

Aprill 2019

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



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

1. versioon



Kasutamiseks *in vitro* diagnostikas

Täisvere gamma-interferooni (IFN- γ) analüüsi mõõtmisnäidud ESAT-6 ja CFP-10 peptiidantigeenide suhtes



622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
Saksamaa



1083163ET

Sisukord

| | |
|---|----|
| Sihtotstarve | 5 |
| Analüüsi ülevaade ja selgitus | 5 |
| Analüüsi põhimõtted | 7 |
| Analüüsimiseks kuluv aeg | 9 |
| Komponendid ja säilitamine | 10 |
| Vajalikud, kuid tarnekomplekti mittekuuluvad materjalid | 13 |
| Proovide hoiustamine ja tarnimine | 14 |
| Verevõtukatsutid | 14 |
| Analüüsikomplekti reaktiivid | 14 |
| Rekonstitueeritud ja kasutamata reaktiivid | 14 |
| Hoiatused ja ettevaatusabinõud | 15 |
| Hoiatused | 15 |
| Ettevaatusabinõud | 16 |
| Proovide võtmine ja käsitsemine | 19 |
| Kasutusjuhised | 25 |
| 1. etapp – vere inkubeerimine ja plasma eraldamine | 25 |
| 2. etapp – IFN- γ ELISA | 26 |
| Arvutused ja analüüsi tõlgendamine | 31 |
| Standardkõvera moodustamine | 31 |
| Analüüsi kvaliteedikontroll | 32 |
| Tulemuste tõlgendamine | 32 |
| Piirangud | 35 |

| | |
|---|----|
| Sooritusnäitajad | 36 |
| Kliinilised uuringud | 36 |
| Analüüsi sooritusnäitajad | 42 |
| Tehniline teave | 47 |
| Määramatud tulemused | 47 |
| Plasmaproovide hüübimine | 47 |
| Tõrkeotsingujuhend | 48 |
| Viited | 50 |
| Tähised | 60 |
| Kontakteave | 61 |
| Analüüsi lühikirjeldus | 62 |
| 1. etapp – vereproovi inkubeerimine | 62 |
| 2. etapp – IFN- γ ELISA | 62 |
| Olulised muudatused | 64 |
| Käsiraamatu redaktsiooniajalugu | 64 |

Sihtotstarve

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) analüüs on *in vitro* diagnostiline analüüs, mis sisaldab proteiine ESAT-6 ja CFP-10 simuleerivate ning hepariniseeritud täisveres rakke stimuleerivate peptiidide segu. Ensüüm-immunosorptsiooni analüüsiga (ELISA) tuvastatud interferoon- γ (IFN- γ) võimaldab tuvastada *in vitro* reaktsioone nende peptiidi antigeenide suhtes, mis kaasnevad *Mycobacterium tuberculosis*'e nakkusega.

QFT-Plus on *M. tuberculosis* nakkuse tuvastamise (sh aktiivse haigestumise) kaudne analüüs. Analüüsi tulemusi tuleb vaadelda koos riskitaseme hindamise, röntgenuringute ning muude meditsiiniliste ja diagnostiliste uuringutega.

Analüüsi ülevaade ja selgitus

Tuberkuloos on nakkushaigus, mille põhjustab nakatumine *M. tuberculosis* (MTB) kompleksorganismidega (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*), mis tüüpiliselt levivad uuele peremehele hingamisteede tuberkuloosi põdevate patsientide õhus leviva piisknakkuse teel. Esmase nakkusega patsientidel võib tuberkuloosi haigestumine avalduda nädalate või kuude jooksul, kuid suuremal osal nakatunust ei teki mingeid kaebusi. Mõnedel isikutel tekib püsiv latentne tuberkuloosne infektsioon (LTBI), mittenakkav asümptomaatiline haigestumine, mis võib vallanduda alles kuude või aastate pärast. LTBI tuvastamise peamine eesmärk on kaaluda tuberkuloosi haigestumist ennetava ravi kohaldamist. Kuni viimase ajani oli LTBI diagnoosimise ainukeseks meetodiks tuberkuliini nahatest (TST – tuberculin skin test). Tuberkuliini kutaanne tundlikkus tekib 2–10 nädalat pärast nakatumist. Paraku leidub nakatunuid, kes tuberkuliinile ei reageeri, nende hulgas näiteks patsiendid, kelle immuunreaktsioon on muude haiguste tõttu pärsitud, aga ka ilma selliste pärssumusteta patsiendid. Ning vastupidi, mõnedel isikutel, kes suure tõenäosusega ei põe *M. tuberculosis* nakkust, võib pärast bacillus Calmette-Guérini (Bacille Calmette-Guérin – BCG) süstimist või pärast muude *M. tuberculosis* kompleksi mittekuuluvate mükobakteritega nakatumist või

muude, tundmatute tegurite tõttu ilmned tuberkuliinitundlikkus, ning tuberkuliinist võib anda positiivse tulemuse.

LTBI-d tuleb eristada tuberkuloosi haigestumisest, mis tuleb kohustuslikus korras registreerida ning mis haarab reeglina kopsu ja alumisi hingamisteid, kuid millesse võivad olla nakatunud ka muud organsüsteemid. Tuberkuloosi diagnoositakse anamnestiliste, füüsiliste, radioloogiliste, histoloogiliste ja mükobakterioloogiliste uuringute põhjal.

QFT-Plus-analüüs mõõdab rakuvahendatud immuunreaktsioone (cell-mediated immune – CMI) peptiidi antigeenidele, mis simuleerivad mükobakteriaalseid proteiine. Proteiine ESAT-6 ja CFP-10 ei leidu BCG-tüvedes ega enamikus teada olevates mittetuberkuloosetes mükobakterites (v.a *M. kansasii*, *M. szulgai* ja *M. marinum*) (1). MTB kompleksorganismidega nakatunud isikutel on tavaliselt veres lümfotsüüte, mis need ja muud mükobakteriaalsed antigeenid ära tunnevad. Sellise identifitseerimisprotsessi käigus toodab ja vallandab organism tsütokiini gamma-interferooni (IFN- γ). Selle analüüsi aluseks on IFN- γ tuvastamine ja edasine kvantifitseerimine.

QFT-Plus-analüüsis kasutatavad antigeenid kujutavad endast peptiidide segu, mis simuleerib proteiine ESAT-6 ja CFP-10. Arvukad uurimused on näidanud, et need peptiidi antigeenid stimuleerivad *M. tuberculosis*ega nakatunute T-rakkudes IFN- γ reaktsiooni, mittedakotunutel või BCG-ga vaksineeritud või LTBI-riskita isikutel aga mitte (1–32). Siiski võivad meditsiinilised manipulatsioonid või immuunfunktsioone pärssivad haigused IFN- γ -reaktsiooni potentsiaalselt vähendada. Proteiinidele ESAT-6 ja CFP-10 võivad reageerida ka teatud muude mükobakteriaalsete infektsioonidega patsiendid, kuna neid proteiine kodeerivad geene leidub ka sellistes mükobakterites nagu *M. kansasii*, *M. szulgai* ja *M. marinum* (1, 23). Sellepärast on QFT-Plus-analüüsis *M. tuberculosis* kompleksi kuuluvate organismidega nakatunud patsientide diagnoosimisel suur abi. Positiivne testitulemus kinnitab tuberkuloosi diagnoosi, kuigi positiivse tulemuse võivad anda ka muud mükobakterid (nt *M. kansasii*). Sellepärast tuleb tuberkuloosi diagnoosi kinnitamiseks või välistamiseks teha ka muid meditsiinilisi ja diagnostilisi uuringuid.

QFT-Plus sisaldab kaht eraldi TB-antigeeniga katsutit: TB Antigen Tube 1 (TB1) ja TB Antigen Tube 2 (TB2). Mõlemad katsutid sisaldavad peptiidi antigeene MTB-kompleksiga seotud antigeenidest ESAT-6 ja CFP-10. Kuna TB1 katsuti sisaldab ESAT-6 ja CFP-10 peptiide, mis on mõeldud CMI-reaktsiooni esilekutsumiseks CD4⁺ T abistaja lümfotsüütidest, sisaldab TB2 katsuti peptiidide lisakomplekti, mis on mõeldud CMI reaktsiooni indutseerimiseks CD8⁺ tsütotoksilistest T lümfotsüütidest. MTB-nakkuse loomulikus kulus mängivad CD4⁺ T rakud immunoloogilises kontrollis äärmiselt olulist rolli tsütokiini gamma-interferooni (IFN- γ) sekreteerimise kaudu. Tõendusmaterjalid toetavad nüüd CD8⁺ T rakkude rolli peremeesorganismi kaitses MTB vastu, tootes IFN- γ ja muid lahustuvaid faktoreid, mis aktiveerivad MTB kasvu mahasurumiseks makrofaage, tapavad nakatunud rakke või lüüsiivad otse rakusisest MTB-d (33–35). MTB-spetsiifilisi CD8⁺ rakke on leitud LTBI-d põdevatelt ja aktiivse TB-ga isikutelt, kus sageli leitakse IFN- γ tootvaid CD8⁺ rakke (36–38). Lisaks kirjeldatakse ESAT-6 ja CFP-10-spetsiifilisi CD8⁺ T lümfotsüüte sagedamini esinevateks aktiivse TB-ga isikutel võrrelduna LTBI-ga isikutega ning seda võib seostada hiljutise MTB puhanguga (39–41). Lisaks on IFN- γ tootvaid MTB-spetsiifilisi CD8⁺ T rakke leitud ka HIV-koinfektsiooniga aktiivse TB-ga isikutel (42, 43) ja tuberkuloosihaigetel lastel (44).

Analüüsi põhimõtted

QFT-Plus-analüüsis kasutatakse spetsiaalseid verevõtukatsuteid, millesse võetakse täisveri. Katsutitega vereproove inkubeeritakse 16–24 tundi. Seejärel eraldatakse verest plasma ning uuritakse, kas selles leidub IFN- γ , mis moodustus peptiidi reageerimisel antigeenidele.

QFT-Plus-analüüs tehakse kahes etapis. Esmalt võetakse täisveri igasse katsutisse QFT-Plus Blood Collection Tubes: katsutisse Nil, katsutisse TB1, katsutisse TB2 ja katsutisse Mitogen. Alternatiivselt võib verd võtta ühte üldisesse verevõtukatsutisse, mis sisaldab antikoagulandina liitiumhepariini või naatriumhepariini, ja viia seejärel QFT-Plus-katsutitesse.

Katsutit Mitogen kasutatakse QFT-Plus-analüüsis positiivse kontrollina. See võib olla eriti oluline siis, kui isiku immuunsüsteemi seisundi suhtes on kahtlusi. Katsutit Mitogen kasutatakse ka vereproovi nõuetekohase käsitsemise ja inkubeerimise kontrollimiseks.

QFT-Plus-katsuteid tuleb loksutada antigeeni segamiseks verrega ja need tuleb inkubeerida võimalikult kiiresti temperatuuril 37 °C (kuni 16 tunni jooksul pärast verevõtmist). Pärast 16–24-tunnist inkubatsiooniaega katsutid tsentrifuugitakse. Seejärel eraldatakse verest plasma ning määratakse ELISA testi abil kindlaks IFN- γ hulk (RÜ/ml). QFCMV ELISA kasutab rekombinantset humaanset IFN- γ standardit, mida on analüüsitud IFN- γ võrdluspreparaadi (NIH viide: Gxg01-902-535) suhtes. Analüüsitavaid proovide tulemused esitatakse rahvusvahelikes ühikutes milliliitri kohta (RÜ/ml) võrrelduna standardkõveraga, mis on valmistatud komplektiga kuuluva standardi lahuse analüüsimise teel.

Kinnitust on leidnud, et mõnede isikute seerumis või plasmas olevad heterofiilsed (nt inimese hiirevastased) antikehad põhjustavad immunoloogiliste analüüsides häiringut. Heterofiilsete antikehade mõju QFT-Plus ELISA analüüsis vähendatakse tavalise hiireseerumi lisamisega rohelisse lahjendisse ja F(ab')₂ monoklonaalse antikeha fragmentide kasutamisega, sest IFN- γ haarab mikroplaadi süvenditesse kinnitunud antikeha.

