

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

**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



## 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 .....                | 5   |
| Glabāšana .....   | 6   |
| Asins analīžu stobriņi .....  | 6   |
| Komplektā ietvertie reaģenti .....                                      | 6   |
| Rekonstituēti reaģenti un reaģenti, kas nav nepieciešami .....          | 6   |
| 4. DROŠĪBAS PASĀKUMI UN BRĪDINĀJUMA NORĀDES .....                       | 7   |
| Drošības pasākumi .....   | 7   |
| Brīdinājuma norādes .....   | 8   |
| 5. ANALĪŽU ŅEMŠANA UN APSTRĀDE .....                                    | 9   |
| 6. LIETOŠANAS NORĀDES .....   | 10  |
| 1. solis: Asins parauga inkubācija un plazmas atdalīšana .....          | 10  |
| 2. solis: Cilvēka IFN- $\gamma$ noteikšana ar ELISA .....               | 11  |
| 7. APRĒĶINI UN REZULTĀTU INTERPRETĀCIJA .....                           | 14  |
| Standarta līknes aprēķināšana .....                                     | 14  |
| Kvalitātes kontrole .....   | 15  |
| Rezultātu interpretācija .....  | 16  |
| 8. METODES IEROBEŽOJUMI .....   | 20  |
| 9. REZULTĀTU RAKSTUROJUMS .....   | 20  |
| 10. TEHNISKĀ INFORMĀCIJA .....  | 22  |
| Neviennozīmīgi rezultāti .....  | 22  |
| Sarecējuši plazmas paraugi .....  | 22  |
| ELISA problēmu risinājumi .....   | 23  |
| Nespecifiska krāsu reakcija .....                                       | 23  |
| Zemas OB vērtības standartiem .....                                     | 23  |
| Spēcīgs aizmugures fona krāsojums .....                                 | 24  |
| Nelineāra standarta līkne un novirzes starp abiem dubultparaugiem ..... | 24  |
| 11. BIBLIOGRĀFIJA .....   | 25  |
| 12. TEHNISKAIS SERVISS .....  | 265 |
| 13. TESTA METODES PROCEDŪRA (ĪSĀ FORMA) .....                           | 276 |
| 14. SVARĪGAS IZMAIŅAS .....   | 29  |

## 1. IZMANTOŠANAS NOLŪKS

QuantiFERON®-TB Gold In-Tube (QFT®) 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*.

QFT 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.

QFT 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.

QFT 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 QFT testa palīdzību var noteikt, vai pastāv LTBI, kā arī 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

QFT 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.

QFT testu veic divos soļos. 1. soli tiek paņemta pilna asins analīze dažādos QFT asins analīzes stobriņos. Pie tiem pieder nulles kontroles, Tb antigēna kontroles un kā opcija – mitogēna kontroles stobriņi.

Mitogēna kontroles stobriņu QFT 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 QFT 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. T0590-0301

- |  |              |
|--|--------------|
| 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. T0590-0201)  
100 mitogēna kontroles stobriņi (pasūt. nr. T0593-0201)*

*pasūt. nr. T0590-0501: (garie stobriņi) 100 nulles kontroles stobriņi, 100 Tb antigēna stobriņi*

*pasūt. nr. T0590-0505: (garie stobriņi) 100 nulles kontroles stobriņi, 100 Tb antigēna un  
100 mitogēna kontroles stobriņi*

*pasūt. nr. T0590-0501: (garie stobriņi) 100 mitogēna kontroles stobriņi*

#### ELISA komplekta sastāvdaļas

| ELISA sastāvdaļas  | Kataloga nr.: 0594-0201                        | Kataloga nr.: 0594-0501                         |
|--|--|---|
|  | 2 plātņu komplekts                             | References laboratorijas komplekts              |
| Mikroplatnes plātnītes, pārklātas ar peles antihumāno IFN- $\gamma$ monoklonālo antivielu  | 2 x 96 iedobītes                               | 20 x 96 iedobītes                               |
| Standarta cilvēka IFN- $\gamma$ , liofilizēts ( <i>satur rekombinantu cilvēka IFN-<math>\gamma</math>, govu kazeīnu, 0.01 % timerosalu</i> ) | 1 x flakoniņš<br>(8 IU/ml pēc rekonstitūcijas) | 10 x flakoniņi<br>(8 IU/ml pēc rekonstitūcijas) |
| Zaļš šķīdinātājs ( <i>satur govu kazeīnu, normālo peles serumu, 0.01% timerosalu</i> )   | 1 x 30 ml                                      | 10 x 30 ml                                      |
| Konjugāta 100x koncentrāts, liofilizēts ( <i>peles antihumāns IFN-<math>\gamma</math> HRP, satur 0.01% timerosalu</i> )                      | 1 x 0.3ml (pēc rekonstitūcijas)                | 10 x 0.3ml (pēc rekonstitūcijas)                |
| Atskalošanas buferšķīduma 20x koncentrāts ( <i>pH 7.2, satur 0.01 % timerosalu</i> )   | 1 x 100ml                                      | 10 x 100ml                                      |
| Enzīmu substrāta šķīdums ( <i>satur H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, 3,3',5,5' tetrametilbenzidīnu</i> )  | 1 x 30ml                                       | 10 x 30ml                                       |
| Enzīmu apturēšanas šķīdums ( <i>satur 0.5M H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub></i> )   | 1 x 15ml                                       | 10 x 15ml                                       |

