

QuantiFERON®-TB Gold (QFT®) ELISA Prospektüsü



2 x 96 (katalog no. 0594-0201)



20 x 96 (katalog no. 0594-0501)

ESAT-6, CFP-10 ve TB7.7(p4) peptid antijenlerine karşı
yanıtları ölçen tam kan IFN- γ testi



İn vitro tanı amaçlı kullanım içindir



0594-0201, 0594-0501



Cellestis, a QIAGEN Company

Level 2, Office Tower 2, Chadstone Centre

1341 Dandenong Road, Chadstone, Victoria, 3148, Avustralya

Telefon: (Avustralya) +613-9840-9800



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1
40724 Hilden, ALMANYA

1075115TR Rev. 01



www.QuantiFERON.com



İçindekiler

1. Kullanım Amacı	4
2. Test Özeti ve Açıklaması	4
Test Prensipleri	5
Testi Gerçekleştirmek için Gereken Süre	5
3. Bileşenler ve Saklama	6
Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Malzemeler	7
Saklama ve Kullanma	7
4. Uyarılar ve Önlemler	8
İn vitro tanı amaçlı kullanım içindir	8
Uyarılar	8
Önlemler	9
5. Numune Toplama ve Kullanımı	10
6. Kullanım Talimatları	12
1. Aşama — Kanın inkübasyonu ve plazmanın toplanması	12
2. Aşama — İnsan IFN- γ ELISA	13
7. Hesaplamalar ve Testin Yorumlanması	17
Standart Eğrinin Çizilmesi	17
Testin Kalite Kontrolü	17
8. Sınırlamalar	19
9. Performans Özellikleri	20
Klinik Çalışmalar	20
10. Teknik Bilgiler	22
Şüpheli sonuçlar	22
Pıhtılaşmış plazma örnekleri	22
Sorun Giderme Kılavuzu	23
11. Kaynakça	25
12. Teknik Servis	27
13. Kısaltılmış Test Prosedürü	28
1. Aşama — kan inkübasyonu	28
2. Aşama — IFN- γ ELISA	28
Önemli Değişiklikler	30

1. Kullanım Amacı

QuantiFERON-TB Gold (QFT®), heparinize tam kandaki hücreleri stimüle etmek için ESAT-6, CFP-10 ve TB7.7(p4) proteinlerini simüle eden bir peptid kokteyli kullanan in vitro diyagnostik testtir. Enzime bağlı immünosorbent testi (ELISA) vasıtasıyla interferoninterferon-γ (IFN-γ) tespiti, *Mycobacterium tuberculosis* enfeksiyonu ile ilgili bu peptid antiijenlerine in vitro yanıtları belirlemek için kullanılır.

QFT, *M. tuberculosis* enfeksiyonu için (hastalık dahil) indirekt bir testtir ve risk değerlendirmesi, radyografi ve diğer tıbbi ve diyagnostik değerlendirmelerin bir birleşimi ile birlikte kullanım için tasarlanmıştır.

2. Test Özeti ve Açıklaması

Tüberküloz, genellikle yeni konaklara respiratuar tüberküloz hastalığı olan hastalardan havadan taşınan damlacık nükleusları ile yayılan *M. tuberculosis* kompleks organizmaları (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*) enfeksiyonundan kaynaklanan bulaşıcı bir hastalıktır. Yeni enfekte olmuş bir birey haftalar ila aylar içinde tüberküloz nedeniyle hastalanabilir, ancak çoğu enfekte birey sağlıklı kalmayı sürdürür. Bulaşıcı olmayan asemptomatik bir durum şeklindeki latent tüberküloz enfeksiyonu (LTBI), tüberküloz hastalığının aylar veya yıllar sonra meydana gelebildiği bazı bireylerde sürer. LTBI tanısının konulmasının başlıca amacı, tüberküloz hastalığını önlemek için tıbbi tedaviyi değerlendirmektir. Bu zamana dek LTBI tanısı koymak için tüberkülin cilt testi (TST) mevcut tek yöntemdir.

Tüberküline karşı kutanöz hassasiyet enfeksiyondan sonra 2 ila 10 hafta içinde gelişir. Ancak, immün fonksiyonları engelleyen çok çeşitli durumların olduğu bireyler dahil bazı enfekte bireyler ve aynı zamanda bu durumların olmadığı diğer bireyler tüberküline karşı yanıt vermez. Diğer taraftan, *M. tuberculosis* enfeksiyonu olma ihtimali beklenilmeyen bazı bireyler tüberküline karşı hassasiyet gösterir ve *M. tuberculosis* kompleksinden başka mikobakteriler veya belirlenemeyen diğer faktörlerle enfeksiyon sonrası bacille Calmette-Guérin (BCG) ile aşılamaı takiben pozitif TST sonuçlarına sahiptirler.

Diğer organ sistemleri de etkilenebilmesine rağmen, genellikle akciğerleri ve alt solunum yolunu tutan bildirilmesi zorunlu bir durum olan LTBI, tüberkülozdan ayırt edilmelidir. Tüberküloz hastalığı tanısı geçmiş, fiziksel, radyolojik, histolojik ve mikrobakteriyolojik bulgularla konulur.

QFT, mikobakteriyel proteinlerini simüle eden peptid antiijenlere karşı hücreye bağımlı immün (CMI) yanıtlara yönelik bir testtir. ESAT-6, CFP-10 ve TB7.7(p4) şeklindeki bu proteinler, tüm BCG suşları ile *M. kansasii*, *M. szulgai* ve *M. marinum* dışında birçok nontüberküloz mikobakteride bulunmaz.(1) *M. tuberculosis* kompleks organizmaları ile enfekte olan bireylerde genellikle bu ve diğer mikobakteriyel antiijenleri tanıyan lenfositler bulunur. Bu tanıma işlemleri, sitokin, IFN-γ'nin oluşumu ve sekresyonunu içerir. IFN-γ'nin tespiti ve sonrasında miktar tayini, bu testin temelini oluşturur.

QFT'de kullanılan antiijenler, ESAT-6, CFP-10 ve TB7.7(p4) proteinlerini simüle eden bir peptid kokteylidir. Çok sayıda çalışma, bu peptidlerin *M. tuberculosis* ile enfekte olan, ancak genellikle enfekte olmamış veya LTBI hastalığı veya riski olmayan BCG aşısı yapılmış bireylerden T hücrelerindeki IFN-γ yanıtlarını stimüle eder.(1-32) Bununla birlikte immün işlevselliği bozan medikal tedaviler veya durumlar IFN-γ yanıtlarını potansiyel olarak azaltabilir. Diğer belirli mikobakteriyel enfeksiyonların olduğu hastalar da ESAT-6, CFP-10 ve TB7.7(p4) proteinlerine duyarlı olabilir, çünkü bu proteinleri kodlayan genler *M. kansasii*, *M. szulgai* ve *M. marinum*'da bulunur.(1, 23) QFT testi hem LTBI'ye yönelik bir testtir, hem de hasta kişilerde *M. tuberculosis* kompleks enfeksiyonu tanısı koymak için faydalı bir yardımcıdır. Pozitif sonuç tüberküloz hastalığı tanısını destekler, ancak diğer mikobakterilerle olan (örn. *M. kansasii*) enfeksiyonlar da pozitif sonuçlara yol açabilir. Tüberküloz hastalığını doğrulamak veya dışlamak için diğer medikal ve diyagnostik değerlendirmeler gereklidir.

Test Prensipleri

QFT sisteminde tam kan almak için kullanılan özel kan alma tüpleri kullanılır. Tüpler içinde 16 ila 24 saatte meydana gelen kanın inkübasyonundan sonra plazma toplanır ve peptid antijenlerine yanıt olarak üretilen IFN- γ varlığı için test edilir.

QFT testi iki aşamada gerçekleştirilir. Öncelikle, bir Nil tüpü, TB Antijen tüpü ve bir Mitojen tüpünden oluşan QFT kan alma tüplerinin her birine tam kan alınır.

Mitojen tüpü QFT testinde pozitif kontrol olarak kullanılır. Bireyin immün durumuna ilişkin şüphe bulunan durumlarda bu özellikle garanti edilebilir. Mitojen tüpü doğru kan kullanımı ve inkübasyonu için bir kontrol olarak da işlev görür.

Tüplerin 37°C'de, olabildiğince çabuk şekilde ve alındıktan sonraki 16 saat içinde inkübe edilmesi gerekir. 16 ila 24 saatlik bir inkübasyon süresinin ardından, tüpler santrifüj edilir, plazma çıkarılır ve ELISA aracılığıyla IFN- γ (IU/ml) miktarı ölçülür.

TB Antijen tüpü değeri, Nil IFN- γ IU/ml değerinin çok üzerinde olduğunda, bir IFN- γ yanıtına yönelik test pozitif sayılır. Kullanılırsa, Mitojen tüpündeki plazma örneği test edilen her numune için bir IFN- γ pozitif kontrolü olarak işlev görür. Mitojene düşük yanıt alınması (<0,5 IU/ml), kan örneği aynı zamanda TB antijenlerine reaktif olmayan bir yanıt veriyorsa, alınan sonucun belirleyici olmadığını gösterir. Bu durum, yetersiz lenfosit, hatalı numune kullanımına bağlı düşük lenfosit aktivitesi, Mitojen tüpünün yanlış doldurulması/karıştırılması veya hastanın lenfositlerinin IFN- γ üretememesi halinde görülebilir. Nil örneği, kan örneklerinde arkaplana, heterofil antikör etkilerine veya spesifik olmayan IFN- γ 'ye göre ayarlanır. Nil tüpünün IFN- γ seviyesi (kullanılırsa) TB Antijen tüpü ve Mitojen tüpü IFN- γ seviyesinden çıkarılır.

