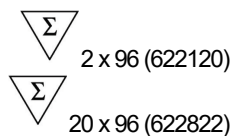


2019. április

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



1-es verzió



In vitro diagnosztikai használatra

Az ESAT-6 és CFP-10 peptid antigénekre adott IFN- γ (gamma-interferon) választ mérő teljesvér-teszt



622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
Németország



1083163HU

A kit tartalma

Alkalmazási terület	5
A teszt összefoglalása és magyarázata	5
Az assay alapelve	7
Az assay elvégzéséhez szükséges idő	9
Összetevők és tárolás	10
Szükséges, de nem biztosított anyagok	12
Mintatárolás és mintakezelés	13
Vérvételi csövek	13
Reagensek a kitben	13
Rehidratált és maradék reagensek	13
Figyelmeztetések és óvintézkedések	14
Figyelmeztetések	14
Óvintézkedések	15
Mintavétel és a minta kezelése	18
Alkalmazási útmutató	25
1. fázis – a vér inkubálása és a plazma elválasztása	25
2. fázis – IFN- γ ELISA	26
Számítások és a teszt értelmezése	31
Standard görbe létrehozása	31
A teszt minőségellenőrzése	32
Az eredmények értelmezése	32
Korlátozások	35

Teljesítményjellemzők	36
Klinikai vizsgálatok	36
Az assay teljesítményjellemzői.....	42
Technikai tudnivalók	47
Nem eldönthető eredmények	47
Alvadt plazmaminták	47
Hibaelhárítási útmutató.....	48
Irodalomjegyzék	50
Szimbólumok.....	59
Kapcsolatfelvételi adatok.....	60
Rövidített teszteljárás	61
1. fázis – a vér inkubálása.....	61
2. fázis – IFN- γ ELISA	61
Jelentős módosítások.....	63
A kézikönyv átdolgozási előzményei	63

Alkalmazási terület

A QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) assay egy in vitro diagnosztikai teszt, amelyben ESAT-6 és CFP-10 proteinek szimuláló peptidkeverék stimulálja a sejteket a heparinizált teljes vérben. A gamma-interferon- γ (IFN- γ) enzimhez kötött ellenanyag-assay-vel (enzyme-linked immunosorbent assay – ELISA) történő észlelését használják a *Mycobacterium tuberculosis* fertőzéssel összefüggő peptid antigénekre adott in vitro válaszok azonosításához.

A QFT-Plus az *M. tuberculosis* fertőzés (illetve megbetegedés) közvetett tesztje, amely rendeltetése szerint kockázatelemzéssel, radiográfiával, valamint egyéb orvosi és diagnosztikai értékeléssel együttes használatra szolgál.

A teszt összefoglalása és magyarázata

A tuberkulózis az *M. tuberculosis* (MTB) komplex organizmusok (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*) okozta fertőző betegség, amely rendszerint cseppfertőzéssel terjed az új gazdára a légzőszervi tuberkulózisbetegséggel fertőzött betegekről. Az újonnan megfertőződött személy hetekkel vagy hónapokkal később megbetegedhet, de a legtöbben továbbra is jól érzik magukat. Egyes személyeknél lappangó tuberkulózisfertőzés (Latent Tuberculosis Infection – LTBI), egy nem fertőző, tünetmentes állapot maradhat fenn, majd hónapokkal vagy évekkel később tuberkulózisbetegség alakulhat ki. Az LTBI diagnosztizálásának legfőbb célja megállapítani, szükséges-e kezelést alkalmazni a tuberkulózisbetegség kialakulásának megakadályozására. A legutóbbi időkig az LTBI diagnosztizálásának egyetlen rendelkezésre álló módja a tuberkulin bőrteszt (Tuberculin Skin Test – TST) volt. A tuberkulinra való bőrérzékenység 2–10 héttel a fertőzés után alakul ki. Előfordul viszont, hogy egyes fertőzöttek, például a számos különféle immunműködést elnyomó állapot valamelyikében érintettek, sőt esetenként mások is nem reagálnak a tuberkulinra. Ugyanakkor egyes, bizonyára nem *M. tuberculosis* fertőzött

egyének mégis érzékenységet mutatnak a tuberkulinra, és pozitív TST eredményt adnak Bacille Calmette-Guérin (BCG) oltást követően, *M. tuberculosis* komplexől eltérő mikobakteriális fertőzés esetén, illetve más ismeretlen tényezők miatt.

Az LTBI-állapotot meg kell különböztetni a tuberkulózisbetegségtől, amely egy rendszerint a tüdőt és az alsó légutakat, de esetenként más szervrendszereket is érintő állapot. A tuberkulózisbetegség a körelőzményből és a fizikális, radiológiai, szövettani és mikobakteriológiai vizsgálati eredményekből diagnosztizálható.

A QFT-Plus a mikobakteriális proteineket szimuláló peptid antigénekre adott sejtmediált immunválaszokat (Cell-Mediated Immune – CMI) vizsgáló teszt. Ezek a proteinek – az ESAT-6 és CFP-10 – az összes BCG-törzsből és a legtöbb nem tuberkulózisos mikobaktériumból hiányoznak az *M. kansasii*, *M. szulgai* és *M. marinum* kivételével (1). Az MTB komplex organizmusokkal fertőzettek vérében rendszerint a fenti és egyéb mikobakteriális antigéneket felismerő limfociták találhatóak. Az antigének felismerése IFN- γ citokin termelődésével és kiválasztásával jár. Jelen teszt alapja az IFN- γ kimutatása, majd mennyiségi meghatározása.

A QFT-Plus teszt során használt antigének az ESAT-6 és CFP-10 proteineket szimuláló peptidkeverék. Számos vizsgálat kimutatta, hogy ezek a peptid antigének *M. tuberculosis* fertőzötteknél kiváltják a T-sejtekben az IFN- γ választ, míg a nem fertőzött, illetve a BCG oltást kapott, betegség és LTBI kockázata nélküli személyek esetében általában nem (1–32). Az immunműködést megzavaró kezelések, illetve állapotok azonban okozhatják az IFN- γ -válaszok csökkenését. Bizonyos egyéb mikobakteriális fertőzésben szenvedő betegek szintén reagálhatnak az ESAT-6 és CFP-10 proteinekre, mivel az ezeket kódoló gének az *M. kansasii*, *M. szulgai* és *M. marinum* esetén is jelen vannak (1, 23). A QFT-Plus teszt alkalmas az LTBI kimutatására, valamint hasznos segítséget nyújt az *M. tuberculosis* komplex fertőzés diagnosztizálásában a beteg páciensek esetén. A pozitív eredmény alátámasztja a tuberkulózisbetegség diagnózisát, de pozitív eredményt egyéb mikobakteriális (pl. *M. kansasii*) fertőzés is okozhat. A tuberkulózisbetegség megerősítésére vagy kizárására további orvosi és diagnosztikai értékelést kell végezni.

A QFT-Plus kitben két jól megkülönböztethető TB-antigén tesztcső van: TB Antigen Tube 1 (TB1) és TB Antigen Tube 2 (TB2). Mindkét tesztcső peptid antigéneket tartalmaz az MTB-komplexhez tartozó antigének közül: ESAT-6 és CFP-10 fehérjét. Míg a TB1 cső olyan ESAT-6 és CFP-10 peptideket tartalmaz, amelyek sejtmediált immunválaszokat (CMI-válaszokat) váltanak ki a CD4⁺ T-segítő limfocitákban, addig a TB2 csőben további peptidok is vannak, amelyek CMI-választ váltanak ki a CD8⁺ citotoxikus T-limfocitákban. Az MTB-fertőzés természetrajzában a CD4⁺ T-sejtek kritikus szerepet játszanak az immunműködésben, az IFN- γ citokin kiválasztása révén. Ma már bizonyított a CD8⁺ T-sejtek szerepe a gazdaszervezet MTB elleni védekezésében. Ennek során IFN- γ -t és más oldható faktorokat termelnek, amelyek aktiválják az MTB növekedését gátló, a fertőzött sejteket elpusztító, vagy a sejten belüli MTB-t közvetlenül roncsoló makrofágokat (33–35). MTB-specifikus CD8⁺ sejteket mutattak ki LTBI-vel vagy aktív tuberkulózissal diagnosztizált alanyoknál, ahol gyakran találhatnak IFN- γ -t termelő CD8⁺ sejteket (36–38). Ezen felül az ESAT-6 és CFP-10 antigénekre specifikus CD8⁺ T-limfocitákat gyakrabban mutatják ki aktív TB-alanyokban, mint LTBI-alanyokban. Ez összefügghet azzal, hogy ezek az alanyok nemrég ki voltak téve MTB-nek (39–41). Ráadásul IFN- γ -t termelő MTB-specifikus CD8⁺ T-sejteket is kimutattak olyan aktív TB-alanyokban, akiknek ezen felül HIV-fertőzése is volt (42, 43), valamint tuberkulózisos kisgyermek betegekben (44).

Az assay alapelve

A QFT-Plus assay speciális vérvételi csöveket használ a teljes vér levételéhez. A vért a csövekben 16–24 órán keresztül inkubálják, a plazmát elválasztják, majd a peptid antigénekre válaszul létrejövő IFN- γ jelenlétére tesztelik.

A QFT-Plus teszt kétfázisú. Először teljes vért kell levenni mindegyik QFT-Plus Blood Collection Tubes csőbe: a Nil csőbe, a TB1 és TB2 csőbe, és a Mitogen csőbe. Alternatív megoldásként a vér egy általános, antikoagulánsként lítium-heparint vagy nátrium-heparint tartalmazó vérvételi csőbe is levehető, majd innen tölthető át QFT-Plus csövekbe.

A Mitogen cső a QFT-Plus teszt pozitív kontrolljaként szolgál. Ennek különösen akkor lehet jelentősége, ha az alany immunállapota bizonytalan. A Mitogen cső továbbá a helyes vérkezelés és inkubálás kontrolljára is alkalmas.

A QFT-Plus csöveket össze kell rázni, hogy az antigén elkeveredjen a vérrel, és a lehető leghamarabb, de legkésőbb a vérvételtől számított 16 órán belül inkubálni kell 37 °C-on. A 16–24 órás inkubálást követően a csöveket centrifugálják, a plazmát eltávolítják, majd az IFN- γ (IU/ml) mennyiségét ELISA teszttel megméri. A QFT-Plus ELISA teszt rekombináns humán IFN- γ standardot használ, amelyet referencia IFN- γ készítményhez képest vizsgáltak (NIH ref.: Gxg01-902-535). A tesztminta eredményeinek leletezése nemzetközi egységben (IU/ml) történik, a kizet biztosított standard hígításainak tesztelésével készített standard görbéhez képest.

Bizonyos egyének szérumban vagy plazmájában található heterofil (pl. humán egérellenes) antitestekről ismert, hogy befolyásolják az immunológiai assay-eket. A heterofil antitestek QFT-Plus ELISA tesztre gyakorolt hatását a zöld hígítóhoz adott normál egérszérum, és a mikrolemezek celláit bevonó, IFN- γ befogó antitestként alkalmazott F(ab')₂ monoklonális antitest-fragmentumok minimalizálják.

A QFT-Plus assay olyan IFN- γ válasz esetén számít pozitívnek, amikor valamelyik TB antigén cső szerinti érték jelentősen meghaladja a Nil cső IFN- γ IU/ml értékét. A Mitogen cső plazmamintája az IFN- γ pozitív kontrolljaként szolgál minden egyes tesztelt mintához. A gyenge (0,5 IU/ml alatti) Mitogen reakció akkor jelent határozatlan eredményt, ha a vérminta TB antigénekre adott válasza is negatív. Ilyen eredményt akkor kaphatunk, ha elégtelen a limfociták száma, gyenge a limfocitatevékenység, mert helytelenül kezelték a mintát, hibásan töltötték vagy keverték a Mitogen csövet, illetve ha a beteg limfocitái képtelenek IFN- γ előállítására. A Nil csőben lévő mintában előfordulhat az IFN- γ szintek megemelkedése a heterofil antitestek jelenlétével, vagy belső IFN- γ szekrécióval. A Nil cső tartalma kompenzálja a háttérértékeket (pl. megemelkedett keringő IFN- γ szintek vagy heterofil antitestek jelenléte miatt). A Nil cső IFN- γ szintjét kivonják a TB-antigén-cső és a Mitogen cső IFN- γ szintjéből.

