

结核感染 T 细胞检测试剂盒（酶联免疫法）说明书

【产品名称】

通用名称：结核感染 T 细胞检测试剂盒（酶联免疫法）

英文名称：QuantiFERON®-TB Gold Plus

【包装规格】

酶免试剂部分：	44 测试/盒， 440 测试/盒。	
血液培养管部分：	QuantiFERON Nil 空白对照管	50 支/盒，
	QuantiFERON TB1 抗原管	50 支/盒，
	QuantiFERON TB2 抗原管	50 支/盒，
	QuantiFERON Mitogen 丝裂原阳性对照管	50 支/盒。

【预期用途】

本产品用于体外定性检测人新鲜外周静脉抗凝血中结核分枝杆菌特异性的 T 细胞免疫反应。

本产品适用于临床结核病的辅助诊断，仅供体外诊断使用。利用 ESAT-6 和 CFP-10 多肽混合物刺激肝素抗凝全血中的细胞。通过酶联免疫吸附试验（ELISA）检测 γ -干扰素（IFN- γ ）的浓度，从而在体外鉴定机体是否对上述与结核分枝杆菌感染有关的多肽抗原做出免疫应答反应。

结核病是一种由结核分枝杆菌（MTB）复合群（结核分枝杆菌、牛分枝杆菌、非洲分枝杆菌、田鼠分枝杆菌、坎纳分枝杆菌、山羊分枝杆菌等）感染引发的传染性疾病，一般由肺结核病患者的飞沫通过空气传播给新的宿主。新感染个体可能在数周至数月内发展成为结核病，但大多数感染个体不表现出患病状态。结核感染 2~10 周后皮肤对结核菌素试验呈现敏感反应。

【检测原理】

本产品利用 ESAT-6 和 CFP-10 多肽混合物刺激肝素抗凝全血中的细胞。通过酶联免疫吸附试验（ELISA）检测 γ -干扰素（IFN- γ ）的浓度，从而在体外鉴定机体是否对上述与结核分枝杆菌感染有关的多肽抗原做出免疫应答反应。

结核感染 T 细胞检测试剂盒（酶联免疫法）是第四代 QuantiFERON-TB 检测技术，通过定量分析全血中 IFN- γ 来评估细胞介导的反应。QFT-Plus 是基于细胞介导的针对分枝杆菌多肽抗原刺激的免疫应答反应（CMI）定性检测方法。所有卡介苗（BCG）菌株以及除堪萨斯分枝杆菌、苏尔加分枝杆菌、戈登分枝杆菌和海分枝杆菌以外的大多数非结核分枝杆菌均不含 ESAT-6 和 CFP-10 这两种蛋白⁽¹⁾。感染结核分枝杆菌复合群的个体在其血液中通常有识别以上抗原和其他分枝杆菌抗原的淋巴细胞，该识别过程包括细胞因子 IFN- γ 的生成和分泌。IFN- γ 检测和随后的定量分析构成了 QFT-Plus 检测的基础。

QFT-Plus 使用的抗原是一种模拟 ESAT-6 和 CFP-10 蛋白的多肽混合物。众多研究已证明，这些多肽抗原刺激结核分枝杆菌感染的个体后，体内的 T 细胞产生反应并释放 IFN- γ ，但未感染者或 BCG 接种者体内的 T 细胞通常不会产生这种反应^(1, 2, 6, 9)。QFT-Plus 可以有效辅助诊断结核分枝杆菌复合群感染的患者。

阳性结果支持结核病诊断。结核菌素皮试和干扰素释放试验分析技术（IGRA）有助于，但不足以诊断病人是否患结核分枝杆菌符合感染。因为感染其它分支杆菌（例如堪萨斯菌）也会导致阳性结果。有必要通过其他医疗和诊断评估来确认或排除结核病。

QFT-Plus 有 2 个独立的 TB 抗原管：TB1 抗原管（TB1 管）和 TB2 抗原管（TB2 管）。两管均含 MTB 复合群中 ESAT-6 和 CFP-10 相关的多肽抗原。TB1 抗原管包含源于 ESAT-6 和 CFP-10 的多肽，可诱导 CD4+辅助 T 淋巴细胞 CMI 应答。TB2 抗原管包含 ESAT-6 和 CFP-10 来源的多肽，可诱导 CD4+辅助 T 淋巴细胞和 CD8+杀伤 T 淋巴细胞 CMI 应答。在 MTB 感染过程中，CD4+ T 细胞通过分泌细胞因子 IFN- γ 在免疫控制中发挥重要作用。现有证据支持 CD8+T 细胞通过产生 IFN- γ 和其他可溶因子参与宿主防御 MTB 机制，活化巨噬细胞，抑制 MTB 生长，杀死被感染细胞或直接溶解细胞内 MTB。在活动性结核病患者中检测到 MTB 特异性 CD8+杀伤 T 细胞分泌的 IFN- γ 。此外，活动性结核病患者体内能频繁检测到 ESAT-6 和 CFP-10 特异性 CD8+T 淋巴细胞。这可能与近期 MTB 暴露有关。同时，在 HIV 共感染的活动性结核病患者和结核病幼儿体内都检测到分泌 IFN- γ 的 MTB 特异的 CD8+T 细胞。

QFT-Plus 试验使用专用的血液培养管孵育全血，包括 TB1 抗原管（TB1 管），TB2 抗原管（TB2 管），空白对照（Nil 管），丝裂原阳性对照管（Mitogen 管）。血液样本在血液培养管内孵育 16 至 24 小时后，分离出血浆并检测经多肽抗原刺激产生的 IFN- γ 。

QFT-Plus 试验分 2 个阶段进行。首先将血液采集到单支含肝素锂或肝素钠抗凝剂的血液采集管内，然后再分别转移到 QFT-Plus 血液培养管中。

振摇 QFT-Plus 血液培养管使抗原与血液混匀，并应在血液采集后 16 小时内尽快将其置于 $37 \pm 1^\circ\text{C}$ 孵育。孵育 16 至 24 小时后，离心、吸取血浆，使用 ELISA 法测定 IFN- γ (IU/mL) 含量。QFT-Plus ELISA 中采用的重组人 IFN- γ 标准品与作为参照的 IFN- γ 制剂（NIH 参考号：Gxg01-902-535）进行对比检测。检测样本的结果以国际单位/毫升（IU/mL）报告，对应采用本试剂盒提供的标准品经过稀释后的稀释液制备标准曲线。

已知某些个体的血清或血浆中的异嗜性（如人抗鼠）抗体可对免疫检测造成干扰。对 QFT-Plus ELISA 而言，通过向绿色稀释剂中添加正常小鼠血清并采用 F(ab')₂ 单克隆抗体片段作为包被于微孔板的 IFN- γ 捕获抗体，异嗜性抗体的影响可降至最低。

【主要组成成分】

1. ELISA 酶免试剂部分

组分名称	规格（44 测试/盒）	规格（440 测试/盒）	主要组成成分
酶标板条	2×96 孔酶标板	20×96 孔酶标板	包被有小鼠抗人 IFN- γ 单克隆抗体
IFN- γ 冻干标准品	1 瓶（复溶后为 8 IU/mL）	10 瓶（复溶后为 8 IU/mL）	含重组人 IFN- γ ，牛酪蛋白，0.01%w/v 硫柳汞
绿色稀释剂	1×30mL	10×30mL	含牛酪蛋白，正常小鼠血清，0.01%w/v 硫柳汞
100×浓缩结合物，冻干	1×0.3 mL（复溶后）	10×0.3 mL（复溶后）	小鼠抗人 IFN- γ HRP，含 0.01% w/v 硫柳汞
20×浓缩洗涤缓冲液	1×100 mL	10×100 mL	含 0.05% v/v ProClin®300
酶底物溶液	1×30 mL	10×30 mL	含 H ₂ O ₂ ，3,3',5,5' 四甲基联苯胺
酶终止液	1×15 mL	10×15 mL	含 0.5M 硫酸

2. 血液培养管部分

组分名称	规格	主要组成成分
QuantiFERON Nil 空白对照管	50 支/盒	肝素
QuantiFERON TB1 抗原管	50 支/盒	ESAT-6 和 CFP-10, 肝素
QuantiFERON TB2 抗原管	50 支/盒	ESAT-6 和 CFP-10, 肝素
QuantiFERON Mitogen 丝裂原阳性对照管	50 支/盒	植物血凝素 (PHA-P), 肝素

QFT-Plus ELISA 试剂盒使用重组的人 IFN- γ 标准品, 该标准品溯源至 IFN- γ (NIH Ref: Gxg01-902-535)。

3. 需要但未提供的材料及设备

- 37°C \pm 1°C 孵育箱, 不要求 CO₂
- 已校准的不同量程移液器, 可转移 10 μ L 至 1000 μ L 液体的一次性加样枪头
- 校准的多通道移液器, 可转移 50 μ L 至 100 μ L 液体的一次性加样枪头
- 96 孔板板盖
- 酶标板振荡器, 震荡速度 500~1000 rpm
- 去离子水或蒸馏水, 2 L
- 酶标板洗板机 (为了安全的处理血清样本, 推荐自动洗板机)
- 可变转速的涡旋振荡器
- 离心机 (用于血液收集管离心, 转速 \geq 3000 RCF (g))
- 量筒, 1L 或 2L
- 加样槽
- 可选的: 放置于 96 孔架上的 1mL 带盖微管或带塑料封膜的未包被的微板用于血清的保存 (22 个病人/支架或板)

*在使用之前, 确保仪器已按照制造商的建议进行检查和校准。

【储存条件及有效期】

ELISA 酶免试剂

- 试剂盒试剂贮存于 2~8°C 下，有效期 27 个月。
- 酶底物溶液始终避免阳光直射。
- 生产日期、失效日期见标签。

血液培养管

- 血液培养管贮存于 4~25°C 下，有效期 15 个月。
- 生产日期、失效日期见标签。

复溶后和未使用的试剂

- 关于如何复溶试剂的说明，参见【**检验方法**】。
- 复溶的标准品溶液 2~8°C 下可存放长达 3 个月。
注意：请注明试剂盒标准品复溶日期。
- 复溶后，未使用的 100×浓缩结合物必须再放回 2~8°C 下贮存，且必须在 3 个月内使用。
注意：请注明浓缩结合物复溶日期。
- 稀释后的结合物必须在制备后 6 小时内使用。
- 稀释后的洗涤缓冲液在室温下最多可贮存 2 周。

【适用仪器】

酶标仪（装配 450nm 滤光片和 620nm 至 650nm 参考滤光片）

【样本要求】

适用的样本类型：人体新鲜外周全血

标本的采集和处理

QFT-Plus 使用以下血液培养管：

1. QuantiFERON Nil 空白对照管（灰盖，白环）
2. QuantiFERON TB1 抗原管（绿盖，白环）
3. QuantiFERON TB2 抗原管（黄盖，白环）
4. QuantiFERON Mitogen 丝裂原阳性对照管（紫盖，白环）

抗原以干粉状的形式包被在血液培养管内壁上，将管壁上的抗原与血液进行充分混合至关重要。将血液先采集到单支肝素锂或肝素钠管内存放，随后再转移至 QFT-Plus 血液培养管并孵育。使用肝素锂或肝素钠管采集的血液样本在室温下（17~25°C）最长可存放 16 小时，然后再直接转移到 QFT-Plus 血液培养管中。肝素锂或肝素钠管中的血液样本也可在 2~8°C 下存放最长 48 小时，然后再转移到 QFT-Plus 血液培养管中。