Testi Gerçekleştirmek için Gereken Süre

QFT testini gerçekleştirmek için gereken tahmini süre aşağıda belirtilmiştir; gruplandırılmış birden çok örneğin test süresi de ayrıca gösterilmiştir:

Kan tüplerinin 37°C'de inkübasyonu: 16 ila 24 saat

ELISA: Bir ELISA plakası için yaklaşık 3 saat

(28 ila 44 birey)

<1 saat işçilik

Her bir ekstra plaka için 10 ila 15 dakika eklenmelidir

3. Bileşenler ve Saklama

Blood Collection Tubes* (Kan Alma Tüpleri)	300 tüp	200 tüp	100 tüp
Katalog no.	T0590-0301	0590-0201	T0593-0201
Prep sayısı	100	100	100
QuantiFERON Nil Tube (Nil Tüpü) (gri kapaklı, beyaz halkalı)	100 tüp	100 tüp	
QuantiFERON TB Antigen Tube (Antijen Tüpü) (kırmızı kapaklı, beyaz halkalı)	100 tüp	100 tüp	
QuantiFERON Mitogen Tube (Mitojen Tüpü) (mor kapaklı, beyaz halkalı)	100 tüp		100 tüp
QFT Kan Alma Tüpleri Prospektüsü	1	1	1
High Altitude (HA) Blood Collection Tubes (Yüksek Rakım (HA) Kan Alma Tüpleri) (1020 ve 1875 metre arasında kullanım için)*	300 tüp	100 tüp	100 tüp
Katalog no.	T0590-0505	0590-0501	T0593-0501
QuantiFERON HA Nil Tube (Nil Tüpü) (gri kapaklı, sarı halkalı)	100 tüp	100 tüp	
QuantiFERON HA TB Antigen Tube (Antijen Tüpü) (kırmızı kapaklı, sarı halkalı)	100 tüp	100 tüp	
QuantiFERON HA Mitogen Tube (Mitojen Tüpü) (mor kapaklı, sarı halkalı)	100 tüp		100 tüp
QFT Kan Alma Tüpleri Prospektüsü	1	1	1

* Tüm ürün konfigürasyonları her ülkede mevcut değildir. Sipariş edilebilecek mevcut konfigürasyonlarla ilgili daha fazla bilgi için lütfen QIAGEN müşteri hizmetlerine (ayrıntılar www.qiagen.com sitesinde mevcuttur) başvurun.

ELISA Bileşenleri	2 Plakalı ELISA Kiti	Referans Laboratuvar Paketi
Katalog no.	0594-0201	0594-0501
Murin anti-human IFN- γ monoklonal antikorlu kaplı Mikroplaka Stripleri (12 x 8 kuyulu)	2 set 12 x 8 kuyulu Mikroplaka Stripleri	20 set 12 x 8 kuyulu Mikroplaka Stripleri
Human IFN- γ Standard, lyophilized (İnsan IFN- γ Standardı, liyofilize) (rekombinant insan IFN- γ , bovin kazein, %0,01 w/v Thimerosal içerir)	1 x şişe (çözüldüğünde 8 IU/ml)	10 x şişe (çözüldüğünde 8 IU/ml)
Green Diluent (Yeşil Seyreltici) (bovin kazein, normal fare serumu, %0,01 w/v Thimerosal içerir)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100X Concentrate, lyophilized (Konjugat 100X Konsantre, liyofilize) (murin anti-human IFN- γ HRP, %0,01 w/v Thimerosal içerir)	1 x 0,3 ml (çözüldüğünde)	10 x 0,3 ml (çözüldüğünde)
Wash Buffer 20X Concentrate (Yıkama Tamponu 20X Konsantre) (pH 7,2, %0,05 v/v ProClin® 300 içerir)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Enzim Substrat Solüsyonu) (H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' Tetrametilbenzidin içerir)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Enzim Durdurma Solüsyonu) (0,5M H ₂ SO ₄ içerir) [†]	1 x 15 ml	10 x 15 ml
QFT ELISA Prospektüsü	1	1

[†] Sülfürik asit içerir. Önlemler için bkz. sayfa 9.

Gerekli Olan Ancak Sağlanmayan Malzemeler

- 37°C inkübatör. CO₂ gerekmez
- 10 μ l ila 1000 μ l uygulama için kalibre edilmiş değişken hacimli pipetler ve tek kullanımlık uçları
- 50 μ l ila 100 μ l uygulama kapasiteli, kalibre edilmiş çok kanallı pipetler ve tek kullanımlık uçları
- Mikroplaka çalkalayıcı
- 2 litre deiyonize veya damıtılmış su
- Mikroplaka yıkayıcı (otomatik yıkayıcı tavsiye edilir)
- 450 nm filtrelili ve 620 nm ila 650 nm referans filtrelili mikroplaka okuyucu

Saklama ve Kullanma

Kan Alma Tüpleri

- Kan alma tüplerini 4°C ila 25°C'de saklayın.

Kit Reaktifleri

- Kit reaktiflerini 2°C ila 8°C'de soğutun.
- Enzim Substrat Solüsyonunu daima doğrudan güneş ışığından koruyun.

Yeniden Hazırlanmış ve Kullanılmamış Reaktifler

Reaktiflerin nasıl sulandırılacağına yönelik talimatlar için lütfen Bölüm 6'ya bakın (sayfa 13)

- Yeniden hazırlanan kit standardı, 2°C ila 8°C'de saklandığı takdirde 3 aya kadar muhafaza edilebilir.
Kit standardının yeniden hazırlandığı tarihi kaydedin.
- Yeniden hazırlandığında, kullanılmamış Konjugat 100X Konsantresi 2°C ila 8°C'de saklanmaya devam edilmeli ve 3 ay içinde kullanılmalıdır.
Konjugatın yeniden hazırlandığı tarihi kaydedin.
- Kullanıma hazır konjugat, hazırlanmasından itibaren 6 saat içinde kullanılmalıdır.
- Kullanıma hazır yıkama tamponu oda sıcaklığında 2 haftaya kadar saklanabilir.

4. Uyarılar ve Önlemler

İn vitro tanı amaçlı kullanım içindir

Uyarılar

- Negatif QFT sonucu *M. tuberculosis* enfeksiyonu veya tüberküloz hastalığı olasılığının önüne geçmez: yanlış negatif sonuç enfeksiyon aşamasına (örn. hücrel immün yanıt gelişiminden önce alınan numune), immün fonksiyonları etkileyen ko-morbid durumlar, venipunktür sonrası kan alma tüplerinin yanlış kullanılması, hatalı test performansı veya diğer immünolojik değişkenlerden kaynaklanabilir.
- Pozitif QFT sonucu *M. tuberculosis* enfeksiyonunu belirlemede tek veya kesin dayanak olmamalıdır. Hatalı test performansı yanlış pozitif yanıtlara neden olabilir.
- Pozitif QFT sonucu, aktif tüberküloz hastalığı için daha ileri medikal ve diyagnostik değerlendirme ile izlenmelidir (örn. AFB simiri ve kültürü, göğüs röntgeni).
- ESAT-6, CFP-10 ve TB7.7(p4) tüm BCG suşlarında ve en çok bilinen nontüberküloz mikobakterilerde bulunmazken, pozitif bir QFT sonucu *M. kansasii*, *M. szulgai* veya *M. marinum* enfeksiyonundan kaynaklanabilir. Bu tür enfeksiyonlardan şüphelenilirse alternatif testler araştırılmalıdır.

Önlemler

Sadece in vitro tanı amaçlı kullanım içindir.

Kimyasallar ile çalışırken, her zaman uygun laboratuvar önlüğü, tek kullanımlık eldiven ve koruyucu gözlük kullanın. Daha fazla bilgi için lütfen ürün sağlayıcısından edinebileceğiniz, uygun güvenlik veri sayfalarına (SDSs) başvurun. Bunlar, her bir QIAGEN kiti ve kit bileşenlerine ait SDS'yi bulabileceğiniz, görüntüleyebileceğiniz ve yazdırabileceğiniz www.qiagen.com/safety adresinde çevrimiçi olarak uygun ve kompakt PDF biçiminde mevcuttur.



DİKKAT: İnsan kanını kullanırken potansiyel enfeksiyöz olarak değerlendirin.
İlgili kan kullanımı yönergelerine uyun.

Aşağıdaki risk ve güvenlik önlemleri QuantiFERON-TB Gold ELISA bileşenleri için geçerlidir.

QuantiFERON Enzim Durdurma Solüsyonu



Xi

Sülfürik asit içerir: Tahrişe neden olur. Risk ve güvenlik ifadeleri:* R36/38, S26-36/37/39

- **Yeşil Seyreltici** normal fare serumu ve kazein içerir. Bu maddeler alerjik reaksiyonu tetikleyebilir; ciltle temasından kaçının.