Az assay elvégzéséhez szükséges idő

A QFT-Plus ELISA teszt elvégzéséhez szükséges becsült idő, valamint a több minta egyidejű tesztelésének időigénye:

A vért tartalmazó csövek inkubálása 37 °C-on: 16–24 óra

ELISA: Egy ELISA-lemez esetén kb. 3 óra

(22 személy)

1 munkaóránál kevesebb

Minden további lemezre újabb 10–15 percet kell számolni

Összetevők és tárolás

Vérvételi csövek*		200 cső	Egy beteg számára készült csomag	Szétadagoló csomag	200 HA cső	Egy beteg számára készült HA csomag	Szétadagoló HA csomag
Katalógusszám		622526	622222	622423	623526	623222	623423
Tesztek száma csomagonként		50	10	25	50	10	25
QuantiFERON Nil Tube (szürke kupak, fehér gyűrű)	Nil cső	50 cső	10 cső	25 cső			
QuantiFERON TB1 Tube cső (zöld kupak, fehér gyűrű)	TB1	50 cső	10 cső	25 cső			
QuantiFERON TB2 Tube cső (sárga kupak, fehér gyűrű)	TB2	50 cső	10 cső	25 cső			
QuantiFERON Mitogen Tube (lila kupak, fehér gyűrű)	Mitogen	50 cső	10 cső	25 cső			
QuantiFERON Nil HA Tube (szürke kupak, sárga gyűrű)	Nil HA				50 cső	10 cső	25 cső
QuantiFERON TB1 HA Tube (zöld kupak, sárga gyűrű)	TB1 HA				50 cső	10 cső	25 cső
QuantiFERON TB2 HA Tube (sárga kupak, sárga gyűrű)	TB2 HA				50 cső	10 cső	25 cső
QuantiFERON Mitogen HA Tube (lila kupak, sárga gyűrű)	Mitogen HA				50 cső	10 cső	25 cső
QFT-Plus Blood Collection Tubes terméktájékoztató		1	1	1	1	1	1

* Nem minden országban kapható az összes termékkombináció. A megrendelhető termékkombinációkról a QIAGEN vevőszolgálat nyújt további tájékoztatást (elérhetőségét lásd www.qiagen.com).

ELISA összetevők†	2 lemezes ELISA kit	Referencia-laborcsomag 622822
Katalógusszám	622120	
Microplate Strips (Mikrolemezcscíkok) (12 × 8 tesztlyuk) egér antihumán IFN- γ monoklonális antitesttel bevonva	2 db 96 lyukú mikrolemezcscík	20 db 96 lyukú mikrolemezcscík
IFN- γ Standard (IFN- γ standard), liofilizált; (tartalma: rekombináns humán IFN- γ , szarvasmarha-kazein, 0,01% [m/V] tiomerzál)	1 üveg (8 IU/ml rehidratálva)	10 üveg (8 IU/ml rehidratálva)
Green Diluent (Zöld hígító) (tartalma: szarvasmarha-kazein, normál egérszérum, 0,01% [m/V] tiomerzál)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Konjugátum 100x koncentrátum), liofilizált (egér antihumán IFN- γ HRP, 0,01% [m/V] tiomerzált tartalmaz)	1 × 0,3 ml (rehidratálva)	10 × 0,3 ml (rehidratálva)
Wash Buffer 20x Concentrate (Mosópuffer 20x koncentrátum) (pH 7,2; 0,05% [V/V] ProClin® 300-at tartalmaz)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Enzimszubsztrátoldat) (tartalma: H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetrametil-benzidin)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Enzimleállító oldat) (tartalma: 0,5M H ₂ SO ₄)	1 x 15 ml	10 x 15 ml
QFT-Plus ELISA terméktájékoztató	1	1

† Lásd a 15. oldalon felsorolt H (figyelmeztető) és P (óvintézkedésre vonatkozó) mondatokat.

Szükséges, de nem biztosított anyagok

- 37 °C ± 1 °C inkubátor*. CO₂ nem szükséges
- Kalibrált, változtatható térfogatú pipetták* 10–1000 µl közti mennyiségekhez, eldobható hegyekkel
- Kalibrált, többcsatornás pipetta* 50 µl és 100 µl mennyiségekhez, eldobható hegyekkel
- Lemezfedél
- Mikrolemezrázó gép*
- Ioncserélt vagy desztillált víz, 2 liter
- Mikrolemesmosó (automatikus mosó ajánlott)
- 450 nm-es szűrőjű mikrolemesolvasó* 620–650 nm-es referenciaszűrővel

* Ellenőrizze, hogy a készülékeket a gyártó ajánlásai szerint ellenőrizték és kalibrálták-e.

Mintatárolás és mintakezelés

Vérvételi csövek

- A vérvételi csöveket 4 °C és 25 °C között tárolja.

Reagensek a kitben

- A kitben lévő reagenseket 2 °C és 8 °C között tárolja.
- Az enzimszubsztrátoldatot mindig napfénytől védett helyen kell tartani.

Rehidratált és maradék reagensek

A reagensek rehidratálására vonatkozó instrukciókat a 27. oldalon találja.

- A kitben lévő standard rehidratálva 2 °C és 8 °C közötti hőmérsékleten tárolható legfeljebb 3 hónapig.

Jegyezze fel a kitben lévő standard rehidratálásának dátumát.

- Feloldás után a maradék konjugátum 100× koncentrátumot vissza kell hűteni 2 °C és 8 °C közötti tárolási hőmérsékletre, és 3 hónapon belül fel kell használni.

Jegyezze fel a konjugátum rehidratálásának dátumát.

- A készre hígított konjugátumot elkészítése után 6 órán belül fel kell használni.
- A készre hígított mosópuffer szobahőmérsékleten tárolható legfeljebb 2 hétig.

Figyelmeztetések és óvintézkedések

Csak in vitro diagnosztikai célra.

Figyelmeztetések

- A negatív QFT-Plus eredmény nem zárja ki teljesen az *M. tuberculosis* fertőzés, illetve a tuberkulózisbetegség esélyét: hamis negatív eredményt okozhat az adott fertőzöttségi stádium (pl. ha a mintavétel megelőzte a sejtes immunválasz kialakulását), az immunműködésre ható komorbid állapotok, a vérvételi csövek szabálytalan kezelése a vérvételt követően, az assay szabálytalan elvégzése, illetve egyéb immunológiai változók.
- A pozitív QFT-Plus eredmény nem szolgálhat az *M. tuberculosis* fertőzés megállapításának egyedüli vagy végleges alapjául. Az assay szabálytalan végrehajtása is okozhat hamis pozitív eredményt.
- A pozitív QFT-Plus eredményt további orvosi vizsgálatoknak, és az aktív tuberkulózis betegség diagnosztizálásának kell követnie (például AFB saválló baktérium kimutatása köpetvizsgálattal és tenyésztéssel, illetve mellkasi röntgen).
- Bár az ESAT-6 és CFP-10 az összes BCG törzsből és a legtöbb ismert nem tuberkulózisos mikobaktériumból hiányzik, mégis előfordulhat, hogy a QFT-Plus eredményt *M. kansasii*, *M. szulgai* vagy *M. marinum* fertőzés okozza. Ha ilyen fertőzések gyanúja merül fel, akkor más vizsgálatok elvégzése szükséges.

Óvintézkedések

A vegyszerekkel végzett munka során mindig viseljen megfelelő laboratóriumi köpenyt, eldobható kesztyűt és védőszemüveget. További információjéért, kérjük olvassa el a megfelelő biztonsági adatlapokat (Safety Data Sheet, SDS). Az egyes QIAGEN kitek és összetevők biztonsági adatlapjai praktikus és kisméretű PDF fájl formájában megtalálhatók, megtekinthetők és kinyomtathatók a www.qiagen.com/safety oldalon.



FIGYELEM: Az emberi vért és vérplazmát kezelésükkor tekintse potenciálisan fertőzőnek. Tartsa be a vonatkozó vér- és vérplazma-kezelési előírásokat. A vérminták, valamint a vérrel és vérkészítményekkel érintkező anyagok hulladékkezelését mindig a helyi, tagállami és uniós előírások szerint végezze.

A QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA kit összetevőire az alábbi H (figyelmeztető) és P (óvintézkedésre vonatkozó) mondatok vonatkoznak.

H (figyelmeztető) mondatok



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

Kénsavat tartalmaz. Vigyázat! Fémekre korrozív hatású lehet. Bőrirritáló hatású. Súlyos szemirritációt okoz.

Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Vigyázat! Enyhén bőrirritáló hatású.

Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.



QuantiFERON Green Diluent

Trinátrium 5-hidroxi-1-(4-szulfofenil)-4-(4-szulfofenilazo)pirazol-3-karboxilátot tartalmaz. Tartrazint tartalmaz. Vigyázat! Allergiás bőrreakciót válthat ki. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Tartalmazott anyag: 5-klór-2-metil-4-izotiazol-3-on és 2-metil-2H-izotiazol-3-on keveréke (3:1). Ártalmas a vízi élővilágra, hosszan tartó károsodást okoz. Ne hagyja, hogy kijusson a környezetbe.

P (óvintézkedésre vonatkozó) mondatok

Használat előtt ismerje meg az anyagra vonatkozó különleges utasításokat. Védőkesztyű/védőruha/szemvédő/arcvédő használata kötelező. **HA BŐRRE KERÜL** (vagy hajra): Az összes szennyezett ruhadarabot azonnal el kell távolítani/le kell vetni. A bőrt le kell öblíteni vízzel/zuhanyozás. **HA SZEMBE KERÜL**: Több percig tartó óvatos öblítés vízzel. Adott esetben a kontaktlencsék eltávolítása, ha könnyen megoldható. Az öblítés folytatása. Expozíció vagy annak gyanúja esetén: orvosi ellátást kell kérni. Azonnal forduljon **TOXIKOLÓGIAI KÖZPONTHOZ** vagy orvoshoz. Bőrirritáció vagy kiütések megjelenése esetén: orvosi ellátást kell kérni. A szennyezett ruhát le kell vetni és az újbóli használat előtt ki kell mosni. Zárt edényben tárolandó. A tartalom/edény elhelyezése hulladékként: jóváhagyott hulladékkezelő létesítményben.

További információk

Biztonsági adatlapok: www.qiagen.com/safety

- A *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA terméktájékoztató* utasításaitól való eltérés hibás eredményt idézhet elő. Használat előtt figyelmesen olvassa el az utasításokat.
- Sérültnek tűnő vagy szivárgó reagenspalackot tartalmazó kitet nem szabad használni.

-
- **Fontos:** Használat előtt vizsgálja meg az üvegeket. Ne használja a konjugátumot vagy IFN- γ standardot tartalmazó üvegeket, ha azokon sérülés jeleit látja, vagy ha a gumi záróelemük sérült. Ne fogja meg a törött üvegeket. Tegye meg a megfelelő biztonsági óvintézkedéseket az üvegek biztonságos hulladékkezeléséhez. **Javaslat:** A konjugátumot és IFN- γ standardot tartalmazó üvegek felbontásához használjon kupaknyitót a perforált fémkupak okozta sérülések kockázatának minimalizálása érdekében.
 - Nem engedélyezett az eltérő QFT-Plus kitekből származó mikrolemezcsíkok, IFN- γ standardok, zöld hígítók, illetve konjugátum 100 \times koncentrátumok vegyes felhasználása, illetve összekeverése. A többi reagens (a mosópuffer 20 \times koncentrátum, enzimszubsztrátoldat és enzimeállító oldat) különböző kitekből vegyesen is használható a reagensek lejáratí idején belül, ha a sarzsszámokat feljegyzik.
 - A fel nem használt reagensok és biológiai minták hulladékkezelését a helyi, tagállami és uniós előírások szerint kell végezni.
 - A QFT-Plus Blood Collection Tubes csöveket és az ELISA kítet nem szabad felhasználni a lejáratí idón túl.
 - Mindig tartsa be a helyes laboratóriumi eljárásokat.
 - Gondoskodjon a laboratóriumi berendezések kalibrálásáról, illetve hogy azok alkalmazásra hitelesítettek legyenek.