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

- 37°C inkubators; CO<sub>2</sub> nav nepieciešams
- Kalibrētas pipetes ar variablu tilpumu no 10 µl līdz 1000 µl ar vienreizējās lietošanas uzgaļiem
- Kalibrētas daudzkanālu pipetes ar tilpumu 50 µl un 100 µl 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.

### *Komplektā ietvertie reaģenti*

- Uzglabājiet komplektu 2 – 8°C temperatūrā.
- Vienmēr sargājiet enzīmu substrāta šķīdumu no tiešas saules staru ietekmes.

### *Rekonstituēti reaģenti un reaģenti, kas nav nepieciešami*

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

- Rekonstituētā standarta komplekta uzglabāšanas ilgums, uzglabājot 2 – 8°C temperatūrā, ir trīs mēneši.
  - *Pierakstiet standarta komplekta rekonstituēšanas datumu.*
- 100x koncentrātu, kas palicis pāri pēc rekonstituēšanas, jāuzglabā 2 – 8°C temperatūrā un jāizlieto triju mēnešu laikā.
  - *Pierakstiet konjugāta rekonstituēšanas 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 QFT 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 QFT 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 QFT 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 QFT 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, ielpojot 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, ielpojot 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- $\gamma$  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, ielpojot 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 QFT 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.
- Nodrošiniet, lai laboratorijas aprīkojums, piemēram, ierīce plašu atskalošanai un lasītājs, būtu kalibrēts / validēts izmantošanai.

## 5. ANALĪŽU ŅEMŠANA UN APSTRĀDE

QFT 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 QFT asins analīzes stobriņā no katra pacienta jāpaņem 1 ml venozo asiņu. Šo procedūru jāveic specializētam flebotomistam.

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

*Ja QFT asins analīžu stobriņus izmanto apvidos, kas atrodas ārpus minētajiem augstumiem, vai arī ja ņemtais asiņu daudzums ir pārāk mazs, asins paraugu var ņemt šļircē un ik pa 1 ml pārliet katrā no trim stobriņiem. Drošības nolūkos sākumā ņem šļircē adatu, nodrošina nepieciešamos drošības pasākumus, ņem vāciņus no trim QFT 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. QFT 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 QFT stobriņš.

2. Uzreiz pēc stobriņu uzpildīšanas tos sakrata desmit (10) reizes tikai tik stipri, lai nodrošinātu, ka visa iekšējā stobriņa sienīga ir pārklāta ar asinīm, lai tādējādi solubilizētu antigēnus uz stobriņa sienīgām.

- Stobriņu temperatūrai asins ņemšanas laikā jābūt pie 17 – 25°C.
- Pārāk spēcīga kratīšana var izraisīt gēla disrupciju, kas var novest pie nepatiesiem rezultātiem.

3. Uz stobriņiem jābūt attiecīgām uzlīmēm.

4. Stobriņi pēc iespējas drīz, taču ne vēlāk kā 16 stundas pēc asins parauga paņemšanas, jāinkubē 37°C ± 1°C temperatūrā. Pirms inkubācijas stobriņus uzglabā istabas temperatūrā (22°C ± 5°C). Asins paraugus nedrīkst uzglabāt ledusskapī vai saldētavā.

## 6. LIETOŠANAS NORĀDES

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

#### **Sūtījumā ietvertie materiāli**

QFT 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 jāsakrata 10 reizes.**
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 4 – 27°C temperatūrā.
4. Lai būtu vieglāk atdalīt plazmu, stobriņus pēc inkubācijas 37°C temperatūrā 5 – 15 minūtes centrifugē ar 2000 – 3000 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. **Pēc centrifugēšanas jēlkādā veidā izvairīties no pipetēšanas uz augšu un uz leju, kā arī no plazmas samaisīšanas pirms tās paņemšanas. Vienmēr strādājiet ļoti uzmanīgi, lai nepatraucētu gēla virsmas materiālu.**
  - Plazmas paraugus drīkst ņemt tikai ar **pipetes palīdzību.**
  - No centrifugēta asins analīžu stobriņa plazmas paraugus var pārliet tieši QFT ELISA platē, arī tad, ja tiek izmantota automatizēta ELISA ierīce.
  - Plazmas paraugus var uzglabāt līdz 28 dienām 2°C līdz 8°C temperatūrā; bet pēc plazmas paņemšanas arī ilgāku laika periodu temperatūrā, kas zemāka par –20°C.