将血液采集到单支肝素锂或肝素钠采血管，然后再转移至 QFT-Plus 血液培养管。

1. 先使用单一肝素锂或肝素钠抗凝的采血管采集血样，然后再转移到 QFT-Plus 血液培养管中。仅使用肝素锂或肝素钠作为血液抗凝剂，以避免其他抗凝剂干扰测定。

正确标记试管。

建议在试管上标记采血的时间和日期。

重要：采血时采血管应处于室温（17~25°C）

2. 将血液采集至肝素锂或肝素钠采血管中（最低采血量 5 mL），并轻轻颠倒试管数次混合，以溶解肝素。此程序应由训练有素的采血员执行。
3. 在将血液转移至 QFT-Plus 血液培养管并孵育之前，控制好血液样本在肝素锂或肝素钠管内的存放时间和温度（见图 1-2 采血方案）。

方案 1-肝素锂或肝素钠采血管室温存放和处理

使用肝素锂或肝素钠管采集的血液在室温（17~25°C）下的存放时间不得超过采血之时起 16 小时，应将其及时转移至 QFT-Plus 血液培养管，并进行后续的孵育。

方案 2-肝素锂或肝素钠采血管冷藏存放和处理

重要：操作步骤 a) -d) 必须按顺序执行。

- a) 采血至肝素锂或肝素钠管的血液在室温（17~25°C）下最长可存放至采血后 3 小时。
- b) 采血至肝素锂或肝素钠管的血液在冷藏条件（2~8°C）下最长可存放 48 小时。
- c) 冷藏后，肝素锂或肝素钠管必须先平衡到室温（17~25°C），然后再转移到 QFT-Plus 血液培养管。

- d) 含等分血液样本的 QFT-Plus 血液培养管应在血液转移后的 2 小时内放入 37°C 孵育箱。

如果将血液转移到 QFT-Plus 血液培养管并振摇后未直接在 37°C 下孵育 QFT-Plus 血液培养管，请重新颠倒试管 10 次进行混合，然后再在 37°C 下进行孵育。从采血到在 QFT-Plus 血液培养管中孵育的总时间不应超过 53 小时。

1. 将血液样本从肝素锂或肝素钠采血管转移至 QFT-Plus 血液培养管的步骤：

重要：QFT-Plus 血液培养管应处于室温（17~25°C）。

- a) 正确标记每支 QFT-Plus 血液培养管。

确保可通过其标签或其他方法识别每支取下盖子的血液培养管（Nil 管，TB1 管，TB2 管和 Mitogen 管）。建议将标记的采血时间和日期从肝素锂或肝素钠管转移到 QFT-Plus 血液培养管。

- b) 必须通过轻轻颠倒均匀混合样本，然后再将样本分配到 QFT-Plus 血液培养管中。

- c) 应以无菌方式执行分配：确保执行相应安全程序，取下 4 支 QFT-Plus 血液培养管的管盖，然后向每支管内分装 1 mL 血液。拧紧管盖并按以下步骤进行混合。确保可通过其标签或其他方法识别每支取下管盖的血液培养管（Nil 管，TB1 管，TB2 管和 Mitogen 管）。

2. 混合血液培养管。血样分装到 QFT-Plus 血液培养管后立即上下振摇血液培养管 10 次，确保整个管内表面均覆盖有血液。该操作目的是溶解管壁上抗原。

过分用力振摇可能导致管内凝胶脱落，造成结果异常。

3. 标记、分装和振摇后，血液培养管必须在 2 小时内转移至 37°C ± 1°C 孵育箱进行孵育。如果分装和振摇后不立即在 37°C 下孵育 QFT-Plus 血液培养管，请重新颠倒试管 10 次进行混合，然后再在 37°C 下进行孵育。（请参阅图 1-2 的采血方案）。

4. QFT-Plus 血液培养管在 37°C ± 1°C 直立孵育 16 至 24 小时。孵育箱不要求 CO₂ 或者湿度。

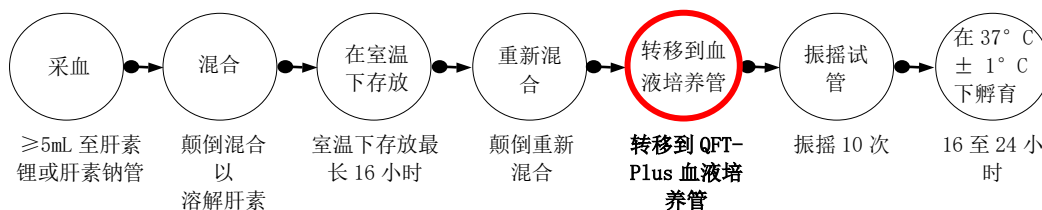


图 1. 采血方案：采血至肝素锂或肝素钠管并在室温下存放。

从采血至肝素锂或肝素钠试管到在 37°C 下孵育的总时间不得超过 16 小时。

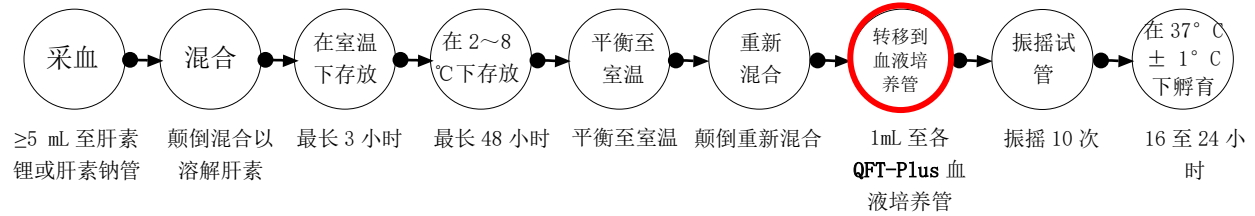


图 2. 采血方案：采血至肝素锂或肝素钠管并在 2~8°C 下存放。

从采血至肝素锂或肝素钠管到在 37°C 下孵育的总时间不得超过 53 小时。

【检验方法】

为了获取有效的实验结果，实验者需要在设定的时间内完成特定的检测。在使用试剂之前，建议操作人员仔细计划实验的每个阶段，以便有足够的时间执行每个阶段。进行检测所需要的时间

进行 QFT-Plus ELISA 需要的时间估计如下：同时标出成批检测多个样本的时间：

血液培养管 37°C 孵育：	16 至 24 小时
ELISA：	每块酶标板约 3 小时
	(22 个样本)
	<1 小时工作量
	每多 1 块酶标板，增加 10 至 15 分钟

第一阶段-血液孵育和血浆收集

提供的材料

- QFT-Plus 血液培养管（参见【主要组成成分】部分）

需要但未提供的材料

- 参见【主要组成成分】部分

步骤

1. 如果血液采集分装后未能立即孵育，则在孵育前必须上下颠倒血液培养管 10 次重新混匀。
2. 血液培养管在 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 直立孵育 16 至 24 小时。孵育箱不要求 CO_2 或者湿度。
3. 37°C 孵育后，在未离心状态下，血液培养管可以在 $4\sim 27^{\circ}\text{C}$ 下最多放置 3 天。
4. 37°C 孵育后，血液培养管 2000 至 $3000\times \text{RCF (g)}$ 离心 15 分钟收集血浆。分离胶将细胞与血浆分离，如果未分离，血液培养管应再次以更高转速离心。
不离心也可吸取血浆，但取出血浆时需格外小心，不要搅动细胞。
5. 血浆样本只可用移液器来吸取。

重要提示：

离心后，吸取血浆前，应避免使用移液器上下反复吸液或以任何方式混合血浆。

始终小心不要搅动分离胶表面的物质。

血浆样品可以直接从离心后的血液培养管加至 QFT-Plus 酶标板，包括使用 ELISA 自动工作站时。

血浆样品可以在 $2\sim 8^{\circ}\text{C}$ 下贮存长达 28 天，血浆分离后，在 -20°C 以下可贮存 24 个月。

第二阶段- IFN- γ ELISA 测定

提供的材料

- QFT-Plus ELISA 试剂盒（参见【主要组成成分】部分）

需要但未提供的材料

- 参见【主要组成成分】部分

步骤

1. 所有血浆样本和试剂，除 $100\times$ 浓缩结合物，使用前必须放至室温（ $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ），平衡至少 60 分钟。
2. 从酶标板架取下多余的酶标板条，用铝箔袋重新密封，放回冰箱贮存。

3. 提供至少 1 列酶标板条用于 QFT-Plus 标准品以及足够的酶标板条用于所有受试者（见图 4）。检测完成后，保留酶标板架供剩余酶标板条使用。
 - 3a. 根据标准品瓶标签上标明的体积，使用去离子水或蒸馏水复溶 IFN- γ 标准品。轻柔混合尽量减少起泡，并确保完全溶解。标准品复溶至正确的体积后将得到浓度为 8.0 IU/mL 的溶液。
 - 3b. 使用绿色稀释剂（GD）先后将复溶后的标准品进行 1:2 和 1:4 稀释（见图 3）。
 - 3c. 生成以下浓度的标准曲线
 - S1（标准品 1）浓度为 4.0 IU/mL，
 - S2（标准品 2）浓度为 1.0 IU/mL，
 - S3（标准品 3）浓度为 0.25 IU/mL，
 - S4（标准品 4）浓度为 0 IU/mL（仅含 GD）。
 - 3d. 标准品必须至少重复一次用于测定分析。
 - 3e. 每次 ELISA 检测时，需制备新鲜的标准品稀释液。

步骤
标记 4 管：“S1”、“S2”、“S3”、“S4”。
加入 150 μ L GD 至 S1、S2、S3、S4。
加入 150 μ L 试剂盒标准品至 S1 并充分混合。
从 S1 转移 50 μ L 溶液至 S2 并充分混合。
从 S2 转移 50 μ L 溶液至 S3 并充分混合。
仅 GD 作为零标准品（S4）。

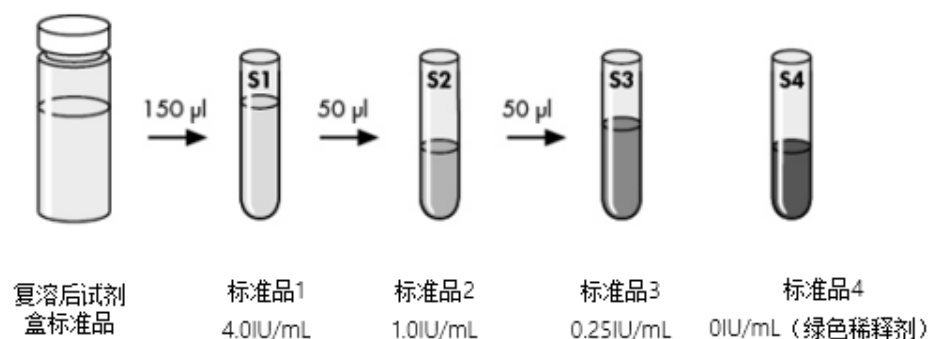


图 3. 标准曲线稀释系列的制备

4. 用 0.3 mL 去离子水或蒸馏水复溶冻干的 100×浓缩结合物。轻轻混合以尽量减少起泡，并确保结合物完全溶解。

通过使用规定体积的绿色稀释剂稀释复溶 100×浓缩结合物来制备工作浓度的结合物（见表 1 结合物制备）。使用的 100×浓缩结合物在使用后立即放回 2~8℃。

表 1. 结合物制备（工作浓度）

酶标板条数量	100×浓缩结合物体积	绿色稀释剂体积
2	10 µL	1.0 mL
3	15 µL	1.5 mL
4	20 µL	2.0 mL
5	25 µL	2.5 mL
6	30 µL	3.0 mL
7	35 µL	3.5 mL
8	40 µL	4.0 mL
9	45 µL	4.5 mL
10	50 µL	5.0 mL
11	55 µL	5.5 mL
12	60 µL	6.0 mL