Kimyasal Acil Durumlarda

Dökülme, Sızıntı, Maruz Kalma veya Kaza Durumlarında

CHEMTREC'i günün her saatinde arayabilirsiniz

ABD ve Kanada'da: 1-800-424-9300

ABD ve Kanada dışında: +1-703-527-3887 (ödemeli aramalar kabul edilir)

Daha fazla bilgi

Güvenlik Veri Sayfaları: www.qiagen.com/safety

- *QuantiFERON-TB Gold (QFT) ELISA Prospektüsünden* farklı işlemler, hatalı sonuçlara yol açabilir. Lütfen kullanmadan önce talimatları dikkatlice okuyun.
- Kullanım öncesinde bir reaktif şişesinde hasar veya akma ibaresi görülüyorsa, kiti kullanmayın.
- Farklı QFT kit gruplarından alınan Mikroplaka Striplerini, İnsan IFN- γ Standardını, Yeşil Seyrelticiyi veya Konjugat 100X Konsantresini karıştırmayın veya kullanmayın. Reaktiflerin son kullanma tarihleri ve kaydedilen lot ayrıntıları içinde kullanılması şartıyla, diğer reaktifler (Yıkama Tamponu 20X Konsantre, Enzim Substrat Solüsyonu ve Enzim Durdurma Solüsyonu) kitler arasında değiştirilebilir. Artan reaktifleri ve biyolojik numuneleri Yerel, Ulusal ve Federal düzenlemelere uygun şekilde imha edin.
- Kan alma tüplerini veya ELISA kitini son kullanma tarihinden sonra kullanmayın.
- Plaka yıkayıcılar ve okuyucular gibi laboratuvar ekipmanının kullanım için kalibre edilmiş/onaylanmış olduğundan emin olun.

* R36/38: Gözlerde ve ciltte tahrişe neden olur; S26: Gözle temas etmesi durumunda derhal bol suyla yıkayın ve tıbbi yardım alın; S36/37/39: Uygun koruyucu giysiler, eldiven ve göz/yüz koruyucu ekipman kullanın.

5. Numune Toplama ve Kullanımı

QFT'de aşağıdaki kan alma tüpleri kullanılır:

1. QuantiFERON Nil tüpleri (gri kapaklı, beyaz halkalı; deniz seviyesi ve 810 m arasında kullanın)
2. TB Antijen tüpleri (kırmızı kapaklı, beyaz halkalı; deniz seviyesi ve 810 m arasında kullanın)
3. QuantiFERON Mitojen tüpleri (mor kapaklı, beyaz halkalı; deniz seviyesi ve 810 m arasında kullanın)

Yüksek Rakım (HA) Tüpleri:

4. QuantiFERON HA Nil tüpleri (gri kapaklı, sarı halkalı; 1020 m ve 1875 m arasında kullanın)
5. HA TB Antijen tüpleri (kırmızı kapaklı, sarı halkalı; 1020 m ve 1875 m arasında kullanın)
6. QuantiFERON HA Mitojen tüpleri (mor kapaklı, sarı halkalı; 1020 m ve 1875 m arasında kullanın)

Antijenler kuruyup kan alma tüplerinin iç yüzeyine yapışmıştır, bu yüzden tüplerin içindeki maddelerin kanla iyice karıştırılması çok önemlidir. Kan alımını takip eden 16 saat içinde, tüpler mümkün olduğunca hızlı bir şekilde 37°C'lik inkübatöre transfer edilmelidir

En iyi sonuçları elde etmek için aşağıdaki prosedürler izlenmelidir:

1. Her bir kişi için, venipunktür ile doğrudan her bir QFT kan alma tüpüne 1 ml kan alın. Bu prosedür uzman bir flebotomist tarafından gerçekleştirilmelidir.

- Standart QFT kan alma tüpleri en fazla 810 m rakıma kadar kullanılmalıdır. Yüksek Rakım (HA) QFT kan alma tüpleri 1020 ve 1875 metre arasındaki rakımlarda kullanılmalıdır.
- Bu rakım aralıkları dışında yer alan QFT kan alma tüpleri kullanıyorsanız ya da alınan kan hacmi düşükse, kan bir şırınga kullanılarak alınabilir ve her üç tüpün her birine hemen 1 ml transfer edilebilir. Emniyet nedeniyle, bu işlemi yaparken şırınga iğnesini çıkarın, ilgili güvenlik prosedürlerini uygulayarak, 3 QFT tüpünün de kapaklarını çıkarın ve her birine 1 ml kan ekleyin (tüpün etiketinin yanındaki siyah işarete kadar). Kapakları sıkıca kapatın ve aşağıda anlatıldığı gibi karıştırın.
- 1 ml'lik tüpler diğer tüplere göre kanı biraz yavaş aldığından, tüp tamamen dolduğunda, doğru hacimde kanın tüpe alındığından emin olmak için, tüpü 2-3 saniye iğnenin üzerinde bekletin.

Tüpün yanındaki siyah işaret, 1 ml'lik dolun hacmini gösterir. QFT kan alma tüpleri, 0,8 ila 1,2 ml arasındaki hacimler için onaylanmıştır. Herhangi bir tüpte kan seviyesi belirteç çizgisine yakın değilse, başka bir kan örneği alınması tavsiye edilir.

- Kan alımı için "kelebek iğne" kullanılıyorsa, kullanılan QFT kan alma tüplerinden önce, hortumun kanla dolduğundan emin olmak için bir "tahliye" tüpü kullanılmalıdır.
- Alternatif olarak kan antikoagülan olarak lityum heparin içeren tek bir jenerik kan alma tüpüne alınabilir ve ardından QFT tüplerine transfer edilebilir. Diğer antikoagülanlar testle etkileşime girdiğinden antikoagülan olarak **sadece lityum heparin kullanın**. Bir kan alma tüpünü doldurun (minimum hacim 5 ml) ve heparini çözmek için birkaç kez ters çevirerek yavaşça karıştırın. Kan, alınmasından itibaren 16 saat içinde başlatılması **gereken** inkübasyon için QFT tüplerine transfer edilmeden önce oda sıcaklığında (22°C ± 5°C) tutulmalıdır.

2. Tüpler doldurulduktan hemen sonra tüpleri on (10) kez sallayın; antijenlerin tüp duvarlarında çözünmesi amacıyla tüpün iç yüzeyinin tamamen kanla kaplanmasına yetecek kadar güçlü bir şekilde sallayın.

- Kan doldurma sırasında sıcaklık 17-25°C arasında olmalıdır.
- Aşırı güçlü sallama jel bozunumuna ve anormal sonuçların alınmasına neden olabilir.
- Kan heparin tüpüne alınmışsa, örnekler QFT tüplerine dağıtılmadan önce eşit miktarda karıştırılmalıdır. Kanın **dağıtılmadan hemen önce** yavaşça ters çevrilerek iyice karıştırıldığından emin olun. Uygun bir Nil, TB Antijen ve Mitojen tüpüne 1,0 ml alikuot (her QFT tüpü için bir adet) dağıtın. Bu işlem aseptik olarak, **ilgili güvenlik prosedürlerini uygulayarak**, üç QFT tüpünün de kapakları çıkarılıp her birine 1 ml kan eklenerek (tüpün etiketinin yanındaki siyah işarete kadar) gerçekleştirilebilir. Tüp kapağını sıkıca kapatın ve aşağıda anlatıldığı gibi karıştırın.

3. Tüpleri uygun şekilde etiketleyin.

- Her bir tüpün (Nil, TB Antijen, Mitojen) kapak çıkarıldığında etiketiyle veya diğer yöntemlerle tanımlanabilir olduğundan emin olun.

4. Doldurma, çalkalama ve etiketleme sonrası, kan almayı takip eden 16 saat içinde, tüpler mümkün olduğunca çabuk 37°C ± 1°C'lik inkübatöre transfer edilmelidir. İnkübasyon öncesi, tüpleri oda sıcaklığında tutun (22°C ± 5°C). Kan örneklerini buzdolabına koymayın veya dondurmayın.

6. Kullanım Talimatları

1. Aşama — Kanın inkübasyonu ve plazmanın toplanması

Sağlanan malzemeler

- QFT kan alma tüpleri (Bölüm 3'e bakın).

Gerekli olan (ancak sağlanmayan) malzemeler

- Bölüm 3'e bakın.

Prosedür

1. Kan alındıktan hemen sonra inkübe edilmezse, tüplerin inkübasyondan önce 10 kez ters çevrilerek yeniden karıştırılması gerekir.
2. Tüpleri $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta 16 ila 24 saat süresince DİK olarak inkübe edin. Inkübatörün CO_2 içermesi veya nemli olması gerekli değildir.
3. 37°C 'de inkübasyondan sonra, kan alma tüpleri, santrifüjlenmeden önce, 4°C ila 27°C arasında 3 güne kadar saklanabilir.
4. Tüplerin 37°C 'de inkübasyonundan sonra, plazmanın toplanması tüplerin 15 dakika 2000 ila 3000 RCF (g)'de santrifüj edilmesiyle kolaylaştırılır. Jel tıpası, hücreleri plazmadan ayırır. Bu işlem olmazsa, tüpler daha yüksek bir hızda tekrar santrifüj edilmelidir.
 - Santrifüj yapılmadan da plazmayı almak mümkündür, ancak hücreleri bozmadan plazmayı ayırmak için ekstra dikkat edilmesi gereklidir.
5. Plazma örnekleri yalnızca pipet ile toplanmalıdır.
 - Santrifüj yaptıktan sonra, plazmayı toplamadan önce aşağı ve yukarı doğru pipetleme yapmaktan veya herhangi bir yolla plazmayı karıştırmaktan kaçının. İşlemin her aşamasında, jel üzerindeki materyali bozmamaya dikkat edin.
 - Plazma örnekleri doğrudan santrifüj edilmiş kan toplama tüplerinden QFT ELISA plakasına yüklenebilir. Bu durum, otomatik ELISA platformları kullanıldığında da geçerlidir.
 - Plazma örnekleri 2°C ila 8°C 'de 28 güne kadar saklanabilir veya toplanmışlarsa -20°C 'nin altında uzun süre saklanabilir.
 - Yeterli test örnekleri için en az $150 \mu\text{l}$ plazma toplayın.

