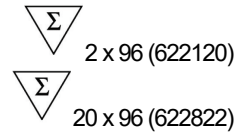


Aprilie 2019

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



Versiunea 1



A se utiliza pentru diagnosticarea in vitro

Testul pentru interferon gamma (IFN- γ) al sângelui integral cu măsurarea răspunsurilor la peptide cu rol de antigeni asociate cu ESAT-6 și CFP-10



622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
Germania



1083163RO

Conținut

Domeniul de utilizare	5
Rezumatul și explicarea testului	5
Principiile testului	7
Timpul necesar pentru efectuarea testului	9
Componente și mod de păstrare	10
Materiale necesare, dar nefurnizate	12
Depozitarea și manipularea speci­menelor.....	13
Tuburi de recoltare a sângelui	13
Reactivii din trusă.....	13
Reactivii reconstituiți și neutilizați	13
Avertismente și precauții	14
Avertismente	14
Precauții	15
Recoltarea și manipularea speci­menelor.....	18
Instrucțiuni de utilizare.....	24
Etapa 1 – incubarea sângelui și recoltarea plasmei	24
Etapa 2 – testul IFN- γ ELISA	25
Calcul­e și interpretarea testului	30
Generarea curbei standard	30
Controlul calității testului	31

Interpretarea rezultatelor	31
Limitări	34
Caracteristici de performanță	35
Studii clinice	35
Caracteristicile de performanță ale testului	41
Informații tehnice	46
Rezultate neconcludente	46
Probe de plasmă coagulate	46
Ghid de depanare	47
Referințe	49
Simboluri	58
Date de contact	59
Procedura de testare pe scurt	60
Etapa 1 — incubarea sângelui	60
Etapa 2 – testul IFN- γ ELISA	60
Modificări semnificative	62
Istoricul revizuirilor manualului	62

Domeniul de utilizare

QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) este un test de diagnosticare in vitro care utilizează un amestec de peptide care simulează proteinele ESAT-6 și CFP-10 pentru a stimula celulele din sângele integral heparinizat. Detectarea interferonului- γ (IFN- γ) prin intermediul testului de imunoabsorbție enzimatică (ELISA) este utilizată pentru identificarea răspunsurilor in vitro la antigenii peptidici asociați cu infecția cu *Mycobacterium tuberculosis*.

QFT-Plus este un test indirect pentru identificarea infecției cu *M. tuberculosis* (inclusiv a bolii active) și este destinat utilizării în asociere cu măsurile de evaluare a riscului, radiografia și alte evaluări medicale și de diagnostic.

Rezumatul și explicarea testului

Tuberculoza este o boală transmisibilă cauzată de infecția cu organisme din complexul *M. tuberculosis* (MTB) (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*), care, de obicei, se transmite la gazde noi pe cale aeriană, prin intermediul nucleilor de picătură proveniți de la pacienți infectați cu tuberculoză respiratorie. Persoanele infectate recent pot dezvolta tuberculoză la un interval de câteva săptămâni sau luni, însă majoritatea persoanelor infectate nu prezintă simptome. Tuberculoza latentă (latent tuberculosis infection, LTBI), o afecțiune netransmisibilă, asimptomatică persistă la unele persoane, acestea putând dezvolta tuberculoză după mai multe luni sau mai mulți ani. Scopul principal al diagnosticării LTBI îl reprezintă evaluarea necesității unui tratament medical menit să prevină tuberculoza activă. Până recent, singura metodă disponibilă pentru diagnosticarea LTBI era testul cutanat la tuberculină (TCT). Sensibilitatea cutanată la tuberculină apare între 2 până la 10 săptămâni de la infectare. Cu toate acestea, anumite persoane infectate, inclusiv acele persoane care suferă de o paletă largă de afecțiuni care obstrucționează funcțiile imunitare, însă și alte persoane care nu suferă de astfel de afecțiuni, nu răspund la tuberculină. Dimpotrivă, anumite persoane care nu sunt infectate cu *M. tuberculosis* prezintă sensibilitate

la tuberculină și obțin rezultate pozitive la TCT după vaccinarea cu bacilul Calmette-Guérin (BCG), ca urmare a unei infecții provocate de o micobacterie diferită de complexul *M. tuberculosis* sau a altor factori neidentificați.

Trebuie făcută o delimitare între LTBI și tuberculoza activă, o afecțiune raportabilă care implică de regulă plămâni și tractul respirator inferior, însă care poate afecta, de asemenea, alte sisteme de organe. Tuberculoza se diagnostichează pe baza anamnezei și a examinărilor fizice, radiologice, histologice și micobacteriologice.

QFT-Plus este o testare pentru răspunsurile imune mediate celular la antigenii peptidici care simulează proteinele micobacteriene. Aceste proteine, ESAT-6 și CFP-10, lipsesc din toate tulpinile BCG și din majoritatea micobacteriilor netuberculoase, cu excepția *M. kansasii*, *M. szulgai* și *M. marinum* (1). Persoanele infectate cu organismele din complexul MTB prezintă în sânge, de regulă, limfocite care recunosc aceste proteine, precum și alți antigeni micobacterieni. Acest proces de recunoaștere implică producția și secreția citokinei IFN- γ . Detectarea și cuantificarea ulterioară a IFN- γ formează baza acestui test.

Antigenii utilizați în QFT-Plus reprezintă un amestec de peptide care simulează proteinele ESAT-6 și CFP-10. Numeroase studii au demonstrat că acești antigeni peptidici stimulează răspunsurile IFN- γ în celulele T ale persoanelor infectate cu *M. tuberculosis*, dar, în general, nu și ale persoanelor neinfectate sau vaccinate cu BCG care nu prezintă boala sau un risc de LTBI (1–32). Cu toate acestea, tratamentele medicale sau afecțiunile care alterează funcțiile imunitare pot reduce răspunsurile IFN- γ . Pacienții care suferă de alte infecții micobacteriene pot să prezinte și ei o sensibilitate la ESAT-6 și CFP-10, deoarece genele care codifică aceste proteine sunt prezente în *M. kansasii*, *M. szulgai* și *M. marinum* (1, 23). Testul QFT-Plus poate fi folosit atât ca testare pentru LTBI, cât și ca ajutor în diagnosticarea infecției cu complexul *M. tuberculosis* la pacienții bolnavi. Un rezultat pozitiv susține diagnosticul de tuberculoză, însă există și alte infecții micobacteriene (de ex., *M. kansasii*) care pot duce la rezultate pozitive. Sunt necesare și alte investigații medicale și de diagnosticare pentru a confirma sau infirma prezența tuberculozei.

QFT-Plus conține două tuburi antigen TB distincte: TB Antigen Tube 1 (TB1) și TB Antigen Tube 2 (TB2). Ambele tuburi conțin antigeni peptidici din antigenii asociați complexului MTB, ESAT-6 și CFP-10. În vreme ce tubul TB1 conține peptide din ESAT-6 și CFP-10, care au rolul de a stimula răspunsuri imune mediate celular din partea limfocitelor T-helper CD4⁺, tubul TB2 conține un set suplimentar de peptide care vizează inducerea răspunsurilor imune mediate celular din partea limfocitelor T citotoxice CD8⁺. În evoluția naturală a infecției cu MTB, celulele T CD4⁺ joacă un rol esențial în controlul imunologic, prin secretarea citokinei IFN- γ . Au apărut, însă, dovezi care susțin că celulele T CD8⁺ participă la apărarea gazdei împotriva MTB prin producția de IFN γ și de alți factori solubili, care activează macrofagele în vederea suprimării creșterii MTB, eliminării celulelor infectate sau lizării directe a MTB intracelulare (33-35). Au fost detectate celule CD8⁺ specifice tuberculozei M la subiecții cu LTBI și cu tuberculoză activă la care sunt prezente frecvent celule CD8⁺ secretoare de IFN- γ (36-38). În plus, limfocitele T CD8⁺ specifice ESAT-6 și CFP-10 sunt descrise ca fiind detectate mai frecvent la subiecții cu tuberculoză activă față de cei cu LTBI și pot fi asociate cu o expunere recentă la tuberculoză M (39-41). De asemenea, au fost detectate celule T CD8⁺ secretoare de IFN- γ specifice tuberculozei M și la subiecții cu TB activă coinfectați cu HIV (42, 43), precum și la copiii mici cu tuberculoză (44).

Principiile testului

Testul QFT-Plus utilizează tuburi speciale de recoltare a sângelui, în care se recoltează sânge integral. Perioada de incubare a sângelui în tuburi este cuprinsă între 16 și 24 de ore, după care, plasma este recoltată și testată pentru prezența IFN- γ rezultat ca răspuns la antigenii peptidici.

Testul QFT-Plus este efectuat în două etape. Mai întâi, sângele integral este recoltat în fiecare dintre QFT-Plus Blood Collection Tubes, și anume un tub Nil, un tub TB1, un tub TB2 și un tub Mitogen. Ca alternativă, sângele poate fi recoltat într-un singur tub universal de recoltare a sângelui cu litiu-heparină sau heparină sodică pe post de anticoagulant, după care poate fi transferat în tuburile QFT-Plus.

Tubul Mitogen este utilizat în testul QFT-Plus drept control pozitiv. Acesta se poate dovedi important în cazul în care există un dubiu referitor la starea de imunitate a individului. Tubul Mitogen are și rol de control pentru manipularea și incubarea corectă a sângelui.

Tuburile QFT-Plus sunt agitate pentru omogenizarea antigenului cu sângele și trebuie incubate la 37 °C cât mai curând posibil, în interval de 16 ore de la recoltare. După o perioadă de incubare de 16 până la 24 de ore, tuburile sunt centrifugate, plasma este îndepărtată, iar cantitatea de IFN- γ (UI/ml) este măsurată cu ajutorul testului ELISA. Testul QFT-Plus ELISA utilizează standard IFN- γ uman recombinant, acesta fiind comparat cu un preparat IFN- γ de referință (Ref NIH: Gxg01-902-535). Rezultatele probei testate sunt raportate în Unități Internaționale pe ml (UI/ml) având ca referință o curbă standard preparată prin testarea diluțiilor standardului furnizat împreună cu kitul.

Se cunoaște că anticorpii heterofili (de ex., umani anti-șoareci) din serul sau plasma unor persoane provoacă interferență cu testele imune. Efectul anticorpilor heterofili din QFT-Plus ELISA este minimizat prin adăugarea de ser normal de șoarece în Diluant verde și prin utilizarea de fragmente de anticorpi monoclonali F(ab')₂, ca anticorpi de captură a IFN- γ atașați la microplacă.

Se consideră că un test QFT-Plus este pozitiv când răspunsul IFN- γ la oricare dintre tuburile Antigen TB este semnificativ mai mare decât valoarea IFN- γ exprimată în UI/ml la tubul Nil. Proba de plasmă din tubul Mitogen are rol de control pozitiv al IFN- γ pentru fiecare specimen testat. Un răspuns slab la Mitogen (< 0,5 UI/ml) indică un rezultat neconcludent atunci când o probă de sânge are, de asemenea, un răspuns negativ la antigenii TB. Acest comportament poate apărea în caz de limfocite insuficiente, activitate scăzută a limfocitelor, ca urmare a manipulării necorespunzătoare a specimenului, umplerii/omogenizării incorecte a tubului Mitogen sau a incapacității limfocitelor pacientului de a produce IFN- γ . Nivelurile ridicate de IFN- γ în proba Nil pot apărea odată cu prezența anticorpilor heterofili sau la secretarea intrinsecă a IFN- γ . Tubul Nil se ajustează pentru fond (de ex., niveluri ridicate de IFN- γ circulatorii sau prezența anticorpilor heterofili). Nivelul IFN- γ din tubul Nil este scăzut din nivelul IFN- γ din tuburile Antigen TB și din tubul Mitogen.

Timpul necesar pentru efectuarea testului

Timpul necesar pentru efectuarea testului QFT-Plus ELISA este estimat mai jos; durata testării probelor multiple grupate pe loturi este, de asemenea, indicată:

Incubarea tuburilor cu sânge la 37 °C: 16-24 de ore

ELISA: Aprox. 3 ore pentru o placă ELISA

(22 de persoane)

<1 oră de lucru

Se adaugă 10-15 minute pentru fiecare placă suplimentară

Componente și mod de păstrare

Tuburi de recoltare a sângelui*		200 de tuburi	Set pentru un singur pacient	Set dozator	200 de tuburi HA	Set pentru un singur pacient HA	Set dozator HA
Nr. de catalog		622526	622222	622423	623526	623222	623423
Număr de teste/pachet		50	10	25	50	10	25
QuantIFERON Nil Tube (capac gri, inel alb)	Nil	50 de tuburi	10 tuburi	25 de tuburi			
QuantIFERON TB1 Tube (capac verde, inel alb)	TB1	50 de tuburi	10 tuburi	25 de tuburi			
QuantIFERON TB2 Tube (capac galben, inel alb)	TB2	50 de tuburi	10 tuburi	25 de tuburi			
QuantIFERON Mitogen Tube (capac violet, inel alb)	Mitogen	50 de tuburi	10 tuburi	25 de tuburi			
QuantIFERON Nil HA Tube (capac gri, inel galben)	Nil HA				50 de tuburi	10 tuburi	25 de tuburi
QuantIFERON TB1 HA Tube (capac verde, inel galben)	TB1 HA				50 de tuburi	10 tuburi	25 de tuburi
QuantIFERON TB2 HA Tube (capac galben, inel galben)	TB2 HA				50 de tuburi	10 tuburi	25 de tuburi
QuantIFERON Mitogen HA Tube (capac violet, inel galben)	Mitogen HA				50 de tuburi	10 tuburi	25 de tuburi
Prospect QFT-Plus Blood Collection Tubes		1	1	1	1	1	1

* Configurațiile de produse sunt disponibile în funcție de țară. Vă rugăm să consultați secțiunea de relații cu clienții a QIAGEN (detalii pe www.qiagen.com) pentru mai multe informații despre configurațiile disponibile pentru comandă.