Mintavétel és a minta kezelése

A QFT Plus az alábbi vérvételi csöveket alkalmazza:

1. Quantiferon Nil csövek (szürke kupak, fehér gyűrű)
2. QuantiFERON TB1 csövek (zöld kupak, fehér gyűrű)
3. QuantiFERON TB2 csövek (sárga kupak, fehér gyűrű)
4. QuantiFERON Mitogen csövek (lila kupak, fehér gyűrű)
5. QuantiFERON HA Nil csövek (szürke kupak, sárga gyűrű)
6. QuantiFERON HA TB1 csövek (zöld kupak, sárga gyűrű)
7. QuantiFERON HA TB2 csövek (sárga kupak, sárga gyűrű)
8. QuantiFERON HA Mitogen Tube csövek (lila kupak, sárga gyűrű)

Az antigének a vérvételi csövek belső falán, szárítva találhatók meg, ezért fontos, hogy a csövek tartalma teljesen összekeveredjen a vérrel. Ha közvetlenül QFT-Plus csövekbe gyűjtött vért, a QFT-Plus csöveket szobahőmérsékleten ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) kell tartani és szállítani, és a lehető leghamarabb, de legfeljebb a vérvétel idejétől számított 16 órán belül át kell helyezni őket egy 37 °C -os inkubátorba. Alternatív megoldásként a vér egy általános, antikoagulánsként lítium-heparint vagy nátrium-heparint tartalmazó vérvételi csőbe is levehető a QFT-Plus csövekbe való átvitel és inkubáció előtti tároláshoz. A lítium- vagy nátrium-heparinos csövekbe gyűjtött vérmintát legfeljebb a vérvétel idejétől számított 16 órán át szabad szobahőmérsékleten ($17\text{--}25\text{ °C}$ -on) tartani, amit a QFT-Plus vérvételi csövekbe való átvitel követ. A lítium-heparinos vagy nátrium-heparinos csövekbe gyűjtött vérminták legfeljebb 48 órán át hűtőszekrényben ($2\text{--}8\text{ °C}$ -on) is tárolhatók a QFT-Plus csövekbe való átvitel előtt. Lásd a „Vérvétel egyetlen lítium-heparinos vagy nátrium-heparinos csőbe, majd a vér átvitele QFT-Plus Blood Collection Tubes csövekbe” című fejezetet.

Közvetlenül a QFT-Plus Blood Collection Tubes csövekbe vegye le a vérmintákat

1. Feliratozza a csöveket a tartalmuknak megfelelően.

Gondoskodni kell arról, hogy az egyes csövek (Nil, TB1, TB2 és Mitogen) a kupakjuk eltávolítása után is azonosíthatók maradjanak a címkéjük alapján vagy más módon.

Ajánlott feljegyezni a vérvétel pontos időpontját és dátumát.

2. Vénaszúrással vegyen le közvetlenül minden egyes QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csöbe betegenként 1 ml vénás vért. Ezt az eljárást vérvételre kiképzett személynek kell végeznie.

Fontos megjegyzés: Miközben vérrel tölti meg a csöveket, azok hőmérsékletének 17–25 °C között kell lennie.

A standard QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csöveket legfeljebb 810 méteres tengerszint feletti magasságig lehet használni. A High Altitude (HA – nagy tengerszint feletti magasságra készült) QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csöveket 1020 és 1875 méteres tengerszint feletti magasság között lehet használni.

Mivel az 1 ml-es csövek a vért viszonylag lassan veszik fel, a cső látszólagos telítődése után még 2–3 másodpercig tartsa a csövet a tűn. Így biztosíthatja a megfelelő mennyiségű mintavételt.

- A 0,8–1,2 ml-es névleges töltési mennyiséget a cső oldalán feltüntetett fekete jel mutatja. Ha egy csőben a vér szintje kívül van a jelzésen, új vérvételt kell végezni. A csövek 0,8–1,2 ml-es tartománynál kevesebb vagy több vérrel való feltöltése hibás eredményekhez vezethet.
- Ha a vérvétel pillangótűvel történik, akkor a QFT-Plus csöveinek megtöltése előtt egy üres csövet kell használni, hogy az összekötő csövek biztosan megteljenek a vérrel.
- Ha a QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csöveket 810 méternél nagyobb tengerszint feletti magasságon használja, vagy ha a levett vér mennyisége túl kicsi, fecskendővel is vehet vért, amiből azonnal át kell helyeznie 1–1 ml-t mind a 4 csöbe. Biztonsági okokból ennek legjobb módja a fecskendő tűjének biztonsági eljárások betartásával történő eltávolítása, a

4 QFT-Plus cső kupakjának eltávolítása, majd 1 ml vér betöltése mindegyik csőbe (a csövek oldalán található fekete jelzés közepéig). A csövek kupakját gondosan vissza kell zárni, majd az alább ismertetett módon keverést kell végezni. Gondoskodjon arról, hogy az egyes csövek (Nil, TB1, TB2 és Mitogen) a kupakjuk eltávolítása után is azonosíthatók maradjanak a címkéjük alapján, vagy más módon.

3. A csöveket közvetlenül a megtöltésüket követően rázza meg tíz (10) alkalommal épp elég erősen ahhoz, hogy a vér a cső teljes belső felszínére eljusson. Így feloldja a cső belső falán lévő antigéneket.

Fontos megjegyzés: A csövek rázása során azok hőmérsékletének 17–25 °C között kell lennie. A túlságosan erős rázás a gél felszakadását okozhatja, és helytelen eredményhez vezethet.

4. A címkézést, töltést és felrázást követően a csöveket a lehető leghamarabb, de legkésőbb a vérvételtől számított 16 órán belül 37 °C ± 1 °C-os inkubátorba kell helyezni. Inkubálás előtt a csöveket szobahőmérsékleten (22 °C ± 5 °C-on) kell tartani és szállítani. Ha a QFT-Plus vérvételi csöveket nem inkubálja 37 °C-on közvetlenül a vérvétel és összerázás után, akkor a 37 °C-on történő inkubáció előtt 10-szer forgassa át a csöveket, hogy elkeveredjen a tartalmuk.
5. A QFT-Plus vérvételi csöveket **ÁLLÍTVÁ**, 37 °C ± 1 °C hőmérsékleten kell inkubálni 16–24 órán keresztül. Inkubáláskor sem CO₂, sem párást nem szükséges.

Vérvétel egyetlen lítium-heparinos vagy nátrium-heparinos csőbe, majd a vér átvitele QFT-Plus Blood Collection Tubes csövekbe

1. A vér egyetlen, antikoagulánsként lítium-heparint vagy nátrium-heparint tartalmazó vérvételi csőbe is levehető, majd innen tölthető át a QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csövekbe. Csak lítium-heparin vagy nátrium-heparin használható a vérben antikoagulánsként, mivel más antikoagulánsok megzavarják az assay-t. Feliratozza a csöveket a tartalmuknak megfelelően.

Ajánlott felcímkézni a mintacsövet, hogy szerepeljen rajta a vérévétel pontos időpontja és dátuma.

Fontos: A vérévétel ideje alatt a vérévételi csövek legyenek szobahőmérsékletűek (17–25 °C között).

2. Töltsön fel egy lítium-heparint vagy nátrium-heparinos vérévételi csövet (minimális térfogat: 5 ml), és a cső többszöri átfogatásával óvatosan keverje össze, hogy eloszlassa a heparint. Ezt az eljárást vérévételre kiképzett személynek kell végeznie.
3. Tartsa be a lítium- vagy nátrium-heparinos csöveknél az idő- és hőmérsékleti beállításokat a vérminták QFT-Plus Blood Collection Tubes csövekbe való átvitele, és azokban való inkubálása előtt (lásd 1–3. ábra, Vérévételi opciók).

1. opció – Lítium- vagy nátrium-heparinos csövek szobahőmérsékleten való tárolása és kezelése A lítium- vagy nátrium-heparinos csövekbe gyűjtött vért a vérévétel idejétől számított legfeljebb 16 órán át szabad szobahőmérsékleten (22 °C ± 5 °C-on) tartani a QFT-Plus Blood Collection Tubes vérévételi csövekbe való átvitel, és az azt követő inkubáció előtt.

2. opció – Lítium- vagy nátrium-heparinos csövek hűtőszekrényben való tárolása és kezelése

Fontos: Az eljárás a–d lépéseit ebben a sorrendben kell elvégezni.

- a. A lítium- vagy nátrium-heparinos csövekbe gyűjtött vér a vérévételt követően legfeljebb 3 órán át tartható szobahőmérsékleten (17–25 °C-on).
- b. A lítium- vagy nátrium-heparinos csövekbe gyűjtött vér legfeljebb 48 órán át tartható hűtőszekrényben (2–8 °C-on).
- c. Hűtőben való tárolás után a lítium- vagy nátrium-heparinos csöveket hagyni kell szobahőmérsékletre (17–25 °C-ra) felmelegedni a QFT-Plus Blood Collection Tubes vérévételi csövekbe való átvitel előtt.
- d. A szétadagolt mintákat tartalmazó QFT-Plus Blood Collection Tubes vérévételi csöveket a vér átvitele után 2 órán belül a 37 °C-os inkubátorba kell helyezni.

Ha a QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csöveket nem inkubálja 37 °C-on közvetlenül a QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csövekbe való átvitel és összerázás után, akkor a 37 °C-on történő inkubáció előtt 10-szer forgassa át a csöveket, hogy elkeveredjen a tartalmuk. A vérvétel és a QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csövekben való inkubáció között összesen eltelt idő nem haladhatja meg az 53 órát.

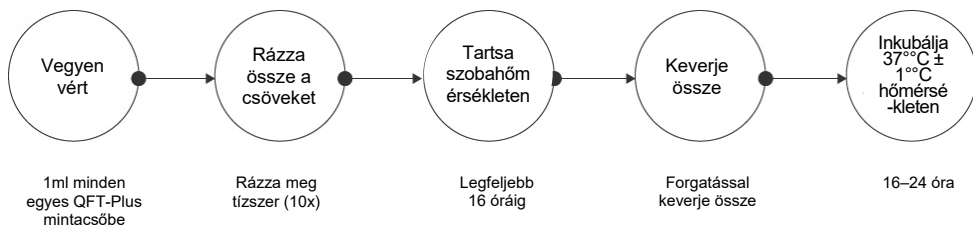
4. A vérminták átvitele egy lítium- vagy nátrium-heparinos mintacsőből QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csövekbe:
 - a. Címkézzen fel megfelelően minden egyes QFT-Plus Blood Collection Tube vérvételi csövet.

Gondoskodjon arról, hogy az egyes csövek (Nil, TB1, TB2 és Mitogen) a kupakjuk eltávolítása után is azonosíthatók maradjanak a címkéjük alapján, vagy más módon. Ajánlott átvinni a lítium- vagy nátrium-heparinos csövekről a QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csövekre a feljegyzett pontos vérvételi időt és dátumot tartalmazó címkét.
 - b. A mintákat finom átforgatásokkal egyenletesen össze kell keverni a QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csövekbe való szétadagolás előtt.
 - c. A szétadagoláshoz alkalmazzon aseptikus technikát, a megfelelő biztonsági eljárások betartásával. Távolítsa el mind a 4 QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi cső kupakját, majd töltsön mindegyikbe 1–1 ml vért. A mintacsövek kupakját gondosan zárja vissza, majd az alább leírtak szerint keverje össze a tartalmukat. Gondoskodjon arról, hogy az egyes csövek (Nil, TB1, TB2 és Mitogen) a kupakjuk eltávolítása után is azonosíthatók maradjanak a címkéjük alapján, vagy más módon.
5. Keverje össze a csöveket. A QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csöveket közvetlenül a megtöltésüket követően rázza meg tíz (10) alkalommal elég erősen ahhoz, hogy a vér a cső teljes belső felszínére eljusson. Így feloldja a cső belső falán lévő antigéneket.

A túlságosan erős rázás a gél felszakadását okozhatja, és helytelen eredményhez vezethet.

