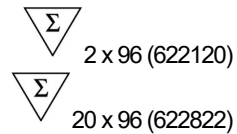


2019 m. balandis

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



1 versija

IVD

Skirta *in vitro* diagnostikai

Viso kraujo IFN- γ testas reakcijai į ESAT-6 ir CFP-10 peptidų antigenus nustatyti



REF

622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
Vokietija

R6 **MAT**

1083163LT

Turinys

Numatytoji paskirtis	5
Testo santrauka ir paaiškinimas	5
Tyrimo principai	7
Tyrimo trukmė	9
Komponentai ir laikymo sąlygos	10
Būtinoms, bet nepateikiamoms priemonėms	12
Bandinio laikymas ir naudojimas	13
Kraujo surinkimo mėgintuvėliai	13
Komplekto reagentai	13
Atkurti ir nepanaudoti reagentai	13
Įspėjimai ir atsargumo priemonės	14
Įspėjimai	14
Atsargumo priemonės	15
Mėginių paėmimas ir apdorojimas	18
Naudojimo instrukcija	24
1 etapas. Kraujo mėginio inkubavimas ir plazmos paėmimas	24
2 etapas. IFN- γ ELISA	25
Skaičiavimas ir rezultatų aiškinimas	30
Standarto kreivės sudarymas	30
Testo kokybės patikrinimas	31

Rezultatų aiškinimas	31
Apribojimai.....	34
Našumo charakteristikos	35
Klinikiniai tyrimai.....	35
Tyrimo atlikimo charakteristikos	41
Techninė informacija	46
Neaiškūs rezultatai.....	46
Sukrešęje plazmos mėginiai.....	46
Trikčių šalinimo vadovas	47
Literatūra	49
Simboliai.....	58
Kontaktinė informacija	59
Trumpas testo procedūros aprašas.....	60
1 etapas. Kraujo mėginio inkubavimas.....	60
2 etapas. IFN- γ ELISA.....	60
SVARBŪS PAKEITIMAI	62
Vadovo peržiūros istorija	62

Numatytoji paskirtis

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) tyrimas yra *in vitro* diagnostinis testas, kurį sudaro peptidų mišinys, imituojantis ESAT-6 ir CFP-10 proteinus, kad būtų stimuliuojamos ląstelės visame heparinizuotame kraujyje. Interferono- γ (IFN- γ) nustatymas imunofermentinės analizės (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) metodu naudojamas nustatant kiekį *in vitro* reakcijų į šiuos peptidų antigenus, kurie siejami su *Mycobacterium tuberculosis* infekcija.

QFT-Plus yra netiesioginis testas, skirtas *M. tuberculosis* infekcijai (įskaitant ligai) nustatyti. Testas turi būti naudojamas atsižvelgiant į rizikos įvertinimą, rentgeno tyrimus ir kitus medicininius ir diagnostinius tyrimus.

Testo santrauka ir paaiškinimas

Tuberkuliozė yra užkrečiama liga, kurią sukelia infekcija su *M. tuberculosis* (MTB) komplekso (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*) organizmais. Nuo asmenų, kurie serga kvėpavimo takų tuberkulioze, paprastai užsikrečiama lašelinės infekcijos būdu. Naujai infekuotiems asmenims savaičių ar mėnesių laikotarpiu gali pasireikšti tuberkuliozės liga, bet didžiąjai infekuotų asmenų daliai nepasireiškia jokie simptomai. Kai kuriems išlieka latentinė tuberkuliozės infekcija (LTBI), t. y. neužkrečiama besimptomė liga, kurios aktyvi forma gali pasireikšti tik po mėnesių ar metų. Pagrindinis tikslas nustačius LTBI yra tinkamas gydymas, siekiant užkirsti kelią susirgti tuberkulioze. Dar visai neseniai tuberkulino odos testas (TOT) (angl. tuberculin skin test, TST) buvo vienintelis turimas metodas LTBI diagnozuoti. Odos jautrumas tuberkulinui atsiranda praėjus 2–10 savaičių po užsikrėtimo. Tačiau kai kuriems infekuotiems asmenims reakcija į tuberkuliną nepasireiškia, pavyzdžiui, pacientams, kurių imuninės sistemos veikla sutrikusi dėl kitų ligų arba neturintiems tokių sutrikimų. Atvirkščiai, kai kurie asmenys, kurie iš tikrųjų nėra infekuoti *M. tuberculosis*, paskiepyti Bacille Calmette-Guérin (BCG) ir būdami užsikrėtę kitomis, o ne *M. tuberculosis* komplekso mikobakterijomis

ar dėl kitų nežinomų faktorių yra jautrūs tuberkulinui. Jiems atlikus TST testą yra gaunamas teigiamas rezultatas.

LTBI reikia skirti nuo tuberkuliozės ligos, kurią būtina registruoti ir kuri įprastai apima plaučius ir apatinius kvėpavimo takus, tačiau gali būti paveiktos ir kitos organų sistemos. Tuberkuliozės liga yra diagnozuojama remiantis istorinių, fizinių, radiologinių, histologinių ir mikobakteriologinių tyrimų rezultatais.

QFT-Plus testas matuoja ląstelių perduotą imunologinį atsakymą (cell-mediated immune, CMI) į peptido antigenus, kurie imituoja mikobakterinius proteinus. Proteinų ESAT-6 ir CFP-10 nėra jokiose BCG atmainose ir daugumoje netuberkuliozinių mikobakterijų, išskyrus *M. kansasii*, *M. szulgai* ir *M. marinum* (1). MTB komplekso organizmais užsikrėtę asmenys paprastai kraujyje turi limfocitų, kurie atpažįsta šiuos ir kitus mikobakterijų antigenus. Šis atpažinimo procesas apima citokino, IFN- γ , generavimą ir sekreciją. IFN- γ aptikimas ir tolesnis jo formų kiekybinis įvertinimas sudaro šio testo pagrindą.

QFT-Plus teste panaudoti antigenai yra peptidų mišinys, kuris imituoja proteinus ESAT-6 ir CFP-10. Daugelis atliktų tyrimų parodė, kad šie peptido antigenai imituoja IFN- γ reakciją *M. tuberculosis* infekuotų asmenų T ląstelėse, kitaip nei T ląstelėse neinfekuotų arba BCG vakcinuotų asmenų, nesergančių tuberkuliozės liga arba neturinčių LTBI rizikos (1–32). Tačiau dėl medicininio gydymo arba susirgimų, kurie kenkia imuninei funkcijai, IFN- γ reakcija gali potencialiai sumažėti. Pacientai, užsikrėtę tam tikromis kitomis mikobakterinėmis infekcijomis, gali taip pat reaguoti į ESAT-6 ir CFP-10, nes genų, užkoduočių šių proteinų, yra ir *M. kansasii*, *M. szulgai* ir *M. marinum* (1, 23). Todėl QFT-Plus testas yra vertinga pagalba nustatant *M. tuberculosis* komplekso infekcijos diagnozę sergantiems pacientams. Teigiamas testo rezultatas pagrindžia tuberkuliozės ligos diagnozę, tačiau ir kitos mikobakterijos (pvz., *M. kansasii*) gali lemti teigiamą rezultatą. Kad būtų patvirtinta arba paneigta tuberkuliozės ligos diagnozė, būtina atlikti kitus medicininius ir diagnostinius tyrimus.

QFT-Plus teste yra du skirtingi TB antigenų mėgintuvėliai: TB Antigen Tube 1 (TB1) ir TB Antigen Tube 2 (TB2). Abiejuose mėgintuvėliuose yra peptido antigenų iš su MTB kompleksu

susijusių antigenų, ESAT-6 ir CFP-10. TB1 mėgintuvėlyje yra peptidų iš ESAT-6 ir CFP-10, kurie skirti CMI reakcijai išgauti iš CD4⁺ T pagalbinių limfocitų, o TB2 mėgintuvėlyje yra papildomas rinkinys peptidų, skirtų CMI reakcijų iš CD8⁺ citotoksiškų T limfocitų sukėlimui. Natūralioje MTB infekcijos istorijoje CD4⁺ T ląstelės vaidina lemiamą imunologinio valdymo vaidmenį, atlikdamos citokino IFN- γ sekreciją. Dabar CD8⁺ T ląstelių vaidmuo dalyvaujant asmens apsaugoje nuo MTB yra patvirtintas įrodymais – jos inicijuoja IFN- γ ir kitus sprendžiamuosius faktorius, kurie suaktyvina makrofagus, kad jie stabdytų MTB augimą, naikintų infekuotas ląsteles arba tiesiogiai lizuotų MTB ląstelių viduje (33–35). MTB būdingos CD8⁺ ląstelės buvo aptiktos tiriant LTBI turinčius ir aktyvia TB liga sergančius asmenis, kuriuos tiriant gali būti dažnai randamos IFN- γ gaminančios CD8⁺ ląstelės (36–38). Be to, aprašyta, kad ESAT-6 ir CFP-10 būdingi CD8⁺ T limfocitai dažniau aptinkami tiriant asmenis, sergančius aktyvia TB liga, negu turinčius LTBI, ir gali būti siejami su nesenu MTB poveikiu (39–41). MTB būdingos CD8⁺ T ląstelės, gaminančios IFN- γ , taip pat buvo aptiktos tiriant aktyvia TB sergančius subjektus, kartu turinčius ir ŽIV infekciją (42, 43), ir mažus vaikus, sergančius TB liga (44).

Tyrimo principai

QFT-Plus tyrime naudojami specialūs kraujo surinkimo mėgintuvėliai, kuriais surenkami viso kraujo mėginiai. Kraujo surinkimo mėgintuvėliuose inkubavimas trunka nuo 16 iki 24 valandų. Tada paimama plazma ir patikrinama, ar joje yra IFN- γ , kuris susidarė reakcijos į peptido antigenus metu.

QFT-Plus testas atliekamas dviem etapais. Pirmiausia viso kraujo mėginys surenkamas į kiekvieną QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlį, tarp kurių yra Nil mėgintuvėlis, TB1 mėgintuvėlis, TB2 mėgintuvėlis ir Mitogen mėgintuvėlis. Antra vertus, kraują galima surinkti naudojant vieną įprastą kraujo surinkimo mėgintuvėlį, pripildytą ličio heparino arba natrio heparino, kuris veikia kaip antikoaguliantas, tada perpilti į QFT-Plus mėgintuvėlius.

Mitogen mėgintuvėlis atliekant QFT-Plus testą naudojamas kaip teigiama kontrolė. Tai gali būti svarbu, jei asmens imuninės sistemos būseną nėra aiški. Mitogen mėgintuvėlis taip pat gali būti panaudotas kaip kontrolė siekiant tinkamai apdoroti ir inkubuoti kraują.

QFT-Plus mėgintuvėliai pakratomi, kad antigenas susimaišytų su krauju ir turi būti inkubuojami kuo greičiau (per 16 valandų nuo paėmimo) 37 °C temperatūroje. Po 16–24 valandų inkubavimo mėgintuvėliai centrifuguojami. Tada plazma atskiriama ir ELISA metodu nustatomas IFN- γ (IU/ml) kiekis. QFT-Plus ELISA naudojamas žmogaus IFN- γ standard, kuris tiriamas lyginant su nuorodiniu IFN- γ paruošimu (NIH nuorod.: Gxg01-902-535). Testo mėginio rezultatai pateikiami tarptautiniais vienetais mililitre (IU/ml), atitinkančiais standarto kreivę, paruoštą tiriant su rinkiniu pateikto standarto skiedinį.

Tam tikrų asmenų serume arba plazmoje esantys heterofiliniai (pvz., žmogaus prieš pelių) antikūnai žinomi kaip imunologinių tyrimų trukdžiai. Heterofilinių antikūnų poveikis QFT-Plus ELISA tyrimui sumažinamas į žalią skiediklį pridėdant įprasto pelių serumo ir naudojant monokloninių antikūnų F(ab')₂ fragmentus kaip IFN- γ fiksavimo antikūnus, dengiančius mikroplokšteles.