2. Aşama — İnsan IFN-γ ELISA

Sağlanan malzemeler

- QFT ELISA kit (Bölüm 3'e bakın).

Gerekli olan ancak sağlanmayan malzemeler

- Bölüm 3'e bakın.

Prosedür

1. Tüm plazma numuneleri ve reaktifler, Konjugat 100X Konsantre hariç, kullanılmadan önce oda sıcaklığına ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) getirilmelidir. Dengeleme için en az 60 dakika bekletilmelidir.
2. Kullanılmayacak şeritleri çerçeveden çıkarın, ambalajına geri koyun ve gerektiğinde kullanılmak üzere saklamak için buzdolabına geri koyun.

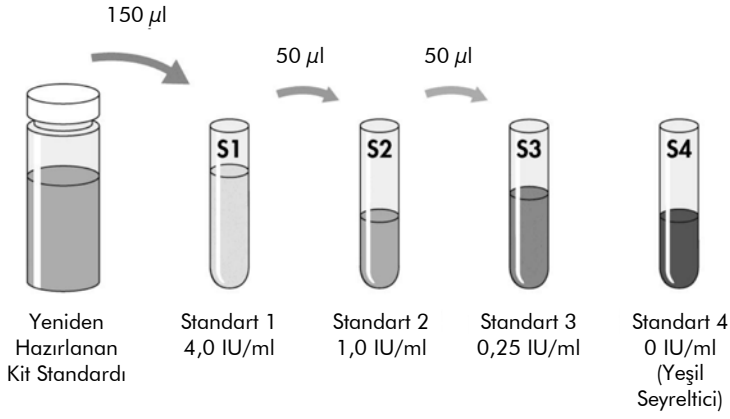
QFT standartları için en az 1 şerit ve test edilecek kişi sayısı için yeterli miktarda şerit bulundurun (sırasıyla 3 tüp ve 2 tüp formatları için Şekil 2A ve 2B'ye bakın). Kullanımdan sonra, kalan şeritlerin kullanımı için plak çerçevesini ve kapağı saklayın.

3. Dondurularak kurutulmuş kit standardını, Standart şişesinin etiketinde belirtilen miktarda deiyonize veya distile su ile çözün. Köpürmesini azaltmak ve tamamen çözüldüğünden emin olmak için, hafifçe karıştırın. Belirtilen hacimde standardın çözülmesi ile 8,0 IU/ml konsantrasyonunda solüsyon elde edilir.

Not: Kit standardının çözülme hacmi kit grupları arasında farklılık gösterir.

Yeşil Seyreltici (GD) içindeki 4'lü IFN-γ dilüsyon serisinden 1 adet hazırlamak için çözülmüş kit standardını kullanın (bkz. Şekil 1). S1 (Standart 1) 4 IU/ml içerir, S2 (Standart 2) 1 IU/ml içerir, S3 (Standart 3) 0,25 IU/ml içerir ve S4 (Standart 4) 0 IU/ml içerir (tek başına GD). Standartlar en azından çift olarak test edilmelidir.

Çift standartlar için önerilen prosedür	Üçerli standartlar için önerilen prosedür
a. 4 tüpü "S1", "S2", "S3", "S4" olarak etiketleyin.	a. 4 tüpü "S1", "S2", "S3", "S4" olarak etiketleyin.
b. S1, S2, S3, S4'e 150 µl GD ekleyin.	b. S1'e 150 µl GD ekleyin.
c. S1'e 150 µl kit standardı ekleyin ve iyice karıştırın.	c. S2, S3, S4'e 210 µl GD ekleyin.
d. S1'den 50 µl alıp S2'ye koyun ve iyice karıştırın.	d. S1'e 150 µl kit standardı ekleyin ve iyice karıştırın.
e. S2'den 50 µl alıp S3'e koyun ve iyice karıştırın.	e. S1'den 70 µl alıp S2'ye koyun ve iyice karıştırın.
f. GD tek başına sıfır standardı olarak işlev görür (S4).	f. S2'den 70 µl alıp S3'e koyun ve iyice karıştırın.
	g. GD tek başına sıfır standardı olarak işlev görür (S4).



Şekil 1. Standart eğrinin hazırlanışı. Her ELISA seansı için kit standardının dilüsyonlarını taze olarak hazırlayın.

4. Dondurularak kurutulmuş Konjugat 100X Konsantre'yi 0,3 ml deiyonize veya distile su ile çözün. Köpürmesini azaltmak ve konjugatın tamamen çözüldüğünden emin olmak için, hafifçe karıştırın.

Kullanıma hazır konjugat, Tablo 1 — Konjugat Hazırlama'da belirtildiği gibi, gereken miktarda çözülmüş Konjugat 100X Konsantre'nin Yeşil Seyreltici ile seyreltilmesiyle hazırlanır.

Tablo 1. Konjugat hazırlama

Şerit sayısı	Konjugat 100X Konsantre Hacmi	Yeşil Seyreltici Hacmi
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

- Köpürmesini engellemek için hafifçe ama iyice karıştırın.
- Kullanımdan hemen sonra, kalan açılmamış Konjugat 100X Konsantre'yi 2°C ila 8°C'de muhafaza etmek üzere kaldırın.
- Sadece Yeşil Seyreltici kullanın.

5. Kan alma tüplerinde toplanan ve sonrasında test öncesi 24 saatten uzun bir süre dondurulan veya saklanan plazma örneklerini ELISA kuyusuna eklemeyen önce iyice karıştırın.
- Plazma örnekleri santrifüj edilmiş QFT tüplerinden doğrudan eklenecekse plazmanın karıştırılmasından kaçınılmalıdır.
6. Çok kanallı pipet kullanarak, gerekli ELISA kuyularına 50 µl taze hazırlanmış kullanıma hazır konjugat ekleyin.
7. Çok kanallı pipet kullanarak uygun kuyulara 50 µl test plazma örnekleri ekleyin (sayfa 15'deki Şekil 2A ve 2B'de önerilen plaka düzenine bakın). Son olarak, 1 ila 4 arası Standartların her birine 50 µl ekleyin.

	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

Şekil 2A. Nil, TB Antijen ve Mitojen tüpleri için önerilen örnek düzeni (her plaka için 28 test).

- S1 (Standart 1), S2 (Standart 2), S3 (Standart 3), S4 (Standart 4)
- 1N (Örnek 1. Nil plazma), 1A (Örnek 1. TB Antijen plazma), 1M (Örnek 1. Mitojen plazma)

	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

Şekil 2B. Nil ve TB Antijen tüpleri için önerilen örnek düzeni (her plaka için 44 test).

- S1 (Standart 1), S2 (Standart 2), S3 (Standart 3), S4 (Standart 4)
- 1N (Örnek 1. Nil plazma), 1A (Örnek 1. TB Antijen plazma)

8. Mikropilaka çalkalayıcı kullanarak, konjugat ve plazma örneklerini/standartlarını 1 dakika boyunca iyice karıştırın.

9. **Her plakayı kapak ile kapatın ve oda sıcaklığında ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) 120 ± 5 dakika inkübe edin.**
 - Plakalar inkübasyon sırasında doğrudan güneş ışığına maruz kalmamalıdır.
10. **İnkübasyon sırasında, bir birim Yıkama Tamponu 20X Konsantreyi 19 birim deiyonize veya distile su ile seyreltin ve iyice karıştırın. Mevcut Yıkama Tamponu 20X Konsantre, 2 litre kullanıma hazır yıkama solüsyonu hazırlamak için yeterlidir.**

Kuyuları **400 μl** kullanıma hazır yıkama solüsyonu ile en az 6 kez yıkayın. Otomatik bir plaka yıkayıcı kullanılması tavsiye edilir.

 - Testin performansı için düzgün bir yıkama yapılması çok önemlidir. Her kuyunun, her yıkama aşamasında, yıkama solüsyonu ile **tamamen dolu** olduğundan emin olun. Her yıkama adımı arasında en az 5 saniye bekleme periyodu olması tavsiye edilir.
 - Atık kabına standart laboratuvar dezenfektanı eklenmelidir ve potansiyel enfektif materyallerinin dekontaminasyonu için gerekli prosedürler uygulanmalıdır.
11. **Plakaların üzerinde kalan yıkama solüsyonunu gidermek için plakaları emici, tiftiksiz bir havlu üzerinde ters çevirin ve arkasına vurun. Her kuyuya 100 μl Enzim Substrat Solüsyonundan ekleyin ve bir mikropilaka çalkalayıcı kullanarak iyice karıştırın.**
12. **Her plakayı kapak ile kapatın ve oda sıcaklığında ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) 30 dakika inkübe edin.**
 - Plakalar inkübasyon sırasında doğrudan güneş ışığına maruz kalmamalıdır.
13. **30 dakikalık inkübasyonu takiben, her kuyuya 50 μl Enzim Durdurma Solüsyonu ekleyin ve karıştırın.**
 - Enzim Durdurma Solüsyonu, 11. adımdaki substrat ile aynı sıra ile ve yaklaşık aynı hızda kuyulara eklenmelidir.
14. **450 nm'lik bir filtresi ve 620 nm ila 650 nm'lik referans filtresi bulunan bir mikropilaka okuyucu kullanarak, reaksiyonu durdurduktan sonraki 5 dakika içinde her bir kuyunun Optik Dansitesini (OD) ölçün. OD değerleri sonuçların hesaplanmasında kullanılır.**

7. Hesaplamalar ve Testin Yorumlanması

QFT Analiz Yazılımı, ham verilerin analizi ve sonuçların hesaplanmasında kullanılır. www.QuantiFERON.com adresinden edinilebilir. Lütfen yazılımın en güncel sürümünün kullanıldığından emin olun.

