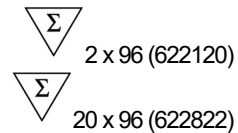


2019. gada aprīlis

# QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold Plus (QFT<sup>®</sup>-Plus) ELISA iepakojuma ieliktnis



1. versija

**IVD**

Lietošanai in vitro diagnostikā

Pilnasiņu gamma interferona (IFN- $\gamma$ ) analīze, kas paredzēta, lai noteiktu atbildes reakciju uz ESAT-6 un CFP-10 peptīdu antigēniem



**REF**

622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,  
Germany (Vācija)

R6 **MAT**

1083163LV

# Saturs

Paredzētais lietojums .....	5
Analīzes kopsavilkums un skaidrojums .....	5
Analīzes principi .....	7
Analīzes veikšanai nepieciešamais laiks .....	9
Sastāvdaļas un glabāšana .....	10
Nepieciešamie materiāli, kas netiek nodrošināti .....	12
Paraugu materiālu glabāšana un lietošana .....	13
Asins analīžu stobriņi .....	13
Analīzes komplekta reaģenti .....	13
Pagatavotie un neizmantotie reaģenti .....	13
Brīdinājumi un piesardzības pasākumi .....	14
Brīdinājumi .....	14
Piesardzības pasākumi .....	15
Paraugu ņemšana un apstrāde .....	18
Lietošanas norādījumi .....	24
1. posms — asins paraugu inkubācija un plazmas atdalīšana .....	24
2. posms — IFN- $\gamma$ noteikšana ar ELISA .....	25
Aprēķini un analīzes rezultātu interpretācija .....	30
Standarta līknes izveidošana .....	30
Analīzes kvalitātes kontrole .....	31

---

Rezultātu interpretācija .....	31
Ierobežojumi .....	34
Veiktspējas raksturlielumi .....	35
Klīniskie pētījumi .....	35
Analīzes veiktspējas raksturojums .....	41
Tehniskā informācija.....	46
Nenoteikti rezultāti.....	46
Receklaini plazmas paraugi .....	46
Problēmu novēršanas ieteikumi .....	47
Atsauces.....	49
Simboli.....	59
Kontaktinformācija.....	60
Saīsināta analīzes procedūra .....	61
1. posms — asins parauga inkubācija.....	61
2. posms — IFN- $\gamma$ noteikšana ar ELISA.....	61
Būtiskas izmaiņas.....	63
Rokasgrāmatas rediģēšanas vēsture .....	63



# Paredzētais lietojums

QuantIFERON-TB Gold Plus (QFTPlus) ir analīze, kuru lieto *in vitro* diagnostikā un kurā tiek izmantots peptīdu maisījums, kas simulē olbaltumvielas ESAT-6 un CFP-10, lai ierosinātu ar heparīnu apstrādātas pilnasiņu šūnas. Gamma interferona- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) noteikšanai tiek izmantota enzīmu imūnsorbcijas analīze (ELISA — Enzyme-Linked Immunosorbent Assay), lai noteiktu *in vitro* atbildes reakciju uz peptīdu antigēniem, kas ir konstatējami *Mycobacterium tuberculosis* infekcijas gadījumā.

QFT-Plus ir netieša *M. tuberculosis* infekcijas (tostarp slimības) noteikšanas analīze, un to ir paredzēts izmantot līdz ar risku novērtēšanu, radiogrāfiju un citām medicīniskām un diagnostiskām novērtēšanas metodēm.

## Analīzes kopsavilkums un skaidrojums

Tuberkuloze ir lipīga slimība, ko izraisa inficēšanās ar *M. tuberculosis* (MTB) kompleksa organismiem (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*), kas parasti izplatās gaisa pilienu ceļā, personām nonākot saskarē ar plaušu tuberkulozes slimniekiem. Tikko inficēta persona var saslimt ar tuberkulozi dažu nedēļu vai mēnešu laikā, bet lielākā daļa inficēto nesaslimst. Dažos gadījumos iespējama latentā tuberkulozes infekcija (LTBI — Latent Tuberculosis Infection), nelipīgs bezsimptomu stāvoklis, kas var attīstīties par tuberkulozes slimību pēc vairākiem mēnešiem vai gadiem. Galvenais LTBI diagnosticēšanas mērķis ir noteikt medicīnisko ārstēšanu, lai novērstu saslimšanu ar tuberkulozi. Vēl nesēn tuberkulīna ādas analīze (TST — Tuberculin Skin Test) bija vienīgā pieejamā LTBI diagnosticēšanas metode. Ādas jutīgums pret turberkulīnu rodas 2–10 nedēļu laikā pēc inficēšanās. Tomēr dažas inficētas personas uz turberkulīnu nereaģē, tostarp personas, kurām ir dažādi imūnreakcijas traucējumi, kā arī citas personas bez šādiem traucējumiem. Turpretī dažas personas, kas visticamāk nav inficētas ar *M. tuberculosis*, reaģē uz turberkulīnu, un tāpēc tām ir pozitīvi TST rezultāti pēc vakcinēšanās

---

ar Calmette-Guérin baciļa (BCG — Bacille Calmette-Guérin) vakcīnu, inficēšanās ar mikobaktērijām, kas neietilpst *M. tuberculosis* kompleksā, vai citu nezināmu faktoru dēļ.

LTBI ir jānodala no saslimšanas ar tuberkulozi (par ko ir jāziņo un kas parasti ietekmē plaušas un apakšējos elpceļus, lai gan var tikt skartas arī citas orgānu sistēmas). Saslimšana ar tuberkulozi tiek diagnosticēta, vadoties pēc pacienta vēstures un fizisko, radioloģisko, histoloģisko un mikobakterioloģisko izmeklējumu rezultātiem.

Veicot QFT-Plus analīzi, tiek noteikta šūnu atbildes imūnreakcija (CMI — Cell-Mediated Immune) uz peptīdu antigēniem, kas simulē mikobakteriālās olbaltumvielas. Šo olbaltumvielu (ESAT-6 un CFP-10) nav nevienā BCG celmā un lielākajā daļā netuberkulozo mikobaktēriju, izņemot *M. kansasii*, *M. szulgai* un *M. marinum* (1). Ar MTB kompleksa organismiem inficēto personu asinīs parasti ir limfocīti, kas atpazīst šos un citus mikobakteriālos antigēnus. Šis atpazīšanas process ietver citokīna IFN- $\gamma$  veidošanu un sekrēciju. Šīs analīzes pamatā ir IFN $\gamma$  noteikšana un tālāka kvantitatīvā aprēķināšana.

QFT-Plus analīzē izmantotie antigēni ir peptīdu maisījums, kas simulē olbaltumvielas ESAT-6 un CFP-10. Vairākos pētījumos ir konstatēts, ka šie peptīdu antigēni simulē IFN- $\gamma$  atbildes reakcijas to personu T šūnās, kuras ir inficētas ar *M. tuberculosis*, bet parasti minētais nav novērojams personām, kuras nav inficētas vai ir saņēmušas BCG vakcīnu, neslimo vai nav pakļautas LTBI riskam (1–32). Tomēr medicīniskā ārstēšana vai problēmas, kas rada imūnfunkciju traucējumus, potenciāli var samazināt IFN- $\gamma$  atbildes reakciju. Uz ESAT-6 un CFP-10 var reaģēt arī pacienti, kuriem ir noteiktas citas mikobakteriālās infekcijas, jo gēni, kas kodē šīs olbaltumvielas, atrodas arī mikobaktērijās *M. kansasii*, *M. szulgai* un *M. marinum* (1, 23). QFT-Plus analīze ir paredzēta LTBI noteikšanai un ir noderīga arī, lai diagnosticētu *M. tuberculosis* kompleksa infekciju slimiem pacientiem. Pozitīvs rezultāts atbalsta diagnozi par saslimšanu ar tuberkulozi, bet pozitīvu rezultātu var izraisīt arī inficēšanās ar citām mikobaktērijām (piemēram, *M. kansasii*). Lai apstiprinātu vai izslēgtu diagnozi par saslimšanu ar tuberkulozi, ir nepieciešami vēl citi medicīniskie un diagnostiskie izmeklējumi.

Analīzē QFT-Plus ir divi atšķirīgi TB antigēna stobriņi: TB Antigen Tube 1 (TB1) un TB Antigen Tube 2 (TB2). Abos stobriņos ir peptīdu antigēni no MTB kompleksa saistītajiem antigēniem, ESAT-6 un CFP-10. TB1 stobriņā ir ESAT-6 un CFP-10 peptīdi, kas paredzēti, lai izraisītu CMI atbildes reakcijas no CD4<sup>+</sup> T helperu limfocītiem, bet TB2 stobriņā ir papildu peptīdu komplekts, kura mērķis ir CMI atbildes reakcijas ierosināšana no CD8<sup>+</sup> citotoksiskajiem T limfocītiem. MTB infekcijas slimības norisē CD4<sup>+</sup> T šūnām ir nozīmīga loma, jo tās nodrošina imunoloģisko kontroli ar citokīna IFN- $\gamma$  sekrēciju. Tagad pierādījumi liecina, ka CD8<sup>+</sup> T šūnas piedalās imūnā aizsardzībā pret MTB, veidojot IFN- $\gamma$  un citus šķīstošus faktorus, kas aktivizē makrofāģus, lai nomāktu MTB izplatīšanos, nogalinātu inficētās šūnas vai tiešā veidā intracelulāri lizētu MTB (33–35). MTB specifiskās CD8<sup>+</sup> šūnas ir noteiktas pacientiem ar LTBI un ar aktīvu TB slimību, kad bieži var tikt konstatētas CD8<sup>+</sup> šūnas, kas veido IFN- $\gamma$  (36–38). Tiek aprakstīts, ka ESAT-6 un CFP-10 specifiskie CD8<sup>+</sup> T limfocīti tiek biežāk noteikti pacientiem ar aktīvu TB slimību, salīdzinot ar LTBI, un tas var būt saistīts ar nesenu saskari ar MTB (39–41). Turklāt MTB specifiskās CD8<sup>+</sup> T šūnas, kas izstrādā IFN- $\gamma$ , arī tiek noteiktas pacientiem ar aktīvu TB, kuriem vienlaikus ir arī HIV infekcija (42, 43), kā arī maziem bērniem ar TB slimību (44).

## Analīzes principi

QFT-Plus analīzē tiek izmantoti speciāli asins analīžu stobriņi pilnasiņu paraugu iegūšanai. Asins inkubācija stobriņos notiek 16–24 stundas, pēc tam tiek atdalīta plazma un tiek testēts, vai tajā ir atrodams IFN- $\gamma$ , kas saražots, reaģējot uz peptīdu antigēniem.

QFT-Plus analīze tiek veikta divos posmos. Vispirms tiek paņemts pilnasiņu paraugs katrā stobriņā QFT-Plus Blood Collection Tubes, t.i., Nil stobriņā, TB1 stobriņā, TB2 stobriņā un Mitogen stobriņā. Asins paraugu var paņemt arī vienā kopējā asins analīžu stobriņā, kurā kā antikoagulants ir litija vai nātrija heparīns, un pēc tam paraugu pārliet QFT-Plus stobriņos.

Mitogen stobriņš QFT-Plus analīzē tiek izmantots kā pozitīvās kontroles elements. Tas var būt svarīgi, ja pastāv šaubas par personas imūnstatusu. Mitogen stobriņš kalpo arī kā pareizas asins apstrādes un inkubācijas kontrole.

---

QFT-Plus stobriņi ir jāsakrata, lai antigēnu sajauktu ar asinīm, un jāinkubē 37 °C pēc iespējas drīzāk, bet ne vēlāk kā 16 stundu laikā pēc parauga ņemšanas. Pēc 16–24 stundu inkubācijas perioda stobriņi tiek centrifugēti, tiek atdalīta plazma un ar ELISA analīzi tiek noteikts IFN- $\gamma$  daudzums (SV/ml). QFT-Plus ELISA analīzē tiek izmantots rekombinants cilvēka IFN- $\gamma$  standarts, kas ir testēts pret references IFN- $\gamma$  šķīdumu (NIH ref.: Gxg01-902-535). Analīzes parauga rezultāti ir noteikti starptautiskajās vienībās uz 1 ml (SV/ml) attiecībā pret standarta līkni, kas izveidota, testējot komplektā piegādātā standarta atšķaidījumus.

Ir zināms, ka heterofilās (piemēram, cilvēka pretpeles) antivielas atsevišķu indivīdu serumā vai plazmā izraisa imūnanalīžu traucējumus. Heterofilo antivielu ietekme uz QFT-Plus ELISA analīzi ir samazināta, pievienojot zaļajam atšķaidītājam normālu peles serumu un izmantojot F(ab')<sub>2</sub> monoklonālu antivielu fragmentus kā IFN- $\gamma$  uztverošu antivielu, kas uzklāta mikroplatē.