QFT-Plus tyrimas yra laikomas teigiamu pagal IFN γ reakciją į TB antigenų mėgintuvėlį, jei ši reikšmė gerokai viršija Nil kontrolės IFN- γ IU/ml reikšmę. Mitogen mėgintuvėlio plazmos mėginys taikomas kaip kiekvieno tiriamo bandinio IFN- γ teigiama kontrolė. Silpna reakcija į Mitogen (< 0,5 IU/ml) vertinama kaip neaiškus rezultatas, kai kraujo mėginys parodo neigiamą reakciją ir į TB antigenus. Toks modelis gali būti taikomas esant nepakankamam limfocitų skaičiui, esant sumažėjusiam limfocitų aktyvumui dėl netinkamo bandinių apdoravimo, netinkamo Mitogen mėgintuvėlio užpildymo arba jo maišymo arba tada, kai paciento limfocitai negali gaminti IFN- γ . Padidėjusi IFN- γ koncentracija Nil mėginyje gali būti dėl heterofilinių antikūnų arba vidinės IFN- γ sekrecijos. Nil mėgintuvėlis koreguoja foną (pvz., padidėjusią cirkuliuojančio IFN- γ koncentraciją arba heterofilinių antikūnų buvimą). Nil mėgintuvėlio IFN- γ lygio reikšmė atimama iš TB antigenų mėgintuvėlių ir Mitogen mėgintuvėlio IFN- γ lygio reikšmės.

Tyrimo trukmė

Toliau rasite informaciją apie apytiksliai nustatytą QFT-Plus ELISA tyrimo trukmę, taip pat apie reikiamą laiką testuojant mėginių paketą:

Kraujo mėgintuvėlių inkubavimas

37 °C temperatūroje: nuo 16 iki 24 val.

ELISA: apie 3 val. vienai ELISA plokštei

(22 asmenys)

< 1 val. darbo

plius 10–15 min. kiekvienai papildomai plokštei

Komponentai ir laikymo sąlygos

Kraujo surinkimo mėgintuvėliai*		200 mėgintuvėlių	Pakuotė vienam pacientui	Dalytuvo pakuotė	200 HA mėgintuvėlių	HA pakuotė vienam pacientui	HA dalytuvo pakuotė
Katalogo nr.		622526	622222	622423	623526	623222	623423
Testų / paketų skaičius		50	10	25	50	10	25
QuantiFERON Nil Tube (pilkas dangtelis, baltas žiedas)	Nil	50 mėgintuvėlių	10 mėgintuvėlių	25 mėgintuvėliai			
QuantiFERON TB1 Tube (Žalias dangtelis, baltas žiedas)	TB1	50 mėgintuvėlių	10 mėgintuvėlių	25 mėgintuvėliai			
QuantiFERON TB2 Tube (geltonas dangtelis, baltas žiedas)	TB2	50 mėgintuvėlių	10 mėgintuvėlių	25 mėgintuvėliai			
QuantiFERON Mitogen Tube (violetinis dangtelis, baltas žiedas)	Mitogen	50 mėgintuvėlių	10 mėgintuvėlių	25 mėgintuvėliai			
QuantiFERON Nil HA Tube (pilkas dangtelis, geltonas žiedas)	Nil HA				50 mėgintuvėlių	10 mėgintuvėlių	25 mėgintuvėliai
QuantiFERON TB1 HA Tube (Žalias dangtelis, geltonas žiedas)	TB1 HA				50 mėgintuvėlių	10 mėgintuvėlių	25 mėgintuvėliai
QuantiFERON TB2 HA Tube (geltonas dangtelis, geltonas žiedas)	TB2 HA				50 mėgintuvėlių	10 mėgintuvėlių	25 mėgintuvėliai
QuantiFERON Mitogen HA Tube (violetinis dangtelis, geltonas žiedas)	Mitogen HA				50 mėgintuvėlių	10 mėgintuvėlių	25 mėgintuvėliai
QFT-Plus Blood Collection Tubes pakuotės informacinis lapelis		1	1	1	1	1	1

* Kai kuriose šalyse tam tikros produkto konfigūracijos gali būti neprieinamos. Daugiau informacijos apie tai, kokias konfigūracijas galima užsakyti, žr. QIAGEN klientų aptarnavimo informaciją (išsami informacija www.qiagen.com).

ELISA komponentai†	2 plokštelių kompleksas ELISA	Pakuotė referencinėms laboratorijoms
Katalogo nr.	622120	622822
Microplate Strips (mikroplokštelių juostelės) (12 × 8 duobutės), padengtos pelių monokloniniais antikūnais prieš žmogaus IFN γ)	2 mikroplokštelių juostelės su 96 duobutėmis	20 mikroplokštelių juostelių su 96 duobutėmis
IFN- γ Standard (IFN- γ standartas), liofilizuotas (sudėtyje yra rekombinantinio žmogaus IFN- γ , galvijų kazeino, 0,01 % w/v timerosalio)	1 buteliukas (8 IU/ml po atkūrimo)	10 buteliukų (8 IU/ml po atkūrimo)
Green Diluent (žalias skiediklis) (sudėtyje yra galvijų kazeino, normalaus pelių serumo, 0,01 % w/v timerosalio)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (konjugato 100x koncentratas), liofilizuotas (pelių prieš žmogaus IFN- γ HRP; sudėtyje yra 0,01 % w/v timerosalio)	1 × 0,3 ml (po atkūrimo)	10 × 0,3 ml (po atkūrimo)
Wash Buffer 20x Concentrate (plovimo buferio 20x koncentratas) (pH 7,2; sudėtyje yra 0,05 % v/v „ProClin® 300“)	1 × 100 ml	10 × 100 ml
Enzyme Substrate Solution (fermento substrato tirpalas) (sudėtyje yra H $_2$ O $_2$, 3,3', 5,5' tetrametilbenzidino)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Enzyme Stopping Solution (fermento stabdymo tirpalas) (sudėtyje yra 0,5 M H $_2$ SO $_4$)	1 × 15 ml	10 × 15 ml
QFT-Plus ELISA pakuotės informacinis lapelis	1	1

† Atsargumo ir pavojingumo frazės rasite 15.

Būtinoms, bet nepateikiamoms priemonėms

- 37°C ± 1°C inkubatorius* CO₂ neturi reikšmės
- Kalibruotos reguliuojamojo tūrio pipetės* (nuo 10 µl iki 1000 µl) su vienkartiniais antgaliais
- Kalibruota daugiakanalė 50 µl iki 100 µl pipetė* su vienkartiniais antgaliais
- Plokštelės dangtelis
- Mikroplokštelių kratytuvas*
- Dejonizuotas arba distiliuotas vanduo (2 litrai)
- Mikroplokštelių plovimo aparatas (rekomenduojamas automatizuotas plovimo aparatas)
- Skaitymo įrenginys* mikroplokštelėms su 450 nm filtru ir 620–650 nm referencijos filtru

* Įsitikinkite, kad visi instrumentai patikrinti ir sukalibruoti pagal gamintojo rekomendacijas.

Bandinio laikymas ir naudojimas

Kraujo surinkimo mėgintuvėliai

- Kraujo surinkimo mėgintuvėlius laikykite nuo 4–25 °C temperatūroje.

Komplekto reagentai

- Komplekto reagentus laikykite šaldytuve, 2–8 °C temperatūroje.
- Fermento substrato tirpalą visada saugokite nuo tiesioginių saulės spindulių.

Atkurti ir nepanaudoti reagentai

Nurodymus, kaip atkurti reagentus, žr. 26 psl.

- Sandėliuojant 2–8 °C temperatūroje, atkurtas komplekto standartas gali būti laikomas iki 3 mėnesių.

Užrašykite komplekto standarto atkūrimo datą.

- Nepanaudotas konjugato 100× koncentratas po atkūrimo turi būti vėl sandėliuojamas 2–8 °C temperatūroje ir sunaudojamas per 3 mėnesius.

Užrašykite konjugato atkūrimo datą.

- Naudoti paruoštas konjugatas turi būti sunaudojamas per 6 valandas nuo paruošimo.
- Naudoti paruoštą plovimo buferį kambario temperatūroje galima laikyti ne ilgiau nei 2 savaites.

Įspėjimai ir atsargumo priemonės

Skirta tik *in vitro* diagnostikai.

Įspėjimai

- Neigiamas QFT-Plus testo rezultatas neatmeta *M. tuberculosis* infekcijos ar tuberkuliozės ligos buvimo tikimybės; klaidingus neigiamus rezultatus gali nulemti infekcijos fazė (pvz., kai bandinys yra surinktas prieš ląstelinės imuninės reakcijos pasireiškimą), imuninės funkcijos sutrikimai dėl kitų ligų, netinkamas mėgintuvėlių apdorojimas po kraujo surinkimo, neteisingas testo atlikimas arba kiti imunologiniai pakitimai.
- Teigiamas QFT-Plus testo rezultatas neturėtų būti vienintelis pagrindas priimant sprendimą dėl *M. tuberculosis* infekcijos buvimo. Neteisingai atliekant testą gali būti gauti klaidingai teigiami rezultatai.
- Teigiamas QFT-Plus testo rezultatas turi būti patvirtintas atliekant tolesnius medicininius ir diagnostinius tyrimus; taip galima nustatyti, ar sergama aktyvia tuberkuliozės forma (pvz., AFB tepinėlis ir kultūra, krūtinės ląstos rentgenograma).
- Nors ESAT-6 ir CFP-10 nėra BCG atmainose ir didžiojoje žinomų netuberkuliozinių mikobakterijų dalyje, tačiau QFT-Plus testo teigiamo rezultato pagrindas gali būti *M. kansasii*, *M. szulgai* arba *M. marinum* infekcija. Jeigu tokia infekcija įtariama, turi būti atlikti alternatyvūs testai.

Atsargumo priemonės

Dirbdami su cheminėmis medžiagomis būtinai dėvėkite tinkamą laboratorinį chalata, mūvėkite vienkartinės pirštines ir užsidėkite apsauginius akinius. Daugiau informacijos rasite atitinkamuose saugos duomenų lapuose (Safety Data Sheets, SDS). Jie pateikiami patogiu ir kompaktišku PDF formatu internete svetainėje www.qiagen.com/safety – čia galite rasti, peržiūrėti ir išspausdinti kiekvieno QIAGEN rinkinio ir jų komponentų SDS.



DĖMESIO. Žmogaus kraujo ir plazmos mėginius visada laikykite potencialiai užkrečiamais. Laikykitės atitinkamų kraujo ir kraujo produktų apdorojimo rekomendacijų. Su krauju ar kraujo produktais susijusius mėginius ir medžiagas išmeskite atsižvelgdami į šalies ir vietinius reikalavimus.

QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA komponentams taikomos toliau išvardytos pavojingumo ir atsargumo frazės.

Pavojingumo frazės



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

Sudėtyje yra sieros rūgšties. Įspėjimas! Gali ėsdinti metalus. Dirgina odą. Sukelia smarkų akių dirginimą. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Įspėjimas! Nestipriai dirgina odą. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.



QuantiFERON Green Diluent

Sudėtyje yra trinitrio 5-hidroksi-1-(4-sulfofenil)-4-(4-sulfofenilazo)pirazolio-3-karboksilat. Sudėtyje yra: tartrazino. Įspėjimas! Gali sukelti alerginę odos reakciją. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Sudėtyje yra: 5-chloro-2-metilo-4-izotiazolino-3-ono ir 2-metilo-2H-izotiazolino-3-ono mišinys (3:1). Toksiška vandens organizmams, sukelia ilgalaikius pakitimus. Saugokite, kad nepatektų į aplinką.

Atsargumo frazės

Prieš naudojimą gauti specialias instrukcijas. Mūvėti apsaugines pirštines / dėvėti apsauginius drabužius / naudoti akių (veido) apsaugos priemones. **PATEKUS ANT ODOS** (arba plaukų): nedelsiant nuvilkti / pašalinti visus užterštus drabužius. Odą nuplauti vandeniu / srove. **PATEKUS Į AKIS:** atsargiai plauti vandeniu kelias minutes. Išimti kontaktinius lęšius, jeigu jie yra ir jeigu lengvai galima tai padaryti. Toliau plauti akis. Esant sąlyčiui arba jeigu numanomas sąlytis: kreiptis į gydytoją. Nedelsiant skambinti į **APSINUODIJIMŲ KONTROLĖS IR INFORMACIJOS BIURĄ** arba kreiptis į gydytoją. Jeigu sudirginama oda arba ją išberia: kreiptis į gydytoją. Nusivilkti užterštus drabužius ir išskalbti prieš vėl juos apsivelkant. Laikyti užrakintą. Turinį / talpyklą išpilti (išmesti) patvirtintoje atliekų šalinimo įmonėje.

Daugiau informacijos

Saugos duomenų lapai: www.qiagen.com/safety

- Nukrypimai nuo *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA* pakuotės informaciniame lapelyje aprašytos instrukcijos gali lemti klaidingus rezultatus. Prieš naudodami atidžiai perskaitykite instrukcijas.