Componente ELISA[†]	Trusă ELISA cu 2 plăci	Pachet de laborator de referință
Nr. de catalog	622120	622822
Microplate Strips (stripuri de microplăci) (12 × 8 godeuri) acoperite cu anticorpi monoclonali murini anti umani IFN- γ	2 de stripuri de microplăci cu 96 de godeuri	20 de stripuri de microplăci cu 96 de godeuri
IFN- γ Standard (Standard IFN- γ) liofilizat (conține IFN- γ uman recombinant, cazeină bovină, timerosal 0,01% m/v)	1 x flacon (8 UI/ml după reconstituire)	10 x flacon (8 UI/ml după reconstituire)
Green Diluent (Diluant verde; conține cazeină bovină, ser normal de șoarece, timerosal 0,01% m/v)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (conjugat concentrat 100x) liofilizat (HRP IFN- γ anti uman murin, conține timerosal 0,01% m/v)	1 × 0,3 ml (după reconstituire)	10 × 0,3 ml (după reconstituire)
Wash Buffer 20x Concentrate (Soluție tampon pentru spălare concentrată 20x; pH 7,2, conține ProClin [®] 300 0,05% v/v)	1 × 100 ml	10 × 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Soluție de substrat enzimatic) (conține H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5', tetrametilbenzidină)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Soluție de inhibitor enzimatic) (conține H ₂ SO ₄ 0,5M)	1 × 15 ml	10 × 15 ml
Prospect QFT-Plus ELISA	1	1

[†] Vezi pagina 15 pentru precauții și avertizări cu privire la pericole.

Materiale necesare, dar nefurnizate

- Incubator $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}^*$. Nu este nevoie de CO_2
- Pipete cu volum variabil calibrate* pentru eliberarea a $10\text{ }\mu\text{l}$ până la $1.000\text{ }\mu\text{l}$, cu vârful de unică folosință
- Pipete multicanal calibrate*, capabile să elibereze $50\text{ }\mu\text{l}$ și $100\text{ }\mu\text{l}$, cu vârful de unică folosință
- Capac placă
- Agitator pentru microplăci*
- Apă deionizată sau distilată, 2 litri
- Spălător pentru microplăci (este recomandat un spălător automat)
- Cititor pentru microplăci* prevăzut cu un filtru de 450 nm și un filtru de referință de 620 nm până la 650 nm

* Asigurați-vă că instrumentele au fost verificate și calibrate în conformitate cu recomandările producătorului.

Depozitarea și manipularea speciemenelor

Tuburi de recoltare a sângelui

- Păstrați tuburile de recoltare a sângelui la temperaturi cuprinse între 4 °C și 25 °C.

Reactivii din trusă

- Păstrați reactivii din trusă la o temperatură cuprinsă între 2 °C și 8 °C.
- Protejați întotdeauna soluția de substrat enzimatic de lumina solară directă.

Reactivii reconstituiți și neutilizați

Pentru instrucțiuni despre modul de reconstituire a reactivilor, vă rugăm să consultați pagina 26.

- Standardul din trusă reconstituit poate fi păstrat cel mult 3 luni, dacă este păstrat la temperaturi cuprinse între 2 și 8 °C.

Notați data la care a fost reconstituit standardul din trusă.

- Odată reconstituit, conjugatul concentrat 100x neutilizat trebuie păstrat în continuare la temperaturi cuprinse între 2 °C și 8 °C și utilizat în cel mult 3 luni.

Notați data la care a fost reconstituit conjugatul.

- Conjugatul în concentrație de lucru trebuie utilizat în cel mult 6 ore de la preparare.
- Soluția tampon de spălare în concentrație de lucru poate fi păstrată la temperatura camerei timp de cel mult 2 săptămâni.

Avertismente și precauții

A se utiliza numai pentru diagnosticare in vitro.

Avertismente

- Un rezultat QFT-Plus negativ nu exclude posibilitatea unei infecții cu *M. tuberculosis* sau a tuberculozei active: rezultatele fals negative pot fi cauzate de stadiul infecției (de ex. specimen recoltat înainte de dezvoltarea răspunsului imun celular), factori de morbiditate asociați care afectează funcțiile imunitare, manipularea incorectă a tuburilor de recoltare a sângelui ca urmare a puncției venoase, efectuarea incorectă a testului sau alte variabile imunologice.
- Un rezultat QFT-Plus pozitiv nu trebuie considerat ca bază unică și definitivă pentru diagnosticarea infecției cu *M. tuberculosis*. Efectuarea incorectă a testului poate duce la răspunsuri fals pozitive.
- Un rezultat QFT-Plus pozitiv trebuie urmat de evaluări medicale și de diagnostic suplimentare pentru depistarea tuberculozei active (de ex., frotiu și cultură AFB, radiografie toracică).
- Deși ESAT-6 și CFP-10 sunt absente din toate tulpinile BCG și din majoritatea micobacteriilor netuberculoase, este posibil să obțineți rezultate QFT-Plus pozitive ca urmare a unei infecții cu *M. kansasii*, *M. szulgai* sau *M. marinum*. Dacă se suspectează o asemenea infecție, trebuie efectuate testări alternative.

Precauții

Atunci când lucrați cu substanțe chimice, utilizați întotdeauna un halat de laborator, mănuși de unică folosință și ochelari de protecție adecvate. Pentru informații suplimentare, vă rugăm să consultați fișele cu date de securitate (FDS) corespunzătoare. Acestea sunt disponibile online într-un format PDF ușor de utilizat și compact, la adresa www.qiagen.com/safety, unde puteți găsi, vizualiza și tipări fișa cu date de securitate a fiecărei truse și componente a trusei QIAGEN.



ATENȚIE: Manipulați sângele uman și plasma ca și cum ar avea potențial infecțios. Respectați îndrumările relevante cu privire la manipularea sângelui și a produselor pe bază de sânge. Eliminați probele și materialele care au intrat în contact cu sângele sau cu produsele pe bază de sânge în conformitate cu reglementările locale și naționale.

Următoarele avertizări cu privire la pericole și măsurile de precauție se aplică pentru componentele QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA.

Avertizări cu privire la pericole



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

Conține: acid sulfuric. Avertisment! Poate fi corosiv pentru metale. Provoacă iritarea pielii. Provoacă o iritare gravă a ochilor. Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/ochelari de protecție/mască de protecție.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Avertisment! Provoacă iritarea ușoară a pielii. Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/ochelari de protecție/mască de protecție.



QuantIFERON Green Diluent

Conține: 5-hidroxi-1-(4-sulfofenil)-4-(4-sulfofenilazo)pirazol-3-carboxilat trisodic. Conține: tartrazină. Avertisment! Poate provoca o reacție alergică a pielii. Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/ochelari de protecție/mască de protecție.

QuantIFERON Wash Buffer 20× Concentrate

Conține: Amestec de 5-cloro-2-metil-4-izotiazolină-3-onă și 2-metil-2H-izotiazol-3-onă (3:1). Nociv pentru mediul acvatic cu efecte pe termen lung. A se evita aruncarea în mediul înconjurător.

Fraze de precauție

Procurați instrucțiuni speciale înainte de utilizare. Purtați mănuși de protecție/îmbrăcăminte de protecție/ochelari de protecție/mască de protecție. **ÎN CAZ DE CONTACT CU PIELEA** (sau părul): Scoateți imediat toată îmbrăcăminte contaminată. Clătiți pielea cu apă/faceti duș. **ÎN CAZ DE CONTACT CU OCHII:** Clătiți cu atenție cu apă, timp de mai multe minute. Scoateți lentilele de contact, dacă este cazul și dacă acest lucru se poate face cu ușurință. Continuați să clătiți. În caz de expunere sau de posibilă expunere: Consultați medicul. Sunați la un CENTRU DE INFORMARE TOXICOLOGICĂ sau un medic. În caz de iritare a pielii sau de erupție cutanată: Consultați medicul. Scoateți îmbrăcăminte contaminată și spălați-o înainte de reutilizare. A se păstra sub cheie. Eliminați conținutul/recipientul la o unitate autorizată de eliminare a deșeurilor.

Informații suplimentare

Fișe cu date de securitate (Safety Data Sheets, SDS): www.qiagen.com/safety

- Abaterile de la *prospectul QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA* pot genera rezultate incorecte. Vă rugăm să citiți cu atenție instrucțiunile înainte de utilizare.

-
- Nu utilizați trusa dacă unul dintre flacoanele de reactivi prezintă semne de deteriorare sau scurgeri înainte de utilizare.
 - **Important:** Inspectați flacoanele înainte de utilizare. Nu utilizați Conjugat sau Standard IFN- γ dacă flacoanele prezintă semne de deteriorare sau dacă sigiliul de cauciuc a fost compromis. Nu manipulați flacoanele sparte. Luați măsuri adecvate de precauție la eliminarea flacoanelor. **Recomandare:** Deschideți flacoanele Conjugate sau Standard IFN- γ cu ajutorul unui clește de desigilare a flacoanelor pentru a reduce riscul de leziuni provocate de capacul cu sigiliu metalic.
 - Nu amestecați și nu utilizați stripuri de microplăci, Standard IFN- γ , Diluant verde sau conjugate concentrat 100x din kituri QFT-Plus aparținând unor loturi diferite. Alți reactivi (soluția tampon de spălare concentrată 20x, soluția de substrat enzimatic și soluția de inhibitor enzimatic) pot fi interschimbați între truse cu condiția ca reactivii să nu aibă termenul de valabilitate expirat și detaliile lotului să fie înregistrate.
 - Eliminați reactivii neutilizați și probele biologice conform reglementărilor locale, naționale și federale.
 - Nu utilizați QFT-Plus Blood Collection Tubes sau kitul ELISA după data de expirare.
 - Procedurile de laborator corecte trebuie urmate în permanență.
 - Asigurați-vă că echipamentul de laborator a fost în mod corespunzător calibrat/validat pentru utilizare.

Recoltarea și manipularea speci­menelor

Testul QFT-Plus utilizează următoarele tuburi de recoltare:

1. Tuburi QuantiFERON Nil (capac gri cu inel alb)
2. Tuburi QuantiFERON TB1 (capac verde cu inel alb)
3. Tuburi QuantiFERON TB2 (capac galben cu inel alb)
4. Tuburi QuantiFERON Mitogen (capac violet cu inel alb)
5. Tuburi QuantiFERON HA Nil (capac gri cu inel galben)
6. Tuburi QuantiFERON HA TB1 (capac verde cu inel galben)
7. Tuburi QuantiFERON TB2 HA (capac galben cu inel galben)
8. Tuburi QuantiFERON Mitogen HA (capac violet cu inel galben)

Antigenii au fost fixați prin uscare pe peretele interior al tuburilor de recoltare a sângelui, prin urmare este esențial ca sângele să fie bine omogenizat cu conținutul tuburilor. În cazul sângelui recoltat direct în tuburile QFT-Plus, tuburile QFT-Plus trebuie păstrate și transportate la temperatura camerei ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) și trebuie transferate într-un incubator la $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ cât se poate de repede și în decurs de 16 ore de la recoltare. Ca alternativă, sângele poate fi recoltat într-un singur tub cu litiu-heparină sau heparină sodică pentru depozitare, înainte de transferul în tuburile QFT-Plus și incubare. Speci­menele de sânge recoltate în litiu-heparină sau heparină sodică pot fi depozitate până la 16 ore la temperatura camerei ($17\text{-}25\text{ }^{\circ}\text{C}$), după care transferate în tuburile QFT-Plus. De asemenea, speci­menele de sânge în tuburi cu litiu-heparină sau heparină sodică pot fi depozitate la $2\text{-}8\text{ }^{\circ}\text{C}$ timp de până la 48 de ore, înainte de transferul acestora în tuburile QFT-Plus. Consultați secțiunea „Recoltarea sângelui într-un singur tub cu litiu-heparină sau heparină sodică, apoi transferul acestuia în QFT-Plus Blood Collection Tubes”.

Recoltare directă în QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Etichetați tuburile în mod corespunzător.

Asigurați-vă că fiecare tub (Nil, TB1, TB2 și Mitogen) este identificabil pe baza etichetei sau a altor metode, odată ce capacul este îndepărtat.

Se recomandă înregistrarea orei și datei de recoltare a sângelui.

2. Pentru fiecare pacient, recoltați 1 ml de sânge prin puncție venoasă, direct în fiecare dintre QFT-Plus Blood Collection Tubes. Această procedură trebuie efectuată de un flebotomist cu experiență.

Notă importantă: Tuburile trebuie să aibă temperatura între 17–25 °C în momentul umplerii cu sânge.

QFT-Plus Blood Collection Tubes standard pot fi utilizate până la o altitudine de 810 metri deasupra nivelului mării. QFT-Plus Blood Collection Tubes pentru altitudini mari pot fi utilizate la altitudini cuprinse între 1020 de metri și 1875 de metri deasupra nivelului mării.

Întrucât sângele se recoltează relativ lent în tuburile de 1 ml, păstrați tubul pe ac timp de 2–3 secunde după ce tubul pare să se fi umplut. Astfel, vă veți asigura că ați recoltat volumul corespunzător.