QFT-Plus-analüüs loetakse IFN- γ reaktsiooni suhtes mõlemas TB-antigeeniga katsutis positiivseks, kui selle väärtus on Nil-analüüsi (IFN- γ RÜ/ml) väärtusest märgatavalt kõrgem. Katsuti Mitogen korral kontrollitakse mitogeensimuleeritud plasmaprooviga iga analüüsitava proovi IFN- γ positiivsust. Kui reaktsioon mitogeenile on madal (< 0,5 RÜ/ml), loetakse tulemus määramatuks, samal ajal kui ka vereproovi reaktsioon TB-antigeenidele on negatiivne. Selline kombinatsioon võib tekkida siis, kui lümfotsüütide hulk on ebapiisav või nende aktiivsus langenud, kuna proovi käsitleti nõuetele mittevastavalt, mitogeeniga katsuteid täideti või segati valesti, või siis, kui patsiendi lümfotsüüdid ei ole suutelised gamma-interferooni (IFN- γ) tootma. IFN- γ kõrge sisaldus Nil-proovis võib ilmneda heterofiilsete antikehade esinemise või sisemise IFN- γ sekretsiooni tõttu. Kontrollkatsuti Nil kohandub taustaga (nt tsirkuleeriva IFN- γ suurenenud kontsentratsioon või heterofiilsete antikehade esinemine). Kontrollkatsuti Nil IFN- γ väärtus lahutatakse TB-antigeeniga katsuteite ja katsuti Mitogen IFN- γ väärtusest.

Analüüsimiseks kuluv aeg

Allpool on prognoositav aeg, mis kulub QFT-Plus ELISA tegemisele; näidatud on ka mitmest proovist koosneva seeria analüüsimisele kuluv aeg.

Verekatsutite inkubeerimine temperatuuril 37 °C: 16 kuni 24 tundi

ELISA: Ligikaudu 3 tundi ühe ELISA analüüsi plaadile
(22 patsienti)
< 1 tund tööaega
Lisaks 10–15 minutit iga lisaplaadi kohta

Komponendid ja säilitamine

| | | | | | | | |
|---|------------|--------------|----------------------|------------------|-----------------|-------------------------|---------------------|
| Verevõtukatsutid* | | 200 katsutit | Ühe patsiendi pakend | Dosaatori pakend | 200 HA katsutit | HA ühe patsiendi pakend | HA dosaatori pakend |
| Katalooginr | | 622526 | 622222 | 622423 | 623526 | 623222 | 623423 |
| Analiüside/pakendite arv | | 50 | 10 | 25 | 50 | 10 | 25 |
| QuantiFERON Nil Tube (hall, valge rõngaga kork) | Nil | 50 katsutit | 10 katsutit | 25 katsutit | | | |
| QuantiFERON TB1 Tube (roheline, valge rõngaga kork) | TB1 | 50 katsutit | 10 katsutit | 25 katsutit | | | |
| QuantiFERON TB2 Tube (kollane, valge rõngaga kork) | TB2 | 50 katsutit | 10 katsutit | 25 katsutit | | | |
| QuantiFERON Mitogen Tube (lilla, valge rõngaga kork) | Mitogeen | 50 katsutit | 10 katsutit | 25 katsutit | | | |
| QuantiFERON Nil HA Tube (hall, kollase rõngaga kork) | Nil HA | | | | 50 katsutit | 10 katsutit | 25 katsutit |
| QuantiFERON TB1 HA Tube (roheline, kollase rõngaga kork) | TB1 HA | | | | 50 katsutit | 10 katsutit | 25 katsutit |
| QuantiFERON TB2 HA Tube (kollane, kollase rõngaga kork) | TB2 HA | | | | 50 katsutit | 10 katsutit | 25 katsutit |
| QuantiFERON Mitogen HA Tube (lilla, kollase rõngaga kork) | Mitogen HA | | | | 50 katsutit | 10 katsutit | 25 katsutit |
| QFT-Plus Blood Collection Tubes infoleht | | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 | 1 |

* Kõik tootekonfiguratsioonid pole kõikides riikides saadaval. Lisateabe saamiseks saadaolevate konfiguratsioonide tellimise kohta pöörduge QIAGENi klienditeeninduse poole (üksikasjad leiate veebisaidilt www.qiagen.com).

| ELISA komponendid [†] Katalooginr | Kahest plaadist koosnev ELISA komplekt 622120 | Referentslabori pakend 622822 |
|--|---|--|
| Microplate Strips (Mikroplaadiribad) (12 × 8 süvendiga), kaetud hiire anti-humaanse IFN- γ monoklonaalse antikehaga (hiir) | 2 × 96 süvendiga mikroplaadiribad | 20 × 96 süvendiga mikroplaadiribad |
| IFN- γ Standard, (IFN- γ standard), lüofiliseeritud; sisaldab rekombinantset humaanset IFN, veise kaseiini, 0,01% mass/maht timerosaali | 1 vial (8 RÜ/ml pärast rekonstitueerimist) | 10 vial (8 RÜ/ml pärast rekonstitueerimist) |
| Green Diluent (Roheline lahjendi) (sisaldab veise kaseiini, tavalist hiireseerumit, 0,01% mass/maht timerosaali) | 1 × 30 ml | 10 × 30 ml |
| Conjugate 100x Concentrate, (Konjugaadikontsentraat, 100-kordne), lüofiliseeritud, (anti-humaanne (hiir) IFN- γ HRP, sisaldab 0,01% mass/maht timerosaali) | 1 × 0,3 ml (pärast rekonstitueerimist) | 10 × 0,3 ml (pärast rekonstitueerimist) |
| Wash Buffer 20x Concentrate (Pesupuhvri kontsentraat, 20-kordne kontsentraat) (pH 7,2; sisaldab 0,05 mahu% ProClin® 300) | 1 × 100 ml | 10 × 100 ml |
| Enzyme Substrate Solution (Ensüümsubstraadi lahus) (sisaldab H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetrametüülbensidiini) | 1 × 30 ml | 10 × 30 ml |
| Enzyme Stopping Solution (Ensüümi inaktiveerimislahus) (sisaldab 0,5M H ₂ SO ₄) | 1 × 15 ml | 10 × 15 ml |
| QFT-Plus ELISA infoleht | 1 | 1 |

[†] Ettevaatusabinõude ja ohulausetega kohta vt lk 16.

Vajalikud, kuid tarnekomplekti mittekuuluvad materjalid

- 37 °C ±1 °C inkubaator*. Ei vaja CO₂
- Kalibreeritud eri suurusega pipetid* (10–1000 µl, ühekordse otsaga)
- Kalibreeritud, mitme kanaliga pipetid* (50–100 µl, ühekordse otsaga)
- Plaadi kaas
- Mikroplaadi raputi*
- Deioniseeritud või destilleeritud vesi, 2 liitrit
- Mikroplaatide pesuseade (soovitavalt automaatne)
- Mikroplaadilugeja* 450 nm filtri ja 620–650 nm referentsfiltriga

* Veenduge, et seadmed on kontrollitud ja vastavalt tootja soovitudele kalibreeritud.

Proovide hoiustamine ja tarnimine

Verevõtukatsutid

- Säilitage verevõtukatsuteid temperatuuril 4–25 °C.

Analüüsikomplekti reaktiivid

- Säilitage komplekti reaktiive temperatuuril 2–8 °C.
- Kaitske ensüümsubstraadi lahust alati otsese päikesevalguse eest.

Rekonstitueeritud ja kasutamata reaktiivid

Reaktiivide rekonstitueerimise juhiseid vt lk 27.

- Rekonstitueeritud reaktiivikomplekt säilib temperatuuril 2–8 °C 3 kuud.
Märkige üles reaktiivikomplekti rekonstitueerimise kuupäev.
- Ülejäänud kontsentrati (100-kordne) tuleb pärast rekonstitueerimist säilitada temperatuuril 2–8 °C ning see tuleb ära kasutada 3 kuu jooksul.
Märkige üles konjugaadi rekonstitueerimise kuupäev.
- Kasutusvalmis konjugaat tuleb ära tarvitada 6 tunni jooksul pärast valmistamist.
- Kasutusvalmis pesupuhver säilib toatemperatuuril kuni 2 nädalat.

Hoiatused ja ettevaatusabinõud

Kasutamiseks ainult *in vitro* diagnostikas.

Hoiatused

- QFT-Plus-analüüsi negatiivne tulemus ei välista *M. tuberculosis*ga nakatumise või tuberkuloosi haigestumise võimalust; valenegatiivsed tulemused võivad olla tingitud nakatumisfaasist (nt kui vereproov võeti enne rakulise immuunreaktsiooni väljakujunemist), immuunfunktsiooni häiretest, mida põhjustavad muud haigused, katsutite nõuetevastasest käsitsemisest verevõtmisel, analüüsi ebaõigest läbiviimisest või muudest immunoloogilistest muutujatest.
- QFT-Plus-analüüsi positiivset tulemust ei tohiks võtta ainsaks aluseks *M. tuberculosis*'ega nakatumise üle otsustamisel. Analüüsi ebaõige läbiviimine võib anda ka valepositiivseid tulemusi.
- QFT-Plus-analüüsi positiivset tulemust lahtise tuberkuloosi suhtes tuleks kinnitada ka muude meditsiiniliste ja diagnostiliste uuringutega (nt AFB-äge ja kultuuri ning rindkere röntgenuuringutega).
- Kuigi BCG-tüvedes ja enamikus teada olevates mittetuberkuloossetes mükobakterites ei leidu proteiine ESAT-6 ja CFP-10, võivad QFT-Plus-analüüsi positiivse tulemuse anda ka *M. kansasii*, *M. szulgai* või *M. marinum*. Kui võib oletada, et tegemist on nimetatud nakkustega, tuleb teha alternatiivsed analüüsid.

Ettevaatusabinõud

Kemikaalidega töötamisel kandke alati sobivat laborikitlit, ühekordselt kasutatavaid kindaid ja kaitseprille. Lisateabe saamiseks tutvuge vastava ohutuskaardiga (SDS). Need on saadaval mugavas ja kompaktses PDF-vormingus veebiaadressil www.qiagen.com/safety. Seal saate vaadata kõiki QIAGENi komplekti ja selle osade ohutuskaarte ning need välja printida.



ETTEVAATUST! Käsitsege inimverd ja plasmat kui potentsiaalselt nakkusohtlikku. Jälgige asjakohaseid vere ja veretoodete käsitlemise juhiseid. Vere ja veretoodetega kokku puutunud proovid ja materjalid tuleb kõrvaldada kooskõlas föderaalsete, riiklike ja kohalike nõuetega.

QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA analüüsikomplekti komponentidele kehtivad järgmised ohu- ja hoiatuslaused.

Ohulaused



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

Sisaldab väävelhapet. Hoiatus! Võib söövitada metalle. Põhjustab nahaärritust. Põhjustab tõsist silmaärritust. Kandke kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/kaitsemaski.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Hoiatus! Põhjustab kerget nahaärritust. Kandke kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/kaitsemaski.



QuantiFERON Green Diluent

Sisaldab trinaatrium-5-hüdroksü-1-(4-sulfofenüül)-4-(4-sulfofenüülaso)püraasool-3-karboksülaati. Sisaldab: tartasiini. Hoiatus! Võib põhjustada allergilist nahareaktsiooni. Kandke kaitsekindaid/kaitserõivastust/kaitseprille/kaitsemaski.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Sisaldab: segu 5-kloro-2-metüül-4-isotiasoliin-3-oonist ja 2-metüül-2H-isotiasool-3-oonist (3:1). Pikaajalise kahjuliku mõjuga veeorganismidele. Vältida keskkonda sattumist.

Hoiatuslaused

Enne kasutamist tutvuda erijuhistega. Kandke kaitsekindaid/kaitserõivastust /kaitseprille/kaitsemaski. **NAHALE** (või juustele) **SATTUMISE KORRAL**: kõik saastunud rõivad viivitamatult eemaldada/seljast võtta. Loputada nahka veega / loputada duši all. **SILMA SATTUMISE KORRAL**: silma sattumise korral loputada mitme minuti jooksul ettevaatlikult veega. Eemaldage kontaktläätsed, kui neid kannate ja kui neid on kerge eemaldada. Jätkake loputamist. Kokkupuute või kokkupuutekahtluse korral: pöörduda arsti poole. Allaneelamise korral võtta viivitamata ühendust MÜRGIKUSKESKUSE või arstiga. Nahaärrituse ja lööbe korral: pöörduda arsti poole. Võtta saastunud rõivad seljast ja pesta neid enne järgmist kasutamist. Hoida lukustatult. Toode/pakend hävitatakse vastavalt ohtlike jäätmete käitlemise nõuetele.

Lisateave

Ohutuskaardid: www.qiagen.com/safety

- *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA* infolehel kirjeldatud meetoditest ja juhistest kõrvalekaldumine võib tingida valede tulemuste saamise. Lugege juhised enne analüüsi kasutamist tähelepanelikult läbi.