5. 对于从血液培养管吸出后（冷藏或冷冻）贮存的血浆样品，使用前请彻底混合，然后再添加到酶标板孔内。血浆样本可在 2~8℃条件下储存在离心后的 QFT-Plus 血液培养管最多 28 天。或者将收集后血浆样本存储在 2~8℃不超过 28 天。收集后的血浆样本也可储存在 -20℃以下（最好低于 -70℃）24 个月。在用于 QFT-Plus ELISA 检测时，血液培养管离心后得到的血浆样品可直接使用或装载。

重要提示：如果血浆样品直接从离心后 QFT-Plus 血液培养管吸出，应避免有任何混合血浆的操作。始终小心不要搅动凝胶表面的物质。

6. 加入 50 µL 新鲜制备的工作浓度的结合物至需要的酶标板孔。
7. 加入 50 µL 试验血浆样品至适当的酶标板孔（参见图 4 推荐的酶标板布局）。
8. 最后，加入标准品 S1 至 S4 各 50 µL。标准品至少重复一次。

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1 N	3 N	5 N	7 N	9 N	S1	S1	13 N	15 N	17 N	19 N	21 N
B	1 TB1	3 TB1	5 TB1	7 TB1	9 TB1	S2	S2	13 TB1	15 TB1	17 TB1	19 TB1	21 TB1
C	1 TB2	3 TB2	5 TB2	7 TB2	9 TB2	S3	S3	13 TB2	15 TB2	17 TB2	19 TB2	21 TB2
D	1 M	3 M	5 M	7 M	9 M	S4	S4	13 M	15 M	17 M	19 M	21 M
E	2 N	4 N	6 N	8 N	10 N	11 N	12 N	14 N	16 N	18 N	20 N	22 N
F	2 TB1	4 TB1	6 TB1	8 TB1	10 TB1	11 TB1	12 TB1	14 TB1	16 TB1	18 TB1	20 TB1	22 TB1
G	2 TB2	4 TB2	6 TB2	8 TB2	10 TB2	11 TB2	12 TB2	14 TB2	16 TB2	18 TB2	20 TB2	22 TB2
H	2 M	4 M	6 M	8 M	10 M	11 M	12 M	14 M	16 M	18 M	20 M	22 M

图 4. 推荐的样品布局（每板 22 个检测）

S1（标准品 1）、S2（标准品 2）、S3（标准品 3）、S4（标准品 4）

1 N（1 号样品 Nil 空白对照管血浆）、1 TB1（1 号样品 TB1 抗原管血浆）、

1 TB2（1 号样品 TB2 抗原管血浆）、1 M（1 号样品 Mitogen 丝裂原阳性对照管血浆）

9. 盖上酶标板，用酶标板振荡器（500~1000 rpm）充分混合结合物和血浆样本/标准品 1 分钟。避免板孔内液体溅出。
10. 盖上酶标板，室温（22°C ± 5°C）下孵育 120 ± 5 分钟。孵育期间酶标板应避免阳光直射。任何温度的偏差都会导致错误的结果。
11. 孵育期间，可进行工作浓度洗涤缓冲液的配制。20×浓缩洗涤缓冲液与去离子水或蒸馏水按 1: 19 的比例稀释，并充分混合。试剂盒内提供的 20×浓缩洗涤缓冲液可用于制备 2L 工作浓度的洗涤缓冲液。
12. 孵育完成后，用 400 μL 工作浓度洗涤缓冲液洗涤各酶标板孔至少 6 次，推荐使用自动洗板机（考虑到处理样本时的安全因素）。
充分洗涤对于检测性能很重要。确保每个洗涤循环每孔完全灌满洗涤缓冲液至孔顶部。推荐每次洗涤时浸泡至少 5 秒。
废液槽内应添加标准的实验室消毒剂处理，必须按照相应程序消毒处理潜在感染性物质。
13. 洗板完成后，将酶标板孔朝下拍在具有吸水性的低棉毛巾上去除残留的洗涤缓冲液。每孔加入 100 μL 酶底物溶液，盖上酶标板，用酶标板振荡器（500~1000rpm）充分混合 1 分钟。
14. 盖上酶标板，室温（22°C ± 5°C）下孵育 30 分钟。
孵育期间酶标板应避免阳光直射。

15. 孵育 30 分钟后，每孔加入 50 μ L 酶终止液并混合。加入顺序需与加入底物的顺序相同。
混合需使用振荡仪在 500~1000rpm 的速度下充分混匀。
16. 终止反应后 5 分钟内，使用有 450 nm 滤光片和 620 nm 至 650 nm 参考滤光片的酶标仪测量每孔的光密度（OD）。使用 OD 值计算结果。

简明检测步骤

第一阶段-血液孵育

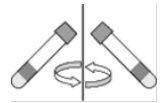
1. 采集患者血液后分装至血液培养管并充分的上下振摇 10 次，确保整个试管内壁都被血液覆盖，以溶解管壁上的抗原。该操作目的是溶解管壁上抗原。



2. 将血液培养管直立，在 $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 孵育 16 至 24 小时。



3. 孵育结束后，以 2000 至 3000 \times g RCF（g）离心血液培养管 15 分钟以分离血浆和红细胞。



4. 离心后，用移液器收集血浆样本，收集前要避免移液器反复上下吸取或者以任何方式混合血浆。始终注意不要搅动分离胶表面的物质。



第二阶段- IFN- γ ELISA 测定

1. 平衡 ELISA 试剂。除 100 \times 浓缩结合物外，ELISA 试剂盒内所有组成成分在室温下平衡至少 60 分钟。



2. 使用蒸馏水或去离子水复溶试剂盒标准品至 8.0 IU/mL。制备 4 个浓度梯度的标准品稀释液。



3. 使用蒸馏水或去离子水复溶冻干的 100×浓缩结合物。

4. 使用绿色稀释剂配制实验所需浓度的结合物并于每个酶标板孔中加入 50 μL 。



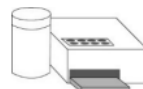
5. 加入 50 μL 待检测血浆样品和 50 μL 标准品至相应酶标板孔。使用酶标板振荡器混合。



6. 室温孵育 120 分钟。



7. 每个酶标板孔以 400 μL 洗涤缓冲液清洗至少 6 次。



8. 加入 100 μL 酶底物溶液至各酶标板孔中。使用酶标板振荡器混合。



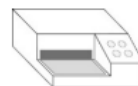
9. 室温孵育 30 分钟。



10. 加入 50 μL 酶终止液至各酶标板孔中。使用酶标板振荡器混合。



11. 使用酶标仪以 620nm 至 650nm 为参考滤光片，在 450 nm 读取结果。



12. 分析结果。



结果（计算）

可使用 QFT-Plus 分析软件分析原始数据和计算结果。

该软件可从网站 www.QuantiFERON.com 下载。请确保使用最新版 QFT-Plus 分析软件。该软件执行检测的质量控制评估，生成标准品曲线，并提供每位受试者样本的检查结果，在【检测结果的解释】中有详细说明。所有浓度大于 10 IU/mL 的都会被软件报告为“>10”，这样的结果是超出 ELISA 检测范围的。

作为使用 QFT-Plus 分析软件的替代方法，可以按照以下方法测定结果。

标准品曲线的生成（如果不使用 QFT-Plus 分析软件）测定每块板上试剂盒标准品复孔的平均 OD 值。

通过标准品平均 OD 值的 $\log(e)$ 值（y 轴）比标准品 IFN- γ 浓度（IU/mL）的 $\log(e)$ 值（x 轴）作图，构建 $\log(e)$ 值- $\log(e)$ 值标准曲线，这些计算中将忽略 S4 标准品。通过回归分析计算最佳的拟合标准曲线。

使用标准品曲线，按照每个样本的 OD 值来计算每个测试血浆样本的 IFN- γ 浓度（IU/mL）。

可使用酶标仪提供的软件包以及标准电子表格或统计软件（如 Microsoft® Excel®）进行以上计算。推荐使用以上软件包计算回归分析、标准品变异系数（%CV）以及标准曲线的相关系数（r）。

计算举例

如果以下为获得的标准曲线的 OD 值，使用 $\log(e)$ 法计算将如表 2 所示。

表 2. 标准曲线

标准品	IU/mL	OD 值 a 和 b	OD 平均值	%CV	$\text{Log}(e)\text{IU/mL}$	$\text{Log}(e)\text{Mean (OD)}$
标准品 1	4	1.089, 1.136	1.113	3.0	1.386	0.107
标准品 2	1	0.357, 0.395	0.376	7.1	0.000	-0.978
标准品 3	0.25	0.114, 0.136	0.125	NA	-1.386	-2.079
标准品 4	0	0.034, 0.037	0.036	NA	NA	NA

标准曲线方程式为 $y = 0.7885(X) - 0.9837$ 。其中 $m = 0.7885$, $c = -0.9837$ 。这些值用于方程 $X = (Y - c)/m$ 去计算 X 。基于标准曲线, 相关系数 (r) = 1.000。NA: 不适用。

标准曲线 (表 2) 用于将抗原 OD 值转换为国际单位 (IU/mL)。

表 3. 样本计算

抗原	OD value	$\text{Log}_{(e)}\text{OD value}$	X	e^x (IU/mL)	Antigen-Nil (IU/mL)
Nil	0.037	-3.297	-2.934	0.05	-
TB1	1.161	0.149	1.437	4.21	4.16
TB2	1.356	0.305	1.634	5.12	5.07
Mitogen	1.783	0.578	1.981	7.25	7.20

TB1, TB2 和丝裂原的 IFN- γ 值 (单位为 IU/mL) 通过减去各自 Nil 对照获得的 IU/mL 值来校正背景。校正后的数值用于计算和解释测试结果。

检测的质量控制

检测结果的准确度取决于生成准确的标准曲线。因此, 在解读检测样品结果前, 必须检查标准品的结果。

确保 ELISA 检测有效:

- 标准品 1 的平均 OD 值必须 ≥ 0.600 。
- 标准品 1 和标准品 2 复孔的 OD 值 %CV 必须 $\leq 15\%$ 。
- 标准品 3 和标准品 4 复孔的 OD 值变异不能超过其平均值 0.040 个光密度单位。
- 从标准品的平均吸收光度值计算的相关系数 (r) 必须 ≥ 0.98 。

QFT-Plus 分析软件将计算并报告以上质量控制参数。

如果不符合以上标准, 该测定无效且须重新检测。

S4 标准品 (绿色稀释剂) 的平均 OD 值应该 ≤ 0.150 。如果平均 OD 值 > 0.150 , 应该检查酶标板的洗涤程序。

【阳性判断值】

阳性判断值是利用一项进行的特异性和灵敏度研究的数据测定的。为了确定特异性，共 216 人均被确定无 TB 暴露风险，且已接种了 BCG，被认为无感染。为了估计此检测方法的灵敏度，还另外对 118 名经培养证实感染结核分枝杆菌的患者进行了检测。阳性判断值是根据 216 名未确定结核暴露危险因素的受试者（已接种卡介苗并假定无感染）和 118 名培养证实结核分枝杆菌感染的受试者的数据确定的。结合灵敏度和特异性数据，采用 ROC 曲线分析。ROC 分析的灵敏度和特异性数据显示，最佳的 ELISA 阳性判断值为 0.35 IU/mL（见图 5）。

