



Maart 2023

QuantiFERON[®]-TB Gold Plus ELISA Kit Gebruiksaanwijzing



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Versie 1



Voor in-vitrodiagnostisch gebruik

Voor gebruik met QuantiFERON[®]-TB Gold Plus Blood Collection Tubes



622120, 622822



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Duitsland



1123669NL

Inhoud

Beoogd gebruik.....	5
Beoogde gebruiker	5
Beschrijving en principe	6
Informatie met betrekking tot het pathogeen.....	6
Samenvatting en uitleg	7
Uitgangspunten van de assay	9
Meegedeleverde materialen	11
Inhoud van de kit	11
Bestanddelen van de kit	12
Platform en software	12
Benodigde, maar niet-meegedeleverde materialen	13
Aanvullende reagentia	13
Verbruiksartikelen.....	13
Uitrusting.....	13
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen	14
Veiligheidsinformatie	14
Informatie voor noodgevallen.....	15
Voorzorgsmaatregelen.....	16
Opslag en hantering van reagentia	18
Stabiliteit tijdens gebruik	18
Gereconstitueerde en niet-gebruikte reagentia.....	18
Bewaren en hanteren van specimen	19

Protocol: De ELISA uitvoeren	20
Resultaten (Berekeningen)	26
Genereren van de standaardcurve en monsterwaarden	26
Kwaliteitscontrole van de test	28
Interpretatie van de resultaten	30
Beperkingen.....	32
Prestatiekenmerken	33
Klinische onderzoeken	33
Gevoeligheid	35
Verwachte waarden	43
Overzicht van veiligheid en prestaties.....	49
Prestatiekenmerken assay	50
Analyseprestaties	50
Afvoer	63
Referenties	64
Probleemoplossingsgids.....	66
Symbolen	69
Bijlage A: Technische informatie.....	72
Onbepaalde resultaten.....	72
Gestolde plasmamonsters	72
Lipodeemplasmamonsters	72
Bijlage B: Verkorte ELISA-testprocedure	73
Bestelgegevens.....	75
Revisiegeschiedenis van document.....	77

Beoogd gebruik

De QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus) assay is een *in vitro* diagnostische test waarbij gebruik wordt gemaakt van een peptidecocktail die de proteïnen ESAT-6 en CFP-10 simuleert en cellen in gehepariniseerd volbloed stimuleert. Detectie van interferon- γ (IFN- γ) met ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) wordt gebruikt ter herkenning van *in-vitro* reacties op deze peptide-antigenen, die worden geassocieerd met een *Mycobacterium tuberculosis*-infectie.

QFT-Plus is een indirecte test voor *M. tuberculosis*-infectie (inclusief de actieve aandoening). De testresultaten dienen te worden gebruikt in combinatie met risicobeoordeling, röntgenonderzoeken en overige medische en diagnostische onderzoeken.

Beoogde gebruiker

Deze kit is bestemd voor professioneel gebruik.

De QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)-assay moet door opgeleid personeel in een laboratoriumomgeving worden gebruikt.

Beschrijving en principe

Informatie met betrekking tot het pathogeen

Tuberculose is een besmettelijke ziekte die wordt veroorzaakt door een infectie met organismen van het *M. tuberculosis*-complex (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* en *M. caprae*), die doorgaans naar nieuwe gastheren wordt overgebracht via druppelinfectie door personen die lijden aan tuberculose van de longen. Bij nieuw besmette patiënten kan tuberculose binnen weken of maanden optreden, maar bij de meeste geïnfekteerden treden geen klachten op. Bij sommigen is sprake van een latente tuberculose-infectie (LTBI), een niet-besmettelijke, asymptomatische aandoening die pas na maanden of jaren kan uitbreken. Het hoofddoel van het diagnosticeren van LTBI is het overwegen van medische behandeling ter voorkoming van tuberculose. Gedurende meer dan 100 jaar was de tuberculine-huidtest (Tuberculin Skin Test, TST) de enige beschikbare methode voor het diagnosticeren van LTBI (4). De gevoeligheid van de huid voor tuberculine ontstaat 2 tot 10 weken na de infectie. Sommige geïnfekteerde personen reageren echter niet op tuberculine, waaronder bijvoorbeeld patiënten met een onregelde immunoreactie als gevolg van een breed scala van andere aandoeningen, maar ook patiënten zonder zulke aandoeningen. Omgekeerd zijn er personen die met grote waarschijnlijkheid niet aan een *M. tuberculosis*-infectie lijden, maar gevoelig zijn voor tuberculine en positieve TST-resultaten vertonen na vaccinatie met de Bacille Calmette-Guérin (BCG), na infectie met andere mycobacteriën dan *M. tuberculosis*-complex of andere onbekende factoren.

LTBI moet worden onderscheiden van tuberculose, waarvoor een meldplicht bestaat en die doorgaans de longen en de onderste luchtwegen aantast, maar ook andere orgaansystemen kan aantasten. Tuberculose wordt gediagnosticeerd op grond van historische, fysieke, radiologische en mycobacteriologische bevindingen.

Samenvatting en uitleg

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)-test is de vierde generatie in QuantiFERON--TB-testtechnologie waarbij de celgemedieerde reactie wordt geëvalueerd aan de hand van een kwantitatieve meting van IFN- γ in een volbloedmonster. QFT-Plus is een kwalitatieve test die de celgemedieerde immuunreacties (CMI) meet op peptide-antigenen die mycobacteriële proteïnen simuleren. Deze proteïnen, ESAT-6 en CFP-10, ontbreken in alle BCG-stammen en de meeste niet-tuberculeuze mycobacteriën met uitzondering van *M. kansasii*, *M. szulgai* en *M. marinum* (1). In het bloed van personen die besmet zijn met organismen van het *M. tuberculosis*-complex bevinden zich in het algemeen lymfocyten die deze en andere mycobacteriële antigenen signaleren. Bij dit herkeningsproces wordt het cytokine IFN- γ geproduceerd en afgescheiden. De detectie en erop volgende kwantificering van IFN- γ vormen de grondslag voor deze test.

De tuberculine-huidtesten en IGRA-testen zijn nuttig maar onvoldoende voor het diagnosticeren van een infectie met het *M. tuberculosis*-complex bij zieke patiënten – een positief testresultaat ondersteunt de diagnose van tuberculose, maar kan ook het resultaat zijn van infecties met andere mycobacteriën (bijv. *M. kansasii*). Andere medische en diagnostische onderzoeken zijn vereist om tuberculose te kunnen bevestigen of uitsluiten.

De in de QFT-Plus-test gebruikte antigenen zijn een peptidecocktail die de proteïnen ESAT-6 en CFP-10. Talrijke onderzoeken hebben aangetoond dat deze peptide-antigenen de IFN- γ -reactie in de T-cellen stimuleren van personen die met *M. tuberculosis* zijn geïnfecteerd maar niet de T-cellen van niet-geïnfecteerde of met BCG gevaccineerde personen zonder het risico van tuberculose of LTBI (1, 2, 6, 9). Wel kan de IFN- γ -reactie potentieel worden beperkt door medische behandelingen of aandoeningen die een nadelige invloed op de immunofunctie hebben. Patiënten met bepaalde andere mycobacteriële infecties kunnen eveneens reageren op ESAT-6 en CFP-10, omdat de genen die deze proteïnen coderen ook aanwezig zijn in *M. kansasii*, *M. szulgai* en *M. marinum* (1, 3,7).

De populatie voor QFT-Plus-tests zijn patiënten met klinisch bevestigde actieve tuberculose en patiënten met risico op tuberculose-infectie of latente tuberculose-infectie (LTBI). Er zijn geen beperkingen op het vlak van leeftijd, geslacht of andere beperkingen.

Bij *Mycobacterium tuberculosis*(MTB)-infectie spelen CD4⁺ T-cellen een kritieke rol bij immunologische controle via het afscheiden van het cytokine IFN γ . Uit bewijsmateriaal blijkt nu dat CD8⁺ T-cellen deelnemen aan de afweer tegen MTB door IFN γ en andere oplosbare factoren te produceren, waardoor macrofagen worden geactiveerd om de groei van MTB te onderdrukken, geïnfecteerde cellen te doden of intracellulair MTB direct te lyseren. IFN γ die MTB-specifieke CD8⁺ cellen produceren zijn gedetecteerd in patiënten met LTBI en met actieve TB. Bovendien wordt beschreven dat ESAT-6- en CFP-10 specifieke CD8⁺ T-lymfocyten vaker worden gedetecteerd in proefpersonen met actieve TB versus LTBI en kunnen worden geassocieerd met een recente blootstelling aan MTB (8,10-12). Ook werden MTB-specifieke CD8⁺ T-cellen die IFN γ produceren gedetecteerd bij proefpersonen met actieve TB in co-infectie met hiv (13, 14) en bij jonge kinderen met TB (15).

QFT-Plus bevat twee afzonderlijke TB-antigeenbuisjes: TB Antigen Tube 1 (TB1) en TB Antigen Tube 2 (TB2). Beide buisjes bevatten peptide-antigenen van de antigenen die worden geassocieerd met het MTB-complex, ESAT-6 en CFP-10. Zowel het TB1- als TB2-buisjes bevatten peptiden van ESAT-6 en CFP-10 die zijn ontworpen om CMI-reacties te veroorzaken bij CD4⁺ T-helper lymfocyten; het TB2-buisje bevat een aanvullende set peptiden die zijn gericht op de inductie van CMI-reacties van CD8⁺ cytotoxische T-lymfocyten.

Risicofactoren voor infectie met *M. tuberculosis* omvatten historische, medische of epidemiologische voorspellers voor tuberculose of blootstelling aan tuberculose. Raadpleeg de meest recente WHO-richtlijnen <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment> voor gedetailleerde aanbevelingen over het diagnosticeren van *M. tuberculosis*-infectie (inclusief ziekte) en de selectie van personen voor het testen (16). QFT-Plus is getest in bepaalde patiëntengroepen die zijn geïndiceerd voor screening voor TB-infectie volgens de huidige WHO-adviezen (16), inclusief: personen die positief getest zijn voor humaan immunodeficiëntievirus (hiv), contacten van recente TB-patiënten en medewerkers in drukke omgevingen die zijn blootgesteld aan volwassenen met een hoog risico op TB (5).

Uitgangspunten van de assay

QFT-Plus is een kwalitatieve assay die gebruikmaakt van speciale bloedverzamelbuisjes; die bevatten peptide-antigenen die *M. tuberculosis*-eiwitten simuleren, hetgeen wordt gebruikt om volbloed te verzamelen. De aansluitende incubatie van het bloed in het buisje duurt 16 tot 24 uur. Daarna wordt het plasma geëxtraheerd en getest op de aanwezigheid van IFN- γ dat is gevormd in reactie op de peptide-antigenen.

Eerst wordt volbloed verzameld in de QFT-Plus Blood Collection Tubes, bestaande uit een Nil-buisje, een TB1-buisje, een TB2-buisje en een Mitogen-buisje. U kunt ook bloed afnemen in één bloedverzamelbuisje dat lithium- of natriumheparine als antistollingsmiddel bevat en dit vervolgens overbrengen naar QFT-Plus Blood Collection Tubes.

De QFT-Plus Blood Collection Tubes worden geschud om antigenen te mengen met het bloed en dienen zo snel mogelijk bij 37 ± 1 °C te worden geïncubeerd, maar uiterlijk binnen 16 uur na de bloedafname. Na een incubatieperiode van 16 tot 24 uur worden de buisjes gecentrifugeerd, wordt het plasma verwerkt en wordt de hoeveelheid IFN- γ (IE/ml) gemeten met behulp van de ELISA-methode. De QFT-Plus ELISA maakt gebruik van recombinante menselijke IFN- γ -standaard, waarvan een assay is uitgevoerd tegen een IFN- γ -referentiebereiding (NIH-ref: Gxg01-902-535). Resultaten voor testmonsters worden gerapporteerd in internationale eenheden per ml (IE/ml) ten opzichte van de standaardcurve die is voorbereid door verdunning van de standaard uit de kit te testen.