Yazılım, Sonuçların Yorumlanması bölümünde detaylı şekilde anlatıldığı gibi, testin kalite kontrol değerlendirmesini gerçekleştirir, bir standart eğri oluşturur ve her kişi için bir test sonucu sunar.

QFT Analiz Yazılımını kullanmak yerine, sonuçlar aşağıdaki metoda göre hesaplanabilir.

Standart Eğrinin Çizilmesi

(QFT Analiz Yazılımı kullanılmazsa)

Her plakadaki kit standardı tekrarlamalarından ortalama OD değerlerini hesaplayın.

Ortalama OD $\log_{(e)}$ 'sine (y-ekseni) karşı standartların IU/ml cinsinden IFN- γ konsantrasyonu $\log_{(e)}$ 'si (x-ekseni) çizerek bir $\log_{(e)}$ - $\log_{(e)}$ standart eğrisi oluşturun; sıfır standardını bu hesaplamalara katmayın. Standart eğrinin en iyi çizimini regresyon analizi ile hesaplayın.

Her bir örneğin OD değerini kullanarak, her bir test plazma örneğinin IFN- γ konsantrasyonu (IU/ml) belirlemek için standart eğriyi kullanın.

Bu hesaplamalar, mikroparka okuyucularla gelen yazılım paketleri ve standart çalışma sayfası veya istatistik yazılımları (Microsoft® Excel® gibi) kullanılarak da yapılabilir. Bu paketlerin, regresyon analizinin, standartların değişim katsayısının (%CV) ve standart eğrinin doğruluk katsayısının (r) hesaplanmasında kullanılması tavsiye edilir.

Testin Kalite Kontrolü

Test sonucunun kesinliği, doğru bir standart eğrinin oluşturulmasına bağlıdır. Bu yüzden, test örneği sonuçları yorumlanmadan önce standartlardan edinilen sonuçlar gözden geçirilmelidir.

ELISA'nın geçerli olması için:

- Standart 1'in ortalama OD değeri $\geq 0,600$ olmalıdır.
- Standart 1 ve Standart 2'nin tekrarlarının OD değerleri arasındaki %CV $\leq \%15$ olmalıdır.
- Standart 3 ve Standart 4'ün tekrarlamalarının OD değerleri ile ortalamaları arasında 0,040 optik dansite değerinden fazla fark olmamalıdır.
- Standartların ortalama absorbans değerlerinden hesaplanan korelasyon katsayısı (r) $\geq 0,98$ olmalıdır.

QFT Analiz Yazılımı bu kalite kontrol parametrelerini hesaplar ve rapor eder.

Yukarıdaki kriterler karşılanmıyorsa, çalışma geçersiz kabul edilmeli ve tekrarlanmalıdır.

Sıfır Standardının (Yeşil Seyreltici) ortalama OD değeri $\leq 0,150$ olmalıdır. Eğer ortalama OD değeri $> 0,150$ ise plaka yıkama prosedürü gözden geçirilmelidir.

Sonuçların Yorumlanması

QFT sonuçları aşağıdaki kriterler kullanılarak yorumlanır:

Not: Tüberküloz hastalığı tanısının konması veya hastalığın dışlanması ve LTBI olasılığının değerlendirilmesi, QFT sonuçlarını yorumlarken dikkate alınması gereken epidemiyolojik, geçmiş, medikal ve diyagnostik bulguların kombinasyonunu gerektirir (Tablo 2 ve 3).

Tablo 2. Nil, TB Antijen ve Mitojen tüpleri kullanıldığında

Nil (IU/ml)	TB Antijen eksi Nil (IU/ml)	Mitojen eksi Nil (IU/ml)*	QFT sonucu	Rapor/Yorumlama
≤ 8,0	< 0,35	≥ 0,5	Negatif	<i>M. tuberculosis</i> enfeksiyonu olası DEĞİL
	≥ 0,35 ve < %25 Nil değeri	≥ 0,5	Negatif	<i>M. tuberculosis</i> enfeksiyonu olası DEĞİL
	≥ 0,35 ve ≥ %25 Nil değeri	Tümü	Pozitif†	<i>M. tuberculosis</i> enfeksiyonu olası
	< 0,35	< 0,5	Şüpheli‡	TB-Antijen yanıt verebilirliği için sonuçlar şüphelidir
	≥ 0,35 ve < %25 Nil değeri	< 0,5	Şüpheli‡	TB-Antijen yanıt verebilirliği için sonuçlar şüphelidir
> 8,0§	Tümü	Tümü	Şüpheli‡	TB-Antijen yanıt verebilirliği için sonuçlar şüphelidir

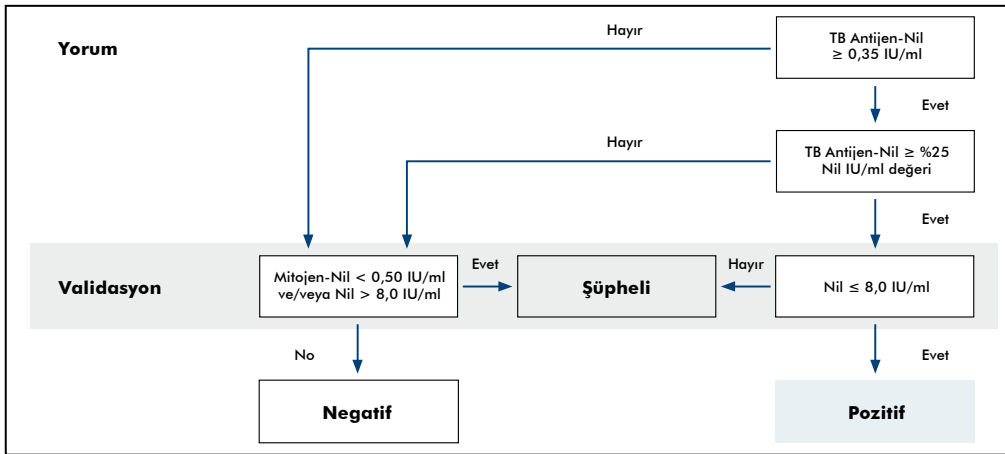
* Mitojen pozitif kontrole (ve zaman zaman TB Antijenine) karşı yanıtlar sık sık mikropkara okuyucuların okuma aralığının dışında olabilir. Bu durumun test sonuçlarına herhangi bir etkisi olmaz.

† *M. tuberculosis* enfeksiyonunun şüpheli olmadığı durumda, başlangıçta pozitif olan sonuçlar, QFT ELISA'da çift olarak orijinal plazma örneklerinin yeniden test edilmesiyle doğrulanabilir. Bir veya iki tekrarlamanın tekrar testi pozitifse, kişinin testi pozitif olarak değerlendirilmelidir.

‡ Olası nedenleri için "Sorun Giderme" kısmına bakın.

§ Klinik çalışmalarda deneklerin %0,25'inden azında, Nil değeri için > 8,0 IU/ml IFN-γ seviyeleri söz konusuydu.

Ölçülen IFN-γ seviyesinin büyüklüğü, enfeksiyon aşaması veya derecesi, immün yanıt verebilirlik seviyesi ya da aktif hastalığa dönüşüm olasılığı ile ilişkilendirilemez.

**Şekil 3. Nil, TB Antijen ve Mitojen tüplerinin kullanıldığı yorumlama akış şeması.**

Tablo 3. Sadece QuantiFERON Nil ve TB Antijen tüpleri kullanıldığında

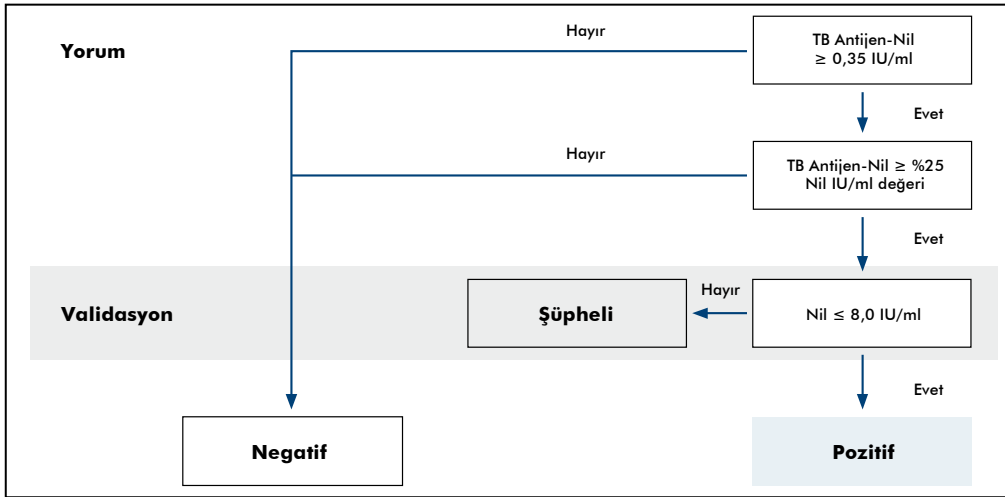
Nil (IU/ml)	TB Antijen eksi Nil (IU/ml)	QFT sonucu	Rapor/Yorumlama
≤ 8,0	< 0,35	Negatif	<i>M. tuberculosis</i> enfeksiyonu olası DEĞİL
	≥ 0,35 ve < %25 Nil değeri	Negatif	<i>M. tuberculosis</i> enfeksiyonu olası DEĞİL
	≥ 0,35 ve ≥ %25 Nil değeri	Pozitif*	<i>M. tuberculosis</i> enfeksiyonu olası
> 8,0 [†]	Tümü	Şüpheli [‡]	TB-Antijen yanıt verebilirliği için sonuçlar şüphelidir

* *M. tuberculosis* enfeksiyonunun şüpheli olmadığı durumda, başlangıçta pozitif olan sonuçlar, QFT ELISA'da çift olarak orijinal plazma örneklerinin yeniden test edilmesiyle doğrulanabilir. Bir veya iki tekrarlamanın tekrar testi pozitifse, kişinin testi pozitif olarak değerlendirilmelidir.