- Ärge kasutage komplekti, kui mõni reaktiivipudel on enne kasutamist kahjustatud või lekib.
- NB! Enne kasutamist vaadake viaalid üle. Ärge kasutage konjugaadi või IFN- γ standard viaali, millel on märke kahjustustest või mille kummikork on rikutud. Ärge kasutage purunenud viaale. Rakendage vajalikud meetmed viaalide ohutuks hävitamiseks. Soovitus. Konjugaadi või IFN- γ standard viaalide avamiseks kasutage viaalide avajat, et minimeerida risk vigastada end metallkorgi äärisega.
- Ärge segage erinevatest QFT-Plus komplektipartiidest pärit mikroplaadiribasid, viaale IFN- γ standard, rohelist lahjendit ega 100-kordset konjugaadikontsentrati. Muid erinevatest komplektidest pärit reaktiive (20-kordne pesupuhvri kontsentrati, ensüümsubstraadi lahus ja ensüümi inaktiveerimislahus) võib kasutada eeldusel, et nende reaktiivide säilivusaeg pole ületatud ja partii üksikasjad on üles kirjutatud.
- Kõrvaldage ülejäänud reaktiivid ja bioloogilised proovid kohalike ja riiklike määruste kohaselt.
- Ärge kasutage verevõtukatsuteid QFT-Plus Blood Collection Tubes või ELISA komplekti pärast aegumiskuupäeva.
- Alati tuleb järgida õigeid labori protseduure.
- Veenduge, et laboriseadmed on kasutamise jaoks kalibreeritud ja valideeritud.

Proovide võtmine ja käsitlemine

QFT-Plus sisaldab järgmisi verevõtukatsuteid.

1. QuantiFERON Nil katsutid (hall, valge rõngaga kork)
2. QuantiFERON TB1 katsutid (roheline, valge rõngaga kork)
3. QuantiFERON TB2 katsutid (kollane, valge rõngaga kork)
4. QuantiFERON Mitogen katsutid (lilla, valge rõngaga kork)
5. QuantiFERON HA Nil katsutid (hall, kollase rõngaga kork)
6. QuantiFERON HA TB1 katsutid (roheline, kollase rõngaga kork)
7. QuantiFERON HA TB2 katsutid (kollane, kollase rõngaga kork)
8. QuantiFERON HA Mitogen katsutid (lilla, kollase rõngaga kork)

Antigeenid katavad kuivatatud kihina verevõtukatsutite siseseina, seetõttu tuleb vereproovid hoolikalt katsuti sisuga segada. Otse QFT-Plus katsutisse võetud vere korral tuleb QFT-Plus katsuteid säilitada ja transportida toatemperatuuril ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) ning panna võimalikult kiiresti 37 °C juurde inkubaatorisse 16 tunni jooksul alates kogumisest. Teise võimalusena võib enne QFT-Plus üleviimist ja inkubeerimist võtta verd säilitamiseks ühte liitium- või naatriumhepariiniga katsutisse. Liitium- või naatriumhepariini kogutud vereproove võib hoida toatemperatuuril ($17\text{--}25\text{ °C}$) kuni 16 tundi pärast ülekandmist QFT-Plusi katsutitesse. Liitium- või naatriumhepariiniga katsutites olevaid vereproove võib enne QFT-Plus katsutitesse üle kandmist hoida ka temperatuuril $2\text{--}8\text{ °C}$ kuni 48 tundi. Vt jaotist „Verevõtmine ühte liitium- või naatriumhepariini katsutisse ja seejärel ülekandmine verevõtukatsutisse QFT-Plus Blood Collection Tubes“.

Võtke verd otse verevõtukatsutitesse QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Sildistage katsutid vastavalt nõuetele.

Kontrollige, kas iga katsuti (Nil, TB1, TB2 ja Mitogen) on sildi või muude vahendite abil pärast korgi eemaldamist tuvastatav.

Soovitatakse registreerida vere kogumise aeg ja kuupäev.

2. Võtke igalt patsiendilt otse igasse verevõtukatsutisse QFT-Plus Blood Collection Tubes 1 ml veeniverd. Seda protseduuri võib teostada ainult vastava väljaõppe saanud veenivere võtja (flebotomist).

Oluline märkus: katsutite temperatuur peab verevõtmise ajal olema vahemikus 17–25 °C.

Standardseid verevõtukatsuteid QFT-Plus Blood Collection Tubes võib kasutada kuni 810 meetri kõrgusel merepinnast. Suurel kõrgusel kasutamiseks ettenähtud (High Altitude – HA) verevõtukatsuteid QFT-Plus Blood Collection Tubes võib kasutada 1020–1875 meetri kõrgusel merepinnast.

Kuna veri voolab 1 ml katsutitesse suhteliselt aeglaselt, jätke katsuti pärast näilise täituvustaseme saavutamist veel 2–3 sekundiks nõela otsa. Sellega on tagatud vajaliku verekoguse saamine.

- Katsuti küljel olev must tähis osutab ettenähtud täituvustasemele 0,8–1,2 ml. Kui vere tase on mõnes katsutis väljaspool indikaatortähise vahemikku, tuleb võtta uus vereproov. Katsutite ala- või ületäitmine nii, et nendes oleva vere maht jääb väljapoole 0,8 kuni 1,2 ml vahemikku, võib anda vigaseid tulemusi.
- Kui verevõtmisel kasutatakse libliknõela, tuleb tühja katsuti abil veenduda, et toru oleks enne QFT-Plus-verevõtukatsutite kasutamist verrega täidetud.
- Verevõtukatsutite QFT-Plus Blood Collection Tubes kasutamisel kõrgemal kui 810 meetrit või kui verevõturõhk on madal, võivad kasutajad verd võtta süstlaga ja kanda 1 ml verd kohe igasse 4 katsutisse. Et seda oleks turvaline ja mugav teha, tuleb süstlanõel nõuetekohaselt eemaldada, võtta kõigilt 4 QFT-Plus-katsutitelt korgid ära ning viia süstlaga igasse katsutisse 1 ml verd (kuni katsutisildi küljel oleva musta tähise keskkohani). Pange katsutikorgid kindlalt

peale ja segage, nagu allpool kirjeldatud. Kontrollige, kas iga katsuti (Nil, TB1, TB2 ja Mitogen) on sildi või muude vahendite abil pärast korgi eemaldamist tuvastatav.

3. Segage katsuti sisu kohe pärast verevõtmist, loksutades neid kümme (10) korda piisava tugevusega nii, et kogu katsuti sisepind oleks verega kaetud. See lahustab katsuti seintel olevad antigeenid.

Oluline märkus: katsutite temperatuur peab loksutamise ajal olema vahemikus 17–25 °C. Liiga energiline loksutamine võib geeli rikkuda ja põhjustada valesid tulemusi.

4. Pärast sildistamist, täitmist ja loksutamist tuleb katsutid toimetada võimalikult kiiresti temperatuuriga 37 ± 1 °C inkubaatorisse (kuni 16 tunni jooksul pärast verevõtmist). Hoidke katsuteid enne inkubeerimist ja transportimist toatemperatuuril (22 ± 5 °C). Kui QFT-Plus katsuteid ei inkubeerita vahetult pärast verevõtmist ja loksutamist temperatuuril 37 °C, pöörake katsuteid 10 korda ümber enne inkubeerimist temperatuuril 37 °C.

5. Inkubeerige QFT-Plus katsuteid PÜSTASENDIS temperatuuril 37 ± 1 °C 16–24 tundi. Inkubaator ei vaja CO₂ ega niisutamist.

Vere kogumine ühte liitium- või naatriumhepariiniga katsutisse ja seejärel ülekandmine verevõtukatsutiisse QFT-Plus Blood Collection Tubes.

1. Verd võib võtta ühte verevõtukatsutisse, mis sisaldab antikoagulandina liitium- või naatriumhepariini, ja viia seejärel verevõtukatsutiisse QFT-Plus Blood Collection Tubes. Vere antikoagulandina kasutage ainult liitium- või naatriumhepariini, kuna muud antikoagulandid võivad analüüsitulemusi moonutada. Sildistage katsutid vastavalt nõuetele.

Katsuti on soovitatav sildistada vere kogumise aja ja kuupäevaga.

NB! Verevõtukatsutite temperatuur peab verevõtmise ajal olema toatemperatuur (17–25 °C).

2. Täitke liitium- või naatriumhepariiniga verevõtukatsuti (miinimummaht 5 ml) ja segage hepariini lahustamiseks ettevaatlikult (pöörates katsutit mitu korda tagurpidi). Seda protseduuri võib teostada ainult vastava väljaõppe saanud veenivere võtja (flebotomist).

3. Liitium- või naatriumhepariiniga katsutite säilitamisaja ja temperatuuri võimalused enne ülekandmist ja inkubeerimist verevõtukatsutites QFT-Plus Blood Collection Tubes (vt jooniseid 1–3, vere kogumise võimalused).

1. võimalus – Liitium- või naatriumhepariiniga katsutite säilitamine ja käitlemine toatemperatuuril. Liitium- või naatriumhepariiniga katsutisse kogutud verd tuleb alates vere võtmisest enne verevõtukatsutitesse QFT-Plus Blood Collection Tubes viimist ja järgnevat inkubeerimist hoida toatemperatuuril ($22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$) mitte rohkem kui 16 tundi.

2. võimalus – liitium- või naatriumhepariiniga katsuti külmoistamine ja käitlemine

NB! Protseduuri etappe a–d tuleb teostada järjestikku.

a. Liitium- või naatriumhepariiniga katsutisse võetud verd võib hoida toatemperatuuril ($17\text{--}25 \text{ }^\circ\text{C}$) kuni 3 tundi pärast vere kogumist.

b. Liitium- või naatriumhepariiniga katsutisse võetud verd võib jahutada ($2\text{--}8 \text{ }^\circ\text{C}$) kuni 48 tundi.

c. Pärast jahutamist peab liitium- või naatriumhepariiniga katsuti tasakaalustuma toatemperatuurini ($17\text{--}25 \text{ }^\circ\text{C}$) enne ülekandmist verevõtukatsutitesse QFT-Plus Blood Collection Tubes.

d. Alikvooditud verevõtukatsutid QFT-Plus Blood Collection Tubes tuleks asetada inkubaatorisse temperatuuriga $37 \text{ }^\circ\text{C}$ 2 tunni jooksul pärast vere ülekandmist.

Kui verevõtukatsuteid QFT-Plus Blood Collection Tubes ei inkubeerita temperatuuril $37 \text{ }^\circ\text{C}$ vahetult pärast verevõtukatsutitesse QFT-Plus Blood Collection Tubes üleviimist ja loksutamist, keerake katsuteid segamiseks 10 korda enne inkubeerimist tagurpidi temperatuuril $37 \text{ }^\circ\text{C}$. Kogu aeg vere võtmisest kuni inkubeerimiseni verevõtukatsutites QFT-Plus Blood Collection Tubes ei tohiks ületada 53 tundi.

4. Vereproovi ülekandmine liitium- või naatriumhepariini katsutist verevõtukatsutitesse QFT-Plus Blood Collection Tubes.

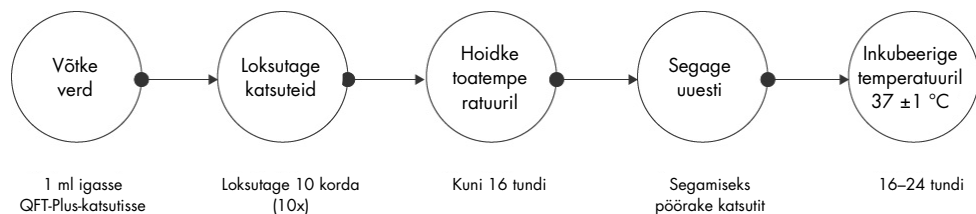
a. Sildistage vastavalt iga verevõtukatsuti QFT-Plus Blood Collection Tube.

Kontrollige, kas iga katsuti (Nil, TB1, TB2 ja Mitogen) on sildi või muude vahendite abil pärast korgi eemaldamist tuvastatav. Verevõtmise registreeritud kellaaeg ja

kuupäev liitium- või naatriumhepariiniga katsutitelt on soovitatav kanda verevõtukatsutitele QFT-PlusBlood Collection Tubes.