Tiek uzskatīts, ka IFN- $\gamma$  atbildes reakcija QFT-Plus analīzē ir pozitīva, ja TB antigēna stobriņa rādījums ievērojami pārsniedz Nil stobriņa IFN- $\gamma$  SV/ml vērtību. Plazmas paraugs no Mitogen stobriņa kalpo kā IFN- $\gamma$  pozitīvais kontroles elements katram testētajam parauga materiālam. Vāja atbildes reakcija uz Mitogen (<0,5 SV/ml) norāda uz nenoteiktu rezultātu, ja arī asins parauga atbildes reakcija uz TB antigēniem ir negatīva. Šādu rezultātu var izraisīt nepietiekams limfocītu daudzums, samazināta limfocītu aktivitāte nepareizas parauga materiāla apstrādes dēļ, nepareiza Mitogen stobriņa uzpilde/maisīšana vai pacienta limfocītu nespēja ražot IFN- $\gamma$ . Paaugstināti IFN- $\gamma$  līmeņi Nil paraugā var rasties heterofilo antivielu vai raksturīgās IFN- $\gamma$  sekrecijas dēļ. Ar Nil stobriņu veic korekcijas saistībā ar fona reakcijām (piemēram, paaugstināts cirkulējošā IFN- $\gamma$  vai heterofilo antivielu klātbūtnes līmenis). Nil stobriņa IFN- $\gamma$  līmenis tiek atņemts no IFN- $\gamma$  TB antigēna stobriņu un Mitogen stobriņa līmeņa.



---

## Analīzes veikšanai nepieciešamais laiks

Tālāk ir sniegta informācija par aplēsto QFT-Plus ELISA analīzes veikšanai nepieciešamo laiku. Ir norādīts arī laiks, kas nepieciešams, lai kopā testētu vairākus paraugus.

Asins stobriņu inkubācija

37 °C temperatūrā: 16–24 stundas.

ELISA analīze: aptuveni 3 stundas vienai ELISA analīzes platei  
(22 personām)

<1 stunda darba

Pieskaitiet 10–15 minūtes par katru papildu plati

# Sastāvdaļas un glabāšana

Asins analīžu stobriņi*		200 stobriņi	Viena pacienta komplekts	Dozētāja komplekts	200 liela augstuma stobriņi	Viena pacienta liela augstuma komplekts	Dozētāja liela augstuma komplekts
Kataloga Nr.		622526	622222	622423	623526	623222	623423
Analīžu/komplektu skaits		50	10	25	50	10	25
QuantiFERON Nil Tube (pelēks vāciņš, balts gredzens)	Nil	50 stobriņi	10 stobriņi	25 stobriņi			
QuantiFERON TB1 Tube (zaļš vāciņš, balts gredzens)	TB1	50 stobriņi	10 stobriņi	25 stobriņi			
QuantiFERON TB2 Tube (dzeltens vāciņš, balts gredzens)	TB2	50 stobriņi	10 stobriņi	25 stobriņi			
QuantiFERON Mitogen Tube (violets vāciņš, balts gredzens)	Mitogen	50 stobriņi	10 stobriņi	25 stobriņi			
QuantiFERON Nil HA Tube (pelēks vāciņš, dzeltens gredzens)	Nil HA				50 stobriņi	10 stobriņi	25 stobriņi
QuantiFERON TB1 HA Tube (zaļš vāciņš, dzeltens gredzens)	TB1 HA				50 stobriņi	10 stobriņi	25 stobriņi
QuantiFERON TB2 HA Tube (dzeltens vāciņš, dzeltens gredzens)	TB2 HA				50 stobriņi	10 stobriņi	25 stobriņi
QuantiFERON Mitogen HA Tube (violets vāciņš, dzeltens gredzens)	Mitogen HA				50 stobriņi	10 stobriņi	25 stobriņi
QFT-Plus Blood Collection Tubes iepakojuma ieliktnis		1	1	1	1	1	1

\* Ne visas preču konfigurācijas ir pieejamas katrā valstī. Lūdzu, sazinieties ar QIAGEN klientu apkalpošanas dienestu (detalizētu informāciju skatiet vietnē [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)), lai iegūtu papildinformāciju par to, kādas konfigurācijas ir pieejamas pasūtīšanai.

<b>ELISA sastāvdaļas†</b>	<b>2 plašu ELISA komplekts</b>	<b>References laboratorijas komplekts</b>
<b>Kataloga Nr.</b>	<b>622120</b>	<b>622822</b>
Microplate Strips (Mikroplates plātnītes) (12×8 iedobītes), pārklātas ar IFN- $\gamma$ monoklonālu antivielu, kas iegūta no pelēm un reaģē uz cilvēka imūnsistēmu	2 komplekti ar 96 iedobīšu mikroplates plātnītēm	20 komplekti ar 96 iedobīšu mikroplates plātnītēm
IFN- $\gamma$ Standard (standarta IFN- $\gamma$ ), liofilizēts; satur rekombinantu cilvēka IFN- $\gamma$ , govu kazeīnu, 0,01% svara/tilpuma timerosalu)	1 flakons (8 SV/ml pēc pagatavošanas)	10 flakoni (8 SV/ml pēc pagatavošanas)
Green Diluent (zaļais atšķaidītājs; satur govu kazeīnu, standarta peļu serumu, 0,01% svara/tilpuma timerosalu)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (konjugāta 100x koncentrāts), liofilizēts (no pelēm iegūts, uz cilvēku imūnsistēmu reaģējošs IFN- $\gamma$ HRP, satur 0,01% svara/tilpuma timerosalu)	1×0,3 ml (pēc pagatavošanas)	10×0,3 ml (pēc pagatavošanas)
Wash Buffer 20× Concentrate (skalošanas buferšķīduma 20× koncentrāts; pH 7,2, satur 0,05% tilpuma ProClin® 300)	1 × 100 ml	10 × 100 ml
Enzyme Substrate Solution (enzīmu substrāta šķīdums; satur H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3', 5,5' tetrametilbenzidīnu)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Enzyme Stopping Solution (enzīmu darbības pārtraukšanas šķīdums; satur 0,5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	1 × 15 ml	10 × 15 ml
QFT-Plus ELISA iepakojuma ieliktnis	1	1

† Informāciju par piesardzības pasākumiem un paziņojumus par riskiem skatiet 15. lpp.

---

# Nepieciešamie materiāli, kas netiek nodrošināti

- 37 °C ± 1 °C inkubators\*. CO<sub>2</sub> nav nepieciešama
- Kalibrētas pipetes\* ar maināmu tilpumu no 10 µl līdz 1000 µl šķīduma pārmešanai ar vienreizējas lietošanas uzgaļiem
- Kalibrētas daudzkanālu pipetes\*, tilpums 50–100 µl, ar vienreizējas lietošanas uzgaļiem
- Plates vāks
- Mikroplašu kratītājs\*
- Dejonizēts vai destilēts ūdens, 2 litri
- Ierīce mikroplašu skalošanai (ieteicama automātiska skalošanas ierīce)
- Mikroplašu lasītājs\* ar 450 nm filtru un 620–650 nm references filtru

\* Pārliecinieties, vai instrumenti ir pārbaudīti un kalibrēti saskaņā ar ražotāja ieteikumiem.

# Paraugu materiālu glabāšana un lietošana

## Asins analīžu stobriņi

- Uzglabājiet asins analīžu stobriņus 4–25 °C temperatūrā.

## Analīzes komplekta reaģenti

- Glabājiet komplekta reaģentus 2–8 °C temperatūrā.
- Vienmēr aizsargājiet enzīmu substrāta šķīdumu no tiešu saules staru ietekmes.

## Pagatavotie un neizmantotie reaģenti

Reaģentu pagatavošanas norādījumus skatiet 26. lpp.

- Pagatavoto komplekta standarta šķīdumu var uzglabāt līdz 3 mēnešiem 2–8 °C temperatūrā.  
Pierakstiet datumu, kurā komplekta standarta šķīdums tika pagatavots.
- Pēc pagatavošanas neizlietotais konjugāta 100× koncentrāts atkal jānovieto glabāšanai 2–8 °C temperatūrā un jāizlieto 3 mēnešu laikā.  
Pierakstiet datumu, kurā konjugāts tika pagatavots.
- Konjugāta darba šķīdums jāizlieto 6 stundu laikā pēc tā sagatavošanas.
- Skalošanas buferšķīduma darba šķīdumu var glabāt istabas temperatūrā ne ilgāk kā 2 nedēļas.

# Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

Lietošanai tikai in vitro diagnostikā.

## Brīdinājumi

- Negatīvs QFT-Plus analīzes rezultāts neizslēdz *M. tuberculosis* infekciju vai iespēju, ka notikusi saslimšana ar tuberkulozi: nepatiesi negatīvi rezultāti var tikt iegūti saistībā ar infekcijas pakāpi (piemēram, paraugu materiāli iegūti pirms šūnu imūnreakcijas attīstīšanās), tādiem slimības blakusapstākļiem, kas ietekmē imūnfunkcijas, nepareizu asins analīžu stobriņu apstrādi pēc vēnas punkcijas, nepareizu analīzes veikšanu vai citu mainīgo imunoloģisko apstākļu dēļ.
- Pozitīvs QFT-Plus analīzes rezultāts nedrīkst būt vienīgais vai galīgais pamatojums, lai noteiktu inficēšanos ar *M. tuberculosis*. Nepareizas analīzes veikšanas dēļ iespējama nepatiesi pozitīva atbildes reakcija.
- Pēc pozitīva QFT-Plus analīzes rezultāta iegūšanas ir jāveic turpmāki medicīniskie un diagnostiskie izmeklējumi, lai noteiktu aktīvu saslimšanu ar tuberkulozi (piemēram, AFB uztriepe un kultūra, krūškurvja rentgens).
- Lai gan nevienā BCG celmā un lielākajā daļā zināmo netuberkulozo mikobaktēriju nav atrodami ESAT-6 un CFP-10, iespējams, ka pozitīvs QFT-Plus analīzes rezultāts norāda uz inficēšanos ar *M. kansasii*, *M. szulgai* vai *M. marinum*. Ja rodas aizdomas par šādām infekcijām, ir jāveic alternatīvas analīzes.

## Piesardzības pasākumi

Strādājot ar ķīmiskām vielām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizējas lietošanas cimdus un aizsargbrilles. Lai iegūtu papildinformāciju, iepazīstieties ar attiecīgajām drošības datu lapām (DDL). Tās ērtā un kompaktā PDF formātā ir pieejamas vietnē [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), kur katram QIAGEN komplektam un tā sastāvdaļām var atrast, apskatīt un izdrukāt drošības datu lapu (DDL).



**UZMANĪBU! Rīkojoties ar cilvēku asinīm un plazmu, ievērojiet, ka tā var būt infekcioza. Ievērojiet atbilstošās vadlīnijas darbam ar asinīm un asins produktiem. Paraugus un materiālus, kas bijuši saskarē ar asinīm vai asins produktiem, izmetiet saskaņā ar federālajiem, valsts un vietējiem noteikumiem.**

Tālāk norādītie riska un piesardzības pasākumu paziņojumi attiecas uz QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA sastāvdaļām.

### Paziņojumi par riskiem



#### **QuantiFERON Enzyme Stopping Solution**

Satur sērskābi. Brīdinājums! Var izraisīt metālu koroziju. Izraisa ādas kairinājumu. Izraisa nopietnu acu kairinājumu. Valkājiet aizsargcimdus/aizsargapģērbu/acu aizsargus/sejas aizsargus.

#### **QuantiFERON Enzyme Substrate Solution**

Brīdinājums! Izraisa mērenu ādas kairinājumu. Valkājiet aizsargcimdus/aizsargapģērbu/acu aizsargus/sejas aizsargus.



### QuantiFERON Green Diluent

Satur: trinātrija 5-hidroksi-1-(4-sulfofenil)-4-(4-sulfofenilazo) pirazol-3-karboksilātu. Satur: tartazīnu. Brīdinājums! Var izraisīt alerģisku ādas reakciju. Valkājiet aizsargcimdus/aizsargapģērbu/acu aizsargus/sejas aizsargus.

### QuantiFERON Wash Buffer 20× Concentrate

Satur: 5-hlor-2-metil-4-izotiazol-3-ona un 2-metil-2H-izotiazol-3-ona maisījumu (3:1). Kaitīgs ūdens organismiem, ar ilgtermiņa ietekmi. Nepieļaujiet nokļūšanu vidē.

## Paziņojumi par piesardzības pasākumiem

Pirms lietošanas iegūstiet īpašas instrukcijas. Valkājiet aizsargcimdus/aizsargapģērbu/acu aizsargus/sejas aizsargus. **JA NOKĻŪST UZ ĀDAS** (vai matos): nekavējoties noņemiet/novelciet visu kontaminēto apģērbu. Skalojiet ādu ar ūdeni/dušu. **JA IEKĻŪST ACĪS**: uzmanīgi skalojiet ar ūdeni vairākas minūtes. Izņemiet kontaktlēcas, ja tās ir ieliktas un tās ir vienkārši izņemt. Turpiniet skalošanu. Ja ir bijusi saskare vai ir aizdomas par to: saņemiet medicīnisku konsultāciju/palīdzību. Nekavējoties zvaniet uz SAINDĒŠANĀS CENTRU vai ārstam/ģimenes ārstam. Ja ir ādas kairinājums vai izsitumi: saņemiet medicīnisku konsultāciju/palīdzību. Novelciet kontaminēto apģērbu un izmazgājiet to pirms atkārtotas lietošanas. Glabājiet aizslēgtā vietā. Izmetiet saturu/konteineru, to nododot apstiprinātai atkritumu pārstrādes rūpnīcai.

## Papildinformācija

Drošības datu lapas: [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)

- *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFTPlus) ELISA iepakojuma ieliktnī* sniegto norādījumu neievērošana var izraisīt kļūdainus rezultātus. Pirms lietošanas rūpīgi izlasiet norādījumus.



