

# ***QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold***

***(„In-Tube“ (= stobriņu) metode)***

**IFN-gamma tests pilnas asins analīzes veikšanai,  
lai izmērītu reakciju uz peptīdu antigēniem  
ESAT-6, CFP-10 un TB7.7(p.4)**

INFORMĀCIJAS LAPA

*In vitro* diagnostika

**cellestis**

## SATURA RĀDĪTĀJS

1. IZMANTOŠANAS NOLŪKS .....	2
2. APKOPOJUMS UN PASKAIDROJUMI ATTIECĪBĀ UZ TESTU .....	2
Testa princips .....	3
Testa ilgums .....	3
3. REAĢENTI UN UZGLABĀŠANA .....	4
Nepieciešamie materiāli, kas nav ietverti sūtījumā .....	4
Glabāšana .....	5
Asins analīžu stobriņi .....	5
Komplektā ietvertie reaģenti .....	5
Rekonstituēti reaģenti un reaģenti, kas nav nepieciešami .....	5
4. DROŠĪBAS PASĀKUMI UN BRĪDINĀJUMA NORĀDES .....	6
Drošības pasākumi .....	6
Brīdinājuma norādes .....	7
5. ANALĪŽU ŅEMŠANA UN APSTRĀDE .....	8
6. LIETOŠANAS NORĀDES .....	9
1. solis: Asins parauga inkubācija un plazmas atdalīšana .....	9
2. solis: Cilvēka IFN- $\gamma$ noteikšana ar ELISA .....	10
7. APRĒĶINI UN REZULTĀTU INTERPRETĀCIJA .....	13
Standarta līknes aprēķināšana .....	13
Kvalitātes kontrole .....	14
Rezultātu interpretācija .....	15
8. METODES IEROBEŽOJUMI .....	19
9. REZULTĀTU RAKSTUROJUMS .....	19
10. TEHNISKĀ INFORMĀCIJA .....	21
Neviennozīmīgi rezultāti .....	21
Sarecējuši plazmas paraugi .....	21
ELISA problēmu risinājumi .....	22
Nespecifiska krāsu reakcija .....	22
Zemas OB vērtības standartiem .....	22
Spēcīgs aizmugures fona krāsojums .....	23
Nelineāra standarta līkne un novirzes starp abiem dubultparaugiem .....	23
11. BIBLIOGRĀFIJA .....	24
12. TEHNISKAIS SERVISS .....	255
13. TESTA METODES PROCEDŪRA (ĪSĀ FORMA) .....	266

## 1. IZMANTOŠANAS NOLŪKS

QuantiFERON®-TB Gold In-Tube (IT) ir tests, ko izmanto *in vitro* diagnostikā un kas satur peptīdu kokteili, kuri simulē proteīnus ESAT-6, CFP-10 un TB7.7(p4), kā arī stimulē šūnas pilnajās heparinizētajās asinīs. Interferona- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) atklāšana ar ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) metodes palīdzību kalpo *in vitro* reakcijas atpazīšanai uz peptīdu antigēniem, kuru klātbūtne novērojama, ja notikusi inficēšanās ar *Mycobacterium tuberculosis*.

QuantiFERON®-TB Gold IT ir netiešs tests *M. tuberculosis* infekcijas (ieskaitot arī aktīvo saslimšanu) diagnosticēšanai. Testa rezultāti izvērtējami, ņemot vērā riska pakāpi, rentgena, kā arī citus medicīniskos un diagnostiskos izmeklējumus.

## 2. APKOPOJUMS UN PASKAIDROJUMI ATTIECĪBĀ UZ TESTU

Tuberkuloze (Tb) ir lipīga slimība, kas tiek izraisīta, inficējoties ar *M. tuberculosis* kompleksa organismiem (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*). Inficēšanās, nonākot saskarsmē ar personām, kas slimo ar elpošanas ceļu Tb, notiek pilienu infekcijas veidā. Pacientiem, kas no jauna inficējušies ar Tb, slimības simptomi var parādīties pēc vairākām nedēļām un mēnešiem, taču lielākajai daļai inficēto personu neparādās nekādas sūdzības. Dažos gadījumos persistē latentā tuberkulozes infekcija (LTBI), kas ir nelipīga rakstura saslimšana ar asimptomātisku gaitu un kuras simptomi parādās tikai pēc vairākiem mēnešiem vai pat gadiem. LTBI atklāšanas galvenais mērķis ir dot iespēju veikt profilaktiskus pasākumus, lai novērstu saslimšanu ar Tb. Vēl pirms neilga laika tuberkulīna ādas raudze (tuberculin skin test, TST) bija vienīgā praksē pielietojamā metode LTBI diagnosticēšanai. Kutāno reakciju uz tuberkulīnu iespējams pārbaudīt tikai 2 līdz 10 nedēļas pēc inficēšanās. Taču dažas inficētās personas nereaģē uz tuberkulīnu, tai skaitā, piemēram, pacienti ar imūnreakcijas traucējumiem, kas radušies citu saslimšanu rezultātā, bet arī pacienti, kuriem nav šādu traucējumu. Tieši otrādi, daži pacienti, kuri diez vai ir inficējušies ar *M. tuberculosis*, reaģē uz tuberkulīnu un tādējādi uzrāda pozitīvu tuberkulīna ādas raudzes rezultātu, piemēram, pēc *Bacillus Calmette-Guérin* (BCG) vakcīnas, pēc inficēšanās ar citām mikobaktērijām, kas nav pieskaitāmas *M. tuberculosis* kompleksam, vai arī citu nezināmu faktoru dēļ.

LTBI ir jāatšķir no saslimšanas ar Tb, par kuru ir jāziņo attiecīgajām iestādēm un kas parasti aptver plaušas un apakšējos elpošanas ceļus; bez tam var tikt ietekmētas arī citas orgānu sistēmas. Saslimšana ar Tb tiek diagnosticēta, pamatojoties uz pacienta vēsturi, kā arī fizisko, radioloģisko, histoloģisko un mikobakterioloģisko izmeklējumu rezultātiem.

QuantiFERON®-TB Gold IT tests mēra šūnu uzrādīto imūnreakciju (CMI) uz peptīdu antigēniem, kuri simulē mikobaktēriālos proteīnus. Šo proteīnu (ESAT-6, CFP-10 un TB7.7(p4)) nav nevienā no BCG-štammiem, kā arī lielākajā daļā netuberkulozo mikobaktēriju, izņemot *M. kansasii*, *M. szulgai* un *M. marinum*.<sup>1</sup> Attiecībā uz personām, kas inficējušās ar *M. tuberculosis* kompleksa organismiem (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*), parasti asinīs atrodami limfocīti, kas atpazīst šos un citus mikobaktēriālos antigēnus. Šī atpazīšanas procesa rezultātā notiek citokīna IFN- $\gamma$  ražošana un sekrēcija. IFN- $\gamma$  atklāšana un sekojošā kvantificēšana ir šī testa pamats.

QuantiFERON®-TB Gold IT testa ietvaros izmantotie antigēni ir peptīdu kokteilis, kas simulē proteīnus ESAT-6, CFP-10 un TB7.7(p4). Daudzu pētījumu rezultāti rāda, ka šie peptīdu antigēni stimulē IFN- $\gamma$  reakciju to personu T-šūnās, kas inficētas ar *M. tuberculosis*, bet ne to personu T-šūnās, kas nav inficētas vai kas ir saņēmušas BCG vakcīnu un kas neslimo ar Tb, kā arī nav pakļautas LTBI riskam.<sup>1-32</sup> Taču IFN- $\gamma$  reakcija var tikt potenciāli samazināta medicīniskās ārstēšanas vai dažādu saslimšanu rezultātā, kas iespaido imūnfunkcijas. Arī pacienti, kas slimo ar citām mikobaktēriālām infekcijām, var uzrādīt reakciju uz ESAT-6, CFP-10 un TB7.7(p4), jo šos proteīnus kodējošie gēni atrodami *M. kansasii*, *M. szulgai* un *M. marinum*.<sup>1,23</sup> Tādējādi ar QuantiFERON®-TB Gold IT testa palīdzību var noteikt, vai saslimušie pacienti inficējušies ar *M. tuberculosis* kompleksu. Pozitīva testa iznākuma rezultātā tiek atbalstīta diagnoze par saslimšanu ar Tb; taču šādu rezultātu var izraisīt arī citas mikobaktērijas (piem., *M. kansasii*). Lai apstiprinātu vai izslēgtu saslimšanas ar Tb varbūtību, ir nepieciešami papildus medicīniski un diagnostiski izmeklējumi.

## **Testa princips**

QuantiFERON®-TB Gold IT sistēma satur speciālus asins analīžu stobriņus, kuros tiek ņemtas pilnās asins analīzes. Sekojošā asins paraugu inkubācija stobriņā ilgst 16 līdz 24 stundas. Pēc tam tiek atdalīta plazma un tiek pārbaudīts, vai tajā atrodams IFN- $\gamma$ , kas tika saražots kā reakcija uz peptīdu antigēniem.

QuantiFERON®-TB Gold IT testu veic divos soļos. 1. solī tiek ņemta pilna asins analīze dažādos QuantiFERON®-TB Gold asins analīzes stobriņos. Pie tiem pieder nulles kontroles, Tb antigēna kontroles un kā opcija – mitogēna kontroles stobriņi.

Mitogēna kontroles stobriņu QuantiFERON®-TB Gold IT testa ietvaros var izmantot kā pozitīvu kontroli. It īpaši to ieteicams izmantot, ja nav skaidrības par pacienta imūnstatusu. Mitogēna kontroles stobriņu var izmantot arī, lai pārbaudītu, vai tikusi pareizi veikta asins paraugu apstrāde un inkubācija.

Stobriņš pēc iespējas drīz, taču ne vēlāk kā 16 stundu laikā pēc asins analīzes paņemšanas, jāinkubē 37°C temperatūrā. Pēc 16 līdz 24 stundu inkubācijas stobriņi tiek centrifugēti. Tad tiek atdalīta plazma un ar ELISA metodes palīdzību tiek noteikts IFN- $\gamma$  daudzums (uz i.v./ml).