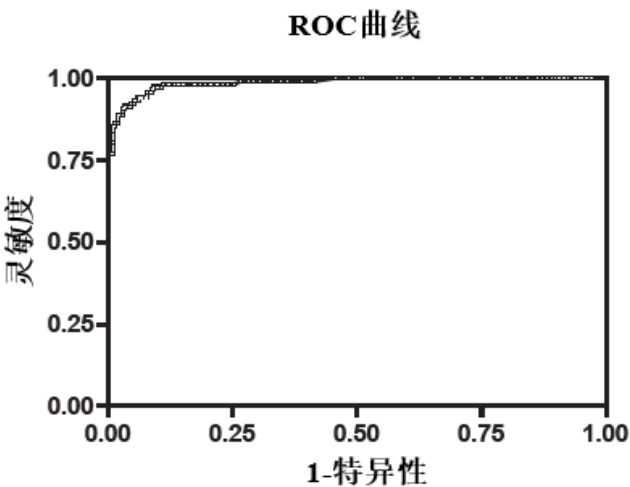


图 5. ESAT-6 和 CFP-10 反应的 ROC 曲线

表 4.不同临界值下 ELISA 的灵敏度和特异性值

临界值 (IU/mL) IFN- γ	灵敏度%	95% CI	特异性%	95% CI	灵敏度+ 特异性
0.20	91.53	84.97%至95.86%	96.31	92.87%至98.40%	187.84
0.23	91.53	84.97%至95.86%	96.77	93.47%至98.69%	188.30
0.26	90.68	83.93%至95.25%	96.77	93.47%至98.69%	187.45
0.28	90.68	83.93%至95.25%	97.24	94.08%至98.98%	187.92
0.30	89.83	82.91%至94.63%	97.24	94.08%至98.98%	187.07
0.31	88.98	81.90%至94.00%	97.24	94.08%至98.98%	186.22
0.33	88.98	81.90%至94.00%	97.70	94.71%至99.25%	186.68
0.35	88.98	81.90%至94.00%	98.16	95.35%至99.50%	187.14
0.39	88.14	80.90%至93.36%	98.16	95.35%至99.50%	186.3

临界值 (IU/mL) IFN- γ	灵敏度%	95% CI	特异性%	95% CI	灵敏度+ 特异性
0.42	87.29	79.90%至92.71%	98.16	95.35%至99.50%	185.45
0.43	86.44	78.92%至92.05%	98.16	95.35%至99.50%	184.6
0.45	86.44	78.92%至92.05%	98.62	96.01%至99.71%	185.06
0.47	85.59	77.94%至91.38%	99.08	96.71%至99.89%	184.67
0.48	84.75	76.97%至90.70%	99.08	96.71%至99.89%	183.83
0.50	83.90	76.00%至90.02%	99.08	96.71%至99.89%	182.98

【检测结果的解释】

结果的解读

按照以下标准解释 QFT-Plus 结果（见表 5）：

重要提示：解读 QFT-Plus 结果时，诊断或排除结核病需要将流行病学、病史、医疗和其他诊断结果等考虑在内。结核病详细的诊疗共识请见：

<https://www.cdc.gov/tb/publications/guidelines/default.htm>

表 5. QFT-Plus 结果解读

Nil 值 (IU/mL)	TB1 值减去 Nil 值 (IU/mL)	TB2 值减去 Nil 值 (IU/mL)	Mitogen 值减去 Nil 值 (IU/mL) *	QFT- Plus 结果	报告/解读
≤8.0	≥0.35 且 ≥25% Nil 值	任何值	任何值	阳性 [†]	可能感染结核 分枝杆菌
	任何值	≥0.35 且 ≥25% Nil 值			
	<0.35 或 ≥0.35 且 <25% Nil 值	<0.35 或 ≥0.35 且 <25% Nil 值	≥0.5	阴性	不太可能感染 结核分枝杆菌
	<0.35 或 ≥0.35 且 <25% Nil 值	<0.35 或 ≥0.35 且 <25% Nil 值	<0.5	不确定 [‡]	不能确定感染 结核分枝杆菌 的可能性
>8.0 [§]	任何值				

* 对 Mitogen 阳性对照的反应（以及偶尔对 TB 抗原的反应）可能会超出酶标仪的读数范围。这对检测结果无影响。

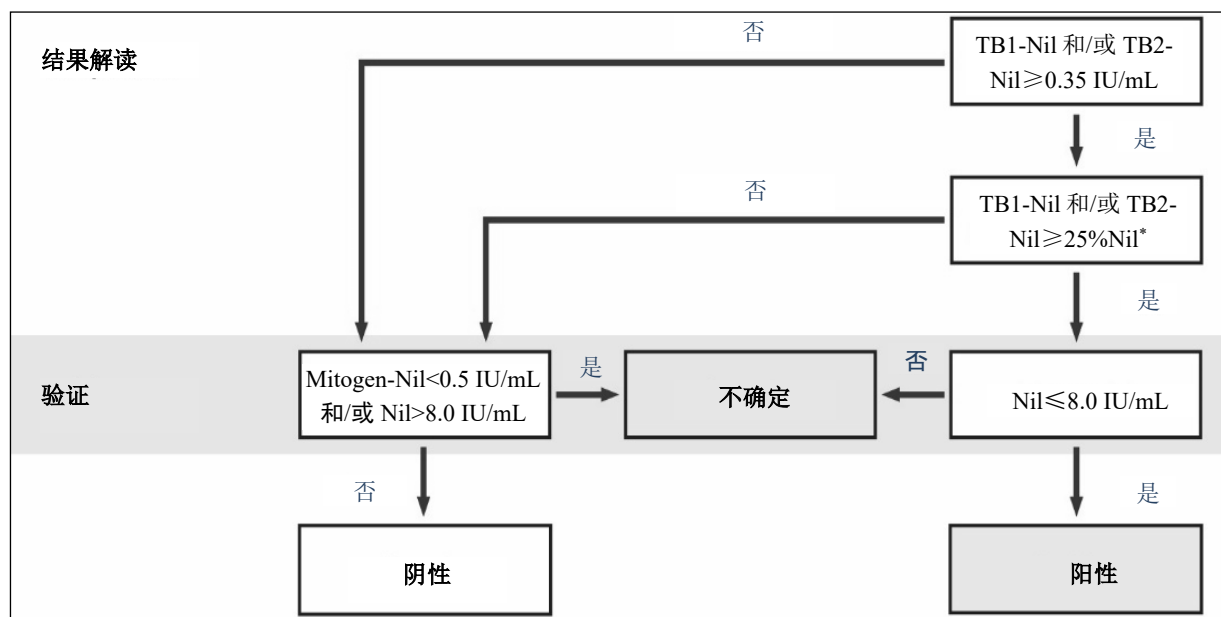
QFT-Plus 软件将 >10 IU/mL 的值报告为 >10 IU/mL。

[†] 如果怀疑未感染结核分枝杆菌时，可以通过再次检测 QFT-Plus ELISA 中的原始血浆样品来证实最初的阳性结果。如果重复检测的样本出现 1 个或 2 个结果为阳性，则该个体应被认为是检测阳性。

[‡] 可能原因参见【注意事项】。

[§] 临床研究中，少于 0.25% 的受试者的 Nil 值 IFN-γ 浓度 >8.0 IU/mL。

测得的 IFN-γ 水平高低与感染的阶段或程度、免疫应答水平、或进展为活动性疾病的可能性无相关性。TB 管反应阳性而 Mitogen 管反应阴性的人较罕见，但在结核病患者可见。这表明 IFN-γ 对 TB 抗原的应答大于对 Mitogen 的应答，可能是因此水平的 Mitogen 没有最大程度地刺激淋巴细胞产生 IFN-γ。



* 为了使 TB1-Nil 值或 TB2-Nil 值有效， $\geq 25\%$ Nil 值（IU/mL）的数值必须为与最初 ≥ 0.35 IU/mL 结果为同一试管。

图 6. QFT-Plus 解读流程图

【检验方法的局限性】

QFT-Plus 检测结果必须结合每个个体的流行病学、当前身体状况和其他诊断综合评估。

Nil 值大于 8.0 IU/mL 的个体归为“不确定”，因为对 TB 抗原反应高出 25% 可能超过测量范围。

以下原因可能导致结果为假阴性或假阳性：

- 被感染个体为处于免疫功能抑制状态的人群，例如接受免疫抑制药物治疗或患有免疫功能的疾病。
- 被感染个体接种卡介苗（BCG）或感染除结核分枝杆菌复合群外的分枝杆菌（例如堪萨斯分枝杆菌、苏尔加分枝杆菌和海分枝杆菌，戈登分枝杆菌）或未知的其他因素。

以下原因可能导致结果不可靠或不确定：

- 试验操作未遵循本包装说明书中所述步骤。
- 错误的转移/处理血液样本。
- 血液循环中 IFN- γ 水平过高或存在异嗜性抗体。
- 血液样本离体到 37°C 孵育间隔超过 16 小时。这不适用于采用肝素锂或肝素钠管采血 2~8°C 冷藏处理流程的情况。

任何一个 TB 抗原管存在 IFN- γ 应答且浓度显著高于空白对照管的 IFN- γ IU/mL 值，则认为 QFT-Plus 检测结果为阳性。Mitogen 管血浆样本用作每个受测样品的 IFN- γ 阳性对照，如果 Mitogen 管的反应值较低 (<0.5 IU/mL)，并且血样对 TB 抗原管呈阴性反应，则检测结果为不确定。产生这种现象的原因可能是：淋巴细胞数量不足、样本处理不当导致淋巴细胞活性下降、Mitogen 管血液分装/混合不正确或者患者淋巴细胞不能产生 IFN- γ 。Nil 管样本中 IFN- γ 水平可能会升高，其原因在于存在异嗜性抗体或内源性 IFN- γ 分泌。Nil 管用于调整背景值（例如非特异性的 IFN- γ 或存在异嗜性抗体）。TB 抗原管和 Mitogen 管的 IFN- γ 水平应减去 Nil 管的 IFN- γ 水平。QFT-Plus 试剂盒的检测范围上限是 10 IU/mL。

本产品尚未在以下特殊人群中进行大范围临床评估，包括服用免疫抑制剂、生物制剂的患者，HIV 感染者，透析、移植的患者等。对于以上特殊人群的患者，阴性结果需要综合其他结核病检测方法综合评估，不能单独作为排除结核病的方法。

【产品性能指标】

临床研究

通过评估结核感染低风险（无已知风险因素）人群中假阳性率来近似评估 QFT-Plus 特异性。通过经培养证实患有活动性结核病人群的检测阳性率来近似评估 QFT-Plus 灵敏度。

特异性

进行了一项评估 QFT-Plus 临床特异性的多中心研究，包括 733 名研究受试者，他们被认为存在结核分枝杆菌感染的低风险或无感染或疾病暴露的风险因素。在测试时通过标准化调查确定了结核病暴露的人口统计信息和风险因素。这项研究在四个独立的研究中心进行，其中一个在美国，两个在日本，一个在澳大利亚。将 QFT-Plus 检测试剂盒与 QuantiFERON-TB Gold-In-Tube（QFT）检测试剂盒进行比较。表 6 提供了按研究中心和地区分类的临床特异性性能数据汇总。性能结果基于有效测试的总数。没有不确定结果。

表 6.低风险群体中的 QFT-Plus 特异性

		阳性		阴性		不确定		特异性（95% CI）	
研究中心	数量	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
美国									
(#1) USA-4	212	2	4	210	208	0	0	99.06% (210/212) (96.63–99.74)	98.11% (208/212) (95.25–99.26)
日本									
(#2) JPN-3	106	1	2	105	104	0	0	99.06% (105/106) (94.85–99.83)	98.11% (104/106) (93.38–99.48)
(#3) JPN-1	216	3	5	213	211	0	0	98.61% (213/216) (96.00–99.53)	97.69% (211/216) (94.70–99.01)
日本 总计	322	4	7	318	315	0	0	98.76% (318/322) (96.85–99.52)	97.83% (315/322) (95.6–98.9)
澳大利亚									
(#4) AU-3	199	8	9	191	190	0	0	95.98% (191/199) (92.27–97.95)	95.48% (190/199) (91.63–97.60)

