

2022. gada aprīlis

QuantiFERON[®] SARS-CoV-2 ELISA Kit lietošanas instrukcijas



2 x 96

1. versija



Lietošanai in vitro diagnostikā

Lietošanai ar QuantiFERON[®] SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes
stobriņiem



626420



QIAGEN, 19300 Germantown Road, Germantown, MD 20874, ASV
Tālrunis: +1-800-426-8157



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724
Hilden, Vācija



1124420LV

Saturs

Paredzētā lietošana	5
Paredzētais lietotājs	6
Apraksts un darbības principi	7
Kopsavilkums un skaidrojums	7
Komplektā ietvertie materiāli	9
Komplekta saturs	9
Komplekta komponenti.....	10
Platforma un programmatūra	10
Nepieciešamie, bet komplektā neietvertie materiāli.....	11
Papildu reaģenti	11
Iekārta	11
Brīdinājumi un piesardzības pasākumi.....	12
Drošības informācija	12
Piesardzības pasākumi.....	13
Reaģentu glabāšana un lietošana	16
Lietošanas stabilitāte.....	16
Sagatavotie un neizmantotie reaģenti	16
Paraugu materiālu glabāšana un lietošana	17
Procedūra: ELISA analīzes veikšana	18
Protokols: IFN- γ ELISA.....	18
Rezultāti (aprēķini)	24
Standarta līknes un parauga vērtību ģenerēšana	24

Testa kvalitātes kontrole	26
Rezultātu interpretācija	28
Ierobežojumi	29
Analīzes veiktspējas raksturojums	30
Analītiskā veiktspēja	30
Klīniskā veiktspēja	39
Atsauces	46
Norādījumi par problēmu novēršanu	51
Simboli	54
Kontaktinformācija	55
A pielikums. Tehniskā informācija	56
Nenoteikti rezultāti	56
Receklāini plazmas paraugi	56
Lipēmiski plazmas paraugi	56
B pielikums. Saīsināta ELISA testa procedūra	57
Informācija par pasūtīšanu	59
Dokumenta pārskatīšanas vēsture	60

Paredzētā lietošana

QuantiFERON SARS-CoV-2 analīze ir in vitro diagnostikas tests, kas ir paredzēts, lai kvalitatīvi noteiktu interferonu- γ (IFN- γ), kuru izstrādā CD4+ un CD8+ T šūnas, reaģējot uz nesadalītu asiņu paraugā esošā SARS-CoV-2 peptīdu kokteiļa radīto stimulāciju. Izstrādātā IFN- γ daudzumu mēra, izmantojot enzīmu imūnsorbcijas analīzi (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA).

QuantiFERON SARS-CoV-2 analīze ir paredzēta kā palīg līdzeklis šūnu imūnreakcijas (Cell-Mediated Immune, CMI) novērtēšanai personām, kurām anamnēzē nav bijusi SARS-CoV-2 infekcija un kuras ir vakcinētas pret COVID-19 ar vakcīnu, kuras mērķis ir SARS-CoV-2 vīrusa pīķa (Spike, S) proteīns.

Lai novērtētu personas imūnreakciju pēc vakcinācijas pret COVID-19, QuantiFERON SARS-CoV-2 analīze jālieto kopā ar citiem laboratoriskajiem testu un epidemioloģiskajiem/klīniskā stāvokļa izvērtējuma rādītājiem.

T šūnu imūnreakcija var attīstīties vairākas dienas pēc vakcinācijas, tomēr laiks, cik ilgi vakcinētajām personām T šūnu imūnreakcija darbojas, nav precīzi noteikta.

Nereaktīvi rezultāti neizslēdz aktīvu SARS-CoV-2 infekciju vai nenosaka vakcīnas pret COVID-19 efektivitāti. Ja ir aizdomas par aktīvu infekciju, tas jāapstiprina, izmantojot citu molekulāru vai antigēnu SARS-CoV-2 testu. Analīzē iegūtie rezultāti vienmēr jāskata kopā ar klīniskajiem izmeklējumiem, pacienta slimības vēsturi un citiem konstatējumiem.

Lietošanai in vitro diagnostikā.

Paredzētais lietotājs

Šis komplekts ir paredzēts profesionālai lietošanai.

Produktu drīkst lietot tikai molekulārās bioloģijas metodikā īpaši instruēts un apmācīts personāls, kas pazīst šo tehnoloģiju.

Apraksts un darbības principi

Kopsavilkums un skaidrojums

QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) ir kvalitatīva analīze, kas izmanto specializētus asins parauga ņemšanas stobriņus ar peptīdu antigēniem, kuri stimulē imūnsistēmas šūnas, izmantojot SARS-CoV-2 specifiskus proteīnus. Asins inkubācija stobriņos notiek 16–24 stundas, pēc tam atdala plazmu un testē, vai tajā ir IFN- γ , kas ir izstrādāts, reaģējot uz peptīdu antigēniem. Par specifisku T šūnu mediētu atbildes reakciju uz SARS-CoV-2 infekciju ir ziņots pēc vakcinācijas ar dažāda tipa vakcīnām, kuru mērķis ir pīķa proteīns [1–34].

Vispirms tiek paņemts nesadalītu asiņu paraugs katrā QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes stobriņā, t.i., Nil, Ag1, Ag2 un Mitogen stobriņā. Asins paraugu var paņemt arī atsevišķā asins paraugu ņemšanas stobriņā, kurā kā antikoagulants ir lītija vai nātrija heparīns, un pēc tam paraugu pārnes QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes stobriņos.

QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes stobriņi ir jāsakrata, lai antigēnu sajauktu ar asinīm, un jāinkubē 37 °C \pm 1 °C temperatūrā iespējami drīz, bet ne vēlāk kā 16 stundu laikā pēc parauga ņemšanas. Pēc 16–24 stundu inkubācijas perioda stobriņus centrifugē, apstrādā plazmu un ar ELISA analīzi nosaka IFN- γ daudzumu (SV/ml). QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA analīzē izmanto rekombinantu cilvēka IFN- γ standartu, kas ir testēts attiecībā pret atsauces IFN- γ šķīdumu (NIH ref.: Gxg01-902-535). Testa parauga rezultāti tiek uzrādīti starptautiskajās vienībās uz vienu ml (SV/ml) attiecībā pret standarta līkni, kura izveidota, testējot komplektā iekļautos standarta atšķaidījumus.

Ir zināms, ka heterofilās (piemēram, cilvēka pretpeles) antivielas atsevišķu indivīdu serumā vai plazmā rada interferenci ar imūnanalīzēm. Heterofilo antivielu ietekme uz QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA analīzi ir samazināta, pievienojot Green Diluent atšķaidītājam normālu peles serumu un izmantojot F(ab')₂ monoklonālu antivielu fragmentus kā IFN- γ uztverošu antivielu, kas uzklāta mikroplates iedobēm.

Plazmas paraugs no Mitogen stobriņa kalpo kā IFN- γ pozitīva kontrole katram testētajam parauga materiālam. Ar Nil stobriņu veic korekcijas saistībā ar fona reakcijām (piemēram, paaugstināta cirkulējošā IFN- γ vai heterofilo antivielu klātbūtnes koncentrācija). IFN- γ koncentrācijas Nil stobriņa vērtību atņem no IFN- γ koncentrācijas vērtības Ag1, Ag2, un Mitogen stobriņā.

Komplektā ietvertie materiāli

Komplekta saturs

ELISA komponenti	2 plašu komplekts
Kataloga Nr.	626420
Microplate Strips (Mikroplates plātnītes) (12 x 8 iedobes), pārklātas ar IFN- γ monoklonālu antivielu, kas iegūta no pelēm un reaģē uz cilvēka imūnsistēmu	2 komplekti 12 x 8 iedobju mikroplates plātnīšu
IFN- γ Standard (Standarta IFN- γ), liofilizēts (satur rekombinantu cilvēka IFN- γ , liellopu kazeīnu, 0,01% w/v timerosalu)	1 flakons (8 SV/ml pēc sagatavošanas)
Green Diluent (Zaļais atšķaidītājs) (satur liellopu kazeīnu, standarta peļu serumu, timerosalu 0,01% w/v)	1 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Konjugāta 100x koncentrāts), liofilizēts (no pelēm iegūts, uz cilvēku imūnsistēmu reaģējošs IFN- γ HRP, satur 0,01% w/v timerosalu)	1 x 0,3 ml (pēc sagatavošanas)
Wash Buffer 20x Concentrate (Skalošanas buferšķīdums, 20x koncentrāts) (pH 7,2, satur 0,05% v/v ProClin® 300)	1 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Enzīmu substrāta šķīdums) (satur H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetrametilbenzidīnu)	1 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Enzīmu darbības pārtraukšanas šķīdums) (satur 0,5 M H ₂ SO ₄)*	1 x 15 ml
<i>QuantifERON SARS-CoV-2 ELISA Kit lietošanas instrukcijas</i>	1

* Satur sērskābi

Komplekta komponenti

Kontroles un kalibratori

QFN-SARS ELISA analizē izmanto rekombinantu cilvēka IFN- γ standartu, kas ir analizēts attiecībā pret atsaucis IFN- γ šķīdumu (NIH ref.: Gxg01-902-535).

Platforma un programmatūra

Lai analizētu neapstrādātos datus un aprēķinātu rezultātus, var fakultatīvi izmantot QFN SARS Analysis Software programmatūru. Tā ir pieejama lejupielādei vietnē **www.qiagen.com**.

