

臨床検査技師のための Q&A

QuantiFERON® TB ゴールド プラス



目次

Q & A	4
測定原理	4
採血	4
血液が QuantiFERON TB ゴールド プラス チューブの側面の黒い印にまで達していないのですが、これは重要なことでしょうか？	4
採血管の混合操作はどの程度重要ですか？	4
採血管を横に倒して輸送できますか？	5
血液を他の施設に輸送したり、37°Cで培養する前に保管する場合、温度は何度がよいでしょうか？	5
血液培養／血漿採取	5
QFT® プラスチューブに採血してから 16 時間以上経過した後に 37°Cの培養を開始するとどうなるでしょうか？	5
採血管を横に倒して培養できますか？	5
培養器から取り出した直後に採血管を遠心分離する必要がありますか？	5
遠心分離中に採血管のゲルが動かなかったのですが、どうすればよいですか？	6
採取した血漿の色が通常の色ではありません。問題ないでしょうか？	6
血漿採取はクラス II のバイオハザードキャビネット内で行う必要がありますか？	6
沈殿した赤血球やゲル上の血漿を採取する際に、どの程度の量を採取する必要がありますか？ 採取量は重要ですか？	6
検体をある程度まとまった数量にすることで、QuantiFERON TB ゴールド プラスによる測定の費用対効果を最大にしたいのですが、採取した血漿の安定性はどうか？	7
冷凍保存していた血漿検体にフィブリンが生じた場合はどうすればよいでしょうか？	7
採取した血漿の保存にマイクロチューブの使用が必要ですか？この場合、もっと安価なマイクロプレートの利用は可能ですか？	7

インターフェロン- γ (IFN- γ) ELISA 法	7
a) ヒト IFN- γ 標準、b) HRP 標識抗ヒト IFN- γ 抗体、c) 濃縮洗浄用緩衝液の安定性について教えてください。	7
QFT-Plus の ELISA プレートは、冷蔵庫から出してすぐに使用できますか？	7
自動プレートウォッシャーは必要ですか？	8
QFT-Plus の ELISA 法において、洗浄はどの程度重要ですか？	8
データ解析	8
陰性コントロールの値が非常に高くなりました。どんな問題が考えられますか？	8
TB 抗原の IFN- γ の値が非常に高くなりました（プレートリーダーの検出限界を上回っている かもしれません）。問題ないでしょうか？	8
測定された IFN- γ 量から結核感染の段階や程度を類推することはできますか。	9
ビオチンは QFT-Plus の検査結果に影響を与えますか？	9
QFT-Plus による検査結果の算出や解釈に簡便な方法はありますか？	9
トラブルシューティング	10

Q&A

QuantiFERON TB ゴールド プラス (QFT-Plus) に関してよくある質問と回答 (Q&A) をご紹介しています。検査方法 および検査の使用法や性能等の詳細に関しては、本品の添付文書をご参照ください。最新版の添付文書はウェブサイト www.QuantiFERON.com/jp をご確認ください。

測定原理

QFT-Plus 検査は、結核菌 (*Mycobacterium tuberculosis*) に感染しているかどうかを血液で調べる体外診断用医薬品です。この検査では全血を用い、特許を取得した分析技術によって結核菌に感作された T リンパ球が刺激を受けて分泌するインターフェロン- γ (IFN- γ) を測定します。

QFT-Plus 検査は以下の 4 ステップで構成されている簡便な臨床検査です。

- QFT プラスチューブへの採血または分注
- 37°Cでの培養
- 血漿中に放出された IFN- γ の ELISA 法による検出
- QFT 解析ソフトウェアを用いた解析と判定

採血

血液が QuantiFERON TB ゴールド プラス チューブ (以下 “QFT プラス チューブ”) の側面の黒い印にまで達していないのですが、これは重要なことでしょうか？

QFT プラスチューブのラベルの黒い印は、適切な採血量の範囲を示しています。黒い印の範囲 (0.8 ~ 1.2 mL) であれば検査結果に影響がありません。血液の量がこの範囲を外れた場合は、正しい検査結果が保証できないため、再採血が推奨されます。

採血管の混合操作はどの程度重要ですか？

抗原との混合操作により刺激抗原を均一に全血中に分散させ、白血球が抗原を取り込み、処理して T リンパ球に抗原提示させ、IFN- γ の分泌を導くことができます。これは本検査において非常に重要なステップであり、混合不良は反応性の低下をもたらします。