6. A címkézést, töltést és összerázást követően a csöveket a vérvételtől számított 2 órán belül 37 ± 1 °C-os inkubátorba kell helyezni. Ha a QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csöveket nem inkubálja 37 °C-on közvetlenül a vérminták átvitele és összerázása után, akkor a 37 °C-on történő inkubáció előtt tízszer (10x) forgassa át a csöveket, hogy elkeveredjen a tartalmuk. (A vérvételi opciókért lásd az 1–3. ábrát a következő oldalon).
7. A QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csöveket ÁLLÍTVÁ, 37 ± 1 °C hőmérsékleten kell inkubálni 16–24 órán keresztül. Inkubáláskor sem CO₂, sem párasítás nem szükséges.

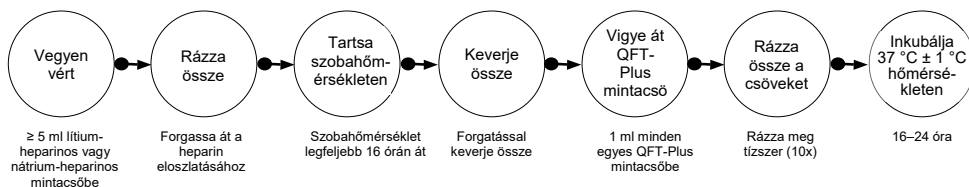
Vegyen vért QFT-Plus Blood Collection Tube vérvételi csövekbe, és tartsa azokat szobahőmérsékleten.



1. ábra Vérvételi opció: Vegyen vért közvetlenül a QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csövekbe, és tartsa őket szobahőmérsékleten.

A QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csövekbe történő vérvétel, és a 37 °C-on történő inkubáció között eltelt teljes idő nem haladhatja meg a 16 órát.

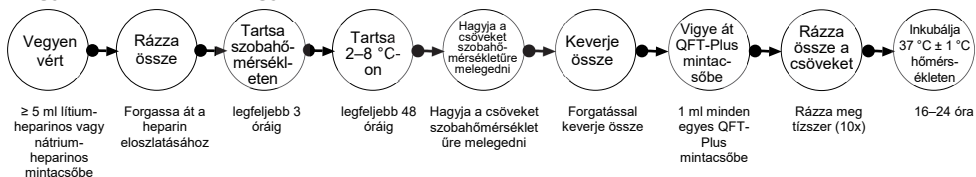
Vegyen vért lítium- vagy nátrium-heparinos mintacsövekbe, és tartsa őket szobahőmérsékleten.



2. ábra. Vérvételi opció: Vegyen vért lítium- vagy nátrium-heparinos mintacsövekbe, és tartsa őket szobahőmérsékleten.

A lítium- vagy nátrium-heparinos mintacsöbe történő vérvétel és a 37 °C-on történő inkubáció között eltelt teljes idő nem haladhatja meg a 16 órát.

Vegyen vért lítium- vagy nátrium-heparinos mintacsövekbe, és tartsa őket 2–8 °C-on.



3. ábra Vérvételi opció: Vegyen vért lítium- vagy nátrium-heparinos mintacsöbe, és tartsa őket 2–8 °C-on.

A lítium- vagy nátrium-heparinos mintacsöbe történő vérvétel és a 37 °C-on történő inkubáció között eltelt teljes idő nem haladhatja meg az 53 órát.

Alkalmazási útmutató

1. fázis – a vér inkubálása és a plazma elválasztása

Szállított anyagok

- QFT-Plus Blood Collection Tubes vérvételi csövek (lásd 3. fejezet)

Szükséges (de nem biztosított) anyagok

- Lásd 3. fejezet

Eljárás

1. **Ha a vért nem azonnal a levételt követően inkubálják, akkor a csöveket közvetlenül az inkubálás előtt 10-szer átfogatva újra kell keverni.**
2. **A csöveket ÁLLÍTVÁ, 37 ± 1 °C hőmérsékleten kell inkubálni 16–24 órán keresztül. Inkubáláskor sem CO₂, sem párasítás nem szükséges.**
3. **A 37 °C-os inkubálás után és a centrifugálás előtt a vérvételi csövek 4 °C és 27 °C közötti hőmérsékleten, legfeljebb 3 napig tárolhatók.**
4. **A 37 °C-os inkubálás után a csöveket a plazma elválasztása céljából 2000–3000 x RCF (g) fordulatszámon 15 percig kell centrifugálni. A szeparátor gél elkülöníti a sejteket a plazmától. Ha ez nem történik meg, a csöveket újra kell centrifugálni.**

A plazma centrifugálás nélkül is elválasztható, de ilyenkor fokozottan ügyelni kell arra, hogy közben a vörsejtek ne keveredjenek fel.

5. **A plazmamintákat csak pipettával szabad elválasztani.**

Fontos megjegyzés: A centrifugálás és az elválasztás között kerülni kell a plazma felkeverését a pipetta fel-le mozgatásával vagy bármilyen más módon. A teljes eljárás során meg kell őrizni a gélfelület sértetlenségét.

A plazmaminták közvetlenül a centrifugált vérvételi csövekből tölthetők át a QFT-Plus ELISA lemezbe, automatikus ELISA munkaállomás használata esetén is.

A plazmaminták 2 °C és 8 °C között legfeljebb 28 napig, illetve elválasztva –20 °C alatt hosszú ideig megőrizhetők.

Megfelelő tesztmintát legalább 150 µl plazma elválasztásával lehet nyerni.

2. fázis – IFN- γ ELISA

Szállított anyagok

- QFT-Plus ELISA kit (lásd 3. fejezet)

Szükséges, de nem biztosított anyagok

- Lásd 3. fejezet.

Eljárás

1. **Felhasználás előtt minden plazmamintát és a konjugátum 100× koncentrátum kivételével minden reagenst szobahőmérsékletre (22 ± 5 °C-ra) kell hozni. A hőkiegyenlítődésre legalább 60 perccel kell hagyni.**
2. **Vegye ki a keretből a szükségtelen csíkokat, ezeket zárja vissza a fóliatasakba, majd felhasználásig helyezze vissza a hűtött tárolóba.**

Biztosítson a QFT-Plus standardoknak legalább 1 csíkot, valamint a tesztelt alanyok számához elegendő csíkot (lásd 5. ábra). Használat után a többi csík számára őrizze meg a keretet.

3. **Rehidratálja az IFN- γ standardot az üveg címkéjén feltüntetett mennyiségű ioncserélt vagy desztillált vízzel. Óvatosan, minimális habképződéssel keverje, amíg teljesen fel nem oldódik. A standard megadott térfogatra rehidratálása 8,0 IU/ml koncentrációjú oldatot képez.**

Fontos megjegyzés: A kitben lévő standard rehidratálási térfogata tételenként eltérő.

Használja a kit rehidratált standardját 1:2 arányú oldat elkészítéséhez, majd az IFN- γ 1:4 arányú hígítási sorozatának elkészítéséhez zöld hígítóban (Green Diluent, GD) (lásd 4. ábra). Az S1 (1. standard) koncentrációja 4,0 IU/ml, az S2 (2. standard) koncentrációja 1,0 IU/ml, az S3 (3. standard) koncentrációja 0,25 IU/ml, az S4 (4. standard) koncentrációja pedig 0 IU/ml (csak GD). A standardokat legalább duplán kell tesztelni. Minden ELISA munkamenethez friss hígítást kell készíteni a kitben lévő standardból.

Ajánlott eljárás a dupla standardokhoz

Címkézzen fel 4 csövet: S1, S2, S3, S4.

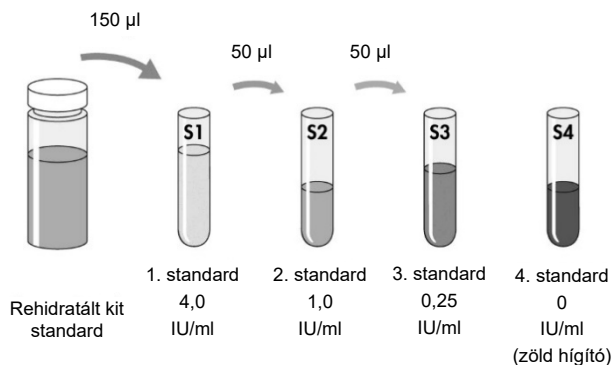
Töltsön **150 μ l** GD-t az S1, S2, S3 és S4 csőbe.

Adjon **150 μ l**-t a kitben lévő standardból az S1 csőbe, és alaposan keverje össze.

Töltsön át **50 μ l**-t az S1-ből az S2 csőbe, és alaposan keverje össze.

Töltsön át **50 μ l**-t az S2-ből az S3 csőbe, és alaposan keverje össze.

A GD szolgál magában nullstandardként (S4).



4. ábra. A standard görbe elkészítése.

4. Rehidratálja a liofilizált konjugátum 100× koncentrátumot 0,3 ml ioncserélt vagy desztillált vízzel. Óvatosan, minimális habképződéssel keverje fel a konjugátumot, amíg teljesen fel nem oldódik.

A konjugátum készre hígításához hígítsa fel a kívánt mennyiségű rehidratált konjugátum 100× koncentrátumot zöld hígítóval (1. táblázat: Konjugátumkészítés).

Az esetleg megmaradó konjugátum 100× koncentrátumot azonnal vissza kell hűteni 2–8 °C-ra. Csak zöld hígítót használjon.

1. táblázat: Konjugátumkészítés

Csikok száma	Konjugátum 100× koncentrátum mennyisége	Zöld hígító mennyisége
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. A vérvételi csövekből elválasztott, majd tárolt (hűtött vagy fagyasztott) plazmamintákat alaposan keverje fel az ELISA lyukakba töltés előtt.

Fontos megjegyzés: A közvetlenül a centrifugált QFT-Plus csövekből áttöltött plazmaminták esetén a plazma keverését teljesen kerülni kell. A teljes eljárás során meg kell őrizni a gélfelület sértetlenségét.

6. Adjon 50 µl frissen készre hígított konjugátumot a szükséges ELISA lyukakba többcsatornás pipettával.

7. A többcsatornás pipettával juttasson 50 µl teszt plazmamintákat a megfelelő lyukakba (az ajánlott lemez elrendezésért lásd 5. ábra). Végül adjon hozzá 50 µl mennyiséget az 1–4 jelű standardokból.

	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. ábra. Ajánlott minta elrendezés (lemezenként 22 teszt)

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

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

8. Fedjen le minden lemezt, és mikrolemezrázóval 1 percig alaposan keverje össze a konjugátumot és a plazmamintákat vagy standardokat. Kerülje a minták kiloccsanását.

9. Fedje le az összes lemezt, és inkubálja őket szobahőmérsékleten (22 °C ± 5 °C-on) 120 ± 5 percen át.

A lemezeket inkubálás alatt nem érheti közvetlen napfény.

10. Az inkubálás alatt hígítson egy rész mosópuffer 20× koncentrátumot 19 rész ioncserélt vagy desztillált vízzel, és keverje meg alaposan. A kit 2 liter készre hígított mosópuffer elkészítéséhez elegendő mosópuffer 20× koncentrátumot tartalmaz.

A tesztlyukakat **400 µl** készre hígított mosópufferrel kell mosni legalább 6 cikluson keresztül. Automatikus lemezmosó használata ajánlott.

Az assay minősége érdekében nagyon fontos az alapos mosás. Ügyeljen arra, hogy minden lyuk **színültig telítődjön** a mosópufferrel minden mosási ciklusban. Ajánlott egy legalább 5 másodperces áztatási időt hagyni az egyes ciklusok között.

A szennyvíztartályba normál laboratóriumi fertőtlenítőszerrel kell tölteni, és a potenciálisan fertőző anyagot a szabályos eljárások szerint dekontaminálni kell.

- 11. Ütögesse a lemezeket lefordítva nedvszívó, kevésbé szálal kendőre, hogy a maradék mosópuffer eltávozzon. Adjon 100 µl enzimszubsztrát-oldatot minden egyes tesztlyukba, fedje le az összes lemezt, és alaposan keverje össze mikrolemezrázóval.**
- 12. Fedje le az összes lemezt, és inkubálja őket szobahőmérsékleten (22 ± 5 °C-on) 30 percen át.**

A lemezeket inkubálás alatt nem érheti közvetlen napfény.

