

Инструкция по применению

Набор реагентов для качественного определения интерферона-гамма (ИФН- γ) методом твердофазного иммуноферментного анализа (ИФА) в плазме крови человека, выделенной из гепаринизированной цельной крови человека для идентификации *in vitro* ответа на рекомбинантный ТВ антиген, ассоциированный с инфекцией *Mycobacterium tuberculosis* (STANDARD E TB-Feron IGRA)

Производитель: «СД Биосенсор, Инк.» (SD Biosensor, Inc.)
РЕСПУБЛИКА КОРЕЯ,
С-4th&5th, 16, Deogyong-daero 1556 beon-gil, Yeongtong-gu, Suwon-si,
Gyeonggi-do, 16690, REPUBLIC of KOREA
Тел.: + 82-31-300-0400; Факс: +82 31 300 0499
www.sdbiosensor.com

Уполномоченный представитель производителя, ответственный за обращение медицинского изделия на территории Российской Федерации:

Общество с ограниченной ответственностью «ИнтерЛабСервис»
115035, г. Москва, ул. Садовническая, д. 20/13, стр. 2
Тел.: +7 (495) 664 2884
Факс: +7 (495) 664 2889
pcr@interlabservice.ru
www.interlabservice.ru

1. ВВЕДЕНИЕ

Туберкулез (ТБ) – это инфекционное заболевание, которое вызвано инфекцией группы *M. tuberculosis complex*. Заболевание передается воздушно-капельным путем новым реципиентам от пациентов с туберкулезом органов дыхания. У лиц, которые были инфицированы недавно, симптомы заболевания туберкулезом проявляются от нескольких недель до нескольких месяцев.

STANDARD E TB-Feron IGRA – это анализ крови, позволяющий диагностировать туберкулез человека. В основе работы тест-системы лежит метод IGRA (анализ высвобождения интерферона-гамма). Метод IGRA может быть применен для диагностики инфекции туберкулеза вместо туберкулинодиагностики во всех ситуациях, в которых Центр по контролю и профилактике заболеваний (CDC) рекомендует проводить анализ на туберкулиновую кожную пробу. Применение метода IGRA предпочтительно для лиц, которым была проведена вакцинация БЦЖ, а также для лиц, возвращение за результатом контрольного измерения которых маловероятно.

2. НАЗНАЧЕНИЕ

Набор STANDARD E TB-Feron IGRA является качественным *in vitro* диагностическим тестом, который использует рекомбинантные специфические антигены *M. tuberculosis* (ESAT-6, CFP-10 и TB 7.7) для стимуляции Т-лимфоцитов в гепаринизированной цельной крови человека и последующее определение методом твердофазного иммуоферментного анализа (ИФА) интерферона-гамма (ИФН- γ) в выделенной из крови человека плазме. Набор STANDARD E TB-Feron IGRA применяется для идентификации *in vitro* ответа на рекомбинантные ТБ антигены, которые ассоциированы с инфекцией *Mycobacterium tuberculosis*. Набор реагентов использует «сэндвич»-метод для детекции инфекции *M. tuberculosis* (включая само заболевание) и предназначен для использования вместе с оценкой риска, радиографией и другими медицинскими и диагностическими методами детекции туберкулеза.

3. ПРИНЦИП РАБОТЫ ТЕСТ-СИСТЕМЫ

В основе работы набора реагентов STANDARD E TB-Feron IGRA заложено определение ИФН- γ «сэндвич»-методом ИФА с помощью специфических антител ИФН- γ человека. Данный тест разработан непосредственно для оценки клеточно-опосредованного иммунитета, посредством измерения уровня ИФН- γ после культивирования обработанной гепарином цельной крови при использовании стимулирующего антигена. ИФН- γ является цитокином, используемым в качестве специфического маркера при клеточно-опосредованном иммунном ответе. При добавлении экзогенных или эндогенных антигенов в кровь происходит быстрая рестимуляция антиген-специфического эффектора/ Т-лимфоцита иммунологической памяти для выработки гамма-интерферона (ИФН- γ). Принцип стимулирования Т-лимфоцитов эффектора в цельной крови специфическими антигенами и точное измерение уровня ИФН- γ в плазме является основой принципа функционирования теста TB-Feron IGRA.