- Nenaudokite komplekto, jei kuris nors reagento buteliukas yra pažeistas ar ištekėjęs.
- **Svarbu:** prieš naudodami patikrinkite buteliukus. Nenaudokite, jei ant konjugato ar IFN- γ standarto buteliuko arba guminio sandariklio matomi pažeidimo požymiai. Nenaudokite pažeistų buteliukų. Saugiai išmeskite buteliukus, laikydamiesi tinkamų atsargumo priemonių. **Rekomendacija:** Konjugato arba IFN- γ standarto buteliukams atidaryti naudokite užvalcuotų buteliukų dangtelių atidarytuvą, kad sumažintumėte riziką susižeisti užvalcuojamu metaliniu dangteliu.
- Nenaudokite ir nemišykite mikroplokštelių juostelių, IFN- γ standarto, žalio skiediklio ar konjugato (100x koncentrato), paimtų iš skirtingų QFT-Plus komplektų siuntų. Kitus reagentus (plovimo buferį (20x koncentratą), fermento substrato tirpalą, fermento stabdymo tirpalą) galima imti iš skirtingų komplektų, jei reagentų galiojimo laikas yra tinkamas ir įrašoma partijos informacija.
- Nepanaudotus reagentus ir biologinius mėginius išmeskite laikydamiesi vietinių ir šalies įstatymų.
- Nenaudokite QFT-Plus Blood Collection Tubes ar ELISA komplektų, jei pasibaigusi jų galiojimo data.
- Visuomet reikia laikytis tinkamų laboratorinių procedūrų.
- Įsitikinkite, kad laboratorijos įranga buvo sukalibruota / patikrinta tinkamai naudoti.

Mėginių paėmimas ir apdorojimas

QFT-Plus tyrimo metu naudojami šie kraujo surinkimo mėgintuvėliai:

1. QuantiFERON Nil Tube mėgintuvėliai (pilkas dangtelis, baltas žiedas)
2. QuantiFERON TB1 Tube mėgintuvėliai (žalias dangtelis, baltas žiedas)
3. QuantiFERON TB2 Tube mėgintuvėliai (geltonas dangtelis, baltas žiedas)
4. QuantiFERON Mitogen Tube mėgintuvėlis (violetinis dangtelis, baltas žiedas)
5. QuantiFERON HA Nil Tube mėgintuvėliai (pilkas dangtelis, geltonas žiedas)
6. QuantiFERON HA TB1 Tube mėgintuvėliai (žalias dangtelis, geltonas žiedas)
7. QuantiFERON HA TB2 Tube mėgintuvėliai (geltonas dangtelis, geltonas žiedas)
8. QuantiFERON HA Mitogen Tube mėgintuvėliai (violetinis dangtelis, geltonas žiedas)

Antigenai yra išdžiovinti ant vidinių kraujo surinkimo mėgintuvėlių sienelių, todėl kraujo mėginiai turi būti kruopščiai sumaišyti su mėgintuvėlio turiniu. Kai kraujas imamas tiesiai į QFT-Plus mėgintuvėlius, QFT-Plus mėgintuvėlius reikia laikyti ir transportuoti kambario temperatūroje ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) bei kuo greičiau per 16 valandų nuo paėmimo perkelti į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ inkubatorių. Pasirinktinai kraują galima imti į atskirą ličio heparino arba natrio heparino mėgintuvėlį ir jame laikyti prieš perkeliant į QFT-Plus ir inkubuojant. Į ličio heparino arba natrio heparino mėgintuvėlį paimtą kraujo bandinį galima laikyti iki 16 valandų kambario temperatūroje ($17\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$) prieš perkeliant į QFT-Plus mėgintuvėlius iš karto po paėmimo. Taip pat prieš perkeliant į QFT-Plus mėgintuvėlius, kraujo bandinius ličio heparino arba natrio heparino mėgintuvėliuose galima laikyti $2\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ne ilgiau nei 48 valandas. Žr. skyrių „Kraujo paėmimas į atskirą ličio arba natrio heparino mėgintuvėlį ir perkėlimas į QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius“.

Tiesioginis ėmimas į QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius

1. Pažymėkite mėgintuvėlius tinkamomis etiketėmis.

Įsitikinkite, kad nuėmus dangtelį kiekvieną mėgintuvėlį (Nil, TB1, TB2 ir Mitogen) galima atpažinti pagal etiketę arba naudojant kitas priemones.

Rekomenduojama užregistruoti kraujo paėmimo laiką ir datą.

2. Iš kiekvieno paciento paimkite po 1 ml veninio kraujo tiesiai į kiekvieną iš QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlių. Šią procedūrą privalo atlikti išmokytas specialistas.

Svarbi pastaba: kraujo surinkimo metu mėgintuvėliai turi būti 17–25 °C temperatūros.

Standartinius QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius galima naudoti iki 810 metrų aukštyje virš jūros lygio. High Altitude QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius galima naudoti 1 020–1 875 metrų aukštyje virš jūros lygio.

1 ml mėgintuvėliai kraują įtraukia palyginti lėtai, todėl, kai atrodo, kad pasiektas reikiamas užpildymo lygis, mėgintuvėlį reikia palikti ant adatos dar 2–3 sekundes. Taip tikrai bus surinktas reikiamas kiekis.

- Juoda žymė ant mėgintuvėlio šono reiškia patvirtintą 0,8–1,2 ml intervalą. Jei kraujo lygis kuriame nors mėgintuvėlyje nepatenka į pažymėtą intervalą, reikia imti naują kraujo mėginį. Jei mėgintuvėliai pripildomi mažiau nei 0,8 ml arba daugiau nei 1,2 ml, rezultatai gali būti klaidingi.
- Jei kraujui surinkti naudojama „drugelio“ tipo adata, prieš uždedant QFT-Plus mėgintuvėlį, naudojant papildomą mėgintuvėlį reikia įsitikinti, kad jungiamasis vamzdelis yra užpildytas krauju.
- Jei QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėliai naudojami didesniame nei 810 metrų aukštyje arba surenkama per mažai kraujo, naudotojai gali surinkti kraują švirkštu ir iš karto perpilti 1 ml kraujo į kiekvieną iš 4 mėgintuvėlių. Saugumo sumetimais reikėtų nuimti švirkšto adatą. Tačiau imkitės atitinkamų atsargumo priemonių. Nuimkite keturių QFT-Plus mėgintuvėlių dangtelius ir kiekvieną mėgintuvėlį papildykite 1 ml kraujo (iki juodos žymos, esančios ant šoninės mėgintuvėlio etiketės, vidurio). Uždenkite dangtelius ir maišykite, kaip nurodyta

toliau. Įsitinkite, kad nuėmus dangtelį kiekvieną mėgintuvėlį (Nil, TB1, TB2 ir Mitogen) galima atpažinti pagal etiketę arba naudojant kitas priemones.

3. Pripildę mėgintuvėlius, pakratykite juos dešimt (10) kartų, kad visas vidinis mėgintuvėlio paviršius būtų padengtas krauju. Taip ištirps ant mėgintuvėlio sienelių esantys antigenai.

Svarbi pastaba: kratymo metu mėgintuvėliai turi būti 17–25 °C temperatūros. Per stipriai pakračius gali būti suardytas gelis ir taip iškreipti rezultatai.

4. Užklįjavus etiketę, užpildžius ir pakračius mėgintuvėlius, jie turi būti kuo greičiau (ne vėliau kaip per 16 valandų nuo kraujo surinkimo) perkelti į inkubatorių (37 ± 1 °C). Prieš inkubavimą mėgintuvėlius laikykite ir gabenkite kambario temperatūroje (22 ± 5 °C). Jeigu QFT-Plus mėgintuvėliai neinkubuojami 37 °C iš karto paėmus kraują ir pakračius, apverskite mėgintuvėlius 10 kartų, kad sumaišytumėte prieš inkubuodami 37°C temperatūroje.
5. Inkubuokite QFT-Plus mėgintuvėlius VERTIKALIOJE padėtyje 16–24 valandas 37 ± 1 °C temperatūroje. CO₂ arba drėkinimas inkubuojant nereikalingi.

Kraujo ėmimas į atskirą ličio arba natrio heparino mėgintuvėlį bei perkėlimas į QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius

1. Kraują galima surinkti į atskirą kraujo surinkimo mėgintuvėlį su ličio arba natrio heparinu, kuris veikia kaip antikoaguliantas, tada perkelti į QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius. Kaip kraujo antikoaguliantą naudokite tik ličio arba natrio hepariną, nes kiti antikoaguliantai trukdo tyrimui. Pažymėkite mėgintuvėlius tinkamomis etiketėmis.

Rekomenduojama ant mėgintuvėlio pažymėti kraujo paėmimo laiką ir datą.

Svarbu: kraujo ėmimo metu kraujo surinkimo mėgintuvėliai turi būti kambario (17–25 °C) temperatūros.

2. Užpildykite ličio arba natrio heparino kraujo surinkimo mėgintuvėlį (min. 5 ml tūrio) ir atsargiai sumaišykite pavartydami jį kelis kartus, kad heparinas ištirptų. Šią procedūrą privalo atlikti išmokytas specialistas.

3. Ličio arba natrio heparino mėgintuvėlių laikymo laiko ir temperatūros parinktys prieš perkeliant į QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius ir inkubuojant (žr. 1–3 pav. Kraujo surinkimo būdai).

1 būdas. Ličio arba natrio heparino mėgintuvėlių laikymas ir naudojimas kambario temperatūroje į ličio arba natrio heparino mėgintuvėlį paimtą kraują, prieš perkeliant į QFT Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius ir inkubuojant, galima laikyti kambario temperatūroje ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) ne ilgiau nei 16 valandų nuo paėmimo laiko.

2 būdas. Ličio arba natrio heparino mėgintuvėlių laikymas šaldytuve ir naudojimas

Svarbu: procedūros veiksmus nuo a iki d būtina atlikti iš eilės.

- a. Į ličio arba natrio heparino mėgintuvėlį paimtą kraują galima laikyti kambario temperatūroje ($17\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$) ne ilgiau nei 3 valandas po kraujo paėmimo.
- b. Į ličio arba natrio heparino mėgintuvėlį paimtą kraują galima laikyti šaldytuve ($2\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$) ne ilgiau nei 48 valandas.
- c. Išėmus iš šaldytuvo, prieš perkeliant į QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius, ličio arba natrio heparino mėgintuvėlį reikia sušildyti iki kambario temperatūros ($17\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$).
- d. QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius su alikvotinėmis dalimis reikia įdėti į $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ inkubatorių per 2 valandas po kraujo paėmimo.

Jeigu QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėliai, perkėlus į QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius ir pakračius, iš karto neinkubuojami $37\text{ }^{\circ}\text{C}$, apverskite mėgintuvėlius 10 kartų, kad sumaišytumėte, prieš inkubuodami $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje. Bendras laikas nuo kraujo paėmimo iki inkubavimo QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėliuose neturi viršyti 53 valandų.

4. Kraujo bandinio perkėlimas iš ličio arba natrio heparino mėgintuvėlių į QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius:
 - a. Tinkamai pažymėkite visus QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius.
Įsitikinkite, kad nuėmus dangtelį kiekvieną mėgintuvėlį (Nil, TB1, TB2 ir Mitogen) galima atpažinti pagal etiketę arba naudojant kitas priemones. Rekomenduojama

perkelti užregistruotą kraujo paėmimo laiką ir datą nuo ličio arba natrio heparino mėgintuvėlių ant QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlių.

b. Prieš perkeltiant į QFT Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius, mėginius reikia tolygiai išmaišyti švelniai apverčiant.

c. Išdalyti reikia steriliai, imantis įprastų atsargumo priemonių. Nuimkite 4 QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlių dangtelius ir kiekvieną mėgintuvėlį įpilkite po 1 ml kraujo. Uždenkite mėgintuvėlių dangtelius ir maišykite, kaip nurodyta toliau. Įsitikinkite, kad nuėmus dangtelį kiekvieną mėgintuvėlį (Nil, TB1, TB2 ir Mitogen) galima atpažinti pagal etiketę arba naudojant kitas priemones.

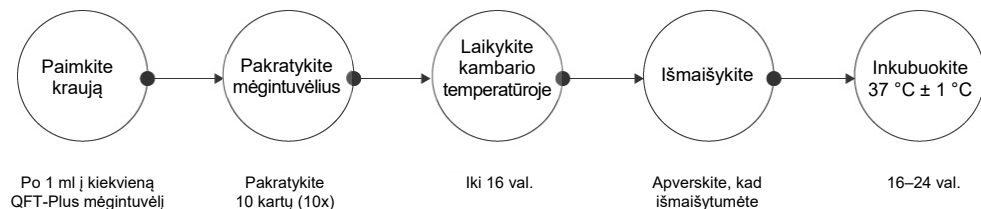
5. Sumaišykite mėgintuvėlio turinį. Pripildę QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius, iš karto apverskite juos dešimt (10) kartų, kad visas vidinis mėgintuvėlio paviršius būtų padengtas krauju. Taip ištirps ant mėgintuvėlio sienelių esantys antigenai.