- 13. A 30 perces inkubáció elteltével töltsön 50 µl enzimeállító oldatot minden tesztlyukba, és végezzen keverést.**

Az enzimeállító oldatot a szubsztrátum 11. lépésben leírt kitöltésekor alkalmazott sorrendben és közel hasonló sebességgel töltsse ki.

- 14. A reakció leállítását követő 5 percen belül mérje meg az összes tesztlyukban az optikai denzitás (Optical Density, OD) értékét egy 450 nm-es szűrővel és 620–650 nm-es referenciaszűrővel felszerelt mikrolemes-olvasóval. A teszteredményeket az OD értékekből lehet kiszámolni.**

Számítások és a teszt értelmezése

A nyers adatok elemzése és az eredmények kiszámítása a QFT-Plus Analysis szoftverrel végezhető el. Ez beszerezhető a www.QuantiFERON.com webhelyen. Kérjük, ügyeljen rá, hogy mindig a QFT-Plus Analysis szoftver legújabb verzióját használja.

A szoftver „Az eredmények értelmezése” című fejezetben leírtak szerint elvégzi az assay minőségi felülvizsgálatát, létrehozza a standard görbét, és kiszámítja az egyes alanyok teszteredményét.

A QFT-Plus Analysis szoftver alkalmazása helyett az eredmények az alábbi módszerrel is megállapíthatók.

Standard görbe létrehozása

(QFT-Plus Analysis szoftver használata nélkül)

Határozza meg minden tálcán a standardok átlagos OD értékeit.

Szerkesszen egy $\log_{(e)}\text{-}\log_{(e)}$ standard görbét, amely az átlag OD $\log_{(e)}$ értéket ábrázolja (y tengely) a standardok IU/ml-ben mért IFN- γ koncentráció $\log_{(e)}$ értékének függvényében (x tengely), kihagyva a számításból a nullstandardot. Számítsa ki regresszióanalízissel a standard görbe legjobban illeszkedő egyenesét.

Állapítsa meg a standard görbe segítségével az egyes vizsgált plazmaminták IFN- γ koncentrációját (IU/ml) a hozzájuk tartozó OD értékből.

Ezeket a számításokat a mikrolemez-olvasóhoz tartozó szoftvercsomagokkal, valamint hagyományos táblázatkezelő vagy statisztikai szoftverekkel (például Microsoft® Excel®) is el lehet végezni. Ajánlatos ezeket a csomagokat használni a regresszióanalízis, valamint a standardokra vonatkozó variációs koefficiens (%CV) és a standard görbe korrelációs együtthatójának (r) kiszámításához.

A teszt minőségellenőrzése

A teszteredmények pontossága a standard görbe pontosságától függ. Ezért a mintaeredmények értelmezését megelőzően ellenőrizni kell a standardokból származó eredményeket.

Az ELISA teszt érvényességének feltételei:

- Az 1. standardra vonatkozó OD átlagnak $\geq 0,600$ értékűnek kell lennie.
- Az 1. és 2. standard párhuzamosainak OD értékéhez tartozó %CV $\leq 15\%$ lehet.
- A 3. és 4. standard párhuzamosainak OD értéke nem mutathat 0,040 optikai denzitási egységnél nagyobb szórást az átlagértéktől.
- A standardok átlagos abszorpciós értékéből számított korrelációs együtthatónak (r) $\geq 0,98$ értékűnek kell lennie.

A QFT-Plus Analysis szoftver kiszámolja ezeket a minőségellenőrzési paramétereket, és jelentést készít róluk.

Ha a fenti követelmények nem teljesülnek, akkor a teszt érvénytelen, és meg kell ismételni.

A nullstandardhoz (zöld hígító) tartozó átlag OD érték $\leq 0,150$ lehet. Ha az átlagos OD érték $> 0,150$, akkor a lemezmosási munkafolyamatot felül kell vizsgálni.

Az eredmények értelmezése

A QFT-Plus eredményeit az alábbi követelmények szerint kell értelmezni (2. táblázat):

Fontos megjegyzés: A tuberkulózisbetegség diagnosztizálásához, illetve kizárásához, valamint az LTBI valószínűségének megállapításához a QFT-Plus eredményeinek értelmezésénél figyelembe kell venni az epidemiológiai, körelőzményi, orvosi és diagnosztikus eredmények összességét.

2. táblázat: A QFT-Plus eredményeinek értelmezése

Nil (IU/ml)	TB1 mínusz Nil (IU/ml)	TB2 mínusz Nil (IU/ml)	Mitogen mínusz Nil (IU/ml)*	QFT-Plus eredménye	Jelentés/értelmezés
	≥ 0,35 és eléri a Nil érték 25%-át	Bármely	Bármely	Pozitív†	<i>M. tuberculosis</i> fertőzés valószínű
	Bármely	≥ 0,35 és eléri a Nil érték 25%-át			
≤ 8,0	< 0,35 vagy ≥ 0,35 és kisebb a Nil érték 25%-ánál	< 0,35 vagy ≥ 0,35 és kisebb a Nil érték 25%-ánál	≥ 0,5	Negatív	<i>M. tuberculosis</i> fertőzés NEM valószínű
	< 0,35 vagy ≥ 0,35 és kisebb a Nil érték 25%-ánál	< 0,35 vagy ≥ 0,35 és kisebb a Nil érték 25%-ánál	< 0,5	Nem eldönthető‡	Az <i>M. tuberculosis</i> fertőzés valószínűsége nem határozható meg
> 8,0§		Bármely		Nem eldönthető‡	Az <i>M. tuberculosis</i> fertőzés valószínűsége nem határozható meg

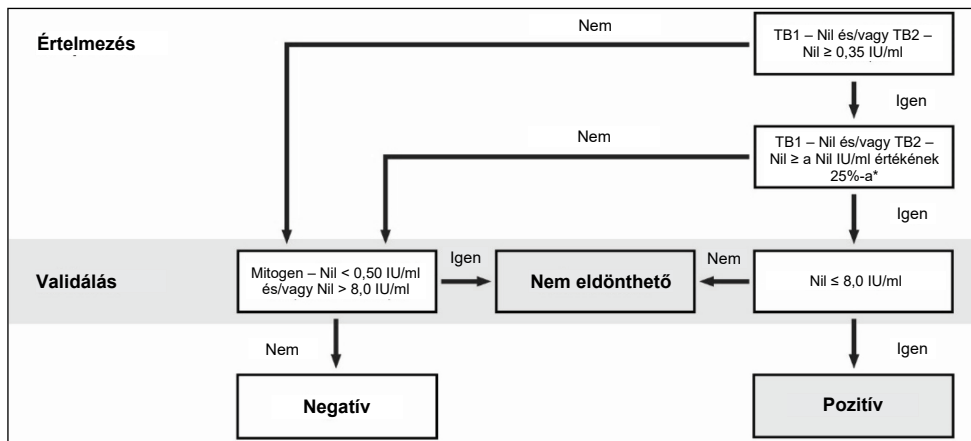
* A Mitogen pozitív kontrolljára (és olykor a TB-antigénekre) kapott válaszcímértékek meghaladhatják a mikrolemez-olvasó mérési tartományát. Ez a teszteredményeket nem befolyásolja. A QFT-Plus szoftver „>10 IU/ml” eredményként jeleníti meg a 10 ml-nél magasabb értékeket.

† Ha az *M. tuberculosis* fertőzés gyanúja nem áll fenn, az először kapott pozitív eredményeket alá lehet támasztani az eredeti plazmaminták QFT-Plus ELISA segítségével végzett dupla ismételt tesztelésével. A vizsgált személyt akkor lehet teszt pozitívnak minősíteni, ha az ismételt teszteléskor legalább az egyik párhuzamos pozitív.

‡ A lehetséges okokat a „Hibaelhárítás” című fejezet tárgyalja.

§ A klinikai vizsgálatokban az alanyoknak kevesebb mint 0,25%-a mutatott > 8,0 IU/ml IFN- γ értéket Nil értéként.

A mért IFN- γ szint magnitúdója nem mutat korrelációt a fertőzés stádiumával vagy előrehaladtával, az immunválasz-készség mértékével vagy az aktív betegséggé fejlődés valószínűségével. Ritkán fordul elő pozitív TB válasz olyanoknál, akik Mitogen reakciója negatív, de már tapasztaltak ilyen TB-betegeknél. Ez azt jelenti, hogy az IFN- γ válasz a TB antigénre nagyobb, mint a Mitogénre, ami lehetséges, mivel a Mitogénszint nem stimulálja maximálisan a limfociták IFN- γ termelését.



* Ahhoz, hogy a TB1 mínusz Nil vagy a TB2 mínusz Nil értéke érvényes legyen, a Nil IU/ml értékének legalább 25%-a ugyanabból a csőből kell, hogy származzon, ahonnan az eredeti $\geq 0,35$ IU/ml eredmény.

6. ábra QFT-Plus értelmezési folyamatára

Korlátozások

A QFT-Plus eredményeit az egyes személyek járványtani kórtörténetével, aktuális egészségi állapotával, és az egyéb diagnosztikai értékelési szempontokkal együtt kell értékelni.

A 8,0 IU/ml Nil értéket meghaladó eredményű személyek a „nem eldönthető” csoportba tartoznak, mert a TB-antigénekre adott 25%-kal magasabb válasz kívül eshet az assay mérési tartományán.

Megbízhatatlan vagy nem eldönthető eredményt okozhatnak a következők:

- A jelen terméktájékoztatóban meghatározott szabályoktól való eltérések
- Túlzott mértékű keringő IFN- γ vagy heterofil antitestek jelenléte
- 16 óránál hosszabb idő telt el a vérvétel és a 37 °C-os inkubálás között. Ez nem alkalmazható, ha a lítium-heparinos vagy nátrium-heparinos mintacsöves, 2–8 °C-os munkafolyamatot használja.

Teljesítményjellemzők

Klinikai vizsgálatok

Mivel az LTBI-re nincs meghatározó standard teszt, a QFT-Plus érzékenységének és specifitásának becslésére nincs gyakorlati eljárás. A QFT-Plus specifitását a tuberkulózisfertőzésre alacsony kockázatú betegek (azok, akiknél nem ismeretesek kockázati tényezők) hamis pozitív arányának értékelésével becsülték meg. Az érzékenység becsült értékét tenyésztéssel megerősített aktív TB megbetegedésű betegcsoportok értékelésével határozták meg.

Specifitás

A QFT-Plus specifitásának kiértékelésére 409 alany bevonásával végeztek vizsgálatot. A tesztelés idején standardizált felméréssel tájékozódtak a résztvevők demográfiai adatairól és TB-kockázati tényezőiről.

A két, tuberkulózisfertőzés szempontjából alacsony kockázatú (ismert kockázati tényező nélküli) betegcsoport eredményeinek összesítése szerint a QFT-Plus specifitása 97,6% (399/409) (3. táblázat és 4. táblázat).

3. táblázat: A QFT-Plus specifitását kiértékelő vizsgálat eredményei vizsgálati helyszín szerint

Vizsgálat	Pozitív	Negatív	Nem eldönthető	Specifitás (95% CI)
Japán	4	203	0	98% (95–100%)
Ausztrália	6	196	0	97% (94–99%)

4. táblázat: A QFT-Plusz specifikitását kiértékelő vizsgálat eredményei TB-antigénső szerint

Vizsgálat	TB1	TB2	QFT-Plusz
Pozitív	5	10	10
Negatív	404	399	399
Nem eldönthető	0	0	0
Specifititás (95% CI)	98,8% (97,2–99,6)	97,6% (95,6–98,8)	97,6% (95,6–98,8)

Érzékenység aktív TB-re

Bár az LTBI kimutatására nincs meghatározó szabványos teszt, az *M. tuberculosis* mikrobiológiai tenyésztése megfelelő helyettesítés, mert a beteg páciensek magától értetődően fertőzöttek. A későbbi tenyésztéssel *M. tuberculosis* fertőzöttnek bizonyuló, 4 vizsgálati helyszínről származó TB-gyanús személyeket vizsgáltak meg Ausztráliában és Japánban a QFT-Plusz érzékenységének megállapítására (5. táblázat és 6. táblázat). A betegek a QFT-Plusz teszthez tartozó vérvétel előtt kevesebb mint 14 nap kezelésben részesültek.