Nepieciešamie, bet komplektā neietvertie materiāli

Papildu reaģenti

- Dejonizēts vai destilēts ūdens, 2 litri

Iekārta*

- $37 \pm 1^\circ\text{C}$ inkubators (ar CO_2 vai bez tā)
- Kalibrētas pipetes ar maināmu tilpumu no 10 μl līdz 1000 μl šķīduma pārvešanai ar vienreizlietojamiem uzgaļiem
- Kalibrētas daudzkanālu pipetes, kuras nodrošina 50 μl un 100 μl tilpuma pārvešanu ar vienreizlietojamiem uzgaļiem
- Mikroplašu kratītājs, kurš nodrošina ātrumu no 500 līdz 1000 apgr./min
- Mikroplašu mazgāšanas ierīce (drošai plazmas paraugu lietošanai ieteicams izmantot automātisku plašu mazgāšanas ierīci)
- Mikroplašu datu nolasītājs, kas ir aprīkots ar 450 nm filtru un 620–650 nm atsauces filtru
- Manāma ātruma virpuļmaisītājs
- Centrifūga, kurā var centrifugēt asins parauga ņemšanas stobriņus ar ātrumu vismaz 3000 RCF (g)
- Cilindrs ar iedaļām (1 vai 2 litri)
- Plates vāks
- Bezplūksnu absorbējoši dvieļi

* Pirms lietošanas pārlicinieties, vai instrumenti ir pārbaudīti un kalibrēti saskaņā ar ražotāja ieteikumiem.

Brīdinājumi un piesardzības pasākumi

Ņemiet vērā, ka Klientiem Eiropas Savienībā ir jāziņo ražotājam un kompetentajai iestādei Dalībvalstī, kurā lietotājs un/vai pacients ir reģistrēts, par nopietniem incidentiem, kuri ir notikuši saistībā ar ierīci.


Drošības informācija

Strādājot ar ķīmiskām vielām, vienmēr valkājiet piemērotu laboratorijas halātu, vienreizlietojamus cimdus un aizsargbrilles. Sīkāku informāciju skatiet attiecīgajās drošības datu lapās (DDL). Tās ir pieejamas tiešsaistē ērtā un kompaktā PDF formātā vietnē **www.qiagen.com/safety**, kur var meklēt, skatīt un izdrukāt katra QIAGEN komplekta un komplekta komponenta DDL.

- Visas ķīmiskās vielas un bioloģiskie materiāli ir potenciāli bīstami. Paraugi ir potenciāli infekciozi, un tie jāapstrādā kā bioloģiski bīstami materiāli.
- Utilizējiet paraugus un analīzes atkritumus atbilstoši vietējām drošības procedūrām.
- Parauga materiāli un paraugi ir potenciāli infekciozi. Utilizējiet paraugus un analīzes atkritumus atbilstoši vietējām drošības procedūrām.
- Lai novērtētu personas imūnreakciju pēc vakcinācijas pret COVID-19 QFN SARS analīze jālieto kopā ar citiem laboratoriskajiem testu un epidemioloģiskajiem/klīniskā stāvokļa izvērtējuma rādītājiem.
- Nereaktīvs QFN SARS rezultāts neizslēdz aktīvas SARS-CoV-2 infekcijas iespējamību vai nenosaka vakcīnas pret COVID-19 efektivitāti. Aplami nereaktīvi rezultāti var rasties, ja asins paraugu ņemšanas stobriņi pēc venipunkcijas ir lietoti nepareizi, analīze ir veikta nepareizi vai ir bijuši citi individuāli imunoloģiski mainīgie faktori, tostarp tie, kuri saistīti ar jebkādam blakusslimībām. Heterofilu antivielu vai nespecifiska IFN- γ veidošanās citos iekaisuma gadījumos var maskēt specifisku reaģēšanu uz SARS-CoV-2 peptīdiem.

- Reaktīvs QFN SARS rezultāts nedrīkst būt vienīgais vai galīgais pamatojums, lai noteiktu vakcīnas pret COVID-19 efektivitāti. Nepareiza analīzes darbība var radīt aplami reaktīvus QFN SARS rezultātus.
- Aplami reaktīvus QFN SARS rezultātu var izraisīt nepareiza asins parauga ņemšana vai nepareiza parauga materiāla lietošana, kura ietekmē limfocītu funkciju. Informāciju par pareizu asins parauga materiālu ņemšanu skatiet šeit: sadaļa “Procedūra: ELISA analīzes veikšana” 18. lpp. Inkubācijas aizkavēšanās var izraisīt aplami nereaktīvus vai nenoteiktus rezultātus, un citi tehniski parametri var ietekmēt spēju noteikt nozīmīgu IFN- γ reakciju.
- Vāja atbildes reakcija uz Mitogen (<0,5 SV/ml) norāda uz nenoteiktu rezultātu, ja arī asins parauga atbildes reakcija uz SARS CoV-2 proteīniem ir nereaktīva. Šādu rezultātu var izraisīt nepietiekams limfocītu daudzums, samazināta limfocītu aktivitāte nepareizas parauga materiāla apstrādes dēļ, Mitogen stobriņa uzpilde/maisīšana vai pacienta limfocītu nespēja izstrādāt IFN- γ . Paaugstināta IFN- γ koncentrācija Nil paraugā var rasties heterofilo antivielu vai raksturīgās IFN- γ sekrēcijas dēļ.

Piesardzības pasākumi

<p>UZMANĪBU!</p> 	<p>Ar cilvēku asinīm jārikojas kā ar potenciāli infekciozu materiālu.</p> <p>levērojiet atbilstošās asins paraugu apstrādes vadlīnijas. Paraugus un materiālus, kuri bijuši saskarē ar asinīm vai asins produktiem, jāutilizē saskaņā ar federālajiem, valsts un vietējiem noteikumiem.</p>
---	---

QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



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

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

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

QuantiFERON Green Diluent



Satur tartazīnu. Brīdinājums! Var izraisīt alerģisku ādas reakciju. Valkājiet aizsargcimdus/aizsargapģērbu/aizsargbrilles/sejas aizsargus.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Kaitīgs ūdens organismiem ar ilglaicīgām sekām. Nepieļaujiet nokļūšanu vidē.

Papildinformācija

Drošības datu lapas: www.qiagen.com/safety

- Dažos QFN SARS reaģentos kā konservantu izmanto timerosalu. Tas var būt toksisks norijot, ieelpojot vai saskaroties ar ādu.
- *Quantiferon ELISA Kit komplekta lietošanas instrukcijās* 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- γ flakonus, kuriem redzamas bojājuma pazīmes vai kuriem ir bojāts gumijas aizbāznis. Neizmantojiet saplēstus flakonus. Veiciet atbilstošus piesardzības pasākumus, lai tos utilizētu drošā veidā. Lai mazinātu metāla vāciņa radītu traumu risku, konjugāta vai IFN- γ Standard flakonu atvēršanai ieteicams izmantot flakona atvēršanas instrumentu.

-
- Nesajauciet vai nelietojiet mikroplates strēmēlītes, IFN- γ Standard, Green Diluent atšķaidītāju vai Conjugate 100x Concentrate koncentrātu no citām QFN SARS komplekta sērijām. Savstarpēji var mainīt dažādu komplektu citus reaģentus (Wash Buffer 20x Concentrate, Enzyme Substrate Solution, un Enzyme Stopping Solution) ar nosacījumu, ka nav beidzies reaģentu derīguma termiņš un tiek reģistrēti partijas dati.
 - Neizlietos reaģentus un bioloģiskos paraugus utilizējiet saskaņā ar vietējiem, valsts un federālajiem noteikumiem.
 - Nelietojiet QFN SARS ELISA komplektu pēc norādītā derīguma termiņa.
 - Vienmēr ir jāievēro pareizas laboratorijas procedūras.
 - Pārlicinieties, vai laboratorijas aprīkojums, piemēram, plašu mazgāšanas ierīces un datu nolasītāji, ir kalibrēts/apstiprināts lietošanai.

Reaģentu glabāšana un lietošana

Pievērsiet uzmanību derīguma termiņiem un uzglabāšanas nosacījumiem, kas norādīti uz visu komponentu kastītēm un etiķetēm. Neizmantojiet nederīgus vai nepareizi uzglabātus komponentus.

Lietošanas stabilitāte

- Glabājiet ELISA komplektu 2–8 °C temperatūrā.
- Vienmēr aizsargājiet enzīmu substrāta šķīdumu no tiešu saules staru iedarbības.

Sagatavotie un neizmantotie reaģenti

- Norādījumus par reaģentu sagatavošanu skatiet šeit: “Procedūra: ELISA analīzes veikšana” 18. lpp.
- Sagatavoto komplekta standarta materiālu var uzglabāt maks. 3 mēnešus 2–8 °C temperatūrā.
Atzīmējiet komplekta standarta materiāla sagatavošanas datumu.
- Sagatavotais Conjugate 100X Concentrate koncentrāts atkal jāuzglabā 2–8 °C temperatūrā, un tas jāizlieto 3 mēnešu laikā.
Pierakstiet konjugāta sagatavošanas datumu.
- Darba koncentrācijas konjugāts jāizlieto 6 stundu laikā pēc sagatavošanas.
- Darba koncentrācijas mazgāšanas buferšķīdumu var glabāt istabas temperatūrā maksimāli 2 nedēļas.

Paraugu materiālu glabāšana un lietošana

Detalizētu informāciju par paraugu ņemšanas darbplūsmu QFN SARS testam skatiet *QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) Blood Collection Tubes stobriņu lietošanas instrukcijās* (1124422).

Procedūra: ELISA analīzes veikšana

Protokols: IFN- γ ELISA

Svarīga informācija

- Informāciju par materiāliem, kuri nepieciešami ELISA analīzes veikšanai, skatiet šeit: “Komplekta saturs” 9. lpp. un “Nepieciešamie, bet komplektā neietvertie materiāli” 11. lpp.