翼状針あるいはシリンジによる採血直後に採血管を上下に 5 秒間又は 10 回振って混合し、採血管の内表面全体が血液で覆われていることを確認します。血液と採血管内のヘパリンリチウムと抗原を完全に混合させる必要があります。血液が多少泡立つことがあります、検査結果に影響を及ぼすことはありません。血液の取り扱いには一般的な予防策を取ることをお勧めします。採血時は、室内温度 (22 ± 5°C) になった QFT プラスチューブをご使用ください。

血液の取り扱いにおける技術的な注意点については、www.QuantiFERON.com/jp でご紹介しています。

採血管を横に倒して輸送できますか？

可能です。QFT プラスチューブは、採血管の混合操作の後に限り横にして輸送することができます。なお培養する際は採血管を立てて行い、培養開始直前に上下に 5 秒間又は 10 回振って再度混合させる必要があります。

ヘパリンリチウム真空採血管に採血した場合も横に倒して輸送することは可能です。

血液を他の施設に輸送したり、37°Cで培養する前に保管する場合、温度は何度がよいのでしょうか？

血液検体の QFT プラスチューブでの移送は室内温度（22 ± 5°C）で、市販のヘパリンリチウム真空採血管での移送は 2 ~ 8°Cで行ってください。

血液培養／血漿採取

QFT プラスチューブに採血してから 16 時間以上経過した後に 37°Cでの培養を開始するとどうなるのでしょうか？

QFT プラスチューブは出来るだけ早く（採血後 16 時間以内に）、37°Cのインキュベーターに入れる必要があります。採血から 16 時間以上経過した後に培養された血液検体は、細胞の崩壊（細胞死）により IFN- γ 応答が低くなる可能性が高く、感度が低下し正確な結果が得られなくなるおそれがあります。

血液を採血直後に培養しない場合、培養直前に再度採血管を上下に 5 秒間又は 10 回振って混合させる必要があります。

ヘパリンリチウム真空採血管に採血した場合は 3 時間以内に 2 ~ 8°Cで冷蔵保存し、冷蔵保存後は 48 時間以内に QFT プラスチューブへ分注し 37°Cのインキュベーターに入れます。冷蔵保存から取り出した後 2 時間以内であればヘパリンリチウム真空採血管は室温で取り扱うことが可能です。

採血管を横に倒して培養できますか？

QFT プラスチューブを 37°Cで培養する際は、必ず立てて行ってください。

培養器から取り出した直後に採血管を遠心分離する必要がありますか？

培養後の QFT プラスチューブは、遠心分離または血漿採取まで 4 ~ 27°Cで 3 日間保管が可能です。

遠心分離中に採血管のゲルが動かなかったのですが、どうすればよいですか？

37°Cで採血管を培養した後、RCF2,000～3,000（ $\times g$ ）で15分間遠心分離することにより、血漿は細胞から分離されます。採血管のゲルによって血漿から細胞を分離します。分離できなかった場合は、採血管を再度高い回転数で遠心分離してください。

遠心分離の後、血漿を採取する前に、血漿をピペットで移したり、混ぜたりしないでください。ゲル表面の材料が混入しないよう常に注意してください。

- 血漿サンプルは、必ずピペットを使用して採取してください。
- ELISA用自動ワークステーションを使用する場合、遠心分離した採血管からQFT ELISAプレートに直接血漿検体を取り込むことができます。
- 血漿検体は、2～8°Cで28日間、-20°C以下（好ましくは-70°C以下）で少なくとも3カ月間保存可能です。ただし、血漿検体をQFTプラスチューブに入れたままでは凍結保存できません。

採取した血漿の色が通常の色ではありません。問題ないでしょうか？

血漿が通常より赤みが濃く見えることがありますが、これは正常です。血漿の色は、赤血球が混入していないものでも、無色に近いものから黄色・薄茶を帯びたものまでさまざまです。中には不透明な血漿検体もあります。このような色調の違いによる本品の測定結果に対する影響は認められておりません。