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

### Sūtījumā ietvertie materiāli

QFT ELISA komplekts (skat. 3. nodaļu).

### Nepieciešamie materiāli, kas nav ietverti sūtījumā

skat. 3. nodaļu.

### Metodes procedūra

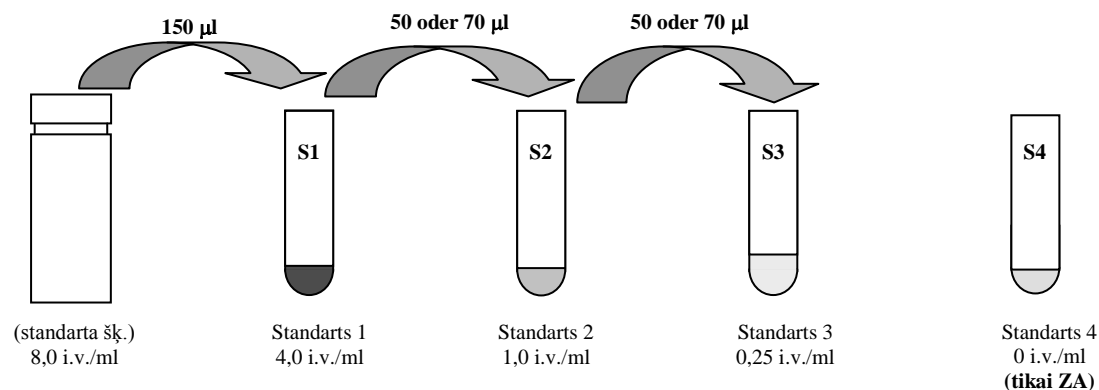
1. Visi plazmas paraugi un reaģenti, izņemot konjugāta 100x koncentrātu, pirms lietošanas jāsasilda līdz istabas temperatūrai ( $22 \pm 5^\circ\text{C}$ ). Tam nepieciešamas vismaz 60 minūtes.
2. Izņemiet plātnītes, kas netiek izmantotas, no rāmja, ielieciet tās atpakaļ iepakojumā un uzglabājiet tās līdz lietošanai ledusskapī.  
Jāparedz vismaz viena plātnīte QFT 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 komplektem 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<br>DUBULTAJAM STANDARTAM   | IETEICAMĀ METODE<br>TRĪSKĀRŠAJAM STANDARTAM  |
|---|--|
| <ol style="list-style-type: none"><li>a. Marķējiet 4 stobriņus kā „S1”, „S2”, „S3” un „S4”.</li><li>b. Ielejiet <b>150 <math>\mu\text{l}</math></b> ZA stobriņos S1, S2, S3, S4.</li><li>c. Ielejiet <b>150 <math>\mu\text{l}</math></b> standarta šķīduma stobriņā S1 un rūpīgi samaisiet tās saturu.</li><li>d. Pārlejiet <b>50 <math>\mu\text{l}</math></b> no S1 stobriņā S2 un rūpīgi samaisiet stobriņa saturu.</li><li>e. Pārlejiet <b>50 <math>\mu\text{l}</math></b> no S2 stobriņā S3 un rūpīgi samaisiet stobriņa saturu.</li><li>f. „<b>Tikai ZA</b>” kalpo kā nulles standarts (S4).</li></ol> | <ol style="list-style-type: none"><li>a. Marķējiet 4 stobriņus kā „S1”, „S2”, „S3” un „S4”.</li><li>b. Ielejiet <b>150 <math>\mu\text{l}</math></b> ZA stobriņā S1.</li><li>c. Ielejiet <b>210 <math>\mu\text{l}</math></b> ZA stobriņos S2, S3, S4.</li><li>d. Ielejiet <b>150 <math>\mu\text{l}</math></b> standarta šķīduma stobriņā S1 un rūpīgi samaisiet stobriņa saturu.</li><li>e. Pārlejiet <b>70 <math>\mu\text{l}</math></b> no S1 stobriņā S2 un rūpīgi samaisiet stobriņa saturu.</li><li>f. Pārlejiet <b>70 <math>\mu\text{l}</math></b> no S2 stobriņā S3 un rūpīgi samaisiet stobriņa saturu.</li><li>g. „<b>Tikai ZA</b>” kalpo kā nulles standarts (S4).</li></ol> |

**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. Plazmas paraugus, kas paņemti no asins analīžu stobriņiem un pirms to izvērtēšanas iesaldēti vai uzglabāti ilgāk par 24 stundām, pamatīgi jāsamaisa, pirms tie tiek iepildīti ELISA plates iedobītēs.
- Ja plazmas paraugus pievieno tieši no centrifugētajiem QFT stobriņiem, jebkādā veidā jāizvairās no plazmas samaisīšanas.