С набором реагентов STANDARD E TB-Feron IGRA поставляют и используют специальные пробирки для забора образцов крови, которые содержат сенсибилизирующий антиген. Инкубирование образцов крови осуществляется в пробирках от 16 до 24 часов, после чего проводится сбор плазмы и ее исследование на наличие ИФН- γ , вырабатываемого в ответ на присутствие пептидных антигенов.

Тест проводится в два этапа. Сначала осуществляется забор образцов цельной крови в пробирки, включая пробирку нулевого контроля (Nil Antigen tubes), пробирку с антигеном ТБ (TB Antigen tubes) и пробирку с митогеном (Mitogen tubes). Пробирка нулевого контроля (Nil Antigen tubes) используется для определения фонового количества ИФН- γ в образце. Пробирка с антигеном ТБ (TB Antigen tubes) содержит специфические рекомбинантные антигены (ESAT-6, CFP-10 и TB 7.7), необходимые для индукции образования ИФН- γ Т-лимфоцитами у лиц, инфицированных *M. tuberculosis*, но не у лиц неинфицированных *M. tuberculosis* или БЦЖ-вакцинированных без болезни или риска ЛТИ. Пробирки с митогеном могут использоваться в качестве положительного контроля. Также пробирка с митогеном служит для контроля правильности сбора и инкубирования образцов крови.

Пробирки необходимо поместить на инкубирование в наиболее короткие сроки, а именно в течение 16 часов с момента забора образцов. По истечении 16–24 часов инкубирования при температуре в 37 °С, пробирки центрифугируют, отбирают плазму и измеряют концентрацию ИФН- γ (МЕ/мл) методом ИФА.

Результат считается положительным ответом ИФН- γ на стимуляцию, если концентрация ИФН- γ , выраженная в МЕ/мл, в пробирке с ТБ антигеном (TB Antigen) значительно выше концентрации в нулевой контрольной пробирке (Nil). Низкий ответ на митоген (<0,5 МЕ/мл) указывает на неопределенный результат, если по образцу крови получен отрицательный ответ на стимуляцию ТБ антигеном. Такая картина может наблюдаться при недостаточном количестве лимфоцитов, сниженной лимфоцитарной активности, из-за неправильного сбора и обработки образца, ненадлежащего наполнения/перемешивания полученного ИФН- γ . Нулевая контрольная пробирка (Nil) регулирует влияние гетерофильных антител или неспецифического ИФН- γ в образцах крови на фон. Концентрация ИФН- γ в пробирках нулевого контроля (Nil) вычитается из значения концентрации ИФН- γ в пробирках с ТБ антигеном (TB Antigen) и пробирках с митогеном (при использовании).

4. АКТИВНЫЕ КОМПОНЕНТЫ И ПОСТАВЛЯЕМЫЕ РЕАГЕНТЫ

№ п/п	Компонент набора реагентов	Состав
1.	Микропланшет с нанесенными антителами	96 луночный планшет, покрытый моноклональными антителами к ИФН- γ человека

2.	Стандартные образцы	Рекомбинантный ИФН- γ человека
		Консервант Proclin 300
3.	ИФА Дилуент	Натрий-фосфатный буферный раствор
		Консервант Proclin 300
4.	Промывочный буферный раствор, концентрат 20x	PolySorbate 20
		Концентрированный физиологический натрий-фосфатный буферный раствор
		Консервант Proclin 300
5.	Конъюгат ферментный	Мышиные моноклональные антитела к ИФН- γ конъюгированные с пероксидазой хрена
		Консервант Proclin 300
6.	Тетраметилбензидиновый (ТМБ) субстрат	Тетраметилбензидин (ТМБ)
		Перекись водорода
7.	Стоп-раствор	1 н. раствор серной кислоты

5. СОСТАВ, ОПИСАНИЕ КОМПОНЕНТОВ НАБОРА

Таблица 1

№ п/п	STANDARD E TB-Feron IGRA компоненты	Количество
1.	Микропланшет с нанесенными антителами	1 шт.
2.	Стандартные образцы	3 шт.
3.	ИФА Дилуент	15 мл/ флакон \times 1
4.	Промывочный буферный раствор, концентрат 20x	50 мл/флакон \times 1
5.	Конъюгат ферментный	100 мкл/пробирка \times 1
6.	Тетраметилбензидиновый (ТМБ) субстрат	15 мл/флакон \times 1
7.	Стоп-раствор	15 мл/флакон \times 1
8.	Клейкая пленка для планшетов	2 шт.
9.	Пробирка для забора крови Mitogen	28 шт.
10.	Пробирка для забора крови TB antigen	28 шт.
11.	Пробирка для забора крови Nil	28 шт.
12.	Инструкция по применению	1 шт.

6. ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЕ МАТЕРИАЛЫ И ОБОРУДОВАНИЕ

1. Пробирки с гепарином для забора крови;
2. Пипетки градуированные от 10 мкл до 1000 мкл с одноразовыми наконечниками;
3. Термостат, поддерживающий температуру в $37 \pm 1^\circ\text{C}$
4. Вода дистиллированная или деионизированная;
5. Бумага фильтровальная лабораторная;
6. Устройство для промывки микропланшетов;
7. Устройство для считывания планшетов для ИФА при основной длине волны 450 нм (длина волны сравнения в диапазоне 620- 650 нм);
8. Таймер;
9. Контейнер для отходов с дезинфицирующим средством;
10. Средства индивидуальной защиты (СИЗ).

7. ПРЕДУПРЕЖДЕНИЯ И МЕРЫ ПРЕДОСТОРОЖНОСТИ

1. Только для диагностики *in vitro*.
2. Запрещается использовать иктеричные, липемические, гемолитические образцы.
3. Запрещается использовать просроченные реагенты.
4. Запрещается смешивать реагенты из разных партий.
5. После использования храните оставшиеся стрипы микропланшетов в оригинальных запечатанных упаковках вместе с поглотителями влаги.

6. Используйте очищенную лабораторную посуду, не содержащую загрязняющих ионов металлов или окисляющих веществ.
7. Использовать одноразовые перчатки, лабораторные халаты, защищать глаза во время работы с образцами и реагентами. Вымыть руки по окончании работы. Все операции проводить только в перчатках для исключения контакта с организмом человека.
8. Утилизируйте все образцы и материалы, использованные для постановки тестирования, как биологически опасные отходы в соответствии с локальными рекомендациями.
9. Не допускайте контакта рабочего раствора ТМБ с металлическими поверхностями. Избегайте воздействия прямого света.
10. Азид натрия ингибирует активность конъюгата. Для добавления конъюгата должны использоваться чистые наконечники для предотвращения переноса азидов натрия из других реагентов.
11. Используйте одноразовые материалы для каждого образца во избежание перекрестного микробиологического загрязнения, которое может привести к ошибочным результатам.
12. Пробирки TB-Feron IGRA предназначены только для одноразового использования. Не используйте повторно.

8. ХРАНЕНИЕ И СТАБИЛЬНОСТЬ

1. Храните набор STANDARD E TB-Feron при 2-8 °C
2. Набор стабилен до срока годности, указанного на упаковке и этикетке.
3. Не замораживайте набор.

9. СБОР И ХРАНЕНИЕ ОБРАЗЦОВ

1. Соберите венозную цельную кровь в пробирки набора STANDARD E TB-Feron и затем инкубируйте пробирки. Затем собранную кровь центрифугируйте в течение 15 минут при относительном ускорении центрифуги в 2200-2300g для того, чтобы получить образец надосадочной плазмы.
2. При хранении плазмы в пробирке с антикоагулянтом при температуре от +2 до +8 °C, образец можно использовать для тестирования в течение 1 недели после сбора. Если образец необходимо хранить дольше недели, то рекомендована температура хранения ниже -20 °C.



- Охлаждение и заморозка крови запрещена.

10. ПОДГОТОВКА РЕАГЕНТОВ.

1. Восстановление стандартных образцов STANDARDS:

Перед использованием добавьте 0,5 мл дистиллированной или деионизированной воды на один флакон стандартных образцов STANDARDS. Концентрация полностью растворенного раствора стандартных образцов STANDARDS равна 16 МЕ/мл.

ЗАПРЕЩАЕТСЯ повторное использование стандартных образцов STANDARDS.

2. Подготовка разбавленного промывочного буферного раствора:

Перед использованием промывочный буферный раствор (20x концентрат) необходимо развести в соотношении 1:19 дистиллированной / деионизированной водой. Например, смешайте 50 мл промывочного буферного раствора (20x концентрат) с 950 мл дистиллированной / деионизированной воды.

3. Подготовка рабочего детектирующего раствора:

- 1) При необходимости подготовьте детектирующий раствор перед использованием
- 2) Ферментный конъюгат необходимо развести в соотношении 1:250 дилуентом для приготовления рабочего детектирующего раствора.