[†] Klinik çalışmalarda deneklerin %0,25'inden azında, Nil değeri için > 8,0 IU/ml IFN- γ seviyeleri söz konusuydu.

[‡] Olası nedenleri için "Sorun Giderme" kısmına bakın.

Ölçülen IFN- γ seviyesinin büyüklüğü, enfeksiyon aşaması veya derecesi, immün yanıt verebilirlik seviyesi ya da aktif hastalığa dönüşüm olasılığı ile ilişkilendirilemez.



Şekil 4. Nil ve TB Antijen tüpleri kullanıldığında yorumlama akış şeması.

8. Sınırlamalar

QFT test sonuçları, her bireyin kendi epidemiyolojik geçmişi, mevcut medikal durumu ve diğer teşhis değerlendirmelerinin bir birleşimi ile birlikte kullanılmalıdır.

Nil değerleri 8 IU/ml'den büyük olan bireyler "şüpheli" olarak sınıflandırılır, çünkü TB antijenlerine karşı %25'ten yüksek bir yanıt, test ölçüm aralığının dışında olabilir.

Aşağıdakilere bağlı olarak emin olunmayan veya şüpheli sonuçlar elde edilebilir:

- *QuantiFERON-TB Gold (QFT) ELISA Prospektüsünde* anlatılan prosedürden farklı işlemler
- Aşırı yüksek seviyelerde IFN- γ dolaşımı veya heterofil antikörlerin varlığı
- Kan numunesi alma ile 37°C'deki inkübasyon arası sürenin 16 saatten fazla olması

9. Performans Özellikleri

Klinik Çalışmalar

Latent tüberküloz enfeksiyonuna (LTBI) yönelik kesin bir standart bulunmadığı için, QFT testinin tahmini hassasiyeti veya özgüllüğüne yönelik bir tahmin pratik olarak değerlendirilemez. QFT'nin özgüllüğü, düşük tüberküloz enfeksiyonu riski olan (bilinen risk faktörleri olmayan) kişilerde yanlış pozitif oranlar değerlendirilerek yaklaşık olarak tahmin edilebilir. Hassasiyet, kültürle doğrulanmış aktif TB hastalığı olan hasta grupları değerlendirilerek yaklaşık olarak tahmin edilebilir.

Özgüllük

866 gönüllüyü kapsayan bir ABD çalışmasında, TST yerleştirildiğinde QFT için kan alınmıştır. TB için demografik bilgiler ve risk faktörleri, test sırasında standart bir anket kullanılarak belirlenmiştir. *M. tuberculosis* enfeksiyonu için bilinen risk faktörlerinin olmadığı 432 gönüllüden 391'i için QFT ve TST sonuçları mevcuttu. Hiçbirine BCG aşısı yapılmamıştı. Japonya'da yaklaşık %90'ına BCG aşısının yapıldığı düşük riskli bireylerde QFT ile ikinci bir hassasiyet çalışması gerçekleştirilmiştir. 2 özgüllük çalışmasından elde edilen sonuçlar Tablo 4'te gösterilmiştir.

Tablo 4. QFT özgüllüğü: *M. tuberculosis* enfeksiyonu için bildirilen bir riskin olmadığı kişiler için sonuçlar

Çalışma	BCG durumu (% aşılınmış)	Toplam test edilen	No. QFT şüpheli	No. QFT pozitif / no. geçerli test	QFT özgüllüğü (%95 CI)	No. TST pozitif / no. test edilen	TST* özgüllüğü (%95 CI)
ABD (yayınlanmamış)	%0	391	1	3/390	%99,2 (98-100)	6/391	%98,5 (97-99)
Japonya (15)	~%90	168	6	2/162	%98,8 (95-100)	-	-
Toplam	-	559	7/559 (%1,3)	5/552	%99,1 (98-100)	-	-

* Non-BCG ile aşılınmış kişilerde 10 mm TST eşik değeri kullanılarak. 15 mm'lik bir eşik değeri kullanılırsa TST özgüllüğü tahmini %99,1'dir.

Aktif TB için hassasiyet

Sonrasında kültür testi ile *M. tuberculosis* enfeksiyonu olduğu doğrulanan ABD, Avustralya ve Japonya'dan TB şüphelileri QFT hassasiyetinin değerlendirilmesi için test edilmiştir. Latent TB enfeksiyonu (LTBI) için kesin standart test yokken, hastalığın olduğu kişiler doğası gereği enfekte olduğundan *M. tuberculosis*'in mikrobiyolojik kültürü uygun bir şekilde bunun yerini tutar. QFT testi için kan alma öncesi hastalara 8 günden az tedavi verilmiştir.

Tablo 5 *M. tuberculosis* kültür pozitif 3 grup hastanın bulgularını özetlemektedir. Aktif TB hastalığı için toplam QFT hassasiyeti %89'du (157/177).

Tablo 5. QFT: Kültürle doğrulanmış *M. tuberculosis* enfeksiyonu olan kişiler

Çalışma	No. QFT pozitif / no. geçerli test	QFT hassasiyeti (%95 CI)
Japon TB hastaları (15)	86/92	%93 (%86-97)
Avustralyalı	24/27	%89 (%70-97)
ABD	47/58	%81 (%68-90)
Toplam	157/177	%89 (%83-93)

LTBI Tanısı

LTBI için risk altında olan çeşitli popülasyonlarda QFT'nin performansını gösteren birkaç çalışma yayınlanmıştır. Seçilen bazı çalışmaların başlıca bulguları Tablo 6'da gösterilmiştir.

Tablo 6. LTBI riski altında olan popülasyonlarda QFT ile ilgili seçilmiş yayınlanan çalışmalar

Çalışma	Toplam test edilen	Sonuçlar ve bulgular
Healthcare workers in India (Pai, et al 2005) (26)	726	Çok yüksek TB oranlarının olduğu ortam. 10 mm'de %40 QFT pozitif ve %41 TST pozitif. TST ile yüksek uyum, her iki tarafta BCG etkisi yok. Sağlık hizmetinde çalışma yaşı ve süresi risk faktörleriyle ilgili her iki test.
Danish HIV+ patients (Brock, et al 2006) (5)	590	QFT ile toplam LTBI prevalansı HIV + kişilerde %4,6'ydı (27/590). Pozitif sonuçlar TB riskleri ile ilişkiliydi. İki QFT pozitif kişide 1 yıl içinde aktif TB gelişmiştir. Şüpheli yanıtlar (n=20, %3,4), < 100/μl CD4 sayısı ile anlamlı olarak ilişkiliydi.
Hospitalized children in India (Dogra, et al 2006) (10)	105	TB şüphesi olan veya TB teması geçmişi olan çocuklar QFT ve TST ile test edilmiştir; 10 mm'de %10,5 QFT pozitif ve %9,5 TST pozitif. Testler arasındaki uyum toplamda %95,2 ve non-BCG aşılanmış durumda %100'dü.
Contact investigations in Germany (Diel, et al 2006) (9)	309	15 farklı indeks vakasının yakın temasları test edilmiştir: %51'ine BCG aşısı yapılmış, %27'si dış kaynaklı; BCG aşısı yapılanların %70'i ile aşı yapılmamış olanların %18'i TST pozitifken (5 mm), sırasıyla %9 ve %11'i QFT pozitif. QFT TB riski ile ilişkiliydi. TST sadece BCG aşısı ile ilişkiliydi.

Daha birçok çalışma, QuantiFERON-TB Gold (QFT prekürsörü) ve QFT testinin daha az duyarlı sıvı antijen versiyonunun performansını tanımlamaktadır. Bu çalışmalar, aktif TB vakalarının (9, 11, 19, 25), çocukların (6-10, 25, 28), HIV pozitif hastaların (2, 5, 20), sağlık hizmeti çalışanlarının (13, 26, 32), immün süprese hastaların (3, 4, 22, 23, 27, 30, 31) ve yanı sıra TB şüpheliler (7, 8, 10, 18) ile düşük riskli bireylerin (15) temas durumlarında testin/testlerin kullanılmasını içermektedir.

Sonraki QFT testinde TST'nin tekrarlanabilirliği ve etkisi

ABD özgüllük çalışmasının bölümü olarak, bir gönüllü alt kümesi orijinal QFT testi ve TST'den sonraki 4 ve 5. haftalar arasında yeniden test edilmiştir. 260 katılımcı için QFT sonuçları her iki zaman noktasında mevcuttu ve uyum seviyesi %99,6'ydı (259/260). Önceki bir TST pozitif QFT yanıtlarını içermemiştir.