Per stipriai pakračius gali būti suardytas gelis ir taip iškreipti rezultatai.

6. Užklįjavus etiketę, užpildžius ir pakračius mėgintuvėlius, ne vėliau kaip per 2 valandas juos reikia perkelti į 37 ± 1 °C inkubatorių. Jeigu QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėliai neinkubuojami 37 °C iš karto po kraujo paėmimo ir pakratymo, apverskite mėgintuvėlius 10 kartų (10x), kad sumaišytumėte prieš inkubuodami 37 °C. (Kraujo surinkimo būdai nurodyti kitame puslapyje pateiktuose 1–3 pav.).

7. Inkubuokite QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius VERTIKALIOJE padėtyje 16–24 valandas 37 ± 1 °C temperatūroje. CO₂ arba drėkinimas inkubuojant nereikalingi.

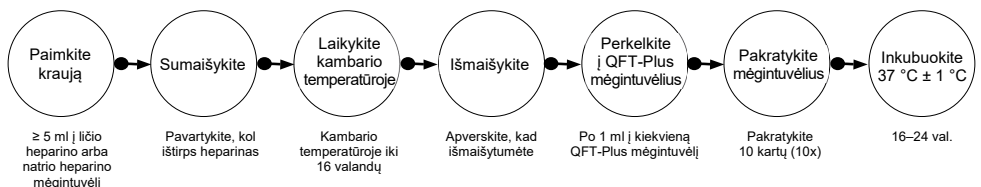
Paimkite į QFT Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius ir laikykite kambario temperatūroje.



1 pav. Kraujo surinkimo būdas: imkite tiesiai į QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius ir laikykite kambario temperatūroje.

Bendras laikas nuo kraujo paėmimo į QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėlius iki inkubavimo 37 °C temperatūroje neturi viršyti 16 valandų.

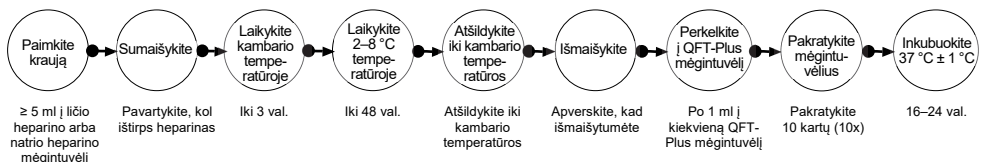
Paimkite į ličio arba natrio heparino mėgintuvėlį ir laikykite kambario temperatūroje.



2 pav. Kraujo surinkimo būdas: paimkite į ličio arba natrio heparino mėgintuvėlį ir laikykite kambario temperatūroje.

Bendras laikas nuo kraujo paėmimo į ličio arba natrio heparino mėgintuvėlį iki inkubavimo 37 °C temperatūroje neturi viršyti 16 valandų.

Paimkite į ličio arba natrio heparino mėgintuvėlius ir laikykite 2–8 °C temperatūroje.



3 pav. Kraujo surinkimo būdas: paimkite į ličio arba natrio heparino mėgintuvėlį ir laikykite 2–8 °C.

Bendras laikas nuo kraujo paėmimo į ličio arba natrio heparino mėgintuvėlį iki inkubavimo 37 °C temperatūroje neturi viršyti 53 valandų.

Naudojimo instrukcija

1 etapas. Kraujo mėginio inkubavimas ir plazmos paėmimas

Pateikiamos priemonės

- QFT-Plus Blood Collection Tubes mėgintuvėliai (žr. 3 skyrių)

Būtinoms, bet nepateikiamoms priemonėms

- Žr. 3 skyrių

Procedūra

- 1. Jeigu mėgintuvėliai neinkubuojami iš karto po surinkimo, iš karto prieš inkubavimą mėgintuvėlių turinys turi būti sumaišytas (kartais 10 kartų).**
- 2. Inkubuokite mėgintuvėlius VERTIKALIOJE padėtyje 16–24 val., esant 37 ± 1 °C temperatūrai. CO₂ arba drėkinimas inkubuojant nereikalingi.**
- 3. Po inkubavimo 37 °C temperatūroje ir prieš atliekant centrifugavimą kraujo surinkimo mėgintuvėlius galima laikyti 4–27 °C temperatūroje ne ilgiau nei 3 dienas.**
- 4. Po inkubavimo 37 °C temperatūroje, paimama plazma mėgintuvėlius 15 minučių centrifuguojant 2 000–3 000 x RCF (g). Susidarant gelio kamščiui ląstelės atsiskiria nuo plazmos. Jeigu tai neįvyksta, mėgintuvėlius reikėtų centrifuguoti dar kartą.**

Plazmą galima paimti ir be centrifugavimo, tačiau tai reikia daryti labai atsargiai, kad paimant plazmos nebūtų sujudintos ląstelės.

5. Plazmos mėginį visada imkite naudodami pipetę.

Svarbi pastaba: Po centrifugavimo ir prieš plazmos paėmimą kiekvienu atveju venkite mėginius traukti pipete aukštyn ir žemyn arba plazmą sumaišyti. Visuomet dirbkite kruopščiai, kad nesujudintumėte medžiagos prie gelio paviršiaus.

Plazmos mėginiai iš centrifuguotų kraujo paėmimo mėgintuvėlių gali būti perkelti tiesiai į QFT-Plus ELISA plokštelę. Tai galioja ir tais atvejais, kai yra naudojami ELISA automatai.

Plazmos mėginiai 2–8 °C temperatūroje gali būti laikomi iki 28 dienų; arba paėmus plazmą ją galima laikyti dar ilgiau žemesnėje nei –20 °C temperatūroje.

Norėdami gauti adekvačius tiriamus mėginius, surinkite bent 150 µl plazmos.

2 etapas. IFN- γ ELISA

Pateikiamos priemonės

- QFT-Plus ELISA komplektas (žr. 3 skyrių)

Būtinoms, bet nepateikiamoms priemonėms

- Žr. 3 skyrių.

Procedūra

1. **Visi plazmos mėginiai ir reagentai, išskyrus konjugato 100× koncentratą, prieš naudojimą turi pasiekti kambario temperatūrą (22 ± 5 °C). Temperatūrai išlyginti skirkite ne mažiau nei 60 minučių.**
2. **Nereikalingas juosteles išimkite iš rėmelio, įdėkite jas atgal į folijos pakuotę ir iki naudojimo laikykite šaldytuve.**

Mažiausiai 1 juostelę skirkite QFT-Plus standartams ir paimkite dar pakankamą juostelių skaičių tiriamiesiems subjektams (žr. 5). Panaudoję rėmelį palikite kitam kartui su likusiomis juostelėmis.

3. **Atkurkite IFN- γ standartą naudodami ant buteliuko etiketės nurodytą dejonizuoto arba distiliuoto vandens kiekį. Atsargiai maišykite buteliuko turinį (vengdami putų susidarymo) ir įsitikinkite, kad turinys visai ištirpęs. Atkūrus standartą iki nurodyto tūrio, gaunamas tirpalas, kurio koncentracija yra 8,0 IU/ml.**

Svarbi pastaba: atkurto komplekto standarto tūris partijose bus skirtingas.

Atkurta komplekto standartą naudokite norėdami paruošti 1:2 skiedimo, tada 1:4 skiedimo seriją iš IFN- γ žaliame skiediklyje (ŽS) (žr. 4). S1 (1 standarto) sudėtyje yra 4,0 IU/ml, S2 (2 standarto) sudėtyje yra 1,0 IU/ml, S3 (3 standarto) sudėtyje yra 0,25 IU/ml, o S4 (4 standarto) sudėtyje yra 0 IU/ml (tik ŽS). Standartai turi būti tiriami bent du kartus. Kiekvienam ELISA seansui paruoškite naujus komplekto standarto skiedinius.

Rekomenduojama procedūra dvigubam standartui

Užrašykite ant 4 mėgintuvėlių: S1, S2, S3, S4.

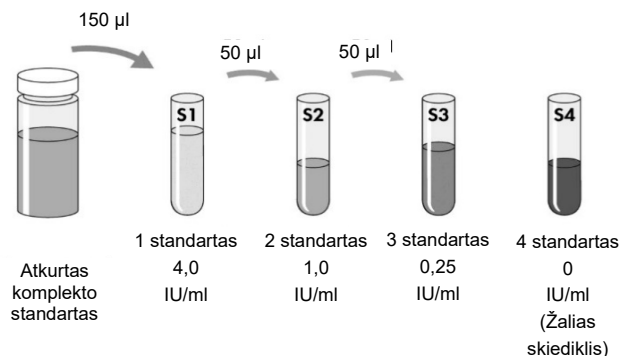
Įpilkite 150 μ l ŽS į S1, S2, S3, S4.

Įpilkite 150 μ l komplekto standarto į S1 ir kruopščiai sumaišykite.

Perkelkite 50 μ l iš S1 į S2 ir kruopščiai sumaišykite.

Perkelkite 50 μ l iš S2 į S3 ir kruopščiai sumaišykite.

Tik ŽS veikia kaip nulinis standartas (S4).



4 pav. Standarto kreivės paruošimas.

4. **Atkurkite liofilizuotą konjugato 100× koncentratą su 0,3 ml dejonizuoto arba distiliuoto vandens. Atsargiai sumaišykite buteliuko turinį (saugodami, kad nesusidarytų putų) ir įsitikinkite, kad konjugatas visiškai ištirpo.**

Naudoti tinkamą konjugatą pagaminsite skieddami reikiamą atkurto konjugato 100× koncentrato kiekį žaliu skiedikliu(1 lentelė. Konjugato paruošimas). Nesunaudotą konjugato 100× koncentratą nedelsdami grąžinkite į 2–8 °C temperatūrą. Skieddami naudokite tik žalią skiediklį.

1 lentelė. Konjugato paruošimas

Juostelių skaičius	Konjugato 100× koncentrato kiekis	Žalio skiediklio kiekis
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. **Jei naudojate plazmos mėginius, paimtus iš kraujo surinkimo mėgintuvėlių ir tada laikomus (atvėsintus arba užšaldytus), prieš pridėdami į ELISA duobutes juos sumaišykite.**

Svarbi pastaba: jei plazmos mėginiai bus dedami tiesiai iš centrifuguotų QFT-Plus kraujo surinkimo mėgintuvėlių, plazmos maišyti nereikėtų. Visuomet dirbkite kruopščiai, kad nesujudintumėte medžiagos prie gelio paviršiaus.

6. **Į atitinkamas ELISA duobutes daugiakanale pipete įpilkite po 50 µl šviežiai naudoti paruošto konjugato.**

7. Į atitinkamas ELISA duobutes daugiakanale pipete įpilkite po 50 µl tiriamo plazmos mėginio (rekomenduojamą plokštelės išdėstymą žr.5). Galiausiai įpilkite po 50 µl į kiekvieną iš standartų nuo 1 iki 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

5 pav. Rekomenduojamas mėginių išdėstymas (22 testai vienoje plokštelėje)

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

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

8. Visas plokšteles uždenkite ir kruopščiai maišykite konjugatą ir plazmos mėginius / standartus 1 minutę naudodami mikroplokštelių kratytuvą. Stenkitės, kad netikštų.

9. Uždenkite visas plokšteles ir inkubuokite 120 ± 5 minutes kambario temperatūroje (22 ± 5 °C).

Inkubuodami plokšteles saugokite nuo tiesioginių saulės spindulių.

10. Inkubacijos metu praskieskite 1 dalį plovimo buferio 20x koncentrato su 19 dalių dejonizuoto ar distiliuoto vandens ir kruopščiai išmaišykite. Iš pateikto plovimo buferio 20x koncentrato galima pagaminti 2 litrus naudoti tinkamo plovimo buferio.

Duobutes plaukite mažiausiai 6 kartus naudodami 400 µl tinkamo plovimo buferio. Rekomenduojame naudoti mikroplokštelių plovimo automatą.

Siekiant tikslių tyrimo rezultatų labai svarbu kruopščiai išplauti. Kiekvieno plovimo ciklo metu patikrinkite, **ar visos duobutės yra iki viršaus užpildytos** plovimo buferiu. Rekomenduotina tarp plovimo ciklų mažiausiai 5 sekundes pamirkyti.

Į atliekamų skysčių talpyklą turėtų būti įpilta laboratorijose įprastai naudojamos dezinfekcinės priemonės. Taip pat laikykitės potencialiai infekuojančios medžiagos padarymo nekenksmingomis taisyklių.