- Nelietojiet komplektu, ja pirms lietošanas kāda reaģenta pudele izskatās bojāta vai tai ir noplūde.
- **Svarīgi!** Pirms lietošanas pārbaudiet flakonus. Neizmantojiet konjugāta vai IFN- $\gamma$  flakonus, kam redzamas bojājumu pazīmes vai ir bojāts gumijas aizbāznis. Neizmantojiet saplēstus flakonus. Veiciet atbilstošus piesardzības pasākumus, lai tos utilizētu drošā veidā. Ieteikums: Lai atvērtu savienotos vai IFN- $\gamma$  standarta flakonus un samazinātu traumu risku, ka varētu radīt metāla apciļņa uzgalis, izmantojiet apciļņa noņemšanas rīku.
- Nejauciet kopā un nelietojiet vienlaikus mikroplates plātnītes, IFN- $\gamma$  standartu, zaļo šķīdinātāju vai konjugāta 100x koncentrātu no citām QFT- Plus komplektu sērijām. Citus reaģentus (skalošanas buferšķīduma 20x koncentrātu, enzīmu substrāta šķīdumu un enzīmu darbības pārtraukšanas šķīdumu) var lietot no dažādiem komplektiem, pieņemot, ka nav beidzies reaģentu derīguma termiņš un tie ir no vienas partijas.
- Neizlietotos reaģentus un paraugus izmetiet saskaņā ar vietējiem un valstī pastāvošajiem noteikumiem.
- Neizmantojiet stobriņus QFT-Plus Blood Collection Tubes vai ELISA komplektu pēc derīguma termiņa beigām.
- Vienmēr ir jāievēro pareizas laboratorijas procedūras.
- Pārlicinieties, vai laboratorijas aprīkojums ir kalibrēts un pēc nepieciešamajām pārbaudēm atzīts par derīgu lietošanai.

# Paraugu ņemšana un apstrāde

QFT-Plus analīzē tiek lietoti šādi analīžu stobriņi:

1. QuantiFERON Nil Tube stobriņi (pelēks vāciņš ar baltu gredzenu)
2. QuantiFERON TB1 Tube stobriņi (zaļš vāciņš ar baltu gredzenu)
3. QuantiFERON TB2 Tube stobriņi (dzeltens vāciņš ar baltu gredzenu)
4. QuantiFERON Mitogen Tube stobriņi (violets vāciņš ar baltu gredzenu)
5. QuantiFERON HA Nil Tube stobriņi (pelēks vāciņš ar dzeltenu gredzenu)
6. QuantiFERON HA TB1 Tube stobriņi (zaļš vāciņš ar dzeltenu gredzenu)
7. QuantiFERON HA TB2 Tube stobriņi (dzeltens vāciņš ar dzeltenu gredzenu)
8. QuantiFERON HA Mitogen Tube stobriņi (violets vāciņš ar dzeltenu gredzenu)

Antigēni ir izžāvēti uz asins analīžu stobriņu iekšējās sienas, tāpēc ir svarīgi, lai stobriņu saturs tiktu rūpīgi samaisīts ar asinīm. Ja asinis ir paņemtas tieši QFT-Plus stobriņos, tie ir jāglabā un jātransportē istabas temperatūrā ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) un tad pēc iespējas ātrāk, 16 stundu laikā pēc parauga ņemšanas, jāpārnes uz inkubatoru  $37\text{ °C}$  temperatūrā. Glabāšanas nolūkā pirms pārvešanas uz QFT-Plus stobriņiem un inkubācijas asinis var arī paņemt vienā litija vai nātrija heparīna stobriņā. Asins paraugu materiālus, kas paņemti litija vai nātrija heparīna stobriņā un pārnesti QFT-Plus stobriņos, var glabāt līdz 16 stundām istabas temperatūrā ( $17\text{--}25\text{ °C}$ ). Litija vai nātrija heparīna stobriņos paņemtos asins paraugu materiālus pirms pārvešanas uz QFT-Plus stobriņiem var arī glabāt  $2\text{--}8\text{ °C}$  temperatūrā līdz 48 stundām. Skatiet sadaļu "Asins parauga ņemšana vienā litija vai nātrija heparīna stobriņā un pārvešana uz stobriņiem QFT-Plus Blood Collection Tubes".

## Asins parauga paņemšana tieši stobriņos QFT-Plus Blood Collection Tubes

### 1. Atbilstoši marķējiet stobriņus.

Pārliecinieties, vai katru stobriņu (Nil, TB1, TB2 un Mitogen) pēc vāciņa noņemšanas varēs identificēt pēc etiķetes vai kā citādi.

Ieteicams reģistrēt asins parauga paņemšanas laiku un datumu.

### 2. Veicot vēnas punkciju, no katra pacienta paņemiet 1 ml asiņu tieši katrā stobriņā QFT-Plus Blood Collection Tubes. Šī procedūra ir jāveic apmācītam flebotomistam.

**Svarīga piezīme:** Asins iepildes laikā stobriņu temperatūrai ir jābūt 17–25 °C.

Standarta stobriņus QFT-Plus Blood Collection Tubes var izmantot, ja neatrodaties augstāk par 810 metriem virs jūras līmeņa. Liela augstuma stobriņus QFT-Plus Blood Collection Tubes var izmantot, ja atrodaties 1020–1875 metru augstumā virs jūras līmeņa.

Tā kā, lietojot 1 ml stobriņus, asins ņemšana notiek samērā lēni, turiet stobriņu pie adatas vēl 2–3 sekundes pēc stobriņa uzpildes. Tas nodrošina pareiza asins daudzuma paņemšanu.

- Melnā atzīme uz stobriņu sāniem norāda pieņemamo uzpildes tilpuma diapazonu 0,8–1,2 ml. Ja kādā no stobriņiem asins līmenis ir ārpus šī atzīmētā diapazona, ir jāņem jauns asins paraugs. Nepietiekama vai pārmērīga stobriņu uzpilde, neiekļaujoties 0,8–1,2 ml diapazonā, var radīt kļūdainus rezultātus.
- Ja asins parauga ņemšanai tiek izmantota tauriņadata, tad ar tukša stobriņa palīdzību jānodrošina, lai pirms QFT-Plus stobriņu lietošanas tiktu piepildīta tauriņadatai pievienotā caurulīte.
- Ja stobriņus QFT-Plus Blood Collection Tubes izmantojat augstumā, kas pārsniedz 810 metrus virs jūras līmeņa, vai arī ir vērojams mazs asins pieplūdums, asinis var ņemt ar šļirci un pa 1 ml uzreiz iepildīt katrā no četriem stobriņiem. Drošības apsvērumu dēļ šī procedūra ir jāveic, noņemot šļirces adatu (ievērojot atbilstošās drošības procedūras), noņemot vāciņus visiem četriem QFT-Plus stobriņiem un iepildot 1 ml asiņu katrā no tiem (līdz melnās atzīmes vidum uz stobriņa sāniem). Stingri uzlieciet atpakaļ vāciņus un

samaisiet, kā aprakstīts tālāk. Pārliecinieties, vai katru stobriņu (Nil, TB1, TB2 un Mitogen) pēc vāciņa noņemšanas varēs identificēt pēc etiķetes vai kā citādi.

3. Uzreiz pēc stobriņu uzpildīšanas sakratiet tos desmit (10) reizes tikai tik stipri, lai nodrošinātu, ka visa stobriņa iekšējā virsma ir pārklāta ar asinīm. Tādējādi tiek izšķīdināti antigēni uz stobriņa sienām.

**Svarīga piezīme:** Stobriņu kratīšanas laikā to temperatūrai ir jābūt no 17 līdz 25 °C. Pārāk spēcīga kratīšana var izraisīt gela izšķīšanu, kas var būt par iemeslu neprecīziem rezultātiem.

4. Pēc marķēšanas, piepildīšanas un sakratīšanas stobriņi jāievieto inkubatorā 37 °C ± 1 °C temperatūrā pēc iespējas drīzāk, bet ne vēlāk kā 16 stundas pēc parauga paņemšanas. Pirms inkubācijas glabājiet un transportējiet stobriņus istabas temperatūrā (22 °C ± 5 °C). Ja QFT-Plus stobriņi netiek inkubēti 37 °C temperatūrā uzreiz pēc asins parauga paņemšanas un sakratīšanas, apvērsiet stobriņus 10 reizes, lai pirms inkubācijas 37 °C temperatūrā sajauktu to saturu.
5. Inkubējiet QFT-Plus stobriņus STĀVUS 16–24 stundas 37 °C ± 1 °C temperatūrā. CO<sub>2</sub> vai mitrināšana inkubatorā nav nepieciešama.

## **Asins parauga paņemšana vienā litija vai nātrija heparīna stobriņā un pārvešana uz stobriņiem QFT-Plus Blood Collection Tubes**

1. Asins paraugu var paņemt vienā asins analīžu stobriņā, kurā kā antikoagulants ir litija vai nātrija heparīns, un pēc tam paraugu pārliet stobriņos QFT-Plus Blood Collection Tubes. Kā asins antikoagulantu izmantojiet tikai litija vai nātrija heparīnu, jo citi antikoagulanti traucē analīzes veikšanai. Atbilstoši marķējiet stobriņus.

Uz stobriņa etiķetes ieteicams norādīt asins parauga paņemšanas laiku un datumu.

**Svarīgi!** Asins parauga ņemšanas laikā asins analīžu stobriņiem ir jābūt istabas temperatūrā (17–25 °C).

2. Piepildiet litija vai nātrija heparīna asins analīžu stobriņu (minimālais tilpums: 5 ml) un uzmanīgi samaisiet asinis, apgriežot stobriņu vairākas reizes, lai izšķīdinātu heparīnu. Šī procedūra ir jāveic apmācītam flebotomistam.

3. Pirms asins parauga pārvešanas un inkubācijas stobriņos QFT-Plus Blood Collection Tubes aizturiet litija vai nātrija heparīna stobriņa laiku un temperatūras opciju (sk. 1–3. att. Asins parauga paņemšanas opcijas).

**1. opcija** — litija vai nātrija heparīna stobriņa glabāšana un lietošana istabas temperatūrā Asinis, kas paņemtas litija vai nātrija heparīna stobriņā, pirms pārvešanas uz stobriņiem QFT-Plus Blood Collection Tubes un inkubācijas jātur istabas temperatūrā ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) ne ilgāk kā 16 stundas kopš parauga paņemšanas brīža.

**2. opcija** — litija vai nātrija heparīna stobriņa glabāšana un lietošana atdzesētā stāvoklī

**Svarīgi!** Procedūras a–d darbības jāveic secīgi.

a. Asinis, kas paņemtas litija vai nātrija heparīna stobriņā, var glabāt istabas temperatūrā ( $17\text{--}25\text{ °C}$ ) ne vairāk kā 3 stundas pēc asins parauga paņemšanas.

b. Asinis, kas paņemtas litija vai nātrija heparīna stobriņā, var glabāt atdzesētā ( $2\text{--}8\text{ °C}$ ) ne vairāk kā 48 stundas.

c. Pēc parauga atdzesēšanas un pirms pārvešanas uz stobriņiem QFT-Plus Blood Collection Tubes litija vai nātrija heparīna stobriņam jāļauj sasniegt istabas temperatūru ( $17\text{--}25\text{ °C}$ ).

d. QFT-Plus Blood Collection Tubes ar alikvotajām daļām jāievieto inkubatorā  $37\text{ °C}$  temperatūrā 2 stundu laikā pēc asins parauga pārvešanas.

Ja pēc asins parauga pārvešanas uz stobriņiem QFT-Plus Blood Collection Tubes un sakratīšanas šie stobriņi netiek uzreiz inkubēti  $37\text{ °C}$  temperatūrā, apvērsiet tos 10 reizes, lai pirms inkubācijas  $37\text{ °C}$  temperatūrā stobriņu saturs sajauktos. Kopējais laiks no asiņu paņemšanas brīža līdz inkubācijai stobriņos QFT-Plus Blood Collection Tubes nedrīkst pārsniegt 53 stundas.

4. Pārnēsiet asins parauga materiālu no litija vai nātrija heparīna stobriņa uz stobriņiem QFT-Plus Blood Collection Tubes.

- a. Atbilstoši marķējiet katru stobriņu QFT-Plus Blood Collection Tube.

Pārliecinieties, vai katru stobriņu (Nil, TB1, TB2 un Mitogen) pēc vāciņa noņemšanas varēs identificēt pēc etiķetes vai kā citādi. Ieteicams, lai reģistrētais asins parauga paņemšanas laiks un datums no litija vai nātrija heparīna stobriņiem tiktu pārnesti uz stobriņiem QFT-Plus Blood Collection Tubes.

- b. Paraugi pirms dozēšanas stobriņos QFT Plus Blood Collection Tubes ir vienmērīgi jā sajauc, tos uzmanīgi apvēršot.

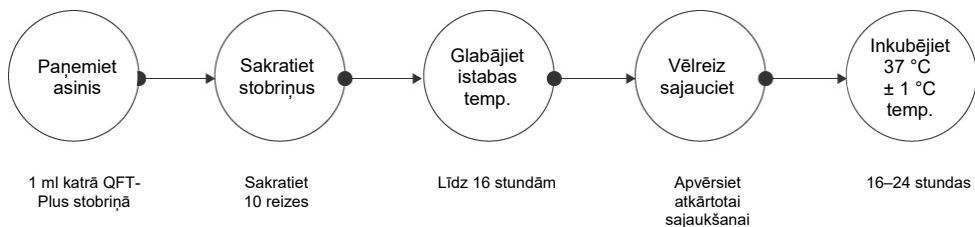
- c. Šo darbību ieteicams veikt aseptiski, nodrošinot attiecīgo drošības procedūru ievērošanu, noņemot vāciņus no četriem stobriņiem QFT Plus Blood Collection Tubes un iepildot 1 ml asiņu katrā no tiem. Stingri uzlieciet atpakaļ stobriņu vāciņus un samaisiet, kā aprakstīts tālāk. Pārliecinieties, vai katru stobriņu (Nil, TB1, TB2 un Mitogen) pēc vāciņa noņemšanas varēs identificēt pēc etiķetes vai kā citādi.