QFT-Plus 在美国、日本和澳大利亚的特异性分别为 98.11%、97.83%和 95.48%。QFT-Plus 的总体特异性为 97.27%（713/733）。QFT 在美国、日本和澳大利亚的特异性分别为 99.06%、98.76%和 95.98%。QFT 的总体特异性为 98.09%（719/733）。

按 TB 抗原管类型及其组合对结果进行了细分，提供了低风险群体预期结果的一个示例（表 7）。

表 7.按 TB 抗原管列出的 QFT-Plus 特异性研究结果

基于TB的判读 抗原-Nil				
单位: IU/mL	TB1	TB2	QFT-Plus (TB1 和/或TB2阳性) *	TB1和TB2阳性一致率 (替代分析) †
阳性	10	18	20	8
阴性	723	715	713	725
不确定	0	0	0	0
特异性 (95% CI)	—	—	97.3% (713/733) (95.8–98.2)	—
阴性率 (95% CI)	98.6% (723/733) (97.5–99.3)	97.5% (715/733) (96.2–98.4)	—	98.9% (725/733) (97.9–99.5)

* 基于 TB1 和 TB2 中或任一 TB 管中 TB 抗原 - Nil 值 ≥ 0.35 IU/mL 进行判读, 以符合 QFT-Plus (TB1 或 TB2) 确定为阳性的判读标准。

† 提供的替代分析仅供参考。

在结核病感染低风险的受试者中, 共有 20/733 名受试者返回阳性结果。其中, 只有 8 名受试者的 TB1 和 TB2 管的结果值为 > 0.35 IU/mL。在低风险研究队列中对 QFT 和 QFT-Plus 检测试剂盒进行了比较, 结果显示总体一致率为 97.5% (715/733), 阴性一致率为 98.3% (707/719)。

灵敏度

合适的方法是做结核分枝杆菌微生物学培养, 因为有活动性结核病的患者已明确感染。进行了一项评估 QFT-Plus 临床灵敏度的多中心研究, 包括 434 名研究受试者, 通过培养和/或 PCR 确认他们存在活动性结核分枝杆菌疾病的体征和症状, 且未接受结核病治疗或采血前治疗时间 ≤ 14 天。这项研究在 7 个独立的研究中心进行, 其中 3 个在美国, 3 个在日本, 1 个在澳大利亚。将 QFT-Plus 检测试剂盒与 QuantiFERON-TB Gold In Tube (QFT) 检测试剂盒进行比较。表 8 提供了按研究中心和国家分类的临床灵敏度性能数据汇总。性能结果基于有效测试的总数。QFT 和 QFT-Plus 不确定结果的频率分别为 2.3% (10/434) 和 2.5% (11/434)。

表 8.按研究中心和国家分类以及总体临床灵敏度研究性能汇总

		阳性		阴性		不确定		灵敏度（95% CI）	
研究中心	数量	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
美国									
(#1) USA- 5	15	13	13	2	2	0	0	86.67% (13/15) (62.12–96.26)	86.67% (13/15) (62.12–96.26)
(#2) USA- 1	33	29	29	4	4	0	0	87.88% (29/33) (72.67–95.18)	87.88% (29/33) (72.67–95.18)
(#3) USA- 4	5	5	5	0	0	0	0	100.0% (5/5) (56.55–100.0)	100.0% (5/5) (56.55–100.0)
美国 总计	53	47	47	6	6	0	0	88.7% (47/53) (77.4–94.7)	88.7% (47/53) (77.4–94.7)
日本									
(#4) JPN-2	76	72	67	1	3	3	6	98.63% (72/73) (92.64–99.76)	95.71% (67/70) (88.14–98.53)
(#5) JPN-3	99	97	98	2	1	0	0	97.98% (97/99) (92.93–99.44)	98.99% (98/99) (94.50–99.82)
(#6) JPN-1	17 7	159	157	12	15	6	5	92.98% (159/171) (88.14–95.94)	91.28% (157/172) (86.11–94.64)

		阳性		阴性		不确定		灵敏度（95% CI）	
研究中心	数量	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
日本 总计	352	328	322	15	19	9	11	95.63% (328/343) (92.91–97.33)	94.43% (322/341) (91.5–96.4)
澳大利亚									
(#7) AU-2	29	27	29	1	0	1	0	96.43% (27/28) (82.29–99.37)	100.0% (29/29) (88.30–100.0)

上表中的分析不包括不确定结果。

QFT-Plus 在美国、日本和澳大利亚的灵敏度分别为 88.7%、94.43%和 100.0%。QFT-Plus 的总体灵敏度为 94.09%（398/423）。QFT 的灵敏度在美国、日本和澳大利亚的灵敏度分别为 88.7%、95.63%和 96.43%。QFT 的总体灵敏度为 94.81%（402/424）。

按 TB 抗原管类型及管组合对结果进行了细分，提供了确认 TB 感染群体预期结果的一个示例（表 9）。

表 9.按 TB 抗原管列出的 QFT-Plus 灵敏度研究结果

基于TB抗原-Nil的判读 (单位: IU/mL)	TB1	TB2	QFT-Plus (TB1和/或TB2阳性)
阳性	388	397	398
阴性	32	26	25
不确定	14	11	11
灵敏度* (95% CI)	—	—	94% (398/423) (91.4–96.0)

基于TB抗原-Nil的判读 (单位: IU/mL)	TB1	TB2	QFT-Plus (TB1和/或TB2阳性)
阳性率* (95% CI)	92.4% (388/420) (89.4–94.6)	93.9% (397/423) (91.1–95.8)	—

*不包括不确定的值。

在经培养确认存在活动性结核病的队列（灵敏度研究队列）中进行了 QFT 和 QFT-Plus 检测试剂盒的比较，结果显示总体一致率为 95.9%，阳性一致率为 97.3%（391/402）。

表 10.QFT-Plus 似然比

研究中心*	灵敏度	特异性	LR+	LR-
澳大利亚	100.00%	95.48%	22.11	0.00
日本	94.43%	97.83%	43.44	0.06
美国	88.68%	98.11%	47.00	0.12

*总计

观察到的应答分布-风险分层

在临床试验中观察到对 TB1 管、TB2 管和对照管 Mitogen 的一系列 IFN- γ 应答，并按结核分枝杆菌感染风险进行分层（见图 7~10）。混合风险组由代表一般检测人群的受试者组成，包括有或没有 TB 暴露风险因素的受试者，以及不太可能有活动性结核病的受试者。

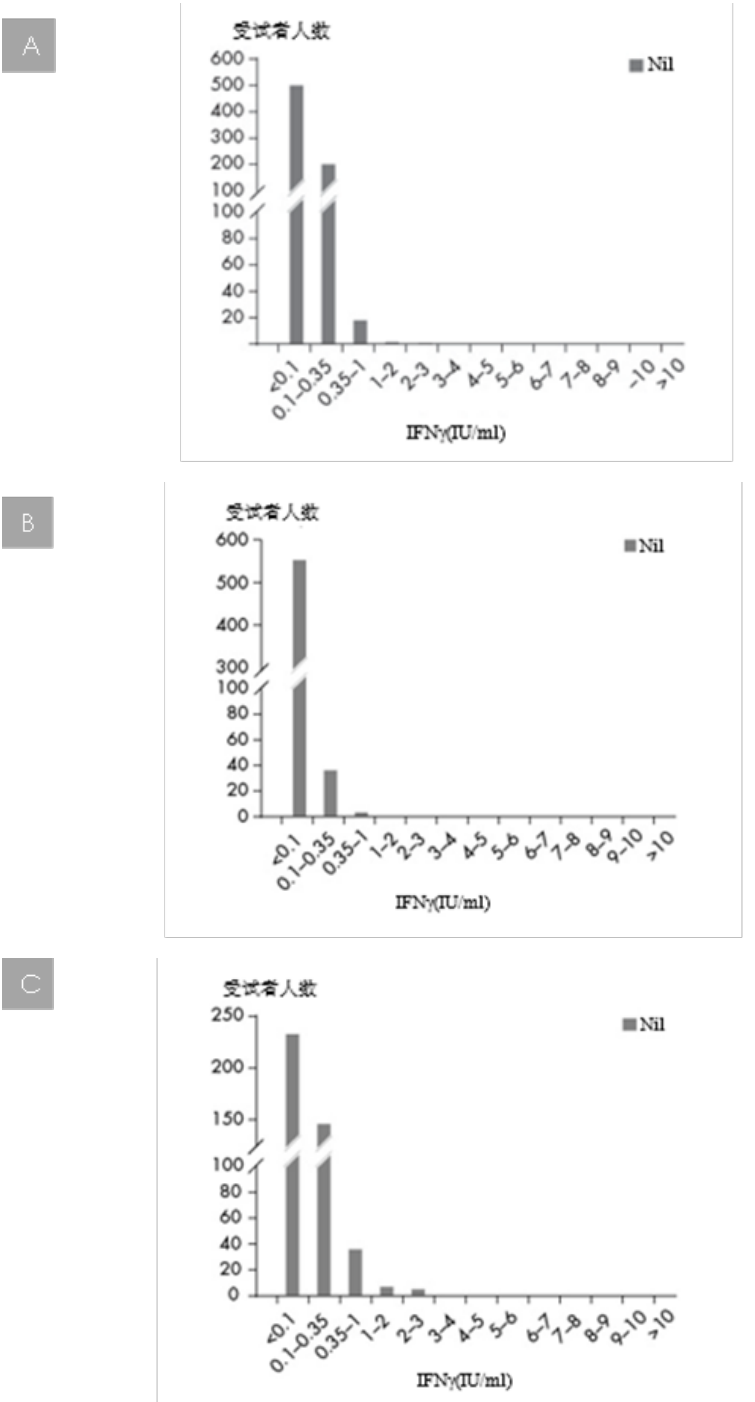
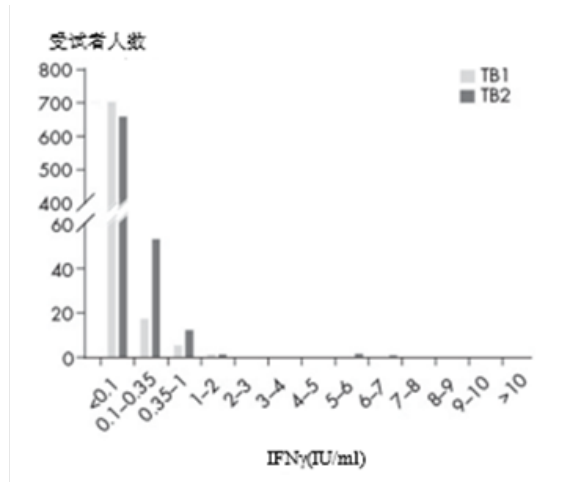
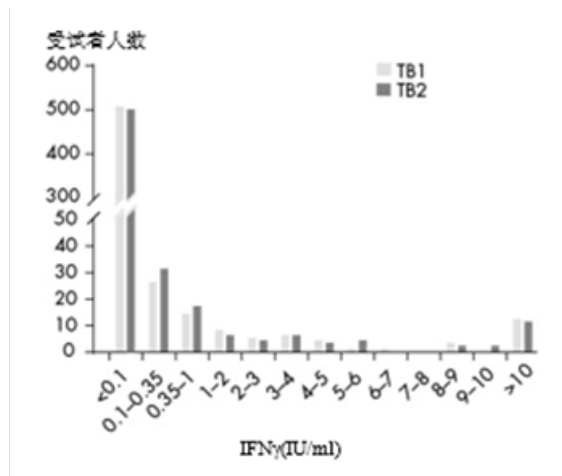