11. **Pastuksenkite plokštelę duobutėmis į apačią ant nepūkuoto rankšluosčio, kad būtų pašalintas likęs plovimo buferis. Tada į kiekvieną duobutę įpilkite 100 µl fermento substrato tirpalo, visas plokšteles uždenkite ir maišykite mikroplokštelių kratytuve.**
12. **Uždenkite visas plokšteles ir inkubuokite 30 minučių kambario temperatūroje (22 ± 5 °C).**

Inkubuodami plokšteles saugokite nuo tiesioginių saulės spindulių.
13. **Po 30 minučių trukusios inkubacijos į kiekvieną duobutę įpilkite po 50 µl fermento stabdymo tirpalo ir išmaišykite.**

Fermento stabdymo tirpalas į duobutes turėtų būti įpiltas ta pačia eilės tvarka ir tuo pačiu tempu kaip ir substratas (11 punktą).
14. **Pamatuokite optinį tankį (OT) kiekvienoje duobutėje 5 minučių intervalu nuo stabdymo tirpalo įpylimo. Naudokite skaitymo įrenginį, skirtą mikroplokštelėms, kuriame yra 450 nm filtras ir nuo 620 iki 650 nm referencijos filtras. OT reikšmės reikalingos skaičiuojant rezultatus.**

Skaičiavimas ir rezultatų aiškinimas

Neapdorotiems duomenims analizuoti ir rezultatams skaičiuoti turi būti naudojama QFT Plus analizės programinė įranga. Programinę įrangą galite gauti www.QuantiFERON.com. Būtinai naudokite naujausią QFT-Plus analizės programinės įrangos versiją.

Naudojant programinę įrangą atliekamas tyrimo kokybės kontrolės vertinimas, sudaroma standarto kreivė ir pateikiamas kiekvieno tyrimo rezultatas pagal skyriuje „Rezultatų aiškinimas“ pateiktą metodą.

Užuot naudojus QFT-Plus analizės programinę įrangą, rezultatai gali būti nustatomi ir pagal toliau paaiškintą metodą.

Standarto kreivės sudarymas

(Kai nenaudojama QFT-Plus analizės programinė įranga)

Nustatykite komplekto standarto pakartojimų vidutinės OT reikšmės ant kiekvienos plokštelės.

Sudarykite $\log_{(e)}\text{-}\log_{(e)}$ standarto kreivę: pažymėkite vidutinės OT reikšmės $\log_{(e)}$ (y ašis) ir standarto IFN- γ koncentracijos $\log_{(e)}$ (x ašis), bet į šiuos skaičiavimus neįtraukite nulinio standarto. Pasitelkę regresijos analizę, apskaičiuokite liniją su labiausiai standarto kreivei tinkančia forma.

Standarto kreivę panaudokite IFN- γ (IU/ml) kiekvieno tiriamo plazmos mėginio koncentracijai, naudojant kiekvieno mėginio OT reikšmę, nustatyti.

Šiems skaičiavimams gali būti panaudoti programinės įrangos paketai, gaunami su mikroplokštelių skaitytuvais, taip pat standartinės skaičiuoklės arba statistikos programos (pvz., „Microsoft® Excel®“). Tokiais programinės įrangos paketais rekomenduojame naudotis

atliekant regresijos analizę, skaičiuojant standartų variacijos koeficientą (%VK) bei koreliacijos koeficientą (r) standarto kreivei.

Testo kokybės patikrinimas

Testo rezultatų teisingumas priklauso nuo tikslios standarto kreivės sudarymo. Todėl, prieš pradėdant aiškinti testo rezultatus, turi būti patikrinti iš standartų išvesti rezultatai.

ELISA galioja, kai:

- 1 standarto vidutinė OT reikšmė turi būti $\geq 0,600$.
- 1 ir 2 standarto replikuotų OT reikšmių %VK turi būti $\leq 15\%$.
- 3 ir 4 standarto replikuotos OT reikšmės nuo atitinkamų vidutinių reikšmių turi nukrypti ne daugiau kaip 0,040 OT vienetų.
- Iš standartų vidutinių absorbcijos reikšmių apskaičiuotas koreliacijos koeficientas (r) turi būti $\geq 0,98$.

QFT-Plus analizės programinė įranga skaičiuoja ir pateikia šiuos kokybės kontrolės parametrus.

Jeigu šie kriterijai neatitinkami, tyrimas negalioja ir turi būti pakartotas.

Nulinio standarto (žalio skiediklio vidutinė OT reikšmė turi būti $\leq 0,150$). Jeigu vidutinė OT reikšmė yra $> 0,150$, rekomenduojama patikrinti plokštelių plovimo procesą.

Rezultatų aiškinimas

QFT-Plus testo rezultatai turi būti interpretuojami pagal šiuos kriterijus (2 lentelė):

Svarbi pastaba: diagnozei nustatyti ar tuberkuliozės ligai paneigti ir LTBI tikimybei nustatyti reikia įvertinti epidemiologinius, istorinius, medicininius ir diagnostinius rezultatus; į juos privaloma atsižvelgti interpretuojant QFT-Plus testo rezultatus.

2 lentelė. QFT-Plus rezultatų aiškinimas

Nil (IU/ml)	TB1 minus Nil (IU/ml)	TB2 minus Nil (IU/ml)	Mitogen minus Nil (IU/ml)*	QFT-Plus rezultatas	Ataskaita / aiškinimas
≤ 8,0	≥ 0,35 ir ≥ 25 % Nil kontrolės reikšmės	Bet kiek	Bet kiek	Teigiamas [†]	<i>M. tuberculosis</i> infekcija galima
	Bet kiek	≥ 0,35 ir ≥ 25 % Nil kontrolės reikšmės			
	< 0,35 arba ≥ 0,35 ir < 25 % Nil kontrolės reikšmės	< 0,35 arba ≥ 0,35 ir < 25 % Nil kontrolės reikšmės	≥ 0,5	Neigiamas	<i>M. tuberculosis</i> infekcija NĖRA galima
	< 0,35 arba ≥ 0,35 ir < 25 % Nil kontrolės reikšmės	< 0,35 arba ≥ 0,35 ir < 25 % Nil kontrolės reikšmės	< 0,5	Neaiškus [‡]	<i>M. tuberculosis</i> infekcijos tikimybės nustatyti nepavyko
> 8,0 [§]		Bet kiek		Neaiškus [‡]	<i>M. tuberculosis</i> infekcijos tikimybės nustatyti nepavyko

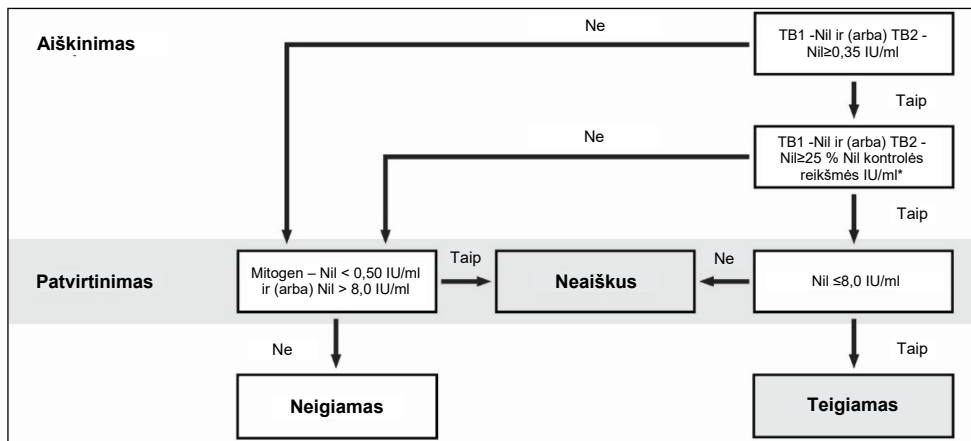
* Mitogen teigiamos kontrolės (ir kartais TB antigenų) reakcijos yra už mikroplokštelių skaitymo aparato matavimo ribų. Tai neturi įtakos testo rezultatams. > 10 ml reikšmės QFT-Plus programinės įrangos yra pateikiamos kaip > 10 IU/ml.

[†]Tais atvejais, kai *M. tuberculosis* nėra įtariama, pradžioje gauti teigiami testo rezultatai gali būti patvirtinti antrą kartą testuojant pradinius plazmos mėginius QFT-Plus ELISA testu. Jeigu pakartojus testą su pirmu arba antru mėginiu vėl gaunamas teigiamas rezultatas, testo rezultatas turi būti laikomas teigiamu.

[‡]Galimų priežasčių ieškokite skyriuje „Trikčių šalinimas“.

[§]Klinikinių tyrimų metu mažiau negu 0,25 % asmenų turėjo > 8,0 IU/ml IFN-γ koncentraciją Nil kontrolės atžvilgiu.

Pagal pamatuotos koncentracijos IFN-γ negalima daryti išvados dėl infekcijos stadijos arba laipsnio, imuninio reaktyvumo lygio ar aktyvios ligos progresavimo tikimybės. Asmenų, kurių Mitogen reakcija buvo neigiama, teigiama TB reakcija yra reta, bet buvo pastebėta tiriant TB liga sergančius pacientus. Tai rodo, kad IFN-γ reakcija į TB antigeną yra didesnė nei į Mitogen, o tai įmanoma, nes Mitogen lygis ne maksimaliai stimuliuoja limfocitų atliekamą IFN-γ gamybą.



* Kad TB1 minus Nil arba TB2 minus Nil reikšmė būtų tinkama, $\geq 25\%$ Nil kontrolės reikšmės IU/ml turi būti iš to paties mėgintuvėlio kaip pradinis $\geq 0,35$ IU/ml rezultatas.

6 pav. QFT-Plus aiškinimo schema

Apribojimai

QFT-Plus testo rezultatai turi būti naudojami atsižvelgiant į kiekvieno asmens epidemiologiją, esamą būklę ir kitus diagnostinius vertinimus.

Rezultatai, kurių Nil kontrolės reikšmės viršija 8,0 IU/ml, turi būti vertinami kaip „neaiškūs“, nes 25 % padidėjusi TB antigenų reakcija gali būti už tyrimo matavimo ribų.

Nepatikimus ar neaiškius rezultatus galite gauti, nes:

- Nesilaikoma informaciniame lapelyje aprašytos procedūros
- Yra ypač aukštos cirkuliuojančio IFN- γ koncentracijos arba yra heterofilinių antikūnų
- Praėjo daugiau nei 16 valandų tarp kraujo bandinio paėmimo ir inkubavimo 37 °C temperatūroje. Netaikoma, jeigu naudojama darbo eiga su ličio heparino arba natrio heparino mėgintuvėliu 2–8 °C temperatūroje.

Našumo charakteristikos

Klinikiniai tyrimai

Nėra apibrėžto jokio LTBI standartinio testo, todėl negalima praktiškai įvertinti QFT-Plus jautrumo ir specifiškumo. QFT-Plus specifiškumas buvo apytiksliai nustatytas įvertinant asmenų, turinčių mažą tuberkuliozės infekcijos riziką (t. y. be žinomų rizikos faktorių) klaidingai teigiamų rezultatų rodiklį. Jautrumas buvo apytiksliai nustatytas įvertinant aktyvia, pagal kultūrą patvirtinta, tuberkuliozės forma sergančias pacientų grupes.

Specifiškumas

Vertinant QFT-Plus specifiškumą, buvo ištirti 409 asmenys. Demografiniai duomenys ir TB poveikio rizikos faktoriai buvo nustatyti testo metu atlikus standartinę apklausą.

Apibendrinus 2 pacientų grupių, kurių tuberkuliozės infekcijos rizika maža (be žinomų rizikos faktorių) rezultatus, bendras QFT-Plus specifiškumas buvo 97,6 % (399/409) (3 lentelė ir 4 lentelė lentelės).

3 lentelė. QFT-Plus specifiškumo tyrimo rezultatai pagal laboratoriją

Tyrimas	Teigiamas	Neigiamas	Neaiškus	Specifiškumas (95 % PI)
Japonija	4	203	0	98 % (95–100 %)
Australija	6	196	0	97% (94–99%)

4 lentelė. QFT-Plus specifiškumo tyrimo rezultatai pagal TB antigeno mėgintuvėlį

Tyrimas	TB1	TB2	QFT-Plus
Teigiamas	5	10	10
Neigiamas	404	399	399
Neaiškus	0	0	0
Specifiškumas (95 % PI)	98,8 % (97,2–99,6)	97,6% (95,6–98,8)	97,6% (95,6–98,8)

Jautrumas aktyvios tuberkuliozės formai

Nors nėra jokio apibrėžto LTBI standartinio testo, *M. tuberculosis* mikrobiologinė kultūra yra tinkamas pakaitalas, nes sergantis asmenys iš esmės yra infekuoti. Siekiant nustatyti testo QFT-Plus jautrumą, buvo tiriami asmenys iš 4 tyrimo vietų Australijoje ir Japonijoje. Jiems įtarta *M. tuberculosis* infekcija buvo patvirtinta pagal kultūrą (5 lentelė ir 6 lentelė lentelės). Prieš surenkant kraują QFT-Plus testui pacientai buvo gydomi mažiau nei 14 dienų.