- b. Enne verevõtukatsutitesse QFT-Plus Blood Collection Tubes- jagamist tuleb proove ettevaatliku ümberpööramisega ühtlaselt segada.
 - c. Turvalisuse tagamiseks tuleks seda teha aseptiliselt (järgides asjakohaseid ohutusprotseduure), eemaldades 4 verevõtukatsutilt QFT-Plus Blood Collection Tubes korgid ning lisades igasse katsutisse 1 ml verd. Pange katsutikorgid kindlalt peale ja segage, nagu allpool kirjeldatud. Kontrollige, kas iga katsuti (Nil, TB1, TB2 ja Mitogen) on sildi või muude vahendite abil pärast korgi eemaldamist tuvastatav.
5. Segage katsuteid. Vahetult pärast verevõtukatsutite QFT-Plus Blood Collection Tubes täitmist loksutage neid kümme (10) korda piisava tugevusega nii, et kogu katsuti sisepind oleks verega kaetud. See lahustab katsuti seintel olevad antigeenid.
- Liiga energiline loksutamine võib hüüvise lagundada ja põhjustada valesid tulemusi.
6. Pärast sildistamist, täitmist ja loksutamist tuleb katsutid toimetada 2 tunni jooksul inkubaatorisse temperatuurile 37 ± 1 °C. Kui verevõtukatsuteid QFT-Plus Blood Collection Tubes ei inkubeerita vahetult pärast vere kogumist ja loksutamist temperatuuril 37 °C, pöörake katsuteid 10 korda (10x) ümber enne inkubeerimist temperatuuril 37 °C. (Verevõtmise võimalused leiate järgmiselt leheküljelt joonistelt 1–3).
7. Inkubeerige verevõtukatsuteid QFT-Plus Blood Collection Tubes PÜSTASENDIS temperatuuril 37 ± 1 °C 16–24 tundi. Inkubaator ei vaja CO₂ ega niisutamist.

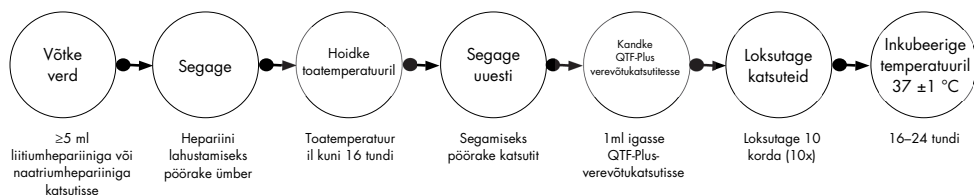
Võtke verevõtukatsutitesse QFT-Plus Blood Collection Tubes ja hoidke toatemperatuuril.



Joonis 1. Vere võtmise võimalus: Võtke otse verevõtukatsutitesse QFT-Plus Blood Collection Tubes ja hoidke toatemperatuuril.

Aeg, mis kulub verevõtukatsutitesse QFT-Plus Blood Collection Tubes võtmisest kuni inkubeerimiseni temperatuuril 37 °C, ei tohi ületada 16 tundi.

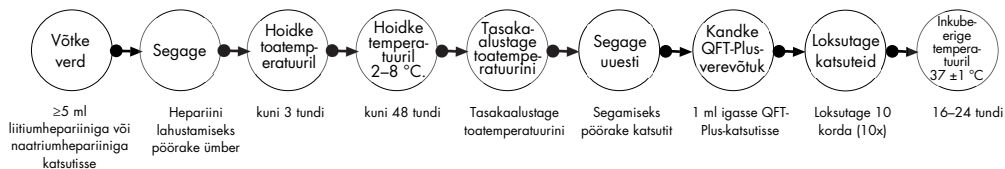
Võtke liitium- või naatriumhepariiniga katsutisse ja hoidke toatemperatuuril.



Joonis 2. Vere võtmise võimalus: Võtke liitium- või naatriumhepariiniga katsutisse ja hoidke toatemperatuuril.

Aeg, mis kulub vere võtmisest liitium- või naatriumhepariiniga katsutisse kuni inkubeerimiseni temperatuuril 37 °C, ei tohi ületada 16 tundi.

Võtke liitium- või naatriumhepariiniga katsutisse ja hoidke temperatuuril 2–8 °C.



Joonis 3. Vere võtmise võimalus: Võtke liitium- või naatriumhepariiniga katsutisse ja hoidke temperatuuril 2–8 °C.

Aeg, mis kulub vere võtmisest liitium- või naatriumhepariiniga katsutisse kuni inkubeerimiseni temperatuuril 37 °C, ei tohi ületada 53 tundi.

Kasutusjuhised

1. etapp – vere inkubeerimine ja plasma eraldamine

Kaasasolevad materjalid

- Verevõtukatsutid QFT-Plus Blood Collection Tubes (vt 3. peatükki).

Vajalikud, kuid tarnekomplekti mittekuuluvad materjalid

- Vt 3. peatükki.

Protseduur

1. Kui katsuteid ei inkubeerita vahetult pärast verevõtmist, tuleb veri uuesti vahetult enne inkubeerimist segada, pöörates katsutit kümme korda tagurpidi.
2. Inkubeerige katsuteid PÜSTIASENDIS temperatuuril 37 ± 1 °C 16–24 tundi. Inkubaator ei vaja CO₂ ega niisutamist.
3. Pärast katsutite inkubeerimist temperatuuril 37 °C võib verevõtukatsuteid enne tsentrifugimist säilitada temperatuuril 4–27 °C kuni 3 päeva.
4. Pärast katsutite inkubeerimist temperatuuril 37 °C tsentrifugige neid plasma eraldamise lihtsustamiseks 15 minutit 2000–3000 × g RCF (g) juures. Moodustuv hüüvis eraldab rakud plasmast. Kui seda ei juhtu, tuleb katsuteid uuesti tsentrifugida.

Plasmat on võimalik eraldada ka tsentrifugimata, kuid seejuures peab toimima äärmise ettevaatusega, et plasma võtmisel rakke mitte kaasa haarata.

5. Kasutage plasmaproovi võtmiseks alati pipetti.

Oluline märkus: plasmaproove ei tohi pärast tsentrifugimist ja enne plasma eraldamist mingil juhul üles või alla pipeteerida ega segada. Toimige suure ettevaatusega, et materjal hüüvise pinnaga ei seguneks.

Plasmaproovid võib tsentrifugeeritud verevõtukatsutitest kanda otse QFT-Plus ELISA plaadile; sama kehtib ka ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi-automatide kasutamise korral.

Plasmaproove võib säilitada kuni 28 päeva temperatuuril 2–8 °C või temperatuuril alla –20 °C pärast plasma eraldamist ka pikema aja jooksul.

Piisava analüüsiproovi saamiseks eraldage plasmat vähemalt 150 µl.

2. etapp – IFN- γ ELISA

Kaasasolevad materjalid

- QFT-Plus ELISA komplekt (vt 3. peatükki).

Vajalikud, kuid tarnekomplekti mittekuuluvad materjalid

- Vt 3. peatükki.

Protseduur

1. Kõik plasmaproovid ja reaktiivid, välja arvatud 100-kordne konjugaadikontsentraat, peavad olema enne kasutamist saavutanud toatemperatuuri (22 ±5 °C). Kavandage selleks vähemalt 60 minutit.
2. Võtke kasutamata ribad raamist välja, pange kilepakendisse tagasi ja säilitage kuni kasutamiseni külmikus.

Varuge QFT-Plus standarditele üks riba ja katseisikutele piisav arv ribasid (vt Joonis 5). Hoidke raam pärast kasutamist ülejäänud ribade jaoks alles.

3. Rekonstitueerige IFN- γ standard viaali etiketile märgitud koguse deioniseeritud või destilleeritud veega. Segage viaali sisu ettevaatlikult (et tekiks võimalikult vähe vahtu) ning veenduge, et sisu oleks täielikult lahustunud. Standardi rekonstitueerimine ettenähtud mahuni annab tulemuseks 8,0 RÜ/ml kontsentratsiooniga lahuse.

Oluline märkus: standardkomplekti rekonstitueerimise maht on partiist sõltuvalt erinev.

Kasutage rekonstitueeritud standardkomplekti IFN- γ ja rohelist lahjendit (GD) lahuste valmistamiseks vahekorras 1:2 ja järgnevalt vahekorras 1:4 (vt Joonis 4). S1 (standard 1) sisaldab 4,0 RÜ/ml, S2 (standard 2) sisaldab 1,0 RÜ/ml, S3 (standard 3) sisaldab 0,25 RÜ/ml ja S4 (standard 4) sisaldab 0 RÜ/ml (ainult RL). Standardeid tuleb analüüsida vähemalt kahekordselt. Valmistage igaks ELISA seansiks ette standardkomplekti uus lahus.

Soovituslik kahekordne menetlus

Pange 4 katsutile sildid "S1", "S2", "S3", "S4".

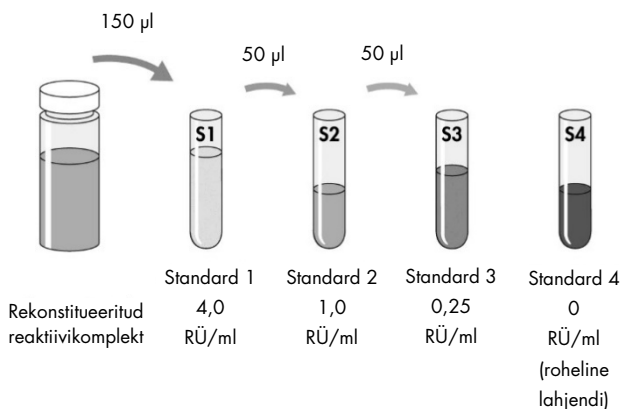
Valage katsutitesse S1, S2, S3, S4 150 μ l RL-i.

Valage katsutisse S1 150 μ l standardlahust ja segage korralikult.

Valage katsutist S1 50 μ l katsutisse S2 ja segage korralikult.

Valage katsutist S2 50 μ l katsutisse S3 ja segage korralikult.

Ainult RL on nullstandard (S4).



Joonis 4. Standardkõvera ettevalmistamine.

4. Rekonstitueerige lüofiliseeritud 100-kordne konjugaadikontsentraat 0,3 ml deioniseeritud või destilleeritud veega. Segage pudeli sisu ettevaatlikult (et tekiks võimalikult vähe vahtu) ja veenduge, et konjugaat oleks täielikult lahustunud.

Kasutusvalmis konjugaadi valmistamiseks lahjendatakse vajalik kogus rekonstitueeritud 100x konjugaadikontsentraati rohelises lahjendis (Tabel 1. Konjugaadi ettevalmistamine). Paigutage ülejäänud 100-kordne konjugaadikontsentraat kohe pärast kasutust uuesti temperatuurile 2–8 °C. Kasutage ainult rohelist lahjendit.

Tabel 1. Konjugaadi ettevalmistamine

| Ribade arv | 100-kordse konjugaadikontsentraadi kogus | Rohelise lahjendi kogus |
|------------|--|-------------------------|
| 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. Verekatsutitest eraldatud ja seejärel hoiustatud (külmutatud või sügavkülmutatud) plasmaproove tuleb enne ELISA automaati panemist hoolikalt loksutada.

Oluline märkus: kui plasmaproovid pannakse automaati otse tsentrifuugitud QFT-Plus-katsutitest, tuleb hoiduda plasmata loksutamast. Toimige suure ettevaatusega, et materjal hüüvise pinnaga ei seguneks.

6. Tilgutage mitmekanalilise pipetiga igasse ELISA süvendisse 50 µl valmis konjugaati.
7. Viige mitmekanalilise pipetiga igasse süvendisse 50 µl plasmaproovi (vt plaadi soovituslikku paigutust Joonis 5). Lõpuks lisage igasse mikrolohuksesse 50 µl standardeid 1–4.

| | 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 |

Joonis 5. Proovide soovitatav paigutus (22 analüüsi plaadi kohta).

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

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

8. Katke kõik plaadid kaanega ja segage konjugaati ja plasmaproove/standardeid korralikult 1 minuti vältel mikroplaatide raputis. Vältige pritsimist.
9. Katke kõik plaadid ja inkubeerige neid 120 ±5 minutit toatemperatuuril (22 ±5 °C).
Inkubeerimise ajal tuleb plaate kaitsta otsese päikesekiirguse eest.
10. Lahjendage inkubeerimise ajal üks osa kontsentrati Wash Buffer 20x Concentrate 19 osa deioniseeritud või destilleeritud veega ja segage korralikult läbi. Analüüsiga on kaasas piisav kogus kontsentrati Wash Buffer 20x Concentrate, millest piisab 2 liitri kasutusvalmis pesupuhvri valmistamiseks.
Peske süvendeid vähemalt 6 korda 400 µl kasutusvalmis pesupuhvriga. Soovitatav on kasutada automaatset pesemisseadet.

Korralik pesemine on analüüsi tulemuste seisukohast väga tähtis. Kontrollige iga pesutsükli korral, et kõik süvendid oleksid kuni ülemise servani pesupuhvriga täielikult kaetud. Soovitav on jätta iga pesutsükli vahele vähemalt 5 sekundi pikkuse leotusaja.

