alma iş akışı hakkında bilgi için bkz. *QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) Blood Collection Tubes Kullanım Talimatları* (1124422).

# Prosedür: ELISA Gerçekleştirme

## Protokol: IFN- $\gamma$ ELISA

### Önemli noktalar

- ELISA gerçekleştirmek için gerekli malzemeler için bkz. Kit içeriği, sayfa 9 ve Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Materyaller, sayfa 11.

### Ayarlama (Tahlili gerçekleştirmek için gereken süre)

QFN SARS tahlilinden geçerli sonuçlar elde etmek için kullanıcının spesifik görevleri belirlenen süre dahilinde gerçekleştirmesi gerekir. Tahlil kullanılmadan önce, kullanıcının her aşamayı gerçekleştirmek için yeterli zaman ayırmak üzere tahlilin her aşamasını dikkatle planlaması önerilir. Gereken tahmini süre aşağıda belirtilmiştir; gruplandırılmış birden fazla örneğin test süresi de ayrıca gösterilmiştir.

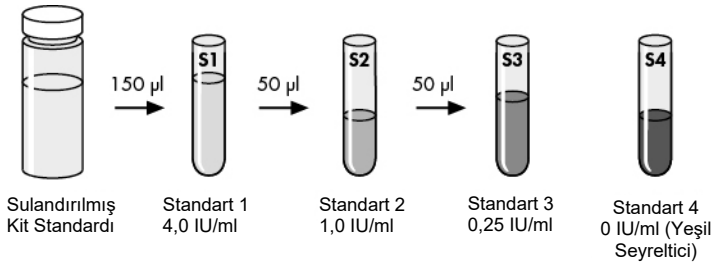
- Bir ELISA plakası için yaklaşık 3 saat
- <1 saat işçilik
- Her bir ekstra plaka için 10 ila 15 dakika eklenmelidir

### Prosedür

1. Konjugat 100x Konsantre hariç olmak üzere tüm plazma örnekleri ve reaktifler, kullanılmadan önce oda sıcaklığına ( $22\text{ C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) getirilmelidir. Dengeleme için en az 60 dakika bekletilmelidir.
2. Kullanılmayacak ELISA plakası striplerini çerçeveden çıkarın, ambalajına geri koyun ve gerektiğinde kullanılmak üzere saklamak için buzdolabına geri koyun.
3. QFN SARS standartları için en az 1 strip ve test edilecek gönüllü sayısı için yeterli sayıda strip bulundurun (önerilen plaka formatı için bkz. Şekil 2). Kullanımdan sonra, kalan şeritlerin kullanımı için plak çerçevesini ve kapağı saklayın.

- 3a. IFN- $\gamma$  Standardını, şişe etiketinde belirtilen hacimde deiyonize veya distile suyla sulandırın. Köpürmesini azaltmak ve tüm şişe içeriğinin tamamen çözündüğünden emin olmak için hafifçe karıştırın. IFN- $\gamma$  standardının doğru hacme ulaşıncaya kadar sulandırılması ile 8,0 IU/ml konsantrasyonda solüsyon elde edilir.
- 3b. Sulandırılmış standardı kullanarak 4 IFN- $\gamma$  konsantrasyonundan oluşan bir dilüsyon serisi hazırlayın (bkz. Şekil 1).
- 3c. Aşağıdaki IFN- $\gamma$  konsantrasyonları ile bir standart eğri oluşturulmalıdır:
- S1 (Standart 1) 4,0 IU/ml içerir
  - S2 (Standart 2) 1,0 IU/ml içerir
  - S3 (Standart 3) 0,25 IU/ml içerir
  - S4 (Standart 4) 0 IU/ml içerir (Tek başına Yeşil Seyreltici [Green Diluent, GD]).
- 3d. Standartlar en azından çift olarak test edilmelidir.
- 3e. Her ELISA seansı için kit standardının dilüsyonlarını taze olarak hazırlayın.

Prosedür	
A	4 tüpü etiketleyin: S1, S2, S3, S4
B	S1, S2, S3, S4'e 150 $\mu$ l GD ekleyin
C	S1'e 150 $\mu$ l kit standardı ekleyin ve iyice karıştırın
D	S1'den 50 $\mu$ l alıp S2'ye koyun ve iyice karıştırın
E	S2'den 50 $\mu$ l alıp S3'e koyun ve iyice karıştırın
F	GD tek başına sıfır standardı olarak işlev görür (S4)



Şekil 1. Standart eğri dilüsyon serilerinin hazırlanması.

4. Liyofilize Konjugat 100x Konsantre'yi 0,3 ml deiyonize veya distile suyla sulandırın. Köpürmesini azaltmak ve tüm şişe içeriğinin tamamen çözündüğünden emin olmak için hafifçe karıştırın.
  - 4a. Kullanıma hazır konjugat, gereken miktarda sulandırılmış Konjugat 100x Konsantre'nin Yeşil Seyreltici içinde seyreltilmesiyle hazırlanır (Tablo 1).
  - 4b. Kullanıma hazır konjugat, hazırlanmasından itibaren 6 saat içinde kullanılmalıdır.
  - 4c. Kullanımdan hemen sonra, kalan açılmamış Konjugat 100x Konsantre'yi 2-8°C'de muhafaza etmek üzere kaldırın.

**Tablo 1. Konjugat hazırlama (kullanıma hazır)**

Strip sayısı	Konjugat hacmi (100x konsantre)	Yeşil Seyreltici Hacmi
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. Kan toplama tüplerinden toplanan ve sonrasında saklanan (soğutulmuş veya dondurulmuş halde) plazma örneklerinde, saklanan örneği ELISA kuyusuna eklemeyen önce iyice karıştırın. Plazma örnekleri, santrifüjlenmiş QFN SARS Blood Collection Tube'larda 2-8°C'de 28 güne kadar saklanabilir veya toplanan plazma

örnekleri 2-8°C'de 28 güne kadar saklanabilir. Ayrıca toplanan plazma örnekleri -20°C'nin altında (tercihen -70°C'nin altında) 24 aya kadar saklanabilir.

Plazma örnekleri ölçüm için doğrudan santrifüjlenmiş kan toplama tüplerinden QFN SARS ELISA plakasına yüklenebilir/kullanılabilir.

**Önemli:** Plazma örnekleri santrifüjlenmiş QFN SARS Blood Collection Tube'lerinden doğrudan aktarılacaksa plazmanın karıştırılmasından kaçınılmalıdır. İşlemin her aşamasında, jel üzerindeki materyali bozmamaya dikkat edin.

- Her ELISA plakası kuyusuna 50 µl yeni hazırlanmış kullanıma hazır konjugat ekleyin.
- Uygun kuyulara 50 µl test plazma örneği ekleyin (Şekil 2'de önerilen ELISA plaka düzenine bakın).
- Son olarak, uygun plaka kuyularına Standart 1 ila 4'ün her birinden 50 µl ekleyin (Şekil 2'de önerilen ELISA plaka düzenine bakın). Standartlar en azından çift olarak test edilmelidir.

	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 Ag1	3 Ag1	5 Ag1	7 Ag1	9 Ag1	S2	S2	13 Ag1	15 Ag1	17 Ag1	19 Ag1	21 Ag1
C	1 Ag2	3 Ag2	5 Ag2	7 Ag2	9 Ag2	S3	S3	13 Ag2	15 Ag2	17 Ag2	19 Ag2	21 Ag2
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 Ag1	4 Ag1	6 Ag1	8 Ag1	10 Ag1	11 Ag1	12 Ag1	14 Ag1	16 Ag1	18 Ag1	20 Ag1	22 Ag1
G	2 Ag2	4 Ag2	6 Ag2	8 Ag2	10 Ag2	11 Ag2	12 Ag2	14 Ag2	16 Ag2	18 Ag2	20 Ag2	22 Ag2
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

Şekil 2. **Önerilen ELISA plaka düzeni.** S1 (Standart 1), S2 (Standart 2), S3 (Standart 3), S4 (Standart 4). 1N (Örnek 1. Nil Kontrol plazması), 1 Ag1 (Örnek 1. Ag1 plazma), 1 Ag2 (Örnek 1. Ag2 plazma), 1M (Örnek 1. Mitogen plazma).

- ELISA plakasını kapatın ve mikropilaya çalkalayıcı kullanarak, konjugat ve plazma örnekleri/standartlarını 1 dakika boyunca 500 ila 1000 rpm'de iyice karıştırın. Sıçramayı önleyin.
- ELISA plakasını kapatın ve oda sıcaklığında (22°C ± 5°C) 120 ± 5 dakika inkübe edin. ELISA plakası inkübasyon sırasında doğrudan güneş ışığına maruz kalmamalıdır. Belirtilen sıcaklık aralığından farklı sıcaklık hatalı sonuçlara neden olabilir.