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 plates 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 plates 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).

8. Uzmanīgi samaisiet konjugātu un plazmas paraugus/standartus 1 minūti mikroplašu kratītājā.
9. Katru plati pārklājiet un inkubējiet  $120 \pm 5$  minūtes istabas temperatūrā ( $22 \pm 5^\circ\text{C}$ ).
  - Inkubācijas laikā plates jāšārgā no tiešas saules staru iedarbības.
10. 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 plates ieteicams vismaz 5 sekundes iepriekš iemērcēt.
- Notekošā atskalošanas šķīduma uzkrāšanas tvērtņēs jāievada standarta laboratorijas dezinfekcijas līdzeklis. Bez tam jāievēro vietējās laboratorijas noteikumi attiecībā uz potenciāli infekcioza materiāla dekontamināciju.

11. Noteciniet plates 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 jāsaugā no tiešas saules staru iedarbības.
13. Pēc 30 min. inkubācijas katrā iedobītē pievienojiet 50 µl enzīmu apturēšanas šķīduma un sajauciet saturu.
  - Pievienojiet enzīmu apturēšanas šķīdumu 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 šķīduma pievienošanas. OB vērtības ir nepieciešamas rezultātu aprēķināšanai.

## 7. APRĒĶINI UN REZULTĀTU INTERPRETĀCIJA

Cellestis piedāvā speciālu QFT analīzes datorprogrammu, ar kuras palīdzību var izanalizēt iegūtos datus un aprēķināt rezultātus (nodrošiniet, lai tiktu izmantota visjaunākā datorprogrammas versija).

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

Alternatīvi QFT analīzes datorprogrammai rezultāti var tikt aprēķināti, izmantojot turpmāk aprakstīto metodi:

### **Standarta līknes aprēķināšana**

*(ja netiek izmantota QFT 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 liknes 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  $\geq 0,98$ .**

QFT 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

QFT 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 QFT testa rezultātus.

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

| <u>Nulles</u><br>[i.v./ml] | <u>Tb antigēna mīnus nulles</u><br>[i.v./ml]  | QFT rezultāts                      | Ziņojums/interpretācija                                      |
|----------------------------|---|------------------------------------|--|
| ≤ 8,0                      | < 0,35  | <b>negatīvs</b>                    | NEPASTĀV <i>M. tuberculosis</i> infekcijas varbūtība         |
|                            | ≥ 0,35 un < 25%<br>par nulles kontr. vērtības |                                    |  |
|                            | ≥ 0,35 un ≥ 25%<br>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 |

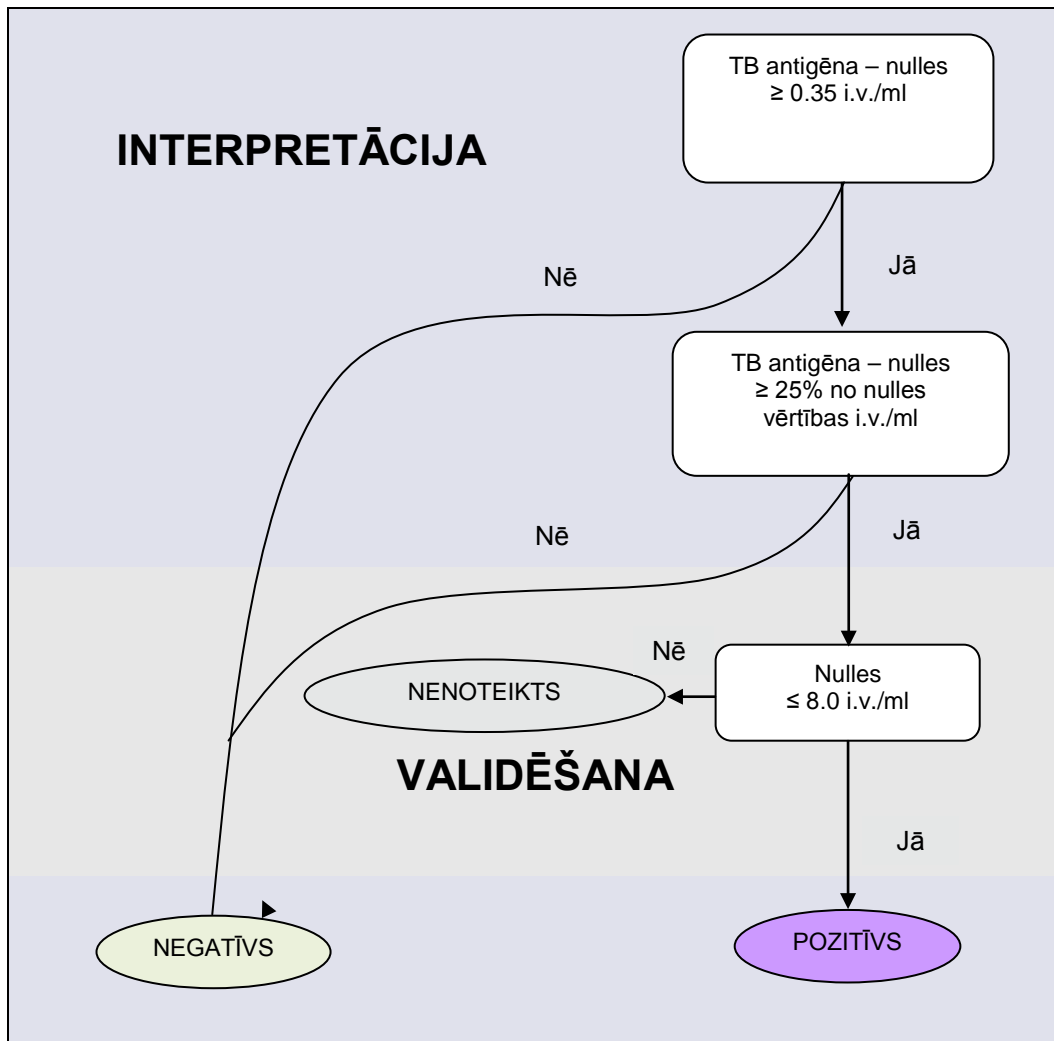
<sup>1</sup> Gadījumos, kad nepastāv aizdomas par infekciju ar *M. tuberculosis*, sākotnējie pozitīvie rezultāti var tikt apstiprināti ar atkārtotu divreizēju oriģinālo plazmas paraugu testēšanu ar QFT ELISA. Ja atkārtotā testa rezultātā pirmajam vai otrajam paraugam tiek iegūts pozitīvs rezultāts, testa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