Tests tiek uzskatīts par pozitīvu, ja IFN- $\gamma$  reakcija uz Tb antigēna stobriņu signifikanti pārsniedz nulles kontroles vērtību (IFN- $\gamma$  uz i.v./ml). Ja tiek izmantots mitogēna stobriņš, mitogēna stimulētais plazmas paraugs kalpo kā pozitīva IFN- $\gamma$  kontrole attiecībā uz jebkuru testēto paraugu. Neliela reakcija uz mitogēnu (< 0,5 i.v./ml) tiek uzskatīta par neviennozīmīgu rezultātu, ja asins paraugs uzrāda negatīvu reakciju arī uz Tb antigēnu. Šādu rezultātu var izraisīt nepietiekams limfocītu skaits, samazināta limfocītu aktivitāte, kas radusies nepareizas parauga apstrādes, nepareizas mitogēna stobriņa uzpildīšanas vai nepareiza maisījuma rezultātā, vai arī tad, ja pacienta limfocīti nav spējīgi ražot IFN- $\gamma$ . Ar nulles kontroles palīdzību var veikt korektūru attiecībā uz nespecifiskām aizmugures fona reakcijām, heterofiliem antivielu efektiem<sup>7</sup>, kā arī nespecifiskiem IFN- $\gamma$  asins paraugiem. Nulles kontroles stobriņa IFN- $\gamma$  vērtība tiek atņemta no Tb antigēna un mitogēna kontroles stobriņa (ja tāds tika izmantots) IFN- $\gamma$  vērtības.

## **Testa ilgums**

Zemāk atrodamas norādes attiecībā uz aptuveno QuantiFERON®-TB Gold IT testa ilgumu, kā arī attiecībā uz laiku, kas nepieciešams, lai testētu vairākus paraugus kopā.

Paraugu stobriņu inkubācija 37 °C temperatūrā: 16 - 24 stundas

ELISA:

apt. 3 stundas vienai ELISA platei

- < 1 st. darba laika
- plus 10 – 15 min. katrai papildus platei

### 3. REAGENTI UN UZGLABĀŠANA

#### Tuberkulozes un kontroles antigēna asins analīžu stobriņi

##### Pasūtījuma nr. 0590 0301

- |  |              |
|--|--------------|
| 1. Nulles kontroles stobriņi (ar pelēku vāciņu)    | 100 stobriņi |
| 2. Tb antigēna stobriņi (ar sarkanu vāciņu)        | 100 stobriņi |
| 3. Mitogēna kontroles stobriņi (ar violetu vāciņu) | 100 stobriņi |

*NORĀDE:* Stobriņus iespējams iegādāties arī šādā sastāvā:

*100 nulles kontroles stobriņi + 100 Tb antigēna stobriņi (pasūt. nr. 0590 0201)  
100 mitogēna kontroles stobriņi (pasūt. nr. 0593 0201)*

*pasūt. nr. 05900210: (garie stobriņi) 100 nulles kontroles stobriņi, 100 Tb antigēna stobriņi*

*pasūt. nr. 05900505: (garie stobriņi) 100 nulles kontroles stobriņi, 100 Tb antigēna un  
100 mitogēna kontroles stobriņi*

*pasūt. nr. T0593 0502: (garie stobriņi) 100 mitogēna kontroles stobriņi*

#### ELISA komplekta sastāvdaļas

##### Pasūt. nr. 0594 0201

- |  |                  |
|--|------------------|
| 1. Mikroplates plātnītes                         | 24 x 8 iedobītes |
| 2. Standarta cilvēka IFN- $\gamma$ , liofilizēts | 1 flakoniņš      |
| 3. Zaļš šķīdinātājs                              | 1 x 30 ml        |
| 4. Konjugāta 100x koncentrāts, liofilizēts       | 1 x 0,3 ml       |
| 5. Atskalošanas buferšķīduma 20x koncentrāts     | 1 x 100 ml       |
| 6. Enzīmu substrāta šķīdums                      | 1 x 30 ml        |
| 7. Enzīmu apturēšanas šķīdums                    | 1 x 15 ml        |

#### Nepieciešamie materiāli, kas nav ietverti sūtījumā

- 37°C inkubators; CO<sub>2</sub> nav nepieciešams
- Kalibrētas pipetes ar variablu tilpumu no 10  $\mu$ l līdz 1000  $\mu$ l ar vienreizējās lietošanas uzgaļiem
- Kalibrētas daudzkanālu pipetes ar tilpumu 50  $\mu$ l un 100  $\mu$ l ar vienreizējās lietošanas uzgaļiem
- Mikroplašu kratītājs
- Dejonizēts vai destilēts ūdens (2 litri)
- Ierīce mikroplašu atskalošanai (ieteicama automātiska ierīce)
- Mikroplašu lasītājs ar 450 nm filtru un 620 līdz 650 nm references filtru

## Glabāšana

### Asins analīžu stobriņi

- Uzglabājiet asins analīžu stobriņus 4 – 25°C temperatūrā.
- QuantiFERON®-TB Gold asins analīžu stobriņu uzglabāšanas ilgums ir 15 mēneši, sākot ar pasūtījuma datumu (uzglabājot 4 – 25°C temperatūrā).

### Komplektā ietvertie reaģenti

- Uzglabājiet komplektu 2 – 8°C temperatūrā.
- Vienmēr sargājiet enzīmu substrāta šķīdumu no tiešas saules staru ietekmes.
- QuantiFERON®-TB Gold IT ELISA komplekta uzglabāšanas ilgums ir 3 gadi, sākot ar pasūtījuma datumu (uzglabājot 2 – 8°C temperatūrā).

### Rekonstituēti reaģenti un reaģenti, kas nav nepieciešami

Norādes attiecībā uz komplektā ietvērto reaģentu rekonstitūciju skat. 6. nodaļā zem virsraksta „Reaģentu sagatavošana“.

- Rekonstituētā standarta komplekta uzglabāšanas ilgums, uzglabājot 2 – 8°C temperatūrā, ir trīs mēneši.
  - *Pierakstiet standarta komplekta rekonstitūcijas datumu.*
- 100x koncentrātu, kas palicis pāri pēc rekonstitūcijas, jāuzglabā 2 – 8°C temperatūrā un jāizlieto triju mēnešu laikā.
  - *Pierakstiet konjugāta rekonstitūcijas datumu.*
- Lietošanai sagatavoto konjugātu jāizlieto 6 stundu laikā pēc tā sagatavošanas.
- Lietošanai sagatavoto atskalošanas buferšķīdumu drīkst uzglabāt istabas temperatūrā ne ilgāk kā par divām nedēļām.

## 4. DROŠĪBAS PASĀKUMI UN BRĪDINĀJUMA NORĀDES

### Drošības pasākumi

- Negatīvs QuantiFERON®-TB Gold IT testa rezultāts neizslēdz iespēju, ka pastāv infekcija ar *M. tuberculosis* vai saslimšana ar Tb; nepatiesi negatīvi rezultāti var tikt iegūti, ja tests veikts inficēšanās fāzē (piem., ja asins analīze tika paņemta pirms tam, kad attīstījusies šūnas imūnreakcija), ja pastāv imūnfunkcijas traucējumi, kas radušies citu saslimšanu rezultātā, ja stobriņi nepareizi apstrādāti pēc tam, kad paņemta asins analīze, ja tests veikts nepareizi vai arī ja pastāv citas mainīgas imunoloģiskas vērtības.
- Pozitīvs QuantiFERON®-TB Gold IT testa rezultāts nedrīkst būt vienīgais, uz kura pamata tiek izdarīts secinājums par to, vai pastāv inficēšanās ar *M. tuberculosis*; ja tests veikts nepareizi, tas var uzrādīt nepatiesu pozitīvu rezultātu.
- Pozitīvu QuantiFERON®-TB Gold IT testa rezultātu jāpārbauda ar papildus medicīnisku un diagnostisku izmeklējumu palīdzību; tikai tad iespējams noteikt, vai pastāv aktīva saslimšana ar Tb (piem., ar AFB uztriepes un kultūras, kā arī krūšu kurvja rentgena izmeklējumu palīdzību).
- Kaut gan ESAT-6, CFP-10 un TB7.7(p4) nav atrodami BCG štammos un lielākajā daļā pazīstamo netuberkuloza rakstura mikobaktēriju, pozitīvs QuantiFERON®-TB Gold IT testa rezultāts var norādīt uz to, ka notikusi inficēšanās ar *M. kansasii*, *M. szulgai* vai *M. marinum*. Ja ir aizdomas, ka pastāv šāda infekcija, jāizmanto alternatīvās testa metodes.

## Brīdinājuma norādes

- **Paredzēts izmantošanai tikai *in vitro* diagnostikā.**
- **Uzmanību: Enzīmu substrāta šķīdums satur 3,3',5,5'-tetrametilbenzidīnu**, kas ir bīstams veselībai, to norijot, ieelpojot vai arī tam nonākot saskarsmē ar ādu. Kairina ādu un acis. Mutagēna iedarbība. Vēlams lietot aizsargbrilles un laboratorijas cimdus un apieties ar šķīdumu kā ar potenciālu karcinogēnu.
- **Uzmanību: Enzīmu apturēšanas šķīdums satur H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>**, kas ir bīstams veselībai, to norijot, ieelpojot vai arī tam nonākot saskarsmē ar acīm un ādu. Vēlams lietot aizsargbrilles, laboratorijas cimdus un laboratorijas aizsargapģērbu. Pie apturēšanas šķīduma nejaušas saskarsmes ar ādu vai acīm, pamatīgi izskalot ar lielu daudzumu ūdens un uzmeklēt ārstu.
- **Uzmanību: Standarta IFN-γ un konjugāta 100x koncentrāts**, to nejauši norijot, var izraisīt sūdzības, un nonākot saskarsmē ar ādu, var izraisīt ādas kairinājumu. Vēlams lietot laboratorijas cimdus un laboratorijas aizsargapģērbu.
- **Cilvēka asins paraugus vēlams vienmēr uzskatīt par potenciāli infekcioziem!** Rīkojieties atbilstoši attiecīgajām direktīvām par asins paraugu apstrādi.
- Daži reaģenti satur **timerosālu** (thimerosal) kā konservantu. Timerosālam var būt indīga iedarbība, to norijot, ieelpojot vai tam nonākot saskarsmē ar ādu.
- **Zaļais šķīdinātājs** satur normālu peļu serumu un kazeīnu; šīs vielas var izraisīt alerģiskas reakcijas. Tādēļ pēc iespējas nepieļaut saskarsmi ar ādu.
- Pielikumā aprakstīto metožu un instrukciju neievērošana var izraisīt kļūdainus rezultātus. Lūdzu, pirms izmantošanas rūpīgi izlasiet norādes attiecībā uz testu.
- Komplektu nedrīkst izmantot, ja pirms lietošanas ir sabojāti vai nav blīvi viens vai vairāki reaģentu flakoniņi.
- Šinī komplektā iekļautās sastāvdaļas nedrīkst izmantot kopā ar ELISA reaģentiem no citiem QuantiFERON®-TB Gold IT komplektiem.
- Utilizējiet nevajadzīgos reaģentus un bioloģiskos paraugus atbilstoši vietējām un nacionālajām prasībām.
- Pēc derīguma termiņa izbeigšanās asins analīžu stobriņus un ELISA komplekta sastāvdaļas izmantot aizliegts.