Например: если требуемый объем рабочего детектирующего раствора равен 10 мл, добавьте 40 мкл ферментного конъюгата к 10 мл дилуента и тщательно перемешайте его.

Реагент	Хранение	Стабильность
Разбавленный промывочный буферный раствор	Комнатная температура (15~25 °C)	1 неделя
Рабочий детектирующий раствор	2~8 °C	4 часа

11. ПРОЦЕДУРА ТЕСТИРОВАНИЯ



- Перед проведением теста, убедитесь, что все реагенты доведены до комнатной температуры (15-25 °C). Не открывайте контейнер с пробирками стандартного образца STANDARDS, пока они не достигнут комнатной температуры (15-25 °C).

Этап 1: Инкубация крови и отбор плазмы:

1. В наборе реагентов STANDARD E TB-Feron IGRA должны использоваться следующие пробирки TB-Feron:
 - Пробирки с митогеном (с фиолетовой крышкой)
 - Пробирки с антигеном ТБ (с красной крышкой)
 - Пробирки нулевого контроля (с серой крышкой)
2. Извлеките пробирки STANDARD E TB-Feron из упаковки и оставьте их на 15~30 минут перед использованием для доведения их до комнатной температуры (15-25 °С), после этого введите в них кровь, предупреждая воздействие холодного воздуха.
3. Осуществите забор образцов крови у пациента и введите, соответственно, по 1 мл в каждую пробирку TB-Feron (пробирка нулевого контроля, пробирка с антигеном ТБ и пробирка с митогеном).
 - После забора образца крови поместите его в пробирку через 2-3 секунды.
 - Черной полоской на боковой части пробирки отмечен уровень в 1,0 мл.
 - При использовании иглы-бабочки необходимо использовать пустую пробирку, которую затем следует утилизировать.
 - Если пробирки не заполнились кровью до уровня черной полосы во время вакуумного забора, следует открыть крышку такой пробирки и добавить в нее кровь для достижения уровня черной полосы.
4. После наполнения пробирки образцом крови до соответствующего уровня, аккуратно встряхните ее 10 раз вручную или используйте шейкер-качалку для обеспечения распределения крови по всей поверхности пробирки для соответствующего ее перемешивания с антигеном, нанесенным на стенки пробирки.
ПРИ ЭТОМ ЗАПРЕЩАЕТСЯ ЧРЕЗМЕРНО ВСТРЯХИВАТЬ ПРОБИРКУ во избежание повреждения клеток крови. Данное тестирование требует наличия живых лимфоцитов, образец крови должен смешиваться таким образом, чтобы не происходило повреждения клеток. Также чрезмерное встряхивание может привести к разрушению геля, что в свою очередь может стать причиной получения неточных результатов.
5. Инкубируйте пробирки при температуре 37 °С в течение 16-24 часов в ВЕРТИКАЛЬНОМ ПОЛОЖЕНИИ.
* Если нет возможности инкубации непосредственно после забора образцов крови, их необходимо хранить при комнатной температуре (15-25 °С). При этом пробирки следует инкубировать в течение 16 часов после забора образцов.

ПРИМЕЧАНИЕ



При трудности введения образцов крови в пробирки TB-Feron Tubes, производят забор образцов крови в пробирки, содержащие гепарин. При этом забирают, как минимум 3,5 мл крови в пробирку с гепарином, аккуратно встряхивают движением вверх-вниз для растворения гепарина в образце и предупреждения свертывания крови. После забора, образцы необходимо хранить при комнатной температуре (15-25 °С). В течение 16 часов с момента забора образцов, введите по 1 мл образца в каждую из пробирок TB-Feron Tubes, тщательно перемешайте и начните инкубирование. При введении образцов крови пипеткой после открытия крышки пробирки TB-Feron Tube, необходимо использовать стерильные наконечники для обеспечения дозирования образцов в асептических условиях.

Только гепариновые пробирки можно использовать для сбора цельной крови и дальнейшего тестирования. Другие пробирки с антикоагулянтами (ЭДТА, цитрат натрия и проч.) не должны использоваться для забора образца.

6. После инкубации пробирок при 37 °С, центрифугируйте пробирки в течение 15 минут при ускорении центрифуги в 2200-2300g, затем произведите сбор плазмы.
Во время сбора плазмы ЗАПРЕЩАЕТСЯ переносить дозатором или перемешивать плазму в пробирке, а также касаться геля наконечником дозатора.