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

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

Pamatojoties uz izmērītās IFN- $\gamma$  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



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

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

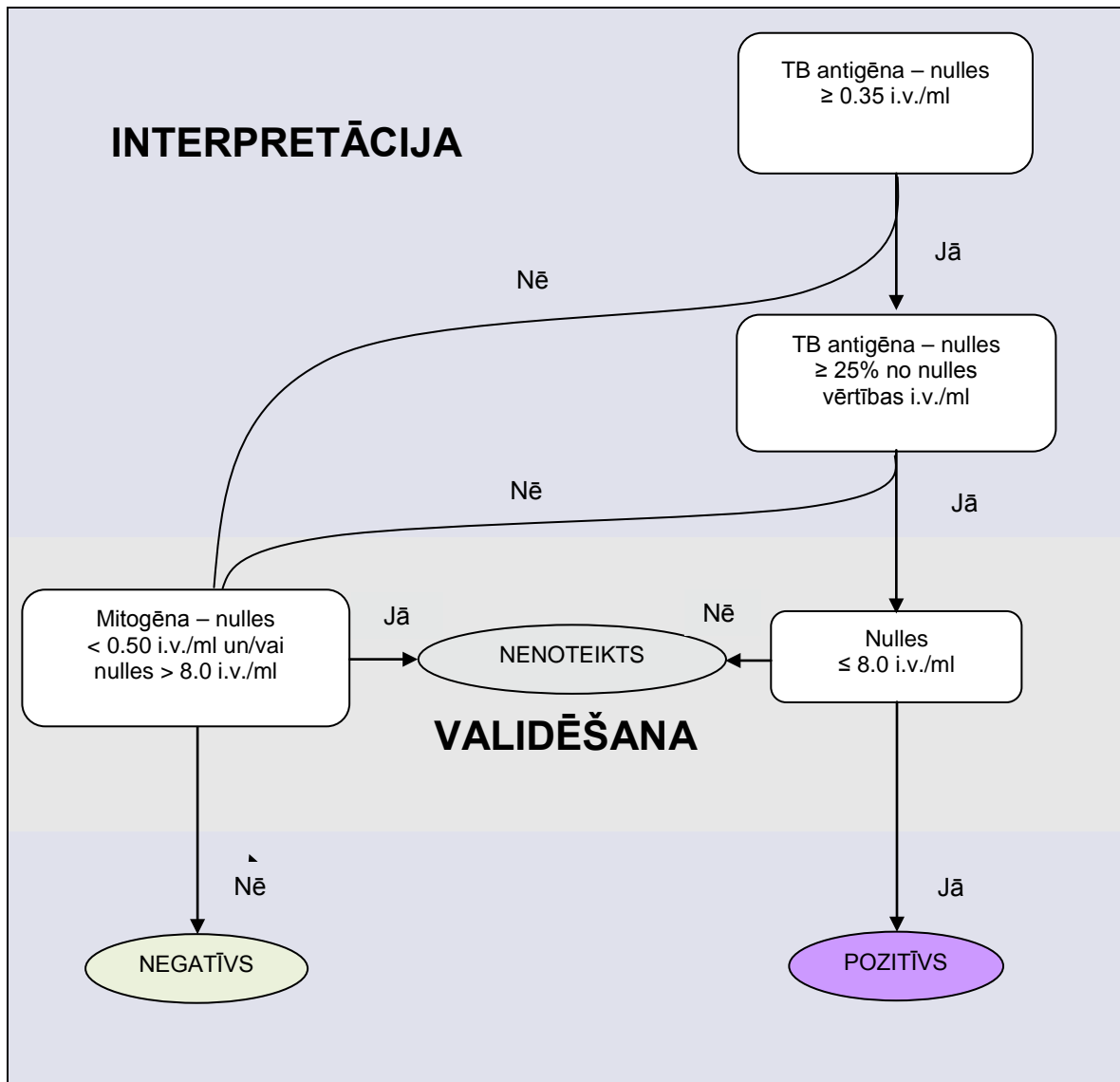
<sup>2</sup> Gadījumos, kad nepastāv aizdomas par *M. tuberculosis* infekciju, sākumā iegūtie pozitīvie rezultāti var tikt apstiprināti ar oriģinālo plazmas paraugu divreizēju atkārtotu testēšanu ar QFT ELISA. Ja atkārtotā testa rezultātā pirmajam vai otrajam paraugam tiek iegūts pozitīvs rezultāts,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