- Marcajul negru de pe partea laterală a tuburilor indică intervalul validat de 0,8–1,2 ml. Dacă nivelul de sânge din oricare tub nu se încadrează în intervalul definit de marcaj, trebuie recoltată o nouă probă de sânge. Umplerea tuburilor cu o cantitate care nu se încadrează în intervalul adecvat, între 0,8 și 1,2 ml, poate duce la rezultate eronate.
- Dacă pentru recoltarea sângelui se folosește un ac cu aripioare, trebuie utilizat un tub de purjare, pentru a vă asigura că tubulatura este umplută cu sânge înainte ca tuburile de recoltare a sângelui QFT-Plus să fie utilizate.
- Dacă QFT-Plus Blood Collection Tubes sunt utilizate la o altitudine mai mare de 810 m sau dacă volumul de sânge recoltat este scăzut, utilizatorii vor recolta sângele cu ajutorul unei seringi și vor transfera câte 1 ml de sânge în toate cele 4 tuburi. Din motive de siguranță, este ideal ca această operațiune

să fie efectuată scoțând acul seringii, urmând procedurile de siguranță corespunzătoare, îndepărtând capacele celor 4 tuburi QFT-Plus și adăugând câte 1 ml de sânge în fiecare (până la punctul de mijloc al marcajului negru de pe partea laterală a etichetei tubului). Montați la loc și fixați bine capacele și omogenizați așa cum este descris mai jos. Asigurați-vă că fiecare tub (Nil, TB1, TB2 și Mitogen) este identificabil pe baza etichetei sau a altor metode, odată ce capacul este îndepărtat.

3. Imediat după umplere, agitați tuburile de zece (10) ori cu suficientă fermitate ca să vă asigurați că întreaga suprafață interioară a tubului este acoperită cu sânge. Astfel, antigenii de pe pereții tubului se vor dizolva.

Notă importantă: Tuburile trebuie să aibă temperatura între 17–25 °C în momentul scuturării. O scuturare prea puternică poate cauza distrugerea gelului și poate duce la rezultate aberante.

4. După etichetare, umplere și agitare, tuburile trebuie transferate cât mai curând posibil într-un incubator setat la 37 °C ± 1 °C, în cel mult 16 ore de la recoltare. Înaintea incubării, păstrați și transportați tuburile la temperatura camerei (22 °C ± 5 °C). În cazul în care tuburile QFT-Plus nu sunt incubate la 37 °C imediat după recoltarea sângelui și agitare, răsturnați tuburile pentru a amesteca de 10 ori înainte de incubarea la 37 °C.
5. Incubați tuburile QFT-Plus în poziție VERTICALĂ la 37 °C ± 1 °C timp de 16 până la 24 de ore. Incubatorul nu necesită CO₂ sau umidificare.

Recoltarea sângelui într-un singur tub cu litiu-heparină sau heparină sodică, apoi transferul acestuia în QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Sângele poate fi recoltat într-un singur tub de recoltare a sângelui cu litiu-heparină sau heparină sodică pe post de anticoagulant, după care poate fi transferat în QFT-Plus Blood Collection Tubes. Utilizați doar litiu-heparină sau heparină sodică pe post de anticoagulant sanguin deoarece alți anticoagulanți pot interfera cu testul. Etichetați tuburile în mod corespunzător.

Se recomandă etichetarea tubului cu ora și data de recoltare a sângelui.

Important: Tuburile de recoltare a sângelui trebuie să fie la temperatura camerei (17 –25 °C) în momentul recoltării sângelui.

2. Umpleți un tub de recoltare a sângelui (volum minim 5 ml) cu litiu-heparină sau heparină sodică și amestecați ușor întorcând tubul de câteva ori pentru a dizolva heparina. Această procedură trebuie efectuată de un flebotomist cu experiență.
3. Păstrați opțiunile de timp și temperatură pentru tuburile cu litiu-heparină sau heparină sodică înainte de transferul și incubarea în QFT-Plus Blood Collection Tubes (Consultați Figurile 1-3 Opțiuni de recoltare a sângelui).

Opțiunea 1 – Depozitare și manipulare la temperatura camerei a tubului cu litiu-heparină sau heparină sodică Sângele recoltat în tubul cu litiu-heparină sau heparină sodică trebuie păstrat la temperatura camerei (22 °C ± 5 °C) timp de maximum 16 ore de la ora recoltării, înainte de transferul în QFT-Plus Blood Collection Tubes și incubarea ulterioară.

Opțiunea 2 – Depozitare și manipulare în stare refrigerată a tubului cu litiu-heparină sau heparină sodică

Important: Etapele de procedură de la a la d trebuie urmate secvențial.

- a. Sângele recoltat în tubul cu litiu-heparină sau heparină sodică poate fi păstrat la temperatura camerei (17-25 °C) până la 3 ore după recoltarea sângelui.
- b. Sângele recoltat în tubul cu litiu-heparină sau heparină sodică poate fi refrigerat (2-8 °C) până la 48 de ore.
- c. După refrigerare, tubul cu litiu-heparină sau heparină sodică trebuie aclimatizat la temperatura camerei (17-25 °C) înainte de transferul în QFT-Plus Blood Collection Tubes.
- d. Tuburile QFT-Plus Blood Collection Tubes divizate în părți alicote trebuie așezate în incubator la 37 °C în termen de 2 ore de la transferul sângelui.

În cazul în care QFT-Plus Blood Collection Tubes nu sunt incubate la 37 °C imediat după transferul în QFT-Plus Blood Collection Tubes și agitate, răsturnați tuburile pentru

a le amesteca de 10 ori înainte de incubarea la 37 °C. Timpul total de la recoltarea sângelui până la incubarea în QFT-Plus Blood Collection Tubes nu trebuie să depășească 53 de ore.

4. Transferul specimenelor de sânge dintr-un tub cu litiu-heparină sau heparină sodică în QFT-Plus Blood Collection Tubes:

a. Etichetați în mod corespunzător fiecare QFT-Plus Blood Collection Tube.

Asigurați-vă că fiecare tub (Nil, TB1, TB2 și Mitogen) este identificabil pe baza etichetei sau a altor metode, odată ce capacul este îndepărtat. Se recomandă transferul orei și datei înregistrate de recoltare a sângelui de pe tuburile cu litiu-heparină sau heparină sodică pe QFT-Plus Blood Collection Tubes.

b. Probele trebuie omogenizate întorcând tubul cu grijă, înainte de a fi transferate în QFT-Plus Blood Collection Tubes.

c. Transferul trebuie să fie efectuat aseptice, urmând procedurile de siguranță corespunzătoare, îndepărtând capacele celor 4 tuburi QFT-Plus Blood Collection Tubes și adăugând câte 1 ml de sânge în fiecare tub. Montați la loc și fixați bine capacele tuburilor și omogenizați așa cum este descris mai jos. Asigurați-vă că fiecare tub (Nil, TB1, TB2 și Mitogen) este identificabil pe baza etichetei sau a altor metode, odată ce capacul este îndepărtat.

5. Omogenizați tuburile. Imediat după umplerea QFT-Plus Blood Collection Tubes, agitați tuburile de zece (10) ori cu suficientă fermitate ca să vă asigurați că întreaga suprafață interioară a tubului este acoperită cu sânge. Astfel, antigenii de pe pereții tubului se vor dizolva.

O scuturare prea puternică poate cauza distrugerea gelului și poate duce la rezultate aberante.

6. După etichetare, umplere și agitare, tuburile trebuie transferate într-un incubator setat la 37 °C ± 1 °C în termen de 2 ore. În cazul în care QFT-Plus Blood Collection Tubes nu sunt incubate la 37 °C imediat după recoltarea sângelui și agitare, răsturnați tuburile pentru a amesteca de 10 ori (10x) înainte de incubarea la 37 °C. (Consultați Figurile 1-3, pagina următoare, pentru opțiuni de recoltare a sângelui).

7. Incubați QFT-Plus Blood Collection Tubes în poziție VERTICALĂ la 37 °C ± 1 °C timp de 16 până la 24 de ore. Incubatorul nu necesită CO₂ sau umidificare.

Recoltați în QFT-Plus Blood Collection Tubes și păstrați la temperatura camerei.

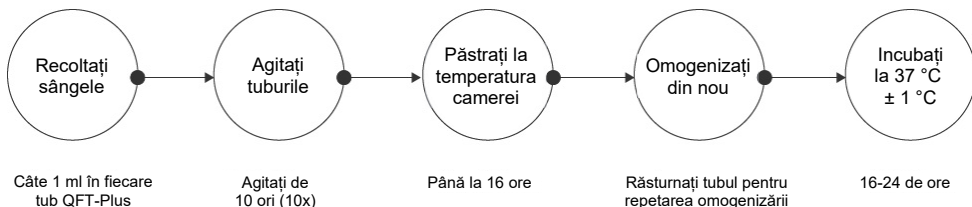


Figura 1. Opțiune de recoltare a sângelui: Recoltați direct în QFT-Plus Blood Collection Tubes și păstrați la temperatura camerei.

Timpul total de la recoltarea sângelui în QFT-Plus Blood Collection Tubes până la incubarea la 37 °C nu trebuie să depășească 16 ore.

Recoltați în tub cu litu-heparină sau heparină sodică și păstrați la temperatura camerei.

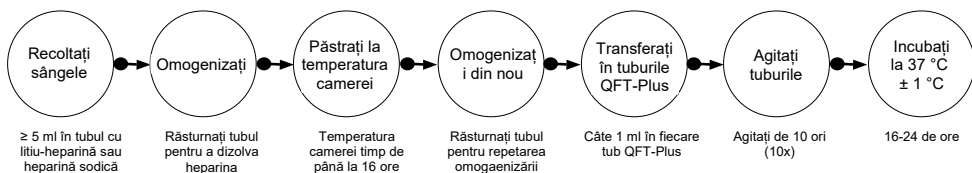


Figura 2. Opțiune de recoltare a sângelui: Recoltați în tub cu litu-heparină sau heparină sodică și păstrați la temperatura camerei.

Timpul total de la recoltarea sângelui în tubul cu litu-heparină sau heparină sodică până la incubarea la 37 °C nu trebuie să depășească 16 ore.

Recoltați în tuburi cu litu-heparină sau heparină sodică și păstrați la 2-8 °C.

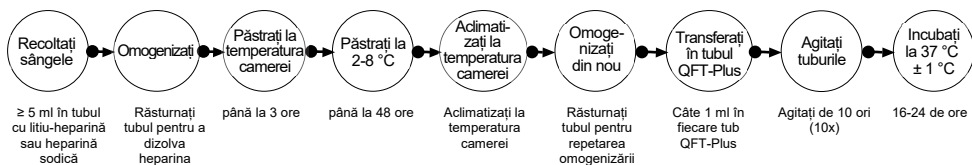


Figura 3. Opțiune de recoltare a sângelui: Recoltați în tub cu litu-heparină sau heparină sodică și păstrați la 2-8 °C.

Timpul total de la recoltarea sângelui în tubul cu litu-heparină sau heparină sodică până la incubarea la 37 °C nu trebuie să depășească 53 de ore.

Instrucțiuni de utilizare

Etapa 1 – incubarea sângelui și recoltarea plasmei

Materialele furnizate

- QFT-Plus Blood Collection Tubes (consultați Secțiunea 3)

Materiale necesare (dar nefurnizate)

- Consultați Secțiunea 3

Procedură

1. Dacă sângele nu este incubat imediat după recoltare, trebuie efectuată o reamestecare a conținutului tuburilor prin răsturnarea acestora de 10 ori înainte de incubare.
2. Incubați tuburile în poziție VERTICALĂ la $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ timp de 16 până la 24 de ore. Incubatorul nu necesită CO_2 sau umidificare.
3. După incubarea la 37 °C , tuburile de recoltare a sângelui pot fi păstrate la temperaturi între 4 și 27 °C timp de cel mult 3 zile înainte de centrifugare.
4. După incubarea tuburilor la 37 °C , recoltarea plasmei este facilitată prin centrifugarea tuburilor timp de 15 minute la 2.000 până la 3.000 x RCF (g). Dopul de gel va separa celulele de plasmă. În caz contrar, tuburile trebuie centrifugate din nou.

Recoltarea plasmei fără centrifugare este posibilă, însă este necesară o atenție sporită pentru îndepărtarea plasmei fără afectarea celulelor.

5. **Probele de plasmă trebuie recoltate exclusiv cu pipeta.**

Notă importantă: După centrifugare, evitați sub orice formă pipetarea prin aspirarea și eliberarea înapoi și repetată sau amestecarea plasmei înainte de recoltare. Aveți în permanență grijă să nu afectați materialul de pe suprafața gelului.

Probele de plasmă pot fi încărcate din tuburile de recoltare a sângelui centrifugate direct pe placa ELISA QFT-Plus, inclusiv atunci când se utilizează stații de lucru automate ELISA.

Probele de plasmă pot fi depozitate cel mult 28 de zile la temperaturi cuprinse între 2 și 8 °C, sau, dacă au fost recoltate, la temperaturi sub –20 °C pe perioade de timp îndelungate.

Pentru a obține probe de testare adecvate, recoltați cel puțin 150 µl de plasmă.

Etapa 2 – testul IFN- γ ELISA

Materialele furnizate

- Kit QFT-Plus ELISA (consultați Secțiunea 3)

Materiale necesare, dar nefurnizate

- Consultați Secțiunea 3.

Procedură

- 1. Toate probele de plasmă și toți reactivii, cu excepția conjugatului concentrat 100 \times , trebuie aduse la temperatura camerei (22 \pm 5 °C) înainte de utilizare. Lăsați-le cel puțin 60 de minute pentru aclimatizare.**
- 2. Scoateți de pe suport stripurile care nu sunt necesare, ambalați-le la loc în punga de protecție și păstrați-le în frigider cât timp este necesar.**

Alocați cel puțin 1 strip pentru standardele QFT-Plus și stripuri suficiente pentru numărul de subiecți supuși testării (consultați Figura 5). După utilizare, păstrați suportul în vederea utilizării împreună cu stripurile rămase.