图 7. Nil 值分布。A. 低风险人群中 Nil 值分布 (n=744)。B. 混合风险人群中 Nil 值分布 (n=601)。C. 通过培养证实结核分枝杆菌感染的人群中 Nil 值分布 (n=416)。

A



B



C

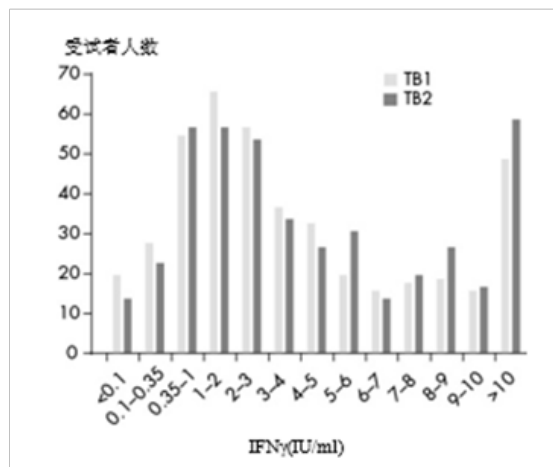
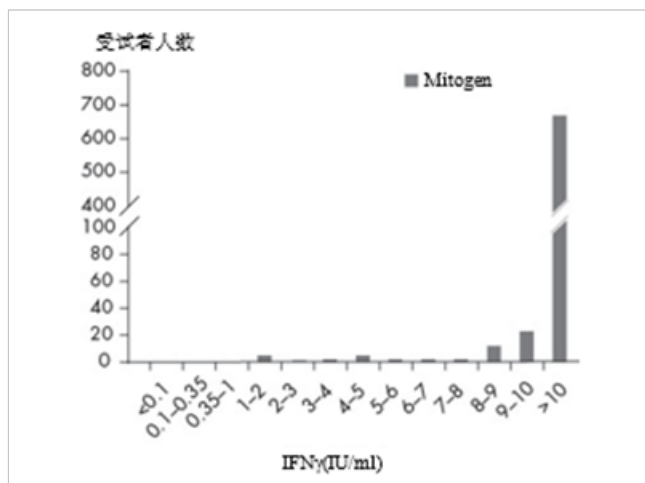
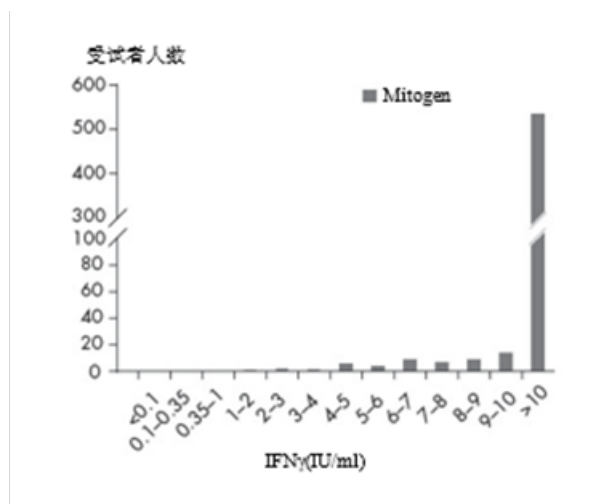


图 8. TB1 值和 TB2 值的分布 (减去 Nil 值)。A. 低风险人群中 TB1 值和 TB2 值 (减去 Nil 值) 分布 (n=744)。B. 混合风险人群中 TB1 和 TB2 值 (减去 Nil 值) 分布 (n=601)。C. 通过培养证实结核分枝杆菌感染的人群中 TB1 值和 TB2 值 (减去 Nil 值) 分布 (n=416)。

A



B



C

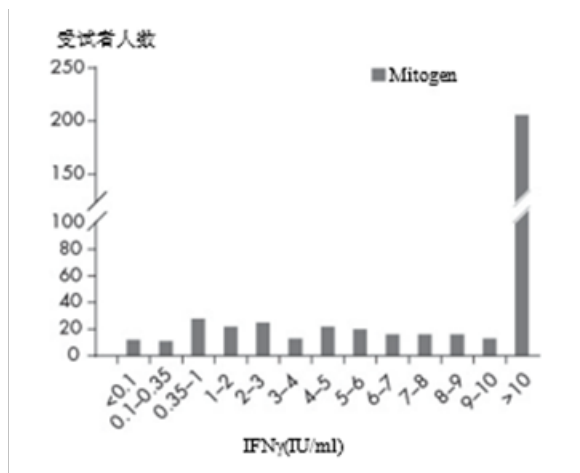


图 9. Mitogen 值的分布 (减去 Nil 值)。A. 低风险人群中 Mitogen 值 (减去 Nil 值) 分布 (n=744)。B. 混合风险人群中 Mitogen 值 (减去 Nil 值) 分布 (n=601)。C. 通过培养证实结核分枝杆菌感染的人群中 Mitogen 值 (减去 Nil 值) 分布 (n=415)。

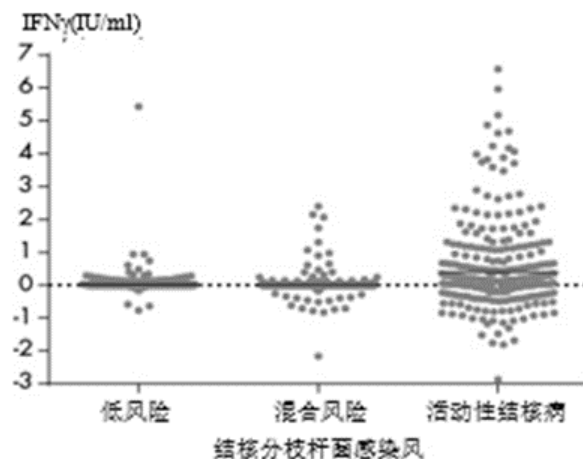


图 10. 风险分层观察得到的 TB1 值和 TB2 值（减去 Nil 值）间的差异。包括来自混合风险队列研究的数据，以显示低风险、活动性风险和混合风险队列之间的差异。该数据分析包括一个具有已知风险因素的混合风险队列。因此，低风险队列 $n=733$ ，混合风险队列 $n=588$ ，活动性结核病队列 $n=357$ 。由 TB2 值减去 TB1 值得到每个受试者的定量差异（IU/mL）。

【检测性能特征】

线性

将 11 份已知 IFN- γ 浓度的血浆样本随机加入酶标板进行检测，重复试验五次，证实 QFT-Plus ELISA 结果为线性。线性回归线斜率为 1.002 ± 0.011 ，相关系数为 0.99（见图 11）。

QFT-Plus ELISA 的检测限为 0.065 IU/mL，无证据表明 IFN- γ 浓度高达 10,000 IU/mL 存在高剂量 hook（钩状）效应。

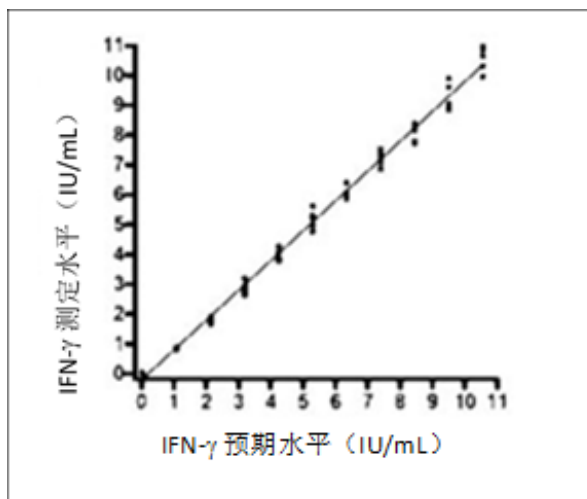


图 11. QFT-Plus ELISA 的线性特性-高浓度样本池均值 = $-0.24 + 0.9964 \cdot \text{期望值}$

再现性

进行了一项多中心再现性研究，对 QFT-Plus 在多个研究中心由多名操作员进行检测的性能进行了评估。这是一项前瞻性研究，在三个外部检测中心和一个采集中心进行。共入组 32 名阳性和 34 名阴性（依据 QFT 检测试剂盒确定）受试者。研究受试者由美国医务人员组成。研究受试者代表了由于其职业或出生于结核病发病率超过 50/100,000 的外国地区的医务人员而具有结核病暴露混合风险的群体。

在采集中心使用肝素锂采血管对每名研究受试者都采集了三管血液样本。然后将肝素锂采血管分别转移到三个检测中心，进而血液样本被等分到两组 QFT-Plus 培养管（QFT-Plus TB1、TB2、Mitogen 和 Nil）中，然后按照 QFT-Plus 检测程序进行检测。在每个中心，至少有两名操作员分别对每名研究受试者进行两项检测。各操作员不了解另一名操作员的结果，也不了解研究受试者的 QFT 检测结果。

在所有三个检测中心，66 个研究受试者各生成 6 个结果，共生成了 396 个数据点。再现性结果汇总见表 11。

表 11.再现性研究结果汇总-研究中心内操作员之间定性结果的一致率；N=66 份患者样本

研究中心1 - 2名操作员	研究中心2 - 2名操作员	研究中心3 - 3名操作员
64/66 = 96.97%	64/66 = 96.97%	59/66 = 89.39%
管组1和管组2之间定性结果一致性	管组1和管组2之间定性结果一致性	管组1和管组2之间定性结果一致性

所有研究中心间定性结果的一致率为 94.7%（375/396）。在此计算中，达到一致性的结果总数（375）包括 6 个结果均一致、6 个结果中 5 个结果一致、6 个结果中 4 个结果一致、6 个结果中 3 个结果一致等情况。

批间重复性

进行了一项研究，以确定 QFT-Plus 采血管相比 QFT 采血管的批间变异性。共检测了 30 名受试者（15 名经 QFT 检测确认为结核病阳性，15 名经 QFT 检测确认为结核病阴性）。本研究包括三个独立批次的 QFT-Plus TB1、TB2 和 QFT TB 采血管。对每个采血管批次的每名供体进行 3 次重复检测。对 Nil 和 Mitogen 管各进行一次重复检测。

将每名受试者的血液采集到肝素锂采血管中，然后将 1 mL 血液转移到 QFT-Plus 和 QFT 采血管中，并根据检测程序进行检测。对于每个阳性和阴性样本组，QFT-Plus 管结果的总方差不得显著大于 QFT 管结果的总方差。这是根据 Levene 方差齐性（HOV）检验给出的 p 值确定的。如果 p 值不显著（ $p > 0.05$ ）和/或 QFT-Plus TB 管的方差低于 QFT TB 管，则 QFT-Plus 和 QFT TB 管之间存在方差。

表 12.使用 Levene's HOV 检验的 QFT-Plus 和 QFT TB 采血管之间的方差比较

样本类型	差值	影响	依赖	P值	显著
阳性	TB2与QFT	子类型	残差	0.0378	是
阳性	TB2与QFT	子类型	残差	0.0540	否
阴性	TB2与QFT	子类型	残差	0.1025	否
阴性	TB2与QFT	子类型	残差	0.6344	否

当检测阳性受试者时，QFT-Plus 和 QFT TB 采血管之间（QFT-Plus TB2 采血管除外）的方差并不显著。当分析标准差的估计值时，QFT-Plus TB2 管的方差（0.06089）小于 QFT TB 管（0.07641），如表 13 所示。因此，QFT-Plus TB1 和 TB2 采血管的方差不大于 QFT TB 采血管。

表 13.残差标准差和阳性受试者的 95%置信区间

样本类型	子类型	标准差估计值	95% LCL	95% UCL
阳性	QFT	0.07641	0.06826	0.08680
阳性	TB1	0.06275	0.05605	0.07127
阳性	TB2	0.06089	0.05439	0.06917