QFT 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), QFT jutības un specifitātes apmēru nav iespējams praktiski izvērtēt. QFT specifitāte tika apmēram noteikta, izvērtējot nepatīsus pozitīvos 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 QFT 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 inficējušās ar *M. tuberculosis*, QFT un TST rezultāti tika saņemti 391 gadījumos. Nevienam pirms tam nebija saņemis BCG vakcīnu. Otrās specifitātes pētījums ar QFT 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. QFT specifitāte: rezultāti attiecībā uz personām, kurām nepastāv risks, ka viņas varētu būt inficējušās ar *M. tuberculosis***

| PĒTĪJUMS             | BCG statuss % vakcinēto | Kopumā testēti | Neviennozīmīgo QFT rezultātu skaits | Pozitīvo QFT rez. sk. / Derīgo testu sk. | QFT specifitāte (95% gad.) | Pozitīvo TST rez. sk. / Testēto pers. sk. | TST* specifitāte (95% gad.) |
|----------------------|-------------------------|----------------|-------------------------------------|--|----------------------------|---|-----------------------------|
| ASV (nepublicēts)    | 0%                      | 391            | 1                                   | 3 / 390                                  | 99.2% (98-100)             | 6 / 391                                   | 98.5% (97-99)               |
| Japāna <sup>15</sup> | ~90%                    | 168            | 6                                   | 2 / 162                                  | 98.8% (95-100)             | -   | -                           |
| <b>KOPUMĀ</b>        | -                       | <b>559</b>     | <b>7/559 (1.3%)</b>                 | <b>5 / 552</b>                           | <b>99.1% (98-100)</b>      | -   | -                           |

\*Ja personām, kas nav saņēmušas BCG vakcīnu, TST izmanto 10 mm griezumumu. Ja izmanto 15 mm griezumumu, TST specifitāte tika aprēķināta uz 99.1%.

#### Jūtība attiecībā uz aktīvo TB

Lai novērtētu QFT jutību, tika testētas vairākas personas ASV, 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 QFT testu izvērtēta asins analīzes, viņi saņēma ārstēšanas kursu, kas ilga mazāk par 8 dienām.

Tabulā 3 apkopotī rezultāti, kas tika iegūti, testējot trīs pacientu grupas, kurām tika konstatēta infekcija ar *M. Tuberculosis* kultūru. Kopējā QFT jutība attiecībā uz aktīvo TB, bija 89% (157/177).

**Tabula 3. QFT: Personas, kam konstatēta infekcija ar *M. tuberculosis* kultūru.**

| PĒTĪJUMS                          | Pozitīvo QFT<br>rezult. sk. /<br>Derīgo testu sk. | QFT jutība (95%<br>gad.)      |
|-----------------------------------|---|-------------------------------|
| TB pacienti, Japāna <sup>15</sup> | 86 / 92   | 93%<br>(86-97%)               |
| Austrālija                        | 24 / 27   | 89%<br>(70-97%)               |
| ASV                               | 47 / 58   | 81%<br>(68-90%)               |
| <b>KOPUMĀ</b>                     | <b>157 / 177</b>                                  | <b>89%</b><br><b>(83-93%)</b> |