Van heterofiele antilichamen (bijvoorbeeld menselijk anti-mouse) in het serum of plasma van bepaalde personen is bekend dat deze immunoassays verstoren. Het effect van heterofiele antilichamen in de QFT-Plus ELISA wordt geminimaliseerd door toevoeging van normaal misserum aan de groene verdunningsoplossing en het gebruik van fragmenten van monoklonaal F(ab')₂-antilichaam als het IFN- γ -bindingsantilichaam waarvan de wells van de microplaten zijn voorzien.

Een QFT-Plus-assay wordt als positief beschouwd voor de IFN γ -reactie op een van beide TB-antigeenbuisjes als deze waarde aanmerkelijk boven de Nil-waarde (IFN γ in IE/ml) ligt. Het plasmamonster uit het Mitogen-buisje dient als IFN γ positieve controle voor elk getest specimen. Een lage reactie op Mitogen (<0,5 IE/ml) duidt op een gemiddeld resultaat wanneer een bloedmonster tevens een negatieve reactie te zien geeft op de TB-antigenen. Dit beeld kan optreden bij onvoldoende lymfocyten, een verminderde lymfocytenactiviteit vanwege een onjuiste verwerking van de specimens, onjuist vullen of mengen van het Mitogen-buisje of het feit dat de lymfocyten geen IFN γ kunnen produceren. Bij de aanwezigheid van heterofiele antilichamen of bij intrinsieke IFN γ afscheiding kan er sprake zijn van verhoogde waarden van IFN γ in het Nil-monster. Het Nil-buisje dient als ijking voor achtergrondreacties (zoals zeer hoge concentraties circulerend IFN γ of aanwezigheid van heterofiele antilichamen). De IFN γ waarde in het Nil-buisje wordt afgetrokken van de IFN γ -waarde voor de TB-antigeenbuisjes en het Mitogen-buisje. Het meetbereik van de QFT-Plus ELISA is tot 10 IE/ml.

Meegeliverde materialen

Inhoud van de kit

ELISA-bestanddelen	Set met 2 platen	Referentiepakket voor laboratoria
Catalogusnr.	622120	622822
Microplate strips (Strips voor microplaat) (12 × 8 putjes) voorzien van een laagje murine anti-menselijk IFN- γ monoklonaal antilichaam	2 sets van strips voor microplaten met 12 × 8 putjes	20 sets van strips voor microplaten met 12 × 8 putjes
IFN- γ Standard, gelyofiliseerd (bevat recombinant menselijk IFN- γ , bovine caseïne, 0,01% vol. Thimerosal)	1 × flacon (8 IE/ml indien gereconstitueerd)	10 × flacons (8 IE/ml indien gereconstitueerd)
Green Diluent (bevat bovine caseïne, normaal muizenserum, 0,01% vol. Thimerosal)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (conjugaatconcentraat 100x), gelyofiliseerd (murine anti-menselijk IFN- γ HRP, bevat 0,01% Thimerosal)	1 × 0,3 ml (indien gereconstitueerd)	10 × 0,3 ml (indien gereconstitueerd)
Wash Buffer 20x Concentrate (wasbuffer, concentraat 20x) (pH 7,2 bevat 0,05% vol. ProClin® 300)	1 × 100 ml	10 × 100 ml
Enzyme Substrate Solution (enzymsubstraatoplossing) (bevat H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' Tetramethylbenzidine)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Enzyme Stopping Solution (enzymremmingsoplossing) (bevat 0,5 M H ₂ SO ₄)	1 × 15 ml	10 × 15 ml
<i>Gebruiksaanwijzing QuantiFERON TB-Gold Plus ELISA Kit</i>	1	1

Bestanddelen van de kit

Controles en kalibrators

De QFT-Plus ELISA maakt gebruik van recombinante menselijke IFN- γ -standaard, waarvan een assay is uitgevoerd tegen een IFN- γ -referentiebereiding (NIH-ref: Gxg01-902-535).

Platform en software

QFT-Plus Analysis Software is optioneel voor gebruik en kan worden gebruikt voor het analyseren van de onbewerkte gegevens en het berekenen van de resultaten. De software is te downloaden op www.qiagen.com.

Benodigde, maar niet-meegeleverde materialen

Aanvullende reagentia

- QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes
- Gedeïoniseerd of gedestilleerd water, 2 liter

Verbruiksartikelen

- Deksel voor een plaat met 96 putjes
- Optioneel: microbuisjes van 1 ml met dop in rekken voor 96 putjes of microtiterplaten zonder coating met plastic afdichting voor bewaring van plasma (22 patiënten/rek of plaat)
- Reservoirs voor reagentia

Uitrusting*

- 37°C ± 1°C incubator (met of zonder CO₂)
- Gekalibreerde pipetten met variabel volume voor toediening van 10 µl tot 1000 µl met wegwerptips
- Gekalibreerde meerkanaalspipetten voor toedienen van 50 µl tot 100 µl, met wegwerptips
- Schudder voor microtiterplaten met een snelheidsbereik tussen 500 en 1000 tpm
- Microtiterplaatspoeler (voor een veilige hantering van plasmamonsters wordt een geautomatiseerde plaatspoeler aanbevolen)
- Microtiterplaatlezer met 450 nm-filter en referentiefilter van 620 tot 650 nm
- Variabele snelheidsvortex
- Centrifuge die de bloedafnamebuisjes kan centrifugeren bij minstens 3000 RCF (g)
- Maatcilinder, 1 of 2 liter

* Verzeker u er voor gebruik van dat de apparaten zijn gecontroleerd en gekalibreerd volgens de aanbevelingen van de fabrikant.

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Onthoud dat u volgens de plaatselijke voorschriften verplicht kunt zijn om ernstige incidenten die hebben plaatsgevonden in verband met gebruik van het hulpmiddel te melden bij de fabrikant en/of diens geautoriseerde vertegenwoordiger en de regelgevende instantie van de locatie waar de gebruiker en/of de patiënt zich bevindt.

Voor in-vitrodiagnostisch gebruik.

Veiligheidsinformatie

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB's). Deze zijn online beschikbaar in handig en compact pdf-formaat op www.qiagen.com/safety, waar u de veiligheidsinformatiebladen voor elke QIAGEN-kit en kitcomponent kunt vinden, bekijken en afdrukken.

- Specimens en monsters kunnen besmettelijk zijn. Gooi afval van het monster en de assay weg conform uw lokale veiligheidsprocedures.
- Een negatief resultaat van de QFT-Plus-test sluit de mogelijkheid van een *M. tuberculosis*-infectie of van tuberculose niet uit; fout-negatieve resultaten kunnen worden veroorzaakt door de infectiefase (bijvoorbeeld als de bloedspecimen is genomen vóór de ontwikkeling van een cellulaire immunoreactie), een onjuiste verwerking van de bloedafnamebuisjes na venapunctie, een onjuiste uitvoering van de assay of overige immunologische variabelen waaronder die gerelateerd aan enigerlei comorbiditeiten. Productie van heterofiele antilichamen of niet-specifieke IFN- γ van andere ontstekingen kunnen specifieke reacties op ESAT-6- of CFP-10-peptiden markeren.
- Een positief resultaat van de QFT-Plus-test mag niet de enige of definitieve basis voor het vaststellen van infectie met *M. tuberculosis* zijn. Door een onjuiste uitvoering van de assay is er een kans op fout-positieve QFT-Plus-resultaten.


- Een positief QFT-Plus-testresultaat dient te worden gevolgd door nader medisch onderzoek. Alleen zo kan worden vastgesteld of er sprake is van actieve tuberculose (bijv. door een Acid Fast Bacilli-uitstrijkje en -cultuur alsmede een thorax-röntgenonderzoek).
- Weliswaar bevatten BCG-stammen en de meeste bekende niet-tuberculeuze mycobacteriën geen ESAT-6 en CFP-10, maar een positief resultaat in de QFT-Plus-test kan ook worden toegeschreven aan een infectie met *M. kansasii*, *M. szulgai* of *M. marinum*. Bij het vermoeden van dergelijke infecties moeten alternatieve testmethoden worden gebruikt.
- Een fout-negatief QFT-Plus-resultaat kan het gevolg zijn van onjuiste bloedmonsterafname of een onjuiste hantering van het specimen dat de functie van de lymfocyten aantast. Raadpleeg het deel 'Protocol: De ELISA uitvoeren', pagina 20 voor de juiste hantering van de bloedspecimens. Uitstel van de incubatie kan leiden tot fout-negatieve of onbepaalde resultaten, en andere technische parameters kunnen van invloed zijn op het kunnen vaststellen van een significante IFN- γ -reactie.

Informatie voor noodgevallen

CHEMTREC

Buiten de VS en Canada +1 703-527-3887

Voorzorgsmaatregelen

<p>VOORZICHTIG</p> 	<p>Behandel menselijk bloed alsof het besmettelijk zou kunnen zijn.</p> <p>Houd u aan de relevante richtlijnen voor verwerking. Werp monsters en materialen die in contact zijn gekomen met bloed of bloedproducten weg volgens de plaatselijke of nationale regelgeving.</p>
---	---

QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Bevat: zwavelzuur. Waarschuwing! Kan bijtend zijn voor metalen. Veroorzaakt huidirritatie. Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Draag veiligheidshandschoenen/veiligheidskleding/oogbescherming/gezichtsbescherming.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Waarschuwing! Licht irriterend voor de huid. Draag veiligheidshandschoenen/veiligheidskleding/oogbescherming/gezichtsbescherming.

QuantiFERON Green Diluent



Bevat: tartrazine. Waarschuwing! Kan een allergische huidreactie veroorzaken. Draag veiligheidshandschoenen/veiligheidskleding/oogbescherming/gezichtsbescherming.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Schadelijk voor het waterleven, met effecten op de lange termijn. Voorkom vrijkomen in het milieu.

Overige informatie

Veiligheidsinformatiebladen: www.qiagen.com/safety

- Thimerosal wordt gebruikt als een conserveringsmiddel in sommige QFT-Plus-reagentia. De stof is mogelijk giftig bij inslikken, inademing of bij contact met de huid.
- Afwijkingen van *Gebruikshandleiding QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)* kunnen tot onjuiste resultaten leiden. Lees voor gebruik zorgvuldig de instructies.
- Gebruik de kit niet als een flesje met reagens vóór gebruik tekenen van schade of lekkage vertoont.
- Belangrijk: Controleer de flacons vóór gebruik. Gebruik flacons met conjugaat of IFN- γ -standaard niet als deze tekenen van schade vertonen of als de rubberen afsluiting is beschadigd. Pak gebroken flacons niet vast. Neem geschikte voorzorgsmaatregelen om de flacons veilig af te voeren. Het wordt aanbevolen om de flacon-ontdopper te gebruiken om de flacons met conjugaat of IFN- γ -standaard te openen om het risico op letsel door de metalen dop te minimaliseren.
- Strips voor microplaten, IFN- γ standaard, groene verdunningsoplossing of conjugaatconcentraat 100x uit verschillende QFT-Plus-kitpartijen mogen niet worden gemengd of door elkaar gebruikt. Andere reagentia (wasbuffer 20x geconcentreerd, enzymsubstraatoplossing en enzymremmingsoplossing) kunnen worden uitgewisseld tussen kits op voorwaarde dat de vervaldatum van de reagentia nog niet is verstreken en dat de partijgegevens worden geregistreerd.
- Werp niet-gebruikte reagentia en biologische monsters weg volgens de plaatselijke of nationale regelgeving.
- Gebruik de QFT-Plus ELISA Kit niet na de uiterste gebruiksdatum.
- Volg altijd de juiste laboratoriumprocedures.
- Zorg dat laboratoriumapparatuur zoals plaatwassers en lezers gekalibreerd/gevalideerd voor gebruik zijn.