## 5. ANALĪŽU ŅEMŠANA UN APSTRĀDE

QuantiFERON®-TB Gold IT tests satur sekojošos asins analīžu stobriņus:

1. nulles kontroles (pelēks vāciņš un baltu riņķi) (izmanto līdz 810 m virs jūras līmeņa)
2. Tb specifisko antigēnu (sarkans vāciņš ar baltu riņķi) (izmanto līdz 810 m virs jūras līmeņa)
3. mitogēna kontroles– kā opciju (violets vāciņš ar baltu riņķi) (izmanto līdz 810 m virs jūras līmeņa)
4. nulles kontroles (pelēks vāciņš ar dzeltenu riņķi) (izmanto no 1020 m līdz 1875 m)
5. Tb specifisko antigēnu (sarkans vāciņš ar dzeltenu riņķi) (izmanto no 1020 m līdz 1875 m)
6. mitogēna kontroles– kā opciju (violets vāciņš ar dzeltenu riņķi) (izmanto no 1020 m līdz 1875 m)

Žāvēti antigēni atrodas uz asins analīzes stobriņu iekšējās sienīgas pārklājuma. Tādēļ asins paraugs rūpīgi jā sajauc ar stobriņa saturu. Pēc tam stobriņi pēc iespējas drīz, taču ne vēlāk kā 16 stundas pēc asins parauga paņemšanas, jāinkubē (37°C).

Optimāli rezultāti iespējami, ja tiek ievērotas sekojošās norādes:

1. Katrā QuantiFERON®-TB Gold IT asins analīzes stobriņā no katra pacienta jāpaņem 1 ml venozo asiņu.

- Standarta QuantiFERON® asins analīžu stobriņus ieteicams lietot apvidos, kas atrodas līdz 810 m. Apvidos, kas atrodas augstāk par 1020 m, izmantojami speciālie QuantiFERON® asins analīžu stobriņi, kas paredzēti izmantošanai lielā augstumā (HA).

*Ja QuantiFERON® asins analīžu stobriņus izmanto apvidos, kas atrodas ārpus minētajiem augstumiem, vai arī ja noņemtais asiņu daudzums ir pārāk mazs, asins paraugu var noņemt šļircē un ik pa 1 ml pārliet katrā no trim stobriņiem. Drošības nolūkos sākumā noņem šļircē adatu, nodrošina nepieciešamos drošības pasākumus, noņem vāciņus no trim QuantiFERON® asins analīžu stobriņiem un pārlej tajos ik pa 1 ml asiņu (līdz melnajam marķējumam uz stobriņa). Pēc tam stobriņus uzmanīgi aizvāko un asins paraugu rūpīgi sajauc, kā aprakstīts zemāk.*

- Tā kā 1 ml stobriņi uzņem asinis diezgan lēni, stobriņu pēc tam, kad šķiet, ka uzpildīšanas augstums sasniegts, ieteicams paturēt vēl 2 – 3 sekundes uz adatas. Tādējādi tiek nodrošināts, ka tiek paņemts nepieciešamais asiņu daudzums.

*Ar melnā marķējuma palīdzību uz stobriņa var noteikt, kad sasniegts 1 ml tilpums. QuantiFERON®-TB Gold asins analīžu stobriņi validēti tilpumam no 0,8 līdz 1,2 ml. Ja asins parauga ņemšanas rezultātā indikatora līnija netiek sasniegta, ieteicams paņemt jaunu asins paraugu.*

- Ja asins parauga ņemšanai tiek izmantota tauriņadata, tad ar tukša stobriņa palīdzību jānodrošina, lai būtu piepildīta tauriņadatai pievienotā caurulīte, pirms tiek uzlikts QuantiFERON®-TB Gold stobriņš.

2. Sajauciet asinis ar stobriņa saturu, **5 sekundes ilgi kratot stobriņu** (vai 10x sakratot stobriņu). Pārbaudiet, vai **visa stobriņa iekšējā sienīga** ir pārklāta ar asinīm.

- Rūpīga satura sajaukšana ir svarīga, lai stobriņa saturs pilnībā tiktu sajaukts ar asins paraugu.
- Kratot stobriņu, iespējams parādīsies putas. Taču tās neietekmē testa rezultātus un tādēļ nav iemesla uztraukumam.

3. Uz stobriņiem jābūt attiecīgām uzlīmēm.

4. Stobriņi pēc iespējas drīz, taču ne vēlāk kā 16 stundas pēc asins parauga paņemšanas, jāinkubē 37°C temperatūrā. Asins paraugus nedrīkst uzglabāt ledusskapī vai saldētavā.

## 6. LIETOŠANAS NORĀDES

### **1. solis: Asins parauga inkubācija un plazmas atdalīšana**

#### **Sūtījumā ietvertie materiāli**

QuantiFERON®-TB Gold IT asins analīžu stobriņi (skat. 3. nodaļu).

#### **Nepieciešamie materiāli, kas nav ietverti sūtījumā**

skat. 3. nodaļu

#### **Metodes procedūra**

1. Ja asins paraugi netiek inkubēti uzreiz pēc to paņemšanas, **stobriņu saturs tieši pirms inkubācijas no jauna jāsamaisa jeb stobriņi jāsakrata**, kā aprakstīts 5. nodaļā.
2. Inkubējiet stobriņus **STĀVUS** 16 līdz 24 stundas 37°C temperatūrā. CO<sub>2</sub> vai mitrināšana nav nepieciešama.
3. Pirms centrifugēšanas asins analīžu stobriņi var tikt uzglabāti līdz 3 diennaktīm 2 – 27°C temperatūrā.
4. Lai būtu vieglāk atdalīt plazmu, stobriņus pēc inkubācijas 37°C temperatūrā 5 – 15 minūtes centrifugē ar 1500 – 2200 RCF (g). Tā rezultātā asins ķermenīši tiek atdalīti no plazmas. Ja tas nenotiek, stobriņi atkārtoti jācentrifugē ar lielāku ātrumu.
  - Plazmu var atdalīt arī bez centrifugēšanas, taču šādā gadījumā jārikojas ļoti uzmanīgi, lai plazmas atdalīšanas laikā neuzvirpuļotu asins ķermenīšus.
5. Plazmas paraugi var tikt pārlieti tieši no asins analīžu stobriņiem QuantiFERON®-TB Gold ELISA platē, it īpaši, ja tiek izmantota ELISA automātiskā ierīce.
6. Alternatīva iespēja ir uzglabāt plazmas paraugus pirms to apstrādes ar ELISA vai nu tieši centrifugētajos stobriņos, vai arī pārliet tos plazmas uzglabāšanas tvertnēs. Piemēram, >150 µl plazmas var tikt pārlieti mikroplates iedobītēs vai mikrocaurulītēs, kas ievietotas statīvā un kam ir 96 iedobīšu formāts. Pie tam tvertnes jāpārklāj tā, lai to saturs nevarētu nedz izlīst, nedz iztvaikot.
  - 2 – 8°C temperatūrā plazmas paraugus var uzglabāt līdz 4 nedēļām; ja uzglabāšanas temperatūra ir zemāka par –20°C (taču ieteicams augstāka par –70°C), uzglabāšanas laiks paildzinās.

## 2. solis: Cilvēka IFN- $\gamma$ noteikšana ar ELISA

### Sūtījumā ietvertie materiāli

QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold ELISA komplekts (skat. 3. nodaļu).

### Nepieciešamie materiāli, kas nav ietverti sūtījumā

skat. 3. nodaļu.

### Metodes procedūra

1. Visi plazmas paraugi un reaģenti, izņemot konjugāta 100x koncentrātu, pirms lietošanas jāsasilda līdz istabas temperatūrai ( $22 \pm 5^{\circ}\text{C}$ ). Tam nepieciešamas vismaz 60 minūtes.
2. Izņemiet plātnītes, kas netiek izmantotas, no rāmja, ielieciet tās atpakaļ iepakojumā un uzglabājiet tās līdz lietošanai ledusskapī.  
Jāparedz vismaz viena plātnīte QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold standartiem un pietiekams skaits plātnīšu testējamajiem pacientiem (skat. attēlus 2A un 2B, ja tiek izmantoti 2 jeb 3 stobriņi). Pēc izmantošanas rāmi un vāciņu saglabājiet, lai varētu izmantot atlikušās plātnītes.
3. Rekonstituējiet liofilizēto standarta šķīdumu ar tādu dejonizētu vai destilētu ūdens daudzumu, kāds norādīts uz standarta flakonīna etiķetes. Uzmanīgi samaisiet flakonīna saturu (lai pēc iespējas samazinātu putu veidošanos) un pārbaudiet, vai saturs ir pilnībā izšķīdis. Rekonstituējot standarta šķīdumu, līdz tas sasniedzis norādīto tilpumu, tiek sagatavots šķīdums ar koncentrāciju 8,0 i.v./ml.