5. Sajauciet stobriņu saturu. Uzreiz pēc stobriņu QFT-Plus Blood Collection Tubes uzpildīšanas sakratiet tos desmit (10) reizes tikai tik stipri, lai nodrošinātu, ka visa stobriņa iekšējā virsma ir pārklāta ar asinīm. Tādējādi tiek izšķīdināti antigēni uz stobriņa sienīnām.

Pārāk spēcīga kratīšana var izraisīt gela izšķīšanu, kas var būt par iemeslu neprecīziem rezultātiem.

6. Pēc marķēšanas, piepildīšanas un sakratīšanas stobriņi jāievieto inkubatorā  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  temperatūrā 2 stundu laikā. Ja pēc asins parauga pārņemšanas un sakratīšanas stobriņi QFT-Plus Blood Collection Tubes netiek uzreiz inkubēti  $37\text{ °C}$  temperatūrā, apvēršiet tos 10 reizes, lai pirms inkubācijas  $37\text{ °C}$  temperatūrā stobriņu saturs sajauktos (sk. asins parauga paņemšanas opcijas 1–3. att. nākamajā lappusē).
7. Inkubējiet stobriņus QFT-Plus Blood Collection Tubes STĀVUS 16–24 stundas  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  temperatūrā. CO<sub>2</sub> vai mitrināšana inkubatorā nav nepieciešama.

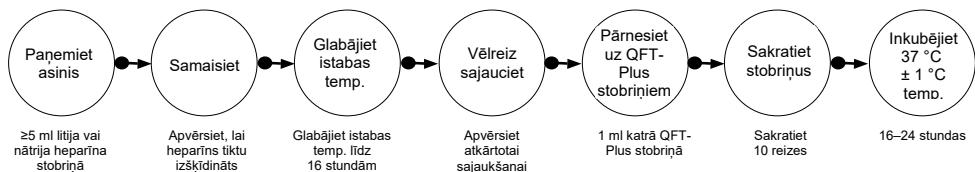
## Paņemiet asinis stobriņos QFT-Plus Blood Collection Tubes un glabājiet tos istabas temperatūrā.



### 1. attēls. Asins parauga paņemšanas opcija: Paņemiet asinis tieši stobriņos QFT-Plus Blood Collection Tubes un glabājiet tos istabas temperatūrā.

Kopējais laiks no asiņu paņemšanas stobriņos QFT-Plus Blood Collection Tubes līdz inkubācijai 37 °C temperatūrā nedrīkst pārsniegt 16 stundas.

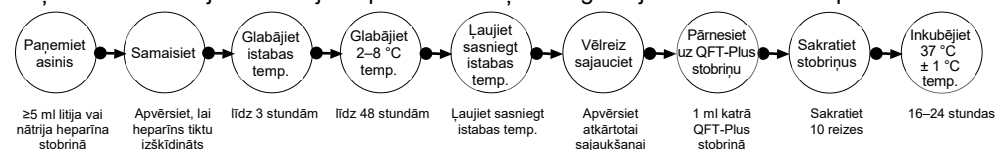
## Paņemiet asinis litija vai nātrija heparīna stobriņā un glabājiet to istabas temperatūrā.



### 2. attēls. Asins parauga paņemšanas opcija: Paņemiet asinis litija vai nātrija heparīna stobriņā un glabājiet to istabas temperatūrā.

Kopējais laiks no asiņu paņemšanas litija vai nātrija heparīna stobriņā līdz inkubācijai 37 °C temperatūrā nedrīkst pārsniegt 16 stundas.

## Paņemiet asinis litija vai nātrija heparīna stobriņos un glabājiet tos 2–8 °C temperatūrā.



### 3. attēls. Asins parauga paņemšanas opcija: Paņemiet asinis litija vai nātrija heparīna stobriņā un glabājiet to 2–8 °C temperatūrā.

Kopējais laiks no asiņu paņemšanas litija vai nātrija heparīna stobriņā līdz inkubācijai 37 °C temperatūrā nedrīkst pārsniegt 53 stundas.

# Lietošanas norādījumi

## 1. posms — asins paraugu inkubācija un plazmas atdalīšana

### Nodrošinātie materiāli

- QFT-Plus Blood Collection Tubes (sk. 3. sadaļu)

### Nepieciešamie materiāli, kas netiek piegādāti

- Skatiet 3. sadaļu

### Procedūra

1. **Ja asins paraugi netiek inkubēti uzreiz pēc paņemšanas, tieši pirms inkubēšanas to saturs ir atkārtoti jāsamaisa, apvēršot stobriņus 10 reizes.**
2. **Inkubējiet stobriņus STĀVUS 16–24 stundas 37°C ± 1°C temperatūrā. CO<sub>2</sub> vai mitrināšana inkubatorā nav nepieciešama.**
3. **Pēc inkubācijas 37 °C temperatūrā un pirms centrifugēšanas asins analīžu stobriņus var glabāt ne ilgāk kā 3 diennaktis 4–27 °C temperatūrā.**
4. **Pēc stobriņu inkubēšanas 37 °C temperatūrā plazmu var iegūt, centrifugējot stobriņus 15 minūtes ar ātrumu 2000–3000 RCF (g). Gela korķis šūnas atdalīs no plazmas. Ja tas nenotiek, stobriņi jācentrifugē vēlreiz.**

Plazmu var iegūt arī bez centrifugēšanas, tomēr papildu uzmanība jāpievērš tam, lai plazmu atdalītu, nesabojājot šūnas.

5. **Plazmas paraugus drīkst iegūt tikai ar pipeti.**

**Svarīga piezīme:** Pēc centrifugēšanas un pirms plazmas iegūšanas izvairieties no pipetēšanas augšup un lejup vai jebkāda veida plazmas maisīšanas. Vienmēr ievērojiet piesardzību, lai nesabojātu materiālu uz gela virsmas.



No centrifugētiem asins analīžu stobriņiem plazmas paraugus var pārliet tieši QFT-Plus ELISA plātē arī tad, ja tiek izmantotas automatizētas ELISA analīzes ierīces.

Plazmas paraugus var glabāt ne ilgāk kā 28 dienas 2–8 °C temperatūrā, bet, iegūstot tīru plazmu, ilgāku laiku temperatūrā, kas zemāka par –20 °C.

Lai iegūtu piemērotus analīzes paraugus, iegūstiet vismaz 150 µl plazmas.

## 2. posms — IFN- $\gamma$ noteikšana ar ELISA

### Nodrošinātie materiāli

- QFT-Plus ELISA komplekts (sk. 3. sadaļu)

### Nepieciešamie materiāli, kas netiek nodrošināti

- Skatiet 3. sadaļu.

### Procedūra

1. **Visi plazmas paraugi un reaģenti, izņemot konjugāta 100× koncentrātu, pirms lietošanas jāsasilda līdz istabas temperatūrai (22±5 °C). Nepieciešamās temperatūras sasniegšanai jāatvēr vismaz 60 minūtes.**

2. **Izņemiet no rāmja plātnītes, kas netiek izmantotas, ielieciet tās atpakaļ folija iepakojumā un līdz lietošanai glabājiet ledusskapī.**

Jāparedz vismaz 1 plātnīte QFT-Plus analīzes standartiem un pietiekams skaits plātnīšu testējamiem pacientiem (sk. 5. attēls. att.). Pēc izmantošanas saglabājiet rāmi lietošanai ar atlikušajām plātnītēm.

3. **Pagatavojiet INF- $\gamma$  standarta šķīdumu tādā daudzumā dejonizēta vai destilēta ūdens, kas norādīts uz flakona etiķetes. Uzmanīgi samaisiet, pēc iespējas samazinot putu veidošanos un nodrošinot pilnīgu izšķīšanu. Pagatavojot norādītā tilpuma standarta šķīdumu, tiek iegūts šķīdums, kura koncentrācija ir 8,0 SV/ml.**

**Svarīga piezīme:** Komplekta standarta šķīduma pagatavošanas tilpums dažādās partijās atšķiras.

Izmantojiet pagatavoto komplekta standarta šķīdumu, lai iegūtu 1 no 2 un pēc tam 1 no 4 IFN- $\gamma$  atšķaidījumu sērijām zaļajā atšķaidītājā (GD, Green Diluent) (sk. 4. attēls. att.). S1 (1. standarts) satur 4,0 SV/ml, S2 (2. standarts) satur 1,0 SV/ml, S3 (3. standarts) satur 0,25 SV/ml un S4 (4. standarts) satur 0 SV/ml (tīrs GD). Standarta šķīdumi jātestē vismaz dubultā. Katrai ELISA analīzes sērijai sagatavojiet jaunus komplekta standarta šķīduma atšķaidījumus.

#### Ieteicamā procedūra dubultā standarta šķīdumiem

Marķējiet 4 stobriņus kā "S1", "S2", "S3", "S4".

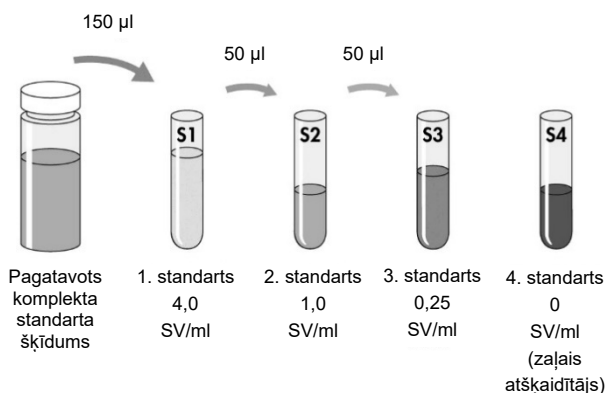
Pievienojiet 150  $\mu$ l GD stobriņos S1, S2, S3, S4.

Pievienojiet 150  $\mu$ l komplekta standarta šķīduma stobriņā S1 un rūpīgi samaisiet.

Pārnēsiet 50  $\mu$ l no stobriņa S1 uz stobriņu S2 un rūpīgi samaisiet.

Pārnēsiet 50  $\mu$ l no stobriņa S2 uz stobriņu S3 un rūpīgi samaisiet.

Tīrs GD kalpo kā Nil standarts (S4).



#### 4. attēls. Standarta līknes sagatavošana.

4. **Pagatavojiet liofilizēto konjugāta 100× koncentrātu, izmantojot 0,3 ml dejonizēta vai destilēta ūdens. Uzmanīgi samaisiet, pēc iespējas samazinot putu veidošanos un nodrošinot pilnīgu konjugāta izšķīšanu.**

Konjugāta darba šķīdumu sagatavo, atšķaidot nepieciešamo pagatavotā konjugāta 100× koncentrāta daudzumu ar zaļo atšķaidītāju (1. tabula. Konjugāta sagatavošana). Neizlietoto konjugāta 100× koncentrātu uzreiz pēc lietošanas ievietojiet 2–8 °C temperatūrā. Izmantojiet tikai zaļo atšķaidītāju.

1. tabula. Konjugāta sagatavošana

Plātnīšu skaits	Konjugāta 100x koncentrāta tilpums	Zaļā atšķaidītāja tilpums
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. **Ja plazmas paraugi ir iegūti no asins analīžu stobriņiem un pēc tam glabāti (atdesētā vai sasaldētā veidā), samaisiet paraugus pirms pievienošanas ELISA iedobītei.**

**Svarīga piezīme:** Ja plazmas paraugus ir paredzēts pievienot tieši no centrifugētajiem QFT-Plus stobriņiem, plazmu nedrīkst maisīt. Vienmēr ievērojiet piesardzību, lai nesabojātu materiālu uz gela virsmas.

6. **Ar daudzkanālu pipeti pievienojiet 50 µl tikko sagatavotā konjugāta darba šķīduma nepieciešamajās ELISA iedobītēs.**

7. Pievienojiet 50 µl analīzes plazmas paraugu atbilstošajās iedobītēs, izmantojot daudzkanālu pipeti (ieteicamo plātes izkārtojumu skatiet 5. attēls. att.). Beigās pievienojiet pa 50 µl no katra 1.–4. standarta šķīduma.

	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

**5. attēls. Ieteicamais paraugu izkārtojums (22 analīzes vienā plātē)**

S1 (1. standarts), S2 (2. standarts), S3 (3. standarts), S4 (4. standarts)

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

8. Pārklājiet katru plāti un rūpīgi 1 minūti maisiet konjugātu un plazmas paraugus/standarta šķīdumus mikroplašu kratītājā. Izvairieties no izšļakstīšanās.
9. Pārklājiet katru plāti un  $120 \pm 5$  minūtes inkubējiet istabas temperatūrā ( $22 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ ).

Inkubācijas laikā plātes nedrīkst atrasties tiešu saules staru ietekmē.

10. Inkubācijas laikā atšķaidiet un rūpīgi samaisiet vienu daļu skalošanas buferšķīduma  $20\times$  koncentrāta ar 19 daļām dejonizēta vai destilēta ūdens. Tiek piegādāts pietiekami daudz skalošanas buferšķīduma  $20\times$  koncentrāta, lai varētu sagatavot 2 litrus skalošanas buferšķīduma darba šķīduma.

Skalojiet iedobītes ar 400 µl skalošanas buferšķīduma darba šķīdumu vismaz 6 ciklus. Ieteicams lietot automātisku plātes skalošanas ierīci.