- 3. Reconstituiți standardul IFN- γ cu volumul de apă deionizată sau distilată indicat pe eticheta flaconului. Amestecați ușor pentru a minimiza spumarea și a asigura solubilizarea completă. Prin reconstituirea standardului la volumul indicat se va obține o soluție cu o concentrație de 8,0 UI/ml.**

Notă importantă: Volumul de reconstituire a standardului din trusă diferă în funcție de lot.

Utilizați standardul din kit reconstituit pentru a obține o serie de 1 la 2, urmată de o serie de 1 la 4 de diluții IFN- γ în Diluant verde (Green Diluent, GD) (vezi Figura 4). S1 (Standardul 1) conține 4,0 UI/ml, S2 (Standardul 2) conține 1,0 UI/ml, S3 (Standardul 3) conține 0,25 UI/ml și S4 (Standardul 4) conține 0 UI/ml (doar GD). Standardele trebuie testate cel puțin în duplicat. Preparați diluții proaspete cu standard din trusă pentru fiecare sesiune de testare ELISA.

Procedura recomandată pentru standarde duplicate

Etichetați 4 tuburi cu „S1”, „S2”, „S3”, „S4”.

Adăugați **150 μ l** de GD în S1, S2, S3, S4.

Adăugați **150 μ l** de standard din kit în tubul S1 și amestecați bine.

Transferați **50 μ l** din tubul S1 în tubul S2 și amestecați bine.

Transferați **50 μ l** din tubul S2 în tubul S3 și amestecați bine.

GD simplu servește ca standard zero (S4).

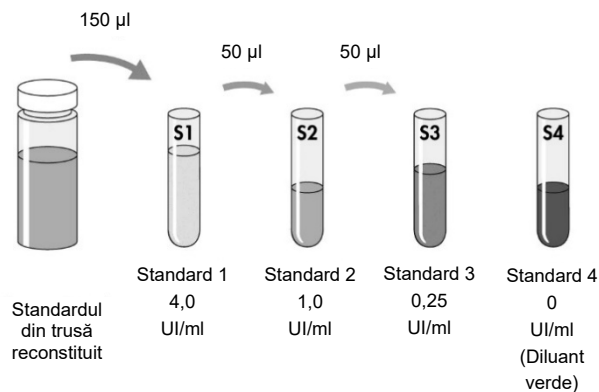


Figura 4. Prepararea curbei standard.

4. Reconstituiți conjugatul concentrat 100x liofilizat cu 0,3 ml de apă deionizată sau distilată. Amestecați ușor pentru a minimiza spumarea și a asigura solubilizarea completă a conjugatului.

Concentrația de lucru a conjugatului se obține prin diluarea cantității necesare de conjugate concentrate 100x reconstituit în Diluant verde (Tabel 1. Prepararea conjugatului). Reduceți conjugatul concentrat 100x neutilizat la o temperatură între 2 și 8 °C imediat după utilizare. Utilizați doar Diluant verde.

Tabel 1. Prepararea conjugatului

Numărul de stripuri	Volumul de conjugat concentrat 100x	Volumul de Diluant verde
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. Pentru probele de plasmă recoltate din tuburile de recoltare a sângelui și ulterior depozitate (refrigerate sau congelate), amestecați probele înainte de a le adăuga la godeul ELISA.

Notă importantă: Dacă probele de plasmă se adaugă direct din tuburile QFT-Plus centrifugate, trebuie să evitați orice amestecare a plasmei. Aveți în permanență grijă să nu afectați materialul de pe suprafața gelului.

6. Adăugați 50 µl de conjugat în concentrație de lucru proaspăt preparat în godeurile ELISA dorite folosind o pipetă multicanal.

7. Adăugați 50 µl de probe de plasmă pentru testare în godeurile corespunzătoare folosind o pipetă multicanal (consultați configurația de placă recomandată în Figura 5). În final, adăugați câte 50 µl din fiecare dintre standardele de la 1 la 4.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1 N	3 N	5 N	7 N	9 N	S1	S1	13 N	15 N	17 N	19 N	21 N
B	1 TB1	3 TB1	5 TB1	7 TB1	9 TB1	S2	S2	13 TB1	15 TB1	17 TB1	19 TB1	21 TB1
C	1 TB2	3 TB2	5 TB2	7 TB2	9 TB2	S3	S3	13 TB2	15 TB2	17 TB2	19 TB2	21 TB2
D	1 M	3 M	5 M	7 M	9 M	S4	S4	13 M	15 M	17 M	19 M	21 M
E	2 N	4 N	6 N	8 N	10 N	11 N	12 N	14 N	16 N	18 N	20 N	22 N
F	2 TB1	4 TB1	6 TB1	8 TB1	10 TB1	11 TB1	12 TB1	14 TB1	16 TB1	18 TB1	20 TB1	22 TB1
G	2 TB2	4 TB2	6 TB2	8 TB2	10 TB2	11 TB2	12 TB2	14 TB2	16 TB2	18 TB2	20 TB2	22 TB2
H	2 M	4 M	6 M	8 M	10 M	11 M	12 M	14 M	16 M	18 M	20 M	22 M

Figura 5. Configurație de probe recomandată (22 de testări per placă)

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

1 N (Proba 1. plasma Nil), 1 TB1 (Proba 1. plasma TB1), 1 TB2 (Proba 1. plasma TB2), 1 M (Proba 1. plasmă Mitogen)

8. Acoperiți fiecare placă și omogenizați temeinic conjugatul și probele de plasmă/standardele folosind un agitator pentru microplăci timp de 1 minut. Evitați stropirea.
9. Acoperiți fiecare placă și incubați la temperatura camerei ($22 \pm 5^\circ\text{C}$) timp de 120 ± 5 minute.

Plăcile nu trebuie expuse la lumină solară directă pe durata incubării.

10. În timpul incubării, diluați o parte soluție tampon de spălare concentrată 20× cu 19 părți de apă deionizată sau distilată și omogenizați temeinic. A fost furnizată o cantitate suficientă de soluție tampon de spălare concentrată 20x pentru a prepara 2 litri de soluție tampon de spălare în concentrație de lucru.

Spălați godeurile cu 400 µl de soluție tampon de spălare în concentrație de lucru timp de cel puțin 6 cicluri. Este recomandat un spălător de plăci automat.

Spălarea temeinică este foarte importantă pentru reușita testului. Asigurați-vă că fiecare godeu este umplut în întregime cu soluție tampon de spălare până în partea superioară

a godeului pentru fiecare ciclu de spălare. Este recomandată o perioadă de înmuiere de cel puțin 5 secunde între cicluri.

În rezervorul pentru efluent trebuie adăugat dezinfectant standard de laborator, iar pentru decontaminarea materialelor potențial infecțioase trebuie urmate procedurile omologate.

11. **Loviți ușor plăcile așezate cu fața în jos pe un prosop absorbant fără scame pentru a elimina soluția tampon de spălare reziduală. Adăugați 100 μl de Soluție de substrat enzimatic în fiecare godeu, acoperiți fiecare placă și amestecați bine, folosind un agitator pentru microplăci.**
12. **Acoperiți fiecare placă și incubați la temperatura camerei (22 ± 5 °C) timp de 30 de minute.**

Plăcile nu trebuie expuse la lumină solară directă pe durata incubării.

13. **După 30 de minute de incubare, adăugați câte 50 μl de soluție de inhibitor enzimatic în fiecare godeu și amestecați.**
- Soluția de inhibitor enzimatic trebuie adăugată în godeuri în aceeași ordine și cu aproximativ aceeași viteză ca și substratul de la pasul 11.

14. **Măsurați Densitatea Optică (DO) a fiecărui godeu în cel mult 5 minute de la stoparea reacției, utilizând un cititor de microplăci prevăzut cu un filtru de 450 nm și un filtru de referință între 620 nm și 650 nm. Valorile DO sunt utilizate pentru calcularea rezultatelor.**

Calculule și interpretarea testului

Pentru analiza datelor brute și calcularea rezultatelor, poate fi folosit Software-ul pentru analiză QFT-Plus. Acesta este disponibil la **www.QuantiFERON.com**. Vă rugăm să vă asigurați că este utilizată cea mai nouă versiune a software-ului pentru analiză QFT-Plus.

Software-ul efectuează o evaluare a controlului calității testului, generează o curbă standard și furnizează rezultatul testului pentru fiecare subiect, așa cum este detaliat în secțiunea Interpretarea rezultatelor.

Ca o alternativă la utilizarea software-ului pentru analiză QFT-Plus, rezultatele pot fi obținute folosind metoda de mai jos.

Generarea curbei standard

(Dacă nu este utilizat software-ul pentru analiză QFT-Plus)

Determinați media valorilor DO ale duplicatelor standardului din trusă de pe fiecare placă.

Construiți o curbă standard $\log_{(e)}-\log_{(e)}$ reprezentând grafic valoarea $\log_{(e)}$ a mediei DO (axa y) în raport cu valoarea $\log_{(e)}$ a concentrației de IFN- γ a standardelor în UI/ml (axa x), omițând standardul zero din aceste calcule. Calculați linia care corespunde cel mai bine curbei standard prin analiza de regresie.

Utilizați curba standard pentru determinarea concentrației de IFN- γ (UI/ml) pentru fiecare dintre probele de plasmă testate, utilizând valoarea DO a fiecărei probe.

Aceste calcule pot fi efectuate utilizând pachetele software disponibile împreună cu cititoarele de microplăci și un program de calcul tabelar sau un software statistic standard (ca de exemplu Microsoft® Excel®). Este recomandat ca aceste pachete să fie utilizate pentru a calcula analiza de regresie, coeficientul de variație (CV%) al standardelor și coeficientul de corelație (r) al curbei standard.

Controlul calității testului

Acuratețea rezultatelor testului depinde de generarea unei curbe standard exacte. Din acest motiv, rezultatele obținute pe baza standardelor trebuie examinate înainte ca rezultatele probelor testate să poată fi interpretate.

Pentru ca testul ELISA să fie valid:

- Valoarea medie a DO pentru Standardul 1 trebuie să fie $\geq 0,600$.
- CV% pentru valorile DO duplicate pentru Standardul 1 și Standardul 2 trebuie să fie $\leq 15\%$.
- Valorile DO duplicate pentru Standardul 3 și Standardul 4 nu trebuie să varieze cu mai mult de 0,040 unități de densitate optică față de media lor.
- Coeficientul de corelație (r) calculat pe baza valorilor medii de absorbanță ale standardelor trebuie să fie $\geq 0,98$.

Software-ul pentru analiza QFT-Plus calculează și raportează acești parametri de control al calității.

Dacă criteriile de mai sus nu sunt îndeplinite, execuția testului este nevalidă și trebuie repetată.

Valoarea medie a DO pentru Standardul zero (Diluantul verde) trebuie să fie $\leq 0,150$. Dacă valoarea medie a DO este $> 0,150$, trebuie analizată procedura de spălare a plăcilor.

Interpretarea rezultatelor

Rezultatele testului QFT-Plus sunt interpretate pe baza următoarelor criterii (Tabel 2):

Notă importantă: Confirmarea sau infirmarea diagnosticului de tuberculoză și evaluarea probabilității prezenței LTBI necesită o combinație de informații epidemiologice, de anamneză, medicale și de diagnostic care trebuie luate în considerare atunci când sunt interpretate rezultatele QFT-Plus.

Tabel 2. Interpretarea rezultatelor QFT-Plus

Nil (UI/ml)	TB1 minus Nil (UI/ml)	TB2 minus Nil (UI/ml)	Mitogen minus Nil (UI/ml)*	Rezultat QFT-Plus	Raport/Interpretare
≤ 8,0	≥ 0,35 și ≥ 25% din valoarea Nil	Orice valoare	Orice valoare	Pozitiv [†]	Infecție cu <i>M. tuberculosis</i> probabilă
	Orice valoare	≥ 0,35 și ≥ 25% din valoarea Nil			
	< 0,35 sau ≥ 0,35 și < 25% din valoarea Nil	< 0,35 sau ≥ 0,35 și < 25% din valoarea Nil	≥ 0,5	Negativ	Infecție cu <i>M. tuberculosis</i> IMPROBABILĂ
> 8,0 [§]	< 0,35 sau ≥ 0,35 și < 25% din valoarea Nil	< 0,35 sau ≥ 0,35 și < 25% din valoarea Nil	< 0,5	Neconcludent [‡]	Probabilitatea infecției cu <i>M. tuberculosis</i> nu poate fi determinată
		Orice valoare		Neconcludent [‡]	Probabilitatea infecției cu <i>M. tuberculosis</i> nu poate fi determinată

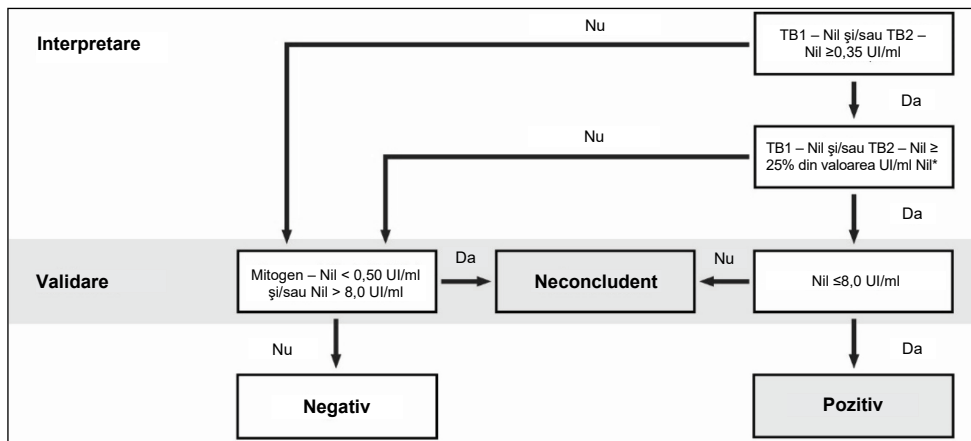
* De obicei, răspunsurile la controlul pozitiv cu Mitogen (și ocazional Antigenii TB) pot fi în afara intervalului cititorului de microplăci. Acest lucru nu influențează rezultatele testelor. Valorile > 10 ml sunt raportate de software-ul QFT-Plus ca > 10 UI/ml.