11. ELISA plakası inkübasyonu sırasında kullanıma hazır yıkama tamponu hazırlayın. Bir birim Yıkama Tamponu 20x Konsantreyi 19 birim deiyonize veya distile su ile seyreltin ve iyice karıştırın. 2 litre kullanıma hazır yıkama tamponu hazırlamak için yeterli Yıkama Tamponu 20x Konsantre sağlanmıştır.
12. ELISA plakası inkübasyonu tamamlandığında, ELISA plakası kuyularını 400 µl kullanıma hazır yıkama tamponu ile yıkayın. Yıkama adımını en az 6 kez gerçekleştirin. Plazma örneklerini kullanırken güvenlik amacıyla otomatik plaka yıkayıcı önerilir.

Eksiksiz yıkama, tahlilin performansı için çok önemlidir. Her kuyunun, her yıkama aşamasında, yıkama tamponuyla tamamen dolu olduğundan emin olun. Her aşama arasında en az 5 saniye bekletme süresi önerilir.

Atık kabına standart laboratuvar dezenfektanı eklenmelidir ve potansiyel enfeksiyöz materyallerin dekontaminasyonu için gerekli prosedürler uygulanmalıdır.
13. Kalan yıkama tamponunu gidermek için ELISA plakasını emici (az tiftikli) bir havlu üzerinde ters çevirin ve arkasına vurun. Her plaka kuyusuna 100 µl Enzim Substrat Solüsyonu ekleyin, plakayı kapatın ve bir mikropilaka çalkalayıcı kullanarak 1 dakika boyunca 500 ila 1000 rpm'de iyice karıştırın.
14. ELISA plakasını kapatın ve oda sıcaklığında ( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) 30 dakika inkübe edin. ELISA plakası inkübasyon sırasında doğrudan güneş ışığına maruz kalmamalıdır.
15. 30 dakikalık inkübasyonu takiben, substratın eklenmesiyle aynı sırada her plaka kuyusuna 50 µl Enzim Durdurma Solüsyonu ekleyin ve mikropilaka çalkalayıcı kullanarak 500 ila 1000 rpm'de iyice karıştırın.
16. 620 nm ile 650 nm arasında bir referans filtreyle 450 nm'lik filtresi bulunan bir mikropilaka okuyucu kullanarak, reaksiyonu durdurduktan sonraki 5 dakika içinde ELISA plaka kuyularının Optik Yoğunluğunu (Optical Density, OD) ölçün. OD değerleri sonuçların hesaplanmasında kullanılır.

# Sonuçlar (Hesaplamalar)

QFN SARS Analysis Software, ham verilerin analizi ve sonuçların hesaplanmasında kullanılabilir. [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinde bulunabilir. Lütfen QFN SARS Analysis Software'in en son sürümünün kullanıldığınından emin olun.

Yazılım, sayfa 27 içerisindeki "Sonuçların Yorumlanması" bölümünde detaylı şekilde anlatıldığı gibi, tahlilin Kalite Kontrol değerlendirmesini gerçekleştirir, bir standart eğri oluşturur ve her gönüllü için bir test sonucu sunar. Yazılım 10 IU/ml'den büyük olan tüm konsantrasyonları ">10" olarak rapor eder çünkü bu değerler doğrulanmış ELISA lineer aralığının ötesinde kalır.

QFN SARS Analysis Software kullanmak yerine, sonuçlar aşağıdaki yöntemle göre belirlenebilir.

## Standart eğri ve örnek değerleri oluşturma

### QFN SARS Analysis Software kullanılmıyorsa

QFN SARS Analysis Software kullanılmıyorsa standart eğrinin belirlenmesi ve örnek IU/ml değerlerinin belirlenmesi Microsoft® Excel® gibi bir çalışma sayfası programı gerektirir.

### Çalışma sayfası programı kullanma

1. Her plakadaki kit standardı tekrarlarından ortalama OD değerlerini belirleyin.
2. Ortalama OD  $\log_{(e)}$ 'una (y eksenini) karşı standartların IU/ml cinsinden IFN- $\gamma$  konsantrasyonu  $\log_{(e)}$ 'unu (x eksenini) çizerek bir  $\log_{(e)}$ - $\log_{(e)}$  standart eğrisi oluşturun; sıfır standardını bu hesaplamalara katmayın. Standart eğrinin en iyi uyum doğrusunu regresyon analizi ile hesaplayın.
3. Her bir örneğin OD değerini kullanarak, her bir test plazma örneğinin IFN- $\gamma$  konsantrasyonunu (IU/ml) belirlemek için standart eğriyi kullanın.

4. Bu hesaplamalar, mikroplaka okuyucularla gelen yazılım paketleri ve standart çalışma sayfası veya istatistik yazılımları (Microsoft Excel gibi) kullanılarak da yapılabilir. Bu paketlerin, regresyon analizinin, standartların varyasyon katsayısının (Coefficient of Variation, %CV) ve standart eğrinin korelasyon katsayısının ( $r$ ) hesaplanmasında kullanılması önerilir.

### Örnek hesaplaması

Standartlar için aşağıdaki OD değerleri elde edilmişse bunları Tablo 2'de  $-\log(e)$  – kullanılan hesaplamalar izler.

**Tablo 2. Standart eğri**

Standart	IU/ml	OD değerleri a ve b	Ortalama OD	%CV	$\log_{(e)}$ IU/ml	$\log_{(e)}$ Ortalama (OD)
Standart 1	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
Standart 2	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
Standart 3	0,25	0,114, 0,136	0,125	Uygulanamaz	-1,386	-2,079
Standart 4	0	0,034, 0,037	0,036	Uygulanamaz	Uygulanamaz	Uygulanamaz

Eğri denklemleri  $y = 0,7885(X) - 0,9837$ 'dir; burada " $m$ " = 0,7885 ve " $c$ " = -0,9837'dir. Bu değerler  $X$  değerini bulmak için  $X = (Y-c)/m$  denkleminde kullanılır. Standart eğriye dayalı olarak, hesaplanan korelasyon katsayısı ( $r$ ) = 1,000'dir. **Uygulanamaz**: Uygulanamaz.

"Testin kalite kontrolü", sayfa 25 içinde belirtilen kriterler kullanılarak tahlilin doğruluğu belirlenir.

Standart eğri (Tablo 2), Antijen OD yanıtlarını Uluslararası Birimlere (International Units, IU/ml) dönüştürür.



**Tablo 3. Örnek hesaplaması**

Antijen	OD değeri	Log <sub>(e)</sub> OD değeri	X	e <sup>x</sup> (IU/ml)	Antijen –Nil (IU/ml)
Nil	0,037	-3,297	-2,934	0,05	–
Ag1	1,161	0,149	1,437	4,21	4,15
Ag2	1,356	0,305	1,634	5,12	5,07
Mitogen	1,783	0,578	1,981	7,25	7,20

Ag1, Ag2 ve Mitogen için IFN- $\gamma$  değerleri (IU/ml cinsinden) ilgili Nil kontrolü için elde edilen IU/ml değeri çıkarılarak arka plan için düzeltilir. Bu düzeltilen değerler, test sonuçlarının yorumlanması için kullanılır.

## Testin kalite kontrolü

Test sonucunun kesinliği, doğru bir standart eğrinin oluşturulmasına bağlıdır. Bu yüzden, test örneği sonuçları yorumlanmadan önce standartlardan edinilen sonuçlar gözden geçirilmelidir.

ELISA'nın geçerli olması için:

- Standart 1'in ortalama OD değeri  $\geq 0,600$  olmalıdır.
- Standart 1 ve Standart 2'nin tekrar değerleri için %CV  $\leq 15$  olmalıdır.
- Standart 3 ve Standart 4'ün tekrar OD değerleri ile ortalamaları arasında 0,040 optik yoğunluk biriminden fazla fark olmamalıdır.
- Standartların ortalama absorbans değerlerinden hesaplanan korelasyon katsayısı ( $r$ )  $\geq 0,98$  olmalıdır.
- Yukarıdaki kriterler karşılanmıyorsa çalışma geçersiz kabul edilmeli ve tekrarlanmalıdır.
- Sıfır Standartının (Yeşil Seyreltici) ortalama OD değeri  $\leq 0,150$  olmalıdır. Ortalama OD değeri  $> 0,150$  ise plaka yıkama prosedürü gözden geçirilmelidir.

QFN SARS Analysis Software bu kalite kontrol parametrelerini hesaplar ve rapor eder.

---

Her laboratuvar yerel, ulusal, federal veya diğer geçerli akreditasyon kuruluşlarına göre uygun kontrol materyali türlerini ve test sıklığını belirlemelidir. Harici kalite değerlendirme ve alternatif validasyon prosedürleri değerlendirilmelidir.

**Not:** Rekombinant IFN- $\gamma$  eklenmiş plazmalar, 2-8°C ve -20°C'de saklandığında konsantrasyonda %50'ye varan azalmalar göstermiştir. Rekombinant IFN- $\gamma$ , plazma rneklelerinde kontrol standartlarının belirlenmesi için önerilmez.