Kasutatud pesuvee kogumiskoosse tuleb lisada laborites kasutatavat desinfitseerimisvahendit. Lisaks sellele pidage kinni teie laboris kehtivatest potentsiaalselt nakkava materjali dekontamineerimise eeskirjadest.

11. Koputage plaate väheste ebemetega paberrätiku peal, et eemaldada nendesse jäänud pesupuhvri jäägid. Tilgutage igasse mikrolohuksesse 100 µl ensüümsubstraadi lahust, katke kõik plaadid ja segage plaadid raputis.
12. Katke kõik plaadid ja inkubeerige neid 30 minutit toatemperatuuril (22 ± 5 °C).
Inkubeerimise ajal tuleb plaate kaitsta otsese päikese kiirguse eest.
13. Pärast 30 minutit kestnud inkubeerimist tilgutage igasse mikrolohuksesse 50 µl ensüümi inaktiveerimislahust ja segage läbi.
Ensüümi inaktiveerimislahust tuleb viia mikrolohuksesse samas järjekorras ja umbes samas tempos kui substraat (vt etapp 11).
14. Mõõtke iga süvendi optilist tihedust (OT) 5 minuti jooksul pärast deaktivaatori lisamist mikroplaatide lugejaga ja kasutage selleks 450 nm filtrit ning 620–650 nm referentsfiltrit. OT-väärtusi on hiljem vaja tulemuste arvutamiseks.

Arvutused ja analüüsi tõlgendamine

QFT-Plus analüüsitarkvara saab kasutada algandmete analüüsimiseks ja tulemuste arvutamiseks. See on saadaval veebisaidil www.QuantiFERON.com. Veenduge, et kasutate QFT-Plus analüüsitarkvara uusimat versiooni.

Tarkvara teeb analüüsi kvaliteedikontrolli, koostab standardkõvera ja väljastab iga analüüsitud katseisiku kohta tulemuse, mida kirjeldatakse üksikasjalikumalt teemas „Tulemuste tõlgendamine“.

QFT-Plus analüüsitarkvara kasutamise alternatiivina on tulemusi võimalik kindlaks teha ka järgmise meetodi abil.

Standardkõvera moodustamine

(Kui ei kasutata QFT-Plus analüüsitarkvara)

Leidke iga plaadi standardkomplekti korduste keskmised OT-väärtused.

Konstrueerige $\log_{(e)}\text{-}\log_{(e)}$ standardkõver, kandes (y-teljele) OT keskmise väärtuse $\log_{(e)}$ ja (x-teljele) standardite IFN- γ kontsentratsiooni (RÜ/ml) $\log_{(e)}$, jättes arvutustest välja nullstandardi. Arvutage regressioonanalüüsi kaudu standardkõvera parim kontuur.

Leidke standardkõvera abil kõikide analüüsitud plasmaproovide IFN- γ kontsentratsioon (RÜ/ml), kasutades iga proovi OT-väärtust.

Nendeks arvutusteks võib kasutada mikroplaatide lugemisseadmetele pakutavaid tarkvarapakette ja standardseid arvutustabeleid või statistikaprogramme (nt Microsoft® Excel®). Soovitav on selliseid tarkvarapakette kasutada regressioonanalüüsi tegemiseks, standardite variatsioonikoefitsiendi (%VK) ja standardkõvera korrelatsioonikoefitsiendi (r) leidmiseks.

Analüüsi kvaliteedikontroll

Analüüsi tulemuste täpsus sõltub korrekse standardkövera moodustamisest. Seetõttu tuleb enne proovide analüüsitulemuste tõlgendamist kontrollida standarditest tuletatud tulemusi.

Ensüüm-immunosorptsiooni analüüsi tulemused on valiidsed, kui on täidetud järgmised tingimused.

- Standardi 1 keskmine OT-väärtus peab olema $\geq 0,600$.
- Standardi 1 ja standardi 2 korduvate OT-väärtuste protsendis peab %VK olema $\leq 15\%$.
- Standardi 3 ja standardi 4 korduvad OT-väärtused ei tohi hälbida keskmisest väärtusest rohkem kui 0,040 OT-ühikut.
- Standardite keskmiste ekstinktsiooniväärtuste põhjal arvutatud korrelatsioonikoefitsient (r) peab olema $\geq 0,98$.

QFT-Plus analüüsitarkvara arvutab ja esitab need kvaliteedikontrolli parameetrid.

Kui nimetatud kriteeriumid pole täidetud, on analüüsipartii kehtetu ja seda tuleb korrata.

Nullstandardi (roheline lahjendi) keskmine OT-väärtus peab olema $\leq 0,150$. Kui keskmine OT-väärtus on $> 0,150$, tuleks kontrollida, kuidas toimub plaatide pesemine.

Tulemuste tõlgendamine

QFT-Plusi tulemusi saab tõlgendada järgmiste kriteeriumide alusel (Tabel 2).

Oluline märkus: tuberkuloosi diagnoosimiseks või selle välistamiseks ning LTBI tõenäosuse hindamiseks läheb vaja epidemioloogiliste, haiguslooliste, meditsiiniliste ja diagnostiliste leidude kombinatsiooni, millega tuleb QFT-Plusi tulemuste tõlgendamisel arvestada.

Tabel 2. QFT-Plusi tulemuste tõlgendamine

| Nil (RÜ/ml) | TB1 miinus Nil (RÜ/ml) | TB2 miinus Nil (RÜ/ml) | Mitogen miinus Nil (RÜ/ml)* | QFT-Plusi tulemused | Aruanne/tõlgendus |
|--------------------|---|---|-----------------------------|-------------------------|---|
| | ≥ 0,35 ja ≥ 25% Nil väärtusest | Suvaline | | | |
| | Suvaline | ≥ 0,35 ja ≥ 25% Nil väärtusest | Suvaline | Positiivne [†] | <i>M. tuberculosis</i> nakkus tõenäoline |
| ≤ 8,0 | < 0,35 või ≥ 0,35 ja < 25% Nil väärtusest | < 0,35 või ≥ 0,35 ja < 25% Nil väärtusest | ≥ 0,5 | Negatiivne | <i>M. tuberculosis</i> nakkus POLE tõenäoline |
| | < 0,35 või ≥ 0,35 ja < 25% Nil väärtusest | < 0,35 või ≥ 0,35 ja < 25% Nil väärtusest | < 0,5 | Määramatu [‡] | <i>M. tuberculosis</i> nakkuse tõenäosust ei saa kindlaks määrata |
| > 8,0 [§] | | Suvaline | | Määramatu [‡] | <i>M. tuberculosis</i> nakkuse tõenäosust ei saa kindlaks määrata |

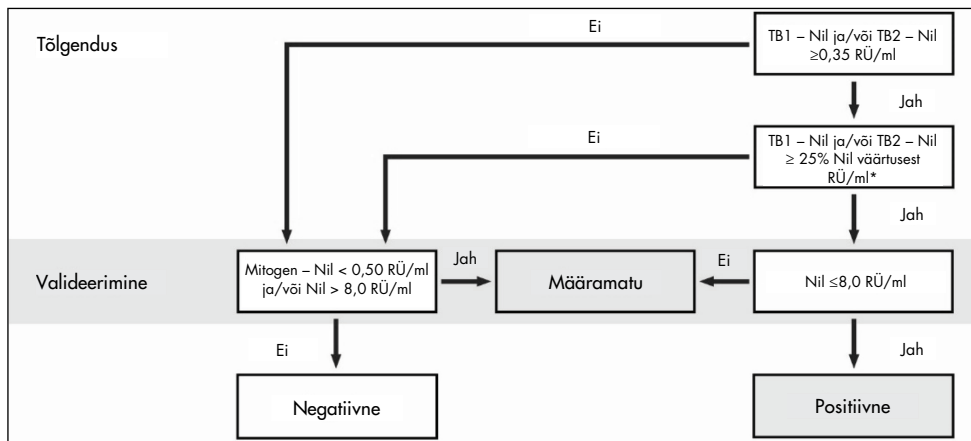
* Mitogen positiivse kontrolli vastused (mõnel juhul ka TB-antigeenide omad) võivad tavaliselt olla väljaspool mikroplaatide lugeja vahemikku. See ei mõjuta analüüsitulemusi. Tarkvara QFT-Plus esitab > 10 ml väärtused kujul > 10 RÜ/ml.

[†] Neil juhtudel, kui *M. tuberculosis* nakkust ei oletata, võib algsete plasmaproovide uus kahekordne analüüsimine analüüsiga QFT-Plus ELISA esialgseid positiivseid tulemusi kinnitada. Kui analüüsi kordamisel on ühe või mõlema proovi tulemus positiivne, tuleb analüüsi üldtulemus hinnata positiivseks.

[‡] Võimalike põhjuste kohta leiate teavet teemast „Tõrkeotsing“.

[§] Kliinilistes uuringutes oli alla 0,25% katseisikutel Nil väärtuse IFN- γ tase > 8,0 RÜ/ml.

Mõõdetud IFN- γ kontsentratsiooni suuruse põhjal ei tohi teha järeldusi nakkuse staadiumi või astme, immuunreaktiivsuse ulatuse ning aktiivse haigestumise korral progressiooni tekkimise tõenäosuse kohta. Negatiivse mitogeniga inimeste positiivne TB-reaktsioon esineb harva, kuid seda on täheldatud TB-haigusega patsientide juures. See näitab, et IFN- γ reaktsioon TB-antigeenile on suurem kui Mitogenile, mis on võimalik, kuna mitogeeni tase ei stimuleeri maksimaalselt IFN- γ tootmist lümfotsüütide poolt.



* Et TB1 miinus kontroll või TB2 miinus kontroll oleks kehtiv, peab $\geq 25\%$ Nil väärtusest RÜ/ml pärinema samast katsustist nagu algne $\geq 0,35$ RÜ/ml tulemus.

Joonis 6. QFT-Plusi tõlgenduse vookeem.

Piirangud

QFT-Plus-analüüsi tulemusi tuleb vaadelda koos iga patsiendi epidemioloogia, tema tegeliku tervisliku seisundi ja muude diagnostiliste uuringutega.

Nil väärtuse tulemusi üle 8,0 RÜ/ml tuleb hinnata kui „määramatuid“, sest 25% võrra kõrgem TB-antigeeni reaktsioon võib olla väljapool analüüsi mõõteulatust.

Ebausaldusväärsed või määramatud tulemused võidakse saada järgmistel põhjustel.

- Kõrvalekalded infolehel kirjeldatud protseduurist
- Tsirkuleeriva IFN- γ ülikõrge kontsentratsioon või heterofiilsete antikehade esinemine
- Vereproovi võtmise ja temperatuuril 37 °C inkubeerimise vahe on pikem kui 16 tundi. See ei kehti, kui kasutatakse liitiumhepariini või naatriumhepariiniga katsutit töövooga temperatuuril 2–8 °C.

Sooritusnäitajad

Kliinilised uuringud

Kuna LTBI kohta ei ole kindlat standardit, pole praktiliselt võimalik hinnata QFT-Plus-analüüsi tundlikkust ja spetsiifilisust. QFT-Plus-analüüsi ligikaudne spetsiifilisus leiti madala riskitasemega isikute (kellel riskifaktorid teadaolevalt puudusid) valepositiivsete tulemuste määra hindamise teel. Ligikaudne tundlikkus saadi, hinnates patsiendirühmi, kellel oli kindlalt diagnoositud aktiivne tuberkuloos, mis leidis kinnitust kultuuri abil tehtud täiendava testiga.

Spetsiifilisus

QFT-Plus-analüüsi spetsiifilisuse hindamiseks viidi läbi 409 isikuga uuring. Analüüsimise ajal fikseeriti standardküsitluse abil hetkel teadaolev demograafiline olukord ja tuberkuloosi avaldumise riskifaktorid.

Madala riskitasemega tuberkuloosinakkusega patsientide kahe rühma leidude kokkuvõttes oli QFT-Plus-analüüsi üldine spetsiifilisus 97,6% (399/409) (Tabel 3 ja Tabel 4).