Opslag en hantering van reagentia

Let op de uiterste gebruiksdatums en opslagcondities die op de verpakking en etiketten van alle componenten staan vermeld. Gebruik geen componenten na de uiterste gebruiksdatum of die op de verkeerde manier zijn bewaard.

Stabiliteit tijdens gebruik

- Bewaar de ELISA-kit bij 2-8 °C.
- Sla de enzymsubstraatoplossing nooit in direct zonlicht op.

Gereconstitueerde en niet-gebruikte reagentia

- Raadpleeg 'Protocol: De ELISA uitvoeren', pagina 20 voor instructies voor het reconstitueren van de reagentia.
- De gereconstitueerde kitstandaard kan tot 3 maanden bewaard blijven indien opgeslagen bij 2-8 °C.

Let op de datum waarop de kitstandaard is gereconstitueerd.

- Het niet-gebruikte conjugaatconcentraat 100x moet opnieuw worden opgeslagen bij 2-8 °C en binnen 3 maanden worden gebruikt.

Let op de datum waarop het conjugaat is gereconstitueerd.

- Gebruiksklaar conjugaat moet binnen 6 uur na bereiding worden gebruikt.
- Gebruiksklare wasbuffer kan gedurende 2 weken bij kamertemperatuur worden bewaard.
- Strips voor microtiterplaat zijn voor eenmalig gebruik. Ongebruikte strips kunnen uit het plaatframe worden gehaald en bewaard voor toekomstig gebruik.

Bewaren en hanteren van specimens

Raadpleeg de *Gebruiksaanwijzing van de QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes* (1123668) voor informatie over de bloedafnameprocedure voor de QFT-Plus-test.

Protocol: De ELISA uitvoeren

Wat u moet weten voordat u begint

Opstelling (Benodigde tijd voor de uitvoering van de assay)

- Om geldige resultaten te verkrijgen van de QFT-Plus-assay moet de gebruiker specifieke taken binnen specifieke tijden uitvoeren. Het wordt aangeraden dat de gebruiker vooraf gebruik van de assay elke fase van de assay nauwkeurig plant, zodat er voldoende tijd is voor elke fase. De geschatte benodigde tijd wordt hieronder gegeven. Tevens wordt de tijd aangegeven voor het testen van meerdere gegroepeerde monsters.
 - Ongeveer 3 uur per ELISA-plaat
 - < 1 uur arbeidstijd
 - 10 tot 15 minuten toevoegen voor elke extra plaat

IFN- γ ELISA

- Raadpleeg 'Inhoud van de kit', pagina 11 en 'Benodigde, maar niet-meegeleverde materialen', pagina 13 voor de materialen die zijn vereist om ELISA uit te voeren.

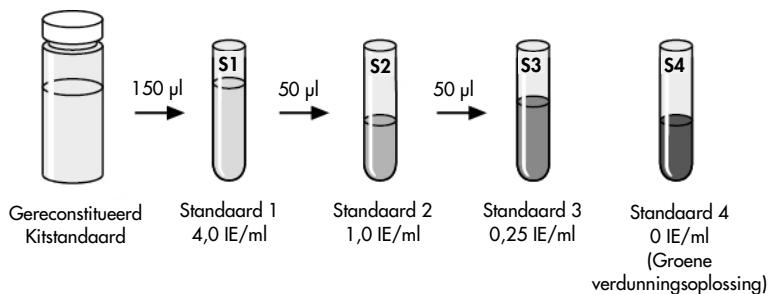
Procedure

1. Alle plasmamonsters en reagentia, behalve conjugaatconcentraat 100x, dienen vóór gebruik op kamertemperatuur (22 ± 5 °C) te worden gebracht. Laat minimaal 60 minuten staan om de monsters op kamertemperatuur te laten komen.
2. Verwijder ELISA-plaatstrips die niet nodig zijn van het frame, verzegel ze opnieuw in de folieverpakking en zet deze terug in de koelkast voor later gebruik.

3. Neem minstens 1 strip voor de QFT-Plus-standaarden en voldoende strips voor het aantal proefpersonen dat wordt getest (zie afbeelding 2 voor aanbevolen plaatformaat). Bewaar na gebruik het frame en het deksel om later met de resterende strips te gebruiken.
- 3a. Reconstitueer de IFN γ -standaard met de hoeveelheid gedeïoniseerd of gedestilleerd water zoals aangegeven op het etiket van de flacon. Rustig mengen om schuim te minimaliseren en om ervoor te zorgen dat de gehele inhoud van de flacon volledig is opgelost. Reconstitutie van de IFN γ -standaard naar het correcte volume geeft een oplossing met een concentratie van 8,0 IE/ml.
- 3b. Bereid, met behulp van de gereconstitueerde standaard, een verdunningsreeks voor, bestaande uit vier IFN γ -concentraties (zie afbeelding 1).
- 3c. Er moet een standaardcurve worden gegenereerd met de volgende IFN γ -concentraties:
- S1 (standaard 1) bevat 4,0 IE/ml
 - S2 (standaard 2) bevat 1,0 IE/ml
 - S3 (standaard 3) bevat 0,25 IE/ml
 - S4 (standaard 4) bevat 0 IE/ml (Alleen groene verdunningsoplossing [Green Diluent, GD]).
- 3d. De standaarden moeten minstens dubbel worden getest.
- 3e. Maak voor elke ELISA-bewerking nieuwe verdunningen van de kitstandaard.

Procedure

A	Voorzie vier buisjes van een etiket: S1, S2, S3, S4
B	Voeg 150 μ l GD toe aan S1, S2, S3 en S4
C	Voeg 150 μ l kitstandaard toe aan S1 en meng goed
D	Breng 50 μ l uit S1 over in S2 en meng goed
E	Breng 50 μ l uit S2 over in S3 en meng goed
F	GD alleen dient als de nulstandaard (S4)



Afbeelding 1. Maken van de standaardcurve met verdunningsreeksen.

4. Reconstitueer gelyofiliseerd conjugaatconcentraat 100x met 0,3 ml gedeïoniseerd of gedestilleerd water. Rustig mengen om schuim te minimaliseren en om ervoor te zorgen dat de gehele inhoud van de flacon volledig is opgelost.
 - 4a. Gebruiksklaar conjugaat wordt bereid door de vereiste hoeveelheid gereconstitueerd conjugaatconcentraat 100x te verdunnen met groene verdunningsoplossing (Tabel 1).
 - 4b. Gebruiksklaar conjugaat moet binnen 6 uur na bereiding worden gebruikt.
 - 4c. Sla onmiddellijk na gebruik eventueel niet-gebruikt conjugaatconcentraat 100x weer op bij een temperatuur van 2 °C tot 8 °C.

Tabel 1. Bereiding conjugaat (gebruiksklaar)

Aantal strips	Hoeveelheid conjugaat (100x concentratie)	Hoeveelheid groene verdunningsoplossing
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. Voor plasmamonsters die zijn verkregen uit bloedafnamebuisjes en vervolgens zijn opgeslagen (gekoeld of bevroren), moet het opgeslagen monster grondig worden gemengd alvorens te worden toegevoegd aan het ELISA-putje. Plasmamonsters kunnen in gecentrifugeerde QFT-Plus Blood Collection Tubes gedurende maximaal 28 dagen bij 2-8 °C worden bewaard, of verzamelde plasmamonster kunnen maximaal 28 dagen bij 2-8 °C worden bewaard. Verzamelde plasmamonsters kunnen ook onder -20 °C worden bewaard (bij voorkeur minder dan -70 °C) gedurende langere perioden.

Plasmamonsters kunnen rechtstreeks vanuit de gecentrifugeerde bloedafnamebuisjes worden gebruikt/overgebracht op de QFT-Plus ELISA plaat.

Belangrijk: als plasmamonsters rechtstreeks vanuit de gecentrifugeerde QFT-Plus Blood Collection Tubes moeten worden overgebracht, dient vermenging van het plasma te worden vermeden. Zorg er altijd voor dat het materiaal aan het oppervlak van de gel niet wordt verstoord.

6. Voeg 50 µl vers bereid, gebruiksklaar conjugaat toe aan elk ELISA-putje.

7. Voeg 50 µl testplasmamonster toe aan de betreffende putjes (zie aanbevolen ELISA-plaatindeling in afbeelding 2).
8. Voeg ten slotte 50 µl van elk van de standaarden 1 t/m 4 toe aan de betreffende plaatputjes (zie aanbevolen ELISA-plaatindeling in afbeelding 2). De standaarden moeten minstens dubbel worden getest.

	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

Afbeelding 2. Aanbevolen ELISA-plaatindeling. S1 (standaard 1), S2 (standaard 2), S3 (standaard 3), S4 (standaard 4). 1N (monster 1. Nil controleplasma), 1 TB1 (monster 1. TB1-plasma), 1 TB2 (monster 1. TB2-plasma), 1M (monster 1. Mitogen-plasma).

9. Dek de ELISA-plaat af met een deksel en meng het conjugaat met de plasmamonsers/standaarden gedurende 1 minuut goed met behulp van een schudder voor microtiterplaten bij 500 tot 1000 trillingen per minuut. Vermijd spatten.
10. Dek de ELISA plaat af en incubeer gedurende 120 ± 5 minuten op kamertemperatuur (22 ± 5 °C). Tijdens het incuberen mag de ELISA-plaat niet aan direct zonlicht worden blootgesteld. Wanneer wordt afgeweken van het gespecificeerde temperatuurbereik, kan dit tot foutieve resultaten leiden.
11. Tijdens het incuberen van de ELISA-plaat bereidt u de gebruiksklare wasbuffer voor. Verdun één deel wasbuffer, concentraat 20x, met 19 delen gedeïoniseerd of gedestilleerd water en meng goed. Er is voldoende wasbuffer, concentraat 20x, aanwezig om 2 liter gebruiksklare wasbuffer te maken.
12. Spoel nadat de incubatie van de ELISA-plaat is afgerond de ELISA-plaatputjes met 400 µl gebruiksklare wasbuffer. Voer de spoelstap minstens zes keer uit. Er wordt om veiligheidsredenen een geautomatiseerde plaatspoeler aanbevolen bij hantering van plasmamonsers.

Zorgvuldig spoelen is erg belangrijk voor het uitvoeren van de assay. Zorg dat elk putje voor elke spoelcyclus tot aan de rand volledig is gevuld met wasbuffer. Er wordt een inweektijd van minstens 5 seconden tussen de cycli aanbevolen.

Er dient een standaard desinfecterend middel voor laboratoria te worden toegevoegd aan het uitstroomreservoir en er moeten algemeen aanvaarde procedures worden gevolgd voor het ontsmetten van potentieel besmettelijk materiaal.

13. Houd de ELISA plaat omgekeerd boven een absorberende (niet-pluizende) doek en tik erop om resterende wasbuffer te verwijderen. Voeg 100 µl enzymsubstraatoplossing toe aan elk plaatputje, dek de plaat af en meng goed met behulp van een schudder voor microtiterplaten gedurende 1 minuut bij 500-1000 trillingen per minuut.
14. Dek de ELISA plaat af en incubeer gedurende 30 minuten op kamertemperatuur (22 ± 5 °C). Tijdens het incuberen mag de ELISA-plaat niet aan direct zonlicht worden blootgesteld.
15. Na afloop van het incuberen gedurende 30 minuten, voegt u 50 µl enzymremmingsoplossing aan elk plaatputje, in dezelfde volgorde als waarin het substraat was toegevoegd, en mengt u deze goed met behulp van een schudder voor microtiterplaten bij 500 tot 1000 trillingen per minuut.
16. Meet binnen 5 minuten na het stoppen van de reactie de absorptie of optische dichtheid (Optical Density, OD) van ELISA plaatputjes met een microtiterplaatlezer die is voorzien van een 450 nm-filter en een referentiefilter van 620 tot 650 nm. OD-waarden worden gebruikt om de resultaten te berekenen.