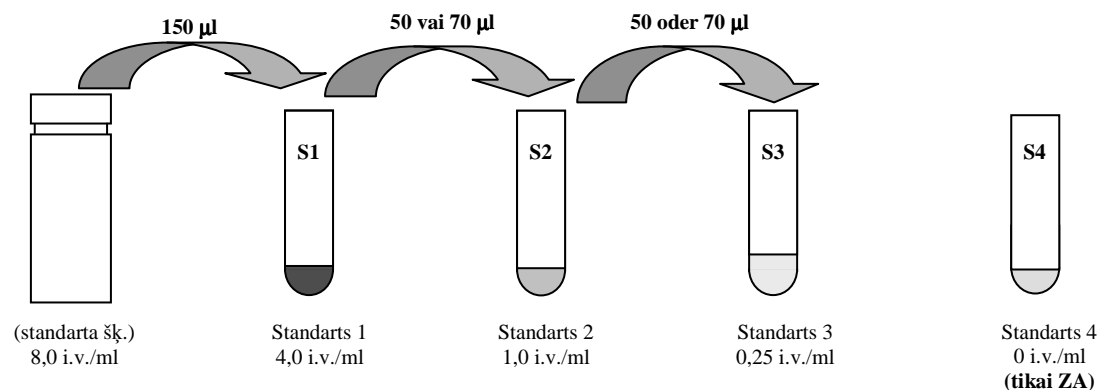
**Norāde: Dažādiem komplektiem novērojams atšķirīgs rekonstituētā standarta šķīduma tilpums!**

Izmantojiet rekonstituēto standarta šķīdumu, lai sagatavotu IFN- $\gamma$  un zaļā atšķaidītāja (ZA) šķīdumu ar attiecību 1:4 – skat. attēlu 1. S1 (standarts 1) satur 4 i.v./ml, S2 (standarts 2) satur 1 i.v./ml, S3 (standarts 3) satur 0,25 i.v./ml, un S4 (standarts 4) satur 0 i.v./ml (tikai ZA). Standarta šķīdumi jātestē vismaz divas reizes.

IETEICAMĀ METODE DUBULTAJAM STANDARTAM
a. Marķējiet 4 stobriņus kā „S1”, „S2”, „S3” un „S4”.
b. Ielejiet <b>150 <math>\mu\text{l}</math></b> ZA stobriņos S1, S2, S3, S4.
c. Ielejiet <b>150 <math>\mu\text{l}</math></b> standarta šķīduma stobriņā S1 un rūpīgi samaisiet tās saturu.
d. Pārlejiet <b>50 <math>\mu\text{l}</math></b> no S1 stobriņā S2 un rūpīgi samaisiet stobriņa saturu.
e. Pārlejiet <b>50 <math>\mu\text{l}</math></b> no S2 stobriņā S3 un rūpīgi samaisiet stobriņa saturu.
f. „ <b>Tikai ZA</b> ” kalpo kā nulles standarts (S4).

IETEICAMĀ METODE TRĪSKĀRŠAJAM STANDARTAM
a. Marķējiet 4 stobriņus kā „S1”, „S2”, „S3” un „S4”.
b. Ielejiet <b>150 <math>\mu\text{l}</math></b> ZA stobriņā S1.
c. Ielejiet <b>210 <math>\mu\text{l}</math></b> ZA stobriņos S2, S3, S4.
d. Ielejiet <b>150 <math>\mu\text{l}</math></b> standarta šķīduma stobriņā S1 un rūpīgi samaisiet stobriņa saturu.
e. Pārlejiet <b>70 <math>\mu\text{l}</math></b> no S1 stobriņā S2 un rūpīgi samaisiet stobriņa saturu.
f. Pārlejiet <b>70 <math>\mu\text{l}</math></b> no S2 stobriņā S3 un rūpīgi samaisiet stobriņa saturu.
g. „ <b>Tikai ZA</b> ” kalpo kā nulles standarts (S4).

### Attēls 1. Standarta liknes izstrādāšana



- Sagatavojiet katrai ELISA pārbaudei jaunu standarta šķīdumu.
4. Rekonstituējiet liofilizēto konjugāta 100x koncentrātu ar 0,3 ml dejonizēta vai destilēta ūdens. Uzmanīgi samaisiet flakoniņa saturu (lai pēc iespējas samazinātu putu veidošanos) un pārbaudiet, vai saturs ir pilnībā izšķīdis.

Lietošanai sagatavotais konjugāts tiek izgatavots, atšķaidot nepieciešamo rekonstituētā konjugāta 100x koncentrāta daudzumu ar zaļo atšķaidītāju saskaņā ar 1. tabulu (konjugāta sagatavošana).

**TABULA 1. Konjugāta sagatavošana**

Plātniņu skaits	Konjugāta 100x koncentrāta daudzums	Zaļā atšķaidītāja daudzums
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

- Pamatīgi, bet uzmanīgi samaisīt saturu; pēc iespējas novērst putu veidošanos.
  - Nevajadzīgo konjugāta 100x koncentrāta daudzumu tūlīt pēc izmantošanas novietot uzglabāšanai 2 – 8°C temperatūrā.
  - Atšķaidīšanai izmantot tikai zaļo atšķaidītāju.
5. Pirms testa veikšanas plazma jāsamaisa, lai IFN-γ vienmērīgi sadalītos pa visu paraugu.
  6. Ielejiet 50 μl svaigi sagatavotā, lietošanai gatavā konjugāta ar daudzkanālu pipetes palīdzību attiecīgajās ELISA iedobītēs.
  7. Ielejiet 50 μl no plazmas parauga ar daudzkanālu pipetes palīdzību attiecīgajās iedobītēs (skat. ieteicamo plates izmantošanas plānu attēlos 2A un 2B). Vispārīgi pievienojiet 50 μl no standartiem 1 līdz 4.

**Attēls 2A. Ieteicamais plātes izmantošanas plāns nulles kontroles un Tb antigēna stobriņiem (44 testi uz vienu plati)**

Rinda	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1N	5N	9N	13N	17N	S1	S1	25N	29N	33N	37N	41N
B	1A	5A	9A	13A	17A	S2	S2	25A	29A	33A	37A	41A
C	2N	6N	10N	14N	18N	S3	S3	26N	30N	34N	38N	42N
D	2A	6A	10A	14A	18A	S4	S4	26A	30A	34A	38A	42A
E	3N	7N	11N	15N	19N	21N	23N	27N	31N	35N	39N	43N
F	3A	7A	11A	15A	19A	21A	23A	27A	31A	35A	39A	43A
G	4N	8N	12N	16N	20N	22N	24N	28N	32N	36N	40N	44N
H	4A	8A	12A	16A	20A	22A	24A	28A	32A	36A	40A	44A

- S1 (standarts 1), S2 (standarts 2), S3 (standarts 3), S4 (standarts 4).
- 1N (paraugs nr. 1, plazma nulles kontrolei); 1A (paraugs nr. 1, plazma Tb antigēnam).

**Attēls 2B. Ieteicamais plātes izmantošanas plāns nulles kontroles, Tb antigēna un mitogēna stobriņiem (28 testi uz vienu plati)**

Rinda	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1N	1A	1M	S1	S1	S1	13N	13A	13M	21N	21A	21M
B	2N	2A	2M	S2	S2	S2	14N	14A	14M	22N	22A	22M
C	3N	3A	3M	S3	S3	S3	15N	15A	15M	23N	23A	23M
D	4N	4A	4M	S4	S4	S4	16N	16A	16M	24N	24A	24M
E	5N	5A	5M	9N	9A	9M	17N	17A	17M	25N	25A	25M
F	6N	6A	6M	10N	10A	10M	18N	18A	18M	26N	26A	26M
G	7N	7A	7M	11N	11A	11M	19N	19A	19M	27N	27A	27M
H	8N	8A	8M	12N	12A	12M	20N	20A	20M	28N	28A	28M

- S1 (standarts 1), S2 (standarts 2), S3 (standarts 3), S4 (standarts 4).
- 1N (paraugs nr. 1, plazma nulles kontrolei); 1A (paraugs nr. 1, plazma Tb antigēnam); 1M (paraugs nr. 1, plazma mitogēna kontrolei).

- Uzmanīgi samaisiet konjugātu un plazmas paraugus/standartus 1 minūti mikroplašu kratītājā.
- Katru plati pārklājiet un inkubējiet  $120 \pm 5$  minūtes istabas temperatūrā ( $22 \pm 5^\circ\text{C}$ ).
  - Inkubācijas laikā plātes jāšargā no tiešas saules staru iedarbības.
- Inkubācijas laikā atšķaidiet un uzmanīgi samaisiet 1 daļu atskalošanas buferšķīduma 20x koncentrāta ar 19 daļām dejonizēta vai destilēta ūdens. Sūtījumā ietverts pietiekams daudzums atskalošanas buferšķīduma 20x koncentrāta, lai varētu sagatavot 2 litrus lietošanai derīga atskalošanas buferšķīduma.
 

Atskalojiet iedobītes vismaz 6 reizes ar **400 μl** lietošanai derīga atskalošanas buferšķīduma. Ieteicams izmantot mikroplašu atskalošanai paredzētu mazgājamo mašīnu.

  - Uzmanīga atskalošana ir svarīga, lai iegūtu patiesus testa rezultātus. Katra atskalošanas cikla laikā pārbaudiet, vai visas iedobītes **pilnībā piepildītas līdz augšai ar atskalošanas buferšķīdumu**. Starp atskalošanas cikliem plātes ieteicams vismaz 5 sekundes iepriekš iemērcēt.
  - Notekošā atskalošanas šķīduma uzkrāšanas tvertnēs jāievada standarta laboratorijas dezinfekcijas līdzeklis. Bez tam jāievēro vietējās laboratorijas noteikumi attiecībā uz potenciāli infekcioza materiāla dekontamināciju.
- Noteciniet plātes ar iedobītēm uz leju uz papīra salvetes, lai atbrīvotu tās no atlikušā atskalošanas buferšķīduma. Pievienojiet 100 μl enzīmu substrāta šķīduma katrā iedobītē un sajauciet saturu, izmantojot mikroplašu kratītāju.

12. Katru plati pārklājiet un inkubējiet 30 min. istabas temperatūrā ( $22 \pm 5^{\circ}\text{C}$ ).
  - Inkubācijas laikā plates jāšargā no tiešas saules staru iedarbības.
13. Pēc 30 min. inkubācijas katrā iedobītē pievienojiet 50  $\mu\text{l}$  enzīmu apturēšanas šķidruma un sajauciet saturu.
  - Pievienojiet enzīmu apturēšanas šķidrumu tanī pašā rindas kārtībā un ar tādu pašu ātrumu, kādā tika pievienots substrāts (skat. 11. punktu).
14. Ar mikroplašu lāzera mērierīci, izmantojot 450 nm filtru un 620 līdz 650 nm references filtru, izmēriet optisko blīvumu (OB) katrā iedobītē 5 min. laikā pēc apturēšanas šķidruma pievienošanas. OB vērtības ir nepieciešamas rezultātu aprēķināšanai.

## 7. APRĒĶINI UN REZULTĀTU INTERPRETĀCIJA

Cellestis piedāvā speciālu QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold IT analīzes datorprogrammu, ar kuras palīdzību var izanalizēt iegūtos datus un aprēķināt rezultātus.

Datorprogrammas ietvaros tiek novērtēta testa kvalitātes kontrole, aprēķināta standarta līkne un katram pacientam aprēķināts rezultāts, kas pamatojas uz turpmāk aprakstīto interpretācijas metodi.