血漿採取はクラスIIのバイオハザードキャビネット内で行う必要がありますか？

理想的には、血液を取り扱うすべての作業は、感染性血液サンプルからの感染リスク（HIV、B型肝炎など）を最小限に抑えるために、バイオハザードキャビネット内で実施することが推奨されます。しかし、清浄な環境下では、血漿採取をバイオハザードキャビネットの外で行うことに問題はありませぬ。バイオセーフティマニュアル等に従い、関連規制当局により提案されている手袋、上着、安全ゴーグルといった保護衣を着用する等の措置を取ってください。

沈殿した赤血球やゲル上の血漿を採取する際に、どの程度の量を採取する必要がありますか？採取量は重要ですか？

ELISA法の実施に必要な血漿量は50 μL ですので、100 μL の血漿があれば十分です。200 μL あれば必要に応じて再検査用に残すことが可能になります。一般的には300 μL 以上の血漿を採取することが可能です。妥当性確認試験によりIFN- γ は血漿中に均一に分布することが示されているため、採取量はそれほど重要ではありません。採取できる血漿量には個人差があります。

QFTでは、自動機器を用いて採血管から血漿検体を直接採取することも可能です。これにより血漿採取とELISAの操作を最小限にして行うことが可能になります。

検体がある程度まとまった数量にすることで、QFT-Plus による測定のコスト対効果を最大にしたいのですが、採取した血漿の安定性はどのようにですか？

採取した血漿（または遠心分離後に採血管に保存される血漿）は 2～8℃では 28 日間、-20℃以下では 3 か月間の保存が可能です。血漿検体の長期間保存によりフィブリンが生成した場合は、検体を遠心分離して血漿を採取します。

凍結保存していた血漿検体にフィブリンが生じた場合はどうすればよいのでしょうか？

血漿検体を解凍するとフィブリンが析出することがあります。このような場合、遠心分離してフィブリンを沈殿させます。

採取した血漿の保存にマイクロチューブの使用が必要ですか？ この場合、もっと安価なマイクロプレートの利用は可能ですか？

採取した血漿の保存用には、何もコートされていない密封されたマイクロプレートを使用することが可能です。血漿保存容器はその種類に関わらず、全て密封した状態で保存し、検体の蒸発を防いでください。

インターフェロン- γ (IFN- γ) ELISA 法

a) ヒト IFN- γ 標準、b) HRP 標識抗ヒト IFN- γ 抗体、c) 濃縮洗浄用緩衝液の安定性について教えてください。

- a) ヒト IFN- γ 標準は溶解後 2～8℃で 3 か月間保存が可能です（溶解日を記録してください）。使用する前に 17～27℃に少なくとも 60 分間放置した後、調製してください。
- b) HRP 標識抗体は溶解後 2～8℃で 3 か月間保存が可能です（溶解日を記録してください）。調製した HRP 標識抗ヒト IFN- γ 抗体液（希釈緩衝液と混合した HRP 標識抗ヒト IFN- γ 抗体濃縮液）は、調製から 6 時間以内に使用してください。HRP 標識抗ヒト IFN- γ 抗体液（現液）は、ただちに 2～8℃の冷蔵庫に戻してください。
- c) 洗浄用緩衝液は調製後、17～27℃で 2 週間の保存が可能です。

QFT-Plus の ELISA プレートは、冷蔵庫から出してすぐに使用できますか？

できません。密封された ELISA プレートは、使用前に 17～27℃に少なくとも 60 分間放置してください。

自動プレートウォッシャーは必要ですか？

必ずしも必要ではありません。自動プレートウォッシャーの使用を推奨しますが、本品の添付文書の記載方法に従って、用手洗浄も可能です。

QFT-Plus の ELISA 法において、洗浄はどの程度重要ですか？

多くの ELISA 測定と同様、本品の ELISA 法でも誤測定で最もよく見られる原因のひとつは、不十分な洗浄または誤った洗浄方法です。このような問題が生じた場合には、以下のことを確認してください。

- 洗浄中に気泡が生じる場合は、洗浄サイクルの流速を調節し（通常は速度を下げる）、気泡が生じないようにします。
- 洗浄用緩衝液が各ウェル上部に達する液量にしてください（各ウェルの縁から液が表面張力で盛り上がるくらいが望ましい）。
- すべてのウェルに十分な洗浄用緩衝液が等しく行き渡るようにします。洗浄器のプロブノズルが詰まった場合は、メーカーの指示に従って清掃してください。
- プレートの洗浄は 400 μ l/ウェルで最低 6 回行ってください。使用する洗浄機によっては、6 回以上の洗浄サイクルが必要な場合もあります。
- 各サイクル間の浸漬時間は 5 秒以上にします。