10. Teknik Bilgiler

Şüpheli sonuçlar

Şüpheli sonuçlar olağan dışı olmalıdır ve test edilen kişinin immün durumuyla ilgili olabileceği gibi, bir dizi teknik faktöre de bağlı olabilir:

- Kanın alınması ile 37°C'deki inkübasyon arası sürenin 16 saatten fazla olması
- Kanın önerilen sıcaklık aralığı (17°C ila 27°C) dışında saklanması
- Kan alma tüplerinin yeterince çalkalanmaması
- Yetersiz ELISA plakası yıkaması

Kan örneklerinin alınması veya kullanılmasında teknik sorunlardan şüpheleniliyorsa, QFT testinin tamamı yeni kan numunesi ile tekrarlanmalıdır. Stimüle edilen plazmaların ELISA testinin tekrarlanması, yetersiz yıkamadan ve ELISA testinde herhangi bir prosedür sapmasından şüphelenildiği takdirde yapılabilir. Düşük Mitojen veya yüksek Nil değerlerinden kaynaklanan şüpheli testlerin ELISA testinde bir hata olmadığı sürece tekrarlama sırasında da değişmesi beklenemez. Böyle olduğunda şüpheli sonuçlar bildirilmelidir. Doktorlar numuneyi yeniden almayı veya uygun görüldüğü şekilde diğer prosedürleri gerçekleştirmeyi tercih edebilir.

Pıhtılaşmış plazma örnekleri

Plazma örneklerinin uzun süreli saklanmasıyla fibrin pıhtıları meydana gelirse, pıhtılaşmış materyali çöktürmek ve plazmanın pipetlenmesini kolaylaştırmak için örnekleri santrifüj edin.

Sorun Giderme Kılavuzu

Bu sorun giderme kılavuzu ortaya çıkabilecek sorunların çözümünde yardımcı olabilir. Daha fazla bilgi için, aşağıdaki adreste verilen teknik bilgilere başvurabilirsiniz: www.QuantiFERON.com. İletişim bilgileri için bkz. arka kapak.

ELISA sorun giderme

Spesifik olmayan renk oluşumu

Olası neden

a) Yetersiz plaka yıkaması

Çözüm

Plakayı en az 6 kez 400 µl/kuyu yıkama solüsyonu ile yıkayın. Kullanılan yıkayıcıya bağlı olarak 6 yıkamadan fazlası gerekli olabilir. Her yıkama adımı arasında en az 5 saniye bekleme periyodu olmalıdır.

b) ELISA kuyularının çapraz kontaminasyonu

Riski en aza indirmek için pipetlerken ve karıştırırken dikkatli olun.

c) Kitin/bileşenlerin son kullanma tarihinin geçmesi

Kullanılan kitin son kullanma tarihinin geçmediğinden emin olun. Çözülen standardın ve Konjugat 100X Konsantrenin çözüldüğü tarihten sonraki üç ay için kullanıldığından emin olun.

d) Enzim Substrat Solüsyonunun kontamine olması

Mavi renklenme mevcutsa substratı kullanmayın. Temiz reaktif kapları kullanıldığından emin olun.

e) Toplama öncesinde QFT tüplerinde plazma karışımı

Santrifüj yaptıktan sonra, plazmayı toplamadan önce aşağı ve yukarı doğru pipetleme yapmaktan veya herhangi bir yolla plazmayı karıştırmaktan kaçının. İşlemin her aşamasında, jel üzerindeki materyali bozmamaya dikkat edin.

Standartların Düşük Optik Dansite Okumaları

Olası neden

a) Standartların dilüsyon hatası

Çözüm

Kit standardının QFT ELISA Prospektüsünde anlatıldığı şekilde hazırlandığından emin olun.

b) Pipetleme hatası

Pipetlerin üreticilerinin belirttiği gibi kalibre edildiğinden ve kullanıldığından emin olun.

c) İnkübasyon sıcaklığının çok düşük olması

ELISA'nın inkübasyonu oda sıcaklığında ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) yapılmalıdır.

d) İnkübasyon süresinin çok kısa olması

Plakanın konjugat, standartlar ve numuneler ile inkübasyonu 120 ± 5 dakika olmalıdır. Enzim Substrat Solüsyonu plakada 30 dakika inkübe edilmelidir.

e) Hatalı plaka okuyucu filtresi kullanılması

Plaka ana filtre olarak 450 nm'de, referans filtre olarak da 620 ila 650 nm arasında okunmalıdır.

f) Reaktiflerin çok soğuk olması

Konjugat 100X Konsantre hariç, tüm reaktifler, teste başlamadan önce mutlaka oda sıcaklığına getirilmelidir. Bu işlem yaklaşık bir saat sürer.

g) Kitin/bileşenlerin son kullanma tarihinin geçmesi

Kullanılan kitin son kullanma tarihinin geçmediğinden emin olun. Çözülen standardın ve Konjugat 100X Konsantrenin çözüldüğü tarihten sonraki 3 ay için kullanıldığından emin olun.

Yüksek arkaplan

Olası neden

a) Yetersiz plaka yıkaması

Çözüm

Plakayı en az 6 kez 400 µl/kuyu yıkama solüsyonu ile yıkayın. Kullanılan yıkayıcıya bağlı olarak 6 yıkamadan fazlası gerekli olabilir. Her yıkama adımı arasında en az 5 saniye bekleme periyodu olmalıdır.

b) İnkübasyon sıcaklığının çok yüksek olması

ELISA'nın inkübasyonu oda sıcaklığında (22°C ± 5°C) yapılmalıdır.

c) Kitin/bileşenlerin son kullanma tarihinin geçmesi

Kullanılan kitin son kullanma tarihinin geçmediğinden emin olun. Çözülen standardın ve Konjugat 100X Konsantrenin çözüldüğü tarihten sonraki 3 ay için kullanıldığından emin olun.

d) Enzim Substrat Solüsyonunun kontamine olması

Mavi renklenme mevcutsa substratı kullanmayın. Temiz reaktif kapları kullanıldığından emin olun.

Doğrusal olmayan standart eğri ve Üift değişkenlik

Olası neden

a) Yetersiz plaka yıkaması

Çözüm

Plakayı en az 6 kez 400 µl/kuyu yıkama solüsyonu ile yıkayın. Kullanılan yıkayıcıya bağlı olarak 6 yıkamadan fazlası gerekli olabilir. Her yıkama adımı arasında en az 5 saniye bekleme periyodu olmalıdır.

b) Standart dilüsyon hatası

Standardının QFT ELISA Prospektüsünde anlatıldığı şekilde hazırlandığından emin olun.

c) Yetersiz karıştırma

Reaktifleri ters çevirerek veya plakaya eklemeyen önce hafif vorteksleyerek iyice karıştırın.

d) Tutarsız pipetleme tekniği veya test kurulumu sırasında ara verme

Örnek ve standart ekleme sürekli bir şekilde gerçekleştirilmelidir. Tüm reaktifler teste başlamadan önce hazırlanmalıdır.

Birçok teknik soruna yönelik test prosedürü video ve çözümleri, çevrimiçi erişim için www.gnowee.net adresine doğrudan kaydolunarak Gnowee™ referans kılavuzunda bulunabilir. Ürün bilgileri ve teknik kılavuzlar, QIAGEN'den, dağıtıcınızdan veya www.QuantiFERON.com adresi ziyaret edilerek ücretsiz elde edilebilir.

11. Kaynakça

QFT referanslarının kapsamlı bir listesi Gnowee’de bulunmaktadır — QuantiFERON referans kütüphanesi www.gnowee.net web sitesinde mevcuttur.

1. Andersen, P. et al. (2000) Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* **356**, 1099.
2. Balcells, M.E. et al. (2008) A comparative study of two different methods for the detection of latent tuberculosis in HIV-positive individuals in Chile. *Int. J. Infect. Dis.* **12**, 645.
3. Bartalesi, F. et al. (2009) QuantiFERON-TB Gold and TST are both useful for latent TB screening in autoimmune diseases. *Eur. Respir. J.* **33**, 586.
4. Bocchino, M. et al. (2008) Performance of two commercial blood IFN-gamma release assays for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in patient candidates for anti-TNF-alpha treatment. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* **27**, 907.
5. Brock, I. et al. (2006) Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the *M. tuberculosis* specific interferon-gamma test. *Respir. Res.* **7**, 56.
6. Chun, J.K. et al. (2008) The role of a whole blood interferon gamma assay for the detection of latent tuberculosis infection in bacille Calmette-Guerin vaccinated children. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* **62**, 389.
7. Connell, T.G. et al. (2008) A three-way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB gold and T-SPOT.TB in children. *PLoS ONE* **3**, e2624. doi: 10.1371/journal.pone.0002624.
8. Detjen, A.K. et al. (2007) Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis. *Clin. Infect. Dis.* **45**, 322.
9. Diel, R. et al. (2009) Comparative performance of tuberculin skin test, QuantiFERON-TB-Gold In-Tube assay, and T-Spot.TB test in contact investigations for tuberculosis. *Chest* **135**, 1010.
10. Diel, R. et al. (2008) Predictive value of a whole-blood IFN- γ assay for the development of active TB disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **177**, 1164.
11. Diel, R. et al. (2006) Tuberculosis contact investigation with a new, specific blood test in a low-incidence population containing a high proportion of BCG-vaccinated persons. *Respir. Res.* **7**, 77.
12. Dogra, S. et al. (2007) Comparison of a whole blood interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. *J. Infect.* **54**, 267.
13. Drobniewski, F. et al. (2007) Rates of latent tuberculosis in health care staff in Russia. *PLoS Med.* **4**, e55.
14. Gerogianni, I. et al. (2008) Whole-blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection in an unselected Greek population. *Respirology* **13**, 270.
15. Harada, N. et al. (2008) Comparison of the sensitivity and specificity of two whole blood interferon-gamma assays for *M. tuberculosis* infection. *J. Infect.* **56**, 348.
16. Higuchi, K. et al. (2009) Comparison of performance in two diagnostic methods for tuberculosis infection. *Med. Microbiol. Immunol.* **198**, 33.
17. Kang, Y.A. et al. (2005) Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. *JAMA* **293**, 2756.
18. Katiyar, S.K. et al. (2008) Use of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test to monitor treatment efficacy in active pulmonary tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* **12**, 1146.
19. Kipfer, B. et al. (2008) Tuberculosis in a Swiss army training camp: contact investigation using an Interferon gamma release assay. *Swiss. Med. Wkly.* **138**, 267.