Alternatīvi QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold IT analīzes datorprogrammai rezultāti var tikt aprēķināti, izmantojot turpmāk aprakstīto metodi:

### **Standarta līknes aprēķināšana**

*(ja netiek izmantota QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold IT datorprogramma)*

Aprēķiniet standarta komplekta paraugu vidējo OB vērtību katrai platei.

Uzzīmējiet standarta  $\log_{(e)}$ - $\log_{(e)}$  līkni, izmantojot vidējo OB vērtību  $\log_{(e)}$  (y ass) un standarta IFN- $\gamma$  koncentrāciju  $\log_{(e)}$  uz i.v./ml (x ass), piekam nulles standarts, veicot šo aprēķinu, netiek ņemts vērā. Veicot regresijas analīzi, izstrādājiet līniju, kas vislabāk atbilst standarta līknei.

Izmantojiet standarta līkni, lai noteiktu IFN- $\gamma$  koncentrāciju (i.v./ml) katram testētajam plazmas paraugam, izmantojot katra parauga OB vērtību.

Lai veiktu aprēķinus, varat izmantot datorprogrammu paketes, kas tiek piedāvātas mikroplašu lāzera lasītājiem, kā arī standarta datoraprēķinu lapas vai statistikas programmas (kā piem., Microsoft Excel). Ieteicams izmantot šādas datorprogrammu paketes, lai veiktu regresijas analīzi, noteiktu standartu variācijas koeficientu (% VK), kā arī lai noteiktu standarta līknes korelācijas koeficientu (r).

## Kvalitātes kontrole

Testa rezultātu pareizība atkarīga no pareizas standarta līknes izstrādāšanas. Tādēļ, pirms testa rezultāti tiek interpretēti, no standartiem atvasinātie rezultāti ir jāpārbauda.

ELISA tests ir spēkā, ja izpildīti visi zemāk minētie kritēriji:

- **Vidējai standarta 1 OB vērtībai jābūt  $\geq 0,600$ .**
- **Standarta 1 un standarta 2 replicēto OB vērtību variācijas koeficientam (% VK) jābūt  $\leq 15\%$ .**
- **Replicētās standarta 3 un standarta 4 OB vērtības nedrīkst atšķirties par vairāk kā 0,040 OB vienībām no attiecīgās vidējās vērtības.**
- **Korelācijas koeficientam (r), kas aprēķināts, balstoties uz standartu vidējo absorbcijas vērtību, jābūt  $\geq 0,98$ .**

QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold IT analīzes datorprogramma aprēķina šos kvalitātes kontroles parametrus.

Ja augstāk minētie kritēriji netiek izpildīti, tests nav derīgs un ir jāatkārto.

- **Vidējai nulles standarta (zaļais šķīdums) OB vērtībai jābūt  $\leq 0,150$ . Ja vidējā OB vērtība ir  $> 0,150$ , ieteicams pārbaudīt plašu atskalošanas procedūru.**

## Rezultātu interpretācija

QuantiFERON®-TB Gold IT testa rezultāti interpretējami pēc sekojošiem kritērijiem:

**NORĀDE:** Lai diagnosticētu vai izslēgtu saslimšanas ar Tb varbūtību vai lai novērtētu inficēšanās ar LTBI varbūtību, jāveic gan epidemioloģiski, gan pacienta vēstures, gan medicīniski, gan diagnostiski izmeklējumi; visi šie izmeklējumi ņemami vērā, interpretējot QuantiFERON®-TB Gold IT testa rezultātus.

### JA TIEK IZMANTOTI TIKAI NULLES KONTROLES & TB ANTIGĒNA STOBRIŅI

<u>Nulles</u> [i.v./ml]	<u>Tb antigēna mīnus nulles</u> [i.v./ml]	QuantiFERON®-TB Gold IT rezultāts	Ziņojums/interpretācija
≤ 8,0	< 0,35	<b>negatīvs</b>	NEPASTĀV <i>M. tuberculosis</i> infekcijas varbūtība
	≥ 0,35 un < 25% par nulles kontr. vērtības		
	≥ 0,35 un ≥ 25% par nulles kontr. vērtības	<b>pozitīvs</b> <sup>1</sup>	pastāv <i>M. tuberculosis</i> infekcijas varbūtība
> 8,0 <sup>2</sup>	jebkurš	<b>neviennozīmīgs</b> <sup>3</sup>	Rezultāti attiecībā uz Tb antigēna reakciju nav viennozīmīgi

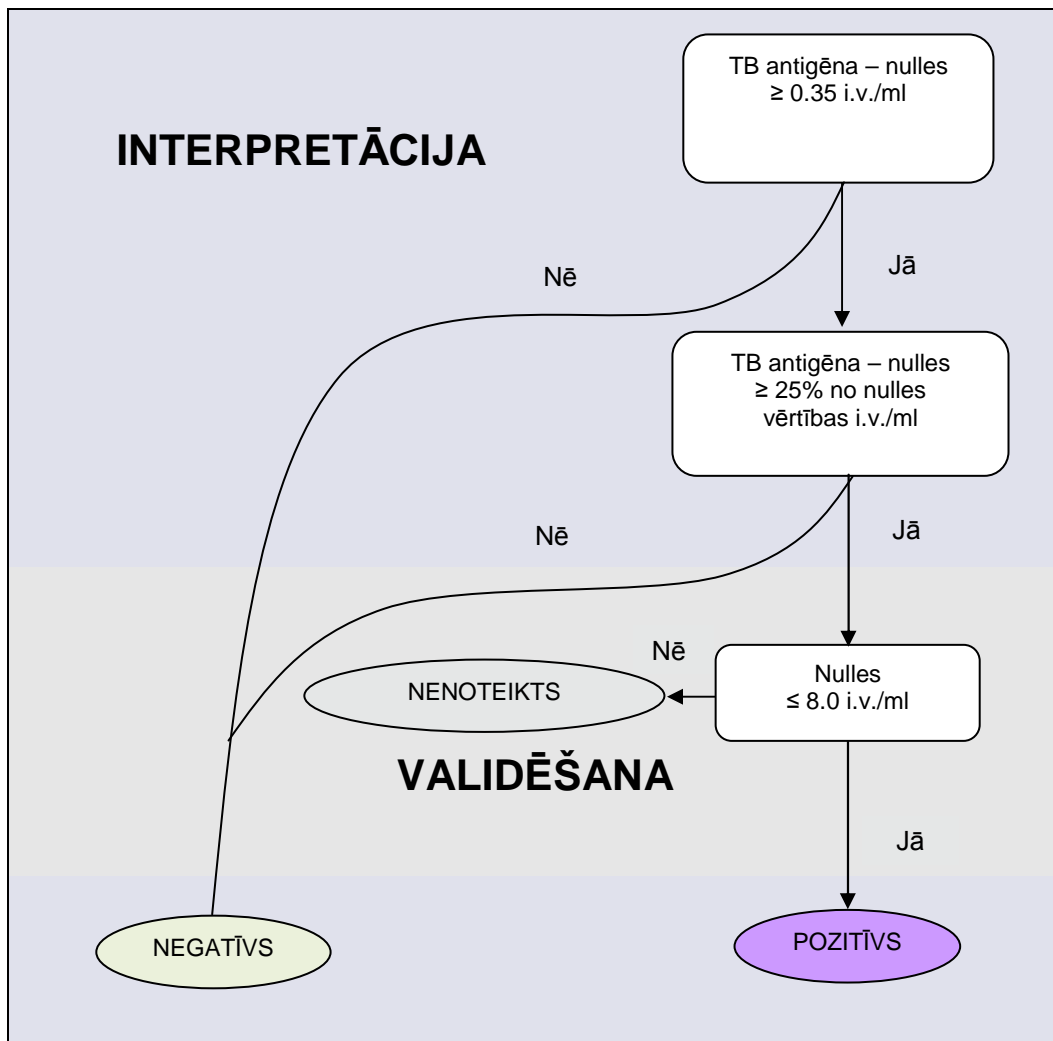
<sup>1</sup> Gadījumos, kad nepastāv aizdomas par infekciju ar *M. tuberculosis*, sākotnējie pozitīvie rezultāti var tikt apstiprināti ar atkārtotu divreizēju oriģinālo plazmas paraugu testēšanu ar QuantiFERON®-TB Gold ELISA. Ja atkārtotā testa rezultātā pirmajam vai otrajam paraugam tiek iegūts pozitīvs rezultāts, testa rezultāts uzskatāms par pozitīvu.

<sup>2</sup> Klīniskos pētījumos mazāk par 0,25 % dalībnieku uzrāda IFN-γ koncentrāciju > 8,0 i.v./ml attiecībā uz nulles kontroli.

<sup>3</sup> Iespējamus cēloņus skat. nodaļā „Problēmu risinājumi“.

Pamatojoties uz izmērītās IFN-γ koncentrācijas vērtību, nevar noteikt, kādu stadiju vai kādu grādu infekcija ir sasniegusi, kāds ir imūnatbildes spējas līmenis vai kāda ir varbūtība, ka infekcija pāries aktīvā saslimšanā.

Attēls 3. Interpretācijas diagramma, ja tiek izmantoti NULLES UN TB ANTIGĒNA STOBRIŅI



**JĀ TIEK IZMANTOTI NULLES, TB ANTIGĒNA UN MITOGĒNA KONTROLES STOBRIŅI**

<b>Nulles</b> <b>[i.v./ ml]</b>	<b>Tb antigēna mīnus nulles</b> <b>[i.v./ml]</b>	<b>Mitogēna mīnus</b> <b>nulles [i.v./ ml]<sup>1</sup></b>	<b>QuantiFERON®-Tb</b> <b>Gold IT rezultāts</b>	<b>Ziņojums/interpretācija</b>
≤ 8,0	< 0,35	≥ 0,5	<b>Negatīvs</b>	NEPASTĀV <i>M. Tuberculosis</i> infekcijas varbūtība
	≥ 0,35 un < 25% par nulles kontr. vērt.	≥ 0,5		
	≥ 0,35 un ≥ 25% par nulles kontr. vērt.	jebkurš	<b>pozitīvs<sup>2</sup></b>	pastāv <i>M. tuberculosis</i> infekcijas varbūtība
	< 0,35	< 0,5	<b>neviennozīmīgs<sup>3</sup></b>	Rezultāti attiecībā uz Tb antigēna reakciju nav viennozīmīgi
	≥ 0,35 un < 25% par nulles kontr. vērt.	< 0,5		
> 8,0 <sup>4</sup>	jebkurš	jebkurš		

<sup>1</sup> Reakcija uz pozitīvo mitogēna kontroli (un dažreiz arī uz Tb antigēnu) bieži atrodas ārpus mikroplates lasītāja robežvērtībām. Taču tam nav ietekmes uz testa rezultātiem.