A négy, az *M. tuberculosis* tenyésztése alapján pozitívnak bizonyult betegcsoport eredményeinek összesítése szerint a QFT-Plusz összesített érzékenysége 95,3% (164/172) volt. A négy csoportban 159 beteg volt pozitív mind a TB1, mind a TB2 csövek alapján, 1 beteg volt pozitív csak a TB1 alapján, és 4 volt pozitív csak a TB2 alapján. Az eredmények összesen 1,1%-a (2/174) volt határozatlan. A TB2-eredmény helyesen azonosított 1, a tenyésztés szerint pozitív beteget, akinél az eredmény határozatlan lett volna csak a TB1 eredmény alapján (alacsony Mitogen; lásd 5. táblázat és 6. táblázat).

5. táblázat: A QFT-Plusz érzékenységét kiértékelő vizsgálat eredményei vizsgálati helyszínen szerint

Vizsgálati helyszínek	Pozitív	Negatív	Nem eldönthető	QFT-Plusz érzékenysége* (95% CI)
Japán, 1. helyszín	36	7	0	84% (69–93)
Japán, 2. helyszín	53	1	2	98% (90–100)
Japán, 3. helyszín	54	0	0	100% (93–100)
Ausztráliai helyszín	21	0	0	100% (84–100)

* Az érzékenység megállapítása az érvényes tesztek teljes számán alapul, a határozatlan eredmények nélkül.

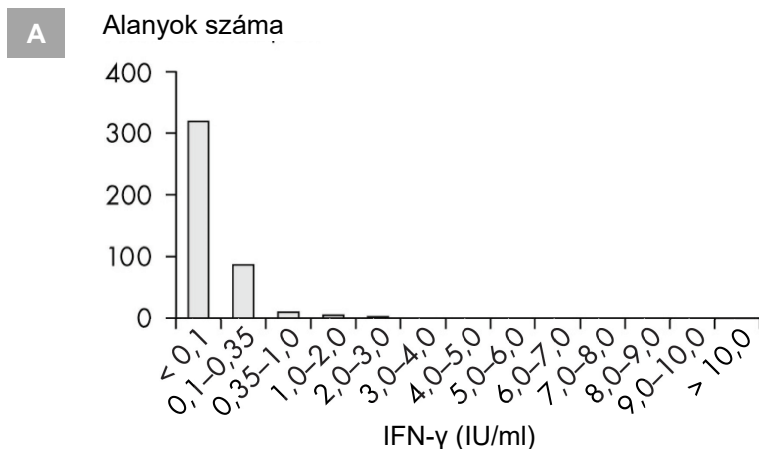
6. táblázat: A QFT-Plus specifikusságát kiértékelő vizsgálat eredményei a TB-antigéncső szerint

	TB1	TB2	QFT-Plus
Pozitív	160	163	164
Negatív	11	9	8
Nem eldönthető	3	2	2
Érzékenység [†] (95% CI)	93,6% (88,8–96,7)	94,8% (90,3–97,6)	95,3% (90,9–97,9)

* Az érzékenység megállapítása az érvényes tesztek teljes számán alapul, a határozatlan eredmények nélkül.

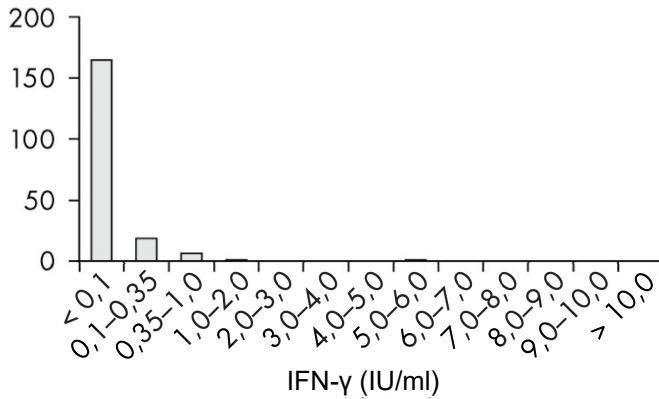
A megfigyelt reakciók eloszlása – kockázat szerinti rétegződés

Klinikai vizsgálatokban sokféle IFN- γ választ figyeltek meg a TB1, TB2 és kontrollcsövekre, és ezeket az *M. tuberculosis* fertőzés kockázata szerint rétegezték (7–9. ábra). A kevert kockázati csoportban az általános tesztelendő populáció eloszlásának megfelelő alanyok vannak, TB-kockázati tényezőknél kitettek és ki nem tették is, és olyanok is, ahol az aktív TB nem valószínű (azaz, LTBI).

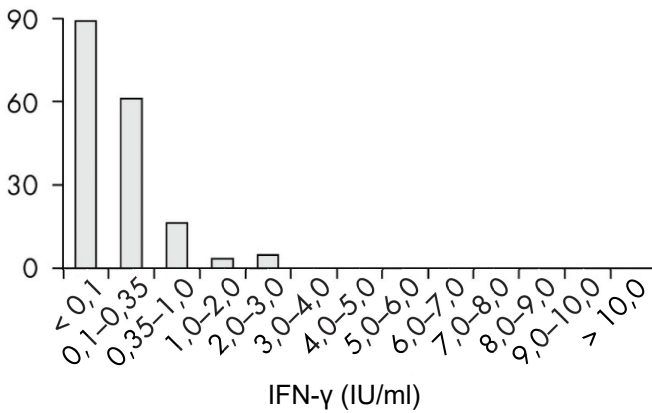


B

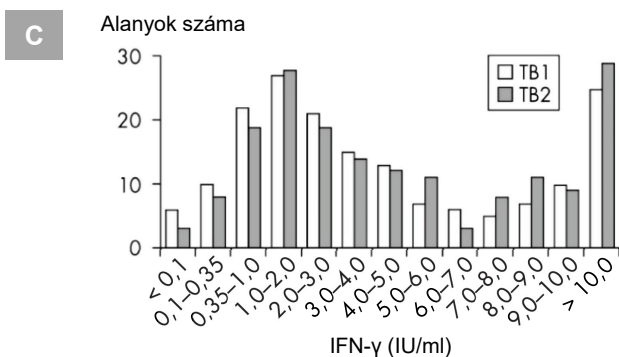
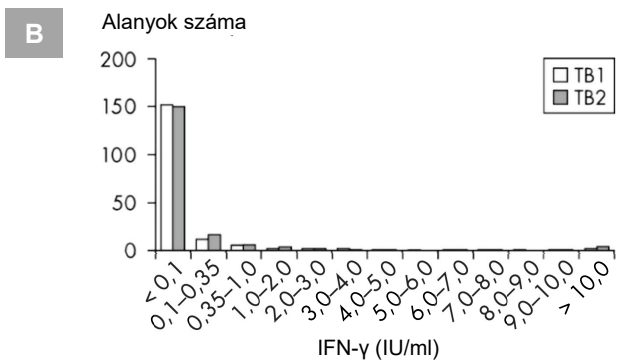
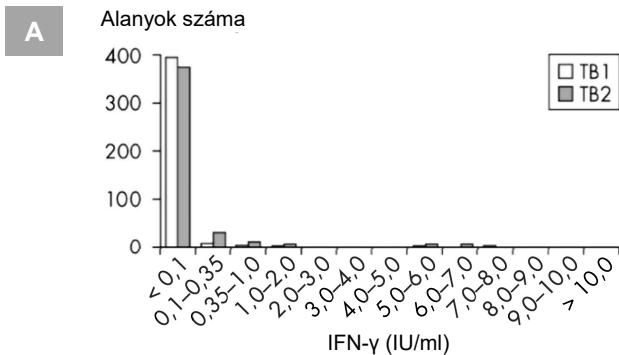
Alanyok száma

**C**

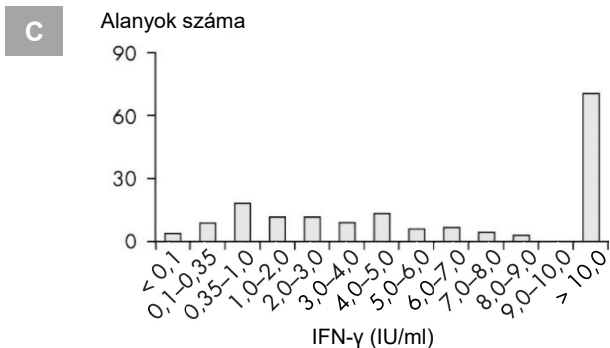
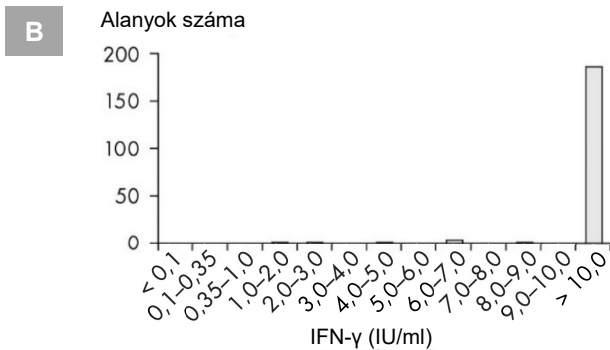
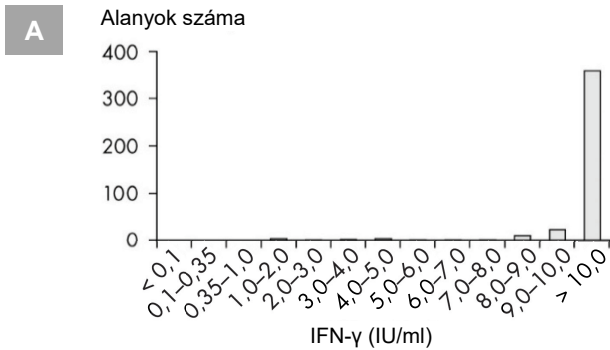
Alanyok száma



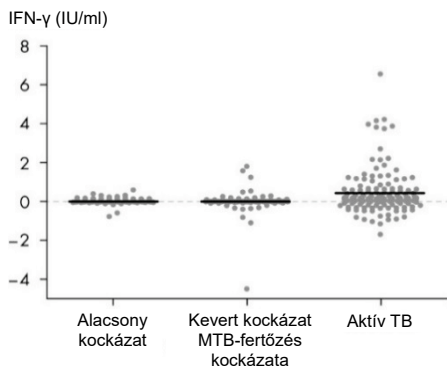
7. ábra A Nil értékek eloszlása. **A.** A Nil értékek eloszlása alacsony kockázatú populációban (n=409). **B.** A Nil értékek eloszlása kevert kockázatú populációban (n=194). **C.** A Nil értékek eloszlása olyan populációban, tenyésztéssel bizonyított az *M. tuberculosis* fertőzés (n=174).



8. ábra A TB1 és TB2 eloszlása (a Nil értékkel kisebbítve). **A.** A TB1 és TB2 értékek eloszlása (nullértékkel kisebbítve) alacsony kockázatú populációban (n=409). **B.** A TB1 és TB2 értékek eloszlása (nullértékkel kisebbítve) kevert kockázatú populációban (n=194). **C.** A TB1 és TB2 eloszlása (nullértékkel kisebbítve) olyan populációban, ahol tenyésztéssel bizonyított az *M. tuberculosis* fertőzés (n=174).



9. ábra A Mitogen eloszlása (nullértékkel kisebbítve). **A.** A Mitogen eloszlása (nullértékkel kisebbítve) alacsony kockázatú populációban (n=409). **B.** A Mitogen eloszlása (nullértékkel kisebbítve) kevert kockázatú populációban (n=194). **C.** A Mitogen eloszlása (nullértékkel kisebbítve) olyan populációban, ahol tenyésztéssel bizonyított az *M. tuberculosis* fertőzés (n=169).

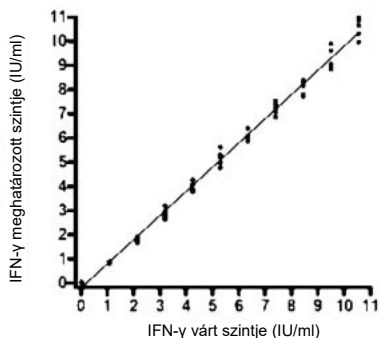


10. ábra A megfigyelt különbség a TB1 és a TB2 értékek között (nullértékkel kisebbítve), kockázat szerint rétegezve. Alacsony kockázatú populáció (n=409), kevert kockázatú populáció (n=189), és olyan populáció, ahol tenyésztéssel bizonyított az *M. tuberculosis* fertőzés (n=141). A TB1 értékeket kivonták a TB2 értékekből. Kizárták azokat az alanyokat, akiknél a TB1 vagy a TB2 > 10,0 IU/ml volt, mert ők nem tartoztak az assay lineáris tartományába.