# Sonuçların Yorumlanması

QFN SARS sonuçları aşağıdaki kriterler kullanılarak yorumlanır (Tablo 4).

**Önemli:** QFN SARS tahlili, bir bireyin COVID-19 aşılması nedeniyle immün yanıtını değerlendirmek için diğer laboratuvar testleri ve epidemiyolojik/klinik değerlendirme ile birlikte kullanılmalıdır.

**Tablo 4. QFN SARS test sonuçlarının yorumlanması**

Nil (IU/ml)	Ag1 Antijeni ekşi Nil (IU/ml)	Ag2 Antijeni ekşi Nil (IU/ml)	Mitogen ekşi Nil (IU/ml)*	QFN SARS sonucu	Rapor/Yorumlama
≤8,0	≥0,15 ve ≥%25 Nil	Herhangi biri	Herhangi biri	Reaktif	SARS-CoV-2 yanıtı saptandı
	Herhangi biri	≥0,15 ve ≥%25 Nil			
	<0,15 veya ≥0,15 ve <%25 Nil	<0,15 veya ≥0,15 ve <%25 Nil	≥0,50	Reaktif olmayan	SARS-CoV-2 yanıtı SAPTANMADI
	<0,15 veya ≥0,15 ve <%25 Nil	<0,15 veya ≥0,15 ve <%25 Nil	<0,50	Şüpheli†	SARS-CoV-2 yanıtı ve Mitogen saptanamıyor
>8,0§	Herhangi biri				

\* Mitogen pozitif kontrolüne verilen yanıtlar (ve zaman zaman Ag Antijeni yanıtları) mikroplaka okuyucunun aralığının dışında kalabilir. Bu durumun test sonuçlarına herhangi bir etkisi olmaz. >10 IU/ml'lik değerler QFN SARS yazılımı tarafından >10 IU/ml olarak raporlanır.

† Bkz. "Sorun Giderme Kılavuzu", sayfa 49 olası nedenler.

§ Klinik çalışmalarda gönüllülerin %0,25'inden azında, Nil değeri için >8,0 IU/ml IFN-γ seviyeleri söz konusu olmuştur.

# Sınırlamalar

QFN SARS test sonuçları, her bireyin kendi epidemiyolojik geçmişi, mevcut medikal durumu ve diğer teşhis değerlendirmeleri ile birlikte kullanılmalıdır.

Nil değerleri 8 IU/ml'den büyük olan bireyler "Şüpheli" olarak sınıflandırılır çünkü Ag Antijenlerine verilen %25'ten yüksek bir yanıt, tahlil ölçüm aralığının dışında olabilir.

- Reaktif olmayan bir sonuç, özellikle immün fonksiyon bozukluğu olan bireyler için aşılama yanıt olasılığı açısından bireyin tıbbi ve geçmiş verileriyle birlikte değerlendirilmelidir.
- QFN SARS tahlili, bir bireyin COVID-19 aşılması nedeniyle immün yanıtını değerlendirmek için diğer laboratuvar testleri ve epidemiyolojik/klinik değerlendirme ile birlikte kullanılmalıdır.

Aşağıdakilere bağlı olarak emin olunmayan veya şüpheli sonuçlar elde edilebilir:

- Kullanım Talimatlarında açıklanan prosedürden sapmalar
- Kan numunesinin yanlış taşınması/kullanılması
- Yüksek seviyelerde IFN- $\gamma$  dolaşımı veya heterofil antikorların varlığı
- Kan numunesi alımından inkübasyona kadar doğrulanmış kan sürelerini aşma. Bkz. *QFN SARS Blood Collection Tubes Kullanım Talimatları* (1124422).

# Test Performans Özellikleri

## Analitik Performans

### Test eşiği

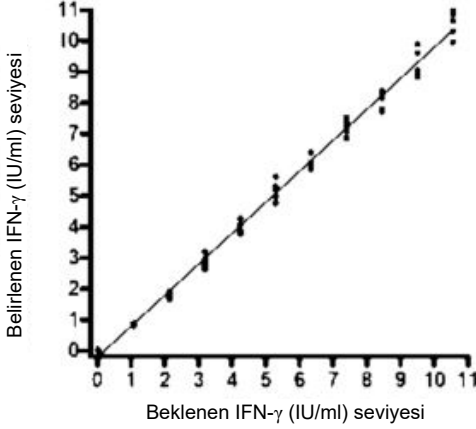
QFN SARS tahlili kesme değeri, bir RT-PCR testi veya seroloji testi ile SARS-CoV-2 reaktif olmayan test sonucu alınan yirmi (20) gönüllüden ve FDA EUA onaylı bir aşı ile tam aşılama durumundan sonra 2-16 hafta arasında) yirmi (20) donörden alınan veriler kullanılarak belirlenmiştir. Kesin iki taraflı %95 güven aralıkları (Confidence Interval, CI) ile birlikte duyarlılık ve özgüllük verileri analiz edilmiş ve optimum ELISA kesme değerinin 0,15 IU/ml olduğunu göstermiştir (bkz. Tablo 5).

**Tablo 5. QFN SARS Kesme Değerleri (IU/ml) ve Karşılık Gelen Duyarlılık ve Özgüllük ile Kesin İki Taraflı %95 CI**

Kesme değeri	Duyarlılık			Özgüllük		
	Değer	Alt %95 CI	Üst %95 CI	Değer	Alt %95 CI	Üst %95 CI
0,1	1,000	0,940	1,000	0,933	0,838	0,982
0,15	0,983	0,911	1,000	1,000	0,940	1,000
0,2	0,900	0,795	0,962	1,000	0,940	1,000
0,25	0,733	0,603	0,839	1,000	0,940	1,000
0,3	0,717	0,586	0,825	1,000	0,940	1,000
0,35	0,650	0,516	0,769	1,000	0,940	1,000
0,4	0,600	0,465	0,724	1,000	0,940	1,000
0,45	0,567	0,432	0,694	1,000	0,940	1,000
0,5	0,467	0,337	0,600	1,000	0,940	1,000
0,55	0,433	0,306	0,568	1,000	0,940	1,000
0,6	0,400	0,276	0,535	1,000	0,940	1,000
0,65	0,333	0,217	0,467	1,000	0,940	1,000
0,7	0,317	0,203	0,450	1,000	0,940	1,000
0,75	0,300	0,188	0,432	1,000	0,940	1,000
0,8	0,300	0,188	0,432	1,000	0,940	1,000

## Doğrusallık

QFN SARS ELISA'nın, ELISA plakasına IFN- $\gamma$  konsantrasyonlarının bilinen 11 plazma havuzunun 5 tekrarı rastgele yerleştirilerek doğrusal olduğu gösterilmiştir. Doğrusal regresyon doğrusu  $1,002 \pm 0,011$ 'lik eğime sahip olup, korelasyon katsayısı 0,99'dur (Şekil 3).



Şekil 3. Doğrusallık Çalışması Regresyon Analizinin Çizimi.

## Yeniden üretilebilirlik

QFN SARS tahlilinin birden fazla kullanıcıya sahip laboratuvarlar arasındaki performansını değerlendirmek için çoklu laboratuvar yeniden üretilebilirlik çalışması gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma, QIAGEN içindeki üç laboratuvarda yürütülmüştür. Toplam üç (3) SARS-CoV-2 reaktif ve üç (3) SARS-CoV-2 reaktif olmayan çalışma gönüllüsü (RT-PCR testi veya seroloji testi ile belirlenmiştir) kaydedilmiştir.

Her bir çalışma gönüllüsünden dört (4) lityum heparinli kan toplama tüpünde toplanan kan alınmıştır. Daha sonra lityum heparinli kan toplama tüpleri test laboratuvarlarından birine aktarılmış ve burada üç (3) set QFN SARS Blood Collection Tube'a (QFN SARS Ag1, Ag2, Mitogen ve Nil) kan alikotu alınmıştır. Her test laboratuvarına QFN SARS Blood Collection

Tube'ların (BCT'ler) her birinden bir set aktarılmış ve ardından QFN SARS tahlil prosedürüne göre test edilmiştir. Her gönüllü her laboratuvarında on (10) tekrar (Ag1 için beş (5) tekrar ve Ag2 için beş (5) tekrar) ile test edilmiştir. Her laboratuvarında bir (1) kullanıcı QFN SARS testini bağımsız olarak çalışmıştır. Her kullanıcı, diğer kullanıcıların elde ettiği sonuçlara karşılaştırılmış ve çalışma gönüllüsünün RT-PCR veya seroloji testi sonuçlarına karşılaştırılmıştır.

Üç (3) test laboratuvarının her birinde 30 sonuç üretilmiş ve sonuç olarak toplam 90 veri noktası elde edilmiştir. Çalışma sonuçlarının yeniden üretilebilirlik özeti Tablo 6'da sunulmaktadır.