Tabel 3. QFT-Plus-analüüsi spetsiifilisuse uuringu tulemused asukohtade järgi

| Uuring | Positiivne | Negatiivne | Määramatu | Spetsiifilisus (95% CI) |
|------------|------------|------------|-----------|-------------------------|
| Jaapan | 4 | 203 | 0 | 98% (95–100%) |
| Austraalia | 6 | 196 | 0 | 97% (94–99%) |

Tabel 4. QFT-Plus-analüüsi spetsiifilisuse uuringu tulemused TB-antigeeni katsutite järgi

| Uuring | TB1 | TB2 | QFT-Plus |
|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Positiivne | 5 | 10 | 10 |
| Negatiivne | 404 | 399 | 399 |
| Määramatu | 0 | 0 | 0 |
| Spetsiifilisus (95% CI) | 98,8% (97,2–99,6) | 97,6% (95,6–98,8) | 97,6% (95,6–98,8) |

Tundlikkus aktiivse tuberkuloosi korral

Kuivõrd LTBI hindamiseks ei ole olemas kindlalt defineeritud standardanalüüsi, on sobivaks surrogaadiks *M. tuberculosis* mikrobioloogiline kultuur, kuivõrd haigust kandvad patsiendid on *per definitionem* nakatunud. Austraalias ja Jaapanis analüüsiti neljas uuringukohas QFT-Plus-analüüsi sensitiivsuse hindamiseks tuberkuloosikahtlusega isikuid, kelle puhul tuvastati hiljem *M. tuberculosis*ega nakatumine (Tabel 5 ja Tabel 6). Enne QFT-Plus-analüüsi jaoks verevõtmist olid patsiendid saanud ravi vähem kui 14 päeva.

Nelja *M. tuberculosis* kultuuri suhtes positiivse patsiendirühma leidude kokkuvõttes oli QFT-Plus-analüüsi üldine tundlikkus aktiivse tuberkuloosi korral 95,3% (164/172). 4 rühma 159 patsienti olid positiivsed nii TB1 kui ka TB2 katsuti korral, 1 patsient oli positiivne ainult TB1 korral ja 4 patsienti olid positiivsed ainult TB2 korral. Kokku olid 1,1% (2/174) tulemusi määramatud. TB2 tulemus määras õigesti 1 kinnitatud kultuuriga patsiendi, kelle tulemus oleks ainult TB1 tulemuse järgi (madal Mitogen) määramatu (vt Tabel 5 ja Tabel 6).

Tabel 5. QFT-Plusi tundlikkuse uuringu tulemused uuringukoha järgi

| Uuringukohad | Positiivne | Negatiivne | Määramatu | QFT-Plus tundlikkus* (95% CI) |
|------------------------|------------|------------|-----------|-------------------------------|
| Jaapan, uuringukoht 1 | 36 | 7 | 0 | 84% (69–93) |
| Jaapan, uuringukoht 2 | 53 | 1 | 2 | 98% (90–100) |
| Jaapan, uuringukoht 3 | 54 | 0 | 0 | 100% (93–100) |
| Austraalia uuringukoht | 21 | 0 | 0 | 100% (84–100) |

* Tundlikkus põhineb kehtivate analüüside koguarvul, v.a määramatud tulemused.

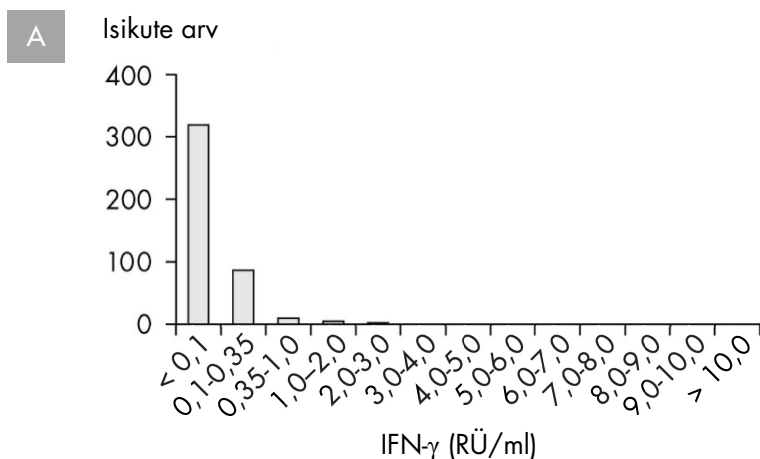
Tabel 6. QFT-Plusi spetsiifilise uuringu tulemused TB-antigeeni katsutite järgi

| | TB1 | TB2 | QFT-Plus |
|----------------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| Positiivne | 160 | 163 | 164 |
| Negatiivne | 11 | 9 | 8 |
| Määramatu | 3 | 2 | 2 |
| Tundlikkus [†] (95% CI) | 93,6% (88,8-96,7) | 94,8% (90,3-97,6) | 95,3% (90,9-97,9) |

* Tundlikkus põhineb kehtivate analüüside koguarvul, v.a määramatud tulemused.

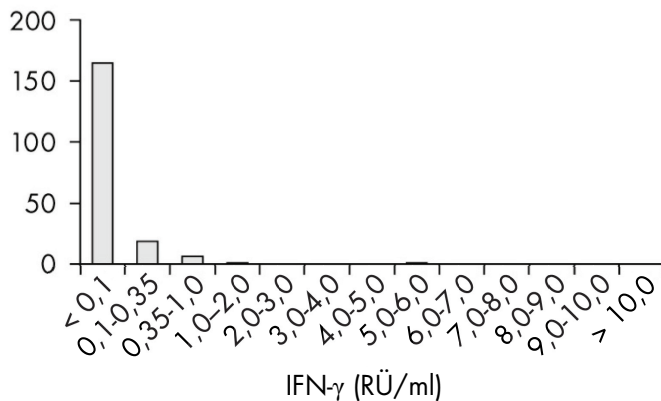
Reaktsioonide jälgitud jaotus – riski alusel stratifitseeritud

Kliinilistes uuringutes jälgiti IFN- γ reageerimise vahemikku TB1-le ja TB2-le ja kontrollkatsuteid ning need stratifitseeriti *M. tuberculosis* nakkuse riski järgi (joonised 7–9). Segariskitasemerühm koosneb analüüsitava isikute üldrühmast, (sh tuberkuloosi avaldumise riskifaktoriga ja riskifaktorita isikud ja kellel aktiivne TB on ebatõenäoline, s.t LTBI).



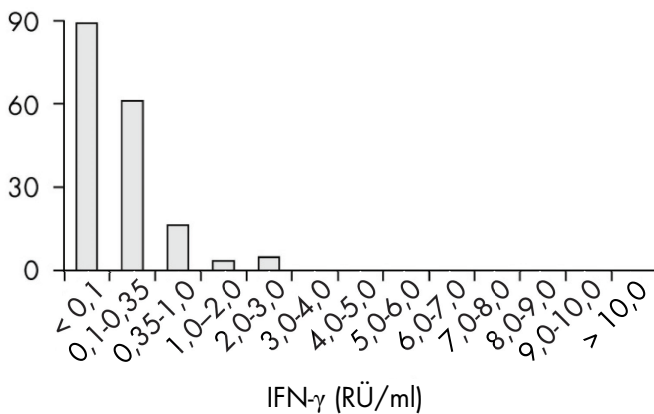
B

Isikute arv

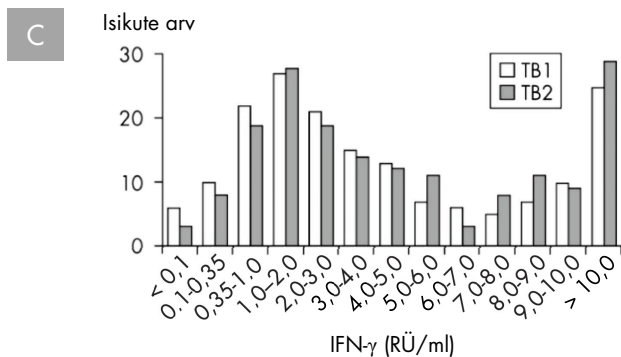
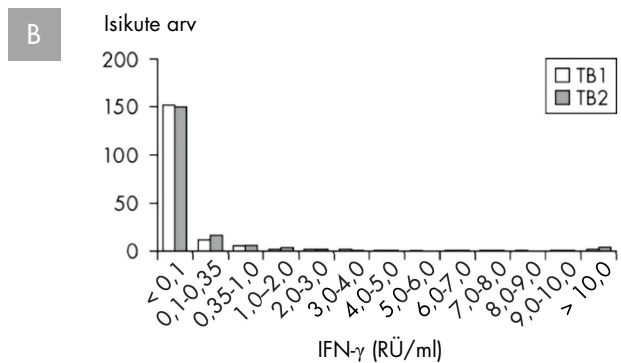
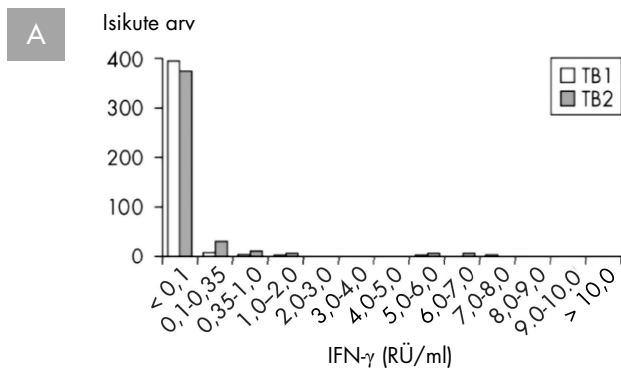


C

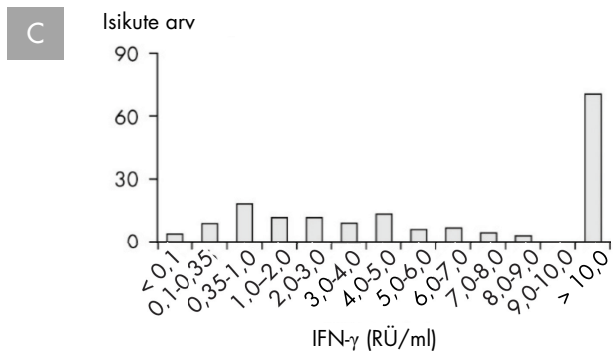
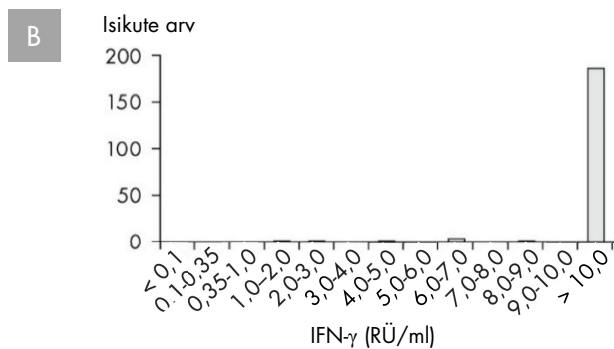
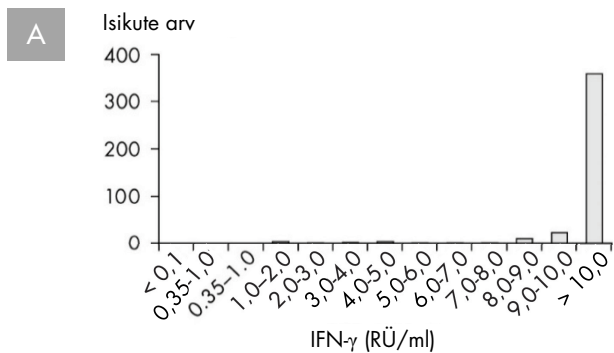
Isikute arv



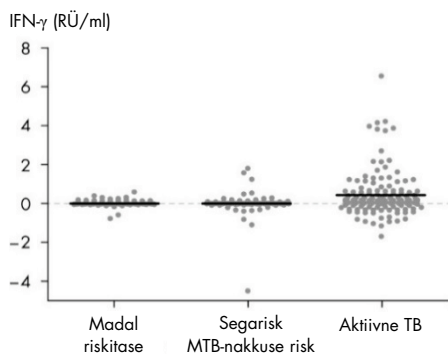
Joonis 7. Nil jaotus. A. Nil jaotus madala riskitasemega elanike seas (n=409). B. Nil jaotus segariskitasemega elanike seas (n=194). C. Nil jaotus kinnitatud *M. tuberculosis* nakkusega elanike seas (n=174)..



Joonis 8. TB1 ja TB2 jaotus (kontrollväärtus on lahutatud). **A.** TB1 ja TB2 (kontrollväärtus on lahutatud) jaotus madala riskitasemega elanike seas (n=409). **B.** TB1 ja TB2 (kontrollväärtus on lahutatud) jaotus seegariskitasemega elanike seas (n=194). **C.** TB1 ja TB2 (kontrollväärtus on lahutatud) jaotus kinnitatud *M. tuberculosis* nakkusega elanike seas (n=174).