Rūpīga skalošana ir ļoti svarīga pareizai analīzes norisei. Nodrošiniet, lai katrā skalošanas ciklā katra iedobīte būtu pilnīgi uzpildīta ar skalošanas buferšķīdumu līdz iedobītes augšējai malai. Starp katru ciklu ieteicams vismaz 5 sekunžu mērcēšanas periods.

Notekūdeņu uzkrāšanas tvertnē jāielej parastais laboratorijas dezinfekcijas līdzeklis, kā arī jāievēro spēkā esošie noteikumi par iespējami infekcioza materiāla dekontamināciju.

11. **Noteiciniet otrādi apgrieztas plates uz uzsūcoša dvieļa, kam ir maz pūku, lai atbrīvotos no atlikušā skalošanas buferšķīduma. Pievienojiet 100 µl enzīmu substrāta šķīduma katrā iedobītē, pārklājiet katru plati un rūpīgi samaisiet ar mikroplašu kratītāju.**
12. **Pārklājiet katru plati un 30 minūtes inkubējiet istabas temperatūrā (22 °C ± 5 °C).**  
Inkubācijas laikā plates nedrīkst atrasties tiešu saules staru ietekmē.
13. **Pēc 30 minūšu inkubācijas katrā iedobītē pievienojiet 50 µl enzīmu darbības pārtraukšanas šķīduma un samaisiet.**  
Enzīmu darbības pārtraukšanas šķīdums iedobītēs jāpievieno tādā pašā rindas kārtībā un ar aptuveni tādu pašu ātrumu, kādā tika pievienots substrāts 11. darbībā.
14. **Ar mikroplašu lasītāju, kas aprīkots ar 450 nm filtru un 620–650 nm references filtru, izmēriet optisko blīvumu (OB) katrā iedobītē 5 minūšu laikā pēc reakcijas pārtraukšanas. Rezultātu aprēķināšanai tiek izmantotas OB vērtības.**

# Aprēķini un analīzes rezultātu interpretācija

Lai analizētu iegūtos datus un aprēķinātu rezultātus, var izmantot QFT-Plus analīžu veikšanas programmatūru. Tā ir pieejama vietnē **www.QuantiFERON.com**. Pārliecinieties, vai tiek izmantota visjaunākā QFT-Plus analīžu veikšanas programmatūras versija.

Programmatūra veic analīzes kvalitātes kontroles novērtējumu, izveido standarta līkni un nodrošina analīzes rezultātu katram pacientam. Sīkāks izklāsts pieejams sadaļā “Rezultātu interpretācija”.

QFT-Plus analīžu veikšanas programmatūras izmantošanas alternatīva ir rezultātu noteikšana, izmantojot tālāk aprakstīto metodi.

## Standarta līknes izveidošana

(Ja netiek izmantota QFT-Plus analīžu veikšanas programmatūra)

Nosakiet komplekta standarta šķīduma atkārtojumu vidējās OB vērtības katrai plātei.

Uzzīmējiet standarta līkni  $\log_{(e)}-\log_{(e)}$ , atzīmējot vidējo OB vērtību  $\log_{(e)}$  ( $y$  ass) attiecībā pret standarta  $\log_{(e)}$  IFN- $\gamma$  koncentrāciju SV/ml ( $x$  ass), neņemot vērā šo aprēķinu Nil vērtību. Ar regresijas analīzi aprēķiniet līniju, kas vislabāk atbilst standarta līknei.

Lietojiet standarta līkni, lai noteiktu IFN- $\gamma$  koncentrāciju (SV/ml) katram analīzes plazmas paraugam, izmantojot katra parauga OB vērtību.

Šos aprēķinus var veikt, izmantojot mikroplašu lasītājiem pieejamās programmatūras paketes, kā arī standarta izklājlapu vai statistikas programmatūru (piemēram, Microsoft® Excel®). Šādas paketes ieteicams izmantot regresijas analīzes aprēķiniem, kā arī standartu variācijas koeficienta (%VK) un standarta līknes korelācijas koeficienta ( $r$ ) noteikšanai.

## Analīzes kvalitātes kontrole

Analīzes rezultātu precizitāte ir atkarīga no precīzas standarta līknes izveides. Tādēļ pirms analīzes paraugu rezultātu interpretācijas jāpārbauda no standartiem atvasinātie rezultāti.

Lai ELISA analīze būtu derīga:

- Vidējai 1. standarta OB vērtībai jābūt  $\geq 0,600$ ;
- 1. un 2. standarta atkārtojumu OB vērtību %VK jābūt  $\leq 15\%$ ;
- 3. un 4. standarta atkārtojumu OB vērtību variācija nedrīkst būt lielāka par 0,040 optiskā blīvuma vienībām, salīdzinot ar to vidējo vērtību;
- No standartu vidējām absorbcijas vērtībām aprēķinātajam korelācijas koeficientam ( $r$ ) jābūt  $\geq 0,98$ .

QFT-Plus analīžu veikšanas programmatūra aprēķina šos kvalitātes kontroles parametrus un sniedz par tiem atskaites.

Ja iepriekš minētie kritēriji nav izpildīti, analīze nav derīga un ir jāatkārto.

Vidējai Nil standarta (zaļais atšķaidītājs) OB vērtībai jābūt  $\leq 0,150$ . Ja vidējā OB vērtība ir  $> 0,150$ , jāpārbauda plātes skalošanas procedūra.

## Rezultātu interpretācija

QFT-Plus analīzes rezultāti tiek interpretēti, izmantojot tālāk norādītos kritērijus (2. tabula).

**Svarīga piezīme:** Lai diagnosticētu vai izslēgtu saslimšanu ar tuberkulozi un novērtētu LTBI iespējamību, ir nepieciešami kombinēti izmeklējumi, veicot epidemioloģisko, pacienta vēstures, medicīnisko un diagnostisko izpēti, un šie rezultāti jāņem vērā, interpretējot QFT-Plus rezultātus.

2. tabula. QFT-Plus analīzes rezultātu interpretācija

Nil st. (SV/ml)	TB1 mīnus Nil (SV/ml)	TB2 mīnus Nil (SV/ml)	Mitogen st. mīnus Nil st. (SV/ml)*	QFT-Plus analīzes rezultāts	Ziņojums/interpretācija
	≥0,35 un ≥25% no Nil vērtības	Jebkāds			
	Jebkāds	≥0,35 un ≥25% no Nil vērtības	Jebkāds	Pozitīvs <sup>†</sup>	<i>M. tuberculosis</i> infekcija ir ticama
≤8,0	<0,35 vai ≥0,35 un <25% no Nil vērtības	<0,35 vai ≥0,35 un <25% no Nil vērtības	≥0,5	Negatīvs	<i>M. tuberculosis</i> infekcija NAV ticama
	<0,35 vai ≥0,35 un <25% no Nil vērtības	<0,35 vai ≥0,35 un <25% no Nil vērtības	<0,5	Nenoteikts <sup>‡</sup>	<i>M. tuberculosis</i> infekcijas ticamību nevar noteikt
>8,0 <sup>§</sup>		Jebkāds		Nenoteikts <sup>‡</sup>	<i>M. tuberculosis</i> infekcijas ticamību nevar noteikt

\* Atbildes reakcija uz Mitogen pozitīvo kontroli (un palaikam — TB antigēniem) var neatbilst mikroplates lasītāja diapazonam. Tas neietekmē analīzes rezultātus. Vērtības, kas ir lielākas par 10 ml, QFT-Plus programmatūra uzrāda kā >10 SV/ml.

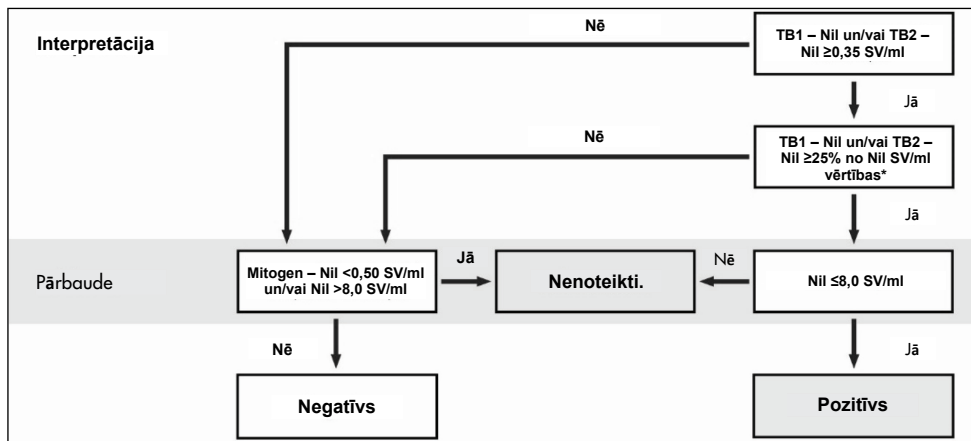
<sup>†</sup> Ja nav aizdomu par *M. tuberculosis* infekciju, sākotnēji pozitīvos rezultātus var apstiprināt, veicot atkārtotu oriģinālo plazmas paraugu dubultu testēšanu QFT-Plus ELISA komplektā. Ja viena vai abu atkārtojumu atkārtota testēšana ir pozitīva, jāpieņem, ka personas analīze ir pozitīva.

<sup>‡</sup> Iespējamās iemeslus skatiet sadaļā "Problēmu novēršanas ieteikumi".

<sup>§</sup> Klīniskajos pētījumos mazāk nekā 0,25% dalībnieku IFN- $\gamma$  līmenis Nil stobriņa vērtībai bija >8,0 SV/ml.

Noteiktā IFN- $\gamma$  lielumu nevar korelēt ar infekcijas pakāpi jeb smagumu, imūnreakcijas līmeni vai aktīvās slimības progresēšanas iespējamību. Pozitīva atbildes reakcija uz TB personām, kam ir negatīva atbildes reakcija uz Mitogen, ir reta, tomēr tā ir novērota pacientiem ar TB slimību. Tas norāda, ka IFN- $\gamma$  atbildes reakcija uz TB antigēnu ir lielāka nekā uz Mitogen, kas ir iespējams, jo Mitogen līmenis maksimāli nestimulē IFN- $\gamma$  veidošanu limfocītos.





\* Lai TB1 mīnus Nil vai TB2 mīnus Nil stobriņa vērtība būtu derīga,  $\geq 25\%$  Nil stobriņa SV/ml vērtības daudzumam jābūt no tā paša stobriņa, no kura iegūts oriģinālais  $\geq 0,35$  SV/ml rezultāts.

#### 6. attēls. QFT-Plus analīzes interpretēšanas shēma

# Ierobežojumi

QFT-Plus analīzē iegūtie rezultāti ir izvērtējami saistībā ar katras atsevišķas personas epidemioloģiju, pašreizējo veselības stāvokli un citiem diagnostiskiem izmeklējumiem.

To personu stāvoklis, kurām Nil stobriņa vērtības ir lielākas nekā 8,0 SV/ml, tiek klasificēts kā "nenoteikts", jo par 25% augstāka reakcija uz TB antigēniem var neatbilst analīzes mērījumu diapazonam.

Neuzticamu un nenoteiktu rezultātu iemesli var būt šādi:

- Šajā iepakojuma ieliktnī aprakstīto procedūru neievērošana;
- Pārāk augsts cirkulējošā IFN- $\gamma$  vai heterofilo antivielu klātbūtnes līmenis;
- No asins parauga materiāla paņemšanas līdz inkubēšanai 37 °C temperatūrā pagājušas vairāk nekā 16 stundas. Tas nav piemērojams, ja tiek izmantota litija vai nātrija heparīna stobriņš 2–8 °C temperatūras darbplūsmā.

# Veiktspējas raksturlielumi

## Klīniskie pētījumi

Tā kā LTBI noteikšanai nepastāv noteikta standarta analīze, QFT-Plus analīzes jutīgumu un specifiskumu nevar praktiski izvērtēt. QFT-Plus specifiskums tika noteikts aptuveni, izvērtējot nepatieso pozitīvo vērtību rādītājus personām ar zemu tuberkulozes infekcijas risku (bez zināmiem riska faktoriem). Jutīgums tika noteikts aptuveni, izvērtējot pacientu grupas ar kultūras apstiprinātu aktīvu saslimšanu ar tuberkulozi.

### Specifiskums

Tika veikts pētījums, kurā tika novērtēts QFT-Plus specifiskums 409 pacientiem. Demogrāfiskā informācija un TB saskares riska faktori tika noteikti standarta aptaujā testēšanas laikā.

Konstatējumu apkopojumā par 2 pacientu grupām ar zemu tuberkulozes infekcijas risku (nav zināmu riska faktoru) kopējais QFT-Plus specifiskums bija 97,6% (399/409) (3. tabula. un 4. tabula. tabula).

**3. tabula. QFT-Plus specifiskuma pētījuma rezultāti pēc pētījuma vietas**

Pētījums	Pozitīvs	Negatīvs	Nenoteikti	Specifiskums (95% TI)
Japāna	4	203	0	98% (95–100%)
Austrālija	6	196	0	97% (94–99%)

**4. tabula. QFT-Plus specifiskuma pētījuma rezultāti pēc TB antigēna stobriņa**

Pētījums	TB1	TB2	QFT-Plus
Pozitīvs	5	10	10
Negatīvs	404	399	399
Nenoteikti	0	0	0
Specifiskums (95% TI)	98,8% (97,2–99,6)	97,6% (95,6–98,8)	97,6% (95,6–98,8)

### Jutīgums pret aktīvo TB

Lai gan nav galīgas standarta analīzes LTBI noteikšanai, piemērots aizstājējs ir *M. tuberculosis* mikrobioloģiskā kultūra, jo pacienti ar slimību pēc definīcijas ir inficēti. Lai novērtētu QFT-Plus jutīgumu, 4 pētījuma vietās Austrālijā un Japānā tika testētas personas ar iespējamu TB, kurām vēlāk *M. tuberculosis* infekcija tika apstiprināta ar kultūru (5. tabula. un 6. tabula. tabula). Pirms asins paraugu paņemšanas QFT-Plus testēšanai pacienti saņēma ārstniecības kursu, kas ilga mazāk nekā 14 dienas.