### LTBI diagnoze

Ir publicēti vairāki pētījumi, kas demonstrē QFT 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 QFT, 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 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 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 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 un TST. QFT 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 ārzemju 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 rezultātus. QFT tika asociēts ar TB risku. TST tika asociēts tikai ar BCG vakcīnu. |

Rezultāti, kas gūti ar mazāk jutīgu QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold antigēnu šķīdumu (kas tika izmantots pirms QFT) un ar QFT 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>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 QFT testu

ASV veiktā specifitātes pētījuma ietvaros daļa brīvprātīgo tika atkārtoti testēti 4 un 5 nedēļas pēc oriģinālā QFT testa un TST veikšanas. Ar QFT testu abos gadījumos tika saņemti 260 rezultāti, un sakritības līmenis bija 99.6% (259/260). Pozitīvi TST rezultāti nenozīmēja, ka arī QFT 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 QFT 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.  |
| Plazmas samaisīšana centrifugētos stobriņos pirms tās atdalīšanas | Nodrošiniet, lai plazmas paraugi tiktu uzmanīgi atdalīti no gēla virsmas, neveicot pipetēšanu uz augšu un uz leju, kā arī mēģinot nepatraucēt gēla virsmas materiālu.   |

### 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                              | Plati jāatskalo 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                          | Plati atskalo 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 kontinuīvi. 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. BIBLIOGRĀFIJA

Apjomīgs QFT referenču saraksts ir lasāms gnowee™ – QuantiFERON referenču bibliotēkā, kas atrodama pēc adresei [www.gnowee.net](http://www.gnowee.net)

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.* 2009. 33; 586-93.
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. 62; 389-394.
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.* 2009. 135; 1010-8.
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.* 2009. 198; 33-7.
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.

22. **Manuel, O., et al.** Comparison of QuantiFERON-TB Gold with tuberculin skin test for detecting latent tuberculosis infection prior to liver transplantation. *Am J Transplant.* 2007. 7; 2797-801.
23. **Matulis, G., et al.** Detection of latent tuberculosis in immunosuppressed patients with autoimmune diseases performance of a *Mycobacterium tuberculosis* antigen specific IFN-gamma assay. *Ann Rheum Dis.* 2007. 67; 84-90.
24. **Mirtskhulava, V., et al.** Prevalence and risk factors for latent tuberculosis infection among health care workers in Georgia. *Int J Tuberc Lung Dis.* 2008. 12; 513-519.
25. **Nakaoka, H., et al.** Risk for tuberculosis among children. *Emerg Infect Dis.* 2006. 12; 1383-8.
26. **Pai, M., et al.** Mycobacterium tuberculosis infection in health care workers in rural India: comparison of a whole-blood, interferon-g assay with tuberculin skin testing. *JAMA.* 2005. 293; 2746-55.
27. **Ponce de Leon, D., et al.** 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.* 2008. 35; 776-81.
28. **Richeldi, L., et al.** Prior tuberculin skin testing does not boost QuantiFERON-TB results in paediatric contacts. *Eur Respir J.* 2008. 32; 524-5.
29. **Rothel, J.S. and Andersen, P.** Diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: is the demise of the Mantoux test imminent? *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2005. 3; 981-93.
30. **Schoepfer, A.M., et al.** Comparison of interferon-gamma release assay versus tuberculin skin test for tuberculosis screening in inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol.* 2008. 103; 2799-806.
31. **Silverman, M.S., et al.** Use of an interferon-gamma based assay to assess bladder cancer patients treated with intravesical BCG and exposed to tuberculosis. *Clin Biochem.* 2007. 40; 913-5.
32. **Stebler, A., et al.** Whole-blood interferon-gamma release assay for baseline tuberculosis screening of healthcare workers at a Swiss university hospital. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2008. 29, 681-3.

## 12. TEHNISKAIS SERVISS

Zemāk norādītas mūsu tehniskā servisa adreses:

Cellestis International Pty Ltd:      Tālrs.: +61 3 8527 3500  
 Fakss: +61 3 9568 6623  
 e-pasts: [techsupport@cellestis.com](mailto:techsupport@cellestis.com)

Cellestis GmbH:  
 (Eiropa)                                      Tālrs.: +49 6151 428 59-0  
 Fakss: +49 6151 428 59-110  
 e-pasts: [techsupport@cellestis.com](mailto:techsupport@cellestis.com)

Internets: [www.cellestis.com](http://www.cellestis.com)

Citās valstīs:

| Valsts              | Bezmaksas tālruņa numurs |
|---------------------|--------------------------|
| Austrālija          | 9001 5776                |
| Austrija            | 0800 8020034             |
| Beļģija             | 0800 75351               |
| Francija            | 0800911164               |
| Vācija              | 0800 182 7452            |
| Īrija               | 1800 550 417             |
| Nīderlande          | 0800 022 5340            |
| Jaunzēlande         | 0800 44240               |
| Šveice              | 0800 561 802             |
| Apvienotā Karaliste | 0800 680 0630            |