**Tablo 6. Yeniden üretilebilirlik çalışması sonuçları özeti –N = 30 hasta örneği**

<b>Laboratuvar 1 – 1 Kullanıcı</b>	<b>Laboratuvar 2 – 1 Kullanıcı</b>	<b>Laboratuvar 3 – 1 Kullanıcı</b>
25/30 = %83	30/30 = %100	30/30 = %100
Kalitatif Sonuçların Uyumluluğu	Kalitatif Sonuçların Uyumluluğu	Kalitatif Sonuçların Uyumluluğu

Tüm reaktif ve reaktif olmayan örneklerde beklenen kalitatif sonuçlara genel uyumluluk oranı (gönüllü referans yöntem sonucuna göre reaktif sonuç veren reaktif gönüllü ve reaktif olmayan sonuç veren reaktif olmayan gönüllü) üç (3) laboratuvarında da %94,4 (85/90) olmuştur.

#### Lotlar arası tekrarlanabilirlik

QFN SARS Blood Collection Tube'lerin lotlar arası değişkenliğini belirlemek için bir çalışma yürütülmüştür. Toplam iki (2) SARS-CoV-2 reaktif ve üç (3) SARS-CoV-2 reaktif olmayan (RT-PCR testi veya seroloji testi ile belirlenmiştir) çalışma gönüllüsü test edilmiştir. QFN SARS Ag1 ve Ag2 Blood Collection Tube'lerin her birinden üç (3) ayrı lot bu çalışmaya dahil edilmiştir. Her kan toplama tüpü lotu için donör başına beş (5) tekrar test edilmiştir. Lotlar arası kesinlik sonuçlarının özeti Tablo 7'de sunulmaktadır.



**Tablo 7. Lotlar Arası Kesinlik çalışması sonuçları özeti - QFN SARS Ag1 ve Ag2 Blood Collection Tube'ları için Genel Uyumluluk Oranı; N = 25**

QFN SARS BCT	BCT Lot numarası	Uyumlu kalitatif sonuçların sayısı / Toplam sonuç	Oran	Alt güven limiti	Üst güven limiti
Ag1	1	25/25	%100,00	%86,28	%100,00
	2	25/25	%100,00	%86,28	%100,00
	3	25/25	%100,00	%86,28	%100,00
Ag2	1	25/25	%100,00	%86,28	%100,00
	2	25/25	%100,00	%86,28	%100,00
	3	25/25	%100,00	%86,28	%100,00

Tüm reaktif ve reaktif olmayan örneklerde beklenen sonuçlara genel uyumluluk oranı (gönüllü referans yöntem sonucuna göre reaktif sonuç veren reaktif gönüllü ve reaktif olmayan sonuç veren reaktif olmayan gönüllü) üç (3) QFN SARS Ag1 ve Ag2 BCT lotunda da %100 olmuştur.

#### Kör Sınırı (Limit of Blank, LoB)

QFN SARS tahlili için Kör Sınırı (Limit of Blank, LoB) değerlendirilmiştir. On dört (14) ayrı normal insan plazma örneğinin (kör olarak) her birinden iki (2) tekrar, iki (2) lot QFN SARS ELISA ile üç (3) test gününde üç (3) operatör tarafından test edilmiştir (her test gününde bir (1) operatör ile her ELISA kit lotundan toplamda 84 tekrar).

İki (2) ELISA kit lotu için LoB değerleri (IU/ml) Tablo 8'de gösterilen şekilde ayrı olarak hesaplanmıştır.

**Tablo 8. İki (2) QFN SARS ELISA Kit Lotu İçin LoB Değerleri (IU/ml)**

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

Her iki QFN SARS ELISA kit lotu arasında daha büyük LoB değeri olan 0,040 IU/ml, nihai LoB değeri olarak rapor edilmiştir.

### Tespit Sınırı (Limit of Detection, LoD)

QFN SARS tahlili için Tespit Sınırı (Limit of Detection, LoD) değerlendirilmiştir. On dört (14) ayrı plazma örneği birleştirilerek bir insan plazma havuzu oluşturulmuştur. Üç (3) operatörün her biri 1,0 IU/ml'de tampon içinde seyreltilmiş bir IFN- $\gamma$  referans standart stoku hazırlamıştır. Plazmada sekiz (8) konsantrasyonun bir dilüsyon serisi hazırlanmıştır. Çalışma üç (3) gün boyunca, iki (2) QFN SARS ELISA kit lotu kullanan üç (3) dönüşümlü operatör tarafından yürütülmüştür. Her test günü için her seri dilüsyon serisi setindeki her konsantrasyonun beş (5) tekrarı, her QFN SARS ELISA kit lotunun her IFN- $\gamma$  konsantrasyonu dilüsyonu için toplamda 45 tekrar için test edilmiştir.

QFN SARS ELISA kit lotlarının her biri için LoD değeri, Tablo 9'da gösterilen şekilde ayrı olarak hesaplanmıştır. LoD, bir Probit regresyon modeli kullanılarak hesaplanmıştır. LoD, 0,04 IU/ml'den (LoB ile belirlenmiş) daha yüksek bir doğruluk oranı elde etmeye yönelik %95 tahmini olasılık sağlayan tahmini konsantrasyonu (IU/ml) temel almıştır.

**Tablo 9. İki (2) QFN SARS ELISA Kit Lotu İçin Tahmini LoD Değerleri (IU/ml)**

QFN SARS ELISA Kiti	Olasılık	Konsantrasyon tahmini (IU/ml)	Tahmin için Alt %95 Güven Limiti	Tahmin için Üst %95 Güven Limiti
Kit 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Kit2	0,95	0,065	0,060	0,073

Her iki QFN SARS ELISA kit lotu arasında hesaplanan daha büyük LoD değeri olan 0,065 IU/ml, nihai LoD değeri olarak rapor edilmiştir.

## Olumsuz etkileyen maddeler

Potansiyel olumsuz etkileyen maddelerin QFN SARS ELISA testinin IFN- $\gamma$  saptama performansı üzerindeki etkilerini belirlemek için bir çalışma yürütülmüştür. Bu teste dahil edilen interferanlar şunlardır: trigliseritler (total), hemoglobin, protein (total serum), bilirubin (konjuge), bilirubin (konjuge olmayan), abakavir sülfat, siklosporin ve prednizolon. Farklı interferan konsantrasyonları kullanılarak, bilinen IFN- $\gamma$  konsantrasyonları ile beş (5) plazma havuzu hazırlanmıştır. Temel havuz IFN- $\gamma$  seviyesi, önceden belirlenen miktarda mevcut IFN- $\gamma$  (yaklaşık 0,21, 0,45 ve 1,4 IU/ml) ile önceden hazırlanmıştır. Daha sonra bu havuz interferan havuzlarını hazırlamak için kullanılmıştır. İnterferan konsantrasyonlarının beş farklı seviyesi test edilmiş ve referans aralıklar, patolojik değerler, terapötik aralıklar ve toksik aralıkları temel almış veya satıcı tarafından ya da genel klinik seviyelere göre önerilmiştir. Her interferan örnek konsantrasyon seviyesi için altı (6) tekrar test edilmiştir.

Her örnek konsantrasyonu için kontrole (interferansız seviye) kıyasla yüksek interferan seviyesinin (10) ortalama log<sub>10</sub> (IU/ml) farkını karşılaştıran bir T testi gerçekleştirilmiştir. Ortalama yanıt açısından tahmini farkın yanı sıra karşılık gelen iki taraflı %95 güven limitleri ve p değeri de tabloda raporlanmıştır.