Resultaten (Berekeningen)

QFT-Plus Analysis Software kan worden gebruikt voor het analyseren van de onbewerkte gegevens en het berekenen van de resultaten. De software is te vinden op www.qiagen.com. Zorg ervoor dat de meest recente versie van de QFT-Plus Analysis Software wordt gebruikt.

De software voert een kwaliteitscontrole voor de assay uit, genereert een standaardcurve en geeft voor elke proefpersoon een testresultaat, zoals verder is uitgewerkt in 'Interpretatie van de resultaten', pagina 30. De software rapporteert alle concentraties groter dan 10 IE/ml als '>10', gezien zulke waarden buiten het gevalideerde lineaire bereik van de ELISA vallen.

In plaats van met de QFT-Plus Analysis Software kunnen de resultaten ook worden bepaald met de volgende methode.

Genereren van de standaardcurve en monsterwaarden

Als QFT-Plus Analysis Software niet wordt gebruikt

Bepaling van de standaardcurve en bepaling van de IE/ml-waarden van monsters vereisen een spreadsheetprogramma, zoals Microsoft® Excel® wanneer de QFT-Plus Analysis Software niet wordt gebruikt.

Een spreadsheetprogramma gebruiken

1. Bepaal de gemiddelde OD-waarden van de kitstandaardrePLICATEN op elke plaat.
2. Construeer een dubbellogaritmische standaardcurve door de $\log_{(e)}$ van de gemiddelde OD (y-as) af te zetten tegen de $\log_{(e)}$ van de IFN- γ -concentratie van de standaarden in IE/ml (x-as), waarbij de nulstandaard niet bij deze berekeningen moet worden betrokken. Bereken de best passende lijn voor de standaardcurve met behulp van regressieanalyse.

3. Gebruik de standaardcurve om de IFN- γ -concentratie (IE/ml) vast te stellen voor elk testplasmamonster met behulp van de OD-waarde van elk monster.
4. Deze berekeningen kunnen worden uitgevoerd met softwarepakketten die bij microtiterplaatlezers worden geleverd en een standaardspreadsheet of statistische software (zoals Microsoft Excel). Het wordt aanbevolen deze pakketten te gebruiken voor het berekenen van de regressieanalyse, de variatiecoëfficiënt (Coefficient of Variation, %CV) van de standaarden en de correlatiecoëfficiënt (r) van de standaardcurve.

Monsterberekening

Indien de volgende OD-waarden zijn verkregen voor de standaarden, volgen de berekeningen met $-\log(e)$ – die in tabel 2.

Tabel 2. Standaardcurve

Standaard	IE/ml	OD-waarden a en b	Gemiddeld OD	%CV	Log _(e) IE/ml	Log _(e) Gemiddeld (Optical Density, OD)
Standaard 1	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
Standaard 2	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
Standaard 3	0,25	0,114, 0,136	0,125	N.g.	-1,386	-2,079
Standaard 4	0	0,034, 0,037	0,036	N.g.	N.g.	N.g.

De vergelijking van de curve is $y = 0,7885(x) - 0,9837$, waarbij 'm' = 0,7885 en 'c' = -0,9837. Deze waarden worden gebruikt in de vergelijking $X = (Y-c)/m$ om X te bepalen. Op basis van de standaardcurve is de berekende correlatiecoëfficiënt (r) = 1,000. N.g.: Niet van toepassing (n.v.t.).

De validiteit van de assay is bepaald met behulp van de criteria gespecificeerd in 'Kwaliteitscontrole van de test', pagina 28.

De standaardcurve (Tabel 2) is gebruikt om de antigeen-OD-reacties om te zetten naar internationale eenheden (IE/ml).

Tabel 3. Monstereberekening

Antigeen	OD-waarde	Log _(e) OD-waarde	X	e ^x (IE/ml)	Antigeen -Nil (IE/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

IFN- γ -waarden (in IE/ml) voor de TB1, TB2 en Mitogen zijn gecorrigeerd voor achtergrond door de IE/ml-waarde verkregen uit de respectieve Nil-controle af te trekken. Deze gecorrigeerde waarden zijn gebruikt voor de interpretatie van de testresultaten.

Kwaliteitscontrole van de test

De nauwkeurigheid van de testresultaten hangt af van het genereren van een accurate standaardcurve. Resultaten die van de standaarden worden afgeleid, dienen dus nader te worden bekeken voordat de resultaten van de testmonsters kunnen worden geïnterpreteerd.

De ELISA is geldig als aan het volgende is voldaan:

- De gemiddelde OD-waarde voor standaard 1 moet $\geq 0,600$ zijn.
- De %CV voor de waarden van de replicaten van standaard 1 en standaard 2 dienen $\leq 15\%$ te zijn.
- De OD-waarden van de replicaten van standaard 3 en standaard 4 mogen niet meer dan 0,040 eenheden optische dichtheid van het gemiddelde afwijken.
- De correlatiecoëfficiënt (r) van de gemiddelde absorptiewaarden van de standaarden dient $\geq 0,98$ te zijn.

- Als niet aan bovenstaande criteria wordt voldaan, is de run ongeldig en moet deze worden herhaald.
- De gemiddelde OD-waarde van de nulstandaard (groene verdunningsoplossing) dient $\leq 0,150$ te zijn. Als de gemiddelde OD-waarde $> 0,150$ is, dient de plaatspoelprocedure te worden gecontroleerd.

De QFT-Plus Analysis Software berekent deze parameters voor kwaliteitscontrole en rapporteert deze.

Elk laboratorium moet de geschikte typen controlemateriaal en de testfrequentie bepalen in overeenstemming met lokale of nationale of andere toepasselijke accrediterende organisaties. Overweeg externe kwaliteitsbeoordeling en alternatieve validatieprocedures.

Opmerking: Plasma verrijkt met IFN- γ hebben verminderingen tot 50% in de concentratie getoond, indien bewaard bij 2-8 °C en -20 °C. Recombinant IFN- γ wordt afgeraden voor het vaststellen van controlestandaarden.

Interpretatie van de resultaten

QFT-Plus-resultaten worden geïnterpreteerd aan de hand van de volgende criteria (Tabel 4).

Belangrijk: Het diagnosticeren of uitsluiten van tuberculose en het beoordelen van de waarschijnlijkheid van een LTBI vereist een combinatie van epidemiologische, historische, medische en diagnostische bevindingen waarmee bij de interpretatie van de QFT-Plus-testresultaten rekening moet worden gehouden. Raadpleeg de algemene richtlijnen over de diagnose en behandeling van TB en LTBI:

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

Tabel 4. Interpretatie van QFT-Plus-testresultaten

Nil (IE/ml)	TB1 minus Nil (IE/ml)	TB2 minus Nil (IE/ml)	Mitogen minus Nil (IE/ml)*	QFT-Plus-resultaat	Rapport/interpretatie
≤ 8,0	≥ 0,35 en ≥ 25% van Nil	Elke waarde	Elke waarde	Positief†	<i>M. tuberculosis</i> -infectie waarschijnlijk
	Elke waarde	≥ 0,35 en ≥ 25% van Nil			
	< 0,35 of ≥ 0,35 en < 25% van Nil	< 0,35 of ≥ 0,35 en < 25% van Nil	≥ 0,50	Negatief	<i>M. tuberculosis</i> -infectie NIET waarschijnlijk
	< 0,35 of ≥ 0,35 en < 25% van Nil	< 0,35 of ≥ 0,35 en < 25% van Nil	< 0,50	Onbepaald‡	Waarschijnlijkheid van een <i>M. tuberculosis</i> -infectie kan niet worden bepaald
> 8,0§	Elke waarde				

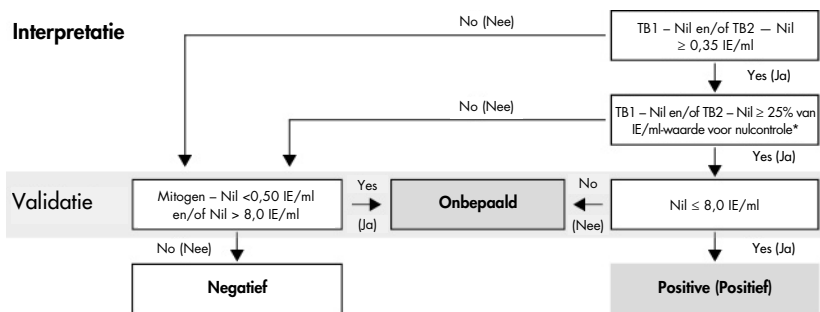
* Reacties op de Mitogen-positieve controle (en soms TB-antigeen) kunnen zich buiten het bereik van de microtiterplaatlezer bevinden. Dit is niet van invloed op de testresultaten. Waarden >10 IE/ml worden door de QFT-Plus-software gerapporteerd als >10 IE/ml.

† Als er geen vermoeden van een *M. tuberculosis*-infectie bestaat, kunnen aanvankelijk positieve resultaten worden bevestigd door de originele plasmamonsters in de QFT-Plus ELISA opnieuw dubbel te testen. Als de herhaalde test bij een of beide replicaten een positief resultaat oplevert, moet het testresultaat als positief worden beoordeeld.

‡ Raadpleeg 'Probleemoplossingsgids', pagina 66 voor mogelijke oorzaken.

§ In klinische onderzoeken had minder dan 0,25% van de proefpersonen IFN- γ -waarden van > 8,0 IE/ml bij de nulcontrole.

De hoogte van de gemeten IFN γ -concentratie kan niet worden gecorreleerd aan het stadium of de mate van infectie, de omvang van de immuunreactiviteit of de waarschijnlijkheid van progressie naar actieve tuberculose. Een positieve TB-reactie bij proefpersonen die een negatieve reactie op Mitogen hebben, is zeldzaam, maar is waargenomen bij patiënten met TB. Dit geeft aan dat de IFN γ -reactie op TB-antigenen groter is dan de reactie op Mitogen, wat mogelijk is omdat Mitogen-niveau de IFN γ -productie door lymfocyten niet maximaal stimuleert.



Afbeelding 3. Interpretatie van QFT-Plus-test. *De waarde voor TB1 minus Nil of TB2 minus Nil is geldig als aan het volgende is voldaan: $\geq 25\%$ van IE/ml-waarde voor Nil moet uit hetzelfde buisje komen als het oorspronkelijke resultaat $\geq 0,35$ IE/ml.

Beperkingen

De resultaten van de QFT-Plus-test dienen te worden gebruikt in combinatie met de epidemiologische voorgeschiedenis, de huidige medische status en andere diagnostische onderzoeken van elke patiënt.

Individueen met Nil-waarden groter dan 8 IE/ml worden geclassificeerd als 'onbepaald' omdat een 25% hogere reactie op TB-antigenen buiten het meetbereik van de assay kan liggen.

- De voorspellende waarde van een positief QFT-Plus-resultaat bij de diagnose van *M. tuberculosis*-infectie hangt af van de kans op infectie, hetgeen moet worden geëvalueerd op basis van historische, epidemiologische, diagnostische en andere bevindingen.
- Een diagnose van LTBI vereist dat tuberculose moet worden uitgesloten door medische evaluatie, waaronder een beoordeling van actuele medische en diagnostische tests voor de ziekte zoals beschreven.
- Een negatief resultaat moet worden meegewogen in de medische en historische gegevens van de persoon die relevant zijn voor de kans op *M. tuberculosis*-infectie en het mogelijke risico op progressie naar tuberculose, met name bij personen met een gebrekkige immuunfunctie.