Sagatavošana (analīzes veikšanai nepieciešamais laiks)

Lai varētu iegūt derīgus QFN SARS analīzes rezultātus, operatoram ir jāveic konkrēti uzdevumi noteiktā laikā. Pirms analīzes lietošanas operatoram ieteicams rūpīgi izplānot katru analīzes posmu, lai būtu pietiekami daudz laika katra posma izpildei. Nepieciešamā laika aprēķini ir sniegti tālāk, norādot arī vairāku paraugu testēšanai nepieciešamo laiku.

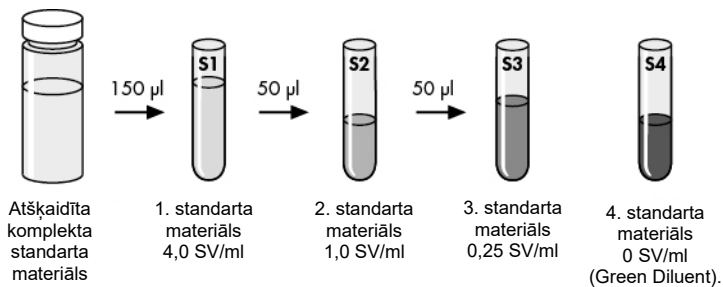
- Vienai ELISA platei apmēram 3 stundas
- <1 stunda darba
- Pieskaitiet 10–15 minūtes par katru papildu plati

Procedūra

1. Visi plazmas paraugi un reaģenti, izņemot Conjugate 100x Concentrate koncentrātu, pirms lietošanas jāsasilda līdz istabas temperatūrai ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$). Nepieciešamās temperatūras sasniegšanai jāatvēr vismaz 60 minūtes.
2. Izņemiet no rāmja ELISA testa strēmeliņas, kuras nav nepieciešamas, ielieciet tās atpakaļ atplēšamajā folijā maisiņā, un līdz lietošanai glabājiet ledusskapī.
3. Iedaliet vismaz 1 strēmeliņu QFN SARS standarta materiāliem un pietiekamu strēmeliņu skaitu testējamajiem pacientiem (informāciju par ieteicamo strēmeliņu formātu skat. 2. att.). Pēc izmantošanas rāmi un vāku saglabājiet lietošanai ar atlikušajām strēmeliņām.

- 3a. Atšķaidiet INF- γ standarta materiālu ar dejonizēta vai destilēta ūdens tilpumu, kas norādīts uz flakona etiķetes. Uzmanīgi samaisiet, lai samazinātu putu veidošanos un nodrošinātu, ka viss flakona saturs ir izšķīdis. Atšķaidot pareizu INF- γ standarta materiāla tilpumu, tiek iegūts šķīdums, kura koncentrācija ir 8,0 SV/ml.
- 3b. Izmantojot atšķaidīto standarta materiālu, sagatavojiet 4 INF- γ koncentrāciju atšķaidījumu (skat. 1. att.).
- 3c. Nepieciešams ģenerēt standarta līkni ar šādām INF- γ koncentrācijas vērtībām:
- S1 (1. standarta materiāls) satur 4,0 SV/ml
 - S2 (2. standarta materiāls) satur 1,0 SV/ml
 - S3 (3. standarta materiāls) satur 0,25 SV/ml
 - S4 (4. standarta materiāls) satur 0 SV/ml (tikai Green Diluent [GD]).
- 3d. Standarta materiālu analīze jāveic vismaz divas reizes.
- 3e. Katrai ELISA analīzes sesijai sagatavojiet svaigus komplekta standarta atšķaidījumus.

Procedūra	
A	Marķējiet 4 stobriņus: S1, S2, S3, S4.
B	Pievienojiet 150 μ l GD stobriņā S1, S2, S3, S4.
C	Pievienojiet 150 μ l komplekta standarta materiāla stobriņā S1 un rūpīgi samaisiet.
D	Pārnēsiet 50 μ l no stobriņa S1 uz stobriņu S2 un rūpīgi samaisiet.
E	Pārnēsiet 50 μ l no stobriņa S2 uz stobriņu S3 un rūpīgi samaisiet.
F	Tikai GD kalpo kā nulles standarta materiāls (S4).



1. attēls. Standarta līknes atšķaidīšanas sērijām sagatavošana.

4. Atšķaidiet liofilizēta Conjugate 100x Concentrate koncentrātu ar 0,3 ml dejonizēta vai destilēta ūdens. Uzmanīgi samaisiet, lai samazinātu putu veidošanos un nodrošinātu, ka viss flakona saturs ir izšķīdis.
 - 4a. Darba koncentrācijas konjugātu sagatavo, atšķaidot nepieciešamo atšķaidītā Conjugate 100x Concentrate koncentrāta daudzumu ar Green Diluent atšķaidītāju (1. tabula).
 - 4b. Darba koncentrācijas konjugāts jāizlieto 6 stundu laikā pēc tā sagatavošanas.
 - 4c. Neizlietoto Conjugate 100x Concentrate koncentrātu uzreiz pēc lietošanas uzglabājiet 2–8 °C temperatūrā.

1. tabula. Konjugāta sagatavošana (darba koncentrācija)

Strēmeliņu skaits	Konjugāta tilpums (100x koncentrāts)	Green Diluent 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. Izmantojot plazmas paraugus, kuri ir iegūti no asins paraugu ņemšanas stobriņiem un pēc tam glabāti (atdzesētā vai sasaldētā veidā), pirms iepildīšanas ELISA iedobē rūpīgi samaisiet glabātos paraugus. Plazmas paraugus var glabāt centrifugētos QFN SARS Blood Collection Tubes stobriņos maksimāli 28 dienas 2–8 °C temperatūrā vai atdalītos plazmas paraugus var glabāt maksimāli 28 dienas 2–8 °C temperatūrā. Atdalītos plazmas paraugus maksimāli 24 mēnešus var glabāt arī temperatūrā, kas ir zemāka par –20 °C (ieteicams, nepārsniedzot –70 °C temperatūru).

Plazmas paraugus var iepildīt/izmantot tieši no centrifugētiem asins paraugu ņemšanas stobriņiem, lai veiktu mērījumus QFN SARS ELISA platē.

Svarīgi! Ja plazmas paraugus ir paredzēts pārnest tieši no centrifugētiem QFN SARS Blood Collection Tubes stobriņiem, jāizvairās plazmu samaisīt. Vienmēr ievērojiet piesardzību, lai nepieskartos materiālam uz gela virsmas.

6. Iepildiet 50 µl tikko sagatavotā darba koncentrācijas konjugāta katrā ELISA plate iedobē.
7. Iepildiet 50 µl testa plazmas parauga atbilstošajās iedobēs, (ieteicamo ELISA plates izkārtojumu skat. 2. att.).
8. Visbeidzot iepildiet 50 µl no 1.–4. standarta materiāla atbilstošajās plates iedobēs (ieteicamo ELISA plates izkārtojumu skat. 2. att.). Standarta materiālu analīzi vajadzētu veikt vismaz divas reizes.

	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

2. attēls. Ieteicamais ELISA plates izkārtojums. S1 (1. standarta materiāls), S2 (2. standarta materiāls), S3 (3. standarta materiāls), S4 (4. standarta materiāls). 1N (1. paraugs. Nil Control plazma), 1 Ag1 (1. paraugs. Ag1 plazma), 1 Ag2 (1. paraugs. Ag2 plazma), 1M (1. paraugs. Mitogen plazma).

9. Pārklājiet ELISA plati un 1 minūti rūpīgi maisiet konjugātu un plazmas paraugus/standarta materiālus mikroplašu kratītājā ar ātrumu 500–1000 apgr./min. Izvairieties no izšķakstīšanās.
10. Pārklājiet ELISA plati un inkubējiet 120 ± 5 minūtes istabas temperatūrā (22 °C ± 5 °C). Inkubācijas laikā ELISA plati nedrīkst pakļaut tiešai saules staru iedarbībai. Novirzes no norādītā temperatūras diapazona var izraisīt kļūdainus rezultātus.
11. ELISA plates inkubācijas laikā sagatavojiet darba koncentrācijas buferšķīdumu. Atšķaidiet un rūpīgi samaisiet vienu daļu Wash Buffer 20x Concentrate koncentrāta ar 19 daļām dejonizēta vai destilēta ūdens. Komplektā ir iekļauts tāds daudzums Wash Buffer 20x Concentrate koncentrāta, kas ir pietiekams 2 litru darba koncentrācijas mazgāšanas buferšķīduma sagatavošanai.
12. Kad ELISA plates inkubācija ir pabeigta, mazgājiet ELISA plates iedobes ar 400 µl darba koncentrācijas mazgāšanas buferšķīduma. Izpildiet mazgāšanas darbību vismaz 6 reizes. Rīkojoties ar plazmas paraugiem, drošības nolūkā ir ieteicams lietot automātisku plates mazgāšanas ierīci.

Rūpīga mazgāšana ir ļoti svarīgs analīzes darbības kritērijs. Pārbaudiet, vai katrā mazgāšanas ciklā visas iedobes ir pilnībā aizpildītas ar mazgāšanas buferšķīdumu līdz iedobes augšējai malai. Starp katru ciklu ieteicams vismaz 5 sekunžu mērcēšanas periods.

Notekūdeņu uzkrāšanas tvertnē jāpievieno standarta laboratorijas dezinfekcijas līdzeklis, kā arī jāievēro spēkā esošie noteikumi par iespējami infekcioza materiāla dekontamināciju.
13. Piesitiet ar otrādi apgrieztu ELISA plati pie virsmas ar absorbējošu dvieli (bezplūksnu), lai atbrīvotos no liekā mazgāšanas buferšķīduma. Iepildiet 100 µl Enzyme Substrate Solution šķīduma katrā plates iedobē, pārklājiet plati un 1 minūti kārtīgi samaisiet mikroplašu kratītājā ar ātrumu 500–1000 apgr./min.
14. Pārklājiet ELISA plati un inkubējiet 30 minūtes istabas temperatūrā (22 °C ± 5 °C). Inkubācijas laikā ELISA plati nedrīkst pakļaut tiešai saules staru iedarbībai.