データ解析

陰性コントロールの値が非常に高くなりました。どんな問題が考えられますか？

ほとんどの場合、陰性コントロールについて予想される IFN- γ 濃度範囲は 1 IU/mL 以下です（しかし 8 IU/mL までは許容範囲です）。陰性コントロールの値がこれよりかなり高い場合や何度も起きる場合、その原因はテクニカルエラーの可能性にあります。そのような場合には、再検査を行うか、必要であればその被検者の血漿検体のいずれも再度測定を行うことをお勧めします。再検査後も陰性コントロールの値が高く、かつ血漿サンプルの汚染が考えにくい場合は、その陰性コントロールの結果は妥当なものと考えられます。

TB 抗原の IFN- γ の値が非常に高くなりました（プレートリーダーの検出限界を上回っている かもしれません）。問題ないでしょうか？

場合によっては被検者の TB 抗原の IFN- γ 濃度がマイクロプレートリーダーの検出限界を上回ることがあります。そのような場合でも被検者の Nil 値が 8 IU/mL 以下であれば、検査結果の解釈には影響を及ぼしません。

測定された IFN- γ 量から結核感染の段階や程度を類推することはできますか？

できません。陰性コントロールより TB 抗原の IFN- γ 値が 0.35 IU/mL 以上反応を示した被検者は、結核菌に感染していると思われれます。これらの抗原に対する反応と、感染の段階や程度、免疫応答性レベル、活動性疾患へ進行する可能性などに関連付けることはできません。

ビオチンは QFT-Plus の検査結果に影響を与えますか？

ビタミン B7 として知られるビオチンは水溶性のビタミンで、マルチビタミン、妊婦用ビタミン剤、また毛髪や皮膚、爪のための健康補助食品等に用いられています。ビオチンのテクノロジーを使用した検査では、ビオチンが検査結果への妨害について報告されていますが、QFT の ELISA ではビオチンもビオチンのテクノロジーも使用していませんので、検査結果に影響を及ぼすようなことはありません。

QFT-Plus による検査結果の算出や解釈に簡便な方法はありますか？

本品による測定データの解析方法および結果の判定方法は、添付文書に記載されております。また本品による検査結果の算出は表計算プログラムより行うことができます。

別の方法として、測定生データの解析および被検査結果の算出に使用する QFT-Plus 解析ソフトウェアが、www.QuantiFERON.com/jp より入手できます。

このソフトウェアでは、生データを直接マイクロプレートリーダーソフトウェアから（または任意の表計算プログラムから）簡単に転送することが可能です。

このソフトウェアでは次の処理を行います。

- 標準曲線の算出
- 標準の再現性と標準曲線の品質管理をチェック
- すべての検体の IFN- γ 濃度（IU/mL）を標準曲線から算出
- 本製品の添付文書に記載されている「結果の解釈」に従った被検者の判定結果の提示

トラブルシューティング

予想していた結果が出ませんでした。どんな問題が考えられますか？

ELISA 法に関する一般的な問題、およびそれらの原因と適切な解決方法を次表に示します。

非特異的な発色がある

考えられる原因	解決方法
プレートの不十分な洗浄	プレートの洗浄は 400 μ L/ ウェルで最低 6 回行ってください。使用する洗浄機によっては、6 回以上の洗浄サイクルが必要な場合もあります。各サイクル間の浸漬時間を 5 秒以上にします。
ELISA ウェルの交差汚染	検体の分注及び混和に注意を払ってリスクを最小限にしてください。
試薬の期限切れ	本品は使用期限内に使用します。溶解した IFN- γ 標準および標識抗体濃縮液は、溶解日から 3 カ月以内に使用してください。
酵素基質液の汚染	基質が青色になっていたら廃棄してください。汚染のない試薬を使用してください。
採取前の QFT プラスチューブ内血漿の混合	遠心後、血漿検体採取前にピPETTINGによる混合操作は避け、ゲル表面の沈殿物を吸い上げないように注意してください。