Этап 2: Проведение иммуноферментного анализа:

1. Подготовка раствора стандартного образца STANDARD

- ① Промаркируйте 4 пустые пробирки S1, S2, S3, S4.
- ② Добавьте 300 мкл дилуента в каждую из пробирок.
- ③ Затем добавьте 100 мкл восстановленных стандартных образцов STANDARDS в пробирку STANDARD 1 (S1) и тщательно перемешайте.
- ④ Перенесите 100 мкл раствора из пробирки STANDARD 1 (S1) в пробирку STANDARD 2 (S2).
- ⑤ Затем перенесите 100 мкл раствора из пробирки STANDARD 2 (S2) в пробирку STANDARD 3 (S3).
- ⑥ При этом дилуент используется в качестве нулевого стандартного образца STANDARD (S4).

2. Рабочий детектирующий раствор и инкубирование образца

- ① Поместите 50 мкл подготовленного рабочего детектирующего раствора в каждую лунку планшета.
- ② Затем перенесите 50 мкл стандартных образцов 1-4 STANDARD и исследуемых образцов в лунки планшета, соответственно (см. схему рекомендуемого расположения лунок на планшете ниже).
- ③ Аккуратно постучите по рамке для тщательного перемешивания. Накройте планшет клейкой пленкой и инкубируйте при 37±1 °С в течение 1 часа.

Рекомендуемая схема расположения лунок на планшете (28 образцов на планшете) при использовании пробирок нулевого контроля, с антигеном ТБ и митогеном

S1 (стандарт 1), S2 (стандарт 2), S3 (стандарт 3), S4 (стандарт 4)1N

(исследуемый образец, плазма нулевого контроля)

1T (исследуемый образец, плазма с антигеном ТБ)1M

(исследуемый образец, плазма с митогеном)

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

3. Порядок промывки

- 1) Лунки промойте пять раз 350 мкл разбавленного промывочного буферного раствора, после чего проведите аспирацию всей жидкости из лунок. При этом предпочтительнее использовать автоматическую промывочную станцию.
- 2) Оставьте промывочный раствор на 4-5 секунд в каждой лунке в соответствии с промывочным циклом, после чего удалите раствор из лунок.
- 3) После промывки (автоматической или ручной) тщательно удалите все остаточное количество жидкости из микропланшета путем постукивания по впитывающей бумаге с отверстиями.

ПРИМЕЧАНИЕ



Наличие остаточной жидкости в лунках для реагентов после промывки может конкурировать с ТМБ субстратом привести к получению ложных малых значений экстинкции. (мало количества промывочного буферного раствора или слишком малое время выдерживания) может привести к получению ложных малых значений экстинкции.

4. Инкубирование ТМБ-субстрата

- 1) Добавьте 100 мкл ТМБ-субстрата в каждую лунку.
- 2) Инкубируйте в течение 30 минут при комнатной температуре (15-25 °C) в темном месте.

5. Остановка реакции

- 1) Добавьте 100 мкл стоп-реагента в каждую лунку в аналогичной последовательности и примерно за такое же время, что и ТМБ-субстрат на Этапе 4. Перемешайте, аккуратно встряхивая.

6. Измерение

- 1) Измерьте значения оптической плотности (ОП) по лункам при длине волны 450 нм при использовании считывающего устройства для ИФА-планшетов (с референсной длиной волны, варьирующейся в диапазоне от 620 нм до 650 нм) непосредственно по окончании количественного определения в течение 30-минутного интервала.

12. КОНТРОЛЬ КАЧЕСТВА ТЕСТА

Внутренний контроль качества.

Точность результатов теста зависит от точного построения стандартной кривой. Таким образом, прежде чем интерпретировать результаты анализа образцов, необходимо проверить результаты, полученные по стандартным образцам (S1, S2, S3, S4)

1. Среднее значение оптической плотности (ОП) для стандарта S1 $\geq 0,600$
2. Коэффициент вариации, % по значениям ОП для стандартов S1 и S2, измеренным в 2 повторах, должен составлять $\leq 15\%$
3. Разность между значениями ОП по стандартам S3 и S4 должна составлять $< 0,040$
4. Среднее значение ОП стандарта S4 должно составлять $\leq 0,150$
5. Коэффициент корреляции (r) по стандартной кривой, полученной по каждому среднему значению, должен составлять 0,980 или выше.