-
15. Pēc 30 minūšu inkubācijas perioda katrā iedobē iepildiet 50 µl Enzyme Stopping Solution šķīduma tādā pašā secībā, kādā tika iepildīts substrāta šķīdums, un rūpīgi maisiet mikroplašu kratītājā ar ātrumu 500–1000 apgr./min.
 16. Ar mikroplates datu nolasītāju, kurš aprīkots ar 450 nm filtru un 620–650 nm atsaucis filtru, 5 minūšu laikā pēc reakcijas pārtraukšanas izmēriet optisko blīvumu (OB) katrā iedobē. Rezultātu aprēķināšanai izmanto OB vērtības.

Rezultāti (aprēķini)

Lai analizētu neapstrādātos datus un aprēķinātu rezultātus, var izmantot QFN SARS Analysis Software programmatūru. Tā ir pieejama vietnē www.qiagen.com. Pārliecinieties, vai tiek izmantota visjaunākā QFN SARS Analysis Software programmatūras versija.

Programmatūra veic analīzes kvalitātes kontroles novērtējumu, izveido standarta līkni un nodrošina testa rezultātu katram pacientam, kā sīkāk aprakstīts šeit: “Rezultātu interpretācija” 28. lpp. Programmatūra uzrāda visas koncentrācijas, kuras pārsniedz 10 SV/ml, kā “>10”, jo šādas vērtības ir zemākas par apstiprināto ELISA lineāro diapazonu.

Alternatīva QFN SARS Analysis Software programmatūras izmantošanai ir rezultātu noteikšana ar tālāk aprakstīto metodi.

Standarta līknes un parauga vērtību ģenerēšana

Ja netiek izmantota QFN SARS Analysis Software programmatūra

Ja neizmanto QFN SARS Analysis Software programmatūru, standarta līknes un parauga SV/ml vērtību noteikšanai ir nepieciešama izklājlapas programma, piemēram, Microsoft® Excel®.

Izklājlapas programmas izmantošana

1. Nosakiet komplekta standarta materiāla atkārtojumu vidējās OB vērtības katrā platē.
2. Izveidojiet standarta līkni $\log_{(e)}-\log_{(e)}$, diagrammā iekļaujot vidējo OB vērtību $\log_{(e)}$ (y ass) attiecību pret standarta materiālu koncentrāciju IFN- γ $\log_{(e)}$, kas izteikta ar SV/ml (x ass), neiekļaujot aprēķinos standarta nulles vērtību. Ar regresijas analīzi aprēķiniet līniju, kas vislabāk atbilst standarta līknei.
3. Lietojiet standarta līkni, lai noteiktu IFN- γ koncentrāciju (SV/ml) katram analīzes plazmas paraugam, izmantojot katra parauga OB vērtību.

4. Šos aprēķinus var veikt, izmantojot mikroplates datu nolasītājiem 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) aprēķināšanai.

Parauga rādītāju aprēķināšana

Ja standarta materiāliem ir iegūti tālāk norādītie OB rādītāji, aprēķini, izmantojot $-\log(e)$, būs līdzīgi, kā norādīts 2. tabulā.

2. tabula. Standarta līkne

Standarta materiāls	SV/ml	OB vērtība a un b	Vidējā OB vērtība	%VK	Log _(e) SV/ml	Vidējā log _(e) vērtība (OB)
1. standarta materiāls	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
2. standarta materiāls	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
3. standarta materiāls	0,25	0,114, 0,136	0,125	NA	-1,386	-2,079
4. standarta materiāls	0	0,034, 0,037	0,036	NA	NA	NA

Līknes izteiksme ir šāda $y = 0,7885(X) - 0,9837$, kur "m" = 0,7885 un "c" = -0,9837. Šīs vērtības izmanto izteiksmē $X = (Y-c)/m$, lai aprēķinātu X. Saskaņā ar standarta līkni aprēķinātais korelācijas koeficients (r) = 1,000. **NA**: Neattiecas.

Analīzes derīgumu nosaka, izmantojot kritērijus, kuri norādīti šeit: "Testa kvalitātes kontrole"
26. lpp.

Standarta līkni (2. tabula) izmanto, lai pārvērstu antigēna OB atbildes reakcijas vērtību starptautiskās mērvienībās (SV/ml).

3. tabula. Parauga rādītāju aprēķināšana

Antigēns	OB vērtība	Log _(e) OB vērtība	X	e ^x (SV/ml)	Antigēns – Nil (SV/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 un Mitogen aprēķinātās IFN- γ vērtības (izteiktas ar SV/ml) tiek koriģētas pēc fona, atņemot SV/ml vērtību, kura iegūta attiecīgajai Nil kontrolei. Šīs koriģētās vērtības izmanto testa rezultātu interpretācijai.

Testa kvalitātes kontrole

Testa rezultātu precizitāte ir atkarīga no precīzas standarta līknes izveides. Tādēļ pirms testa paraugu rezultātu interpretācijas jāpārbauda no standarta materiāliem atvasinātie rezultāti.

Lai ELISA analīze būtu derīga:

- Vidējai 1. standarta materiāla OB vērtībai jābūt $\geq 0,600$.
- 1. un 2. standarta materiāla atkārtojuma OB vērtības %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 standarta materiālu vidējām absorbcijas vērtībām aprēķinātajam korelācijas koeficientam (r) jābūt $\geq 0,98$.
- Ja iepriekš minētie kritēriji nav izpildīti, analīze nav derīga un ir jāatkārto.
- Vidējai Nil standarta materiāla (Green Diluent) OB vērtībai jābūt $\leq 0,150$. Ja vidējā OB vērtība ir $> 0,150$, jāpārbauda plātes mazgāšanas procedūra.

QFN SARS Analysis Software programmatūra aprēķina un uzrāda šos kvalitātes kontroles parametrus.

Katrai laboratorijai vajadzētu noteikt piemērotos kontroles materiālu veidus un testēšanas biežumu saskaņā ar vietējo, valsts, federālo vai citu attiecīgo akreditācijas organizāciju noteikumiem. Jāapsver ārēju kvalitātes novērtēšanas un citu validācijas procedūru izmantošana.

Piezīme. Ja ar rekombinantu IFN- γ papildināta plazma ir glabāta vai nu 2–8 °C, vai –20 °C temperatūrā, ir konstatēta līdz 50% koncentrācijas samazināšanās. Kontroles standartu noteikšanai plazmas paraugos nav ieteicams rekombinants IFN- γ .

Rezultātu interpretācija

QFN SARS rezultātu interpretācijai izmanto tālāk norādītos kritērijus (4. tabula).

Svarīgi! Lai novērtētu personas imūnreakciju pēc vakcinācijas pret COVID-19 QFN SARS analīze jālieto kopā ar citiem laboratoriskajiem testu un epidemioloģiskajiem/klīniskā stāvokļa izvērtējuma rādītājiem.

4. tabula. QFN SARS testa rezultātu interpretācija

Nil (SV/ml)	Ag1 antigēna vērtība mīnus Nil vērtību (SV/ml)	Ag2 antigēna vērtība mīnus Nil vērtību (SV/ml)	Mitogen vērtība mīnus Nil vērtība (SV/ml)*	QFN SARS rezultāts	Pārskats/interpretācija
≤8,0	≥0,15 un ≥25% no Nil	Jebkāds	Jebkāds	Reaģējošs	SARS-CoV-2 atbildes reakcija noteikta
	Jebkāds	≥0,15 un ≥25% no Nil			
	<0,15 vai ≥0,15 un <25% no Nil	<0,15 vai ≥0,15 un <25% no Nil	≥0,50	Nereaģējošs	SARS-CoV-2 atbildes reakcija NAV noteikta
	<0,15 vai ≥0,15 un <25% no Nil	<0,15 vai ≥0,15 un <25% no Nil	<0,50	Nenoteikts [‡]	SARS-CoV-2 atbildes reakciju un Mitogen nevar noteikt
>8,0 [§]	Jebkāds				

* Atbildes reakcija uz Mitogen pozitīvo kontroli (un reizēm uz Ag antigēnu atbildes reakcijas) var būt ārpus mikroplates datu nolāsītāja diapazona. Tas neietekmē testa rezultātus. QFN SARS programmatūra vērtības >10 SV/ml uzrāda kā >10 SV/ml.

[‡] Iespējamos cēloņus skatiet šeit: "Norādījumi par problēmu novēršanu" 51. lpp.

[§] Klīniskajos pētījumos mazāk nekā 0,25% pētāmo personu ar Nil vērtību >8,0 SV/ml bija IFN- γ koncentrācija.

Ierobežojumi

QFN SARS testā iegūtie rezultāti ir izvērtējami saistībā ar katras atsevišķas personas epidemioloģisko vēsturi, pašreizējo veselības stāvokli un citiem diagnostiskiem izmeklējumiem.

To personu rezultāts, kurām Nil vērtības pārsniedz 8 SV/ml, tiek klasificēts kā "nenoteikts", jo par 25% augstāka reakcija Ag antigēniem var būt ārpus analīzes mērījumu diapazona.

- Nereaģējošs rezultāts ir jāņem vērā kopā ar personas medicīniskajiem datiem un slimības vēsturi, kas attiecas un iespējamu imūnreakciju uz vakcināciju, it īpaši personām ar imūnsistēmas funkcijas traucējumiem.
- Lai novērtētu personas imūnreakciju pēc vakcinācijas pret COVID-19 QFN SARS analīze jālieto kopā ar citiem laboratoriskajiem testu un epidemioloģiskajiem/klīniskā stāvokļa izvērtējuma rādītājiem.