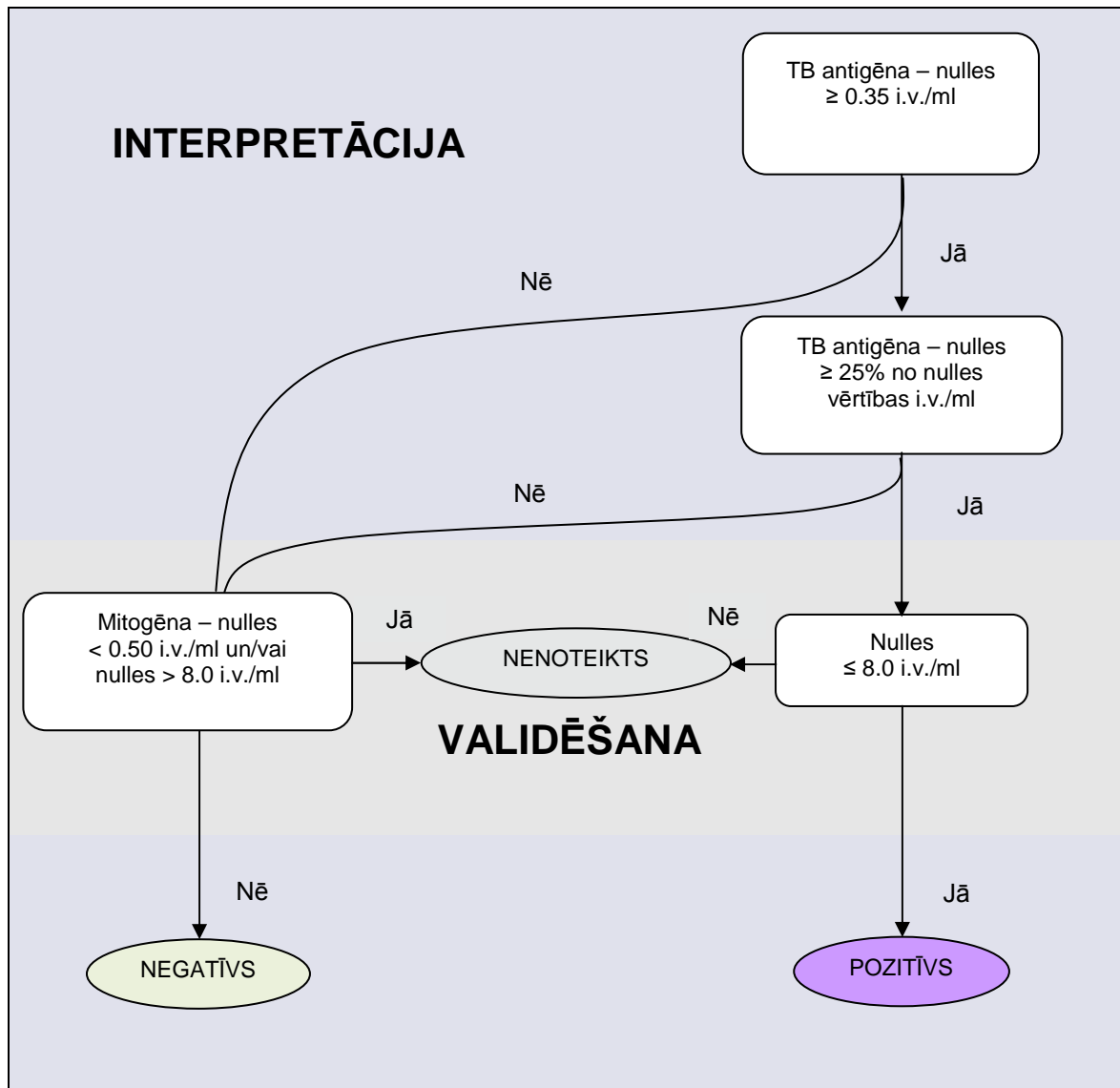
<sup>2</sup> Gadījumos, kad nepastāv aizdomas par *M. tuberculosis* infekciju, sākumā iegūtie pozitīvie rezultāti var tikt apstiprināti ar oriģinālo plazmas paraugu divreizēju atkārtotu testēšanu ar QuantiFERON®-TB Gold ELISA. Ja atkārtotā testa rezultātā pirmajam vai otrajam paraugam tiek iegūts pozitīvs rezultāts, testa rezultāts uzskatāms par pozitīvu.

<sup>3</sup> Iespējamais cēloņus skat. nodaļā „Problēmu risinājumi”.

<sup>4</sup> Klīniskos pētījumos mazāk par 0,25 % dalībnieku uzrāda IFN-γ koncentrāciju > 8,0 i.v./ml attiecībā uz nulles kontroli.

Pamatojoties uz izmērītās IFN-γ koncentrācijas vērtību, nevar noteikt, kādu stadiju vai kādu grādu infekcija ir sasniegusi, kāds ir imūnatbildes spējas līmeni vai kāda ir varbūtība, ka infekcija pāries aktīvā saslimšanā.

**ATTĒLS 4: Interpretācijas diagramma, ja tiek izmantoti NULLES KONTROLES, TB ANTIGĒNA UN MITOGĒNA KONTROLES stobriņi**



## 8. METODES IEROBEŽOJUMI

QuantiFERON®-TB Gold IT testa rezultāti izvērtējami kombinācijā ar katra atsevišķā pacienta epidemioloģisko vēsturi, viņa patreizējo veselības stāvokli un citiem diagnostiskiem izmeklējumiem.

Rezultāti ar nulles kontroles vērtību virs 8 i.v./ml ir uzskatāmi par „neviennozīmīgiem“, jo par 25 % paaugstināta reakcija uz Tb antigēnu var atrasties ārpus testa mērīšanas robežām.

Neuzticamus un neviennozīmīgus rezultātus var izraisīt sekojošie cēloņi:

- Ja netiek ievērota iepakojumam pievienotajā informācijas lapā aprakstītā procedūra
- Ja novērojama ekstrēmi augsta cirkulējošā IFN- $\gamma$  koncentrācija vai heterofilo antivielu klātbūtne
- Ja starp asins parauga ņemšanu un inkubāciju 37°C temperatūrā apritējušas vairāk par 16 stundām

## 9. REZULTĀTU RAKSTUROJUMS

### Klīniskie pētījumi

Tā kā nepastāv absolūti definēti standarti attiecībā uz latento tuberkulozes infekciju (LTBI), QuantiFERON®-TB Gold IT jutības un specifitātes apmēru nav iespējams praktiski izvērtēt. QuantiFERON®-TB Gold IT specifitāte tika apmēram noteikta, izvērtējot nepatiesus pozitīvus rezultātu attiecībā uz personām, kurām ir zems riska faktors (vai kurām nepastāv risks), ka tās varētu būt inficējušās ar tuberkulozi. Jūtība tika aptuveni noteikta, izvērtējot rezultātus attiecībā uz pacientu grupām, kuras nāk no apvidiem, kur ir izplatīta aktīvā TB slimība.

#### Specifitāte

ASV veiktajos pētījumos, kuros tika testēti 866 brīvprātīgie, asins analīzes QuantiFERON®-TB Gold IT testam tika paņemtas pēc tam, kad bija izdarīta tuberkulīna ādas raudze (TST). Demogrāfiskā informācija un riska faktori attiecībā uz TB tika noteikti testēšanas laikā ar standarta anketas palīdzību. No 432 brīvprātīgajiem, kuriem nepastāvēja risks, ka viņi varētu būt inficējušies ar *M. tuberculosis*, QuantiFERON®-TB Gold IT un TST rezultāti tika saņemti 391 gadījumos. Neviens pirms tam nebija saņēmis BCG vakcīnu. Otrais specifitātes pētījums ar QuantiFERON®-TB Gold IT tika veikts Japānā, un tajā tika testētas personas ar zemu riska faktoru, no kurām aptuveni 90 % bija saņēmušas BCG vakcīnu. Abu specifitātes pētījumu rezultāti uzrādīti 2. tabulā.

**Tabula 2. QuantiFERON®-TB Gold IT specifitāte: rezultāti attiecībā uz personām, kurām nepastāv risks, ka viņas varētu būt inficējušās ar *M.tuberculosis***

PĒTĪJUMS	BCG statuss % vakcinēto	Kopumā testēti	Neviennoz. QFT-G rezult. skaits	Pozit. QFT-G rezult. sk/ Derīg. test. sk.	QFT-G specifitāte (95% gad.)	Poz. TST rez. sk./ Test. p. sk.	TST* specifitāte (95% gad.)
ASV (nepublicēts)	0%	391	1	3 / 390	99.2% (97.6-99.8)	6 / 391	98.5% (96.5-99.4)
Japāna (nepublicēts)	~90%	190	4	3 / 186	98.4% (95-99.6)	-	-
<b>KOPUMĀ</b>		<b>581</b>	<b>5/584 (0.9%)</b>	<b>6 / 576</b>	<b>99.0%</b>	-	-

\*Ja TST izmanto 10 mm griezumam. TST specifitāte tika aprēķināta uz 99.1%, ja izmanto 15 mm griezumam.

#### Jūtība attiecībā uz aktīvo TB

Lai novērtētu QuantiFERON®-TB Gold IT jutību, tika testētas vairākas personas Austrālijā un Japānā, attiecībā uz kurām pastāvēja aizdomas, ka viņas ir inficējušās ar TB un attiecībā uz kurām vēlāk tika apstiprināts, ka viņas inficējušās ar *M. tuberculosis*, dzīvojot attiecīgā apvidū. Kaut gan vēl nav absolūta standartizēta testa, ar kura palīdzību var noteikt, vai pastāv latentā tuberkulozes infekcija (LTBI), piemērots aizvietotājs ir mikrobioloģiskā *M. tuberculosis* kultūra, jo pacienti, kam ir šī slimība, atbilstoši definīcijai uzskatāmi par inficētiem. Pirms pacientiem tika paņemtas un ar QuantiFERON®-TB Gold IT testu izvērtēta asins analīzes, viņi saņēma ārstēšanas kursu, kas ilga mazāk par 8 dienām.