20. Luetkemeyer, A. et al. (2007) Comparison of an interferon-gamma release assay with tuberculin skin testing in HIV-infected individuals. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* **175**, 737.
21. Mackensen, F. et al. (2008) QuantiFERON TB-Gold - A new test strengthening long-suspected tuberculous involvement in serpiginous-like choroiditis. *Am. J. Ophthalmol.* **146**, 761.
22. Manuel, O. et al. (2007) Comparison of Quantiferon-TB Gold with tuberculin skin test for detecting latent tuberculosis infection prior to liver transplantation. *Am. J. Transplant.* **7**, 2797.
23. Matulis, G. et al. (2007) Detection of latent tuberculosis in immunosuppressed patients with autoimmune diseases performance of a *Mycobacterium tuberculosis* antigen specific IFN-gamma assay. *Ann. Rheum. Dis.* **67**, 84.
24. Mirtskhulava, V. et al. (2008) Prevalence and risk factors for latent tuberculosis infection among health care workers in Georgia. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* **12**, 513.
25. Nakaoka, H. et al. (2006) Risk for tuberculosis among children. *Emerging Infect. Dis.* **12**, 1383.
26. Pai, M. et al. (2005) *Mycobacterium tuberculosis* infection in health care workers in rural India: comparison of a whole-blood, interferon-g assay with tuberculin skin testing. *JAMA* **293**, 2746.
27. Ponce de Leon, D. et al. (2008) Comparison of an interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for detection of tuberculosis (TB) infection in patients with rheumatoid arthritis in a TB-endemic population. *J Rheumatol.* **35**, 776.
28. Richeldi, L. et al. (2008) Prior tuberculin skin testing does not boost QuantiFERON-TB results in paediatric contacts. *Eur. Respir. J.* **32**, 524.
29. Rothel, J.S. and Andersen, P. (2005) Diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: is the demise of the Mantoux test imminent? *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* **3**, 981.
30. Schoepfer, A.M. et al. (2008) Comparison of interferon-gamma release assay versus tuberculin skin test for tuberculosis screening in inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol.* **103**, 2799.
31. Silverman, M.S. et al. (2007) Use of an interferon-gamma based assay to assess bladder cancer patients treated with intravesical BCG and exposed to tuberculosis. *Clin. Biochem.* **40**, 913.
32. Stebler, A. et al. (2008) Whole-blood interferon-gamma release assay for baseline tuberculosis screening of healthcare workers at a Swiss university hospital. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* **29**, 681.

12. Teknik Servis

Teknik servis için lütfen şu adreslerden başvurun:

www.QuantiFERON.com

Asia-Pacific ■ techservice-ap@qiagen.com

Europe ■ techserviceQFT-eu@qiagen.com

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

USA/Canada ■ techservice-na@qiagen.com

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

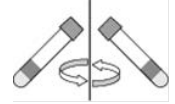
Mexico ■ techservice-MX@qiagen.com

Brazil ■ techsebr@qiagen.com

13. Kısaltılmış Test Prosedürü

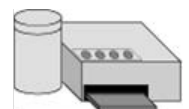
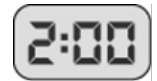
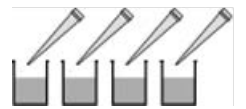
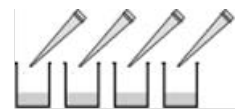
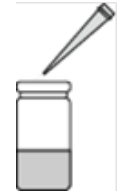
1. Aşama — kan inkübasyonu

1. Hastanın kanını kan alma tüplerine alın ve duvardaki antijenleri iyice çözmek için tüplerin tüm iç yüzeyinin kanla kaplandığından emin olacak şekilde, on (10) kez yavaş bir şekilde çalkalayın.
2. Tüpleri dik olarak $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta 16 ila 24 saat süresince inkübe edin.
3. İnkübasyondan sonra, plazma ve eritrositlerin ayrılması için 15 dakika, 2000 ila 3000 g RCF'de (g) santrifüj edin.
4. Santrifüj yaptıktan sonra, plazmayı almadan önce aşağı ve yukarı doğru pipetleme yapmaktan veya herhangi bir yolla plazmayı karıştırmaktan kaçının. İşlemin her aşamasında, jel üzerindeki materyali bozmamaya dikkat edin.

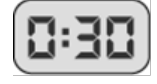
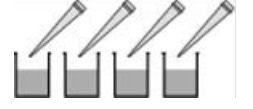


2. Aşama — IFN- γ ELISA

1. Konjugat 100X Konsantre hariç, ELISA reaktiflerini çalışma sıcaklığına getirmek için, oda sıcaklığında ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) en az 60 dakika bekletin.
2. Kit standardını 8,0 IU/ml olacak şekilde distile veya deiyonize su ile çözün. Dört (4) standart dilüsyonunu hazırlayın.
3. Dondurularak kurutulmuş Konjugat 100X Konsantre'yi distile veya deiyonize su ile çözün.
4. Çalışma konjugatını Yeşil Seyreltici ile hazırlayın ve her kuyuya 50 μl ekleyin.
5. İlgili kuyulara 50 μl test plazma örneği ve 50 μl standartları ekleyin. Çalkalayıcı kullanarak karıştırın.
6. Oda sıcaklığında 120 ± 5 dakika inkübe edin.
7. Kuyuları en az 6 kez 400 μl /kuyu yıkama tamponu ile yıkayın.



8. Kuyulara 100 μ l Enzim Substrat Solüsyonu ekleyin. Çalkalayıcı kullanarak karıştırın.
9. Oda sıcaklığında 30 dakika inkübe edin.
10. Tüm kuyulara 50 μ l Enzim Durdurma Solüsyonu ekleyin. Çalkalayıcı kullanarak karıştırın.
11. Sonuçları 450 nm ana filtre ve 620 ila 650 nm referans filtre kullanarak okuyun.
12. Sonuçları analiz edin.



Önemli Değişiklikler

QFT ELISA Prospektüsünün bu Baskısındaki (1075115TR Rev. 01) önemli değişiklikler aşağıdaki tabloda özetlenmiştir:

Bölüm	Sayfa	Değişiklikler
4. Uyarılar ve Önlemler	8-9	Kit lotları arasında belirli ELISA bileşenlerinin kullanımına dair değişiklik.
12. Teknik Servis	27	Teknik Servis için yeni e-posta adresleri.

Ticari markalar: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (QIAGEN Grubu); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.).

QuantiFERON-TB Gold (QFT) ELISA için Sınırlı Lisans Anlaşması

Bu ürünün kullanımı herhangi bir alıcının veya ürün kullanıcısının aşağıdaki koşulları kabul ettiği anlamına gelir:

1. Ürün yalnızca ürünle ve bu prospektüste verilen protokollere uygun olarak kullanılabilir ve yalnızca kitin içinde bulunan bileşenlerle kullanım içindir. QIAGEN bu kitin kapalı bileşenlerinin, ürünler birlikte verilen protokollerde belirtilenlerin dışında bu kitin içinde yer almayan herhangi bir bileşenle kullanımı veya birleştirilmesi için kendi fikri mülkiyet haklarının herhangi biri altında lisans hakkı vermez.
2. Açıkça belirtilen lisanslar dışında, QIAGEN bu kit ve/veya kullanımlarının üçüncü tarafların haklarını ihlal etmeyeceğini garanti etmez.
3. Bu kit ve bileşenleri bir kez kullanım için lisanslıdır ve QIAGEN tarafından aksi belirtilmedikçe tekrar kullanılamaz, yenilenemez ve tekrar satılamaz.
4. QIAGEN açıkça ifade edilenlerin dışında açık veya zımni diğer tüm lisansları açıkça reddeder.
5. Bu kitin alıcısı veya kullanıcısı yukarıda yasaklanan eylemlere neden olabilecek veya kolaylaştırabilecek herhangi bir girişimde bulunmayacağını ve başka birisine izin vermeyeceğini kabul eder. QIAGEN herhangi bir Mahkemede bu Sınırlı Lisans Anlaşması yasaklamalarını uygulayabilir ve bu sınırlı lisans anlaşmasının veya kit ve/veya bileşenleriyle ilgili fikri mülkiyet haklarının herhangi birinin uygulanmasına yol açan tüm durumlarda avukat ücreti dahil tüm soruşturma ve mahkeme masraflarını geri alabilir.

Güncellenmiş lisans koşulları için bkz. www.qiagen.com.

© 2013 Cellestis, a QIAGEN Company, tüm hakları saklıdır.

Phone: (Australia) +613-9840-9800

E-mail: quantiferon@qiagen.com