[†] Dacă infecția cu *M. tuberculosis* nu este suspectată, rezultatele inițial pozitive pot fi confirmate prin retestarea probelor originale de plasmă în duplicat în QFT-Plus ELISA. Dacă rezultatul retestării unuia sau ambelor duplicate este pozitiv, persoana trebuie considerată ca având un răspuns pozitiv la test.

[‡] Consultați secțiunea „Depanare” pentru cauzele posibile.

[§] În cadrul studiilor clinice, mai puțin de 0,25% dintre subiecți au înregistrat niveluri de IFN- γ > 8,0 UI/ml pentru valoarea Nil.

Valoarea nivelului măsurat de IFN- γ nu poate fi corelată cu stadiul sau gradul de infecție, nivelul de răspuns imun sau probabilitatea de progresie spre boala activă. Răspunsurile TB pozitive la persoanele cu Mitogen negativ sunt rare, însă au fost constatate la pacienții cu tuberculoză. Acest lucru indică faptul că răspunsul IFN- γ la antigenul TB este mai mare decât la Mitogen, ceea ce este posibil datorită faptului că nivelul de Mitogen nu stimulează la nivel maxim producția de IFN- γ a limfocitelor.



* Pentru ca TB1 minus Nil sau TB2 minus Nil să fie valabil, nivelul $\geq 25\%$ din valoarea UI/ml Nil trebuie să fie din același tub ca rezultatul $\geq 0,35$ UI/ml inițial.

Figura 6. Diagramă de interpretare QFT-Plus

Limitări

Rezultatele testării QFT-Plus trebuie interpretate împreună cu epidemiologia, starea curentă de sănătate și alte evaluări de diagnosticare ale fiecărui individ.

Persoanele cu valori Nil mai mari de 8,0 UI/ml sunt clasificate ca „neconcludente” deoarece un răspuns cu 25% mai mare la antigenii TB poate fi în afara intervalului de măsurare a testului.

Rezultatele nefiabile sau neconcludente se pot datora:

- Abaterii de la procedura descrisă în acest prospect
- Nivelurilor excesive de IFN- γ circulatorii sau prezența anticorpilor heterofili
- Scurgerii unui interval de timp de peste 16 ore de la recoltarea specimenului de sânge până la incubarea la 37 °C. Acest lucru nu este valabil dacă folosiți fluxul de lucru la 2-8 °C pentru tuburile cu litiu-heparină sau heparină sodică.

Caracteristici de performanță

Studii clinice

Deoarece nu există o testare standard definitivă pentru LTBI, o estimare a sensibilității și specificității testului QFT-Plus nu poate fi practic evaluată. Specificitatea QFT-Plus a fost aproximată prin evaluarea ratelor fals pozitive la persoanele cu risc redus (factori de risc necunoscuți) de infecție cu tuberculoză. Sensibilitatea a fost aproximată prin evaluarea grupurilor de pacienți cu TB activă confirmată prin cultură.

Specificitate

S-a efectuat un studiu de evaluare a specificității QFT-Plus la 409 subiecți. Informațiile demografice și factorii de risc pentru expunerea la TB s-au determinat cu ajutorul unei cercetări standardizate la momentul testării.

Într-o sinteză a rezultatelor obținute din cele 2 grupuri de pacienți cu risc scăzut (fără factori de risc cunoscuți) de infecție cu tuberculoză, specificitatea totală a QFT-Plus a fost de 97,6% (399/409) (Tabel 3 și Tabel 4).

Tabel 3. Rezultatele studiului de specificitate QFT-Plus în funcție de centrul de studii

Studiu	Pozitiv	Negativ	Neconcludent	Specificitate (CI 95%)
Japonia	4	203	0	98% (95–100%)
Australia	6	196	0	97% (94–99%)

Tabel 4. Rezultatele studiului de specificitate QFT-Plus în funcție de tubul de antigen TB

Studiu	TB1	TB2	QFT-Plus
Pozitiv	5	10	10
Negativ	404	399	399
Neconcludent	0	0	0
Specificitate (CI 95%)	98,8% (97,2–99,6)	97,6% (95,6–98,8)	97,6% (95,6–98,8)

Sensibilitate pentru TB activă

Având în vedere că nu există o testare standard definitivă pentru diagnosticarea LTBI, cultura microbiologică de *M. tuberculosis* reprezintă un înlocuitor adecvat, ținând cont de faptul că pacienții care suferă de această boală sunt prin definiție, infectați. Suspecții de TB din 4 centre de studii clinice din Australia și Japonia confirmați ulterior prin cultură cu infecție cu *M. tuberculosis* au fost testați pentru a evalua sensibilitatea testului QFT-Plus (Tabel 5 și Tabel 6). Pacienții se aflau sub tratament de mai puțin de 14 zile înainte de recoltarea sângelui pentru testarea QFT-Plus.

Într-o sinteză a rezultatelor obținute din cele 4 grupuri cu pacienți pozitivi la cultura de *M. tuberculosis*, sensibilitatea totală a QFT-Plus pentru tuberculoză activă a fost de 95,3% (164/172). Din cele 4 grupuri, 159 de pacienți au fost indicați pozitivi atât de TB1, cât și de TB2, 1 pacient a fost indicat pozitiv doar de TB1 și 4 pacienți au fost indicați pozitivi doar de TB2. Un total de 1,1% (2/174) din rezultate au fost neconcludente. Rezultatul TB2 a identificat corect 1 pacient confirmat prin cultură care ar fi avut un rezultat neconcludent (Mitogen scăzut) prin testarea doar cu TB1 (vezi Tabel 5 și Tabel 6).

Tabel 5. Rezultatele studiului de sensibilitate QFT-Plus în funcție de centrul de studii

Centre studii	Pozitiv	Negativ	Neconcludent	Sensibilitate QFT-Plus* (ÎI 95%)
Centrul Japonia 1	36	7	0	84% (69–93)
Centrul Japonia 2	53	1	2	98% (90–100)
Centrul Japonia 3	54	0	0	100% (93–100)
Centrul Australia	21	0	0	100% (84–100)

* Sensibilitatea se bazează pe numărul total de testări valabile, excluzând rezultatele neconcludente.

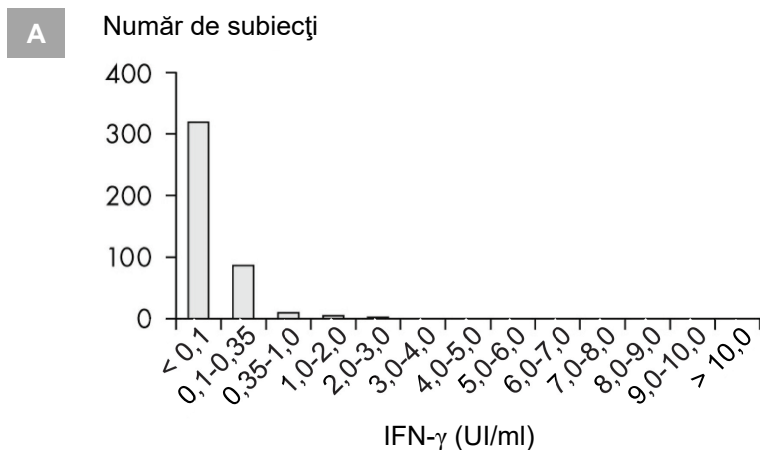
Tabel 6. Rezultatele studiului de sensibilitate QFT-Plus în funcție de tubul de antigen TB

	TB1	TB2	QFT-Plus
Pozitiv	160	163	164
Negativ	11	9	8
Neconcludent	3	2	2
Sensibilitate [†] (ÎI 95%)	93,6% (88,8-96,7)	94,8% (90,3-97,6)	95,3% (90,9-97,9)

* Sensibilitatea se bazează pe numărul total de testări valabile, excluzând rezultatele neconcludente.

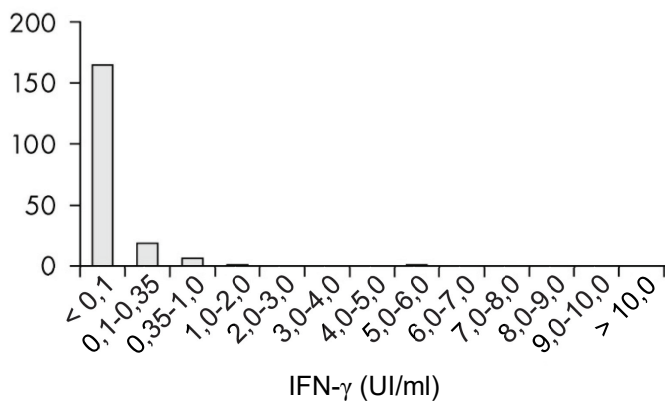
Distribuțiile observate ale răspunsului – stratificare în funcție de risc

În cadrul studiilor clinice, au fost observate o serie de răspunsuri IFN- γ la TB1, TB2 și la tuburile de control, acestea fiind stratificate în funcție de riscul infecției cu *M. tuberculosis* (Figurile 7-9). Grupul mixt constă în subiecți reprezentativi pentru o populație generală de testare, inclusiv subiecți cu și fără factori de risc de expunere la TB și la care tuberculoza activă este improbabilă (mai precis, LTBI).



B

Număr de subiecți

**C**

Număr de subiecți

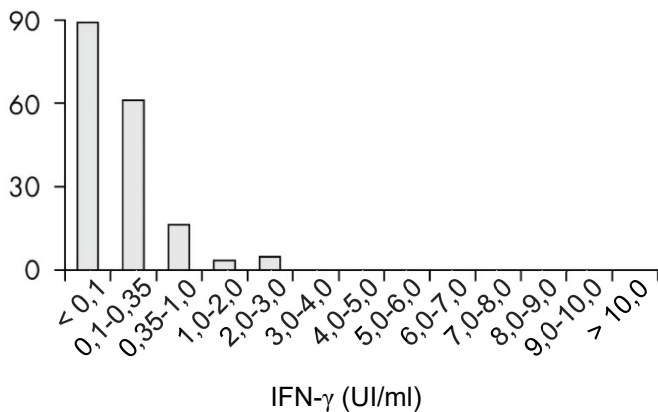


Figura 7. Distribuția Nil. **A.** Distribuția valorilor Nil într-o populație cu risc scăzut (n = 409). **B.** Distribuția valorilor Nil într-o populație cu risc mixt (n = 194). **C.** Distribuția valorilor Nil într-o populație cu infecție cu *M. tuberculosis* confirmată prin cultură (n=174).

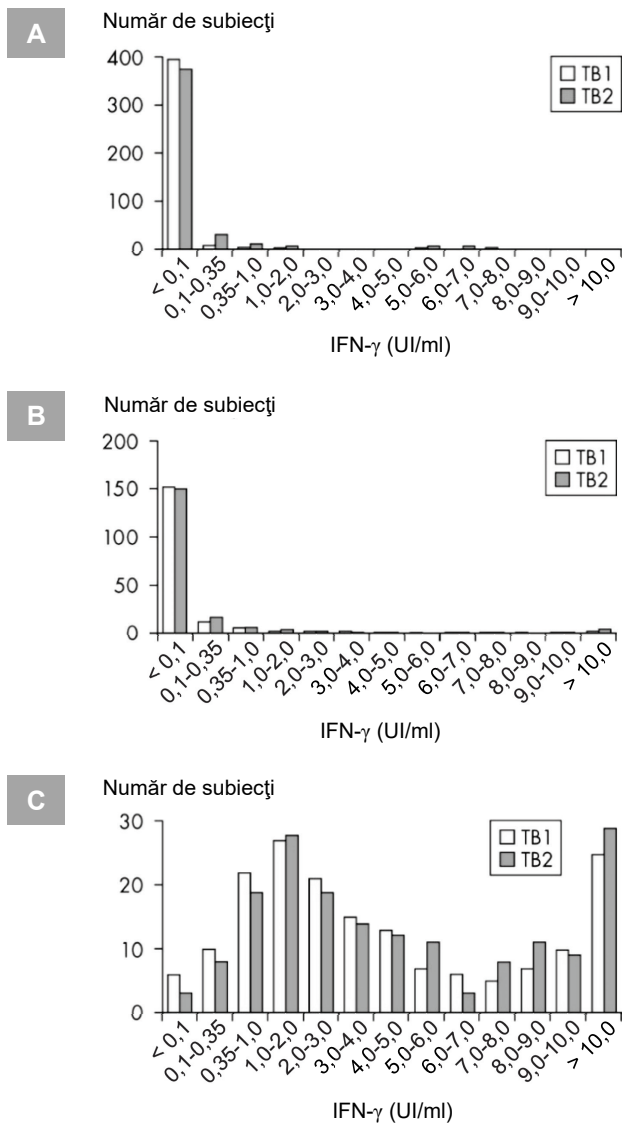


Figura 8. Distribuția TB1 și TB2 (minus nil). **A.** Distribuția valorilor TB1 și TB2 (minus nil) într-o populație cu risc scăzut (n = 409). **B.** Distribuția valorilor TB1 și TB2 (minus nil) într-o populație cu risc mixt (n = 194). **C.** Distribuția valorilor TB1 și TB2 (minus nil) într-o populație cu infecție cu *M. tuberculosis* confirmată prin cultură (n = 174).