Az assay teljesítményjellemzői

A QFT-Plus ELISA linearitását úgy bizonyították, hogy 11 ismert IFN- γ koncentrációjú plazmaforrás 5 párhuzamos mintáját helyezték véletlenszerűen az ELISA tálcára. A lineáris regressziós egyenes meredeksége $1,002 \pm 0,011$, korrelációs együtthatója 0,99 volt (11. ábra).

A QFT-Plus ELISA kimutatási határértéke 0,065 IU/ml, és nincs arra utaló jel, hogy kioltási effektus lépne fel legfeljebb 10 000 IU/ml IFN- γ koncentrációig.



11. ábra. A QFT-Plus ELISA linearitási profilja

A QFT-Plus ELISA assay-n belüli és assay-k közötti pontatlanságát (%CV) 20 eltérő IFN- γ koncentrációjú plazmaminta alapján állapították meg 3 párhuzamos ismétléssel, 3 különböző laboratóriumban, 3 nem egymást követő napon, 3 különböző kezelővel. Ennek megfelelően minden mintát 9 független assay-munkafolyamatban, összesen 27 alkalommal teszteltek. Az egyik minta nullkontroll volt, számított IFN- γ koncentrációja 0,08 IU/ml (95% CI: 0,07–0,09) közé esett. A fennmaradó 19 plazmaminta koncentrációi a 0,33 (95% CI: 0,31–0,34) és 7,7 IU/ml (95% CI: 7,48–7,92) értékek közé estek.

A munkafolyamaton belüli és az assay-n belüli pontatlanság közelítő értékét az egyes tesztmunkafolyamatokból származó (n=9), 4,1 és 9,1 %CV érték közötti IFN- γ tartalmú tesztplazmák %CV értékeinek átlagolásával kapták meg. A munkafolyamaton belüli átlagos kovariancia ($\pm 95\%$ CI) értéke $6,6\% \pm 0,6\%$ volt. A nulla IFN- γ plazma átlaga 14,1 %CV volt.

A teljes vagy assay-k közötti pontatlanságot a plazmamintánként számított 27 különböző IFN- γ koncentráció összevetésével határozták meg. Az assay-k közötti pontatlanság a 6,6 és 12,3 %CV közötti tartományba esett. Az összesített átlagos %CV ($\pm 95\%$ -os CI) értéke $8,7 \pm 0,7\%$ volt. A nulla IFN- γ értékű plazma 26,1 %CV értéket mutatott. Ez egy várható szintű ingadozás, mert a számított IFN- γ koncentráció alacsony értékű, és az alacsony értékű becsült koncentrációk ingadozása mindig nagyobb, mint a magasabb koncentrációké.

A QFT-Plus teszt reprodukálhatóságát 102 olyan alany vérmintái alapján határozták meg, akiknél az *M. tuberculosis* fertőzés kockázati tényezői keverték voltak. A felmérés három különböző kezelővel és laboratóriumi körülmények között történt.

Összesen 3 diagnosztikai meghatározást állapítottak meg az egyes alanyok esetében, az összes alany esetében pedig összesen 306-ot. A diagnosztikai reprodukálhatóság értékét mindent összevéve 99%-osnak értékelték (95% CI: 97,2–99,7), ahol a diagnosztikai eredmény egyezett a 306 meghatározás közül 303-mal. Az összes variációt annak a 3 alanynak az eredményei adták, akik közel voltak a cut-off ponthoz.

Az LTBI diagnosztizálása

Számos olyan vizsgálat jelent meg, amely a QFT, a QFT-Plus elődjének teljesítményét mutatta be különféle MTB-fertőzési kockázatú populációkban. Egyes válogatott vizsgálatok alapvető eredményeit a 7. táblázat ismerteti.

7. táblázat: Kiválasztott publikált vizsgálatok a QFT-vel kapcsolatban

Populáció/állapot	Kimenetel és eredmények	Az összes publikált vizsgálat száma
Gyermekgyógyászat	Bizonyított teljesítmény gyermekeknél, beleértve 5 évesnél fiatalabb gyermekeket is (45–46), nagyobb pontossággal, mint az ELISpot alapú IGRA esetében (8). A QFT és TST máig legkiterjedtebb vizsgálata, amelyet Vietnamból, a Fülöp-szigetektől és Mexikóból származó gyermekek részvételével végeztek, alátámasztja a QFT-teszt választásának helyességét a TST-vel szemben a külföldön született gyermekek LTBI-vizsgálatához (46). Egy korlátozott kapcsolatú vizsgálat a TST-nél jobb előrejelző értéket mutatott gyermekeknél (47) és 8-szor nagyobb esélyt a két éven belüli TB-betegséggé fejlődésre a QFT-átalakítók és nem átalakítók összehasonlításakor (48). A QFT-negatív/TST-pozitív eltérés magas a BCG-vel oltott gyermekek körében (46, 49), de nem volt hatással az 5 év alatti gyermekek Mitogen válaszára (49), és alacsony vagy határozatlan arányt mutatott a bevándorló gyermekek rutin szűrése során (46).	152
Várandósság	Kedvező körülmények között a QFT egyformán jól teljesít a várandósság mindhárom trimeszterében, a nem várandós nők eredményeivel összemérhető eredményeket ad, sokkal specifikusabb, mint a TST, valamint legalább olyan érzékeny, és a TST-nél jobb előrejelzője lehet a betegség progressziójának (50). Kedvezőtlen körülmények között a QFT biztosabban teljesített az egész várandósság során, és jobban megközelítette az LTBI gyakoriságát, mint a TST, bár a szerzők végkövetkeztetése, hogy a várandósság mind a QFT-re, mind a TST-re hatással van (51).	6

A táblázat a következő oldalon folytatódik

7. táblázat: Kiválasztott publikált vizsgálatok a QFT-vel kapcsolatban (folytatás az előző oldalról)

Populáció/állapot	Kimenetel és eredmények	Az összes publikált vizsgálat száma
HIV/AIDS	A HIV-fertőzés hatással van mindkét IGRA-tesztre és a TST-re is, és a rendelkezésre álló bizonyítékok arra utalnak, hogy óvatosan kell eljárni a 200-nál alacsonyabb CD4+ számot mutató eredmények értelmezésekor (52). A QFT-re gyakorolt hatás igazoltan kisebb, mint az ELISpot alapú IGRA és TST esetében (53–55). Az IGRA-tesztek egy vizit alatt történnek, és ezzel kiküszöböljük a TST azon problémáját, hogy rossz a visszatérési arány ebben a populációban (53).	101
Immunszuppressziós kezelések	A QFT-re kevésbé hatnak az immunszuppressziós kezelések, mint a TST-re, és több korrelációt mutat a TB kockázati tényezőivel (23, 27). A QFT magas érzékenysége a reumatikus betegségben szenvedő pácienseknél (23, 56, 57), és specifikusabb, mint a TST, ami minimalizálja a hamis pozitív eredmények számát, és csökkenti a szükségtelen kezelések számát, amelyek TST után következnenek (23, 57, 58).	112
Egészségügyi dolgozók	Specifikusabbnak bizonyult, és kevesebb hamis pozitív eredményt ad, mint a TST, valamint költséghatékonyabb is annál (59–62). Sorozatos tesztlekor variabilitás várható a küszöb körül a kettős elválasztó pont és a biológiai teszt velejáró variabilitása miatt (63). A vizsgálatok a TST-nél magasabb konverziós/reverzios arányt mutattak az alacsony kockázati csoportba tartozó egészségügyi dolgozók sorozatos tesztlekor (64, 65). Az Egyesült Államok Járványügyi Központja (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) elismeri, hogy az IGRA-konverzió meghatározásának nem eléggé szigorú feltételei miatt több konverzió fordulhat elő, mint amennyi a TST szigorúbb kvantitatív feltételei mellett megfigyelhető, és az újratestelési stratégiák hatékonynak mutatkoztak a konverziós/reverzios jelenség kezelésére (65–68).	111
TB-vel érintkezettek	TST-nél (47) magasabb PPV és NPV; az egyszeres vizsgálat kézenfekvőbb olyanokban, akiknek a visszatérése nem valószínű (63), jobb korreláció a TB-nek kitétséggel (69), ami különösen figyelemreméltó BCG-vel oltott személyeknél, és a BCG-oltást alkalmazó országok népességénél (70, 71).	89
Szervátültetés	Legalább olyan hatékony, mint a TST, de kevésbé hat rá a végstádiumú szervéltetés, mint a TST-re (22).	23

A táblázat a következő oldalon folytatódik

7. táblázat: Kiválasztott publikált vizsgálatok a QFT-vel kapcsolatban (folytatás az előző oldalról)

Populáció/állapot	Kimenetel és eredmények	Az összes publikált vizsgálat száma
Cukorbetegség	Kevés publikációban ellentmondó eredmények születtek korlátozott számú alany alapján. Egy kedvező területen folytatott vizsgálat szerint a TB-betegek QFT-érzékenységet nem csökkent a cukorbetegség (72). Egy vizsgálat a kedvezőtlen helyzetű Tanzániából arra a következtetésre jutott, hogy a cukorbetegség negatív hatással van az IFN- γ termelésére, de nem vett számításba egyes tényezőket, mint a HIV és a bélféreg-fertőzések (73). Vietnami vizsgálatokban 838 olyan beteg szerepelt, aki saját magát cukorbetegnek mondta, és akiknél felmerült a TB gyanúja rendellenes mellkasi felvételek alapján, vagy tenyésztéssel be is igazolódott az aktív TB (n=128). A QFT-pozitivitás megegyezett a 10 és 15 mm-es TST elválasztó pontokkal, vagy meghaladta azokat (74).	9
Végstádiumú veseelégtelenség	A QFT-pozitív eredmények jobban korrelálnak a TB kockázati tényezőivel, és kevesebb kapcsolatot mutatnak a BCG-vel (75).	45
Bevándorlók	A vizsgálatok azt mutatják, hogy a QFT-re nincs hatással a BCG és az életkor, nem úgy, mint a TST-re (74). A QFT bizonyult a legköltséghatékonyabb módszernek (76). Kedvező környezetben a TB-esetek többsége külföldön született személyeknél fordul elő, illetve akkor, amikor az érkezés után reaktiválódik a lappangó TB (77). A máig legkiterjedtebb vizsgálat, amely a QFT-t és a TST-t bevándorlók gyermekei részvételével hasonlította össze, alátámasztja a QFT teszt választásának helyességét a TST-vel szemben a külföldön született gyermekek lappangó TB-fertőzésének kimutatására (46).	29

Technikai tudnivalók

Nem eldönthető eredmények

A határozatlan eredmény ritka jelenség, és a tesztalany immunállapota mellett számos technikai tényező is okozhatja, de többféle technikai tényezőtől is adódhat, ha a fenti használati útmutatót nem tartják be.

A reagensek tárolásakor, a vérminták levételekor vagy kezelésekor elkövetett technikai hibák gyanúja esetén meg kell ismételni új vérmintával a teljes QFT-Plus tesztet. Nem megfelelő mosás vagy az előírt ELISA műveletsortól való bármely eltérés gyanúja esetén a stimulált plazmák ELISA tesztelését meg kell ismételni. Az alacsony Mitogen értékből vagy magas Nil értékből eredő határozatlan eredmények valószínűleg a teszt megismétlésekor sem változnak meg, csak akkor, ha az ELISA teszteléskor történt hiba. A bizonytalan eredményeket bizonytalanoként kell lelemezni. Az orvos belátása szerint dönthet új minta levételéről vagy más eljárás végrehajtásáról.

Alvadt plazmaminták

A plazmaminták hosszú idejű tároláskor kialakuló rögzösödés esetén a minta centrifugálásával ülepíthetők a vérrögök, és lehetővé válik a plazma pipettázása.