13. ИНТЕРПРЕТАЦИЯ РЕЗУЛЬТАТОВ

1. Проверьте полученные результаты, используя ПО STANDARD E ANALYSIS SOFTWARE.
2. Результаты, полученные по STANDARD E, необходимо рассматривать в соответствии с последующими критериями.

ПРИМЕЧАНИЕ



• Диагностика или исключение такого заболевания как туберкулез, а также оценка вероятности наличия латентной туберкулезной инфекции требует применения совокупности эпидемиологических, исторических, медицинских и диагностических данных, которые должны учитываться при интерпретации результатов применения набора реагентов STANDARD E TB-Feron IGRA.

При использовании пробирок нулевого контроля, с антигеном ТБ и с митогеном:

Нулевой контроль [МЕ/мл]	Антиген ТБ – нулевой контроль [МЕ/мл]	Митоген – нулевой контроль [МЕ/мл] ¹	Результат по использованию STANDARD E	Отчет / интерпретация
≤ 8,0	< 0,35	≥ 0,5	Отрицательный	Наличие инфекции туберкулеза МАЛОВЕРОЯТНО
	≥ 0,35 и < 25 % значения нулевого контроля	≥ 0,5	Отрицательный	
	≥ 0,35 и ≥ 25 % значения нулевого контроля	Любой результат	Положительный ²	Наличие инфекции туберкулеза является вероятным
	< 0,35	< 0,5	Неопределенный	Результаты являются неопределенными по ответной реакции на антиген ТБ
≥ 0,35 и < 25 % значения нулевого контроля	< 0,5	Неопределенный		
> 8,0	Любой результат	Любой результат	Неопределенный	

¹Полученные результаты в пробирке с митогеном (положительный контроль) (и, в отдельных случаях, в пробирке с ТБ антигенами) могут выходить по значениям оптической плотности за предел измерения ридера, что не влияет на результат тестирования

²Когда инфицирование *M. tuberculosis* не подозревается, изначально полученный положительный результат может быть подтвержден повторным тестированием того же образца плазмы. Если при повторном тестировании также получен положительный результат, такой образец следует расценивать как положительный.

При использовании только пробирок нулевого контроля и с антигеном ТБ:

Нулевой контроль [МЕ/мл]	Антиген ТБ – нулевой контроль [МЕ/мл]	Результат по использованию STANDARD E	Отчет / интерпретация
≤ 8,0	< 0.35	Отрицательный	Наличие инфекции туберкулеза МАЛОВЕРОЯТНО
	≥ 0,35 и < 25 % значения нулевого контроля	Отрицательный	
	≥ 0,35 и ≥ 25 % значения нулевого контроля	Положительный	Наличие инфекции туберкулеза является вероятным
> 8,0	Любой результат	Промежуточный	Результаты являются неопределенными по ответной реакции на антиген ТБ

Если для интерпретации результата не используется ПО STANDARD E ANALYSIS SOFTWARE, то порядок создания кривой по стандартным образцам STANDARD следующий:

- ① Измерьте средние значения ОП для стандартных образцов STANDARD.
- ② Постройте кривую log(e)-log(e) по стандартному образцу STANDARD при использовании логарифмического графика log(e) по средним значениям ОП (ось y) в сравнении с логарифмическим значением log(e) (ось x) по концентрации ИФН-γ в стандартных образцах STANDARD, не учитывая нулевые значения по нулевому стандарту STANDARD из данных расчетов. Рассчитайте наиболее подходящую STANDARD кривую посредством регрессионного анализа.
- ③ Используйте STANDARD кривую и значение ОП по образцу для измерения концентрации ИФН-γ (МЕ/мл) для каждого исследуемого образца плазмы.
- ④ Данные расчеты могут проводиться при использовании программного обеспечения, доступного на ридерах для микропланшетов, стандартной таблицы формата Excel и статистического программного обеспечения (например, Microsoft Excel). Рекомендуется использовать данные пакеты программ для расчета посредством регрессионного анализа, коэффициента вариации (% KB) в отношении стандартных образцов и коэффициента корреляции (r) по кривой по стандартному образцу STANDARD.