批内重复性

通过比较 QFT-Plus TB 采血管重复样本的 IFN- γ 浓度，进行了一项研究，以评估 QFT-Plus 采血管的批内再现性。

在一个批次的 QFT-Plus 采血管（TB1 和 TB2）的 6 个重复采血管中运行同一名确认感染结核病受试者的一份血液样本的 6 等分试样。共对 13 名受试者进行了检测。计算每个供体和所有供体的%CV，以生成%CV 均值，如表 14 所示。

表 14.结核病阳性受试者中每个 QFT-Plus TB 采血管均值%CV、标准差、最小值、中位数和最大值

QFT-Plus 管	样本量	均值 (%CV)	标准差	最小值	中位数	最大值
TB1	13	13.31	6.88	4.17	12.87	29.56
TB2	13	13.04	7.48	4.86	10.75	29.44

结果表明，TB1 和 TB2 的%CV 均值约 13%，符合 $\leq 30\%$ 的验收标准，并证明了批内重复性。

空白限 (LoB)

评价了 QFT-Plus 检测的空白限 (LoB)。3 名操作员在 3 个检测日（每个检测日 1 名操作员）使用 2 个批次的 QFT-Plus ELISA，对 14 份个别正常人血浆样本（作为空白样本）各进行 2 次重复检测，每个 ELISA 试剂盒批次共进行 84 次重复检测。

单独计算 2 个 ELISA 试剂盒批次的 LoB 值 (IU/mL)，如表 15 所示。

表 15. 2 个 QFT-Plus ELISA 试剂盒批次的 LoB 值 (IU/mL)

QFT-Plus ELISA 试剂盒	LoB 估计值 (IU/mL)
试剂盒1	0.030
试剂盒2	0.040

两个 QFT-Plus ELISA 试剂盒批次中较大的 LoB 值 (0.040 IU/mL) 被报告为最终 LoB 值。

检出限 (LoD)

评价了 QFT-Plus 检测试剂盒的检出限 (LoD)。通过混合 14 份不同受试者血浆样本制备一份结核病阴性人血浆样本。3 名操作员各制备一份经缓冲液稀释的 1.0 IU/mL IFN- γ 标准品, 同时进一步进行 8 个梯度的浓度稀释。本研究由 3 名轮班操作员使用 2 个批次的 QFT-Plus ELISA 试剂盒在 3 天内进行。对于每个检测日, 对每组梯度稀释系列中的每个浓度重复检测 5 次, 每个 QFT-Plus ELISA 试剂盒批次的 IFN- γ 浓度的每个稀释度共重复检测 45 次。

单独计算检测的每个 QFT-Plus ELISA 试剂盒批次的 LoD 值, 如表 16 所示。

表 16. 2 个 QFT-Plus ELISA 试剂盒批次的 LoD 估计值 (IU/mL)

QFT-Plus ELISA 试剂盒	概率	浓度估计值 (IU/mL)	估计值的 95% 置信下限	估计值的 95% 置信上限
试剂盒 1	0.95	0.063	0.060	0.067
试剂盒 2	0.95	0.065	0.060	0.073

两个批次 QFT-Plus ELISA 试剂盒计算得出的较大 LoD 值 (0.065 IU/mL) 报告为最终 LoD 值。

干扰物质

进行了一项以确定潜在干扰物质对 QFT-Plus ELISA 检出 IFN- γ 性能的影响的研究。本检测涉及的干扰物包括: 甘油三酯 (总)、血红蛋白、蛋白 (总血清)、胆红素 (结合)、胆红素 (未结合)、硫酸阿巴卡韦、环孢霉素和泼尼松龙。使用不同的干扰物浓度制备五个已知 IFN- γ 浓度的血浆样本。使用预定量的 IFN- γ (约 0.21、0.45 和 1.4 IU/mL) 预先制备基础样本池 IFN- γ 水平。然后使用该样本池制备干扰物样本池。供试干扰物浓度为 0 mg/dL、5 mg/dL、10 mg/dL、15 mg/dL 和 20 mg/dL。目标干扰物浓度基于参考区间、病理值、治疗范围和毒性范围, 或基于供应商推荐或一般临床水平。每种干扰物样本浓度水平重复检测 6 次。

对于每种样本浓度, 进行双样本 t 检验, 比较主要干扰物水平和对照水平 (即无干扰物水平) 的平均 log₁₀ (IU/mL) 差值, 如表 17 和 18 所示。还报告了平均反应的差值估计值以及相应的双侧 95% 置信限和 p 值。

表 17. Log10 IU/mL: 每种干扰物和 IFN- γ 浓度水平的对照水平和主要干扰物水平之间平均差的 T 检验汇总表

干扰物	干扰物水平	样本浓度 (IU/mL)	方差	平均差	95% CI 下限	95% CI 上限	P值	通过
甘油三酯	高	1.4	相等	0.019	-0.040	0.077	0.491	是
		0.45	相等	0.004	-0.022	0.030	0.732	是
		0.21	相等	0.006	-0.035	0.047	0.759	是
血红蛋白	高	1.4	相等	-0.005	-0.42	0.032	0.784	是
		0.45	相等	-0.000	-0.023	0.023	0.981	是
		0.21	相等	0.000	-0.034	0.035	0.980	是
蛋白质	高	1.4	相等	0.004	-0.034	0.042	0.836	是
		0.45	相等	0.001	-0.38	0.040	0.962	是
		0.21	相等	-0.008	-0.076	0.060	0.809	是
胆红素 (结合)	高	1.4	相等	-0.011	-0.057	0.034	0.589	是
		0.45	相等	-0.002	-0.058	0.053	0.923	是
		0.21	相等	-0.014	0.074	0.046	0.625	是
胆红素 (未结合)	高	1.4	相等	-0.008	-0.041	0.026	0.614	是
		0.45	相等	-0.000	-0.042	0.041	0.982	是
		0.21	相等	-0.000	-0.048	0.048	0.989	是
阿巴卡韦	高	1.4	相等	0.008	-0.025	0.041	0.601	是
		0.45	相等	0.012	-0.019	0.044	0.412	是
		0.21	相等	-0.006	-0.052	0.040	0.770	是
环孢霉素	高	1.4	相等	0.014	-0.020	0.047	0.383	是
		0.45	相等	0.005	-0.035	0.045	0.773	是
		0.21	相等	0.024	-0.008	0.056	0.131	是
泼尼松龙	高	1.4	相等	0.017	-0.017	0.050	0.293	是
		0.45	相等	0.000	-0.036	0.036	0.979	是
		0.21	相等	0.015	-0.035	0.065	0.524	是

表 18. Log10 IU/mL：每种干扰物和 IFN- γ 浓度水平的对照水平和高干扰物水平之间平均差的 T 检验汇总表

干扰物	干扰物水平	样本浓度 (IU/mL)	方差	平均差	95% CI 下限	95% CI 上限	P值	通过
甘油三酯	高	1.4	相等	0.053	-0.004	0.110	0.063	是
		0.45	相等	0.039	-0.021	0.058	<0.001	是
		0.21	相等	0.034	-0.002	0.071	0.061	是
血红蛋白	高	1.4	相等	-0.001	-0.042	0.040	0.967	是
		0.45	相等	0.016	-0.007	0.040	0.152	是
		0.21	相等	0.014	-0.030	0.059	0.489	是
蛋白质	高	1.4	相等	-0.030	-0.071	0.011	0.136	是
		0.45	相等	0.000	-0.046	0.046	0.992	是
		0.21	相等	-0.045	-0.103	0.012	0.109	是
胆红素（结合）	高	1.4	相等	0.001	-0.046	0.048	0.961	是
		0.45	相等	0.012	-0.043	0.067	0.639	是
		0.21	相等	0.015	-0.044	0.074	0.586	是
胆红素（未结合）	高	1.4	相等	0.015	-0.011	0.042	0.231	是
		0.45	相等	0.015	-0.023	0.052	0.411	是
		0.21	相等	0.012	-0.033	0.057	0.566	是
阿巴卡韦	高	1.4	相等	0.013	-0.015	0.040	0.322	是
		0.45	相等	0.015	-0.014	0.044	0.283	是
		0.21	相等	0.008	-0.034	0.050	0.677	是
环孢霉素	高	1.4	相等	0.002	-0.019	0.024	0.816	是
		0.45	相等	0.007	-0.030	0.043	0.682	是
		0.21	相等	0.015	-0.007	0.038	0.155	是
泼尼松龙	高	1.4	相等	0.007	-0.016	0.030	0.518	是
		0.45	相等	-0.001	-0.034	0.033	0.964	是
		0.21	相等	0.021	-0.025	0.068	0.334	是

结果显示，主要干扰物水平和对照水平（无干扰物水平）之间以及高干扰物水平之间的差值不显著，0.45 IU/mL 甘油三酯浓度水平除外。确定平均差在 ± 2 标准差范围内。这表明，差值在检测试剂盒的预期变异性范围内，且甘油三酯对 QFT-Plus ELISA 无干扰作用。

【注意事项】

请注意，您可能需要查阅当地法规，向制造商和/或其授权代表以及用户和/或患者所在的监管机构报告与器械有关的严重事件。

供体外诊断用

- 警告 QFT-Plus 结果阴性并不能完全排除结核分枝杆菌感染或结核病的可能性：假阴性结果可能是由于所处的感染阶段（例如在出现细胞免疫应答前获取样本）、存在影响免疫功能的因素，采集血样后分装至血液培养管处理不正确，检测操作有误，或其他免疫学因素导致包括那些与任何合并症有关的。嗜异性抗体或其他炎症条件下产生的非特异性 IFN- γ 可能掩盖对 ESAT-6 或 CFP-10 肽的特异性反应。
- QFT-Plus 结果阳性并不能作为判定感染结核分枝杆菌的唯一或绝对依据。不正确的检测操作可能会造成假阳性结果。
- QFT-Plus 结果为阳性时，应进一步进行活动性结核病的医学评估和诊断确认（例如细菌抗酸染色涂片和培养、胸部 X 光）。
- 尽管所有种类的 BCG 疫苗和绝大多数已知的非结核分枝杆菌中均不包含 ESAT-6 和 CFP-10，但是 *堪萨斯分枝杆菌*、*苏尔加分枝杆菌*、*海分枝杆菌* 或 *戈登分枝杆菌* 感染也可能导致 QFT-Plus 检测结果呈阳性。如果怀疑此类感染，应采用其他方法进行检测。
- 错误的血液收集或影响淋巴细胞功能的不适当的血样处理可能会导致假阴性结果。对于正确的血样处理方式请参见“操作步骤：ELISA”部分。延迟孵育会导致假阴性结果或不确定结果，其他技术参数会影响检测特异性 IFN- γ 反应的能力。
- 血样或样本可能会有感染性。请根据当地安全程序丢弃样本或实验废弃物。

预防措施

处理化学品时，始终穿戴常规实验室防护服、一次性手套和护目镜。更多信息，请参阅相关的安全数据表（SDSs）。在 www.qiagen.com/safety 上可在线获得 PDF 格式的 SDS，您可以查找、查看和打印每个 QIAGEN 试剂盒及试剂盒组成部件的 SDS。