Joonis 9. Mitogeni jaotus (kontrollväärtus on lahutatud). **A.** Mitogeni väärtuste jaotus (kontrollväärtus on lahutatud) madala riskitasemega elanike seas (n=409). **B.** Mitogeeni väärtuste jaotus (kontrollväärtus on lahutatud) segariskitasemega elanike seas (n=194). **C.** Mitogeni väärtuste jaotus (kontrollväärtus on lahutatud) kinnitatud *M. tuberculosis*'e nakkusega elanike seas (n=169).

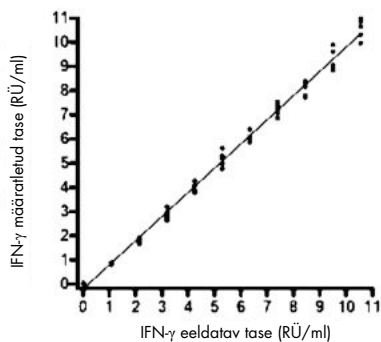


Joonis 10. TB1 ja TB2 väärtuste vaheline leitud erinevus (kontrollväärtus on lahutatud), riski alusel stratifitseeritud. Madala riskitasemega elanikkond (n=409), segariskitasemega elanikkond (n=189) ja kinnitatud *M. tuberculosis* nakkusega elanikkond (n=141). TB1 väärtused on TB2 väärtustest lahutatud. Isikud, kelle TB1 ja TB2 väärtus oli > 10,0 RÜ/ml eemaldati, kuna nad jäid väljapoole analüüsi lineaarsusvahemikku.

Analüüsi sooritusnäitajad

QFT-Plus ELISA on lineaarne. Teadaoleva IFN- γ kontsentratsiooniga 11 plasmaproovi 5 paralleelproovi paigutati juhuslikus järjestuses ELISA-plaadile. Linearsel regressioonisirgel on kalle $1,002 \pm 0,011$ ja korrelatsioonikordaja 0,99 (Joonis 11).

QFT-Plus ELISA tuvastuspiir on 0,065 RÜ/ml ja analüüs ei näita IFN- γ kuni 10 000 RÜ/ml kontsentratsiooni juures mingeid ülisuure-kontsentratsiooniga seotud negatiivseid tulemusi.



Joonis 11. QFT-Plus ELISA lineaarsusprofiil

QFT-Plus ELISA analüüsisest ja analüüsivahelist ebatäpsust (%VK) hinnati 20 plasmaproovi analüüsimise teel, millel olid erinevad IFN- γ kontsentratsioonid, 3 paralleelproovi põhjal 3 erinevas laboratooriumis 3 mittejärjestikusel päeval ja 3 erineva töötaja poolt. Seega analüüsiti igat proovi 27 korda 9 eraldi analüüsipartii. Üks proov oli Nil ja selle arvatud IFN- γ kontsentratsioon oli 0,08 RÜ/ml (95% CI: 0,07–0,09). Ülejäänud 19 plasmaproovi kontsentratsioonid olid vahemikus 0,33 (95% CI: 0,31–0,34) kuni 7,7 RÜ/ml (95% CI: 7,48–7,92).

Analüüsipartii või analüüsisest ebatäpsust hinnati iga plaadipartii IFN- γ sisaldava analüüsitava plasmaproovi keskmise %VK leidmise teel ($n = 9$) ja selle ebatäpsuse vahemik %VK oli 4,1–9,1%. Analüüsipartii keskmine %VK ($\pm 95\%$ CI) oli 6,6% $\pm 0,6\%$. IFN- γ nullplasmaproovi keskmine %VK oli 14,1%.

Kogu- või analüüsivaheline ebatäpsus määratleti iga plasmaproovi 27 arvatud IFN- γ kontsentratsiooni võrdlemise teel. Analüüsivaheline ebatäpsuse vahemik %VK oli 6,6–12,3%. Üldine keskmine %VK ($\pm 95\%$ CI) oli 8,7% $\pm 0,7\%$. IFN- γ nullplasmaproovi %VK oli 26,1%. Selline varieerumistase oli eeldatav, kuna IFN- γ arvatud kontsentratsioon on madal ja madala kontsentratsiooni varieeruvus on suurem kui kõrgemate kontsentratsioonide puhul.

QFT-Plus-analüüsi korratavus määrati 102 *M. tuberculosis* nakkusega segariskitasemega isikult võetud vereproovi alusel. Hinnati kolme erinevat töötajat ja laboritingimusi.

Iga isiku kohta teostati 3 diagnostilist määramist ja kõikide isikute jaoks kokku oli neid 306. Üldine diagnostiline korratavus oli 99% (95% CI: 97,2–99,7), kus diagnostiline tulemus vastas 306-st määramisest 303-le. 3 isiku tulemused olid lähedal kõikide variatsioonide jaoks arvestatud piirväärtusel.

LTBI (latentse tuberkuloosiinfektsiooni) diagnoos

Avaldatud on mitme uuringu tulemusi, mis näitavad QFT-Plusi eelkäija QFT-testi spetsiifilisust erinevates MTB riskiga elanikkonnarühmades. Mõnede uuringute peamised tulemused on esitatud Tabel 7.

Tabel 7. GQT valitud avaldatud uuringud

| Elanikkond/seisund | Tulemused ja järeldused | Avaldatud uuringute koguarv |
|--------------------|--|-----------------------------|
| Pediaatria | Täpsem toimivus lastel (sh alla 5-aastastel lastel (45–46)) võrreldes ELISPOT-põhise IGRAGA (8). Praeguseni suurim Vietnami, Filipiinide ja Mehhiko lastega läbi viidud QFT-d ja TST-i võrdlev uuring toetab QFT eelistatud kasutamist TST üle välismaal sündinud lastel LTBI testimiseks (46). Piiratud kokkupuute uuringud näitavad lastel TST-ga võrreldes paremat prognoositavat väärtust (47) ja 8 korda kõrgemat tuberkuloosi haigestumise riski kahe aasta jooksul QFT konverterite hulgas võrrelduna mittekonverteritega (48). QFT-negatiivse/TST-positiivse kokkusobimatus on suur BCG vastu vaktsineeritud laste seas (46, 49), kuid alla 5-aastasi lapsi reaktsioon Mitogenile ei mõjutanud (49) ja määramatuse määrad olid immigrantide laste tavauuringute ajal madalad (46). | 152 |
| Rasedus | Madala haiguskoormusega olukorras toimib QFT võrdselt hästi raseduse igal trimestril ning on võrreldav mitterasedate naistega tulemustega; on sama tundlik ja võib olla haiguse kulu osas paremini ennustatav kui TST (50). Kõrge haiguskoormusega olukorras oli QFT stabiilsem kogu raseduse ajal ning võrreldes TST-ga lähendas LTBI prevalentsi täpsemalt, kuigi autorid jõudsid järeldusele, et rasedus mõjutab nii QFT-d kui ka TST-d (51). | 6 |

Tabel jätkub järgmisel leheküljel

Tabel 7. QFT valitud avaldatud uuringud (jätkub)

| Elanikkond/seisund | Tulemused ja järeldused | Avaldatud uuringute koguarv |
|-------------------------|---|-----------------------------|
| HIV/AIDS | HIV-nakkus mõjutab nii IGRA-sid kui ka TST-d ja tõendusmaterjalides soovitatakse ettevaatlik olla nende tulemuste tõlgendamisel, milles CD4+ oli < 200 (52). On tõestatud, et mõju QFT-le on väiksem kui ELISPOT-põhisele IGRA-le ja TST-le (53–55). Selle elanikkonna seas on IGRA - analüüside ühekordne tegemine parem kui TST nõrgad tulemused (53). | 101 |
| Immuunsupressiivne ravi | Immuunsupressiivne ravi mõjutab QFT-d vähem kui TST-d ning selle korrelatsioon TB riskifaktoritega on parem (23, 27). QFT tundlikkus ja spetsiifilisus on TST-ga võrreldes suurem reumaatiliste haigustega patsientide puhul (23, 56, 57), vähendades valepositiivseid tulemusi ning ebavajalikku ravi, mida võib esineda TST korral (23, 57, 58). | 112 |
| Tervishoiutöötajad | Spetsiifilisem, võrreldes TST-ga vähem valepositiivseid tulemusi ning kulusäästlikum (59–62). Varieerumine läve ümber on eeldatav leid järjestikuste testide korral dihhotoomse tunnuse ja bioloogilise analüüsi loomuliku muutuvuse tõttu (63). Uuringud on näidanud TST-st paremaid konversiooni-/reversioonimäärasid madala riskitasemega tervishoiutöötajate järjestikusel testimisel (64, 65). US CDC kinnitab, et IGRA konversiooni määramise leebemad kriteeriumid võivad toota rohkem konversioone, kui on leitud karmimate kvantitatiivsete TST kriteeriumide korral ja uuesti analüüsimise strateegiad on näidanud tõhusaid tulemusi konversioonide/reversioonide haldamisel (65–68). | 111 |
| TB-kontaktid | TST-st kõrgem PPV ja NPV (47); ühe visiidi mugavus nende jaoks, kes tõenäoliselt enam tagasi ei tule (63), parem korrelatsioon kokkupuutega (69), mida eriti märgati BCG vastu vaksineeritud inimeste ja elanikkonna puhul BCG vastu vaksineeritud riikides (70, 71). | 89 |
| Transplantatsioon | Tõhususelt on näitajad vähemalt sama head kui TST korral, kuid vähem mõjutatav lõppstaadiumis elundihaiguse korral võrreldes TST-ga (22). | 23 |

Tabel jätkub järgmisel leheküljel

Tabel 7. QFT valitud avaldatud uuringud (jätkub)

| Elanikkond/seisund | Tulemused ja järeldused | Avaldatud uuringute koguarv |
|----------------------------|---|-----------------------------|
| Suhkruhaigus | Vasturääkivad tõendusmaterjalid vähestest väljaannetest piiratud arvu isikute kohta. Madala haiguskoormusega aladel läbiviidud uuringutes leiti, et TB patsientide suhkruhaigus ei ohusta QFT tundlikkust (72). Tansaania kõrge haiguskoormusega olukorras läbiviidud uuring, mis näitas suhkruhaiguse negatiivset mõju IFN- γ tootmisel, ei võtnud arvesse selliseid faktoreid nagu HIV ja parasitaarsed nakkused (73). Vietnami läbiviidud uuringutes oli 838 TB kahtlusega (kõrvalekalletega CXR) suhkruhaige või kinnitatud aktiivse TB-ga (n=128) patsiendi QFT positiivsed tulemused võrdsed või suuremad kui TST väikseimad väärtused 10 ja 15 mm (74). | 9 |
| Lõppstaadiumis neeruhaigus | QFT-positiivsed tulemused on paremas korrelatsioonis TB kui TST riskifaktoritega ning vähem seotud BCG-ga (75). | 45 |
| Migrandid | Uuringud näitavad, et erinevalt TST-st, QFT-d BCG ega vanus ei mõjuta (74). QFT-d peetakse kõige kulusäästlikumaks meetodiks (76). Madala haiguskoormusega olukorras oli enamik tuberkuloosihageid sündinud välismaal või nende latentne TB oli reaktiveerunud pärast saabumist (77). Praeguse ni suurim immigrantide lastega läbi viidud QFT-d ja TST-i võrdlev uuring toetab QFT eelistatud kasutamist TST üle välismaal sündinud lastel LTBI testimiseks (46). | 29 |

Tehniline teave

Määramatud tulemused

Määramatud tulemusi esineb harva ja need võivad olla seotud analüüsitava isiku immuunsüsteemi seisundiga, kuid ka mitmesuguste tehniliste teguritega, kui pole järgitud eespool esitatud juhiseid.

Kui peate võimalikuks, et verevõtmisel või vereproovide käsitsemisel võis tekkida tehnilisi probleeme, tuleb kogu QFT-Plus-analüüsi uue vereprooviga korrata. Stimuleeritud plasmaproovide ELISA analüüsi võib korrata, kui on alust oletada, et ELISA plaate ei pestud piisavalt või esines muid ELISA analüüsi nõuete eiramisi. Määramatud tulemused, mille põhjuseks võivad olla liiga madalad Mitogeni või liiga kõrged Nil väärtused, ei tohiks analüüsi kordamisel muutuda, välja arvatud juhul, kui ELISA analüüsi käigus tehti viga. Määramatud tulemused tuleb sellistena edastada. Arstil on siis võimalik lasta võtta uus vereproov või määrata vajaduse korral muid uuringuid.

Plasmaproovide hüübimine

Kui plasmaproovide pikemaajalisel säilitamisel tekib nendes fibriniinide hüübimine, tuleb proove tsentrifugida, kuni tekib sete; see hõlbustab plasma pipeteerimist.