Neuzticamu un nenoteiktu rezultātu iemesli var būt šādi:

- Lietošanas pamācībā aprakstīto procedūru neievērošana
- Nepareiza asins parauga materiālu transportēšana/lietošana
- Paaugstināta cirkulējošā IFN- γ vai heterofilo antivielu klātbūtnes koncentrācija
- Pārsniegts apstiprinātais asins parauga apstrādes laiks no asins parauga ņemšanas līdz inkubācijai. Skatiet *QFN SARS Blood Collection Tubes stobriņu lietošanas instrukcijas* (1124422).

Analīzes veiktspējas raksturojums

Analītiskā veiktspēja

Analīzes robežvērtība

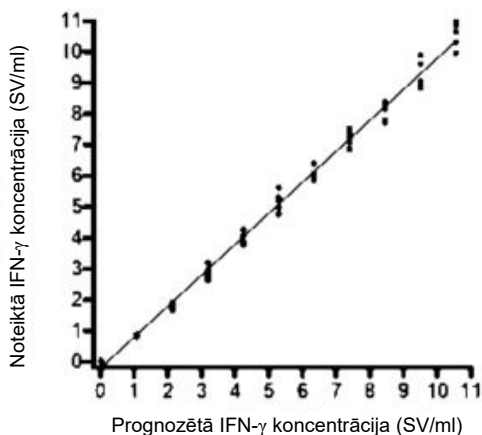
QFN SARS analīzes robežvērtība tika noteikta, izmantojot datus, kuri tika iegūti no 20 (divdesmit) pētāmajām personām, kurām bija nereaģējošs SARS-CoV-2 testa rezultāts, ko ieguva, izmantojot RT-PCR testu vai seroloģijas testu, un datus, kuri tika iegūti no 20 (divdesmit) donoriem, kuri bija saņēmuši pilnu vakcinācijas kursu ar FDA EUA apstiprinātu vakcīnu (2–16 nedēļas pilna vakcinācijas kursa statuss). Tika analizēti jutīguma un specifiskuma dati kopā ar precīzu divpusēju 95% ticamības intervāla (TI) vērtībām, kuri demonstrēja, ka optimāla ELISA robežvērtība ir 0,15 SV/ml (skatīt 5. tabulu).

5. tabula. QFN SARS robežvērtības (SV/ml) ar attiecīgo jutīguma un specifiskuma un precīzu divpusēju 95% TI

Robežvērtība	Jutīgums			Specifiskums		
	Vērtība	Zemākais 95% TI	Augšējais 95% TI	Vērtība	Zemākais 95% TI	Augšējais 95% TI
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

Linearitāte

Ir pierādīts, ka QFN SARS ELISA analīzes rezultāti ir lineāri, ko noteica, ELISA plates nejauši izvēlētā veidā novietojot 11 plazmas kopparaugu 5 atkārtojumus ar zināmu IFN- γ koncentrāciju. Lineārās regresijas līnijas slīpums ir $1,002 \pm 0,011$ un korelācijas koeficients 0,99 (3. att.).



3. attēls. Linearitātes pētījuma regresijas analīze.

Reproducējamība

Lai novērtētu QFN SARS analīzes veiktspēju, tika veikts vairāku laboratoriju reproducējamības pētījums dažādās laboratorijās, iesaistoties dažādiem operatoriem. Šo pētījumu veica trīs QIAGEN laboratorijās. Pētījumā kopā iesaistīja 3 (trīs) pētāmās personas ar reaģējošu SARS-CoV-2 testa rezultātu un 3 (trīs) pētāmās personas ar nereaģējošu SARS-CoV-2 testa rezultātu (ko noteica, izmantojot RT-PCR testu vai seroloģijas testu).

No katras pētāmās personas paņēma paraugu 4 (četros) litija heparīna asins parauga ņemšanas stobriņos. Pēc litija heparīna asins parauga ņemšanas stobriņus nosūtīja uz vienu no testēšanas laboratorijām, kur asins paraugu sadalīja alikvotās daļās 3 (trīs) QFN SARS Blood Collection Tubes stobriņu komplektos (QFN SARS Ag1, Ag2, Mitogen un Nil). Vienu QFN SARS Blood Collection Tubes (BCT) stobriņu komplektu no katra nosūtīja uz katru testēšanas laboratoriju un pēc tam testēja saskaņā ar QFN SARS analīzes procedūru. Katras pētāmās personas paraugu katrā laboratorijā testēja 10 (desmit) atkārtojumos (5 (pieci) atkārtojumi ar Ag1 un 5 (pieci) atkārtojumi ar Ag2). Katrā laboratorijā 1 (viens) operators QFN SARS testu izpildīja neatkarīgi. Visiem operatoriem citu operatoru iegūtie rezultāti un RT-PCR vai seroloģijas testa rezultāti pētījumā iesaistītajām pētāmajām personām bija maskēti.

Katrā no 3 (trim) testēšanas laboratorijām tika ģenerēti 30 rezultāti, kopā izveidojot 90 datu punktus. Reproducējamības pētījuma rezultātu kopsavilkums ir sniegts 6. tabulā.

6. tabula. Reproducējamības pētījuma rezultātu kopsavilkums –N = 30 pacientu paraugi

1. laboratorija – 1 operators	2. laboratorija – 1 operators	3. laboratorija – 1 operators
25/30 = 83%	30/30 = 100%	30/30 = 100%
Kvalitatīvi noteikto rezultātu sakritība	Kvalitatīvi noteikto rezultātu sakritība	Kvalitatīvi noteikto rezultātu sakritība

Vispārējā procentuālā sakritība visos reaģējošajos un nereaģējošajos paraugos pret prognozētajiem kvalitatīvajiem rezultātiem (no reaģējošas personas iegūstot reaģējošu rezultātu un no nereaģējošas personas iegūstot nereaģējošu rezultātu, balstoties uz pētāmo personu atsauces metodes rezultātu) visās trīs (3) laboratorijās bija 94,4% (85/90).

Atkārtojamība ar dažādām partijām

Lai noteiktu QFN SARS Blood Collection Tubes stobriņu dažādu partiju mainīgumu, tika veikts pētījums. Kopā testēja 2 (divas) pētāmo personu reaģējošus SARS-CoV-2 paraugus un 3 (trīs) pētāmo personu nereaģējošus SARS-CoV-2 paraugus (ko noteica, izmantojot RT-PCR testu vai seroloģijas testu). Šajā pētījumā izmantoja 3 (trīs) dažādas gan QFN SARS Ag1, gan Ag2 Blood Collection Tubes stobriņu partijas. Testā veica 5 (piecus) atkārtojumus ar katra donora katru asins parauga ņemšanas stobriņu partiju. Precizitātes starp dažādām partijām rezultātu kopsavilkums ir sniegts 7. tabulā.

7. tabula. Precizitātes starp dažādām partijām rezultātu kopsavilkums. QFN SARS Ag1 un Ag2 Blood Collection Tubes stobriņu kopējā procentuālā sakritība; N = 25

QFN SARS BCT	BCT partijas numurs	Kvalitatīvu atbilstošu atkārtojumu skaits/kopējais atkārtojumu skaits	Proporcija	Zemākais ticamības līmenis	Augstākais ticamības līmenis
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%

Vispārējā procentuālā sakritība visos reaģējošajos un nereaģējošajos paraugos pret prognozētajiem rezultātiem (no reaģējošas personas iegūstot reaģējošu rezultātu un no nereaģējošas personas iegūstot nereaģējošu rezultātu, balstoties uz pētāmo personu atsauces metodes rezultātu) visās trīs (3) QFN SARS Ag1 un Ag2 BCT partijās bija 100%.

Tukšo paraugu robežvērtība (Limit of Blank, LoB)

QFN SARS analīzei aprēķināja tukšo paraugu robežvērtību (Limit of Blank, LoB). Divi (2) atkārtojumi katram no četrpadsmit (14) individuālajiem normāla cilvēka plazmas paraugiem (kā tukšie paraugi) tika testēti ar divām (2) QFN SARS ELISA partijām, un šo testēšanu veica trīs (3) operatori trīs (3) testēšanas dienās, viens (1) operators katrā testēšanas dienā, kopā apstrādājot 84 atkārtojumus katrai ELISA komplekta partijai.

LoB vērtības (SV/ml) abām (2) ELISA komplekta partijām aprēķināja atsevišķi, kā norādīts 8. tabulā.

8. tabula. LoB vērtības (SV/ml) abām (2) QFN SARS ELISA komplekta partijām

QFN SARS ELISA Kit komplekts	Aprēķinātā LoB (SV/ml)
1. komplekts	0,030
2. komplekts	0,040

Kā galīgo LoB vērtību abām QFN SARS ELISA komplekta partijām uzrādīja augstāko LoB vērtību 0,040 SV/ml.

Noteikšanas robeža (Limit of Detection, LoD)

QFN SARS analīzei aprēķināja noteikšanas robežu (Limit of Detection, LoD). Cilvēka plazmas kopparaugu izveidoja, apvienojot četrpadsmit (14) personu plazmas paraugus. Katrs no trīs (3) operatoriem sagatavoja IFN- γ atsauces standarta rezerves materiāla atšķaidījumu buferšķīdumā ar koncentrāciju 1,0 SV/ml. Izmantojot plazmu, sagatavoja astoņu (8) koncentrāciju atšķaidījuma sēriju. Pētījumu veica trīs (3) dienas, pārmaiņus strādājot trīs (3) operatoriem un izmantojot divas (2) QFN SARS ELISA komplekta partijas. Katrā testēšanas dienā testēja piecus (5) atkātojumus no katras koncentrācijas katrā seriālo atšķaidījumu sērijā, kopā apstrādājot 45 atkātojumus katrai IFN- γ koncentrācijas atšķaidījumam katrai QFN SARS ELISA komplekta partijai.