Konstatējumu apkopojumā par 4 ar *M. tuberculosis* kultūru pozitīvi apstiprinātajām pacientu grupām kopējais aktīvas TB slimības QFT-Plus jutīgums bija 95,3% (164/172). Šajās 4 grupās 159 pacientiem bija pozitīvi gan TB1, gan TB2 stobriņi, 1 pacientam bija pozitīvs tikai TB1 stobriņš un 4 pacientiem bija pozitīvi tikai TB2 stobriņi. Kopumā 1,1% (2/174) rezultātu bija nenoteikti. Ar TB2 stobriņu tika pareizi identificēts 1 ar kultūru apstiprināts pacients, kura rezultāts būtu nenoteikts (zems Mitogen līmenis), ja tiktu ņemts vērā tikai TB1 stobriņš (sk. 5. tabula. un 6. tabula. tabulu).

**5. tabula. QFT-Plus jutīguma pētījuma rezultāti pēc pētījuma vietas**

Pētījuma vietas	Pozitīvs	Negatīvs	Nenoteikti	QFT-Plus jutīgums* (95% TI)
Japāna, 1. vieta	36	7	0	84% (69–93)
Japāna, 2. vieta	53	1	2	98% (90–100)
Japāna, 3. vieta	54	0	0	100% (93–100)
Austrālijas vieta	21	0	0	100% (84–100)

\* Jutīgums pamatojas uz kopīgo derīgo analīžu skaitu, atskaitot nenoteiktus rezultātus.

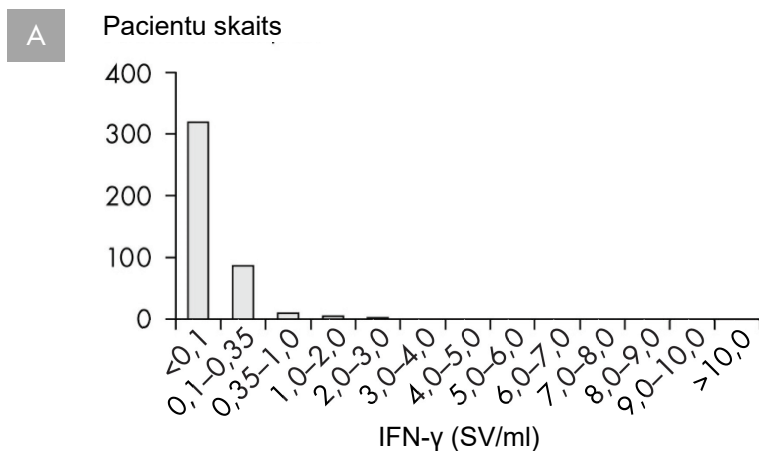
6. tabula. QFT-Plus jutīguma pētījuma rezultāti pēc TB antigēna stobriņa

	TB1	TB2	QFT-Plus
Pozitīvs	160	163	164
Negatīvs	11	9	8
Nenoteikti	3	2	2
Jutīgums <sup>†</sup> (95% TI)	93,6% (88,8–96,7)	94,8% (90,3–97,6)	95,3% (90,9–97,9)

\* Jutīgums pamatojas uz kopīgo derīgo analīžu skaitu, atskaitot nenoteiktus rezultātus.

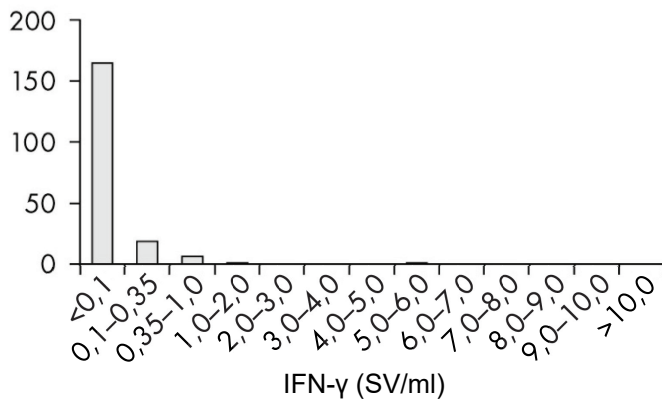
### Novēroto atbildes reakciju sadalījums — stratificētas riska grupas

Klīniskos pētījumos tika novērots IFN- $\gamma$  atbildes reakciju diapazons uz TB1, TB2 un kontroles stobriņiem, kas tika stratificēts pēc *M. tuberculosis* infekcijas riska (7.–9. attēls). Jaukta riska grupā ir pacienti, kas pārstāv vispārīgu testējamo populāciju, ietverot pacientus ar TB saskares riska faktoriem un bez tiem, un kurā visticamāk nav aktīvas TB (piemēram, LTBI).



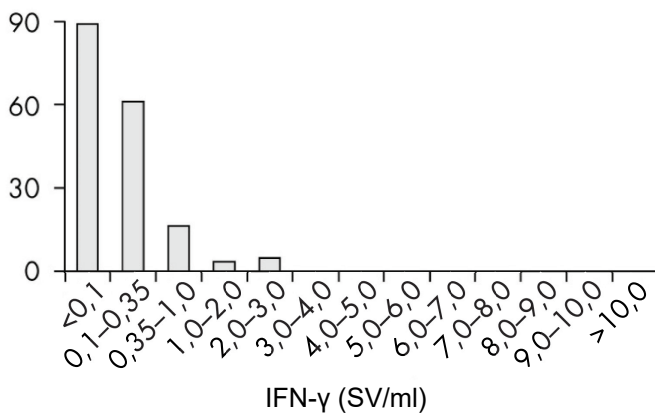
B

Pacientu skaits

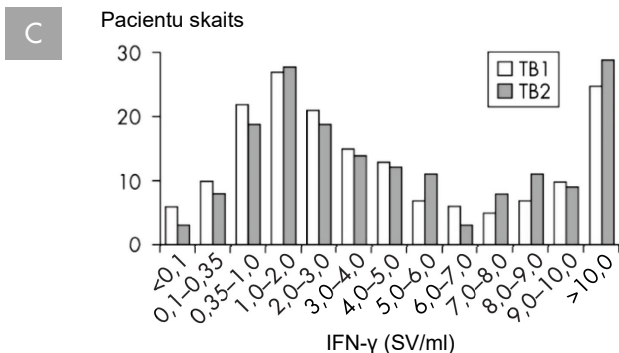
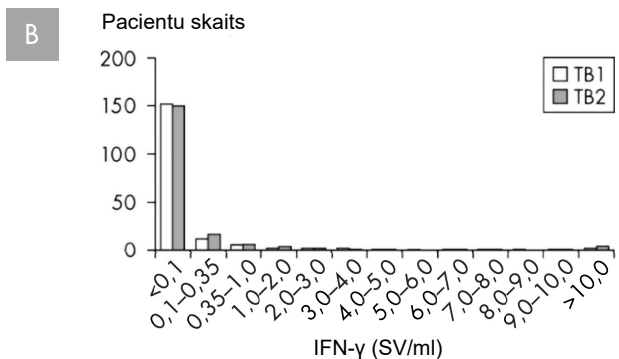
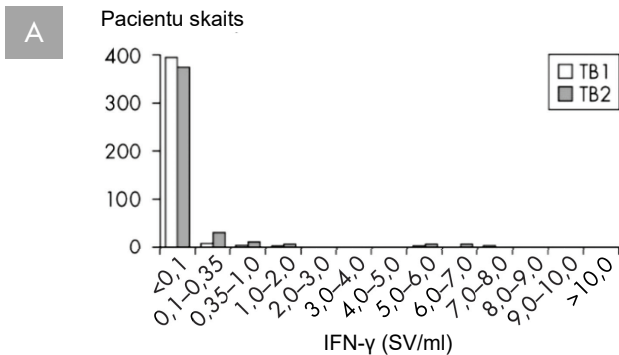


C

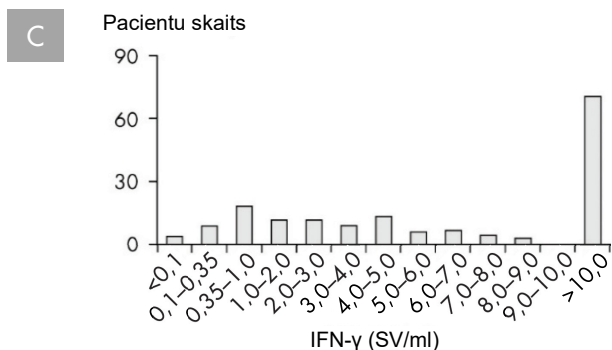
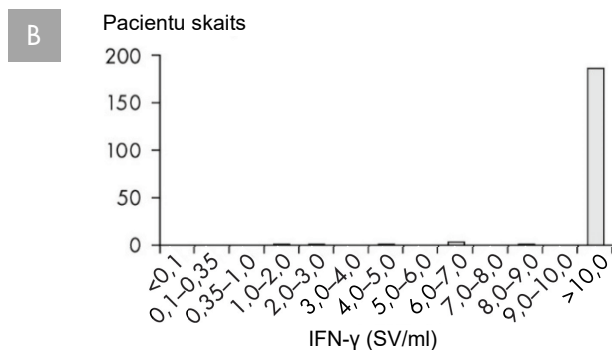
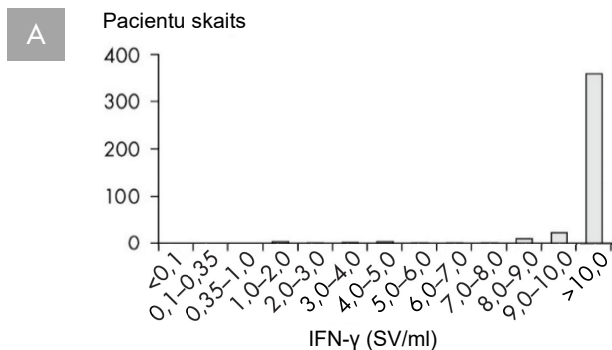
Pacientu skaits



**7. attēls. Nil stobriņa vērtību sadalījums.** **A.** Nil stobriņa vērtību sadalījums zema riska populācijā (n=409). **B.** Nil stobriņa vērtību sadalījums jaukta riska populācijā (n=194). **C.** Nil stobriņa vērtību sadalījums populācijā ar apstiprinātu *M. tuberculosis* kultūras infekciju (n=174).

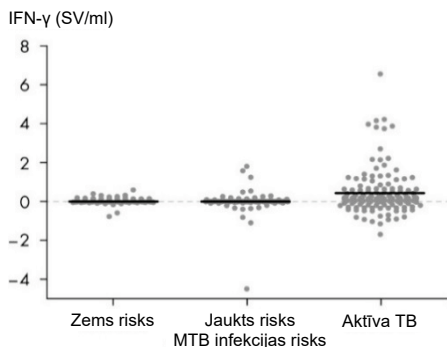


**8. attēls. TB1 un TB2 stobriņu vērtību sadalījums (Nil stobriņa vērtība atņemta). A.** TB1 un TB2 stobriņu vērtību sadalījums (Nil stobriņa vērtība atņemta) zema riska populācijā (n=409). **B.** TB1 un TB2 stobriņu vērtību sadalījums (Nil stobriņa vērtība atņemta) jaukta riska populācijā (n=194). **C.** TB1 un TB2 stobriņu vērtību sadalījums (Nil stobriņa vērtība atņemta) populācijā ar apstiprinātu *M. tuberculosis* kultūras infekciju (n=174).



**9. attēls. Mitogen stobriņa vērtību sadalījums (Nil stobriņa vērtība atņemta).** **A.** Mitogen stobriņa vērtību sadalījums (Nil stobriņa vērtība atņemta) zema riska populācijā (n=409). **B.** Mitogen stobriņa vērtību sadalījums (Nil stobriņa vērtība atņemta) jaukta riska populācijā (n=194). **C.** Mitogen stobriņa vērtību sadalījums (Nil stobriņa vērtība atņemta) populācijā ar apstiprinātu *M. tuberculosis* kultūras infekciju (n=169).



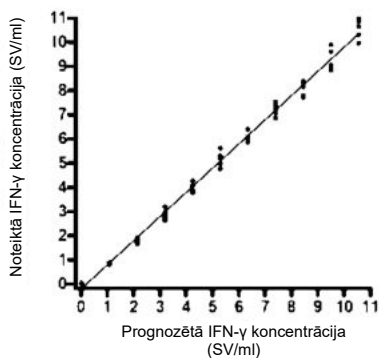


**10. attēls. Novērotā atšķirība starp TB1 un TB2 stobriņu vērtībām (Nil stobriņa vērtība atņemta), stratificēta pēc riska grupām.** Zema riska populācija (n=409), jaukta riska populācija (n=189) un populācija ar apstiprinātu *M. tuberculosis* kultūras infekciju (n=141). TB1 vērtības tika atņemtas no TB2 vērtībām. Pacienti, kuru TB1 vai TB2 vērtības bija >10,0 SV/ml, tika izslēgti, jo viņu rezultāti bija ārpus analīzes lineārā diapazona.