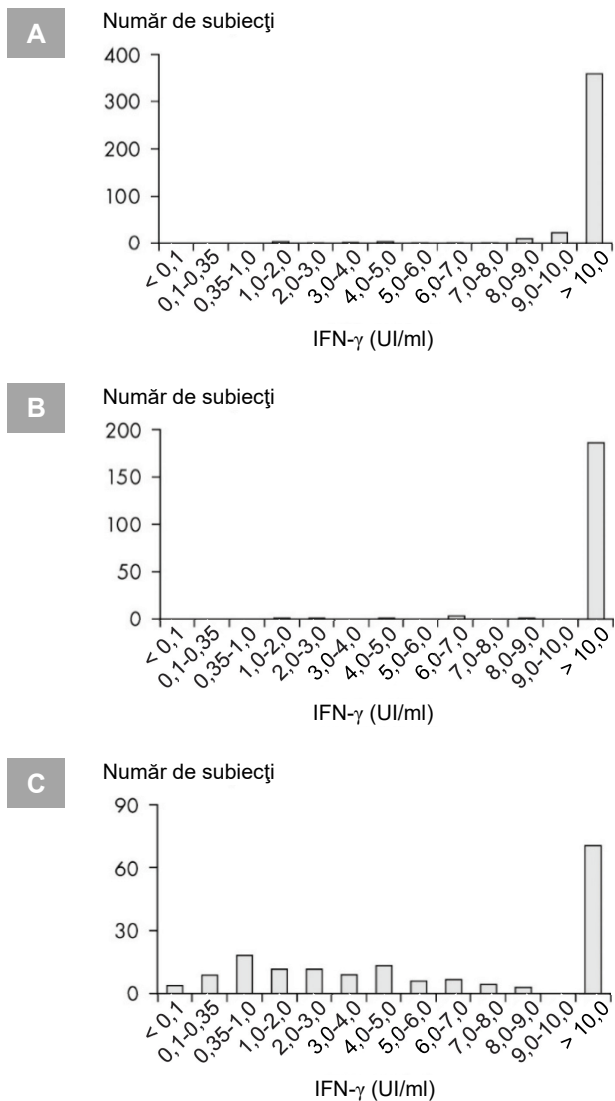


Figura 9. Distribuția Mitogen (minus nil). **A.** Distribuția valorilor Mitogen (minus nil) într-o populație cu risc scăzut (n = 409). **B.** Distribuția valorilor Mitogen (minus nil) într-o populație cu risc mixt (n = 194). **C.** Distribuția valorilor Mitogen (minus nil) într-o populație cu infecție cu *M. tuberculosis* confirmată prin cultură (n = 169).

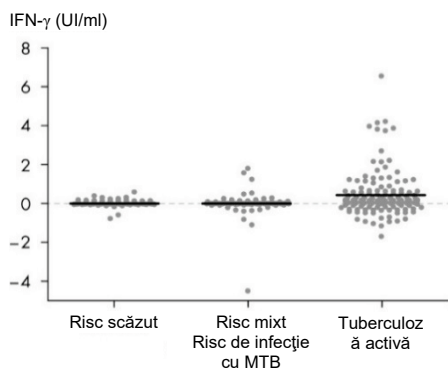


Figura 10. Diferența observată între valorile TB1 și TB2 (minus nil), stratificată în funcție de risc. Populație cu risc scăzut (n = 409), populație cu risc mixt (n = 189) și populație cu infecție cu *M. tuberculosis* confirmată prin cultură (n = 141). Valorile TB1 au fost scăzute din valorile TB2. Subiecții cu valori pentru TB1 sau TB2 > 10,0 UI/ml au fost excluși deoarece aceștia s-au situat în afara intervalului liniar al testului.

Caracteristicile de performanță ale testului

Testul QFT-Plus ELISA s-a dovedit liniar în condițiile poziționării aleatorii a 5 duplicate pentru 11 probe de plasmă cu concentrații de IFN- γ cunoscute pe placa ELISA. Linia regresiei liniare are o pantă de $1,002 \pm 0,011$ și un coeficient de corelație de 0,99 (Figura 11).

Limita de detecție a testului QFT-Plus ELISA este de 0,065 UI/ml și nu există dovezi de rezultate fals negative la doză ridicată (prozonă) pentru concentrații de IFN- γ de până la 10.000 UI/ml.

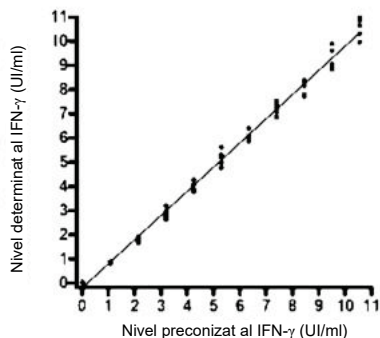


Figura 11. Profilul de liniaritate al testului QFT-Plus ELISA

Imprecizia intra-test și inter-teste (CV%) a testului QFT-Plus ELISA a fost estimată în urma efectuării unui test pe 20 de probe de plasmă cu concentrații de IFN- γ diferite în câte 3 duplicate, în 3 laboratoare diferite, în 3 zile neconsecutive și de către 3 operatori diferiți. Așadar, fiecare probă a fost testată de 27 de ori, în cadrul a 9 execuții de teste independente. Una dintre probe a fost un control Nil, iar concentrația de IFN- γ calculată pentru aceasta a fost de 0,08 UI/ml (ÎI 95%: 0,07–0,09). Pentru cele 19 probe de plasmă rămase, intervalul de concentrații a fost cuprins între 0,33 (ÎI 95%: 0,31–0,34) și 7,7 UI/ml (ÎI 95%: 7,48–7,92).

Imprecizia intra-test și inter-teste a fost estimată prin calcularea mediei CV% pentru fiecare probă de plasmă testată care conținea IFN- γ din cadrul fiecărei analize a plăcii ($n = 9$), iar imprecizia era cuprinsă în intervalul 4,1–9,1 CV%. Media de covarianță în cadrul testului (ÎI $\pm 95\%$) a fost de $6,6\% \pm 0,6\%$. Media plasmei cu zero IFN- γ a fost de 14,1 CV%.

Imprecizia totală sau inter-teste a fost determinată prin compararea celor 27 de concentrații calculate de IFN- γ pentru fiecare probă de plasmă testată. Imprecizia inter-teste a fost cuprinsă în intervalul 6,6–12,3 CV%. Media totală a CV% ($\pm 95\%$ ÎI) a fost de $8,7 \pm 0,7\%$. Plasma cu zero IFN- γ a avut un CV% de 26,1. Acest nivel de variație este preconizat deoarece concentrația de IFN- γ calculată este mică, iar variația în jurul unei valori mici estimate pentru concentrație va fi mai mare decât în cazul concentrațiilor mai mari.

Reproductibilitatea testării QFT-Plus a fost determinată utilizând probe de sânge de la 102 subiecți cu factori de risc micști de infecție cu *M. tuberculosis*. S-au evaluat trei operatori diferiți și trei laboratoare diferite.

Au fost efectuate 3 determinări de diagnostic pentru fiecare subiect în parte, respectiv 306 determinări în ansamblu pentru toți subiecții. În total, reproductibilitatea de diagnostic a fost de 99% (ÎI 95%: 97,2–99,7), rezultatul de diagnostic fiind concordant pentru 303 determinări din 306. Pentru 3 subiecți, rezultatele au fost prea apropiate de pragul acceptat pentru toate variațiile.

Diagnosticarea LTBI

Au fost publicate o serie de studii care demonstrează eficacitatea testului QFT, precursorul testului QFT-Plus, la diverse populații aflate sub risc de infecție cu MTB. Tabel 7 conține datele principale obținute dintr-o serie de studii selectate.

Tabel 7. Selecție de studii publicate cu privire la QFT

Populație/condiție	Rezultate și descoperiri	Numărul total de studii publicate
Pediatrie	Performanța dovedită la copii, inclusiv la copii cu vârsta sub 5 ani (45–46) cu o acuratețe mai ridicată decât IGRA bazată pe ELISpot (8). Cel mai amplu studiu de până acum care compară QFT și TST în rândul copiilor din Vietnam, Filipine și Mexic susține utilizarea preferențială a QFT comparativ cu TST la testarea copiilor născuți în alte țări pentru LTBI (46). Un studiu limitat vizând contactele indică o valoare predictivă mai bună decât TST la copii (47) și un risc de 8 ori mai mare de progresie spre tuberculoză în decurs de doi ani în rândul subiecților care au trecut la QFT față de cei care nu au făcut acest pas (48). Discordanța dintre rezultatele negative QFT și rezultatele pozitive TST este ridicată în rândul copiilor vaccinați BCG (46, 49), însă nu a existat niciun impact asupra răspunsului la Mitogen la copii cu vârsta sub 5 ani (49), înregistrându-se un număr mic de rezultate neconcludente în timpul screening-ului copiilor imigranți (46).	152
Sarcina	Într-un mediu cu risc scăzut, QFT înregistrează performanțe la fel de bune în fiecare trimestru de sarcină, cu rezultate comparabile cu femeile care nu sunt însărcinate, este mult mai precis, cel puțin la fel de sensibil și cu un grad de predicție aparent mai bun al progresiei bolii decât TST (50). Într-un mediu cu risc crescut, QFT s-a dovedit a fi mai stabil pe parcursul sarcinii și a aproximat mai îndeaproape prevalența de fundal a LTBI în comparație cu TST, cu toate că autorii au ajuns la concluzia că sarcina afectează atât QFT, cât și TST (51).	6

Continuare tabel pe pagina următoare

Tabel 7. Selecție de studii publicate cu privire la QFT (continuare)

Populație/condiție	Rezultate și descoperiri	Numărul total de studii publicate
HIV/SIDA	Atât IGRA, cât și TST sunt afectate de infecția cu HIV, iar dovezile existente sugerează că trebuie manifestată precauție la interpretarea rezultatelor în cazul persoanelor cu numărători CD4+ < 200 (52). QFT s-a dovedit a fi mai puțin afectat în comparație cu IGRA bazat pe ELISpot și TST (53–55). Vizita singulară în cazul IGRA rezolvă problema TST reprezentată de nivelurile scăzute de revenire la această populație (53).	101
Terapii imunosupresoare	QFT este mai puțin influențat de terapiile imunosupresoare decât TST și se corelează mai bine cu factorii de risc de TB (23, 27). QFT are o sensibilitate ridicată la pacienții cu boli reumatice (23, 56, 57) și o specificitate mai ridicată decât TST, reducând la minimum rezultatele fals pozitive și eliminând tratamentele necesare care se instaurează de obicei cu TST (23, 57, 58).	112
Profesioniști din domeniul sănătății	Specificitate superioară dovedită și mai puține rezultate fals pozitive comparativ cu TST și mai ieftin față de TST (59–62). Variabilitatea în jurul pragului este un rezultat așteptat în cadrul testelor seriale, ca urmare a pragului de dihotomie și a variabilității inerente ale unui test biologic (63). Studiile au indicat rate mai ridicate de conversie/reversie decât TST la testările seriale ale profesioniștilor cu risc scăzut din domeniul sănătății (64, 65). Centrul pentru Controlul și Prevenirea Bolilor al SUA recunoaște că criteriul îngăduitor de definire a conversiei IGRA poate duce la un nivel mai ridicat de conversie decât criteriile cantitative mai stricte ale TST, iar strategiile de retestare s-au dovedit a fi mai eficiente în gestionarea fenomenului de conversie/reversie (65–68).	111
Contacte cu TB	PPV și NPV mai crescute decât TST (47); avantajul vizitei unice în cazul persoanelor care tind să nu revină (63), o corelare mai bună la expunere (69), care este observată în mod special la persoanele vaccinate cu BCG și în rândul populațiilor din țările în care există programe de vaccinare BCG (70, 71).	89
Transplant	S-a dovedit a fi cel puțin la fel de eficient ca TST, însă a fost mai puțin influențat de bolile organice terminale decât TST (22).	23

Continuare tabel pe pagina următoare

Tabel 7. Selecție de studii publicate cu privire la QFT (continuare)

Populație/condiție	Rezultate și descoperiri	Numărul total de studii publicate
Diabet	Dovezi neconcludente dintr-un număr mic de publicații cu un număr limitat de subiecți. Un studiu dintr-o regiune cu risc scăzut a demonstrat că sensibilitatea QFT nu este compromisă de diabet la pacienții cu tuberculoză (72). Un studiu efectuat în Tanzania, o zonă cu risc crescut, care sugerează un impact negativ al diabetului asupra producției de IFN- γ , nu a luat în considerare coinfecțiile cu HIV și viermi paraziți (73). În cadrul unor studii efectuate în Vietnam, 838 de diabetici autodeclarați suspecți de tuberculoză pe baza radiografiilor pulmonare anormale sau confirmați prin cultură (n = 128), nivelul de răspuns pozitiv în cazul QFT a fost egal sau mai mare decât în cazul pragurilor TST de 10 și 15 mm (74).	9
Insuficiență renală în stadiu terminal	Rezultatele pozitive QFT se corelează mai bine cu factorii de risc pentru TB decât TST și se asociază în mai mică măsură cu BCG (75).	45
Migranți	Studiile demonstrează că, spre deosebire de TST, QFT nu este afectat de BCG și vârstă (74). QFT s-a dovedit a fi cea mai ieftină metodă (76). În mediile cu risc scăzut, majoritatea cazurilor de TB au provenit de la persoane născute în alte țări și din reactivări ale TB latente după sosire (77). Cel mai amplu studiu de până acum care compară QFT și TST în rândul copiilor imigranți susține utilizarea preferențială a QFT comparativ cu TST la testarea copiilor născuți în alte țări pentru infecția cu tuberculoză latentă (46).	29

Informații tehnice

Rezultate neconcludente

Rezultatele neconcludente sunt rare și pot fi legate de starea imunitară a individului care este testat, dar pot fi, de asemenea, legate de un număr de factori tehnici dacă instrucțiunile de mai sus nu sunt respectate.