Apibendrinus *M. tuberculosis* kultūrų turinčių pacientų 4 grupių rezultatus, bendras QFT-Plus tyrimo jautrumas aptinkant aktyvią TB ligą buvo 95,3 % (164/172). 4 grupėse 159 pacientų rezultatas buvo teigiamas tiek naudojant TB1, tiek TB2 mėgintuvėlius, 1 paciento – teigiamas naudojant tik TB1, o 4 pacientų – teigiamas tik naudojant TB2. Iš viso 1,1 % (2/174) rezultatų buvo neaiškūs. Naudojant TB2 rezultatą, teisingai nustatytas 1 pagal kultūrą patvirtintas pacientas, kuris būtų buvęs neaiškus (maža Mitogen reikšmė) naudojant tik TB1 rezultatą (žr. 5 lentelė ir 6 lentelė lenteles).

5 lentelė. QFT-Plus jautrumo tyrimo rezultatai pagal laboratoriją

Laboratorija	Teigiamas	Neigiamas	Neaiškūs	QFT-Plus jautrumas* (95 % PI)
Japonija, 1 laboratorija	36	7	0	84 % (69–93)
Japonija, 2 laboratorija	53	1	2	98% (90–100)
Japonija, 3 laboratorija	54	0	0	100 % (93–100)
Australijos laboratorija	21	0	0	100 % (84–100)

* Jautrumas pagrįstas bendru tinkamų testų skaičiumi, neįtraukiant neaiškių rezultatų.

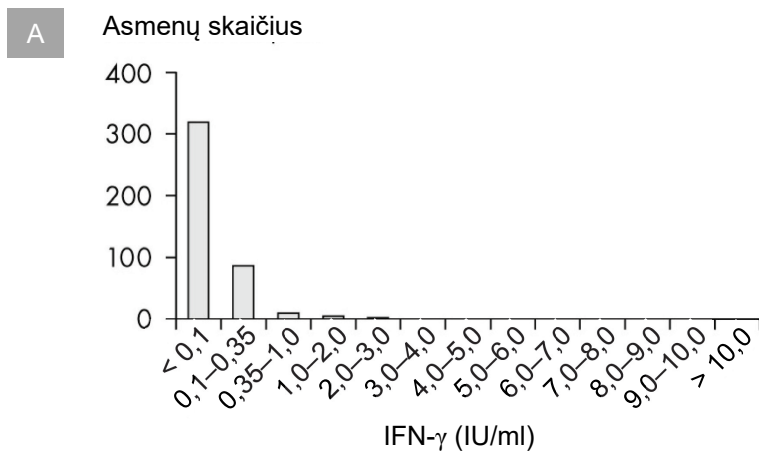
6 lentelė. QFT-Plus jautrumo tyrimo rezultatai pagal TB antigeno mėgintuvėlį

	TB1	TB2	QFT-Plus
Teigiamas	160	163	164
Neigiamas	11	9	8
Neaiškus	3	2	2
Jautrumas [†] (95 % PI)	93,6% (88,8–96,7)	94,8% (90,3–97,6)	95,3% (90,9–97,9)

* Jautrumas pagrįstas bendru tinkamų testų skaičiumi, neįtraukiant neaiškių rezultatų.

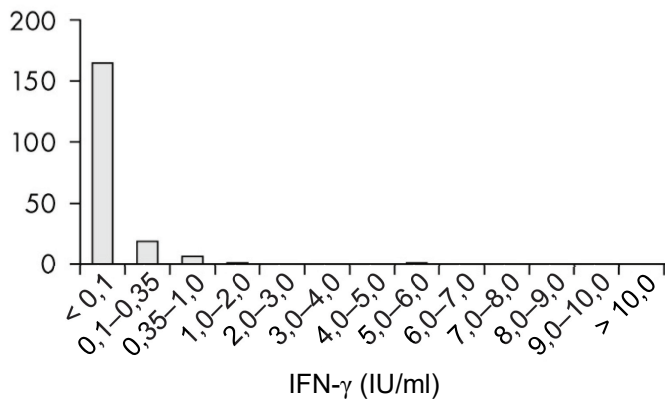
Pastebėtas reakcijų pasiskirstymas – stratifikuota rizika

Klinikiniuose mėginiuose buvo stebimas IFN- γ reakcijų į TB1, TB2 ir kontrolės mėgintuvėlius intervalas ir stratifikuotas pagal *M. tuberculosis* infekcijos riziką (7–9 pav.). Mišrios rizikos grupę sudarė bendrosios tyrimo populiacijos asmenys, įskaitant asmenis su TB poveikio rizikos faktoriais ir be jų; šioje grupėje aktyvi TB forma buvo mažai tikėtina (t. y. LTBI).



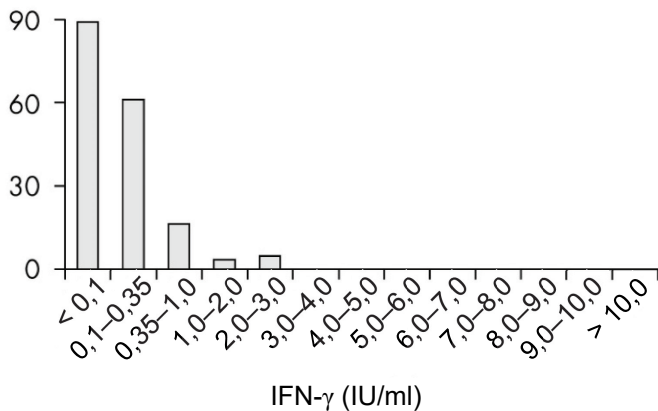
B

Asmenų skaičius

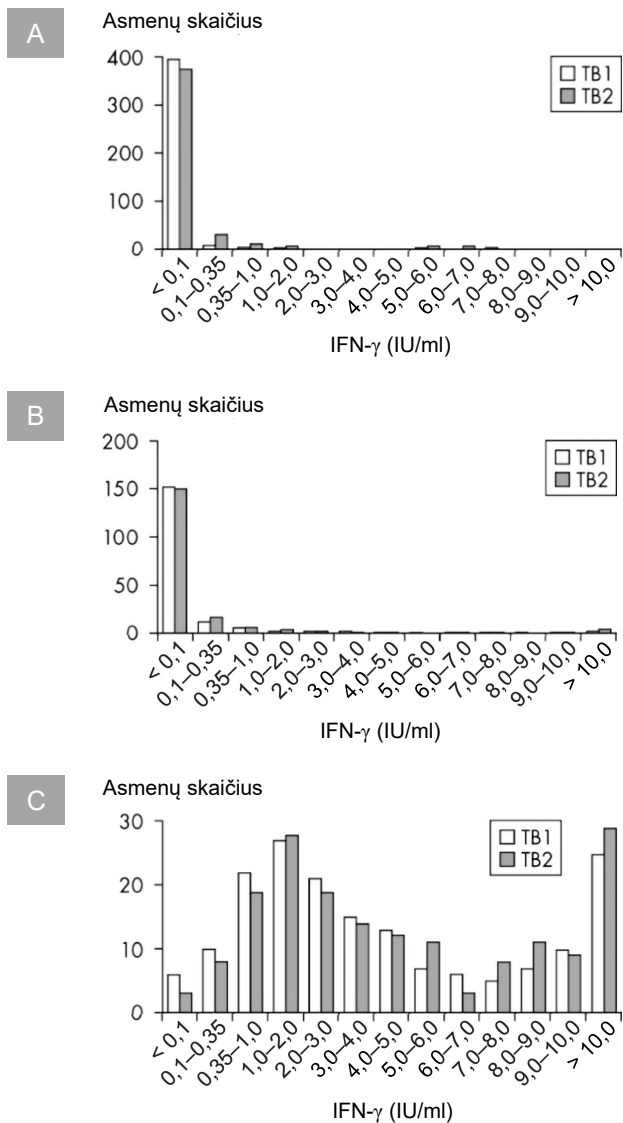


C

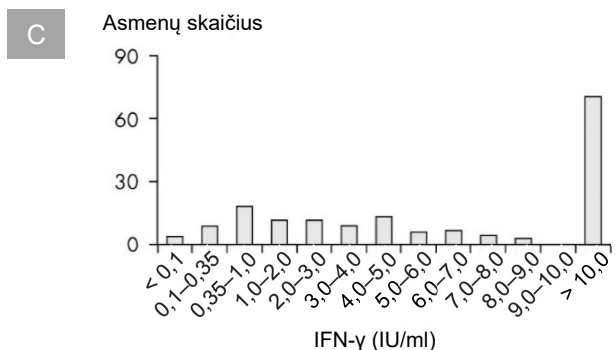
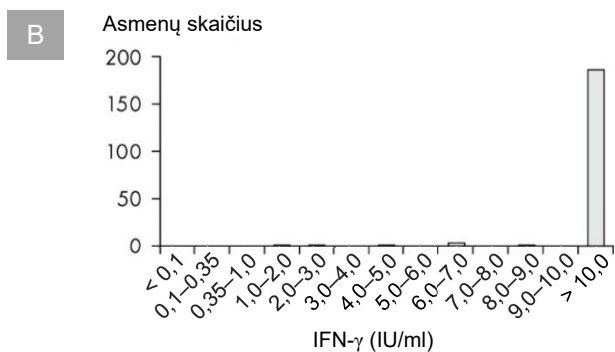
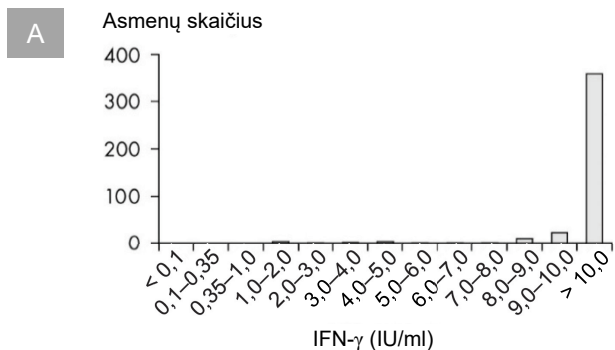
Asmenų skaičius



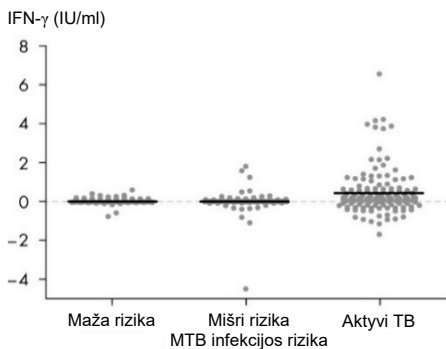
7 pav. Nil kontrolės reikšmių pasiskirstymas. **A.** Nil kontrolės reikšmių pasiskirstymas mažos rizikos populiacijoje (n = 409). **B.** Nil kontrolės reikšmių pasiskirstymas mišrios rizikos populiacijoje (n = 194). **C.** Nil kontrolės reikšmių pasiskirstymas populiacijoje, kurioje M. tuberculosis infekcija buvo patvirtinta pagal kultūrą (n = 174).



8 pav. TB1 ir TB2 pasiskirstymas (Nil atimamas). **A.** TB1 ir TB2 (Nil atimamas) reikšmių pasiskirstymas mažos rizikos populiacijoje (n = 409). **B.** TB1 ir TB2 (Nil atimamas) reikšmių pasiskirstymas mišrios rizikos populiacijoje (n = 194). **C.** TB1 ir TB2 (Nil atimamas) reikšmių pasiskirstymas populiacijoje, kurioje *M. tuberculosis* infekcija buvo patvirtinta pagal kultūrą (n = 174).



9pav. Mitogen pasiskirstymas (Nil atimamas). **A.** Mitogen (Nil atimamas) reikšmių pasiskirstymas mažos rizikos populiacijoje (n = 409). **B.** Mitogen (Nil atimamas) reikšmių pasiskirstymas mišrios rizikos populiacijoje (n = 194). **C.** Mitogen (Nil atimamas) reikšmių pasiskirstymas populiacijoje, kurioje *M. tuberculosis* infekcija buvo patvirtinta pagal kultūrą (n = 169).