## Analīzes veiktspējas raksturojums

Ir pierādīts, ka analīzes QFT-Plus ELISA rezultāti ir lineāri, uz ELISA plates nejausi novietojot 11 plazmas pūlu 5 atkārtojumus ar zināmām IFN- $\gamma$  koncentrācijām. Lineārās regresijas līnijai ir  $1,002 \pm 0,011$  slīpums un korelācijas koeficients 0,99 (11. attēls. att.).

QFT-Plus ELISA analīzes noteikšanas ierobežojums ir 0,065 SV/ml, un nav pierādījumu par augstas devas āķa (prozona) efektu ar IFN- $\gamma$  koncentrācijām līdz 10 000 SV/ml.



**11. attēls. QFT-Plus ELISA linearitātes profils**

Tika novērtēta QFT-Plus ELISA analīzes iekšējā neprecizitāte un starpanalīžu neprecizitāte (%VK), testējot 20 plazmas paraugus ar mainīgām IFN- $\gamma$  koncentrācijām 3 atkārtojumos, ko veikuši 3 dažādi operatori 3 dažādās laboratorijās 3 dienās, kas nebija secīgas. Tādējādi katrs paraugs tika testēts 27 reizes 9 neatkarīgās analīzēs. Viens paraugs bija Nil kontrole, un tam tika aprēķināta IFN- $\gamma$  koncentrācija 0,08 SV/ml (95% TI: 0,07–0,09). Atlikušo 19 plazmas paraugu koncentrāciju diapazons bija no 0,33 (95% TI: 0,31–0,34) līdz 7,7 SV/ml (95% TI: 7,48–7,92).

Visa analīzes kopējā, kā arī starpanalīžu neprecizitāte tika novērtēta, aprēķinot vidējo %VK katram analīzes plazmas paraugam, kas satur IFN- $\gamma$  no katras plates analīzes (n=9). Neprecizitātes diapazons bija no 4,1 līdz 9,1% VK. Vidējā analīzes kovariance ( $\pm 95\%$  TI) bija  $6,6\% \pm 0,6\%$ . Nil IFN- $\gamma$  plazmas parauga vidējais VK bija 14,1%.

Tika noteikta kopējā starpanalīžu neprecizitāte, salīdzinot 27 aprēķinātās IFN- $\gamma$  koncentrācijas katram testējamam plazmas paraugam. Starpanalīžu neprecizitātes VK diapazons bija no 6,6 līdz 12,3%. Kopējais vidējais %VK ( $\pm 95\%$  TI) bija  $8,7 \pm 0,7\%$ . Nil IFN- $\gamma$  plazmas parauga VK bija 26,1%. Šāds variāciju līmenis ir prognozējams, jo aprēķinātā IFN- $\gamma$  koncentrācija ir zema, un zemām prognozētajām koncentrācijām variācijas ir lielākas nekā augstākām koncentrācijām.

Analīzes QFT-Plus atkārtojamība tika noteikta ar asins paraugiem no 102 personām ar jauktiem *M. tuberculosis* infekcijas riska faktoriem. Tika novērtēti trīs dažādi operatori un laboratorijas apstākļi.

Kopumā katrai personai tika veikti 3 diagnostiskie novērtējumi, kopā visām personām veicot 306 novērtējumus. Kopumā diagnostiskā atkārtojamība bija 99% (95% TI: 97,2–99,7), kuros diagnostiskie rezultāti bija saskaņoti 303 novērtējumos no 306. 3 personu rezultāti bija tuvu izslēgšanas vērtībai, kas tika aprēķināta visām variācijām.

## LTBI diagnoze

Ir publicēti vairāki pētījumi, kuros parādīta QFT, kas ir QFT-Plus iepriekšējā versija, darbība dažādās MTB infekcijas riskam pakļautu iedzīvotāju populācijās. Dažu pētījumi principiālie konstatējumi ir parādīti 7. tabula. tabulā.

7. tabula. Atlasīti publicēti pētījumi par QFT

Populācija/veselības stāvoklis	Rezultāti un konstatējumi	Kopējais publicēto pētījumu skaits
Pediatrija	Pierādīta darbība, testējot bērnus, tostarp bērnus, kas jaunāki par 5 gadu vecumu (45–46), ar lielāku precizitāti nekā ELISpot-based IGRA (8). Līdz šim lielākais pētījums, kurā tika salīdzināta analīze QFT un TST bērniem no Vjetnamas, Filipīnām un Meksikas, atbalsta ieteikumu izmantot analīzi QFT, nevis TST, lai ārzemēs dzimušiem bērniem testētu LTBI (46). Ierobežotas saskarsmes pētījums parāda labākas prognozējamās vērtības nekā TST bērniem (47) un 8 reizes augstāku TB slimības attīstības risku divu gadu laikā tiem, kuriem bijusi QFT analīzes konversija, salīdzinot ar tiem, kuriem tā nav bijusi (48). Pretrunas starp QFT negatīvu/TST pozitīvu rezultātu ir augstas bērniem, kas vakcinēti ar BCG (46, 49), bet Mitogen atbildes reakcija netika ietekmēta bērniem, kuri jaunāki par 5 gadiem (49), un imigrantu bērnu standarta pārbaudēs bija zems nenoteiktu rezultātu līmenis (46).	152
Grūtniecība	Zema saslimšanas riska apstākļos QFT darbība ir pietiekami laba katrā grūtniecības trimestrī, sniedzot salīdzināmus rezultātus ar sievietēm, kurām nav grūtniecības, tam ir daudz lielāks specifiskums, tam ir vismaz tikpat liels jutīgums un tas var sniegt labāku prognozi par slimības attīstību nekā TST (50). Augsta saslimšanas riska apstākļos QFT bija stabilāks visas grūtniecības laikā un mazāk atšķīrās no fona LTBI izplatības, salīdzinot ar TST, lai gan autori secināja, ka grūtniecība ietekmē gan QFT, gan TST (51).	6

Tabula turpinās nākamajā lappusē

7. tabula. Atlasīti publicēti pētījumi par QFT (turpinājums)

Populācija/veselības stāvoklis	Rezultāti un konstatējumi	Kopējais publicēto pētījumu skaits
HIV/AIDS	HIV infekcija ietekmē gan IGRA, gan TST, un apkopotie pierādījumi liecina, ka jāievēro piesardzība, interpretējot rezultātus pacientiem ar CD4+ šūnu skaitu <200 (52). Ir pierādīts, ka analīze QFT tiek mazāk ietekmēta nekā analīze ELISpot-based IGRA un TST (53–55). Priekšroka tiek dota vienai vizītei, veicot analīzi IGRA, kas novērš ar analīzi TST saistīto sliktu atkārtotas vizītes veikšanas rādītāju problēmu šajā populācijā (53).	101
Imūnsupresijas terapija	Imūnsupresijas terapija mazāk ietekmē analīzi QFT nekā TST, un tas labāk korelē ar TB riska faktoriem (23, 27). Analīzei QFT ir augsts jutīgums pacientiem ar reimatiskām slimībām (23, 56, 57) un augstāks specifiskums nekā analīzei TST, tādējādi tā samazina nepatiesi pozitīvus rezultātus, kā arī nevajadzīgu ārstēšanu, kas būtu nepieciešama, ja tiktu veikta analīze TST (23, 57, 58).	112
Veselības aprūpes nozares darbinieki	Ir pierādīts, ka tai ir augstāks specifiskums un mazāk nepatiesi pozitīvu rezultātu nekā analīzei TST, kā arī tā ir ekonomiski izdevīgāka par TST (59–62). Sērījveida testēšanas konstatējumos ir prognozējams mainīgums ap sliekšni, kas saistīts ar divējādu sadalīšanas punktu un bioloģiskai analīzei raksturīgu mainīgumu (63). Pētījumos pierādīts, ka veselības aprūpes nozares darbinieku ar zemu risku sērījveida testēšanā analīzei ir augstāks konversijas/reversijas rādītājs nekā analīzei TST (64, 65). ASV Slimību kontroles centrs atzīst, ka saudzīgie IGRA konversijas definēšanas kritēriji var radīt vairāk konversiju, nekā novērots ar analīzes TST stingrākiem kvantitatīviem kritērijiem, un atkārtotas testēšanas stratēģija ir pierādījusi savu efektivitāti konversijas/reversijas fenomena pārvaldībā (65–68).	111
Saskarsme ar TB	Augstākas PPV un NPV nekā ar TST (47); vienas vizītes ērtības tiem, kuri, iespējams, neveiks atkārtotu vizīti (63), labāka korelācija ar saskari (69), kas īpaši tiek atzīmēta ar BCG vakcinētiem cilvēkiem un to valstu populācijās, kurās tiek veikta BCG vakcinācija (70, 71).	89
Transplantācija	Ir pierādīts, ka tā ir vismaz tikpat efektīva kā TST, tomēr to mazāk nekā analīzi TST ietekmē dažādu orgānu slimības beigu stadijā (22).	23

Tabula turpinās nākamajā lappusē

7. tabula. Atlasīti publicēti pētījumi par QFT (turpinājums)

Populācija/veselības stāvoklis	Rezultāti un konstatējumi	Kopējais publicēto pētījumu skaits
Diabēts	Nelielā publikāciju daudzumā par ierobežotu pacientu skaitu ir sniegta pretrunīga liecība. Pētījumā zema saslimšanas riska reģionā tika konstatēts, ka diabēts neietekmē QFT jutīgumu TB pacientiem (72). Pētījumā Tanzānijā, kur pastāv augsta riska apstākļi, konstatēts, ka diabēts negatīvi ietekmē IFN- $\gamma$ veidošanos, tomēr nav ņemti vērā tādi papildu faktori kā HIV un tārpu invāzija (73). Pētījumos Vjetnamā 838 personas, kas pašas ziņojušas par diabētu un kurām bijušas aizdomas par TB vai saslimšana ar to, kas apstiprināta ar izmainītu krūšu rentgenogrammu vai ar kultūru apstiprināta kā aktīva TB (n=128), QFT pozitīvie rādītāji bija vienādi vai lielāki par TST sadalīšanas punktiem par 10 un 15 mm (74).	9
Nieru slimība beigu stadijā	Pozitīvi QFT rezultāti korelē ar TB riska faktoriem labāk nekā TST un ir mazāk saistīti ar BCG (75).	45
Ieceļotāji	Pētījumos pierādīts, ka, pretēji analīzei TST, analīzi QFT neietekmē BCG un vecums (74). Ir pierādīts, ka QFT ir ekonomiski visizdevīgākā metode (76). Zema saslimšanas riska apstākļos lielākā daļa TB gadījumu ir ārzemēs dzimušām personām vai tās ir latentas TB reaktivizācija pēc atgriešanās (77). Līdz šim lielākais pētījums, kurā tika salīdzināta analīze QFT un TST ieceļotāju bērniem, atbalsta ieteikumu izmantot analīzi QFT, nevis TST, lai ārzemēs dzimušiem bērniem testētu latentu TB infekciju (46).	29

# Tehniskā informācija

## Nenoteikti rezultāti

Nenoteikti rezultāti tiek iegūti reti un var būt saistīti ar testējamās personas imūnstatusu, taču tos var izraisīt arī vairāki tehniski faktori, ja netiek ievēroti iepriekš sniegtie lietošanas norādījumi.

Ja pastāv aizdomas, ka reaģentu glabāšanas, asins paraugu ņemšanas vai to turpmākās apstrādes laikā radušās tehniskas problēmas, visa QFT-Plus analīze jāatkārto ar jaunu asins parauga materiālu. Ja pastāv aizdomas, ka ELISA analīzes procedūrā skalošana ir veikta nepareizi vai bijušas citas novirzes no procedūras, var atkārtot ELISA testēšanu ar stimulētiem plazmas paraugiem. Analīzi atkarotot nenoteiktu rezultātu dēļ, ko noteikušas zemas Mitogen vai augstas Nil vērtības, rezultātiem nevajadzētu atšķirties, ja vien ELISA testēšanā nav pieļautas kļūdas. Par nenoteiktiem rezultātiem tieši tā arī jāziņo. Ārsti pēc nepieciešamības var izvēlēties atkārtot parauga ņemšanu vai citas procedūras.

## Receklaini plazmas paraugi

Ja ilgi glabātos plazmas paraugos rodas fibrīna recekļi, centrifugējiet paraugus, lai receklainā daļa izgulsnētos un tiktu atvieglota plazmas pipetēšana.

# Problēmu novēršanas ieteikumi

Šie problēmu novēršanas ieteikumi var būt noderīgi, risinot radušās problēmas. Papildu informāciju skatiet arī tehniskajā informācijā, kas sniegta tīmekļa vietnē [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Kontaktinformāciju skatiet uz aizmugurējā vāka.

## ELISA analīzes problēmu novēršana

### Nespecifiskas krāsas rašanās

Iespējamie iemesli	Risinājums
a) Nepietiekama plates skalošana	Plate jāskalo vismaz 6 reizes ar 400 µl skalošanas buferšķīduma uz katru iedobīti. Atkarībā no izmantotās skalošanas ierīces var būt nepieciešami vairāk nekā 6 skalošanas cikli. Starp cikliem jānodrošina vismaz 5 sekunžu ilgs mērcēšanas laiks.
b) ELISA iedobīšu savstarpēja kontaminācija	Lai mazinātu risku, pipetējiet un maisiet paraugu uzmanīgi.
c) Beidzies komplekta/sastāvdaļu derīguma termiņš	Nodrošiniet, lai komplekts tiktu izlietots pirms derīguma termiņa beigām. Nodrošiniet, lai pagatavotais standarta šķīdums un konjugāta 100x koncentrāts tiktu izlietots trīs mēnešu laikā pēc pagatavošanas datuma.
d) Enzīmu substrāta šķīduma kontaminācija	Izmetiet substrātu, ja tam ir zilgana nokrāsa. Nodrošiniet, lai reaģentiem tiktu izmantotas tīras tvertnes.
e) Plazmas samaisīšana QFT-Plus stobriņos pirms tās atdalīšanas	Pēc centrifugēšanas un pirms plazmas iegūšanas izvairieties no pipetēšanas augšup un lejup vai jebkāda veida plazmas maisīšanas. Vienmēr ievērojiet piesardzību, lai nesabojātu materiālu uz gela virsmas.