Dacă sunt suspectate probleme tehnice legate de stocarea reactivului, recoltarea sângelui sau manipularea probelor de sânge, repetați întregul test QFT-Plus cu un specimen de sânge nou. Repetarea testului ELISA asupra probelor de plasmă stimulată poate fi realizată dacă este suspectată o spălare necorespunzătoare sau vreo abatere de la procedurile testului ELISA. Nu este de așteptat ca rezultatele neconcludente rezultate din valorile Mitogen scăzute sau valorile Nil ridicate să se schimbe la repetare, cu excepția cazului în care a survenit o eroare în timpul testului ELISA. Rezultatele neconcludente trebuie raportate ca atare. Medicii pot alege să recolteze un nou specimen sau să efectueze alte proceduri, în funcție de caz.

Probe de plasmă coagulate

În cazul în care apar cheaguri de fibrină în urma stocării pe termen lung a probelor de plasmă, centrifugați probele pentru a sedimenta substanța coagulată și a facilita pipetarea plasmei.

Ghid de depanare

Acest ghid de depanare poate fi util în rezolvarea oricăror probleme care pot apărea. Pentru informații suplimentare, consultați și Informațiile tehnice furnizate la adresa www.QuantiFERON.com. Pentru informații de contact, consultați coperta spate.

Depanarea problemelor survenite la kitul ELISA

Colorare nespecifică

Cauză posibilă	Soluție
a) Spălare insuficientă a plăcii	Spălați placa de cel puțin 6 ori cu 400 μl de soluție tampon de spălare pentru fiecare godeu. Pot fi necesare mai mult de 6 cicluri de spălare, în funcție de spălătorul utilizat. Este necesară o perioadă de înmuiere de cel puțin 5 secunde între cicluri.
b) Contaminare încrucișată a godeurilor ELISA	Aveți grijă când pipetați sau amestecați proba pentru a minimaliza riscul.
c) Trusa/componentele a(u) expirat	Asigurați-vă că utilizați trusa înaintea datei de expirare. Asigurați-vă că standardul și conjugatul concentrat 100x reconstituite sunt utilizate în cel mult trei luni de la data reconstituirii.
d) Soluția de substrat enzimatic este contaminată	Eliminați substratul dacă acesta se colorează în albastru. Asigurați-vă că utilizați rezervoare curate pentru reactivi.
e) Amestecarea plasmei în tuburile QFT-Plus înaintea recoltării	După centrifugare, evitați sub orice formă pipetarea prin aspirarea și eliberarea înapoi și repetați sau amestecarea plasmei înainte de recoltare. Aveți în permanență grijă să nu afectați materialul de pe suprafața gelului.

Valori scăzute ale densității optice a standardelor

Cauză posibilă	Soluție
a) Eroare la diluarea standardului	Asigurați-vă că diluțiile standardului din trusă sunt preparate corect, conform acestui prospect.
b) Eroare la pipetare	Asigurați-vă că pipetele sunt calibrate și utilizate conform instrucțiunilor producătorului.
c) Temperatură de incubare prea mică	Incubarea testului ELISA trebuie efectuată la temperatura camerei (22 ± 5 °C).
d) Timp de incubare prea scurt	Incubarea plăcii cu conjugat, standarde și probe trebuie să dureze 120 ± 5 minute. Soluția de substrat pentru enzime este incubată pe placă timp de 30 de minute.

Depanarea problemelor survenite la kitul ELISA

- | | |
|--|---|
| e) Filtru necorespunzător utilizat pentru cititorul de plăci | Placa trebuie citită la 450 nm, cu un filtru de referință între 620 și 650 nm. |
| f) Reactivii sunt prea reci | Toți reactivii, cu excepția conjugatului concentrat 100x, trebuie aduși la temperatura camerei înainte de începerea testării. Această operațiune durează aproximativ o oră. |
| g) Kitul/componentele a(u) expirat | Asigurați-vă că utilizați trusa înaintea datei de expirare. Asigurați-vă că standardul și conjugatul concentrat 100x reconstituite sunt utilizate în cel mult 3 luni de la data reconstituirii. |

Fond ridicat

- | Cauză posibilă | Soluție |
|---|---|
| a) Spălare incompletă a plăcii | Spălați placa de cel puțin 6 ori cu 400 μl de soluție tampon de spălare pentru fiecare godeu. Pot fi necesare mai mult de 6 cicluri de spălare, în funcție de spălătorul utilizat. Este necesară o perioadă de înmuiere de cel puțin 5 secunde între cicluri. |
| b) Temperatură de incubare prea mare | Incubarea testului ELISA trebuie efectuată la temperatura camerei (22 °C ± 5 °C). |
| c) Kitul/componentele a(u) expirat | Asigurați-vă că utilizați trusa înaintea datei de expirare. Asigurați-vă că standardul și conjugatul concentrat 100x reconstituite sunt utilizate în cel mult 3 luni de la data reconstituirii. |
| d) Soluție de substrat enzimatic este contaminată | Eliminați substratul dacă acesta se colorează în albastru. Asigurați-vă că utilizați rezervoare curate pentru reactivi. |

Curbă standard neliniară și variabilitate între duplicate

- | Cauză posibilă | Soluție |
|--|---|
| a) Spălare incompletă a plăcii | Spălați placa de cel puțin 6 ori cu 400 μl de soluție tampon de spălare pentru fiecare godeu. Pot fi necesare mai mult de 6 cicluri de spălare, în funcție de spălătorul utilizat. Este necesară o perioadă de înmuiere de cel puțin 5 secunde între cicluri. |
| b) Eroare la diluarea standardului | Asigurați-vă că diluțiile standardului sunt preparate corect, conform acestui prospect. |
| c) Omogenizare insuficientă | Amestecați bine reactivii prin răsturnarea acestora sau cu mișcări circulare înaintea adăugării lor pe plăcuță. |
| d) Tehnică de pipetare inconsecventă sau întrerupere în timpul configurării testului | Adăugarea probei și a standardului trebuie efectuată în mod continuu. Toți reactivii trebuie preparați înainte de a începe testul. |

Informațiile despre produs și îndrumările tehnice vă sunt puse la dispoziție gratuit de către QIAGEN, prin intermediul distribuitorului local sau al site-ului www.QuantiFERON.com.

Referințe

1. Andersen, P. et al. (2000) Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 356, 1099.
2. Balcells, M.E. et al. (2008) A comparative study of two different methods for the detection of latent tuberculosis in HIV-positive individuals in Chile. *Int. J. Infect. Dis.* 12, 645.
3. Bartalesi, F. et al. (2009) QuantiFERON-TB Gold and TST are both useful for latent TB screening in autoimmune diseases. *Eur. Respir. J.* 33, 586.
4. Bocchino, M. et al. (2008) Performance of two commercial blood IFN-gamma release assays for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in patient candidates for anti-TNF-alpha treatment. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 27,907.
5. Brock, I. et al. (2006) Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the *M. tuberculosis* specific interferon-gamma test. *Respir. Res.* 7, 56.
6. Chun, J.K. et al. (2008) The role of a whole blood interferon gamma assay for the detection of latent tuberculosis infection in bacille Calmette-Guerin vaccinated children. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 62, 389.
7. Connell, T.G. et al. (2008) A three-way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB gold and T-SPOT.TB in children. *PLoS ONE* 3, e2624. doi: 10.1371/journal.pone.0002624.
8. Detjen, A.K. et al. (2007) Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis. *Clin. Infect. Dis.* 45, 322.

-
9. Diel, R. et al. (2009) Comparative performance of tuberculin skin test, QuantiFERON-TB-Gold In-Tube assay, and T-Spot. TB test in contact investigations for tuberculosis. *Chest* 135, 1010.
 10. Diel, R. et al. (2008) Predictive value of a whole-blood IFN- γ assay for the development of active TB disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 177, 1164.
 11. Diel, R. et al. (2006) Tuberculosis contact investigation with a new, specific blood test in a low-incidence population containing a high proportion of BCG-vaccinated persons. *Respir. Res.* 7, 77.
 12. Dogra, S. et al. (2007) Comparison of a whole blood interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. *J. Infect.* 54, 267.
 13. Drobniowski, F. et al. (2007) Rates of latent tuberculosis in health care staff in Russia. *PLoS Med.* 4, e55.
 14. Gerogianni, I. et al. (2008) Whole-blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection in an unselected Greek population. *Respirology* 13, 270.
 15. Harada, N. et al. (2008) Comparison of the sensitivity and specificity of two whole blood interferon-gamma assays for *M. tuberculosis* infection. *J. Infect.* 56, 348.
 16. Higuchi, K. et al. (2009) Comparison of performance in two diagnostic methods for tuberculosis infection. *Med. Microbiol. Immunol.* 198, 33.
 17. Kang, Y.A. et al. (2005) Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. *JAMA* 293, 2756.

-
18. Katiyar, S.K. et al. (2008) Use of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test to monitor treatment efficacy in active pulmonary tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 12, 1146.
 19. Kipfer, B. et al. (2008) Tuberculosis in a Swiss army training camp: contact investigation using an Interferon gamma release assay. *Swiss. Med. Wkly.* 138, 267.
 20. Luetkemeyer, A. et al. (2007) Comparison of an interferon-gamma release assay with tuberculin skin testing in HIV-infected individuals. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 175, 737.
 21. Mackensen, F. et al. (2008) QuantiFERON TB-Gold - A new test strengthening long-suspected tuberculous involvement in serpiginous-like choroiditis. *Am. J. Ophthalmol.* 146, 761.
 22. Manuel, O. et al. (2007) Comparison of Quantiferon-TB Gold with tuberculin skin test for detecting latent tuberculosis infection prior to liver transplantation. *Am. J. Transplant.* 7, 2797.
 23. Matulis, G. et al. (2007) Detection of latent tuberculosis in immunosuppressed patients with autoimmune diseases performance of a *Mycobacterium tuberculosis* antigen specific IFN-gamma assay. *Ann. Rheum. Dis.* 67, 84.
 24. Mirtskhulava, V. et al. (2008) Prevalence and risk factors for latent tuberculosis infection among health care workers in Georgia. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 12, 513.
 25. Nakaoka, H. et al. (2006) Risk for tuberculosis among children. *Emerging Infect. Dis.* 12, 1383.
 26. Pai, M. et al. (2005) *Mycobacterium tuberculosis* infection in health care workers in rural India: comparison of a whole-blood, interferon-g assay with tuberculin skin testing. *JAMA* 293, 2746.

-
27. Ponce de Leon, D. et al. (2008) Comparison of an interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for detection of tuberculosis (TB) infection in patients with rheumatoid arthritis in a TB-endemic population. *J Rheumatol.* 35, 776.
 28. Richeldi, L. et al. (2008) Prior tuberculin skin testing does not boost QuantiFERON-TB results in paediatric contacts. *Eur. Respir. J.* 32, 524.
 29. Rothel, J.S. and Andersen, P. (2005) Diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: is the demise of the Mantoux test imminent? *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 3, 981.
 30. Schoepfer, A.M. et al. (2008) Comparison of interferon-gamma release assay versus tuberculin skin test for tuberculosis screening in inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol.* 103, 2799.
 31. Silverman, M.S. et al. (2007) Use of an interferon-gamma based assay to assess bladder cancer patients treated with intravesical BCG and exposed to tuberculosis. *Clin. Biochem.* 40, 913.
 32. Stebler, A. et al. (2008) Whole-blood interferon-gamma release assay for baseline tuberculosis screening of healthcare workers at a Swiss university hospital. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 29, 681.
 33. Turner, J. et al. (1996) Stimulation of human peripheral blood mononuclear cells with live *Mycobacterium bovis* BCG activates cytolytic CD8+ T cells in vitro. *Immunology* 87, 339.
 34. Brookes, R.H. et al. (2003) CD8+ T cell-mediated suppression of intracellular *Mycobacterium tuberculosis* growth in activated human macrophages. *Eur. J. Immunol.* 33, 3293.
 35. Stenger, S. et al. (1998) An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science* 282, 121.

-
36. Lalvani, A. et al. (1998) Human cytolytic and interferon gamma-secreting CD8+ T lymphocytes specific for *Mycobacterium tuberculosis*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95, 270.
 37. Lewinsohn, D.M. et al. (2001) Classically restricted human CD8+ T lymphocytes derived from *Mycobacterium tuberculosis*-infected cells: definition of antigenic specificity. J. Immunol. 166, 439.
 38. Lewinsohn, D.A. et al. (2007) Immunodominant tuberculosis CD8 antigens preferentially restricted by HLA-B. PLoS Pathol. 3, 1240.
 39. Day, C.L. et al. (2011) Functional capacity of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cell responses in humans is associated with mycobacterial load. J. Immunol. 187, 2222.
 40. Rozot, V. et al. (2013) *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD8+ T cells are functionally and phenotypically different between latent infection and active disease. Eur. J. Immunol. 43, 1568.
 41. Nikolova, M. et al. (2013) Antigen-specific CD4- and CD8-positive signatures in different phases of *Mycobacterium tuberculosis* infection. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 75, 277.
 42. Chicchio, T. et al. (2014) Polyfunctional T-cells and effector memory phenotype are associated with active TB in HIV-infected patients. J. Infect. doi: 10.1016/j.jinf.2014.06.009. Epub.
 43. Ongaya, A. et al. (2013) Mycobacterium tuberculosis-specific CD8+ T cell recall in convalescing TB subjects with HIV co-infection. Tuberculosis 93, S60.
 44. Lanicioni, C. et al. (2012) CD8+ T cells provide an immunologic signature of tuberculosis in young children. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 185, 206.