**Tablo 10. Log10 IU/ml: Her İnterferan ve IFN- $\gamma$  Konsantrasyon Seviyesi İçin Kontrol ile Yüksek İnterferan Seviyesi Arasında Ortalama Açısından Farklar İçin T-Test Özet Tablosu**

İnterferan	İnterferan seviyesi	Örnek konsantrasyonu (IU/ml)	Ortalama Fark	Alt %95 CI	Üst %95 CI	P değeri
Trigliseritler	Yüksek	1,4	0,053	-0,004	0,110	0,063
		0,45	0,039	-0,021	0,058	<0,001
		0,21	0,034	-0,002	0,071	0,061
Hemoglobin	Yüksek	1,4	-0,001	-0,042	0,040	0,967
		0,45	0,016	-0,007	0,040	0,152
		0,21	0,014	-0,030	0,059	0,489
Protein	Yüksek	1,4	-0,030	-0,071	0,011	0,136
		0,45	0,000	-0,046	0,046	0,992
		0,21	-0,045	-0,103	0,012	0,109
Konjuge Bilirubin	Yüksek	1,4	0,001	-0,046	0,048	0,961
		0,45	0,012	-0,043	0,067	0,639
		0,21	0,015	-0,044	0,074	0,586
Konjuge Olmayan Bilirubin	Yüksek	1,4	0,015	-0,011	0,042	0,231
		0,45	0,015	-0,023	0,052	0,411
		0,21	0,012	-0,033	0,057	0,566
Abakavir	Yüksek	1,4	0,013	-0,015	0,040	0,322
		0,45	0,015	-0,014	0,044	0,283
		0,21	0,008	-0,034	0,050	0,677

Tablonun devamı bir sonraki sayfadadır

Tablo bir önceki sayfadan devam ediyor

**Tablo 10. Log<sub>10</sub> IU/ml: Her İnterferan ve IFN- $\gamma$  Konsantrasyon Seviyesi İçin Kontrol ile Yüksek İnterferan Seviyesi Arasında Ortalama Açısından Farklar İçin T-Test Özet Tablosu**

İnterferan	İnterferan seviyesi	Örnek konsantrasyonu (IU/ml)	Ortalama Fark	Alt %95 CI	Üst %95 CI	P değeri
Siklosporin	Yüksek	1,4	0,002	-0,019	0,024	0,816
		0,45	0,007	-0,030	0,043	0,682
		0,21	0,015	-0,007	0,038	0,155
Prednizolon	Yüksek	1,4	0,007	-0,016	0,030	0,518
		0,45	-0,001	-0,034	0,033	0,964
		0,21	0,021	-0,025	0,068	0,334

Sonuçlar, trigliserit 0,45 IU/ml konsantrasyon seviyesi hariç olmak üzere, test edilen en yüksek interferan seviyesi ile kontrol (interferansız seviye) arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark göstermemiştir. Bu değer için ortalama farkın, ortalama kontrol seviyesi ölçümünün  $\pm 2$  standart sapmaları dahilinde olduğu belirlenmiştir; bu durum, gözlenen farkın tahlilin beklenen değişkenliği dahilinde olduğunu ve trigliseritlerin klinik olarak anlamlı seviyelerinin QFN SARS ELISA'yı olumsuz etkilemesinin beklenmediğini gösterir.

# Klinik Performans

QFN SARS tahlilinin klinik performansı, SARS-CoV-2 enfeksiyonu öyküsü olmayan ve SARS-CoV-2'nin viral S proteinini hedef alan aşılarda COVID-19 aşılması yapılan gönüllülerin yanı sıra SARS-CoV-2 enfeksiyonu öyküsü olmayan ve COVID-19 aşılması yapılmayan gönüllüler kullanılarak Haziran ile Ekim 2021 arasında yürütülen prospektif, gözlemsel bir çalışmada değerlendirilmiştir.

Olur veren gönüllüler çalışmaya dahil olma ve olmama kriterlerine göre değerlendirilmiş ve yalnızca tüm dahil olma kriterlerini karşılayan ancak dahil olmama kriterlerinden hiçbirini karşılamayan gönüllüler çalışmaya kaydedilmiş ve QFN SARS için kan alımı yapılmıştır.

Çalışmaya kaydolun popülasyonun özeti aşağıdadır:

- Grup 1: Doğal SARS-CoV-2 enfeksiyonu öyküsü olmayan, QFN SARS için kan alımı sırasında COVID-19 aşılması yapılmamış, SARS-CoV-2 enfeksiyonu için hiç pozitif test sonucu almamış, reaktif olmayan seroloji test sonucu bildirmiş ve çalışmaya kayıttan önceki 4 haftalık dönem içinde COVID-19 belirti veya semptomu göstermemiş gönüllüler dahil edilmiştir.
- Grup 2: SARS-CoV-2 enfeksiyonu öyküsü olmayan, QFN SARS için kan alımı sırasında SARS-CoV-2'nin S proteinini hedef alan COVID-19 aşılması yapılmış ve SARS-CoV-2 enfeksiyonu için hiç pozitif test sonucu almamış gönüllüler dahil edilmiştir.
- Gönüllülerin hiçbirisi nakil alıcısı (katı organ veya hücre) değildir ve/veya çalışmaya katılım sırasında kanser tedavisi almamaktadır.

Toplam 218 gönüllü Grup 1'e kaydedilirken, 171 gönüllü Grup 2'ye kaydedilmiştir. QFN SARS kan alımından sonra, Grup 1'deki dört gönüllünün QFN SARS için kan alımının gerçekleştiği aynı ziyarette alınan bir örnek kullanılarak elde edilen reaktif seroloji test sonucu nedeniyle uygun olmadığı belirlenmiş ve sonuç olarak bu gönüllüler analize dahil edilmemiştir.

Örnekler alınmış, QFN SARS kan toplama tüpleri işlenmiş ve plazma, QFN SARS ELISA ile test için hazır olana kadar  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de saklanmıştır. Tüm QFN SARS ELISA plaka çalışmaları geçerli olmuştur ve şüpheli sonuç elde edilmemiştir; bu da Grup 1 ve 2'de sırasıyla 214 ve 171 değerlendirilebilir örnek sağlamıştır.

## Demografik bilgiler

Her ülkede alınan örneklerin sayısı ve her çalışma grubu için toplam yüzde Tablo 11'de sunulmaktadır.

**Tablo 11. Örnek Toplama Ülkesi Özeti**

Örnek toplama ülkesi	Grup 1		Grup 2	
	N	%	N	%
Hollanda	214	%100,00	153	%89,47
ABD	0	%0,00	18	%10,53

Ortalama, medyan, minimum ve maksimum yaş ve yaş standart sapmasını (Standard Deviation, SD) kapsayan gönüllü yaşı özeti Tablo 12'te gösterilmektedir.

**Tablo 12. Gönüllü Yaşı Özeti (Yıl)**

N	Ortalama	Medyan	SD	Minimum	Maksimum
385	40,47	37,00	14,168	18,00	80,00

Gönüllü cinsiyetinin bir özeti Tablo 13'te sunulmaktadır.

**Tablo 13. Gönüllü Cinsiyeti Özeti**

Cinsiyet	N	%
Kadın	234	%60,78
Erkek	151	%39,22

## Özgüllük

QFN SARS sonuçlarını referans yöntem sonuçlarıyla karşılaştıran klinik uyumluluk Tablo 14'te gösterilmektedir.

**Tablo 14. Klinik Uyumluluk: QFN SARS Sonucu / Referans Yöntem**

		Referans yöntem sonucu		
		Grup 1 (- aşı, - enfeksiyon)	Grup 2 (+ aşı, - enfeksiyon)	Toplam
QFN SARS sonucu	Reaktif olmayan	199	34	233
	Reaktif	15	137	152
Toplam		214	171	385

Aşılanmamış gönüllülerde (Grup 1), 214 gönüllünün 199'unda QFN SARS kullanılarak reaktif olmayan test sonucu alınmış ve geri kalan 15'inde reaktif test sonucu alınmıştır. Aşılanmış gönüllülerde (Grup 2), 171 gönüllünün 137'sinde QFN SARS kullanılarak reaktif test sonucu alınmış ve geri kalan 34'ünde reaktif olmayan test sonucu alınmıştır. Sırasıyla Grup 1 ve 2'deki 15 ve 34 uyumsuz örneğin hiçbirine uyumsuz bir yöntem ile ek test uygulanmamıştır.

Aşılanmamış gönüllüler (Grup 1) için negatif uyumluluk oranının (negative percent agreement, NPA) (özgüllük) yanı sıra iki taraflı %95 kesin güven aralığı (Confidence Interval, CI) hesaplanmış ve Tablo 15'da sunulmuştur.

**Tablo 15. Negatif Uyumluluk Oranı (Özgüllük)**

Grup No.	NPA (özgüllük)	%95 CI
Grup 1 (-aşı, -enfeksiyon)	%92,99 (199 / 214)	%88,70-96,02



## Duyarlılık

Aşılanmış gönüllüler (Grup 2) için pozitif uyumluluk oranının (positive percent agreement, PPA) (duyarlılık) yanı sıra iki taraflı %95 kesin CI hesaplanmış ve Tablo 16'de sunulmuştur.

**Tablo 16. Pozitif Uyumluluk Oranı (Duyarlılık)**

Grup No.	PPA (duyarlılık)	%95 CI
Grup 2 (+aşı, -enfeksiyon)	%80,12 (137 / 171)	%73,34-85,82

## Yaşa Göre Pozitif Uyumluluk Oranı

Aşılanmış gönüllüler (Grup 2) için pozitif uyumluluk oranı < 60 yaş ve ≥ 60 yaşa göre tabakalandırılmış ve Tablo 17'de sunulmuştur.