3. tabulā apkopoti rezultāti, kas tika iegūti, testējot abas pacientu grupas, kurām tika konstatēta infekcija ar *M. Tuberculosis* kultūru. Kopējā QuantiFERON®-TB Gold IT jutība attiecībā uz aktīvo TB, bija 89% (48/54).

**Tabula 3. QuantiFERON®-TB Gold IT: Personas, kam konstatēta infekcija ar *M. tuberculosis* kultūru.**

PĒTĪJUMS		Apstiprinātais slimības cēlonis	Pozitīvo QFT-Gold sk./ Derīg. test. sk.	QFT-Gold jutība (95% gad.)
Japāna; TB pacienti Validācijas pētījums		kultūrapvidus	24 / 27	89% (72-96%)
Austrālija TB pacienti validācijas pētījums	pulmonārā	kultūrapvidus	7 / 10	70% (40-89%)
	ekstra pulmonārā		17 / 17	100% (82-100%)
<b>KOPUMĀ</b>			<b>48 / 54</b>	<b>89% (78-95%)</b>

### LTBI diagnoze

Ir publicēti vairāki pētījumi, kas demonstrē QuantiFERON®-TB Gold IT gūtos rezultātus, testējot dažādas cilvēku populācijas, kam pastāv LTBI risks. Dažu izmeklētu pētījumu galvenie rezultāti apkopoti 4. tabulā.

**Tabula 4. Izmeklēti publicēti pētījumi par rezultātiem, kas gūti ar QuantiFERON®-TB Gold IT, testējot dažādas cilvēku populācijas, kam pastāv LTBI risks**

PĒTĪJUMS	Kopumā testēti	Rezultāti un iznākumi
Indian HCW [Vesel. aizs. iest. darb. Indijā] (izdevis Pai <i>un citi</i> 2005. g.) <sup>26</sup>	726	Kultūrapvidus ar plaši izplatītu TB. QFT-Gold IT rez. – 40% pozit.; sal. TST rez. - 41% pozit., ja izm. 10 mm griez. Liela sakritīb. ar TST, nav BCG ietekm. nevienā gad. Abi testi attiec. uz riska faktoriem, kas saistīti ar vecumu un periodu, kas nostrādāts veselības aizsardzības iestādē.
Danish HIV [HIV inficētie Dānijā] (izdevis Brock <i>un citi</i> 2006. g.) <sup>5</sup>	590	Kopējā LTBI izplatība sask. ar QFT-Gold IT bija 4.6% (27/590) attiec. uz pers., kas slimo ar HIV <sup>+</sup> . Pozit. rezult. tika asociēti ar TB risku. Divas personas, kas sask. ar QFT-Gold IT uzrād. pozit. rezult., viena gada laikā saslima ar aktīvo TB. Neviennozīmīgi rezultāti (n=20. 3.4%) tika lielākoties asociēti ar CD4, kuru skaits <100 / μL
Hospitalized Children [Bērni slimnīcā] (izdevis Dogra <i>un citi</i> 2006. g.) <sup>12</sup>	105	Bērni, attiec. uz kuriem pastāvēja aizdomas par saslimšanu ar TB vai kuri bija nonākuši saskarsmē ar TB, tika testēti ar QFT-Gold IT un TST. QFT-Gold IT rezult. – 10.5% pozit.; sal. TST rezult., izmant. 10 mm griez. – 9.5% pozit. Sakrit. starp testiem bija kopumā 95.2% jeb 100% tajos gadījumos, kad bērni nebija saņēmuši BCG vakcīnu.
German Contacts [Kontakti Vācijā] (izdevis Diel <i>un citi</i> 2006. g.) <sup>11</sup>	309	Tika testētas personas, kas bija nonākušas ciešā kontaktā ar 15 indeksā reģistrētajām personām. 51% bija saņēmušas BCG vakcīnu, 27% bija ārēmu izcelsmes. 70% personu, kas bija saņēmušas BCG vakcīnu, un 18% personu, kas nebija vakcinētas, uzrādīja pozitīvus TST rezultātus (5 mm), attiecīgi 9% un 11% uzrādīja pozitīvus QFT-Gold IT rezultātus. QFT-Gold IT tika asociēts ar TB risku. TST tika asociēts tikai ar BCG vakcīnu.

Rezultāti, kas gūti ar mazāk jutīgu QuantiFERON®-TB Gold antigēnu šķīdumu (kas tika izmantots pirms QuantiFERON®-TB Gold IT) un ar QuantiFERON®-TB Gold IT testu aprakstīti vēl daudzās citās publikācijās. Šīs publikācijas apraksta testa(u) rezultātus, kas tika iegūti, testējot personas, kuras bija nonākušas kontaktā ar aktīvo TB<sup>9,11, 19, 25</sup>, bērnus<sup>6-10, 25, 28</sup>, personas ar HIV<sup>+</sup><sup>2, 5, 20</sup>, veselības aizsardzības iestāžu darbiniekus<sup>13, 26, 32</sup>, personas ar novājinātu imūnsistēmu<sup>3, 4, 22, 23, 27, 30, 31</sup>, kā arī personas, attiecībā uz kurām pastāv aizdomas par TB<sup>7, 8, 10, 18</sup>, un personas ar zemu infekcijas riska faktoru<sup>15</sup>.

### Atkārtotība un TST ietekme uz papildus veikto QuantiFERON®-TB Gold testu

ASV veiktā specifitātes pētījuma ietvaros daļa brīvprātīgo tika atkārtoti testēti 4 un 5 nedēļas pēc oriģinālā QuantiFERON®-TB Gold IT testa un TST veikšanas. Ar QuantiFERON®-TB Gold IT testu abos gadījumos tika saņemti 260 rezultāti, un sakritības līmenis bija 99.6% (259/260). Pozitīvi TST rezultāti nenozīmēja, ka arī QuantiFERON®-TB Gold IT testa iznākums bija pozitīvs.

## 10. TEHNISKĀ INFORMĀCIJA

### **Neviennozīmīgi rezultāti**

Neviennozīmīgi rezultāti parādās reti un tiem par cēloni var būt sekojošie faktori:

- Ja starp asins parauga paņemšanu un inkubāciju 37°C temperatūrā pagājušas vairāk par 16 stundām
- Ja asins paraugi tiek uzglabāti nepareizā temperatūrā (ieteicamā temperatūra: 22 ± 5°C)
- Ja asins analīžu stobriņa saturs netika pietiekami sajaukts
- Ja ELISA plate netika pietiekami atskalota

Ja pastāv aizdomas, ka asins paraugu ņemšanas vai to tālākas apstrādes laikā radušās tehniska rakstura problēmas, viss QuantiFERON®-TB Gold IT tests jāatkārto ar jaunu asins paraugu. ELISA tests stimulētajiem plazmas paraugiem var tikt atkārtots, ja pastāv aizdomas, ka tika veikta nepietiekama atskalošana vai notikušas cita veida novirzes no aprakstītās ELISA testa metodes. Neviennozīmīgi rezultāti, kuru cēlonis ir zema mitogēna vai augsta nulles kontroles vērtība, nedrīkst atšķirties no atkārtotā testa, izņemot tos gadījumus, kad ELISA testa ietvaros pieļautas kļūdas. Neviennozīmīgi rezultāti neizmainītā veidā jāpaziņo tālāk. Ārsts nepieciešamības gadījumā izlems par to, vai jāpaņem jauns asins paraugs, vai arī veiks cita veida izmeklējumus.

### **Sarecējuši plazmas paraugi**

Ja ilgi uzglabātos plazmas paraugos parādās fibrīna pavedieni, paraugi vēlreiz jācentrifugē, lai atdalītu saracējušo materiālu un atvieglotu plazmas pipetēšanu.

## ELISA problēmu risinājumi

### Nespecifiska krāsu reakcija

IESPĒJAMIE CĒLOŅI	RISINĀJUMS
Nepietiekama plašu atskalošana	Plati atskalojot vismaz 6x ar 400 µl atskalošanas buferšķīduma uz vienu iedobīti. Atkarībā no izmantotās mazgājamās mašīnas var būt nepieciešami vairāk par 6 atskalošanas cikliem. Ieteicams starp atskalošanas cikliem plates uz 5 sek. iemērcēt.
Krusteniskā ELISA iedobīšu kontaminācija	Paraugu uzmanīga pipetēšana un sajaukšana samazina risku.
Komplekta/komplekta sastāvdaļu derīguma termiņa izbeigšanās	Pārbaudiet, vai nav izbeidzies komplekta derīguma termiņš. Pārliecinieties par to, ka standarts un konjugāta 100x koncentrāts tiek izmantoti 3 mēnešu laikā pēc rekonstituēšanas.
Enzīmu substrāta šķīduma kontaminācija	Utilizējiet substrātu, ja tam ir zilgana nokrāsa. Pārliecinieties par to, ka reaģentiem tiek izmantotas tīras mēģenes.

### Zemas OB vērtības standartiem

IESPĒJAMIE CELOŅI	RISINĀJUMS
Kļūda, izgatavojot standarta atšķaidījumu	Sagatavojiet standarta komplekta atšķaidījumus precīzi pēc iepakojumam pievienotajā informācijas lapā sniegtajiem norādījumiem.
Pipetēšanas kļūda	Pārbaudiet, vai pipetes ir kalibrētas un tiek izmantotas atbilstoši ražotāja norādēm.
Pārāk zema inkubācijas temperatūra	ELISA testu inkubācija jāveic istabas temperatūrā (17 – 27°C).
Pārāk īss inkubācijas periods	Plates, kurai pievienots konjugāts, standarta šķīdums un paraugi, inkubācijas periodam jābūt 120 ± 5 minūtes. Enzīmu substrāta šķīdumu inkubē uz plates 30 minūtes.
Nepareizs plašu filtrs	Plates jānolasa pie 450 nm ar 620-650 nm references filtru.
Pārāk auksti reaģenti	Visi reaģenti (izņemot konjugāta 100x koncentrātu) pirms testa uzsākšanas jāsasilda līdz istabas temperatūrai. Tam nepieciešamas apmēram 60 minūtes.
Komplekta/komplekta sastāvdaļu derīguma termiņa izbeigšanās	Pārbaudiet, vai nav izbeidzies komplekta derīguma termiņš. Pārliecinieties par to, ka standarta šķīdums un konjugāta 100x koncentrāts tiek izmantoti 3 mēnešu laikā pēc rekonstituēšanas.