吸光度が低い

考えられる原因	解決方法
ヒト IFN- γ の希釈ミス	IFN- γ 標準は、添付文書に従って正しく希釈し調製してください。
分注ミス	ピPETを使用説明書に従って校正して使用してください。
洗浄用緩衝液の希釈ミス	洗浄用緩衝液は、濃縮洗浄用緩衝液を精製水で必ず 20 倍に希釈して調製してください。
反応温度が低い	ELISA 法における反応は 22 \pm 5 $^{\circ}$ Cで行ってください。
反応時間が短い	標識抗体液、IFN- γ 標準、検体を入れたプレートを 120 分間反応させてください。酵素基質液を添加したプレートを 30 分間反応させてください。
誤ったプレートリーダーフィルターを使用している	620 ~ 650 nm の対照フィルターを用いて、450 nm で吸光度測定を行ってください。
試薬温度が低い	標識抗体濃縮液以外の試薬はすべて、測定開始前に 22 \pm 5 $^{\circ}$ Cに戻す必要があります。これには約 1 時間かかります。
試薬の期限切れ	本品は使用期限内に使用してください。溶解した IFN- γ 標準および標識抗体標準液は、溶解日から 3 カ月以内に使用してください。

バックグラウンドが高い

考えられる原因	解決方法
プレートの不十分な洗浄	プレートの洗浄は 400 μ L/ ウェルで最低 6 回行ってください。使用する洗浄機によっては 6 回以上の洗浄サイクルが必要な場合もあります。各サイクル間の浸漬時間を 5 秒以上にしてください。
反応温度が高い	ELISA 法における反応は、22 \pm 5 $^{\circ}$ Cで行ってください。
試薬の期限切れ	本品は使用期限内に使用してください。溶解した IFN- γ 標準および標識抗体標準液は、溶解日から 3 カ月以内に使用してください。
酵素基質液の汚染	基質が青色になっていたら廃棄してください。汚染のない試薬を使用してください。

標準曲線の不良とバラツキ

考えられる原因	解決方法
プレートの不十分な洗浄	プレートの洗浄は 400 μ L/ ウェルで最低 6 回行ってください。使用する洗浄機によっては、6 回以上の洗浄サイクルが必要な場合があります。各サイクル間の浸漬時間を 5 秒以上にしてください。
IFN- γ 標準の希釈ミス	IFN- γ 標準は、添付文書に従って正しく希釈し調製してください。
試薬の混合不足	試薬をプレートに加える前に、転倒あるいは穏やかなボルテックスにより完全に混和してください。
一貫性のないピペット技術あるいは試験準備の中断	検体と IFN- γ 標準の添加は連続的に行ってください。すべての試薬は試験前に準備してください。

記載の情報は、弊社の体外診断用医薬品に関する情報を医療関係者（医師、薬剤師、看護師、臨床検査技師等）の方へ情報提供することを目的として作成されています。一般の方への情報提供を目的としていないことをご了承下さい。

QuantiFERON TB ゴールド プラス（QFT-Plus）、体外診断の補助試薬で結核菌感染（結核症を含む）の間接的検査であり、リスク評価、X線撮影その他の医学的・診断的評価と併せて使用することを目的としています。QFT-Plus の検査結果のみで潜在性結核と活動性結核を区別することはできません。

QFT の添付文書および最新のライセンス情報、製品ごとの免責事項に関しては www.QuantiFERON.com をご覧ください。詳細につきましては、下記カスタマーサポートまたは弊社コマーシャルパートナーにお問い合わせください。

Trademarks: QIAGEN®, Sample to Insight®, QFT®, QuantiFERON® (QIAGEN Group). 本文に記載の会社名および商品名は、各社の商標または登録商標です。
2302498 2019年4月作成 © 2019 QIAGEN, all rights reserved.

インターフェロン- γ 遊離試験キット

QuantiFERON TB ゴールド プラス

保険適用

体外診断用医薬品

製造販売承認番号：
23000EZ00004000

真空密封型採血管

QuantiFERON TB ゴールド プラス チューブ

管理医療機器

認証番号：229AFBZX00040000

【製造販売業者】株式会社 キアゲン

【お問い合わせ先】株式会社 キアゲン カスタマーサポート

〒104-0054 | 東京都中央区勝どき 3-13-1 | Forefront Tower II

Tel:03-6890-7300 | Fax:03-5547-0818

www.QuantiFERON.com