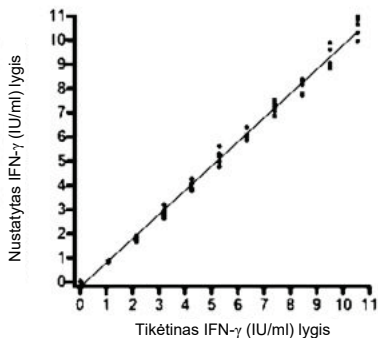


10 pav. Stebėtas skirtumas tarp TB1 ir TB2 reikšmių (Nil atimamas), stratifikuotas pagal riziką. Mažos rizikos populiacija (n = 409), mišrios rizikos populiacija (n = 189) ir populiacija, kurios *M. tuberculosis* infekcija patvirtinta pagal kultūrą (n = 141). TB1 reikšmės buvo atimtos iš TB2 reikšmių. Asmenys, kurių TB1 arba TB2 reikšmės > 10,0 IU/ml, buvo neįtraukti, nes nepateko į tyrimo linijinį intervalą.

Tyrimo atlikimo charakteristikos

QFT-Plus ELISA testo linijiškumas įrodytas, žinomos IFN- γ koncentracijos 11 plazmos telkinių 5 pakartojimus padėjus atsitiktine tvarka ELISA plokštelėje. Tiesinė regresinė linija turi $1,002 \pm 0,011$ nuožulnų kilmą ir 0,99 koreliacijos (11) koeficientą.

QF-Plus ELISA tyrimo aptikimo riba yra 0,065 IU/ml ir nepateikiama jokių prozonos efekto įrodymų, kai IFN- γ koncentracija yra iki 10 000 IU/ml.



11 pav. QFT-Plus ELISA testo linijiškumo profilis

Vidinis tyrimo neglaudumas ir neglaudumas tarp tyrimų (%VK), atliekant QFT-Plus ELISA testą, nustatyti tiriant 20 plazmos mėginių esant įvairioms IFN- γ 3 pakartojimų koncentracijoms, 3 skirtingiems operatoriams tyrimą atliekant 3 skirtingose laboratorijose per 3 ne paeiliui einančias dienas. Taigi kiekvienas mėginys buvo tirtas 27 kartus vykdant 9 nepriklausomus tyrimo seansus. Vienas mėginys buvo Nil kontrolė, o apskaičiuota IFN- γ koncentracija buvo 0,08 IU/ml (95 % PI: 0,07–0,09). Likusių 19 plazmos mėginių koncentracija buvo nuo 0,33 (95 % PI: 0,31–0,34) iki 7,7 IU/ml (95 % PI: 7,48–7,92).

Tyrimo arba vidinis tyrimo neglaudumas apskaičiuotas išvedus %VK vidurkį kiekvienam tiriamam plazmos mėginiui su IFN- γ (mėginį imant iš kiekvienos plokštelės (n = 9), o neglaudumo%VK svyravo nuo 4,1 iki 9,1. Tyrimo kovariacijos vidurkis (\pm 95 % PI) buvo 6,6 % \pm 0,6 %. Nulinio mėgintuvėlio IFN- γ plazmos vidurkis buvo 14,1 %VK.

Bendras neglaudumas tarp tyrimų buvo nustatytas palyginus 27 apskaičiuotas kiekvieno tiriamo plazmos mėginio IFN- γ koncentracijas. Neglaudumas tarp tyrimų buvo nuo 6,6 iki 12,3 %VK. Bendras %VK vidurkis (\pm 95 % PI) buvo 8,7 % \pm 0,7 %. Nulinio mėgintuvėlio IFN- γ plazmos rezultatas buvo 26,1 %VK. Šis svyravimo lygmuo yra tikėtinas, nes apskaičiuota IFN- γ koncentracija yra maža ir dėl to svyravimai bus didesni, nei esant didesnei koncentracijai.

QFT-Plus testo atkartojamumas buvo nustatytas naudojant 102 asmenų, kurių *M. tuberculosis* infekcijos rizikos faktoriai mišrūs, kraujo mėginius. Buvo įvertinti trys skirtingi operatoriai ir laboratorijos sąlygos.

Iš viso buvo atlikti 3 diagnostiniai nustatymai pagal kiekvieną asmenį, o pagal visus asmenis – iš viso 306. Bendrai diagnostinis atkartojamumas buvo 99 % (95 % PI: 97,2–99,7), o diagnostinis rezultatas sutapo 303 iš 306 nustatymų. Visų skirtumų priežastis buvo arti kritinės ribos esantys 3 asmenų rezultatai.

LTBI diagnozė

Buvo paskelbti keli tyrimai, įrodantys QFT, QFT-Plus pirmtako, efektyvumą įvairiose MTB infekcijos rizikos populiacijose. Svarbiausi parinktų tyrimų duomenys yra išvardyti 7 lentelė lentelėje.

7 lentelė. Parinkti paskelbti tyrimai apie QFT

Populiacija / būklė	Išvados ir rezultatai	Bendras paskelbtų tyrimų skaičius
Pediatrija	Įrodytas efektyvumas tiriant vaikus, įskaitant jaunesnius nei 5 metų (45–46), tikslumas buvo didesnis nei ELISpot pagrįsto IGRA (8). Iki šiol didžiausias tyrimas, kuriame lyginami vaikų iš Vietnamo, Filipinų ir Meksikos QFT ir TST testai, pirmumą teikia QFT, palyginti su TST, tiriant užsienyje gimusius vaikus dėl LTBI (46). Ribotų kontaktų tyrimas parodė geresnę prognozuojamąją reikšmę, palyginti su TST, tiriant vaikus (47), ir 8 kartus didesnę progresavimo į TB ligą per dvejus metus riziką tarp asmenų, kurių QFT rezultatas virto teigiamu, palyginti su tais, kurių rezultatas nepasikeitė (48). QFT neigiamų / TST teigiamų rezultatų neatitikimas buvo didelis tiriant BCG vakcinuotus vaikus (46, 49), bet nebuvo poveikio Mitogen reakcijai tiriant jaunesnius nei 5 metų vaikus (49) ir buvo maži neaiškių rezultatų rodikliai atliekant įprastinį imigrantų vaikų patikrinimą (46).	152
Nėštumas	Mažo paplitimo vietose QFT buvo vienodai gerai efektyvus tiriant visuose nėštumo trimestruose, gauti rezultatai buvo panašūs į nesilaukiančių moterų. Šis testas yra daug specifiškesnis ir toks pat jautrus kaip TST, be to, gali geriau nei TST prognozuoti ligos progresavimą (50). Didelio paplitimo vietose atliekant tyrimus nėštumo metu QFT buvo stabilnesnis ir labiau priartėjo prie foninio LTBI dominavimo, palyginti su TST, nors autoriai padarė išvadą, kad nėštumas turi įtakos tiek QFT, tiek TST (51).	6

Lentelės tęsinys kitame puslapyje

7 lentelė. Parinkti paskelbti tyrimai apie QFT (tęsinys)

Populiacija / būklė	Išvados ir rezultatai	Bendras paskelbtų tyrimų skaičius
ŽIV / AIDS	ŽIV infekcija turėjo įtakos tiek IGRA, tiek TST, todėl remiantis įrodymais siūloma atsargiai aiškinti rezultatus tais atvejais, kai CD4+ reikšmė < 200 (52). QFT testui poveikis buvo mažesnis nei ELISpot pagrįstam IGRA ir TST (53–55). Šioje populiacijoje per vieną apsilankymą atliekamas IGRA tyrimas pranašesnis dėl TST prastų grįžimo rodiklių problemos (53).	101
Imuniteto slopinimo terapijos	QFT testas imuniteto slopinimo terapijų veikiamas mažiau nei TST ir geriau koreliuoja su TB rizikos faktoriais (23, 27). QFT pasižymi dideliu jautrumu tiriant pacientus, sergančius reumatu (23, 56, 57), ir didesniu specifiskumu nei TST, todėl sumažėja klaidingai teigiamų rezultatų ir nereikalingo gydymo atvejų skaičius, palyginti su TST (23, 57, 58).	112
Medicinos personalas	Buvo specifiškesnis, pateikė mažiau klaidingai teigiamų rezultatų nei TST ir buvo pigesnis nei TST (59–62). Atliekant serijinius kintamumas aplink slenksčių yra numatytas rezultatas dėl dichotominio kritinio taško ir būdingo biologinio testo kintamumo (63). Tyrimai parodė didesnius konversijos / reversijos rodiklius nei TST atliekant mažos rizikos medicinos personalo serijinius tyrimus (64, 65). JAV CDC pripažįsta, kad negriežtas IGRA konversijos apibrėžimo kriterijus gali lemti didesnę konversiją nei ta, kuri stebima naudojant griežtesnius kiekybinius TST kriterijus. Valdant konversijos / reversijos reiškinį buvo efektyvios pakartotinio testavimo strategijos (65–68).	111
TB kontaktai	Didesnis PPV ir NPV nei TST (47); patogu, kad reikia tik vieno apsilankymo, tiriant tuos, kurie, tikėtina, negrįš (63), geresnė koreliacija su poveikiu (69), ypač pastebėta tiriant BCG vakcinuotus asmenis ir populiacijas iš BCG vakcinavimą naudojančių šalių (70, 71).	89
Transplantacija	Buvo bent toks pat efektyvus kaip TST, bet mažiau veikiamas galutinės stadijos organo ligos, palyginti su TST (22).	23

Lentelės tęsinys kitame puslapyje

7 lentelė. Parinkti paskelbti tyrimai apie QFT (tęsinys)

Populiacija / būklė	Išvados ir rezultatai	Bendras paskelbtų tyrimų skaičius
Diabetas	Prieštaringi įrodymai, gauti iš nedidelio populiacijų, kuriose buvo nedaug asmenų, skaičiaus. Tyrimai iš mažo paplitimo srities parodė, kad, tiriant TB pacientus, QFT jautrumui diabetas įtakos neturėjo (72). Tanzanijoje, didelio paplitimo vietoje, atliktas tyrimas rodė galimą neigiamą diabeto poveikį IFN- γ gaminimui, bet atliekant tyrimą nebuvo atsižvelgta į tokius veiksnius kaip ŽIV ar helmintų infekcija (73). Vietname atliktuose tyrimuose 838 besikreipusių diabetikų, kuriems buvo įtarta TB infekcija dėl nenormalių CXR arba pagal kultūrą buvo patvirtinta, kad jie turi aktyvią TB (n = 128), QFT teigiamų rezultatų skaičius buvo lygus arba didesnis, palyginti su TST 10 ir 15 mm kritiniais taškais (74).	9
Galutinės stadijos inkstų liga	QFT teigiami rezultatai geriau koreliuoja su TB rizikos faktoriais, palyginti su TST, ir yra mažiau susiję su BCG (75).	45
Migrantai	Tyrimai parodė, kad QFT testui neturi įtakos nei BCG, nei amžius, skirtingai nuo TST (74). QFT yra ekonomiškai efektyviausias tyrimo metodas (76). Mažo paplitimo vietose dauguma TB atvejų nustatyti tiriant užsienyje gimusius asmenis ir suaktyvėjus latentinei TB po atvykimo (77). Iki šiol didžiausias tyrimas, kuriame lyginami imigrantų vaikų QFT ir TST testai, pirmumą teikia QFT, palyginti su TST, tiriant užsienyje gimusius vaikus dėl latentinės LTBI infekcijos (46).	29

Techninė informacija

Neaiškūs rezultatai

Neaiškūs rezultatai neturėtų būti dažni ir gali būti susiję su tiriamo asmens imuninės sistemos būkle, tačiau jie taip pat gali būti susiję su įvairiais techniniais faktoriais, jei nesilaikoma anksčiau aprašytų naudojimo instrukcijų.

Esant įtarimui, kad laikant reagentus, paimant kraują arba dirbant su kraujo mėginiais buvo techninių problemų, visas QFT-Plus testas turėtų būti pakartotas su nauju kraujo bandiniu. Stimuliuotų plazmos mėginių ELISA testas gali būti pakartotas, jeigu įtariama, kad buvo netinkamai išplauta arba buvo kitų ELISA metodo procedūrinių nukrypimų. Neaiškūs testo rezultatai, gaunami dėl žemų Mitogen ar aukštų Nil reikšmių, pakartojus testą turėtų nepasikeisti, nebent atliekant ELISA testą buvo padaryta klaida. Apie neaiškius rezultatus turi būti pranešta. Tada pagal aplinkybes gydytojai gali paimti naują kraujo bandinį arba, reikalui esant, atlikti kitas procedūras.

Sukrešę plazmos mėginiai

Jeigu plazmos mėginius laikant ilgesnį laiką susidaro fibrino krešuliai, mėginius reikia centrifuguoti iki nuosėdų susidarymo; tai palengvina plazmos lašinimą pipete.