Onbetrouwbare of onbepaalde resultaten kunnen het gevolg zijn van:

- Afwijkingen van de in de gebruiksaanwijzing beschreven procedure
- Onjuist transport/onjuiste hantering van bloedspecimen
- Verhoogde concentraties circulerend IFN- γ of aanwezigheid van heterofiele antilichamen
- Overschrijding van gevalideerde bloettijden van bloedspecimenafname tot incubatie. Raadpleeg de *Gebruiksaanwijzing van de QFT-Plus Blood Collection Tubes* (1123668).

Prestatiekenmerken

Klinische onderzoeken

Aangezien er geen definitieve standaardtest is om de diagnose van LTBI te bevestigen of uit te sluiten, kan een schatting van de gevoeligheid en specificiteit van QFT-Plus feitelijk niet worden geëvalueerd. De specificiteit van QFT-Plus-test is bij benadering vastgesteld door evaluatie van het percentage fout-positieve resultaten bij personen met gering risico van (d.w.z. zonder bekende risicofactoren voor) een tuberculose-infectie. De gevoeligheid is bij benadering vastgesteld door evaluatie van groepen van onderzoeksdeelnemers met door middel van cultuur bevestigde actieve tuberculose. De assayprestaties werden bovendien geëvalueerd voor positieve en negatieve percentages in een populatie van gezonde patiënten met vastgestelde risicofactoren voor tuberculose-infectie (populatie met gemengd risico).

Specificiteit

Er vond een onderzoek in meerdere centra plaats, waarbij de klinische specificiteit van QFT-Plus werd geëvalueerd bij 733 deelnemers waarvan beschouwd werd dat ze een laag risico op *M. tuberculosis* hadden, ofwel geen risicofactoren voor blootstelling aan infectie of ziekte. De demografische gegevens en risicofactoren voor blootstelling aan TB werden vastgesteld met behulp van een gestandaardiseerde enquête die tijdens de test werd afgenomen. Het onderzoek werd uitgevoerd op vier onafhankelijke locaties: een in de Verenigde Staten, twee in Japan en een in Australië. De QFT-Plus-test werd vergeleken met de QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT)-test. Een overzicht van de prestatiegegevens voor klinische specificiteit, gestratificeerd op onderzoekscentrum en regio, vindt u in tabel 5. De resultaten voor de prestaties zijn gebaseerd op het totale aantal geldige tests. Er waren geen onbepaalde resultaten.

Tabel 5. Specificiteit van QFT-Plus in een populatie met laag risico

Locatie	N	Positief		Negatief		Onbepaald		Specificiteit (95% CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
Verenigde Staten									
(#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)
Japan									
(#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)
Totaal Japan	322	4	7	318	315	0	0	98,76% (318/322) (96,85– 99,52)	97,83% (315/322) (95,6–98,9)
Australië									
(#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)

De specificiteit van QFT-Plus was 98,11% in de VS, 97,83% in Japan en 95,48% in Australië. De totale specificiteit van QFT-Plus was 97,27% (713/733). De specificiteit van QFT was 99,06% in de VS, 98,76% in Japan en 95,98% in Australië. De totale specificiteit van QFT was 98,09% (719/733).

Een uitsplitsing van de resultaten volgens type TB-antigeenbuisje en combinaties daarvan wordt getoond als voorbeeld van verwachte resultaten bij een populatie met laag risico (Tabel 6).

Tabel 6. Resultaten van onderzoek naar specificiteit QFT-Plus volgens TB-antigeenbuisje

Interpretatie op basis van TB-antigeen-Nil				
IE/ml in	TB1	TB2	QFT-Plus (positief volgens TB1 en/of TB2)*	Concordant positief TB1 en TB2 (alternatieve analyse)†
Positief	10	18	20	8
Negatief	723	715	713	725
Onbepaald	0	0	0	0
Specificiteit (95% CI)	-	-	97,3% (713/733) (95,8-98,2)	-
Negatief percentage (95%-BI)	98,6% (723/733) (97,5-99,3)	97,5% (715/733) (96,2-98,4)	-	98,9% (725/733) (97,9-99,5)

* Interpretatie op basis van een waarde voor TB-antigeen – Nil $\geq 0,35$ IE/ml in beide (TB1 en TB2) of één TB-buisje om te voldoen aan de interpretatiecriteria voor QFT-Plus (TB1 of TB2) om als positief beoordeeld te worden.

† Alternatieve analyse enkel verstrekt ter informatie.

Bij de patiënten met laag risico op TB-infectie leverden in totaal 20/733 personen een positief resultaat op. Daarvan leverden slechts 8 personen een waarde van $>0,35$ IE/ml in zowel TB1- als TB2-buisjes op. Een vergelijking van de QFT- versus QFT-Plus-assays werd uitgevoerd in het onderzoekscohort met laag risico; dit leverde een totale concordantie van 97,5% (715/733) en een percentage negatieve overeenstemming van 98,3% (707/719) op.

Gevoeligheid

Hoewel er nog geen definitieve standaardtest voor LTBI bestaat, vormt de microbiologische cultuur van *M. tuberculosis* een geschikt vervangingsmiddel omdat infectie met TB een noodzakelijke voorwaarde is voor de ziekte.

Er vond een onderzoek in meerdere centra plaats, klinische gevoeligheid van QFT-Plus werd geëvalueerd bij 434 deelnemers met tekenen en symptomen van actieve *M. tuberculosis*-ziekte zoals bevestigd door kweek en/of PCR, en die geen TB-behandeling ondergingen of met ≤ 14 dagen behandeling vóór bloedafname. Het onderzoek werd uitgevoerd op zeven onafhankelijke locaties: drie in de Verenigde Staten, drie in Japan en een in Australië. De QFT-Plus-test werd vergeleken met de QuantiFERON-TB Gold In Tube (QFT)-test. Een overzicht van de prestatiegegevens voor klinische gevoeligheid, gestratificeerd op onderzoekscentrum en land vindt u in tabel 7. De resultaten voor de prestaties zijn gebaseerd op het totale aantal geldige tests. De frequentie van onbepaalde resultaten voor QFT en QFT-Plus was 2,3% (10/434) en 2,5% (11/434), respectievelijk.

Tabel 7. Overzicht van prestaties onderzoek naar klinische gevoeligheid, gestratificeerd op centrum, land en totaal

Locatie	N	Positief		Negatief		Onbepaald		Gevoeligheid (95%-BI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
Verenigde Staten									
(#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)
Totaal Verenigde Staten	53	47	47	6	6	0	0	88,7% (47/53) (77,4-94,7)	88,7% (47/53) (77,4-94,7)
Japan									
(#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)

Tabel wordt vervolgd op de volgende pagina

Vervolg tabel van vorige pagina

Tabel 7. Overzicht van prestaties onderzoek naar klinische gevoeligheid, gestratificeerd op centrum, land en totaal (vervolg)

Locatie	N	Positief		Negatief		Onbepaald		Gevoeligheid (95%-BI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
(#6) JPN-1	177	159	157	12	15	6	5	92,98% (159/171) (88,14- 95,94)	91,28% (157/172) (86,11- 94,64)
Totaal Japan	352	328	322	15	19	9	11	95,63% (328/343) (92,91- 97,33)	94,43% (322/341) (91,5-96,4)
Australië									
(#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)

De analyse in de bovenstaande tabel houdt geen rekening met onbepaalde resultaten.

De gevoeligheid van QFT-Plus was 88,7% in de VS, 94,43% in Japan en 100,0% in Australië. De totale gevoeligheid van QFT-Plus was 94,09% (398/423). De gevoeligheid van QFT was 88,7% in de VS, 95,63% in Japan en 96,43% in Australië. De totale gevoeligheid van QFT was 94,81% (402/424).

Een uitsplitsing van de resultaten volgens type TB-antigeenbuisje en combinaties van buisjes wordt getoond als voorbeeld van verwachte resultaten bij een populatie met bevestigde TB-infectie (Tabel 8).

Tabel 8. Resultaten QFT-Plus-gevoeligheidsonderzoek per TB-antigeenbuisje

Interpretatie op basis van TB-antigeen-Nil in IE/ml			QFT-Plus (positief volgens TB1 en/of TB2)
	TB1	TB2	
Positief	388	397	398
Negatief	32	26	25
Onbepaald	14	11	11
Gevoeligheid* (95%-BI)	-	-	94% (398/423) (91,4-96,0)
Positief percentage* (95%-BI)	92,4% (388/420) (89,4-94,6)	93,9% (397/423) (91,1-95,8)	-

* Onbepaalde waarden niet meegerekend.

Een vergelijking van de QFT- en QFT-Plus-assays werd uitgevoerd in het cohort met door kweek bevestigde actieve TB (cohorten van gevoeligheidsonderzoek); dit leverde een totale concordantie van 95,9% en een percentage positieve overeenstemming van 97,3% (391/402) op.

Tabel 9. Waarschijnlijkheidsverhouding QFT-Plus

Locatie*	Gevoeligheid	Specificiteit	LR+	LR-
Australië	100,00%	95,48%	22,11	0,00
Japan	94,43%	97,83%	43,44	0,06
Verenigde Staten	88,68%	98,11%	47,00	0,12

* Totaal

Prestaties bij patiënten met vastgestelde risicofactoren voor een MTB-infectie (personen met gemengd risico).

Een cohort van 601 personen met gemengde risicofactoren voor TB-infectie (bijv. hiv-positiviteit, geschiedenis van behandeling voor actieve of latente TB, blootstelling aan geval van actieve TB, HCW-status enz.) werd geëvalueerd met zowel de QFT- als de QFT-Plus-tests. Risicofactoren werden vastgesteld met een gestandaardiseerde enquête en de personen vertoonden geen symptomen gerelateerd aan actieve TB op het moment van werving. De demografische gegevens en risicofactoren worden samengevat in tabel 10. In deze populatie leverden 68/601 (11,3%) personen een positief QFT-Plus-resultaat op, met een percentage positieve overeenstemming (Positive Percent Agreement, PPA) en percentage negatieve overeenstemming (Negative Percent Agreement, NPA) van respectievelijk 98,44% en 99,07% (Tabel 11). In dit cohort van 68 QFT-Plus-positieve personen waren in totaal 62 personen positief voor zowel TB1 en TB2-buisjes, 2 waren alleen positief voor TB1 en 4 waren alleen positief voor TB2. Er werden geen onbepaalde resultaten (0/601) waargenomen.

Tabel 10. Demografische gegevens en factoren gerelateerd aan het risico op TB-infectie in een gemengd cohort

Totaal patiënten (601)		Nummer	Percentage
Geslacht	Mannen	539	89,7%
	Vrouwen	62	10,3%
Leeftijd (jaren)	Range (Bereik)	18-70	–
	Gemiddelde	46,7	–
Gevaccineerd met BCG	Yes (Ja)	15	2,5%
	No (Nee)	586	97,5%
Hiv-positief of positief getest voor HTLV-virussen	Yes (Ja)	12	2,0%
	No (Nee)	589	98%
Eerdere diagnose van actieve TB	Yes (Ja)	11	1,8%
	No (Nee)	590	98,2%
Had een positieve tuberculine-huidtest (TST)/mantoux-test voor TB	Yes (Ja)	47	7,8%
	No (Nee)	554	92,2%
Ooit behandeld voor actieve of latente TB	Yes (Ja)	35	5,8%
	No (Nee)	566	94,2%
Woonde, werkte of deed vrijwilligerswerk (>1 maand) in een gevangenis	Yes (Ja)	373	62,1%
	No (Nee)	228	37,9%
Woonde, werkte of deed vrijwilligerswerk (>1 maand) in een daklozenopvang	Yes (Ja)	525	87,4%
	No (Nee)	76	12,6%
Medisch personeel	Yes (Ja)	8	1,3%
	No (Nee)	593	98,7%
Nauw contact met iemand met vermoeden of bevestiging van actieve TB	Yes (Ja)	9	1,5%
	No (Nee)	592	98,5%

Tabel 11. Overzicht prestaties van QFT-Plus versus GIT bij personen met bekende risicofactoren voor latente TB-infectie

		QFT		Totaal
		Positief (+)	Negatief (-)	
QFT-Plus	Positief (+)	63	5*	68
	Negatief (-)	1*	532	533
	Totaal	64	537	601

*Alle 6 afwijkende monsters hadden niveaus van IFN- γ van de TB-antigeenbuisjes die dicht bij de grenswaarde van de assay lagen.