Spēcīgs aizmugures fona krāsojums

<b>IESPĒJAMIE CĒLOŅI</b>	<b>RISINĀJUMS</b>
Nepietiekama plašu atskalošana	Plates jāatskalot vismaz 6x ar 400 µl atskalošanas buferšķīduma uz katru iedobīti. Atkarībā no izmantojamās mazgājamās mašīnas var būt nepieciešami vairāk par 6 atskalošanas cikliem. Ieteicams starp atskalošanas cikliem plates uz 5 sekundēm iemērcēt.
Pārāk augsta inkubācijas temperatūra	ELISA testu inkubācija jāveic istabas temperatūrā (17 – 27°C).
Komplekta/komplekta sastāvdaļu derīguma termiņa izbeigšanās	Pārbaudiet, vai nav izbeidzies komplekta derīguma termiņš. Pārliecinieties par to, ka standarta šķīdums un konjugāta 100x koncentrāts tiek izmantoti 3 mēnešu laikā pēc rekonstitūcijas.
Enzīmu substrāta šķīduma kontaminācija	Utilizējiet substrātu, ja tam ir zilgana nokrāsa. Pārliecinieties par to, ka reaģentiem tiek izmantotas tīras mēģenes.

Nelineāra standarta līkne un novirzes starp abiem dubultparaugiem

<b>IESPĒJAMIE CĒLOŅI</b>	<b>RISINĀJUMS</b>
Plašu nepietiekama atskalošana	Plates jāatskalot vismaz 6x ar 400 µl atskalošanas buferšķīduma uz katru iedobīti. Atkarībā no izmantotās mazgājamās mašīnas var būt nepieciešami vairāk par 6 atskalošanas cikliem. Ieteicams starp atskalošanas cikliem plates uz 5 sekundēm iemērcēt.
Kļūda, sagatavojot standarta atšķaidījumu	Sagatavojiet standarta komplekta atšķaidījumus precīzi pēc iepakojumam pievienotajā informācijas lapā sniegtajiem norādījumiem.
Nepietiekama samaisīšana	Pirms reaģentus pievieno iedobītēm, tos rūpīgi samaisa, vairākas reizes inversē vai viegli vorteksē.
Nevienmērīga pipetēšanas tehnika vai testa pārtraukšana	Paraugu un standarta šķīdumu dispensēšanai jānotiek kontinuitīvi. Visiem reaģentiem jābūt sagatavotiem lietošanai pirms testa uzsākšanas.

Videofilmu par testa metodes procedūru, kā arī risinājumus lielākajai daļai tehnisko problēmu varat atrast produkta informāciju un tehniskos norādījumus saturošajā CD-ROM, ko varat saņemt bez maksas no uzņēmuma Cellestis, pasūtot to pie izplatītāja.--

## 11. BIBLIOGRAFIJA

A comprehensive list of QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold references is located on the Cellestis website ([www.cellestis.com](http://www.cellestis.com))

1. **Andersen, P., et al.** Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 2000. 356; 1099-104.
2. **Balcells, M.E., et al.** A comparative study of two different methods for the detection of latent tuberculosis in HIV-positive individuals in Chile. *Int J Infect Dis.* 2008. 12; 645-52.
3. **Bartalesi, F., et al.** QuantiFERON-TB Gold and TST are both useful for latent TB screening in autoimmune diseases. *Eur Respir J.* 2008. [Epub ahead of print].
4. **Bocchino, M., et al.** 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.* 2008. 27; 907-13.
5. **Brock, I., et al.** Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the *M. tuberculosis* specific interferon-gamma test. *Respir Res.* 2006. 7; 56.
6. **Chun, J.K., et al.** 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.* 2008. [Epub ahead of print].
7. **Connell, T.G., et al.** A three-way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB Gold and T-SPOT.TB in children. *PLoS ONE* 2008. 3; e2624.
8. **Detjen, A.K., et al.** 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.* 2007. 45; 322-8.
9. **Diel, R., et al.** Comparative performance of tuberculin skin test, QuantiFERON-TB Gold In Tube assay, and T-Spot.TB test in contact investigations for tuberculosis. *Chest.* 2008. [Epub ahead of print].
10. **Diel, R., et al.** Predictive value of a whole-blood IFN- $\gamma$  assay for the development of active TB disease. *Am J Respir Crit Care Med.* 2008. 177; 1164-70.
11. **Diel, R., et al.** Tuberculosis contact investigation with a new, specific blood test in a low-incidence population containing a high proportion of BCG-vaccinated persons. *Respir Res.* 2006. 7; 77.
12. **Dogra, S., et al.** 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.* 2007. 54; 267-76.
13. **Drobniewski, F., et al.** Rates of latent tuberculosis in health care staff in Russia. *PLoS Med.* 2007. 4; e55.
14. **Gerogianni, I., et al.** Whole-blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection in an unselected Greek population. *Respirology.* 2008. 13; 270-4.
15. **Harada, N., et al.** Comparison of the sensitivity and specificity of two whole blood interferon-gamma assays for *M. tuberculosis* infection. *J Infect.* 2008. 56; 348-53.
16. **Higuchi, K., et al.** Comparison of performance in two diagnostic methods for tuberculosis infection. *Med Microbiol Immunol.* 2008. [Epub ahead of print].
17. **Kang, Y.A., et al.** 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.* 2005. 293; 2756-61.
18. **Katiyar, S. K., et al.** Use of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test to monitor treatment efficacy in active pulmonary tuberculosis. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2008. 12; 1146-52.
19. **Kipfer, B., et al.** Tuberculosis in a Swiss army training camp: contact investigation using an Interferon gamma release assay. *Swiss Med Wkly.* 2008. 138; 267-72.
20. **Luetkemeyer, A., et al.** Comparison of an interferon-gamma release assay with tuberculin skin testing in HIV-infected individuals. *Am J Respir Crit Care Med.* 2007. 175; 737-42.
21. **Mackensen, F., et al.** QuantiFERON-TB Gold - A new test strengthening long-suspected tuberculous involvement in serpiginous-like choroiditis. *Am J Ophthalmol.* 2008. 146; 761-6.



## 13. TESTA METODES PROCEDŪRA (ĪSĀ FORMA)

### 1. SOLIS: ASINS PARAUGU INKUBĀCIJA

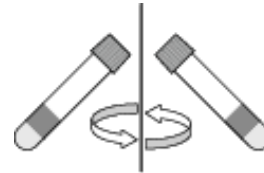
1. Pacientam ar asins analīžu stobriņu palīdzību tiek noņemts asins paraugs, kas **5 sekundes tiek spēcīgi kratīts** (jeb 10-x sakratīts) un pamatīgi samaisīts. **Visai iekšējai stobriņa sienīgai** jābūt noklātai ar asinīm.



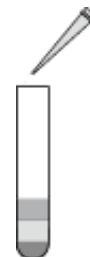
2. Stobriņus **stāvus** inkubē 16 – 24 stundas 37°C temperatūrā.



3. Pēc inkubācijas stobriņus 5 – 15 minūtes ar 1500 – 2200 RCF (g) centrifugē, lai atdalītu plazmu no sarkanajiem asins ķermeņiem.

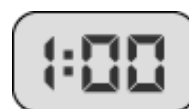


4. Pēc centrifugēšanas no katra stobriņa tiek paņemts plazmas paraugs, lai veiktu IFN- $\gamma$  kvantificēšanu.



## 2. SOLIS: IFN- $\gamma$ NOTEIKŠANA AR ELISA

1. Sasildiet ELISA sastāvdaļas, izņemot konjugāta 100x koncentrātu, līdz istabas temperatūrai; tam nepieciešamas vismaz 60 minūtes.

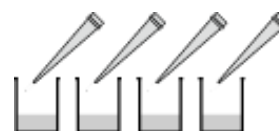


2. Rekonstituējiet standarta komplektu ar destilētu vai dejonizētu ūdeni līdz 8.0 i.v./ml. Sagatavojiet četrus (4) standarta atšķaidījumus.

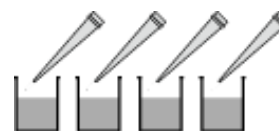


3. Rekonstituējiet liofilizēto konjugāta 100x koncentrātu ar destilētu vai dejonizētu ūdeni.

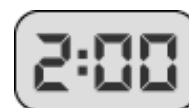
4. Sagatavojiet konjugātu ar zaļo atšķaidītāju un pielejiet 50  $\mu$ l katrā iedobītē.



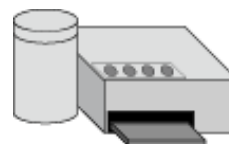
5. Ielejiet 50  $\mu$ l plazmas parauga un 50  $\mu$ l standarta šķīduma attiecīgajā iedobītē. Samaisiet kratītājā.



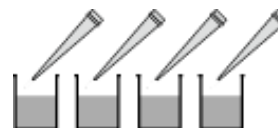
6. Inkubējiet 120 minūtes istabas temperatūrā.



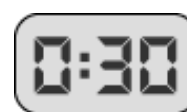
7. Atskalojiet iedobītes vismaz 6 reizes ar 400  $\mu$ l atskalošanas buferšķīduma uz katru iedobīti.



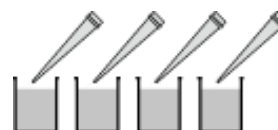
8. Pielejiet 100  $\mu$ l enzīmu substrāta šķīduma visās iedobītēs. Samaisiet, izmantojot kratītāju.



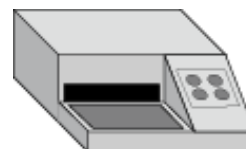
9. Inkubējiet 30 minūtes istabas temperatūrā.



10. Pielejiet iedobītēs 50  $\mu$ l apturēšanas šķīduma. Samaisiet, izmantojot kratītāju.



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



12. Izanalizējiet rezultātus.





Izgatavots uzņēmumam:  
Cellestis Limited (Austrālija) un Cellestis GmbH (Eiropa)  
1046A Dandenong Road, Carnegie, Victoria, 3163, Austrālija  
Tāl. (Austrālija) +61 3 9571 3500, (Eiropa) +49 6151 428 59-0  
e-pasts: [quantiferon@cellestis.com](mailto:quantiferon@cellestis.com)  
Internets: [www.cellestis.com](http://www.cellestis.com)

Dok. nr. 05990301C  
2009. August



EK	PĀRST
----	-------

MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover  
Germany