### Zemas optiskā blīvuma vērtības standartiem

Iespējamie iemesli	Risinājums
a) Kļūda, sagatavojot standarta atšķaidījumu	Nodrošiniet, lai komplekta standarta atšķaidījumi tiktu sagatavoti, precīzi ievērojot iepakojuma ieliktnī sniegtos norādījumus..
b) Pipetēšanas kļūda	Nodrošiniet, lai pipetes būtu kalibrētas un tiktu lietotas atbilstoši ražotāja norādījumiem.
c) Pārāk zema inkubācijas temperatūra	ELISA analīžu inkubācija jāveic istabas temperatūrā (22±5 °C).
d) Pārāk īss inkubācijas laiks	Platei ar konjugātu, standarta šķīdumiem un paraugiem jānodrošina 120±5 minūtes ilgs inkubācijas periods. Enzīmu substrāta šķīdumu uz plates inkubē 30 minūtes.

## ELISA analīzes problēmu novēršana

- |    |  |  |
|----|--|--|
| e) | Tiek lietots nepareizs plates lasītāja filtrs  | Plate jānolasa pie 450 nm ar 620–650 nm references filtru.   |
| f) | Pārāk auksti reaģenti                          | Visi reaģenti, izņemot konjugāta 100× koncentrātu, pirms analīzes sākšanas jāsasilda līdz istabas temperatūrai. Tam nepieciešama aptuveni viena stunda.  |
| g) | Beidzies komplekta/sastāvdaļu derīguma termiņš | Nodrošiniet, lai komplekts tiktu izlietots pirms derīguma termiņa beigām. Nodrošiniet, lai pagatavotais standarta šķīdums un konjugāta 100× koncentrāts tiktu izlietots 3 mēnešu laikā pēc pagatavošanas datuma. |

### Spilgts fons

- |                    |  |   |
|--------------------|--|---|
| Iespējamie iemesli | Risinājums                                     |   |
| a)                 | Nepietiekama plates skalošana                  | Plate jāskalo vismaz 6 reizes ar 400 µl skalošanas buferšķīduma uz katru iedobīti. Atkarībā no izmantotās skalošanas ierīces var būt nepieciešami vairāk nekā 6 skalošanas cikli. Starp cikliem jānodrošina vismaz 5 sekunžu ilgs mērcēšanas laiks. |
| b)                 | Pārāk augsta inkubācijas temperatūra           | ELISA analīžu inkubācija jāveic istabas temperatūrā (22±5 °C).  |
| c)                 | Beidzies komplekta/sastāvdaļu derīguma termiņš | Nodrošiniet, lai komplekts tiktu izlietots pirms derīguma termiņa beigām. Nodrošiniet, lai pagatavotais standarta šķīdums un konjugāta 100× koncentrāts tiktu izlietots 3 mēnešu laikā pēc pagatavošanas datuma.                                    |
| d)                 | Enzīmu substrāta šķīduma kontaminācija         | Izmetiet substrātu, ja tam ir zilgana nokrāsa. Nodrošiniet, lai reaģentiem tiktu izmantotas tīras tvertnes.   |

### Nelineāra standarta līkne un dublikātu mainīgums

- |                    |  |   |
|--------------------|--|---|
| Iespējamie iemesli | Risinājums   |   |
| a)                 | Nepietiekama plates skalošana  | Plate jāskalo vismaz 6 reizes ar 400 µl skalošanas buferšķīduma uz katru iedobīti. Atkarībā no izmantotās skalošanas ierīces var būt nepieciešami vairāk nekā 6 skalošanas cikli. Starp cikliem jānodrošina vismaz 5 sekunžu ilgs mērcēšanas laiks. |
| b)                 | Kļūda, sagatavojot standarta atšķaidījumu                                    | Nodrošiniet, lai standarta atšķaidījumi tiktu sagatavoti, precīzi ievērojot šajā lietošanas instrukcijā sniegtos norādījumus.   |
| c)                 | Nepietiekama samaisīšana   | Rūpīgi samaisiet reaģentus inversējot vai uzmanīgi vorteksējot, pirms tos pievienojat platei.   |
| d)                 | Nekonsekventa pipetēšanas tehnika vai traucējumi analīzes iestatīšanas laikā | Paraugu un standarta šķīdumu pievienošana ir jāveic vienmērīgi. Visiem reaģentiem ir jābūt sagatavotiem pirms analīzes sākšanas.  |

**Informāciju par precēm, kā arī tehniskās rokasgrāmatas QIAGEN nodrošina bez maksas, un tās varat saņemt no izplatītāja vai vietnē [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com).**



---

# Atsauces

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- $\gamma$  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- $\gamma$  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- $\gamma$  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- $\gamma$  releasing assays is affected by BCG vaccination in HIV patients. J. Infect. 66, 376.
  56. Hsia, E.C. et al. (2012) Interferon- $\gamma$  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  $\alpha$  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- $\gamma$  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- $\gamma$  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- $\gamma$  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- $\gamma$  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  $\gamma$  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](https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/68/wr/mm6811a2.htm?s_cid=mm6811a2_w)  
Accessed 22 March 2019.

# Simboli

Uz iepakojuma un marķējuma var būt šādi simboli:

Simbols	Simbola definīcija
 2 × 96	Pietiekams daudzums 2 × 96 paraugu sagatavošanai
	Likumīgais ražotājs
	CE-IVD marķējuma simbols
	Lietošanai <i>in vitro</i> diagnostikā
	Sērijas kods
	Kataloga numurs
	Globālais tirdzniecības identifikācijas numurs
	Derīguma termiņš
	Temperatūras ierobežojums
	Skatīt lietošanas norādījumus
	Nelietot atkārtoti
	Neuzglabāt saules gaismā
	Materiāla numurs
Rn	R apzīmē lietošanas instrukcijas redakciju, bet n ir redakcijas numurs

---

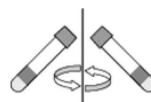
## Kontaktinformācija

Lai saņemtu tehnisku palīdzību un papildu informāciju, lūdzu, zvaniet pa bezmaksas tālruņa numuru 00800-22-44-6000, apskatiet mūsu tehniskā atbalsta centra vietni **[www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact)** vai sazinieties ar kādu no QIAGEN tehnisko pakalpojumu dienesta nodaļām (skatiet aizmugurējo vāku vai apmeklējiet vietni **[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)**).

# Saīsināta analīzes procedūra

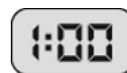
## 1. posms — asins parauga inkubācija

1. Paņemiet pacienta asinis asins analīžu stobriņos un samaisiet tos, sakratot desmit (10) reizes tikai tik stipri, lai nodrošinātu, ka visa stobriņa iekšējā virsma ir pārklāta ar asinīm. Tādējādi tiek izšķīdināti antigēni uz stobriņa sienīnām.
2. Inkubējiet stobriņus stāvus 16–24 stundas  $37 \pm 1$  °C temperatūrā.
3. Pēc inkubācijas centrifugējiet stobriņus 15 minūtes ar ātrumu 2000–3000 × *g* RCF (*g*), lai atdalītu plazmu no sarkanajiem asins ķermenīšiem.
4. Pēc centrifugēšanas un pirms plazmas iegūšanas izvairieties no pipetēšanas augšup un lejup vai jebkāda veida plazmas maisīšanas. Vienmēr ievērojiet piesardzību, lai nesabojātu materiālu uz gela virsmas.



## 2. posms — IFN- $\gamma$ noteikšana ar ELISA

1. Izlīdziniet ELISA analīzes sastāvdaļu (izņemot konjugāta 100× koncentrātu) temperatūru, lai tā atbilstu istabas temperatūrai ( $22$  °C  $\pm$  5 °C). Tam nepieciešamas vismaz 60 minūtes.
2. Pagatavojiet komplekta standarta šķīduma atšķaidījumu ar koncentrāciju 8,0 SV/ml, izmantojot destilētu vai dejonizētu ūdeni. Sagatavojiet četrus (4) standarta atšķaidījumus.
3. Pagatavojiet liofilizētā konjugāta 100× koncentrāta atšķaidījumu, izmantojot destilētu vai dejonizētu ūdeni.

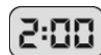


4. Sagatavojiet konjugāta darba šķīdumu zaļajā atšķaidītājā un pievienojiet 50 µl visās iedobītēs.



5. Atbilstošajās iedobītēs ievadiet 50 µl analīzes plazmas paraugu un 50 µl standarta šķīdumu. Samaisiet ar kratītāju.

6. Inkubējiet  $120 \pm 5$  minūtes istabas temperatūrā.



7. Skalojiet iedobītes vismaz 6 reizes ar 400 µl skalošanas buferšķīduma uz iedobīti.



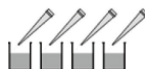
8. Ievadiet iedobītēs 100 µl enzīmu substrāta šķīduma. Samaisiet ar kratītāju.



9. Inkubējiet 30 minūtes istabas temperatūrā.



10. Ievadiet visās iedobītēs 50 µl enzīmu darbības pārtraukšanas šķīduma. Samaisiet ar kratītāju.



11. Nolasiet rezultātus pie 450 nm ar 620–650 nm references filtru.



12. Analizējiet rezultātus.



## Būtiskas izmaiņas

Sadaļa	Lappuse	Izmaiņa(s)
Dažādi	Dažādi	Pievienoti norādījumi attiecībā uz litija vai nātrija heparīna stobriņa lietošanu
Dažādi	Dažādi	Pievienoti norādījumi attiecībā uz asins parauga paņemšanas darbplūsmu 2–8 °C temperatūrā
Dažādi	Dažādi	Tagad plates vāks ir nepieciešamais materiāls, kas nav iekļauts komplektā

## Rokasgrāmatas rediģēšanas vēsture

Dokuments	Izmaiņas
R6 04/2019	Litija/nātrija heparīna izmaiņas Jauni darba norādījumi attiecībā uz asins parauga paņemšanas darbplūsmu 2–8 °C temperatūrā Plates vāki noņemti no QF platēm

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

**Ierobežots licences līgums QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA komplektam**

Šī produkta izmantošana liecina par katra produkta pircēja vai lietotāja piekrišanu tālāk minētajiem nosacījumiem.

1. Šo precī drīkst lietot tikai saskaņā ar protokoliem, kas nodrošināti kopā ar precī, un šo iepakojuma ieliktnī, un to drīkst lietot tikai kopā ar sastāvdaļām, kas ietvertas šajā komplektā. Uzņēmums QIAGEN nepiešķir nekāda veida licenci uz nevienu no tās intelektuālajiem īpašumiem, lai šajā panelī ietvertās sastāvdaļas izmantotu kopā ar jebkādam sastāvdaļām, kas nav ietvertas šajā komplektā, vai ar tām apvienotu, izņemot gadījumus, kas aprakstīti kopā ar precī piegādātajos protokolos un šajā iepakojuma ieliktnī.
2. Uzņēmums QIAGEN nesniedz citas garantijas, izņemot skaidri norādītās licences, ka šis komplekts un/vai tā lietošana neaizskar trešo personu tiesības.
3. Šis komplekts un tā sastāvdaļas ir licencētas vienreizējai lietošanai un nevar tikt atkārtoti lietotas, atjaunotas vai pārdotas tālāk, ja vien uzņēmums QIAGEN nav norādījis citādi.
4. Uzņēmums QIAGEN īpaši atsakās no jebkādam citām tiesām vai netiesām licencēm, kas nav skaidri norādītas.
5. Komplekta pircējs un lietotājs piekrīt neveikt un neatļaut citiem veikt nekādas darbības, kas varētu izraisīt vai veicināt jebkuras no iepriekš aizliegtajām darbībām. Uzņēmums QIAGEN var pieprasīt šī ierobežotā licences līguma aizliegumu īstenošanu jebkurā tiesā un apņemas atgūt visus savus izmeklēšanas un tiesas izdevumus, ieskaitot advokātu honorārus, kas radušies, īstenojot šo ierobežoto licences līgumu vai jebkuru no uzņēmuma intelektuālā īpašuma tiesībām saistībā ar komplektu un/vai tā sastāvdaļām.

Jaunākos licences nosacījumus skatiet tīmekļa vietnē [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2019 QIAGEN, visas tiesības aizsargātas.



---

**www.QuantiFERON.com**

Āzijas Klusā okeāna reģions | [techservice-ap@qiagen.com](mailto:techservice-ap@qiagen.com)

Eiropa | [techserviceQFT-eu@qiagen.com](mailto:techserviceQFT-eu@qiagen.com)

Tuvie Austrumi/Āfrika | [techserviceQFT-eu@qiagen.com](mailto:techserviceQFT-eu@qiagen.com)

Latīņamerika (neietverot Brazīliju un Meksiku) | [techservice-latam@qiagen.com](mailto:techservice-latam@qiagen.com)

---

## **Piezīmes**

---

## **Piezīmes**