Tõrkeotsingujuhend

See tõrkeotsingujuhend võib aidata tekkivaid probleeme lahendada. Lisateavet leiate ka tehnilisest teabest veebisaidil: www.QuantiFERON.com. Kontaktteabe leiate tagakaanelt.

ELISA analüüsi tõrkeotsing

Mittespetsiifiline värvireaktsioon

| Võimalik põhjus | Lahendus |
|--|---|
| a) Plaadid pole piisavalt puhtad | Peske plaati vähemalt 6 korda, kasutades iga mikrolohkese kohta 400 µl pesupuhvrit. Sõltuvalt kasutatavast pesuseadmest võib osutada vajalikuks üle 6 pesutsükli. Iga pesutsükli vahele tuleb jätta vähemalt 5 sekundi pikkune leotusaeg. |
| b) ELISA süvendite ristsaastamine | Proovide hoolikas pipeteerimine ja segamine minimeerib saastumise. |
| c) Komplekt/komponendid on aegunud | Kontrollige, et komplekti säilivusaeg poleks möödunud. Arvestage, et standard ja 100-kordne konjugatsioonikontsentraat tuleb ära kasutada kolme kuu jooksul pärast rekonstitueerimist. |
| d) Ensüümsubstraadil lahust on saastunud | Kui substraat muutub sinakaks, tuleb see kõrvaldada. Kontrollige, et kasutatavad reaktiivimahutid oleksid puhtad. |
| e) Plasmal on enne eraldamist QFT-Plus-katsutes loksutatud | plasmaproove ei tohi pärast tsentrifugimist ja enne plasma eraldamist mingil juhul üles või alla pipeteerida ega segada. Toimige suure ettevaatusega, et materjal hüüvise pinnaga ei seguneks. |

Standardite halvad optilise tiheduse näidud

| Võimalik põhjus | Lahendus |
|---|--|
| a) Viga standardi lahendamisel | Veenduge, et standardkomplekti lahused valmistataks õigesti vastavalt selle infolehe juhisteile. |
| b) Pipeteerimisviga | Veenduge, et pipetid oleks kalibreeritud ja neid kasutataks vastavalt tootja juhistele. |
| c) Inkubeerimistemperatuur on liiga madal | ELISA inkubeerimine tuleb läbi viia toatemperatuuril (22 ± 5 °C). |
| d) Inkubeerimisaeg on liiga lühike | Konjugaadi, standardite ja proovidega plaadi inkubeerimine peab kestma 120 ± 5 minutit. Ensüümsubstraadi lahust inkubeeritakse plaadil 30 minutit. |
| e) Kasutati valeid plaadilugemisfiltrit | Mikroplaati tuleb lugeda 450 nm filtri ja 620–650 nm referentsfiltri abil. |

ELISA analüüsi tõrkeotsing

- | | |
|------------------------------------|---|
| f) Reaktiivid on liiga külmad | Kõik reaktiivid (välja arvatud 100-kordne konjugaadikontsentraat) peavad enne analüüsi tegemist olema saavutanud toatemperatuuri. See võtab aega umbes 1 tund. |
| g) Komplekt/komponendid on aegunud | Kontrollige, et komplekti säilivusaeg poleks möödas. Tagage, et standard ja 100-kordne konjugatsioonikontsentraat on ära kasutatud 3 kuu jooksul pärast rekonstitueerimist. |

Tausta tugev värvumus

Võimalik põhjus

Lahendus

- | | |
|---|---|
| a) Plaadid pole piisavalt puhtad | Peske plaati vähemalt 6 korda, kasutades iga mikrolohkese kohta 400 µl pesupuhvrit. Sõltuvalt kasutatavast pesuseadmest võib osutada vajalikuks üle 6 pesutsükli. Iga pesutsükli vahele tuleb jätta vähemalt 5 sekundi pikkune leotusaeg. |
| b) Inkubeerimistemperatuur on liiga kõrge | ELISA inkubeerimine tuleb läbi viia toatemperatuuril (22 ±5 °C). |
| c) Komplekt/komponendid on aegunud | Kontrollige, et komplekti säilivusaeg poleks möödas. Tagage, et standard ja 100-kordne konjugatsioonikontsentraat on ära kasutatud 3 kuu jooksul pärast rekonstitueerimist. |
| d) Ensüümsubstraadi lahus on saastunud | Kui substraat muutub sinakaks, tuleb see kõrvaldada. Kontrollige, et kasutatavad reaktiivimahutid oleksid puhtad. |

Mittelineaarne standardkõver ja kahekordsete testide vahelised hälbed

Võimalik põhjus

Lahendus

- | | |
|---|---|
| a) Plaadid pole piisavalt puhtad | Peske plaati vähemalt 6 korda, kasutades iga mikrolohkese kohta 400 µl pesupuhvrit. Sõltuvalt kasutatavast pesuseadmest võib osutada vajalikuks üle 6 pesutsükli. Iga pesutsükli vahele tuleb jätta vähemalt 5 sekundi pikkune leotusaeg. |
| b) Viga standardi lahendamisel | Veenduge, et standardi lahused valmistatakse vastavalt selle infolehe juhistele õigesti. |
| c) Reaktiivid ei ole läbi segatud | Segage reaktiive enne süvenditesse jaotamist kergelt või loksutage nende anumaid. |
| d) Ebaühtlane pipeteerimine või katkestused analüüsi läbiviimisel | Proovide ja standardite jaotamine peab toimuma katkestusteta. Kõik reaktiivid peavad olema enne analüüsi alustamist kasutamiseks ette valmistatud. |

Tooteave ja tehnilised juhendid on QIAGENist tasuta saadaval edasimüüjate kaudu või veebisaidil www.QuantiFERON.com.

Viited

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-gamma 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., Loddenkemper, 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. Cheallaigh, C.N. et al. (2013) Interferon gamma release assays for the diagnosis of latent TB infection in HIV-infected individuals in a low TB burden country. *PLoS ONE* 8, e53330.
 54. Ramos, J. M. et al. (2012) Contribution of interferon gamma release assays testing to the diagnosis of latent tuberculosis infection in HIV-infected patients: A comparison of QuantiFERON-TB gold in tube, T-SPOT.TB and tuberculin skin test. *BMC Infect. Dis.* 12, 169.
 55. Wolf, T. et al. (2013) Tuberculosis skin test, but not interferon- 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.

Tähised

Pakendil ja sildil võivad olla järgmised tähised:

| Tähis | Tähise selgitus |
|---|---|
|  2 x 96 | Piisav 2 x 96 proovi ettevalmistamiseks |
|  | Seaduslik tootja |
|  | CE-IVD-märgise sümbol |
|  | Kasutamiseks <i>in vitro</i> diagnostikas |
|  | Partii kood |
|  | Katalooginumber |
|  | Globaalne kaubaartikli number |
|  | Kõlblik kuni |
|  | Temperatuuripiirangud |
|  | Kasutamiseks tutvuge juhistega |
|  | Mitte korduskasutada |
|  | Hoida otsese päikesevalguse eest |
|  | Materjali number |
| Rn | R on kasutusjuhendi läbivaatamine ja n on versiooninumber |

Kontaktteave

Tehnilise toe ja lisateabe saamiseks helistage tasuta numbril 00800-22-44-6000, vt meie tehnilise toe keskust veebiaadressil www.qiagen.com/contact või võtke ühendust mõne QIAGENi tehnilise toe osakonnaga (vt tagakaant või külastage veebilehte www.qiagen.com).

Analüüsi lühikirjeldus

1. etapp – vereproovi inkubeerimine

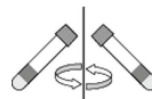
1. Võtke patsiendi veri verevõtukatsutitesse ja loksutage neid kohe pärast nende täitmist kümme (10) korda piisava tugevusega, et katsuti kogu sisepind oleks verega kaetud. See lahustab katsuti seintel olevad antigeenid.



2. Inkubeerige katsuteid püstasendis temperatuuril $37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ 16–24 tundi.



3. Tsentrifugeerige katsuteid pärast inkubeerimist 15 minutit $2000\text{--}3000 \times g$ RCF (g) juures, et plasma ja punalibled eraldada.

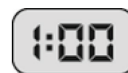


4. Pärast tsentrifugimist ja enne plasma eraldamist ei tohi seda mingil juhul üles või alla pipeteerida ega segada. Toimige suure ettevaatusega, et materjal hüüvise pinnaga ei seguneks.



2. etapp – IFN- γ ELISA

1. ELISA analüüsi komponentidel (välja arvatud 100-kordne konjugaadikontsentratsioon) tuleb lasta vähemalt 60 minutit toatemperatuuril ($22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$) stabiliseeruda.



2. Rekonstitueerige standardkomplekt destilleeritud või deioniseeritud veega 8,0 RÜ/ml-ni. Valmistage neli (4) standardlahust.



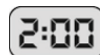
3. Rekonstitueerige lüofiliseeritud 100-kordne konjugaadikontsentratsioon destilleeritud või deioniseeritud veega.

4. Valmistage roheline lahjendiga konjugaat ja valage igasse mikrolohukesse 50 µl.



5. Lisage igasse süvendisse 50 µl plasmaproovi ja 50 µl standardeid. Segage raputis.

6. Inkubeerige 120 ±5 minutit toatemperatuuril.



7. Peske süvendeid vähemalt 6 korda, kasutades iga süvendi kohta 400 µl pesupuhvrit.



8. Tilgutage igasse süvendisse 100 µl ensüümsubstraadi lahust. Segage raputis.



9. Inkubeerige 30 minutit toatemperatuuril.



10. Tilgutage igasse süvendisse 50 µl ensüümi inaktiveerimislahust. Segage raputis.



11. Mõõtkte tulemusi 450 nm filtri ja 620–650 nm referentsfiltriga.



12. Analüüsige tulemusi.



Olulised muudatused

| Peatükk | Lehekülg | Muudatus(ed) |
|----------|----------|--|
| Erinevad | Erinevad | Lisatud juhised, mis on seotud liitium- või naatriumhepariiniga katsutite kasutamisega |
| Erinevad | Erinevad | Lisatud juhised, mis on seotud vere kogumise töövooga temperatuuril 2–8°C |
| Erinevad | Erinevad | Plaadi kaas on nüüd materjal, mis on nõutav, aga pole kaasas |

Käsiraamatu redaktsiooniajalugu

| Dokument | Muudatused |
|---------------|---|
| R6 04/2019 | Liitiumhepariini/naatriumhepariini muudatused Uued tööjuhised vere kogumise töövoos jaoks temperatuuril 2–8 °C QF plaatidelt eemaldatud plaadi kaaned |

Kaubamärgid: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (QIAGENi kontsern); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.).

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA piiratud litsentsileping

Selle toote kasutamine tähendab, et toote ostja või kasutaja nõustub järgmiste tingimustega.

1. Toodet tohib kasutada ainult vastavalt tootega kaasas olevatele protokollidele ja sellele infolehele ning ainult koos komplektis sisalduvate komponentidega. QIAGEN ei anna oma intellektuaalse omandina litsentse komplekti komponentide kasutamiseks või ühendamiseks sellesse paneeli mittekuuluvate komponentidega, välja arvatud tootega kaasas olevates protokollides ja selles infolehes kirjeldatule.
2. QIAGEN ei anna garantiid, et paneel ja/või selle kasutus ei riku kolmandate osapoolte õigusi, v.a selgesõnalised litsentsid.
3. Komplekt ja selle osad on litsentsitud ühekordseks kasutamiseks ning neid ei tohi taaskasutada, parandada ega edasi müüa, välja arvatud siis, kui QIAGEN pole seda muul viisil määranud.
4. QIAGEN ütleb lahti muudest otsestest või kaudsetest litsentsidest, v.a selgesõnalistest litsentsidest.
5. Komplekti ostja ja kasutaja nõustuvad, et ei tee ise ega luba kellelgi teisel teha midagi, mis võiks kaasa aidata või viia ülaltoodud keelatud toiminguteni. QIAGEN võib selle piiratud litsentsilepingu keelde jõustada mis tahes kohtus ning taotleda tagasi kõik piiratud litsentsilepingu või komplekti ja/või selle komponentidega seotud mis tahes intellektuaalse omandi õiguste jõustamiseks kulunud juurdlus- ja kohtukulud, sh advokaaditasud.

Uuendatud litsentsitingimused leiate veebilehelt www.qiagen.com.

© 2019, QIAGEN. Kõik õigused kaitstud.

www.QuantiFERON.com

Asia-Pacific | techservice-ap@qiagen.com

Euroopa | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Middle East/Africa | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Latin America (not including Brazil or Mexico) | techservice-latam@qiagen.com

Märkused

Märkused