## 13. TESTA METODES PROCEDŪRA (ĪSĀ FORMA)

### 1. SOLIS: ASINS PARAUGU INKUBĀCIJA

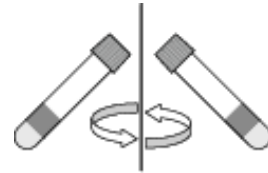
1. Pacientam ar asins analīžu stobriņu palīdzību tiek noņemts asins paraugs, kas desmit (10) reizes tiek sakratīts tikai tik stipri, lai nodrošinātu, ka visa stobriņa iekšējā sieniņa ir noklāta ar asinīm, lai tādējādi solubilizētu antigēnus uz stobriņa sieniņām.



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



3. Pēc inkubācijas stobriņus 5 – 15 minūtes ar 2000 – 3000 RCF (g) centrifugē, lai atdalītu plazmu no sarkanajiem asins ķermeņiem.

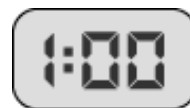


4. Plazmu pēc centrifugēšanas paņem ar pipetes palīdzību. Pirms paņemšanas izvairīties no pipetēšanas uz augšu un uz leju, kā arī no plazmas samaisīšanas.



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

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

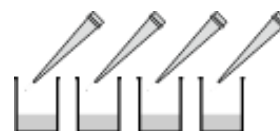


2. Rekonstituējiet standarta komplektu ar destilētu vai dejonizētu ūdeni līdz 8.0 i.v./ml. Sagatavojiet četrus (4) standarta atšķaidījumus.

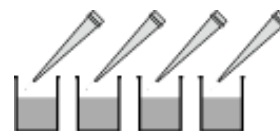


3. Rekonstituējiet liofilizēto konjugāta 100x koncentrātu ar destilētu vai dejonizētu ūdeni.

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



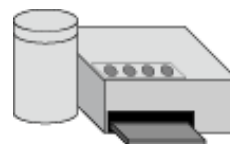
5. Ielejiet 50  $\mu$ l plazmas parauga un 50  $\mu$ l standarta šķīduma attiecīgajā iedobītē. Samaisiet kratītājā.



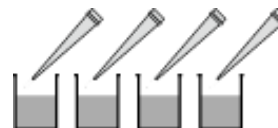
6. Inkubējiet 120 minūtes istabas temperatūrā.



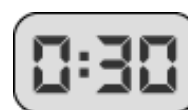
7. Atskalojiet iedobītes vismaz 6 reizes ar 400  $\mu$ l atskalošanas buferšķīduma uz katru iedobīti.



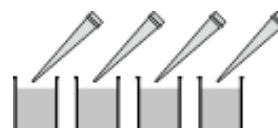
8. Pielejiet 100  $\mu$ l enzīmu substrāta šķīduma visās iedobītēs. Samaisiet, izmantojot kratītāju.



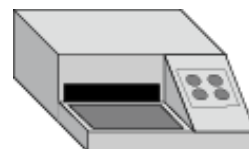
9. Inkubējiet 30 minūtes istabas temperatūrā.



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.



## 14. SVARĪGAS IZMAIŅAS

Svarīgas izmaiņas, kas atrodamas šinī QFT informācijas lapas izdevumā (05990301G – 2011. gada jūlijs), ir apkopotas sekojošā tabulā:

| <b>Nodaļa</b>                  | <b>Lappuse</b> | <b>Izmaiņa(s)</b>   |
|--------------------------------|----------------|---|
| 5. Analīžu ņemšana un apstrāde | 9              | Izmaiņas stobriņu sakratīšanas procedūrā.                                       |
| 6. Lietošanas norādes          | 10             | Izmaiņas attiecībā uz asins analīžu stobriņu izmantošanu.                       |
| 6. Lietošanas norādes          | 12             | Izmaiņas attiecībā uz plazmas paraugu izmantošanu.                              |
| 10. Tehniskā informācija       | 23             | Papildinājums: 'Plazmas samaisīšana centrifugētos stobriņos pirms atdalīšanas'. |
| 12. Tehniskais serviss         | 26             | Jauna e-pasta adrese tehniskās palīdzības pieprasīšanai.                        |



Izgatavots uzņēmumam:  
Cellestis Limited (Austrālija) un Cellestis GmbH (Eiropa)  
Level 1, Office Tower 2, Chadstone Centre  
1341 Dandenong Road, Chadstone, Victoria, 3148, Austrālija  
Tāl. (Aust.) +61 3 8527 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. 05990301G  
2011. g. jūlijs



|    |       |
|----|-------|
| EK | PĀRST |
|----|-------|

MDSS GmbH  
Schiffgraben 41  
30175 Hannover, Vācija