Trikčių šalinimo vadovas

Šis trikčių šalinimo vadovas gali padėti šalinant atsiradusias triktis. Jei reikia daugiau informacijos, žr. techninę informaciją, pateiktą www.QuantiFERON.com. Kontaktinę informaciją rasite galiniame viršelyje.

ELISA trikčių šalinimas

Nespecifinės spalvos atsiradimas

Galima priežastis	Sprendimas
a) Nepakankamai švariai išplautos plokštelės	Plokštelę plaukite mažiausiai 6 kartus po 400 µl plovimo buferio į duobutę. Atsižvelgiant į naudojamą plovimo aparatą, gali prireikti daugiau nei 6 plovimo ciklų. Rekomenduojama tarp plovimo ciklų bent 5 sekundes pamirkyti.
b) Kryžminis ELISA duobučių užteršimas	Norėdami sumažinti riziką iki minimumo, atsargiai lašinkite pipete ir maišykite mėginį.
c) Pasibaigęs komplekto / sudedamųjų dalių galiojimo laikas	Patikrinkite, ar nepasibaigęs komplekto galiojimo laikas. Patikrinkite, ar atkurti standartas ir konjugato 100× koncentratas naudojami per tris mėnesius nuo atkūrimo.
d) Fermento substrato tirpalas užterštas	Išmeskite substratą, jeigu nusidažo mėlynai. Įsitikinkite, kad naudojamos švarios reagentų talpyklos.
e) Plazmos maišymas QFT-Plus mėgintuvėliuose prieš paimant plazmos mėginį	Po centrifugavimo ir prieš plazmos paėmimą kiekvienu atveju venkite mėginius traukyti pipete aukštyn ir žemyn arba plazmą sumaišyti. Visuomet dirbkite kruopščiai, kad nesujudintumėte medžiagos prie gelio paviršiaus.

Žema standartų optinio tankio reikšmė

Galima priežastis	Sprendimas
a) Klaida, susijusi su standarto skiedimu	Komplekto standarto skiedinius paruoškite tiksliai laikydamiesi pakuotės informaciniame lapelyje pateiktų nurodymų.
b) Klaida naudojantis pipete	Patikrinkite, ar pipetės yra kalibruotos ir naudojamos tiksliai pagal gamintojo nurodymus.
c) Per žema inkubavimo temperatūra	ELISA inkubavimas turėtų vykti kambario temperatūroje ($22 \pm 5^\circ \text{C}$).
d) Per trumpas inkubavimo laikas	Plokštelės su konjugatu, standartais ir mėginiais inkubavimo trukmė turėtų būti 120 ± 5 min. Fermento substrato tirpalas ant plokštelės inkubuojamas 30 minučių.
e) Naudojamas netinkamas plokštelių skaitytuvo filtras	Plokštelės rezultatai turėtų būti skaitomi prie 450 nm naudojant 620–650 nm referencijos filtrą.

ELISA trikčių šalinimas

- | | |
|---|---|
| f) Per šalti reagentai | Visi reagentai (išskyrus konjugatą 100× koncentratą) prieš pradėdant tyrimą turi būti kambario temperatūros. Ją pasiekti trunka apie vieną valandą. |
| g) Pasibaigęs komplekto / sudedamųjų dalių galiojimo laikas | Patikrinkite, ar nepasibaigęs komplekto galiojimo laikas. Patikrinkite, ar atkurti standartas ir konjugato 100× koncentratas naudojami per 3 mėnesius nuo atkūrimo. |

Didelis fonas

Galima priežastis

Sprendimas

- | | |
|---|---|
| a) Nepakankamai švariai išplautos plokštelės | Plokštelę plaukite mažiausiai 6 kartus po 400 µl plovimo buferio į duobutę. Atsižvelgiant į naudojamą plovimo aparatą, gali prireikti daugiau nei 6 plovimo ciklų. Rekomenduojama tarp plovimo ciklų bent 5 sekundes pamirkyti. |
| b) Per aukšta inkubavimo temperatūra | ELISA inkubavimas turėtų vykti kambario temperatūroje (22 ± 5 °C). |
| c) Pasibaigęs komplekto / sudedamųjų dalių galiojimo laikas | Patikrinkite, ar nepasibaigęs komplekto galiojimo laikas. Patikrinkite, ar atkurti standartas ir konjugato 100× koncentratas naudojami per 3 mėnesius nuo atkūrimo. |
| d) Fermento substrato tirpalas užterštas | Išmeskite substratą, jeigu nusidažo mėlynai. Įsitinkite, kad naudojamos švarios reagentų talpyklos. |

Nelinijinė standarto kreivė ir dvigubas kintamumas

Galima priežastis

Sprendimas

- | | |
|---|---|
| a) Nepakankamai švariai išplautos plokštelės | Plokštelę plaukite mažiausiai 6 kartus po 400 µl plovimo buferio į duobutę. Atsižvelgiant į naudojamą plovimo aparatą, gali prireikti daugiau nei 6 plovimo ciklų. Rekomenduojama tarp plovimo ciklų bent 5 sekundes pamirkyti. |
| b) Standarto skiedinio ruošimo klaida | Standarto skiedinius paruoškite tiksliai laikydamiesi pakuotės informaciniame lapelyje pateiktų nurodymų. |
| c) Nepakankamas išmaišymas | Prieš pildami duobutes kruopščiai sumaišykite reagentus apversdami arba lengvai pasukiodami. |
| d) Netolygus lašinimas pipete arba pertraukimas pasirengimo tyrimo metu | Mėginių ir standartų pylimas turėtų vykti nenutrūkstamai. Visi reagentai turi būti paruošti prieš pradėdant tyrimą. |

Produkto informaciją ir technines nuorodas gausite nemokamai iš QIAGEN, per platintoją arba apsilankę www.QuantiFERON.com.

Literatūra

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.

Simboliai

Ant pakuotės ir etikečių gali būti pateikti šie simboliai:

Simbolis	Simbolio apibrėžimas
 2 × 96	Pakanka 2 × 96 mėginių paruošimui
	Teisėtas gamintojas
	CE-IVD žymėjimo simbolis
	Skirta <i>in vitro</i> diagnostikai
	Partijos kodas
	Katalogo numeris
	Visuotinis prekės numeris
	Tinka iki datos
	Temperatūros apribojimai
	Žr. naudojimo instrukcijas
	Nenaudoti pakartotinai
	Saugoti nuo saulės šviesos
	Medžiagos numeris
Rn	R yra naudojimo instrukcijų peržiūrėtas leidimas, n yra peržiūrėto leidimo numeris

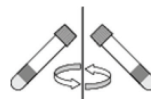
Kontaktinė informacija

Prireikus techninės pagalbos ar papildomos informacijos, skambinkite nemokamu tel. 00800-22-44-6000, apsilankykite mūsų Techninės pagalbos centre adresu **www.qiagen.com/contact** arba kreipkitės į vieną iš mūsų QIAGEN Techninio aptarnavimo skyrių (žr. viršelį arba apsilankykite **www.qiagen.com**).

Trumpas testo procedūros aprašas

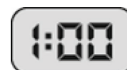
1 etapas. Kraujo mėginio inkubavimas

1. Kraujo surinkimo mėgintuvėliu iš paciento paimkite kraujo mėginį ir dešimt (10) kartų stipriai pakratydami kruopščiai sumaišykite turinį, kad mėgintuvėlio sienelių vidinė pusė būtų visiškai padengta krauju. Taip ištirps ant mėgintuvėlio sienelių esantys antigenai.
2. Inkubuokite mėgintuvėlius vertikalioje padėtyje 16–24 val. $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ temperatūroje.
3. Po inkubavimo esant $2\ 000\text{--}3\ 000 \times g$ RCF (g) mėgintuvėlius 15 minučių centrifuguokite, kad plazma atsiskirtų nuo raudonųjų kraujo ląstelių.
4. Po centrifugavimo ir prieš paimant plazmą kiekvienu atveju venkite mėginius traukti pipete aukštyn ir žemyn arba sumaišyti plazmą. Visuomet dirbkite kruopščiai, kad nesujudintumėte medžiagos prie gelio paviršiaus.



2 etapas. IFN- γ ELISA

1. ELISA komponentus, išskyrus konjugato $100\times$ koncentratą, palikite mažiausiai 60 minučių pastovėti, kad susilygintų su kambario temperatūra ($22 \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$).



2. Komplekto standartą atkurkite naudodami 8,0 IU/ml distiliuoto arba dejonizuoto vandens. Pagaminkite keturis (4) standarto skiedinius.



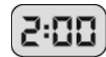
3. Naudodami distiliuotą arba dejonizuotą vandenį atkurkite liofilizuotą konjugato 100× koncentratą.

4. Pagaminkite darbui reikiamo stiprumo konjugatą su žaliu skiedikliu ir į visas duobutes įpilkite po 50 µl.



5. Į atitinkamas duobutes įpilkite po 50 µl tiriamo plazmos mėginio ir 50 µl standartų. Išmaišykite naudodami kratytuvą.

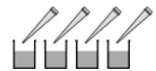
6. 120 ± 5 minučių inkubuokite kambario temperatūroje.



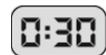
7. Duobutes plaukite mažiausiai 6 kartus įpildami po 400 µl plovimo buferio į duobutę.



8. Į duobutes įpilkite po 100 µl fermento substrato tirpalo. Išmaišykite naudodami kratytuvą.



9. 30 minučių inkubuokite kambario temperatūroje.



10. Į kiekvieną duobutę įpilkite po 50 µl fermento stabdymo tirpalo. Išmaišykite naudodami kratytuvą.



11. Matuokite rezultatus prie 450 nm naudodami 620–650 nm referencijos filtrą.



12. Analizuokite rezultatus.



SVARBŪS PAKEITIMAI

Skryius	Puslapis	Pakeitimas (-ai)
vairūs	vairūs	Pridėtos instrukcijos, susijusios su ličio heparino arba natrio heparino mėgintuvėlio naudojimu
vairūs	vairūs	Pridėtos instrukcijos, susijusios su 2–8 °C kraujo paėmimo darbo eiga
vairūs	vairūs	Plokštelės dangtelis dabar yra reikalinga, bet nepateikiama priemonė

Vadovo peržiūros istorija

Dokumentas	Keitimai
R6 04/2019	Su ličio heparinu / natrio heparinu susiję pakeitimai Naujos 2–8 °C kraujo paėmimo darbo eigos instrukcijos Pašalinti QF plokštelių dangteliai

Prekių ženklai: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (QIAGEN grupė); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.).

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA ribotosios licencijos sutartis

Naudodamas šį produktą pirkėjas ar naudotojas sutinka su šiomis sąlygomis:

1. Produktą galima naudoti tik vadovaujantis protokolais, pateiktais su šiuo produktu, šiuo informaciniu lapeliu ir tik su komplekte esančiais komponentais. QIAGEN nesuteikia jokios intelektinės nuosavybės licencijos naudoti ar įtraukti pridėtus šio rinkinio komponentus su į šį komplektą neįeinančiais komponentais, išskyrus aprašytus protokoluose, pateiktuose su šiuo produktu ir šiame informaciniame lapelyje.
2. Jei aiškiai nenurodyta licencijose, QIAGEN nesuteikia garantijos, kad šis rinkinys ir (arba) jo naudojimas nepažeis trečiųjų šalių teisių.
3. Komplektui ir jo komponentams suteikta licencija naudoti vieną kartą; pakartotinai naudoti, atnaujinti ar perparduoti negalima, nebent QIAGEN nustatė kitaip.
4. QIAGEN aiškiai atsisako bet kokių kitų išreikštų ar numanomų licencijų, išskyrus aiškiai nurodytas licencijas.
5. Rinkinio pirkėjas ir naudotojas sutinka nesimti ir neleisti niekam kitam imti veiksmų, kurie galėtų paskatinti arba palengvinti čia nurodytus draudžiamus veiksmus. QIAGEN gali bet kuriame teisme priversti vykdyti šios Ribotosios licencinės sutarties draudimus ir atgauti visas tyrimo ir teismo išlaidas, įskaitant išlaidas advokatams, pateikusi ieškinį dėl šios Ribotosios licencinės sutarties vykdymo arba su šiuo rinkiniu ir (arba) jo komponentais susijusių teisių į savo intelektinę nuosavybę.

Atnaujintas licencijos sąlygas rasite www.qiagen.com.

© QIAGEN, 2019. Visos teisės saugomos.

www.QuantiFERON.com

Azijos ir Ramiojo vandenyno šalys | techservice-ap@qiagen.com

Europa | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Vidurio Rytai / Afrika | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Lotynų Amerika (be Brazilijos ar Meksikos) | techservice-latam@qiagen.com

Pastabos

Pastabos