**Tablo 17. < 60 ve ≥ 60 Yaşa Göre Pozitif Uyumluluk Oranı**

Yaş aralığı (yıl)	PPA (Duyarlılık)	%95 CI
< 60	%85,33 (128/150)	%78,78-90,64
≥ 60	%42,86 (9/21)	%21,82-65,98

## COVID-19 Aşısına Göre Pozitif Uyumluluk Oranı

Aşılansmış gönüllüler (Grup 2) için pozitif uyumluluk oranı, uygulanan COVID-19 aşısına göre tabakalandırılmış ve Tablo 18'da sunulmuştur.

**Tablo 18. COVID-19 Aşısına Göre Pozitif Uyumluluk Oranı**

Aşı	PPA (Duyarlılık)	%95 CI
Astra Zeneca	%62,50 (5/8)	%24,49-91,48
Janssen (Johnson & Johnson)	%86,67 (13/15)	%59,54-98,34
Moderna	%77,27 (17/22)	%54,63-92,18
Pfizer - BioNTech	%80,95 (102/126)	%73,00-87,40

## Aşılansmış Gönüllülerde Reaktif Olmayan Sonuçlarla İlişkilendirilen Faktörler

Artan yaş, COVID-19 aşılansmasının tamamlanmasından sonra geçen süre, uygulanan aşı ve cinsiyetin aşılansmış gönüllülerde (Grup 2) reaktif olmayan sonuçlarla ilişkili olup olmadığını belirlemek için tek değişkenli lojistik regresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Her faktör ile reaktif olmayan sonuçlar arasındaki ilişki, olasılık oranı (Odds Ratio, OR) açısından hesaplanmıştır ve sonuçlar Tablo 19'da sunulmuştur.

**Tablo 19. Aşılanmış Gönüllülerde Faktörler ile Reaktif Olmayan Sonuçlar Arasındaki İlişki**

Faktör	OR (%95 CI)	p değeri	
Yaş (yıl)	1.08 (1,05-1,12)	< 0,001	
Aşılamaadan QFN SARS Kan Alımına Kadar Geçen Süre (gün)	1.02 (1,01-1,03)	< 0,001	
Aşı	Pfizer – BioNTech	1	–
	Astra Zeneca	2.55 (0,57-11,42)	0,221
	Janssen (Johnson & Johnson)	0.65 (0,14-3,09)	0,592
	Moderna	1.25 (0,42-3,72)	0,689
Cinsiyet	Kadın	1	–
	Erkek	1.25 (0,59-2,65)	0,565

Aşılanmış gönüllülerde reaktif olmayan sonuçlarla anlamlı şekilde ilişkili olan faktörler yalnızca yaş ve aşılamaadan sonra geçen süredir.

Çalışma COVID-19 aşılarının önce yaşlı bireylere sağlandığı ülkelerde yürütüldüğünden, yaş, aşılamaadan sonra geçen süre ile reaktif olmayan sonuçlar arasındaki ilişkiyi etkilemiş olabilir. Tablo 20'de eş değişken olarak yaş ile yapılan regresyon analizi gösterilmektedir.

**Tablo 20. Yaş Kontrollü Faktörler ile Reaktif Olmayan Sonuçlar Arasındaki İlişki**

Faktör	OR (%95 CI)	p değeri
Yaş (yıl)	1.07 (1,03-1,11)	< 0,001
Aşılamaadan QFN SARS Kan Alımına Kadar Geçen Süre (gün)	1.01 (1,00-1,02)	0,214

Yaş kontrollü olduğunda aşılamaadan sonra geçen süre ile reaktif olmayan sonuçlar arasındaki ilişki artık anlamlı olmaz ancak yaş, anlamlı olarak ilişkili kalmıştır.

---

# Referanslar

1. Goletti D., Petrone L, Manissero D, Bertoletti A, Rao S, Ndunda N, et al. The potential clinical utility of measuring SARS-CoV-2-specific T-cell responses. Clin Microbiol Infect [Internet]. 2021 Jul [cited 2021 Jul 13];0(0).Available from: <http://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198743X21003785/fulltext>
2. Petrone L., Petruccioli E, Vanini V, Cuzzi G, Najafi Fard S, Alonzi T, et al. A whole blood test to measure SARS-CoV-2-specific response in COVID-19 patients. Clin Microbiol Infect. 2021
3. Petrone L., Petruccioli E, Vanini V, Cuzzi G, Gualano G, Vittozzi P, et al. Coinfection of tuberculosis and COVID-19 limits the ability to in vitro respond to SARS-CoV-2. Int J Infect Dis. 2021
4. Shrotri M., van Schalkwyk MCI, Post N, Eddy D, Huntley C, Leeman D, et al. T cell response to SARS-Cov-2 infection in humans: A systematic review. PLoS ONE. 2021
5. Alessandra D'Abramo, Serena Vita, Gaetano Maffongelli, Andrea Mariano , Chiara Agrati , Concetta Castilletti ,Delia Goletti, Giuseppe Ippolito, Emanuele Nicastrì SC-19 CIT. Prolonged and severe SARS-CoV-2 infection inpatients under B-cell-depleting drug successfully treated: A tailored approach. Int J Infect Dis. 2021;(107):247–50
6. Soresina A, Moratto D, Chiarini M, Paolillo C, Baresi G, Focà E, et al. Two X-linked agammaglobulinemia patients develop pneumonia as COVID-19 manifestation but recover. Pediatr Allergy Immunol. 2020
7. Quinti I, Lougaris V, Milito C, Cinetto F, Pecoraro A, Mezzaroma I, et al. A possible role for B cells in COVID-19? Lesson from patients with agammaglobulinemia. J Allergy Clin Immunol. 2020

8. Geers D, Shamier MC, Bogers S, den Hartog G, Gommers L, Nieuwkoop NN, et al. SARS-CoV-2 variants of concern partially escape humoral but not T-cell responses in COVID-19 convalescent donors and vaccinees. *Sci Immunol* [Internet]. 2021 May 1 [cited 2021 Jun 30];6(59). Available from: <http://immunology.sciencemag.org/>
9. Alter G, Yu J, Liu J, Chandrashekar A, Borducchi EN, Tostanoski LH, McMahan K, Jacob-Dolan C, Martinez DR, Chang A, Anioke T, Lifton M, Nkolola J, Stephenson KE, Atyeo C, Shin S, Fields P, Kaplan I, Robins H, Amanat F, Krammer F, Baric RS, Le Gars M, Sado BD. Immunogenicity of Ad26.COV2.S vaccine against SARS-CoV-2 variants in humans. *Nature*. 2021
10. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science* (80- ) [Internet]. 2021 Feb 5 [cited 2021 Jun 30];371(6529). Available from: <https://doi.org/10.1126/science.abf4063>
11. Chavarot N, Ouedrani A, Marion O, Leruez-Ville M, Villain E, Baaziz M, et al. Poor Anti-SARS-CoV-2 Humoral and T-cell Responses After 2 Injections of mRNA Vaccine in Kidney Transplant Recipients Treated with Belatacept. *Transplantation* [Internet]. 2021 Apr 8 [cited 2021 Jul 1];2. Available from: [https://journals.lww.com/transplantjournal/Fulltext/9000/Poor\\_Anti\\_SARS\\_CoV\\_2\\_Humoral\\_and\\_T\\_cell\\_Responses.95281.aspx](https://journals.lww.com/transplantjournal/Fulltext/9000/Poor_Anti_SARS_CoV_2_Humoral_and_T_cell_Responses.95281.aspx)
12. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, Strålin K, Gorin JB, Olsson A, et al. Robust T Cell Immunity in Convalescent Individuals with Asymptomatic or Mild COVID-19. *Cell*. 2020
13. Alberto M, Borobia, Antonio J Carcas, Mayte Pérez-Olmeda, Luis Castaño, María Jesús Bertran, Javier García-Pérez, Magdalena Campins, Antonio Portolés, María González-Pérez, María Teresa García Morales, Eunáte Arana-Arri, Marta Aldea, Francisco Díez-Fuerte CSG. Immunogenicity and reactogenicity of BNT162b2 booster in ChAdOx1-S-

- 
- primed participants (CombiVacS): a multicentre, open-label, randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2021
14. Mónica Martínez-Gallo, Juliana Esperalba-Esquerria, Ricardo Pujol-Borrell, Víctor Sandá, Iria Arrese-Muñoz, Candela Fernández Naval, Andrés Antón Pagarolas, Victoria Cardona, Moisés Labrador-Horrillo, Tomás Pumarola-Suñé MH-G. T-cell responses as a correlate of COVID-19 vaccination. A pilot study in Health Care Workers
  15. Van Praet JT, Vandecasteele S, De Roo A, De Vriese AS, Reynders M. Humoral and cellular immunogenicity of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine in nursing home residents. *Clin Infect Dis*. 2021
  16. Pedersen RM, Tornby DS, Bistrup C, Johansen IS, Andersen TE JU. Negative SARS-CoV-2 antibodies, T cell response and virus neutralization following full vaccination in a renal transplant recipient: a call for vigilance. *Clin Microbiol Infect*. 2021
  17. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell*. 2020
  18. Rydzynski Moderbacher C, Ramirez SI, Dan JM, Grifoni A, Hastie KM, Weiskopf D, et al. Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity. *Cell*. 2020
  19. Tan AT, Linster M, Tan CW, Le Bert N, Chia WN, Kunasegaran K, et al. Early induction of functional SARS-CoV-2-specific T cells associates with rapid viral clearance and mild disease in COVID-19 patients. *Cell Rep*. 2021
  20. Aiello A, Najafi Fard S, Petruccioli E, Petrone L, Vanini V, Farroni C, et al. Spike is the most recognized antigen in the whole-blood platform in both acute and convalescent COVID-19 patients. *Int J Infect Dis*. 2021