Testēto QFN SARS ELISA komplekta partiju LoD vērtību aprēķināja atsevišķi, kā norādīts 9. tabulā. LoD aprēķināja, izmantojot probita regresijas modeli. LoD bija atkarīga no aprēķinātās koncentrācijas (SV/ml), kas uzrādīja 95% aprēķināto varbūtību, ka tiks iegūts atbilstības koeficients lielāks nekā 0,04 SV/ml (ko noteica pēc LoB).

9. tabula. Prognozētās LoD vērtības (SV/ml) abām (2) QFN SARS ELISA komplekta partijām

QFN SARS ELISA Kit komplekts	Varbūtība	Aprēķinātā koncentrācija (SV/ml)	Aprēķina apakšējā 95% ticamības robeža	Aprēķina augšējā 95% ticamības robeža
1. komplekts	0,95	0,063	0,060	0,067
2. komplekts	0,95	0,065	0,060	0,073

Kā galīgo LoD vērtību ziņoja abām QFN SARS ELISA komplekta partijām augstāko aprēķināto LoD vērtību, 0,065 SV/ml.

Interferējošas vielas

Tika veikts pētījums, lai noteiktu iespējamo interferējošu vielu ietekmi uz QFN SARS ELISA analīzes veikspēju noteikt IFN- γ . Šajā testēšanā tika iekļautas šādas interferējošas vielas: triglicerīdi (kopējie), hemoglobīns, proteīni (kopējais serums), bilirubīns (konjugētais), bilirubīns (nekonjugētais), abakavīra sulfāts, ciklosporīns un prednizolons. Tika sagatavoti pieci (5) plazmas kopparaugi ar zināmu IFN- γ koncentrāciju, izmantojot dažādas interferentu koncentrācijas. IFN- γ pamata kopparauga koncentrācija tika iepriekš sagatavota ar iepriekš noteiktu esošu IFN- γ daudzumu (apmēram 0,21, 0,45 un 1,4 SV/ml). Pēc tam kopparaugu izmantoja, lai sagatavotu interferentu kopparaugus. Tika testēti pieci dažādi interferentu koncentrācijas līmeņi, un tie bija balstīti uz atsaucis intervāliem, patoloģiskām vērtībām, terapeitiskiem diapazoniem un toksiskiem diapazoniem vai atbilda piegādātāja ieteikumiem vai vispārīgiem klīniskiem līmeņiem. Katra interferenta parauga koncentrācijas līmeni testēja sešos (6) atkārtojumos.

Katrai parauga koncentrācijai veica T testu, salīdzinot starpību starp augstās interferenta koncentrācijas (SV/ml) vidējās log₁₀ vērtību (10) un kontroli (t.i., koncentrāciju bez interferenta). Noteiktā vidējās reakcijas starpība kopā ar attiecīgās divpusējās 95% ticamības robežas vērtībām un p vērtību ir parādītas nākamajā tabulā.

10. tabula. Log10 SV/ml: T testa kopsavilkuma tabula par atšķirībām starp kontroles augstu interferenta koncentrāciju katra interferenta un IFN- γ koncentrācijas līmenim

Interferents	Interferenta koncentrācija	Parauga koncentrācija (SV/ml)	Vidējā atšķirība	Zemākais 95% TI	Augšējais 95% TI	p vērtība
Triglicerīdi	Augsta	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
Hemoglobīns	Augsta	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
Proteīns	Augsta	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
Konjugēts bilirubīns	Augsta	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
Nekonjugēts bilirubīns	Augsta	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
Abakavīrs	Augsta	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

Tabulas turpinājums nākamajā lappusē

Tabulas turpinājums no iepriekšējās lappuses

10. tabula. Log10 SV/ml: T testa kopsavilkuma tabula par atšķirībām starp kontroles augstu interferenta koncentrāciju katra interferenta un IFN- γ koncentrācijas līmenim

Interferents	Interferenta koncentrācija	Parauga koncentrācija (SV/ml)	Vidējā atšķirība	Zemākais 95% TI	Augšējais 95% TI	p vērtība
Ciklosporīns	Augsta	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
Prednizolons	Augsta	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

Rezultāti neuzrādīja statistiski nozīmīgu atšķirību starp augstāko testēto interferences līmeni un kontroli (koncentrācija bez interferentiem), izņemot attiecībā uz triglicerīdu koncentrācijas līmeni 0,45 SV/ml. Vidējā atšķirība šai vērtībai tika noteikta kā ietilpstoša ± 2 standartnovirzes robežās no vidējā kontroles līmeņa mērījuma, demonstrējot, ka novērotā atšķirība ir paredzamā analīzes mainīguma robežās un ka nav sagaidāms, ka klīniski nozīmīgas triglicerīdu koncentrācijas ietekmēs QFN SARS ELISA analīzi.

Klīniskā veiktspēja

QFN SARS analīzes klīniskā veiktspēja tika novērtēta prospektīvā, novērošanas pētījumā, kurš notika no 2021. gada jūnijam līdz oktobrim, iesaistot pētāmās personas, kurām nav bijusi SARS-CoV-2 infekcija un kuras ir saņēmušas vakcīnu pret COVID-19, kur mērķis ir SARS-CoV-2 vīrusa S proteīns, kā arī pētāmās personas, kurām nav bijusi SARS-CoV-2 infekcija un kuras nav saņēmušas vakcīnu pret COVID-19.

Pētāmās personas, kuras bija devušas piekrišanu, novērtēja attiecībā uz iekļaušanas un izslēgšanas kritērijiem, un pētījumā iekļāva tikai pētāmās personas, kuras atbilda izslēgšanas kritērijiem, un no viņiem paņēma asins paraugus QFN SARS noteikšanai, un neiekļāva nevienu personu, kura atbilda izslēgšanas kritērijiem.

Tālāk ir sniegts pētījumā iekļautās populācijas informācijas apkopojums.

- 1. grupa. Grupā iekļāva pētāmās personas bez dabīgas SARS-CoV-2 infekcijas anamnēzē, kuras brīdī, kad no viņām paņēma asins paraugu QFN SARS noteikšanai, nebija saņēmušas vakcīnu pret COVID-19, viņām nekad nebija bijis pozitīvs SARS-CoV-2 infekcijas testa rezultāts, viņām bija ziņots nereaģējošs seroloģijas testa rezultāts un viņām nebija COVID-19 infekcijas pazīmju vai simptomu 4 nedēļu laikā pirms iesaistīšanās pētījumā.
- 2. grupa. Grupā iekļāva pētāmās personas bez SARS-CoV-2 infekcijas anamnēzē, kuras brīdī, kad no viņām paņēma asins paraugu QFN SARS noteikšanai, bija saņēmušas vakcīnu pret COVID-19, kuras mērķis SARS-CoV-2 vīrusa S proteīns un viņām nekad nav bijis pozitīvs SARS-CoV-2 infekcijas testa rezultāts.
- Neviena no pētāmajām personām dalības pētījumā uzsākšanas brīdī nebija transplantāta (norobežotu orgānu vai šūnu) saņēmēja un/vai nesaņēma vēža ārstēšanas terapiju.

Pētījuma 1. grupā tika iekļautas kopumā 218 pētāmās personas, bet 2. grupā 171 pētāmā persona. Pēc asins paraugu ņemšanas QFN SARS noteikšanai tika konstatēts, ka četras pētāmās personas 1. grupā neatbilst dalībai pētījumā, jo tika iegūts reaģējošs seroloģiskā testa rezultāts, ko noteica, izmantojot paraugu, kurš bija ņemts tajā pašā vizīte, kurā ņēma asins paraugu QFN SARS noteikšanai, un tāpēc to dati tika izslēgti no analīzes.

Pēc paraugu paņemšanas QFN SARS asins parauga noņemšanas stobriņus apstrādāja, un plazmu glabāja ≤ -20 °C temperatūrā, līdz paraugus varēja izmantot testēšanai ar QFN SARS ELISA analīzi. Visu QFN SARS ELISA plašu apstrādes izpildes bija derīgas, un netika iegūts neviens nenoteikts rezultāts, kopā 1. un 2. grupā attiecīgi iegūstot 214 un 171 novērtējamu paraugu.

Demogrāfiskie dati

Katrā valstī paņemto paraugu skaits un kopējais procentuālais īpatsvars katrā pētījuma grupā ir apkopots 11. tabulā.

11. tabula. Apkopojums par paraugu ņemšanu valstīs

Paraugu ņemšanas valsts	1. grupa		2. grupa	
	N	%	N	%
Nīderlande	214	100,00%	153	89,47%
ASV	0	0,00%	18	10,53%

Apkopojums par pētāmo personu vecumu, iekļaujot vidējo, mediāno, minimālo un maksimāli vecumu un vecuma standartnovirze (SN), ir sniegts 12. tabulā.

12. tabula. Apkopojums par pētāmo personu vecumu (gadi)

N	Vidējais	Mediāna	SN	Minimālais	Maksimālais
385	40,47	37,00	14,168	18,00	80,00

Apkopojums par pētāmo personu dzimumu ir sniegts 13. tabulā.

13. tabula. Apkopojums par pētāmo personu dzimumu

Dzimums	N	%
Sievietes	234	60,78%
Vīrieši	151	39,22%

Specifiskums

Klīniskā sakritība, QFN SARS rezultātus salīdzinot ar atsauces metodes rezultātiem, ir norādīta 14. tabulā.