Het percentage positieve overeenstemming (Positive Percent Agreement, PPA) en percentage negatieve overeenstemming (Negative Percent Agreement, NPA) tussen de resultaten van GIT en QFT-Plus waren als volgt:

- PPA: 98,44% (63/64), 95% BI (91,67, 99,72)
- NPA: 99,07% (532/537), 95% BI (97,84, 99,60)

Tabel 12 hieronder toont de prestaties van QFT-Plus in vergelijking met de GIT-test bij deelnemers aan het onderzoek die zijn gevaccineerd met BCG.

Tabel 12. Prestaties van QFT-Plus in vergelijking met de GIT-test bij deelnemers aan het onderzoek die zijn gevaccineerd met BCG (gecombineerde gegevens van deelnemers aan het gevoeligheids-, specificiteits- en LTBI-onderzoek)

		QFT		Totaal
		Positief (+)	Negatief (-)	
QFT-Plus	Positief (+)	66	5	71
	Negatief (-)	3	268	271
	Totaal	69	273	342*

* Twee deelnemers aan het gevoeligheidsonderzoek werden uitgesloten van de analyse wegens onbepaalde resultaten

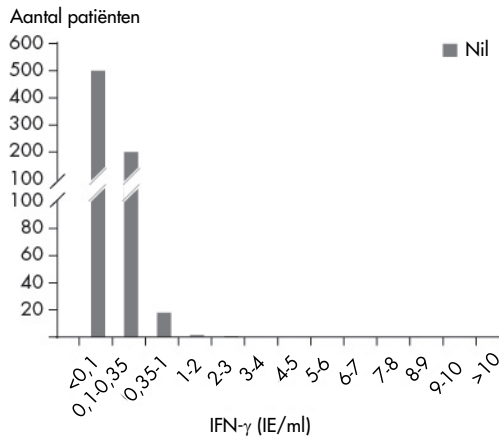
- PPA = 95,6% (66/69), 95% BI (87,98, 98,51)
- NPA = 98,2% (268/273), 95% BI (95,79, 99,22)

Verwachte waarden

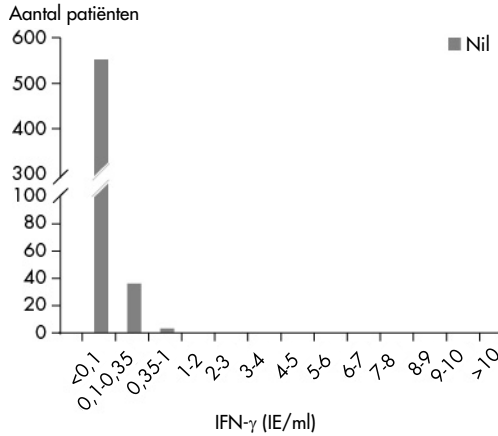
Geobserveerde verdeling van reacties – gestratificeerd per risico

Er werd een bereik aan IFN γ -reacties op TB1-, TB2- en controlebuisjes geobserveerd in klinische onderzoeken en gestratificeerd per risico van *M. tuberculosis*-infectie (afbeelding 4 tot afbeelding 7). De groep met gemengde risico's bestaat uit proefpersonen die representatief zijn voor een algehele testpopulatie, inclusief proefpersonen met en zonder risicofactoren voor blootstelling aan TB en waarbij actieve TB onwaarschijnlijk is (zoals LTBI).

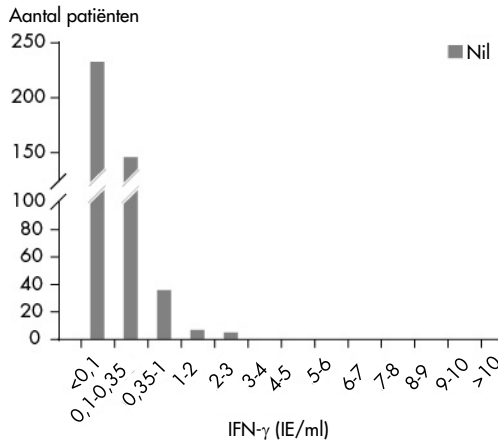
A



B

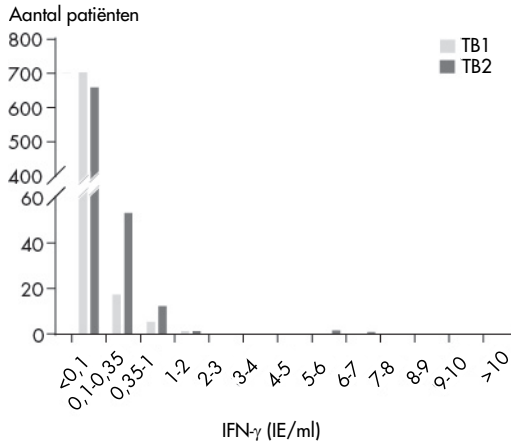


C

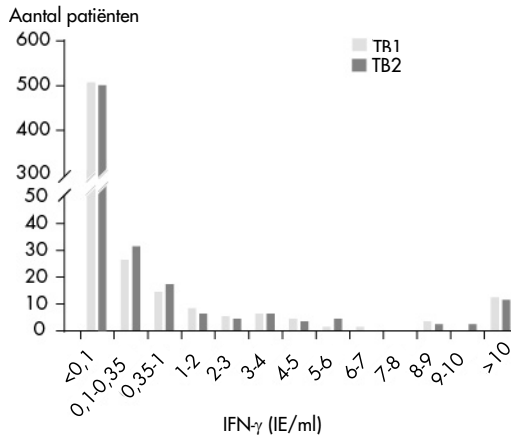


Afbeelding 4. Verdeling van Nil (Nul). AVerdeling van Nil-waarden in een populatie met gering risico (n=744). B Verdeling van Nil-waarden in een populatie met gemengd risico (n=601). CVerdeling van Nil-waarden in een populatie met door middel van cultuur bevestigde *M. tuberculosis*-infectie (n=416).

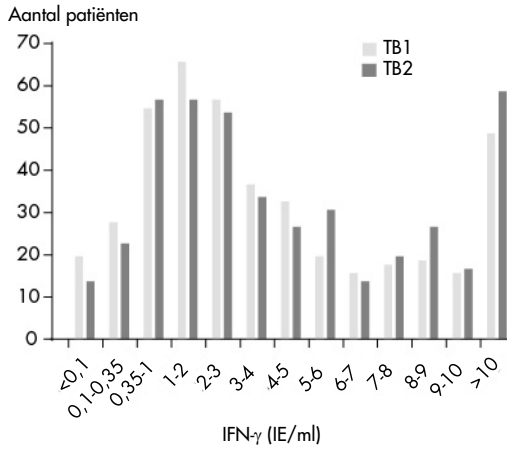
A



B

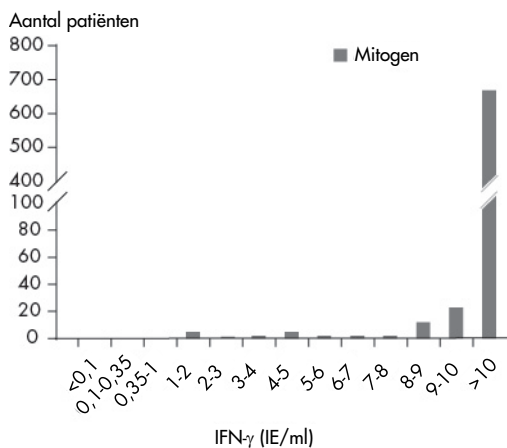


C

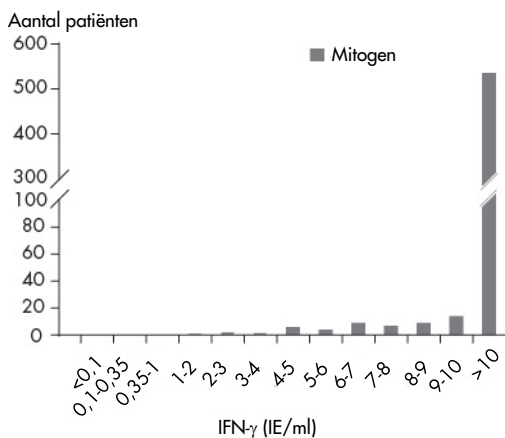


Afbeelding 5. Verdeling van TB1 en TB2 (na aftrek van Nil). A Verdeling van TB1 en TB2 (na aftrek van Nil) in een populatie met gering risico (n=744). B Verdeling van TB1 en TB2 (na aftrek van Nil) in een populatie met gemengd risico (n=601). C Verdeling van TB1 en TB2 (na aftrek van Nil) in een populatie met door middel van cultuur bevestigde *M. tuberculosis*-infectie (n=416).

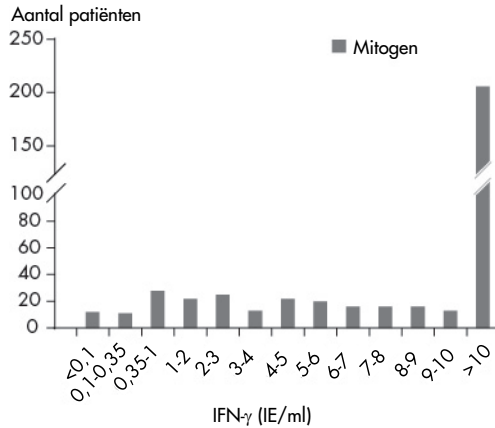
A



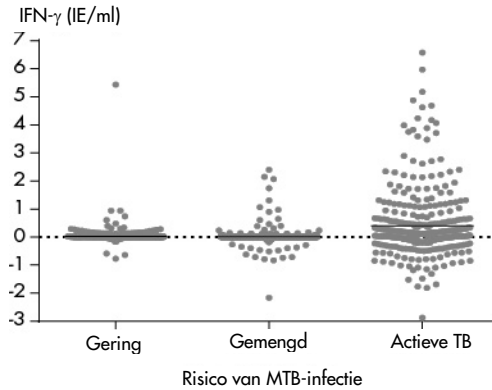
B



C



Afbeelding 6. Verdeling van Mitogen (na aftrek van Nil). **A** Verdeling van Mitogen (na aftrek van Nil) in een populatie met gering risico (n=744). **B** Verdeling van Mitogen (na aftrek van Nil) in een populatie met gemengd risico (n=601). **C** Verdeling van Nil-waarden in een populatie met door middel van cultuur bevestigde *M. tuberculosis*-infectie (n=415).



Afbeelding 7. Geobserveerd verschil tussen TB1 en TB2-waarden (na aftrek van Nil), gestratificeerd per risico. Bevat gegevens van het onderzoek in het cohort met gemengd risico, om de verschillen tussen cohorten met laag risico, actief risico en gemengd risico te tonen. Deze gegevensanalyse omvatte een cohort met gemengd risico en met bekende risicofactoren. Daarom: uit het cohort met laag risico n=733, uit het cohort met gemengd risico n=588 en uit het cohort met actieve TB n=357. Het kwantitatieve verschil in IE/ml voor elke patiënt werd verkregen door de TB1-waarde af te trekken van de TB2-waarde.