- 
21. Soumya Jaganathan, Francis Stieber, Sonia N. Rao, Vladyslav Nikolayevskyy, Nadia Allen, Jeff Boyle JH. Preliminary Evaluation of QuantiFERON SARS-CoV-2 and QIAreacH Anti-SARS-CoV-2 Total Test in Recently Vaccinated Individuals. 2021
  22. Zheng M, Gao Y, Wang G, Song G, Liu S, Sun D, et al. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cellular and Molecular Immunology*. 2020
  23. Aid M, Busman-Sahay K, Vidal SJ, Maliga Z, Bondoc S, Starke C, et al. Vascular Disease and Thrombosis in SARS-CoV-2-Infected Rhesus Macaques. *Cell*. 2020
  24. Kuri-Cervantes L, Pampena MB, Meng W, Rosenfeld AM, Ittner CAG, Weisman AR, et al. Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19. *Sci Immunol*. 2020
  25. Lucas C, Wong P, Klein J, Castro TBR, Silva J, Sundaram M, et al. Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature*. 2020
  26. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, Beckmann ND, Nirenberg S, Wang B, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nat Med*. 2020
  27. Peng Y, Mentzer AJ, Liu G, Yao X, Yin Z, Dong D, et al. Broad and strong memory CD4+ and CD8+ T cells induced by SARS-CoV-2 in UK convalescent individuals following COVID-19. *Nat Immunol*. 2020
  28. Sattler A, Angermair S, Stockmann H, Heim KM, Khadzhynov D, Treskatsch S, et al. SARS-CoV-2-specific T cell responses and correlations with COVID-19 patient predisposition. *J Clin Invest*. 2020
  29. Mathew D, Giles JR, Baxter AE, Greenplate AR, Wu JE, Alanio C, et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals patient heterogeneity and distinct immunotypes with implications for therapeutic interventions. *bioRxiv Prepr Serv Biol*. 2020

- 
30. Chen Z, John Wherry E. T cell responses in patients with COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2020
  31. Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, Angus B, Becker S, Belij-Rammerstorfer S, et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 2020
  32. Sahin U, Muik A, Derhovanessian E, Vogler I, Kranz LM, Vormehr M, et al. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses. *Nature*. 2020
  33. Ryu MR, Park MS, Cho EH, Jung CW, Kim K, Kim SJ, et al. Comparative evaluation of quantiFERON-TB gold in-tube and quantiFERON-TB gold plus in diagnosis of latent tuberculosis infection in immunocompromised patients. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2021 Jul 1];56(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30135226/>
  34. Petruccioli E, Vanini V, Chiacchio T, Cuzzi G, Cirillo DM, Palmieri F, et al. Analytical evaluation of QuantiFERON- Plus and QuantiFERON- Gold In-tube assays in subjects with or without tuberculosis. *Tuberculosis*. 2017



# Sorun Giderme Kılavuzu

Bu sorun giderme kılavuzu ortaya çıkabilecek sorunların çözümünde yardımcı olabilir. Daha fazla bilgi için ayrıca Teknik Destek Merkezimizdeki Sık Sorulan Sorular sayfasına da bakın: [www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx](http://www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx). QIAGEN Teknik Servisindeki bilim insanları bu el kitabındaki bilgi ve protokollerle ya da örnek ve/veya tahlil teknolojileriyle ilgili herhangi bir sorunuzu cevaplandırmaktan daima mutlu olacaktır (irtibat bilgileri için [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresini ziyaret edin).

## Yorumlar ve öneriler

---

### ELISA sorun giderme

#### Spesifik olmayan renk oluşumu

- |   |  |
|---|--|
| a) Yetersiz plaka yıkaması  | Plakayı en az 6 kez 400 µl/kuyu yıkama tamponuyla yıkayın. Kullanılan yıkayıcıya bağlı olarak 6 yıkamadan fazlası gerekli olabilir. Her yıkama adımı arasında en az 5 saniye bekleme periyodu olmalıdır.                       |
| b) ELISA kuyularının çapraz kontaminasyonu  | Riski en aza indirmek için örneği pipetlerken ve karıştırırken dikkatli olun.  |
| c) Kitin/bileşenlerin son kullanma tarihinin geçmesi                                      | Kitin son kullanma tarihinden önce kullanıldığından emin olun. Sulandırılan standardın ve Konjugat 100X Konsantrenin sulandırıldığı tarihten sonraki üç ay içinde kullanıldığından emin olun.                                  |
| d) Enzim Substrat Solüsyonunun kontamine olması   | Mavi renklenme mevcutsa substratı atın. Temiz reaktif kapları kullanıldığından emin olun.  |
| e) QFN SARS Blood Collection Tube'leri içindeki plazmanın toplanmadan önce karıştırılması | Santrifüj yaptıktan sonra, plazmayı toplamadan önce aşağı ve yukarı doğru pipetleme yapmaktan veya herhangi bir yolla plazmayı karıştırmaktan kaçının. İşlemin her aşamasında, jel üzerindeki materyali bozmamaya dikkat edin. |

## Yorumlar ve öneriler

### Standartların düşük optik yoğunluk okumaları

- |  |  |
|--|--|
| a) Standart dilüsyon hatası                          | Kit Standardı dilüsyonlarının bu Kullanım Talimatlarında anlatıldığı şekilde hazırlandığından emin olun.   |
| b) Pipetleme hatası                                  | Pipetlerin üretici talimatları doğrultusunda kalibre edildiğinden ve kullanıldığından emin olun.   |
| c) İnkübasyon sıcaklığının çok düşük olması          | ELISA'nın inkübasyonu oda sıcaklığında ( $22 \pm 5^\circ\text{C}$ ) yapılmalıdır.  |
| d) İnkübasyon süresinin çok kısa olması              | Plakanın konjugat, standartlar ve örnekler ile inkübasyonu $120 \pm 5$ dakika sürmelidir. Enzim Substrat Solüsyonu plakada 30 dakika inkübe edilmelidir.                                       |
| e) Yanlış plaka okuyucu filtresinin kullanılması     | Plaka, 620 ile 650 nm arasında bir referans filtreyle 450 nm'de okunmalıdır.   |
| f) Reaktiflerin çok soğuk olması                     | Konjugat 100X Konsantre hariç tüm reaktifler, tahlile başlamadan önce mutlaka oda sıcaklığına getirilmelidir. Bu işlem yaklaşık 1 saat sürer.  |
| g) Kitin/bileşenlerin son kullanma tarihinin geçmesi | Kullanılan kitin son kullanma tarihinin geçmediğinden emin olun. Sulandırılan Standardın ve Konjugat 100X Konsantrenin sulandırıldığı tarihten sonraki 3 ay içinde kullanıldığından emin olun. |

### Yüksek arka plan

- |  |  |
|--|--|
| a) Yetersiz plaka yıkaması                           | Plakayı en az 6 kez 400 $\mu\text{l}$ /kuyu yıkama tamponuyla yıkayın. 6'dan fazla yıkama adımı gerekli olabilir. Her yıkama adımı arasında en az 5 saniye bekleme periyodu olmalıdır.       |
| b) İnkübasyon sıcaklığının çok yüksek olması         | ELISA'nın inkübasyonu oda sıcaklığında ( $22 \pm 5^\circ\text{C}$ ) yapılmalıdır.  |
| c) Kitin/bileşenlerin son kullanma tarihinin geçmesi | Kitin son kullanma tarihine kadar kullanıldığından emin olun. Sulandırılan standardın ve Konjugat 100X Konsantrenin sulandırıldığı tarihten sonraki üç ay içinde kullanıldığından emin olun. |

## Yorumlar ve öneriler















- |   |   |
|---|---|
| d) Enzim Substrat Solüsyonunun kontamine olması | Mavi renklenme mevcutsa substratı atın. Temiz reaktif kapları kullanıldığından emin olun. |
|---|---|