14. tabula. Klīniskā sakritība: QFN SARS rezultāts un atsauces metode

		Atsauces metodes rezultāts		Kopā
		1. grupa (- vakc., -infekcija)	2. grupa (+ vakc., -infekcija)	
QFN SARS rezultāts	Nereaģējošs	199	34	233
	Reaģējošs	15	137	152
	Kopā	214	171	385

Nevakcinēto pētāmo personu grupā (1. grupa) 199 no 214 testētajām pētāmajām personām bija nereaģējošs rezultāts, ko ieguva, izmantojot QFN SARS, bet pārējā 15 testētajām pētāmajām personām bija reaģējošs rezultāts. Vakcinēto pētāmo personu grupā (2. grupa) 137 no 171 testētās pētāmās personas bija reaģējošs rezultāts, ko ieguva, izmantojot QFN SARS, bet pārējā 34 testētajām pētāmajām personām bija nereaģējošs rezultāts. Nevienam no 1. un 2. grupas attiecīgi 15 un 34 neatbilstošajiem paraugiem neveica papildu testēšanu ar nesaskaņotu metodi.

Nevakcinētajām pētāmajām personām (1. grupa) aprēķināja negatīvo procentuālo sakritību (Negative Percent Agreement, NPA) (specifiskumu) kopā ar divpusēju 95% precīzo ticamības intervālu (TI), un šie dati ir apkopoti 15. tabulā.

15. tabula. Negatīva procentuālā sakritība (specifiskums)

Grupas Nr.	NPA (specifiskums)	95% TI
1. grupa (-vakc., -infekcija)	92,99% (199/214)	88,70–96,02%

Jutīgums

Vakcinētajām pētāmajām personām (2. grupa) aprēķināja pozitīvo procentuālo sakritību (Positive Percent Agreement, PPA) (jutīgums) kopā ar divpusēju 95% TI, un šie dati ir apkopoti 16. tabulā.

16. tabula. Pozitīva procentuālā sakritība (jutīgums)

Grupas Nr.	PPA (jutīgums)	95% TI
2. grupa (+vakc., -infekcija)	80,12% (137/171)	73,34–85,82%

Pozitīvā procentuālā sakritība pēc vecuma

Vakcinētajām pētāmajām personām (2. grupa) pozitīvo procentuālo sakritību stratificēja pēc vecuma < 60 un ≥ 60 gadi, un šie dati ir sniegti 17. tabulā.

17. tabula. Pozitīvā procentuālā sakritība pēc vecuma < 60 un ≥ 60 gadi

Vecums diapazons (gadi)	PPA (jutīgums)	95% TI
< 60	85,33% (128/150)	78,78–90,64%
≥ 60	42,86% (9/21)	21,82–65,98%

Pozitīvā procentuālā sakritība pēc vakcīnas pret COVID-19

Vakcinētajām pētāmajām personām (2. grupa) pozitīvo procentuālo sakritību stratificēja pēc saņemtās vakcīnas pret COVID-19, un šie dati ir apkopoti 18. tabulā.

18. tabula. Pozitīvā procentuālā sakritība pēc vakcīnas pret COVID-19

Vakcīna	PPA (jutīgums)	95% TI
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%

Faktori, kuri attiecas uz vakcinētām pētāmajām personām ar nereaģējošu rezultātu

Lai noteiktu, vai lielāks vecums, laiks no vakcinācijas pret COVID-19 pabeigšanas, saņemtā vakcīna un dzimums ir saistīts ar nereaģējošiem rezultātiem vakcinētām pētāmajām personām (2. grupa), tika veikta viena mainīgā lieluma loģistiskās regresijas analīze. Saistība starp katru faktoru un nereaģējošiem rezultātiem tika aprēķināta saskaņā ar varbūtību attiecību (Odds Ratio, OR), un šie rezultāti ir sniegti 19. tabulā.

19. tabula. Saistība starp faktoriem un vakcinētu pētāmo personu nereaģējošu rezultātu

Faktors	VAI (95% TI)	p vērtība	
Vecums (gadi)	1,08 (1,05–1,12)	< 0,001	
Laiks no vakcinācijas līdz asins paraugu ņemšanai QFN SARS noteikšanai (dienas)	1,02 (1,01–1,03)	< 0,001	
Vakcīna	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
Dzimums	Sievietes	1	
	Vīrieši	1,25 (0,59–2,65)	0,565

Vienīgie faktori, kuriem bija nozīmīga saistība ar nereaģējošiem rezultātiem vakcinētām pētāmajām personām, bija vecums un laiks kopš vakcinācijas.

Tā kā pētījums tika veikts valstīs, kurās vakcinācija pret COVID-19 primāri bija pieejama vecākām personām, vecums varēja ietekmēt saistību starp laiku no vakcinācijas un nereaģējošiem rezultātiem. Regresijas analīze, izmantojot vecumu kā kovariantu, ir sniegta 20. tabulā.

20. tabula. Saistība starp faktoriem un nereaģējoši rezultāti ar vecuma kontroli

Faktors	VAI (95% TI)	p vērtība
Vecums (gadi)	1,07 (1,03–1,11)	< 0,001
Laiks no vakcinācijas līdz asins paraugu ņemšanai QFN SARS noteikšanai (dienas)	1,01 (1,00–1,02)	0,214

Ja tiek kontrolēts vecums, saistībai starp laiku no vakcinācijas un nereaģējošiem rezultātiem vairs nav būtiskas nozīmes, tomēr saistība ar vecumu saglabājās.

Atsauces

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'Abamo, 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. *SciImmunol* [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
12. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, Strálin 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, Eunat 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-Esquerro, Ricardo Pujol-Borrell, Víctor Sandá, Iria Arrese-Muñoz, Candela Fernández Naval, Andrés Antón Pagarolas, Victoria Cardona, Moisés Labrador-Horrillo, Tomás Pumarola-Sufé 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. Rydyznski 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

Norādījumi par problēmu novēršanu

Šie norādījumi par problēmu novēršanu var palīdzēt atrisināt iespējamās problēmas. Vairāk informācijas skatiet arī lapā “Frequently Asked Questions” (Biežāk uzdotie jautājumi), kura pieejama mūsu tehniskā atbalsta centra vietnē: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. QIAGEN tehniskā atbalsta dienesta zinātnieki vienmēr labprāt atbildēs uz jūsu jautājumiem gan par informāciju un/vai protokoliem šajā rokasgrāmatā, gan arī par paraugu un analīzes metodēm (kontaktinformāciju skatiet vietnē www.qiagen.com).

Komentāri un ieteikumi

ELISA analīzes problēmu novēršana

Nespecifiskas krāsas veidošanās

- | | |
|---|---|
| a) Nepietiekama plates mazgāšana | Plate jāmazgā vismaz 6 reizes ar 400 µl mazgāšanas buferšķīduma uz katru iedobi. Atkarībā no izmantotās mazgāšanas ierīces var būt nepieciešami vairāk nekā 6 mazgāšanas cikli. Starp cikliem jānodrošina vismaz 5 sekunžu ilgs mērcēšanas laiks. |
| b) ELISA iedobju krusteniskā kontaminācija | Lai mazinātu risku, pipetējot un maisot paraugu, ievērojiet piesardzību. |
| c) Beidzies komplekta/komponentu derīguma termiņš | Nodrošiniet, lai komplekts tiktu izlietots pirms derīguma termiņa beigām. Nodrošiniet, lai sagatavotais standarta materiāls un Conjugate 100X Concentrate koncentrāts tiktu izlietots trīs mēnešu laikā pēc sagatavošanas datuma. |
| d) Enzyme Substrate Solution šķīduma kontaminācija | Atbrīvojieties no substrāta, ja tam ir zilgana nokrāsa. Nodrošiniet, lai tiktu izmantotas tīras reaģentu tvertnes. |
| e) Plazmas samaisīšana QFN Blood Collection Tubes stobriņos pirms atdalīšanas | Pēc centrifugēšanas un pirms plazmas atdalīšanas izvairieties no pipetēšanas augšup un lejup vai jebkāda veida plazmas maisīšanas. Vienmēr ievērojiet piesardzību, lai nepieskartos materiālam uz gela virsmas. |

Komentāri un ieteikumi

Zemas standarta materiālu optiskā blīvuma vērtības

- a) Standarta materiāla atšķaidīšanas kļūda Nodrošiniet, lai komplekta standarta atšķaidījumi tiktu sagatavoti, precīzi ievērojot šajā lietošanas instrukcijās sniegtos norādījumus.
- b) Pipetēšanas kļūda Nodrošiniet, lai pipetes būtu kalibrētas un tiktu lietotas atbilstoši ražotāja norādījumiem.
- c) Pārāk zema inkubācijas temperatūra ELISA analīzes inkubācija jāveic istabas temperatūrā ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$).
- d) Pārāk īss inkubācijas laiks Plašu ar konjugātu, standarta materiālus un paraugu inkubācijas periodam vajadzētu būt 120 ± 5 minūtes. Enzyme Substrate Solution šķīduma uz plātes inkubācijas periodam vajadzētu būt 30 minūtes.
- e) Tiek lietots nepareizs plātes datu nolasītāja filtrs Plāte jānolasa pie 450 nm ar atsauces filtru no 620 līdz 650 nm.
- f) Pārāk auksti reaģenti Visi reaģenti, izņemot Conjugate 100X Concentrate koncentrātu, pirms analīzes sākšanas jāsasilda līdz istabas temperatūrai. Tam nepieciešama aptuveni 1 stunda.
- g) Beidzies komplekta/sastāvdaļu derīguma termiņš Nodrošiniet, lai komplekts tiktu izlietots pirms derīguma termiņa beigām. Nodrošiniet, lai gatavotais standarta materiāls un Conjugate 100X Concentrate koncentrāts tiktu izlietots 3 mēnešu laikā pēc sagatavošanas datuma.

Spilgts fons

- a) Nepietiekama plātes mazgāšana Plāte jāmazgā vismaz 6 reizes ar 400 μ l mazgāšanas buferšķīduma uz katru iedobi. Var būt nepieciešami vairāk nekā 6 mazgāšanas cikli. Starp cikliem jānodrošina vismaz 5 sekunžu ilgs mērcēšanas laiks.
- b) Pārāk augsta inkubācijas temperatūra ELISA analīzes inkubācija jāveic istabas temperatūrā ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$).