Hibaelhárítási útmutató

Ez a hibaelhárítási útmutató bármely felmerülő hiba esetén segíthet a megoldásban. Részletesebb útmutató található a www.QuantiFERON.com oldalon a technikai tudnivalók menüpontban. Az elérhetőségek a hátsó borítón találhatók.

ELISA – hibaelhárítás

Nem specifikus szín kialakulása

Lehetséges ok	Megoldás
a) A lemez nem megfelelő mosása	A lemezt legalább 6 alkalommal kell mosni, tesztlyukanként 400 µl mosópufferrel. Az alkalmazott mosóberendezéstől függően 6-nál több mosási ciklusra is szükség lehet. Ajánlott legalább 5 másodperces áztatási időt hagyni az egyes ciklusok között.
b) Az ELISA lemez tesztlyukai közötti keresztzennyeződés	A kockázat minimalizálása érdekében ügyeljen a minták pipettázásakor és keverésekor.
c) A kit vagy összetevői lejártak	Ügyeljen arra, hogy a kitet a lejáratí időn belül használja fel. A rehidratált standardot és konjugátum 100× koncentrátumot a rehidratálás dátumát követő három hónapon belül fel kell használni.
d) Az enzimszubstrátoldat szennyezett	Kékes elszíneződés esetén a szubsztrátot ártalmatlanítani kell. Ügyeljen a reagenstartályok tisztaságára.
e) Elválasztás előtt felkeveredik a plazma a QFT-Plus csövekben	A centrifugálás és az elválasztás között kerülni kell a plazma felkeverését a pipetta fel-le mozgásával vagy bármilyen más módon. A teljes eljárás során meg kell őrizni a gélfelület sértetlenségét.

Alacsony leolvasott optikai denzitás a standardoknál

Lehetséges ok	Megoldás
a) Standardhígítási hiba	Ügyeljen rá, hogy a jelen terméktájékoztatóban foglaltak szerint történjen a kit standardjának hígítása.
b) Pipettázási hiba	A pipettákat mindig a gyártói utasítások betartásával kell kalibrálni és alkalmazni.
c) Túl alacsony inkubációs hőmérséklet	Az ELISA inkubálását szobahőmérsékleten (22 °C ± 5 °C) kell végezni.
d) Túl rövid inkubációs idő	A konjugátumot, a standardokat és a mintákat tartalmazó lemezt 120 ± 5 percen át kell inkubálni. Az enzimszubstrátoldatot 30 percen át kell a lemezen inkubálni.
e) Nem megfelelő szűrő a lemez leolvasásánál	A lemez leolvasását 450 nm-en kell végezni, 620–650 nm-es referenciaszűrővel.

ELISA – hibaelhárítás

- | | |
|-----------------------------------|---|
| f) Túl hideg reagensek | A konjugátum 100× koncentrátum kivételével minden reagenst szobahőmérsékletre kell hozni az assay megkezdését megelőzően. Ehhez körülbelül 1 óra szükséges. |
| g) A kit vagy összetevői lejártak | Ügyeljen arra, hogy a kitet a lejáratási időn belül használja fel. A rehidratált standardot és konjugátum 100× koncentrátumot a rehidratálás dátumát követő 3 hónapon belül fel kell használni. |

Magas háttérérték

- | Lehetséges ok | Megoldás |
|---------------------------------------|---|
| a) A lemez nem megfelelő mosása | A lemezt legalább 6 alkalommal kell mosni, tesztlyukanként 400 µl mosópufferrel. Az alkalmazott mosóberendezéstől függően 6-nál több mosási ciklusra is szükség lehet. Ajánlott legalább 5 másodperces áztatási időt hagyni az egyes ciklusok között. |
| b) Túl magas inkubációs hőmérséklet | Az ELISA inkubálását szobahőmérsékleten (22 °C ± 5 °C) kell végezni. |
| c) A kit vagy összetevői lejártak | Ügyeljen arra, hogy a kitet a lejáratási időn belül használja fel. A rehidratált standardot és konjugátum 100× koncentrátumot a rehidratálás dátumát követő 3 hónapon belül fel kell használni. |
| d) Az enzimszubstrátoldat szennyezett | Kékes elszíneződés esetén a szubsztrátot ártalmatlanítani kell. Ügyeljen a reagenstartályok tisztaságára. |

Nem lineáris standard görbe és a párhuzamosok közti variabilitás

- | Lehetséges ok | Megoldás |
|---|---|
| a) A lemez nem megfelelő mosása | A lemezt legalább 6 alkalommal kell mosni, tesztlyukanként 400 µl mosópufferrel. Az alkalmazott mosóberendezéstől függően 6-nál több mosási ciklusra is szükség lehet. Ajánlott legalább 5 másodperces áztatási időt hagyni az egyes ciklusok között. |
| b) Standardhígítási hiba | Ügyeljen rá, hogy a jelen terméktájékoztatóban foglaltak szerint történjen a standard hígítása. |
| c) Elégtelen keverés | A reagenseket a lemezre mérésük előtt alaposan fel kell keverni átfordítással vagy óvatos vortexeléssel. |
| d) Nem egyenletes pipettázás vagy az assay előkészítésének megszakítása | A minták és a standardok bemérését folyamatosan kell végezni. Minden reagenst elő kell készíteni az assay megkezdése előtt. |

A termékekre vonatkozó tájékoztatók és technikai útmutatók ingyenesen beszerezhetők a QIAGEN vállalattól, a területileg illetékes forgalmazótól, illetve a www.QuantiFERON.com weboldalról.

Irodalomjegyzék

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.

Szimbólumok

A csomagoláson és a címkéken a következő szimbólumok szerepelhetnek:

Szimbólum	Szimbólum definíciója
 2 × 96	Elegendő 2 × 96 minta előkészítéséhez
	Hivatalos gyártó
	CE-IVD jelölés szimbólum
	In vitro diagnosztikai használatra
	Sarzsorszám
	Katalógusszám
	Globális kereskedelmi áruazonosító szám
	Lejárat dátum
	Hőmérséklet-korlátozás
	Lásd a használati útmutatót
	Tilos újrafelhasználni
	Napfénytől védve tartandó
	Anyagszám
Rn	Az R a Használati útmutató módosítását, az n pedig a módosítás számát jelöli

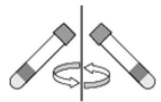
Kapcsolatfelvételi adatok

Műszaki segítségért vagy további információkért hívja az ingyenes 00800-22-44-6000 számot, keresse fel műszaki ügyfélszolgálati központunkat a **www.qiagen.com/contact** webhelyen, vagy forduljon az egyik QIAGEN ügyfélszolgálati osztályhoz (lásd a hátsó borítón, vagy látogassa meg a **www.qiagen.com** webhelyet).

Rövidített teszteljárás

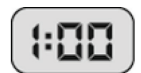
1. fázis – a vér inkubálása

1. Vegye le a betegtől a vért a vérvételi csövekbe, és rázza fel a csöveket tíz (10) alkalommal kellő erővel ahhoz, hogy a csövek teljes belső felszínére jusson vér. Így feloldja a cső belső falán lévő antigéneket.
2. A csöveket álló helyzetben inkubálja $37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ -on 16–24 órán keresztül.
3. Inkubálás után centrifugálja a csöveket 15 percig $2000\text{--}3000 \times g$ RCF (g) fordulatszámon, hogy a plazma és a vörösvértestek elváljanak.
4. A centrifugálás és az elválasztás között kerülni kell a plazma felkeverését a pipetta fel-le mozgásával vagy bármilyen más módon. A teljes eljárás során meg kell őrizni a gélfelület sértetlenségét.



2. fázis – IFN- γ ELISA

1. Legalább 60 percen keresztül engedje, hogy az ELISA összetevői a konjugátum $100\times$ koncentrátum kivételével felvegyék a szobahőmérsékletet ($22 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$).
2. Rehidratálja a kitben található standardot $8,0 \text{ IU/ml}$ koncentrációra desztillált vagy ioncserélt vízzel. Készítsen négy (4) hígítást a standardból.



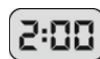
3. Rehidratálja a fagyasztva szárított konjugátum 100× koncentrátumot desztillált vagy ioncserélt vízzel.

4. Hígítsa készre a konjugátumot a zöld hígítóval, majd mérjen belőle 50 µl mennyiséget minden tesztlyukba.

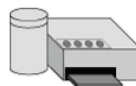


5. Pipetázzon 50 µl tesztplazmamintát és 50 µl standardot a megfelelő tesztlyukakba. Keverje fel rázógéppel.

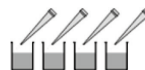
6. Inkubálja 120 ± 5 percig szobahőmérsékleten.



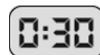
7. Mossa a cellákat legalább 6 alkalommal, tesztlyukanként 400 µl mosópufferrel.



8. Mérjen 100 µl enzimszubsztrátoldatot a tesztlyukakba. Keverje fel rázógéppel.



9. Inkubálja 30 percig szobahőmérsékleten.



10. Mérjen 50 µl enzimeállító oldatot minden tesztlyukba. Keverje fel rázógéppel.



11. Olvassa be az eredményeket 450 nm-en 620–650 nm-es referenciaszűrővel.



12. Elemezze az eredményeket.



Jelentős módosítások

Fejezet	Oldal	Módosítás(ok)
Különféle	Különféle	A lítium-heparinos vagy nátrium-heparinos tesztcső használatára vonatkozó instrukciók hozzáadva
Különféle	Különféle	A 2–8 °C-os vérvételi munkafolyamatra vonatkozó instrukciók hozzáadva
Különféle	Különféle	A lemezfedél mostantól olyan elem, amely szükséges, de nem része a kitenek

A kézikönyv átdolgozási előzményei

Dokumentum	Módosítások
R6 04/2019	Lítium-heparin/nátrium-heparin változások Új műveleti instrukciók a 2–8 °C-os vérvételi munkafolyamathoz A lemezfedelek eltávolítva a QF-lemezek mellől

Védjegyek: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (QIAGEN Csoport); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProCin® (Rohm and Haas Co.).

A QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA korlátozott licencszerződése

A termék használatával a termék vásárlója vagy felhasználója elfogadja a következő feltételeket:

1. A terméket kizárólag a hozzá tartozó protokollok és a jelen terméktájékoztató szerint, valamint a kithoz tartozó komponensekkel együtt szabad használni. A QIAGEN egyetlen szellemi terméke esetén sem engedélyezi, hogy a jelen panelhez mellékelt összetevőket bármely, a kithoz nem tartozó összetevővel együtt használják, kivéve a termékhez mellékelt protokollok, illetve a jelen terméktájékoztatóban leírtak szerint.
2. Az itt leírt licenccen kívül a QIAGEN nem vállal garanciát arra, hogy ez a panel és/vagy ennek használata nem sérti harmadik felek jogait.
3. Ha a QIAGEN másképp nem rendelkezik, akkor a kitre és összetevőire egyszeri használatra szóló engedély vonatkozik, és tilos újrafelhasználni, felújítani vagy ismét eladni.
4. A QIAGEN az itt leírtakon kívül kifejezetten kizár minden más konkrét vagy vélelmezett jogot.
5. A kit vásárlója és felhasználója elfogadja, hogy semmilyen olyan lépést nem tesz, és másnak sem engedélyezi semmilyen olyan lépés megtételét, amely a fentiekben előírtak megszegéséhez vezet vagy azt elősegíti. A QIAGEN jogosult a jelen korlátozott licencszerződésben foglalt tilalmak bármely bíróságon kereszttüli érvényesítésére és az azzal kapcsolatban felmerülő összes vizsgálati és perköltség követelésére, beleértve a korlátozott licencre vonatkozó jelen szerződés vagy a kittel és/vagy komponenseivel kapcsolatos bármilyen szellemi tulajdonjog érvényesítése céljából indított peres eljárás ügyvédi költségeit.

A legújabb licencfeltételekről a www.qiagen.com oldalon tájékozódhat.

© 2019 QIAGEN, minden jog fenntartva.

www.QuantiFERON.com

Ázsia és a Csendes-óceáni régió | techservice-ap@qiagen.com

Európa | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Közél-Kelet és Afrika | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Latin-Amerika (Brazília és Mexikó kivételével) | techservice-latam@qiagen.com

Megjegyzések

Megjegyzések