Overzicht van veiligheid en prestaties

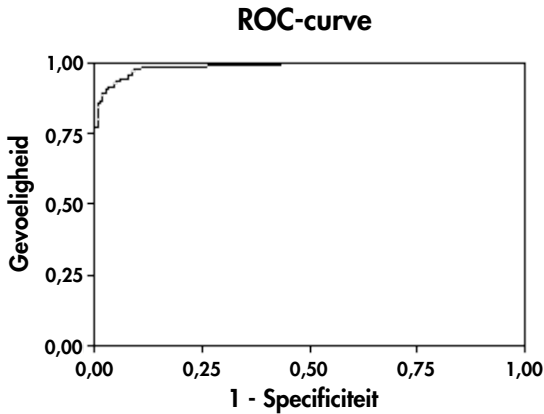
Het overzicht van de veiligheid en prestaties is te vinden op de website van EUDAMED.

Prestatiekenmerken assay

Analyseprestaties

Grenswaarde van assay

De grenswaarde voor de QFT-Plus-assay werd bepaald met gegevens van 216 patiënten zonder vastgestelde risicofactoren voor TB-blootstelling, die waren gevaccineerd met BCG en waarvan werd aangenomen dat ze vrij waren van infectie; en 118 patiënten met infectie van *M. tuberculosis* zoals bevestigd door kweek. De gevoeligheids- en specificiteitgegevens werden gecombineerd en geanalyseerd aan de hand van een ROC-curveanalyse. Uit de gevoeligheids- en specificiteitsgegevens die zijn geanalyseerd aan de hand van de ROC-analyse bleek dat de optimale ELISA-grenswaarde 0,35 IE/ml bedroeg (zie afbeelding 8).



Afbeelding 8. ROC-curve voor de reacties van ESAT-6 en CFP-10.

Tabel 13. Gevoeligheids- en specificiteitswaarden voor ELISA bij verschillende grenswaarden

Grenswaarde IE/ml IFN- γ	Gevoeligheid %	95%-BI	Specificiteit %	95%-BI	Gevoeligheid + Specificiteit
0,20	91,53	84,97% tot 95,86%	96,31	92,87% tot 98,40%	187,84
0,23	91,53	84,97% tot 95,86%	96,77	93,47% tot 98,69%	188,30
0,26	90,68	83,93% tot 95,25%	96,77	93,47% tot 98,69%	187,45
0,28	90,68	83,93% tot 95,25%	97,24	94,08% tot 98,98%	187,92
0,30	89,83	82,91% tot 94,63%	97,24	94,08% tot 98,98%	187,07
0,31	88,98	81,90% tot 94,00%	97,24	94,08% tot 98,98%	186,22
0,33	88,98	81,90% tot 94,00%	97,70	94,71% tot 99,25%	186,68
0,35	88,98	81,90% tot 94,00%	98,16	95,35% tot 99,50%	187,14
0,39	88,14	80,90% tot 93,36%	98,16	95,35% tot 99,50%	186,3
0,42	87,29	79,90% tot 92,71%	98,16	95,35% tot 99,50%	185,45
0,43	86,44	78,92% tot 92,05%	98,16	95,35% tot 99,50%	184,6
0,45	86,44	78,92% tot 92,05%	98,62	96,01% tot 99,71%	185,06

Tabel wordt vervolgd op de volgende pagina

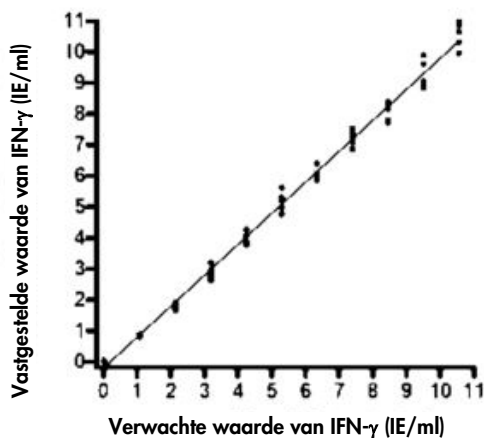
Vervolg tabel van vorige pagina

Tabel 13. Gevoeligheids- en specificiteitswaarden voor ELISA bij verschillende grenswaarden

Grenswaarde IE/ml IFN- γ	Gevoeligheid %	95%-BI	Specificiteit %	95% BI	Gevoeligheid + specificiteit
0,47	85,59	77,94% tot 91,38%	99,08	96,71% tot 99,89%	184,67
0,48	84,75	76,97% tot 90,70%	99,08	96,71% tot 99,89%	183,83
0,50	83,90	76,00% tot 90,02%	99,08	96,71% tot 99,89%	182,98

Lineariteit

Er is aangetoond dat de QFT-Plus ELISA lineair is door 5 replicaten uit 11 plasmagroepen van bekende IFN- γ -concentraties willekeurig over de ELISA-plaat te verdelen. De lineaire regressielijn heeft een helling van $1,002 \pm 0,011$ en een correlatiecoëfficiënt van 0,99 (afbeelding 9).



Afbeelding 9. Illustratie van regressieanalyse uit het lineariteitsonderzoek: Gemiddelde hoge pool = $-0,24 + 0,9964 \cdot \text{Verwacht}$.

Reproduceerbaarheid

Er vond een reproduceerbaarheidsonderzoek plaats in meerdere centra, om prestaties van QFT-Plus tussen verschillende onderzoekscentra met verschillende gebruikers te evalueren. Het betrof een prospectief onderzoek dat op drie externe testlocaties en één verzamellocatie werd uitgevoerd. In totaal namen 32 positieve en 34 negatieve (zoals bepaald door de QFT-test) patiënten deel. De deelnemers waren zorgverleners in de Verenigde Staten. De deelnemers aan het onderzoek vertegenwoordigden groepen met gemengd risico op TB-blootstelling, wegens hun beroep of omdat het ging om in het buitenland geboren zorgverleners die afkomstig waren van een plaats met een TB-grad van meer dan 50/100.000.

Er zijn drie bloedafnamebuisjes met lithiumheparine verkregen van elke onderzoeksdeelnemer op de verzamellocatie. De lithiumheparine-buisjes werden dan overgebracht naar de drie testlocaties, waar ze werden verdeeld over twee sets van QFT-Plus Blood Collection Tubes (QFT-Plus TB1, TB2, Mitogen en Nil) en dan getest volgens de procedure van de QFT-Plus-assay. Op elke locatie voerden minstens twee gebruikers de twee tests per deelnemer op onafhankelijke wijze uit. Elke gebruiker was niet op de hoogte (geblindeerd) van de resultaten die door de andere gebruiker zijn verkregen en was onbekend met het QFT-testresultaat van de onderzoeksdeelnemer.

Er zijn zes resultaten gegenereerd bij alle drie de testlocaties per elk van de 66 onderzoeksdeelnemers, met als resultaat een totaal van 396 datapunten. Een overzicht van de samengevatte reproduceerbaarheidsresultaten zijn weergegeven in tabel 14.

Tabel 14. Overzicht onderzoeksresultaten reproduceerbaarheid: binnen overeengekomen onderzoekspercentage van kwalitatieve resultaten tussen gebruikers; N = 66 patiëntmonsters

Locatie 1 – 2 gebruikers	Locatie 2 – 2 gebruikers	Locatie 3 – 3 gebruikers
64/66 = 96,97%	64/66 = 96,97%	59/66 = 89,39%
Overeenkomst van kwalitatieve resultaten van buisset 1 en buisset 2	Overeenkomst van kwalitatieve resultaten van buisset 1 en buisset 2	Overeenkomst van kwalitatieve resultaten van buisset 1 en buisset 2

Het percentage kwalitatieve overeenstemming over alle onderzoekslocaties bedraagt 94,7% (375/396). In deze berekening omvat het totale aantal overeenstemmende testresultaten (375) de gevallen waarin er een overeenstemming is van alle 6 de resultaten, overeenstemming 5 van 6 resultaten, overeenstemming 4 van 6 resultaten en overeenstemming 3 van 6 resultaten gecombineerd.

Herhaalbaarheid tussen partijen

Er is een onderzoek uitgevoerd om de variabiliteit tussen partijen vast te stellen voor QFT-Plus Blood Collection Tubes in vergelijking met de QFT-buisjes. In totaal werden 30 personen (15 bevestigde TB-positieve en 15 bevestigde TB-negatieve, zoals bepaald door de QFT-test) personen getest. Drie afzonderlijke partijen met elk van de QFT-Plus TB1, TB2 en QFT TB Blood Collection Tubes zijn gebruikt voor dit onderzoek. Drie replicaten per donor per partij bloedafnamebuisjes zijn getest. Nil- en Mitogen-buisjes zijn getest met elk één replicaat.

Er is bloed van elk proefpersoon verzameld in bloedafnamebuisjes met lithiumheparine. Vervolgens is 1 ml bloed overgedragen aan elk van de QFT- en QFT Blood Collection Tubes en getest volgens de assayprocedure. Voor elke groep van positieve en negatieve monsters mag de totale variantie van de resultaten voor de QFT-Plus-buisjes niet significant groter zijn dan de totale variantie van de resultaten voor QFT-buisjes. Dit werd bepaald uit de p-waarde die het resultaat was van de HOV-test (homogeniteit van variantie) van Levene. Indien de p-waarde niet significant was ($p > 0,05$) en/of de variatie van de QFT-Plus TB-buisjes was lager dan die van het QFT TB-buisje, dan was er variantie tussen de QFT-Plus- en QFT TB-buisjes.

Tabel 15. Vergelijking van varianties tussen QFT-Plus en QFT TB Blood Collection Tubes met behulp van de HOV-test van Levene

Monstertype	Vershil	Effect	Afhankelijk	P-waarde	Significant
Positief	TB2 vs QFT	Sub_Type	Residueel	0,0378	Yes (Ja)
Positief	TB2 vs QFT	Sub_Type	Residueel	0,0540	No (Nee)
Negatief	TB2 vs QFT	Sub_Type	Residueel	0,1025	No (Nee)
Negatief	TB2 vs QFT	Sub_Type	Residueel	0,6344	No (Nee)

De variatie tussen de QFT-Plus en QFT TB Blood Collection Tubes was niet significant, met uitzondering van het QFT-Plus TB2-buisje wanneer getest met positieve patiënten. Wanneer de schatting van de standaardafwijking werd geanalyseerd, was de variatie waargenomen in het QFT-Plus TB2-buisje kleiner (0,06089) dan in het QFT TB-buisje (0,07641), zoals getoond in tabel 16. Daarom was de variantie van de QFT-Plus TB1 en TB2 Blood Collection Tubes niet groter dan de QFT TB Blood Collection Tube.

Tabel 16. Standaardafwijking voor Residueel en 95% betrouwbaarheidsinterval voor positieve patiënten

Monstertype	Subtype	Standaardafwijking (Standard Deviation) Schatting	95% LCL	95% UCL
Positief	QFT	0,07641	0,06826	0,08680
Positief	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Positief	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

Herhaalbaarheid binnen een partij

Er vond een onderzoek plaats om de reproduceerbaarheid binnen een partij van de QFT-Plus Blood Collection Tubes te evalueren, door vergelijking van de IFN- γ concentratie van replicaat van QFT-Plus TB Blood Collection Tubes met bloed.

Zes aliquots van één bloedmonster van dezelfde patiënten met een bevestigde TB-infectie werden verwerkt in 6 herhaalde bloedafnamebuisjes van eenzelfde partij elk van beide QFT-Plus-buisjes (TB1 en TB2). 13 patiënten werden getest. De %CV werd berekend voor elke donor en voor alle donoren samen om een gemiddelde %CV te genereren, zoals getoond in tabel 17.