14. ОГРАНИЧЕНИЯ ТЕСТА

1. Требования разделов с указанием порядка проведения теста, мер предосторожности и интерпретации результатов теста для данного набора реагентов должны тщательно соблюдаться.
2. Тест может проводиться в отношении пациентов с клиническими симптомами при подозрении заражения.
3. Неадекватные или сомнительные результаты могут возникать по следующим причинам:
 - чрезмерно высокий уровень циркулирующего ИФН- γ или наличие гетерофильных антител.
 - с момента забора образца крови в пробирки TB-Feron до его инкубации при температуре 37 °C прошло более 16 часов.
4. Результаты испытаний должны быть рассмотрены совместно с другими клиническими данными, доступными врачу.
5. Для большей точности при установлении иммунного статуса рекомендуется проведение дополнительного теста при использовании других лабораторных методик.

15. КРАТКАЯ СХЕМА ПРОВЕДЕНИЯ АНАЛИЗА

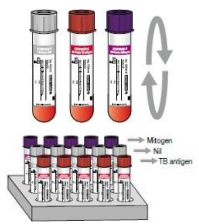
Для измерения ИФН- γ в образцах TB-Feron использует ИФА «сэндвич» метод, а на твердофазном носителе используются специфические для человека антитела к ИФН- γ . Данный метод разработан специально для оценки клеточно-опосредованного иммунитета путем измерения ИФН- γ , вырабатываемого вследствие обработки цельной крови с гепарином стимулирующим антигеном.

В наборе реагентов STANDARD E TB-Feron IGRA используются пробирки с литий- гепарином в качестве антикоагулянта или используются 3 типа пробирок TB-Feron производства компании SD BIOSENSOR (пробирки с митогеном, пробирки с антигеном ТБ и пробирки нулевого контроля) для получения точных результатов. Для набора реагентов STANDARD E TB-Feron IGRA требуется 3 мл цельной крови - по 1 мл крови в каждую из трех пробирок.

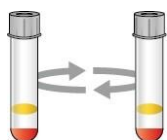


Этап 1. Инкубирование образцов крови

1. Взять у пациента пробу крови в вакуумные пробирки для забора крови и тщательно перемешать ее, аккуратно встряхивая 10 раз так, чтобы можно было убедиться, что вся внутренняя поверхность пробирки покрыта кровью, что необходимо для растворения антигенов на стенках пробирки.
2. Инкубировать пробирки в вертикальном положении в течение 16-24 часов при температуре 37 °C.



3. После инкубирования пробирки центрифугируют в течение 15 минут при 2200-2300g, для того чтобы отделить плазму от эритроцитов.

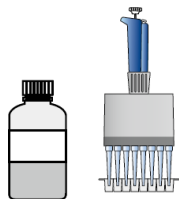


4. После центрифугирования перед отбором плазмы не допускайте забор и выпуск плазмы пипеткой или смешивание плазмы до ее забора. Всегда будьте осторожны, чтобы не взболтать материал на поверхности геля.

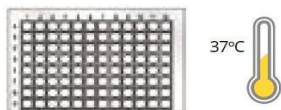


Этап 2. ИФА для определения концентрации ИФН-γ

1. Подготовить стандартные образцы и образцы плазмы пациентов



2. Проведите тест ИФА на обнаружение ИФН-γ



3. Проведите измерение значения оптической плотности (ОП)













4. Произведите расчет и интерпретацию результатов теста



16. УСЛОВНЫЕ ОБОЗНАЧЕНИЯ, СИМВОЛЫ

MW Ab	Микропланшет с нанесенными антителами
STANDARDS	Стандартные образцы STANDARD
ELISA DIL	Растворитель
WASH BUF 20x	Промывочный буферный раствор, концентрат 20x
AMPL CONJ	Амплификационный конъюгат
CONJ	Конъюгат фермента
SUBS TMB	Тетраметилбензидиновый (ТМБ) субстрат
SOLN STOP	Стоп-реагент
	Внимание
	Дата изготовления
	Содержимого достаточно для проведения n тестов
	Изготовитель
EC REP	Уполномоченный представитель в Европейском сообществе

	Знак обращения на рынке. Значок CE маркировки.
	Медицинское изделие для диагностики in vitro
	Код партии
	Номер по каталогу
	Использовать до...
	Температурный диапазон
	Обратитесь к инструкции по применению
	Повторное использование запрещено
	Примечание
 Xi=Irritant	Обладает раздражающим действием