-
45. Long, G., Ji-Chun, M., Min, Jin-Long, L., Jin-Hui, T. (2014) Interferon- γ release assay for the diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in children younger than 5 years: a meta-analysis. Clin. Pediatr. 53, 1255.
 46. Howley, M.M. et al. (2015) Evaluation of QuantiFERON-TB Gold In-Tube and tuberculin skin tests among immigrant children being screened for latent tuberculosis infection. Ped. Infect. Dis. 34, 35.
 47. Diel, R., Loddenkember, R., Niemann, S., Meywald-Walter, K., and Nienhaus, A. (2011) Negative and positive predictive value of a whole-blood interferon- γ release assay for developing active tuberculosis. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 183, 88.
 48. Machingadaize, S. et al. (2012) Predictive value of recent QuantiFERON conversion for tuberculosis disease in adolescents. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 186, 1051.
 49. Riazi, S. et al. (2012) Rapid diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children using interferon-gamma release assays (IGRAs). Allergy Asthma Proc. 33, 217.
 50. Lighter-Fisher, J. and Surette, A-M. (2012) Performance of an interferon-gamma release assay to diagnose latent tuberculosis infection during pregnancy. Obstet. Gynecol. 119, 1088.
 51. Mathud, J.S. et al. (2014) Pregnancy differentially impacts performance of latent tuberculosis diagnostics in a high-burden setting. PLoS ONE 9, e92308.
 52. Hoffman, M. and Ravn, P. (2010) The use of interferon-gamma release assays in HIV-positive individuals. Eur. Infect. Dis. 4, 23.
 53. Cheallagh, C.N. et al. (2013) Interferon gamma release assays for the diagnosis of latent TB infection in HIV-infected individuals in a low TB burden country. PLoS ONE 8, e53330.














-
54. Ramos, J. M. et al. (2012) Contribution of interferon gamma release assays testing to the diagnosis of latent tuberculosis infection in HIV-infected patients: A comparison of QuantiFERON-TB gold in tube, T-SPOT.TB and tuberculin skin test. *BMC Infect. Dis.* 12, 169.
 55. Wolf, T. et al. (2013) Tuberculosis skin test, but not interferon- γ releasing assays is affected by BCG vaccination in HIV patients. *J. Infect.* 66, 376.
 56. Hsia, E.C. et al. (2012) Interferon- γ release assay versus tuberculin skin test prior to treatment with golimumab, a human anti-tumor necrosis factor antibody, in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, or ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum.* 64, 2068.
 57. Garcovich, S. et al. (2012) Clinical applicability of QuantiFERON-TB-Gold testing in psoriasis patients during long-term anti-TNF-alpha treatment: a prospective, observational study. *J. Eur. Acad. Dermatol. Ven.* 26, 1572.
 58. Kwakernaak, A.J. et al. (2011) A comparison of an interferon-gamma release assay and tuberculin skin test in refractory inflammatory disease patients screened for latent tuberculosis prior to the initiation of a first tumor necrosis factor α inhibitor. *Clin. Rheumatol.* 30, 505.
 59. Vinton, P. et al. (2009) Comparison of QuantiFERON-TB Gold In-Tube test and tuberculin skin test for identification of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in healthcare staff and association between positive test results and known risk factors for infection. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 30, 215.
 60. de Perio, M.A., Tsevat, J., Roselle, G.A., Kralovic, S.M., and Eckman, M.H. (2009) Cost-effectiveness of interferon gamma release assays vs tuberculin skin tests in health care workers. *Arch. Intern. Med.* 169, 179.

-
61. Nienhaus, A. et al. (2008) Evaluation of the interferon- γ release assay in healthcare workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 81, 295.
 62. Nienhaus, A. et al. (2011) Systematic review of cost and cost-effectiveness of different TB-screening strategies. *BMC Health Serv. Res.* 11, 247.
 63. Centers for Disease Control and Prevention (2010) Updated guidelines for using interferon-gamma release assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection — United States, 2010. *MMWR Recomm. Rep.* 59 (RR-5), 1.
 64. Dorman, S.E. et al. (2014) Interferon- γ release assays and tuberculin skin testing for diagnosis of latent tuberculosis infection in healthcare workers in the United States. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 189, 77.
 65. Fong, K.S. et al. (2012) Challenges of interferon-gamma release assay conversions in serial testing of health care workers in a tuberculosis control program. *Chest* 142, 55.
 66. Thanassi, W. et al. (2012) Delineating a retesting zone using receiver operating characteristic analysis on serial QuantiFERON tuberculosis test results in US healthcare workers. *Pulm. Med.* doi: 10.1155/2012/291294. Epub.
 67. Behrman, A. et al. (2013) Protecting Health Care Workers from Tuberculosis, 2013: ACOEM Medical Center Occupational Health Section Task Force on Tuberculosis and Health Care Workers. *J. Occup. Environ. Med.* 55, 985.
 68. Nienhaus, A., Ringshausen, F.C., Costa, J.T, Schablon, A., and Tripodi, D. (2013) IFN- γ release assay versus tuberculin skin test for monitoring TB infection in healthcare workers. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 11, 37.
 69. Arend, S.M. et al. (2007) Comparison of two interferon-gamma assays and tuberculin skin test for tracing TB contact. *Amer. J. Respir. Crit. Care Med.* 175, 618.

-
70. Mandalakas, A.M., Detjen, A.K., Hesselning, A.C., Benedetti, A., and Menzies, D. (2011) Interferon-gamma release assays and childhood tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15, 1018.
 71. Grinsdale, J.A., Ho, C.S., Banouvong, H., Kwamura, L.M. (2011) Programmatic impact of using QuantiFERON-TB Gold in routine contact investigation activities. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15, 1614.
 72. Walsh, M.C. et al. (2011) Sensitivity of interferon- γ release assays is not compromised in tuberculosis patients with diabetes. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15, 179.
 73. Faurholt-Jespén, D. et al. (2014) Diabetes is associated with lower tuberculosis antigen-specific interferon gamma release in Tanzanian tuberculosis patients and non-tuberculosis controls. *Scand. J. Infect. Dis.* 46, 384.
 74. Painter, J.A. et al. (2013) Tuberculosis screening by tuberculosis skin test or QuantiFERON-TB Gold In-Tube Assay among an immigrant population with a high prevalence of tuberculosis and BCG vaccination. *PLoS ONE* 8, e82727.
 75. Rogerson, T.E. et al. (2012) Tests for latent tuberculosis in people with ESRD: a systematic review. *Amer. J. Kidney Dis.* 61, 33.
 76. Pareek, M. et al. (2013) Community-based evaluation of immigrant tuberculosis screening using interferon γ release assays and tuberculin skin testing: observational study and economic analysis. *Thorax.* 68, 230.
 77. CDC, Tuberculosis — United States, 2018.
https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/68/wr/mm6811a2.htm?s_cid=mm6811a2_w
Accessed 22 March 2019.

Simboluri

Pe ambalaj și pe etichete pot apărea următoarele simboluri:

Simbol	Definiția simbolului
 2 × 96	Suficiente pentru 2 × 96 preparări de probe
	Producător legal
	Simbol marcat CE-IVD
	A se utiliza pentru diagnosticarea in vitro
	Cod lot
	Număr catalog
	Număr de comercializare global articol
	Termen de valabilitate
	Limitări de temperatură
	Consultați instrucțiunile de utilizare
	A nu se refolosi
	A se păstra ferit de razele soarelui
	Număr material
Rn	R reprezintă revizuirea Instrucțiunilor de utilizare, iar n este numărul revizuirii

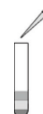
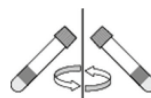
Date de contact

Pentru asistență tehnică și mai multe informații, sunați la numărul gratuit 00800-22-44-6000, vizitați siteul web al Centrului de Asistență Tehnică la **www.qiagen.com/contact** sau contactați unul dintre Departamentele de Servicii Tehnice QIAGEN (afișate pe verso și pe site-ul web **www.qiagen.com**).

Procedura de testare pe scurt

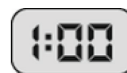
Etapa 1 — incubarea sângelui

1. Recoltați sângele pacientului în tuburile de recoltare a sângelui și agitați tuburile de zece (10) ori cu suficientă fermitate pentru a vă asigura că întreaga suprafață interioară a tubului este acoperită cu sânge. Astfel, antigenii de pe pereții tubului se vor dizolva.
2. Incubați tuburile în poziție verticală la $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ timp de 16 până la 24 de ore.
3. După incubare, centrifugați tuburile timp de 15 minute la 2.000 până la $3.000 \times g$ RCF (g) pentru a separa plasma și hematiile.
4. După centrifugare, evitați sub orice formă pipetarea prin aspirarea și eliberarea înapoi și repetați sau amestecarea plasmei înainte de recoltare. Aveți în permanență grijă să nu afectați materialul de pe suprafața gelului.



Etapa 2 – testul IFN- γ ELISA

1. Acclimatizați componentele kitului ELISA, cu excepția conjugatului concentrat 100x, la temperatura camerei ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) timp de cel puțin 60 de minute.
2. Reconstituiți standardul din kit la o concentrație de 8,0 UI/ml cu apă distilată sau deionizată. Preparați patru (4) diluții ale standardului.
3. Reconstituiți conjugatul concentrat 100x liofilizat cu apă distilată sau deionizată.



4. Preparați conjugatul în concentrație de lucru în Diluant verde și adăugați 50 μl în toate godeurile.



5. Adăugați 50 μl din probele de plasmă pentru testare și 50 μl de standarde în godeurile corespunzătoare. Amestecați folosind agitatorul.

6. Incubați timp de 120 ± 5 de minute la temperatura camerei.



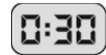
7. Spălați godeurile de cel puțin 6 ori cu 400 μl de soluție tampon de spălare pentru fiecare godeu.



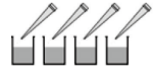
8. Adăugați 100 μl de Soluție de substrat enzimatic în godeuri. Amestecați folosind agitatorul.



9. Incubați timp de 30 de minute la temperatura camerei.



10. Adăugați 50 μl de Soluție de inhibitor enzimatic în toate godeurile. Amestecați folosind agitatorul.



11. Citiți rezultatele la 450 nm folosind un filtru de referință între 620 și 650 nm.



12. Analizați rezultatele.



Modificări semnificative

Secțiune	Pagină	Modificare/Modificări
Diverse	Diverse	Adăugarea instrucțiunilor referitoare la utilizarea tubului cu litiu-heparină sau heparină sodică
Diverse	Diverse	Adăugarea instrucțiunilor referitoare la fluxul de lucru de recoltare a sângelui la 2-8 °C
Diverse	Diverse	Capacul plăcii este acum un material necesar, dar nefurnizat

Istoricul revizuirilor manualului

Document	Modificări
R6 04/2019	Modificări litiu-heparină/heparină sodică Instrucțiuni de lucru noi pentru fluxul de lucru pentru recoltarea sângelui la 2-8 °C Capacele plăcilor au fost eliminate din plăcile QF

Mărci comerciale: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (Grupul QIAGEN); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProCin® (Rohm and Haas Co.).

Acord de licență limitată pentru QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA

Utilizarea acestui produs înseamnă acceptarea următorilor termeni de către orice cumpărător sau utilizator al produsului:

1. Produsul poate fi utilizat doar în conformitate cu protocoalele furnizate împreună cu produsul și prezentul prospect și doar împreună cu componentele incluse în trusă. QIAGEN nu acordă nicio licență pentru niciuna dintre proprietățile sale intelectuale în vederea utilizării sau încorporării componentelor incluse în acest panou cu nicio componentă care nu este inclusă în acest kit, dacă nu este precizat astfel în protocoalele furnizate împreună cu produsul, în prezentul manual și acest prospect.
2. În afară de licențele acordate în mod explicit, QIAGEN nu garantează sub nicio formă că acest panou și/sau utilizarea (utilizările) acestuia nu încalcă drepturile terților.
3. Această trusă și componentele sale sunt licențiate pentru o singură utilizare și nu pot fi reutilizate, recondiționate sau revândute, în afara cazului unei prevederi speciale QIAGEN.
4. QIAGEN declină în mod specific orice licențe, explicite sau implicite, altele decât cele declarate în mod explicit.
5. Cumpărătorul și utilizatorul trusei acceptă să nu ia măsuri și să nu permită niciunei persoane să ia măsuri care ar putea conduce la sau facilita oricare dintre acțiunile interzise prezentate mai sus. QIAGEN poate pune în aplicare interdicțiile din acest Acord de licență limitată în orice instanță și va recupera toate costurile anchetelor și cheltuielile de judecată, inclusiv onorariile avocaților, în orice acțiune pentru aplicarea acestui Acord de licență limitată sau a oricăruia dintre drepturile sale de proprietate intelectuală legate de kit și/sau componentele acestuia.

Pentru termenii actualizați ai licenței, consultați www.qiagen.com.

© 2019 QIAGEN, toate drepturile rezervate.

www.QuantiFERON.com

Asia-Pacific | techservice-ap@qiagen.com

Europa | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Orientul Mijlociu/Africa | techserviceQFT-eu@qiagen.com

America Latină (nu include Brazilia și Mexic) | techservice-latam@qiagen.com

Note

Note