警告：人血液样本应视为有潜在传染性，请遵守血液和血液制品处理相关指南。按照联邦、州及地方法规处置血液或相关血液制品的样本和材料。

以下危害和预防措施声明适用于 QuantiFERON®-TB Gold Plus ELISA 的组成成分。

危害声明



QuantiFERON 酶终止液

含：硫酸。危险！对金属可能具有腐蚀性。可导致眼睛和皮肤不适。使用时穿戴防护手套/防护服/眼睛防护/面部防护。

QuantiFERON 酶底物溶液

危险！引起轻度皮肤刺激。使用时穿戴防护手套/防护服/眼睛防护/面部防护。



QuantiFERON 绿色稀释剂

含：酒石黄。危险！可能引起皮肤过敏反应。使用时穿戴防护手套/防护服/眼睛防护/面部防护。

QuantiFERON 20×浓缩洗涤缓冲液

对水生生物有持久性危害，避免弃置到环境中。

防范说明

使用前请仔细阅读专用说明书。使用时请穿戴防护手套/防护服/眼睛防护/面部防护。如果溅到**皮肤（或头发）**上：立即除去/脱掉污染的衣物，用水淋洗/冲洗。如果溅入**眼睛**：用水小心冲洗数分钟。如果佩戴隐形眼镜且容易摘时，将其摘下后继续冲洗。如有暴露风险顾虑：获取医疗建议/就医，立即致电毒物中心或医生/医师。如出现皮肤刺激或皮疹：获取医疗建议/就医，被污染的衣物需清洗后再穿。试剂需密封贮存。将溶液/容器弃置于批准的废物处置设备。

更多信息

安全数据表：www.qiagen.com/safety

- 硫柳汞在一些 QFT-Plus 试剂中用作防腐剂。食入、吸入或皮肤接触可能有毒。

- 操作偏离 QuantiFERON[®]-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA 说明书可能产生错误结果。使用前仔细阅读说明。
- 使用前如有任何试剂瓶损坏或泄露迹象，请勿使用试剂盒。
- **重要：**使用前请检查试剂瓶。切勿使用/触摸破损或密封圈损坏的结合物或 IFN- γ 标准品瓶。不要使用外观破损的试剂瓶。采取适当的安全措施处理这些试剂瓶。建议：使用开瓶工具打开结合物或 IFN- γ 标准品瓶，减少被金属瓶帽伤害的风险。
- 请勿混合或使用不同 QFT-Plus 批次试剂盒的酶标板条、IFN- γ 标准品、绿色稀释剂或 100 \times 浓缩结合物。其他试剂（20 \times 浓缩洗涤缓冲液、酶底物溶液和酶终止液）可在不同试剂盒之间互换，确保试剂在效期内并记录批次详细信息。
- 按照地方、州和联邦的法规丢弃未使用的试剂和生物样品。
- 请勿使用超过有效期的 QFT-Plus 血液培养管或 ELISA 试剂盒。
- 应做到始终遵守正确的实验室流程。
- 确保实验室设备使用前已经过校正/验证。

技术信息

不确定的结果较为少见，可能与被检测者的免疫状态相关，但如果未遵循以上说明，不确定结果也可能与若干技术因素相关（例如不当的处理/储存采血管，ELISA 板清洗不彻底）。

如果怀疑试剂贮存、血液采集或血样处理等方面存在技术问题，请使用新的血样重新完成整个 QFT-Plus 检测。如果怀疑是由于 ELISA 检测出现洗涤不充分或其他操作步骤偏差而导致结果不确，可使用相同的血浆样本重复检测医师可以视情况选择重新抽取标本，或执行其他步骤。

凝固的血浆样品

如果长期存放的血浆样本出现纤维蛋白凝块，请对样本进行离心分离，使凝结物质沉淀，有利于血浆的吸取。

血脂血浆样本

当移液脂质样品时应小心，因为脂肪沉积物会阻塞移液器尖端。

解决问题指南

解决问题指南可以帮助解决可能出现的任何问题。更多信息，也请参考
www.QuantiFERON.com 提供的技术信息。联系方式请见【基本信息】。

ELISA 问题解决	
血凝块	
可能原因	解决方法
混合不充分	在填充血液培养管后，立即振摇 10 次，要足够用力确保血液培养管的整个内表面都布满血液。这将溶解 BCT 壁上的抗原。
血浆未分离凝胶	
可能原因	解决方法
离心速度或时间不足	通过在 2000~3000 RCF (g)下离心血液培养管 15 分钟，促进血浆采集。凝胶塞将把细胞从血浆中分离出来。如果没有发生这种情况，应该重新离心这些 BCT。
凝胶破坏	
可能原因	解决方法
试管振摇过猛	在填充血液培养管后，立即振摇 10 次，要足够用力确保血液培养管的整个内表面都布满血液。这将溶解血液培养管壁上的抗原。 重要提示：过度剧烈的振摇可能导致凝胶破裂，并可能导致异常结果。
出现非特异性颜色	
可能原因	解决方法
a) 酶标板洗涤不充分	用 400 µL/孔的洗涤缓冲液洗涤酶标板至少 6 遍。如果使用洗板机，可能需要 6 次以上洗涤循环。循环之间的浸泡时间至少 5 秒。

b) 酶标板孔交叉污染	小心谨慎地吸取和混合样本以最大限度降低风险。
c) 试剂盒/组成成分超过有效期	确保在有效期之前使用试剂盒。确保复溶的标准品和 100×浓缩结合物在复溶后 3 个月内使用
d) 酶底物溶液被污染	底物呈蓝色则弃置。确保使用干净的样本槽。
e) 分离前混入了 QFT-Plus 血液培养管血浆	离心后，吸取血浆前，应避免适用移液器上下反复吸液或以任何方式混合血浆。始终小心不要搅动凝胶表面的物质。
标准品光密度读数低	
可能原因	解决方法
a) 标准品稀释错误	按照试剂包装说明书，确保正确制备试剂盒标准品的稀释液。
b) 移液错误	按照制造商的操作指南确保移液器的校准和使用。
c) 孵育温度过低	室温 ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) 下进行酶标板的孵育。
d) 孵育时间过短	酶标板内的结合物、标准品和样品需孵育 120 ± 5 分钟。酶底物溶液需在酶标板内孵育 30 分钟。
e) 使用错误的酶标板读数器滤光片	使用以 620 nm 至 650 nm 为参考滤光片的酶标仪，在 450 nm 读取结果
f) 试剂过冷	所有试剂在试验开始前必须平衡到室温，除 100×浓缩结合物。此步骤需要耗时约 1 小时。
g) 试剂盒/组成成分已超过有效期	确保在有效期之前使用试剂盒。确保复溶的标准品和 100×浓缩结合物在复溶后 3 个月内使用。
背景值高	
可能原因	解决方法

a) 酶标板洗涤不充分	用 400 μ L/孔的洗涤缓冲液洗涤酶标板至少 6 遍。如果使用洗板机，可能需要 6 次以上洗涤循环。循环之间的浸泡时间至少 5 秒。
b) 孵育温度过高	室温 ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) 进行 ELISA 孵育。
c) 试剂盒/组成成分已超过有效期	确保在有效期之前使用试剂盒。确保复溶的标准品和 100 \times 浓缩结合物在复溶后 3 个月内使用。
d) 酶底物溶液污染	底物呈蓝色则弃置。确保使用干净的样本槽。
非线性的标准品曲线和复孔偏差	
可能原因	解决方法
a) 酶标板洗涤不充分	用 400 μ L/孔的洗涤缓冲液洗涤酶标板至少 6 遍。如果使用洗板机，可能需要 6 次以上洗涤循环。循环之间的浸泡时间至少 5 秒。
b) 标准品稀释错误	按照试剂包装说明书，确保正确制备标准品稀释液。
c) 混合不充分	在试剂加入酶标板之前通过颠倒或轻轻的涡旋充分混合试剂。
d) 检测期间移液操作不连续或过程中断	样本和标准品的添加需要采用连续的方式。所有试剂需要在试验开始前制备完成。





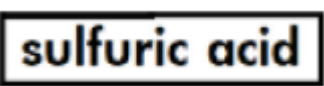
通过 QIAGEN, 您的经销商或访问 www.QuantiFERON.com 可免费获得产品信息和技术指导。

联系方式：获取技术支持和更多信息，请拨打免费电话 00800-22-44-6000，访问 www.qiagen.com/contact 网站查看我们的技术支持中心或者联系 QIAGEN 技术服务部门（见【基本信息】或访问 www.qiagen.com）。

【标识的解释】

包装和标签上可能出现下列符号：

符号	符号定义
	含有足以进行<N>次反应的试剂
	有效期至
	本产品符合欧洲法规 2017/746 关于体外诊断医疗器械的要求。
	欧盟授权代表
	体外诊断试剂
	产品编号
	批次代码
	材料编号
	组份
	含有
	编号
	全球贸易项目代码
	R 表示使用说明书的修订版本，n 表示修订编号
	温度限制
	制造商
	查阅说明书
	避免日晒
	一般警告标志

<p>An in vitro diagnostic test using a peptide cocktail simulating ESAT-6 and CFP-10 proteins to stimulate cells in heparinized whole blood.</p>	<p>一种通过使用模拟 ESAT-6 和 CFP-10 蛋白的多肽混合液模拟细胞，在肝素全血中的使用体外诊断试剂，</p>
	<p>含有动物来源的生物材料</p>
	<p>含有人源生物材料</p>
	<p>医疗器械唯一标识</p>
	<p>含有酒石黄</p>
	<p>含有硫酸</p>

【参考文献】

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. 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.
4. Rothel, J.S., Andersen, P. (2005) Diagnosis of latent Mycobacterium tuberculosis infection: Is the demise of the Mantoux test imminent? *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 3, 981.
5. 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.

6. Lewinsohn, D.M. et al. (2001) Classically restricted human CD8⁺ T lymphocytes derived from Mycobacterium tuberculosis-infected cells: definition of antigenic specificity. *J. Immunol.* 166, 439.
7. Lewinsohn, D.A. et al. (2007) Immunodominant tuberculosis CD8 antigens preferentially restricted by HLA-B. *PLoS Pathol.* 3, 1240.
8. Barcellini, L. et al. (2016) First independent evaluation of QuantiFERON-TB Plus performance. *Eur. Respir. J.* 47, 1587.
9. Day, C.L. et al. (2011) Functional capacity of Mycobacterium tuberculosis-specific T cell responses in humans is associated with mycobacterial load. *J. Immunol.* 187, 2222. QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA Instructions for Use 65
10. Rozot, V. et al. (2013) Mycobacterium tuberculosis-specific CD8⁺ T cells are functionally and phenotypically different between latent infection and active disease. *Eur. J. Immunol.* 43, 1568.
11. Nikolava, M. et al. (2013) Antigen-specific CD4⁺ and CD8⁺ positive signatures in different phases of Mycobacterium tuberculosis infection. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 75, 277.
12. Chicchio, T. et al. (2014) Polyfunctional T-cells and effector memory phenotype are associated with active TB in HIV-infected patients. *J. Infect.* 69, 533.
13. Ongaya, A. et al. (2013) Mycobacterium tuberculosis-specific CD8⁺ T cell recall in convalescing TB subjects with HIV co-infection. *Tuberculosis* 93, S60.
14. Lanicioni, C. et al. (2012) CD8⁺ T cells provide an immunologic signature of tuberculosis in young children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 185, 206.
15. Mazurek, G.H., et al.; IGRA Expert Committee; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2010) Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection – United States, 2010. *MMWR Recomm. Rep.* 59, 1.
16. WHO consolidated guidelines on tuberculosis: tuberculosis preventive treatment. Geneva: World Health Organization; 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO

【基本信息】

注册人/生产企业名称：QIAGEN GmbH 凯杰德国

住 所：QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germany

生产地址：19300 Germantown Road, Germantown MD 20874, USA

联系方式：+49-2103-29-0

售后服务单位/代理人的名称：凯杰企业管理（上海）有限公司

住 所：中国（上海）自由贸易试验区达尔文路 88 号 20 号楼

联系方式：800-988-0325

【医疗器械注册证编号/产品技术要求编号】国械注进 20213400553

【说明书核准日期及修改日期】2024 年 10 月 16 日