Komentāri un ieteikumi














- c) Beidzies komplekta/komponentu derīguma termiņš
Nodrošiniet, lai komplekts tiktu izlietots derīguma termiņa laikā. Nodrošiniet, lai sagatavotais standarta materiāls un Conjugate 100X Concentrate koncentrāts tiktu izlietots trīs mēnešu laikā pēc sagatavošanas datuma.
- d) Enzyme Substrate Solution šķīduma kontaminācija
Atbrīvojieties no substrāta, ja tam ir zilgana nokrāsa. Nodrošiniet, lai tiktu izmantotas tīras reaģentu tvertnes.


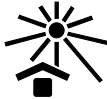

Nelineāra standarta līkne un dublikātu mainīgums

- a) Nepietiekama plates mazgāšana
Plate jāmazgā vismaz 6 reizes ar 400 µl mazgāšanas buferšķīduma uz katru iedobi. Var būt nepieciešami vairāk nekā 6 mazgāšanas 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 instrukcijās sniegtos norādījumus.
- c) Nepietiekama samaisīšana
Pirms reaģentu iepildīšanas platē, maisiet tos apvēršot vai uzmanīgi maisot.
- d) Nekonsekventa pipetēšanas tehnika vai pārtraukumi analīzes sagatavošanas laikā
Paraugu un standarta materiāla pievienošana ir jāveic vienmērīgā veidā. Visiem reaģentiem ir jābūt sagatavotiem pirms analīzes sākšanas.

Simboli

Lietošanas instrukcijās vai uz iepakojuma un marķējuma var būt tālāk norādītie simboli.

Simbols	Simbola definīcija
 Σ <N>	Satur reaģentus, kuru daudzums ir pietiekams <N> reakcijām
	Izlietot līdz
	In vitro diagnostikas medicīnas ierīce
	Kataloga numurs
	Partijas numurs
	Materiāla numurs (piemēram, komponenta marķējums)
	Komponenti
	Satur
	Numurs
	Globālais tirdzniecības identifikācijas numurs
	Pilnvarotais pārstāvis
Rn	R apzīmē lietošanas instrukciju versiju, bet n ir versijas numurs
	Temperatūras ierobežojums
	Ražotājs

Simbols	Simbola definīcija
	Skatīt lietošanas instrukcijas
	Sargāt no saules gaismas
	Brīdinājums/uzmanību!

Kontaktinformācija

Lai saņemtu tehnisko palīdzību un papildu informāciju, apmeklējiet mūsu tehniskā atbalsta centra vietni **www.qiagen.com/Support**, zvaniet pa tālruņa numuru 00800-22-44-6000 vai sazinieties ar kādu no QIAGEN tehnisko pakalpojumu dienesta nodaļām vai vietējiem izplatītājiem (skatiet aizmugurējo vāku vai apmeklējiet vietni **www.qiagen.com**).

A pielikums. Tehniskā informācija

Nenoteikti rezultāti

Nenoteikti rezultāti tiek iegūti reti, un tie var būt saistīti ar testējamās personas imunitātes statusu, taču tie var būt saistīti arī vairākiem tehniskiem faktoriem (piemēram, asins parauga ņemšanas stobriņu neatbilstoša lietošana/glabāšana, nepiemērota ELISA plates mazgāšana), ja nav ievēroti iepriekš sniegtās lietošanas instrukcijas.

Ja pastāv aizdomas, ka reaģentu glabāšanas, asins paraugu ņemšanas vai to turpmākās apstrādes laikā radušās tehniskas problēmas, visa QFN SARS tests jāatkārto ar jauniem asins parauga materiāliem. Ja pastāv aizdomas, ka ELISA analīzes procedūrā mazgāšana ir veikta nepareizi vai bijušas citas novirzes no procedūras, var atkārtot ELISA testu ar stimulētiem plazmas paraugiem. Ārsti pēc nepieciešamības var izvēlēties atkārtot parauga ņemšanu vai citas procedūras.

Receklaini plazmas paraugi

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

Lipēmiski plazmas paraugi

Pipetējot lipēmiskus paraugus, jāievēro piesardzība, jo taukainas nogulsnes var bloķēt pipetes uzgaļus.

B pielikums. Saīsināta ELISA testa procedūra

1. Nodrošiniet, lai visi ELISA testa komponenti, izņemot Conjugate 100x Concentrate koncentrātu, būtu atradušies istabas temperatūrā vismaz 60 minūtes.

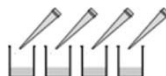


2. Sagatavojiet komplekta standarta atšķaidījumu ar koncentrāciju 8,0 SV/ml, izmantojot destilētu vai dejonizētu ūdeni. Sagatavojiet četrus (4) standarta atšķaidījumus.

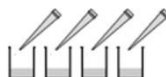


3. Sagatavojiet liofilizēto Conjugate 100x Concentrate koncentrātu, izmantojot destilētu vai dejonizētu ūdeni.

4. Sagatavojiet konjugāta darba šķīdumu ar Green Diluent atšķaidītāju un iepildiet 50 µl visās iedobēs.



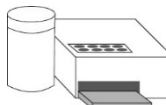
5. Atbilstošajās iedobēs iepildiet 50 µl testa plazmas paraugu un 50 µl standarta materiālu. Samaisiet ar kratītāju.



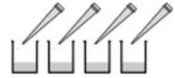
6. Inkubējiet 120 minūtes istabas temperatūrā.



7. Mazgājiet iedobes vismaz 6 reizes ar mazgāšanas buferšķīdumu 400 µl uz iedobi.



8. Iepildiet iedobēs 100 μ l Enzyme Substrate Solution šķīduma.
Samaisiet ar kratītāju.



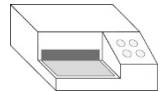
9. Inkubējiet 30 minūtes istabas temperatūrā.



10. Iepildiet visās iedobēs 50 μ l Enzyme Stopping Solution šķīduma.
Samaisiet ar kratītāju.



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



12. Analizējiet rezultātus.



Informācija par pasūtīšanu

Produkts	Saturs	Kat. Nr.
QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) ELISA Kit	2 plašu ELISA komplekts	626420
Saistītās preces		
QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes	200 stobriņi (Nil, Ag1, Ag2 un Mitogen 50 gab. no katra)	626725

Jaunāko informāciju par licencēšanu un preču juridiskās atrunas skatiet attiecīgā QIAGEN komplekta rokasgrāmatā vai lietotāja rokasgrāmatā. QIAGEN komplektu lietotāja rokasgrāmatas un lietotāja instrukcijas ir pieejamas vietnē www.qiagen.com, kā arī tās var pieprasīt QIAGEN tehniskā atbalsta centros vai pie vietējiem preču izplatītājiem.

Dokumenta pārskatīšanas vēsture

Datums	Apraksts
R1, 2021. gada oktobris	Sākotnējais izdevums
R2, 2021. gada novembris	Atjauninātas sadaļas “Veiktspējas raksturojums” un “Klīniskā veiktspēja”
R3, 2022. gada aprīlis	Atjaunināta sadaļa “Analītiskās veiktspējas raksturojums” attiecībā uz interferējošajām vielām

Šī lappuse atstāta tukša ar nolūku

Šī lappuse atstāta tukša ar nolūku

Šī lappuse atstāta tukša ar nolūku

QuantIFERON® SARS-CoV-2 (QFN SARS) ELISA Kit ierobežotas licences līgums

Šī produkta izmantošana liecina par katra produkta pircēja vai lietotāja piekrišanu šādiem nosacījumiem:

1. Šo produktu drīkst lietot tikai saskaņā ar kopā ar produktu nodrošinātajiem protokoliem un šo rokasgrāmatu un tikai kopā ar sastāvdaļām, kas ietilpst šajā komplektā. Uzņēmums QIAGEN nepiešķir nekāda veida licenci uz nevienu no tā intelektuālajiem īpašumiem, lai šajā panelī ietvertās sastāvdaļas izmantotu kopā ar jebkādam sastāvdaļām, kas neietilpst šajā panelī, vai ar tām apvienotu, izņemot gadījumus, kas aprakstīti kopā ar produktu piegādātajos protokolos un šajā rokasgrāmatā, kā arī papildu protokolos, kas pieejami tīmekļa vietnē www.qiagen.com. Dažus no šiem papildu protokoliem QIAGEN lietotāji nodrošina QIAGEN lietotājiem. Šie protokoli nav rūpīgi testēti vai optimizēti uzņēmumā QIAGEN. Uzņēmums QIAGEN nedz apliecina, nedz garantē, ka tie nepārkāpj trešo personu tiesības.
2. Uzņēmums QIAGEN nesniedz citas garantijas, izņemot skaidri norādītās licences, ka šis panelis un/vai tā lietošana neaizskar trešo personu tiesības.
3. Šis panelis un tā komponenti ir licencēti vienreizējai lietošanai, un tos nedrīkst izmantot atkārtoti, atjaunot vai pārdot tālāk.
4. Uzņēmums QIAGEN īpaši atsakās no jebkādam citām tiesām vai netiesām licencēm, izņemot tās, kuras nav skaidri norādītas.
5. Pabejā pircējs un lietotājs piekriņ 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 paneli un/vai tā komponentiem.

Jaunākos licences nosacījumus skatiet vietnē www.qiagen.com.

Preču zīmes: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantIFERON® (QIAGEN Group) Proclin®. Tiek uzskatīts, ka šajā dokumentā minētie reģistrētie nosaukumi, preču zīmes u.c. ir aizsargāti ar likumu arī tad, ja tas nav īpaši norādīts.

04-22 1124420 © 2022 QIAGEN, visas tiesības aizsargātas.