### Doğrusal olmayan standart eğri ve çift değişkenlik

- |  |  |
|--|--|
| a) Yetersiz plaka yıkaması   | Plakayı en az 6 kez 400 µl/kuyu yıkama tamponuyla yıkayın. 6'dan fazla yıkama adımı gerekli olabilir. Her yıkama adımı arasında en az 5 saniye bekleme periyodu olmalıdır. |
| b) Standart dilüsyon hatası  | Standart dilüsyonlarının bu Kullanım Talimatlarında anlatıldığı şekilde hazırlandığından emin olun.  |
| c) Yetersiz karıştırma   | Reaktifleri ters çevirerek veya plakaya eklemekten önce hafif vorteksleyerek iyice karıştırın.   |
| d) Tutarsız pipetleme tekniği veya test kurulumu sırasında ara verme | Örnek ve standart ekleme sürekli bir şekilde gerçekleştirilmelidir. Tüm reaktifler tahlile başlamadan önce hazırlanmalıdır.  |

# Semboller

Aşağıdaki semboller, kullanım talimatlarında veya ambalaj ve etiket üzerinde görülebilir:

Sembol	Sembol tanımı
 <N>	<N> reaksiyon için yeterli reaktif içerir
	Son kullanma tarihi
	İn vitro tanı amaçlı tıbbi cihaz
	Katalog numarası
	Lot numarası
	Malzeme numarası (bileşen etiketi)
	Bileşenler
	İçerik
	Numara
	Küresel Ticaret Parça Numarası
	Yetkili temsilci
	R, Kullanım Talimatı revizyonu olup n ise revizyon numarasıdır
	Sıcaklık sınırlaması
	Üretici

## Sembol

## Sembol tanımı



Kullanım talimatlarına bakın



Güneş ışığından uzak tutun



Uyarı/dikkat

## İletişim Bilgileri

Teknik destek ve daha fazla bilgi için lütfen [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) adresindeki Teknik Destek Merkezi'ne bakın, 00800-22-44-6000 numarasını arayın ya da QIAGEN Teknik Servis Bölümlerinden birine veya yerel dağıtıcılara başvurun (arka kapağa bakın veya [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresini ziyaret edin).

# Ek A: Teknik Bilgiler

## Şüpheli sonuçlar

Şüpheli sonuçlar olağan dışıdır ve test edilen kişinin immün durumuyla ilgili olabileceği gibi, yukarıdaki kullanım talimatları izlenmezse, bir dizi teknik faktöre (örn. kan toplama tüplerinin yanlış kullanılması/saklanması, tamamlanmamış ELISA plaka yıkaması) de bağlı olabilir.

Reaktifin saklanması, kan alımı veya kan örneklerinin kullanılmasında teknik sorunlardan şüpheleniliyorsa QFN SARS testinin tamamını yeni kan numuneleriyle tekrarlayın. Stimüle edilen plazmaların ELISA testi, yetersiz yıkamadan veya ELISA testinde herhangi bir prosedür sapmasından şüphelenildiği takdirde tekrarlanabilir. Doktorlar uygun olduğu şekilde bir numuneyi tekrar almayı veya başka işlemler yapmayı tercih edebilir.

## Pıhtılaşmış plazma örnekleri

Plazma örneklerinin uzun süreli saklanmasıyla fibrin pıhtıları meydana gelirse, pıhtılaşmış materyali çöktürmek ve plazmanın pipetlenmesini kolaylaştırmak için örnekleri santrifüj edin.

## Lipemik plazma örnekleri

Yağlı birikintiler pipet uçlarını tıkayabileceğinden, lipemik örnekleri pipetlerken dikkat edilmelidir.

## Ek B: Kısaltılmış ELISA Test Prosedürü

1. Konjugat 100x Konsantre hariç, ELISA reaktiflerini çalışma sıcaklığına getirmek için, oda sıcaklığında en az 60 dakika bekletin.



2. Kit standardını 8,0 IU/ml olacak şekilde distile veya deiyonize su ile çözün. Dört (4) standart dilüsyonunu hazırlayın.

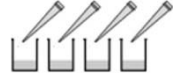


3. Dondurularak kurutulmuş Konjugat 100x Konsantre'yi distile veya deiyonize su ile çözün.

4. Çalışma konjugatını Yeşil Seyreltici ile hazırlayın ve her kuyuya 50 µl ekleyin.



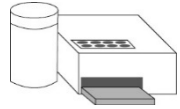
5. İlgili kuyulara 50 µl test plazma örneği ve 50 µl standartları ekleyin. Çalkalayıcı kullanarak karıştırın.



6. Oda sıcaklığında 120 dakika inkübe edin.



7. Kuyuları en az 6 kez 400 µl/kuyu yıkama tamponuyla yıkayın.



8. Kuyulara 100 µl Enzim Substrat Solüsyonu ekleyin. Çalkalayıcı kullanarak karıştırın.



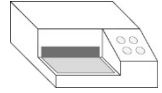
9. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edin.



10. Kuyulara 50 µl Enzim Durdurma Solüsyonu ekleyin. Çalkalayıcı kullanarak karıştırın.



11. Sonuçları 450 nm ana filtre ve 620 ila 650 nm referans filtre kullanarak okuyun.



12. Sonuçları analiz edin.





## Sipariş Bilgileri

Ürün	İçerik	Kat. no.
QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) ELISA Kit	2 plakalı ELISA kiti	626420
<b>İlgili ürünler</b>		
QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes	200 tüp (Nil, Ag1, Ag2 ve Mitogen'in her birinden 50 adet)	626725

Güncel lisanslama bilgisi ve ürüne özgü yasal uyarılar için ilgili QIAGEN kiti el kitabı veya kullanım kılavuzuna bakın. QIAGEN kit el kitapları ve kullanım kılavuzları [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinde bulunabilir ya da QIAGEN Teknik Servislerinden veya yerel distribütörünüzden talep edilebilir.

## Belge Revizyon GemiŖi

<b>Tarih</b>	<b>Açıklama</b>
R1, Ekim 2021	İlk sŖrŖm
R2, Kasım 2021	Performans Ŗzellikleri ve Klinik Performans bŖlŖmleri gŖncellendi
R3, Nisan 2022	Analitik Performans Ŗzellikleri bŖlŖmŖ Olumsuz Etkileyen Maddeler için gŖncellendi

---

Bu sayfa özellikle boş bırakılmıştır.

---

Bu sayfa özellikle boş bırakılmıştır.

---

Bu sayfa özellikle boş bırakılmıştır.

#### **QuantIFERON® SARS-CoV-2 (QFN SARS) ELISA Kit için Sınırlı Lisans Sözleşmesi**

Bu ürünün kullanımı herhangi bir alıcının veya ürün kullanıcısının aşağıdaki koşulları kabul ettiği anlamına gelir:

1. Ürün yalnızca ürünle birlikte ve bu el kitabında verilen protokollere uygun olarak kullanılabilir ve yalnızca panelin içinde bulunan bileşenlerle kullanım içindir. QIAGEN, bu panel ile birlikte verilen bileşenlerin el kitabında ve [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) adresinden ulaşılabilen ek protokollerde belirtilenler dışında bu panelin içinde yer almayan herhangi bir bileşenle kullanımı veya birleştirilmesi için kendi fikri mülkiyet haklarının herhangi biri altında lisans hakkı vermez. Bu ek protokollerden bazıları QIAGEN kullanıcıları tarafından QIAGEN kullanıcıları için sağlanmıştır. Bu protokoller QIAGEN tarafından kapsamlı şekilde test edilmemiş veya optimize edilmemiştir. QIAGEN üçüncü tarafların haklarını ihlal etmediğini garanti etmez ve beyan etmez.
2. Açıkça belirtilen lisanslar dışında, QIAGEN bu panel ve/veya kullanımlarının üçüncü tarafların haklarını ihlal etmeyeceğini garanti etmez.
3. Bu panel ve bileşenleri bir kez kullanım için lisanslıdır ve tekrar kullanılamaz, yenilenemez veya tekrar satılamaz.
4. QIAGEN açıkça ifade edilenden dışında açık veya zımnî diğer tüm lisansları açıkça reddeder.
5. Panelin alıcısı veya kullanıcısı yukarıda yasaklanan eylemlere neden olabilecek veya kolaylaştırabilecek herhangi bir girişimde bulunmayacağını ve başka birisine izin vermeyeceğini kabul eder. QIAGEN herhangi bir Mahkeme bu Sınırlı Lisans Anlaşması yasaklamalarını uygulayabilir ve bu sınırlı lisans anlaşmasının veya panel ve/veya bileşenleriyle ilgili fikri mülkiyet haklarının herhangi birinin uygulanmasına yol açan tüm durumlarda avukat ücreti dahil tüm soruşturma ve mahkeme masraflarını geri alabilir.

Güncellenmiş lisans şartları için bkz. [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Ticari Markalar: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantIFERON® (QIAGEN Group) Proclin®, Bu belgede geçen tescilli adlar, ticari markalar vb. açıkça bu şekilde belirtilmemiş olsa bile yasalarda korunmaktadır.

04-22 1124420 © 2022 QIAGEN, tüm hakları saklıdır.