Tabel 17. De %CV voor gemiddelde, standaardafwijking, minimum, mediaan en maximum in elk QFT-Plus TB Blood Collection Tube bij TB-positieve patiënten

QFT-Plus-Buis	Monstergrootte	Gemiddelde(%CV)	Standaardafwijking	Minimum	Mediaan	Maximum
TB1	13	13,31	6,88	4,17	12,87	29,56
TB2	13	13,04	7,48	4,86	10,75	29,44

De resultaten toonden dat de gemiddelde %CV voor TB1 en TB2 ~13% was, hetgeen voldoet aan de acceptatiecriteria van $\leq 30\%$ en de herhaalbaarheid binnen een partij bewijst.

Blancolimiet (Limit of Blank, LoB)

De blancolimiet (Limit of Blank, LoB) is beoordeeld voor de QFT-Plus-assay. Twee replicaten van elk 14 afzonderlijke normale menselijke plasmamonsters (als de blanco's) zijn getest met twee partijen van de QFT-Plus ELISA door drie gebruikers of drie testdagen, één gebruiker per testdag voor een totaal van 84 replicaten van elke ELISA kitpartij.

De LoB-waarden (IE/ml) voor de twee ELISA kitpartijen zijn afzonderlijk berekend zoals weergegeven in Table 18.

Tabel 18. LoB-waarden (IE/ml) voor de twee QFT-Plus ELISA kitpartijen

QFT-Plus ELISA Kit	Geschatte LoB (IE/ml)
Kit 1	0,030
Kit 2	0,040

De hogere LoB-waarde, 0,040 IE/ml, voor beide QFT-Plus ELISA Kits, is gerapporteerd als de definitieve LoB-waarde.

Detectielimiet (Limit of Detection, LoD)

De detectielimiet (Limit of Detection, LoD) is beoordeeld voor de QFT-Plus-assay. Er is een TB-negatieve menselijke plasmagroep gegenereerd door 14 afzonderlijke plasmamonsters te combineren. Elk van de drie gebruikers bereidde een voorraad IFN- γ -standaard ter referentie voor met 1,0 IE/ml verdund in buffer. Er zijn verdunningsreeksen van 8 concentraties gemaakt. Het onderzoek is uitgevoerd gedurende 3 dagen, door 3 afwisselende gebruikers met 2 QFT-Plus ELISA Kits. Op elke testdag zijn er 5 replicaten getest van elke concentratie binnen elke reeks van de seriële verdunningsreeksen, voor een totaal van 45 replicaten voor elke verdunning van IFN- γ -concentratie voor elke QFT-Plus ELISA Kit.

De LoD-waarde voor elk van de geteste QFT-Plus ELISA Kits is afzonderlijk berekend zoals weergegeven in Tabel 19.

Tabel 19. Geschatte LoD-waarden (IE/ml) voor de twee QFT-Plus ELISA kitpartijen

QFT-Plus ELISA Kit	Waarschijnlijkheid	Geschatte concentratie (IE/ml)	Onderste 95%-betrouwbaarheidslimiet voor schatting	Bovenste 95%-betrouwbaarheidslimiet voor schatting
Kit 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Kit2	0,95	0,065	0,060	0,073

De hogere LoD-waarde berekend voor beide QFT-Plus ELISA Kits, 0,065 IE/ml, is gerapporteerd als de definitieve LoD-waarde.

Stoffen met een verstorende werking

Er is een onderzoek uitgevoerd om de effecten van mogelijke stoffen met een verstorende werking op de prestaties van de QFT-Plus ELISA-detectie van IFN- γ vast te stellen. De interfererende stoffen gebruikt voor deze test zijn: triglyceriden (totaal), hemoglobine, eiwit (totaal serum), bilirubine (geconjugerd), bilirubine (onconjugerd), Abacavirsulfaat, Cyclosporine en Prednisolon. Vijf plasmagroepen waarvan de concentraties IFN- γ bekend waren, zijn voorbereid met behulp van verschillende concentraties interfererende stoffen. De waarde van de basisgroep IFN- γ is vooraf voorbereid met een vooraf vastgestelde hoeveelheid IFN- γ (ongeveer 0,21, 0,45 en 1,4 IE/ml). De groep is vervolgens gebruikt om de groepen met interfererende stoffen voor te bereiden. De geteste concentraties interfererende stoffen waren 0 mg/dl, 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl en 20 mg/dl. De doelconcentraties interfererende stoffen zijn gebaseerd op referentie-intervallen, pathologische waarden, therapeutische bereiken en giftigheidsbereiken of zoals aanbevolen door leveranciers of algemene klinische waarden. Zes replicaten zijn getest voor elke monsterconcentratiewaarde interfererende stoffen.

Voor elke monsterconcentratie is een t-test met twee monsters uitgevoerd, waarbij het verschil in gemiddelde log₁₀ (IE/ml) van de primaire waarde interfererende stof is vergeleken met de controle (m.a.w. waarde zonder interfererende stof) zoals weergegeven in tabel 20 en tabel 21. Het geschatte verschil in gemiddelde respons, samen met de overeenstemmende tweedelige 95%-betrouwbaarheidslimieten en p-waarde is tevens gerapporteerd.

Tabel 20. Log10 IE/ml: Tabel met overzicht t-test voor verschillen in gemiddelden tussen controle en primaire waarde interfererende stof voor elke interfererende stof en γ concentratiewaarde IFN

Interfererende stof	Waarde interfererende stof	Monsterconcentratie (IE/ml)	Varianties	Gemiddeld verschil	Ondergrens 95%-BI	Bovengrens 95%-BI	P-waarde	Geslaagd
Triglyceriden	Hoog	1,4	Gelijk	0,019	-0,040	0,077	0,491	Yes (Ja)
		0,45	Gelijk	0,004	-0,022	0,030	0,732	Yes (Ja)
		0,21	Gelijk	0,006	-0,035	0,047	0,759	Yes (Ja)
Hemoglobine	Hoog	1,4	Gelijk	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Yes (Ja)
		0,45	Gelijk	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Yes (Ja)
		0,21	Gelijk	0,000	-0,034	0,035	0,980	Yes (Ja)
Eiwit	Hoog	1,4	Gelijk	0,004	-0,034	0,042	0,836	Yes (Ja)
		0,45	Gelijk	0,001	-0,38	0,040	0,962	Yes (Ja)
		0,21	Gelijk	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Yes (Ja)
Bilirubine geconjugeerd	Hoog	1,4	Gelijk	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Yes (Ja)
		0,45	Gelijk	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Yes (Ja)
		0,21	Gelijk	-0,014	0,074	0,046	0,625	Yes (Ja)
Bilirubine ongeconjugeerd	Hoog	1,4	Gelijk	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Yes (Ja)
		0,45	Gelijk	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Yes (Ja)
		0,21	Gelijk	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Yes (Ja)
Abacavir	Hoog	1,4	Gelijk	0,008	-0,025	0,041	0,601	Yes (Ja)
		0,45	Gelijk	0,012	-0,019	0,044	0,412	Yes (Ja)
		0,21	Gelijk	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Yes (Ja)

Tabel wordt vervolgd op de volgende pagina

Vervolg tabel van vorige pagina

Tabel 20. Log₁₀ IE/ml: Tabel met overzicht t-test voor verschillen in gemiddelden tussen controle en primaire waarde interfererende stof voor elke interfererende stof en concentratiewaarde IFN- γ

Interfererende stof	Waarde interfererende stof	Monsterconcentratie (IE/ml)	Varianties	Gemiddeld verschil	Ondergrens 95%-BI	Bovengrens 95%-BI	P-waarde	Geslaagd
Cyclosporine	Hoog	1,4	Gelijk	0,014	-0,020	0,047	0,383	Yes (Ja)
		0,45	Gelijk	0,005	-0,035	0,045	0,773	Yes (Ja)
		0,21	Gelijk	0,024	-0,008	0,056	0,131	Yes (Ja)
Prednisolon	Hoog	1,4	Gelijk	0,017	-0,017	0,050	0,293	Yes (Ja)
		0,45	Gelijk	0,000	-0,036	0,036	0,979	Yes (Ja)
		0,21	Gelijk	0,015	-0,035	0,065	0,524	Yes (Ja)

Tabel 21. Log10 IE/ml: Tabel met overzicht t-test voor verschillen in gemiddelden tussen controle en hoge waarde interfererende stof voor elke interfererende stof en γ concentratiewaarde IFN

Interfererende stof	Waarde interfererende stof	Monsterconcentratie (IE/ml)	Variaties	Gemiddeld verschil	Ondergrens 95%-BI	Bovengrens 95%-BI	P-waarde	Geslaagd
Triglyceriden	Hoog	1,4	Gelijk	0,053	-0,004	0,110	0,063	Yes (Ja)
		0,45	Gelijk	0,039	-0,021	0,058	< 0,001	Yes (Ja)
		0,21	Gelijk	0,034	-0,002	0,071	0,061	Yes (Ja)
Hemoglobine	Hoog	1,4	Gelijk	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Yes (Ja)
		0,45	Gelijk	0,016	-0,007	0,040	0,152	Yes (Ja)
		0,21	Gelijk	0,014	-0,030	0,059	0,489	Yes (Ja)
Eiwit	Hoog	1,4	Gelijk	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Yes (Ja)
		0,45	Gelijk	0,000	-0,046	0,046	0,992	Yes (Ja)
		0,21	Gelijk	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Yes (Ja)
Bilirubine geconjugeerd	Hoog	1,4	Gelijk	0,001	-0,046	0,048	0,961	Yes (Ja)
		0,45	Gelijk	0,012	-0,043	0,067	0,639	Yes (Ja)
		0,21	Gelijk	0,015	-0,044	0,074	0,586	Yes (Ja)
Bilirubine ongeconjugeerd	Hoog	1,4	Gelijk	0,015	-0,011	0,042	0,231	Yes (Ja)
		0,45	Gelijk	0,015	-0,023	0,052	0,411	Yes (Ja)
		0,21	Gelijk	0,012	-0,033	0,057	0,566	Yes (Ja)
Abacavir	Hoog	1,4	Gelijk	0,013	-0,015	0,040	0,322	Yes (Ja)
		0,45	Gelijk	0,015	-0,014	0,044	0,283	Yes (Ja)
		0,21	Gelijk	0,008	-0,034	0,050	0,677	Yes (Ja)

Tabel wordt vervolgd op de volgende pagina

Vervolg tabel van vorige pagina

Tabel 21. Log10 IE/ml: Tabel met overzicht t-test voor verschillen in gemiddelden tussen controle en hoge waarde interfererende stof voor elke interfererende stof en concentratiewaarde IFN- γ

Interfererende stof	Waarde interfererende stof	Monsterconcentratie (IE/ml)	Variaties	Gemiddeld verschil	Ondergrens 95%-BI	Bovengrens 95%-BI	P-waarde	Geslaagd
Cyclosporine	Hoog	1,4	Gelijk	0,002	-0,019	0,024	0,816	Yes (Ja)
		0,45	Gelijk	0,007	-0,030	0,043	0,682	Yes (Ja)
		0,21	Gelijk	0,015	-0,007	0,038	0,155	Yes (Ja)
Prednisolon	Hoog	1,4	Gelijk	0,007	-0,016	0,030	0,518	Yes (Ja)
		0,45	Gelijk	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Yes (Ja)
		0,21	Gelijk	0,021	-0,025	0,068	0,334	Yes (Ja)

De resultaten toonden geen significante verschillen tussen de primaire interferentiewaarde en de controle (waarde zonder interfererende stof) en voor de hoge waarde interfererende stof, behalve voor de concentratiewaarde Triglyceride 0,45 IE/ml. Van het gemiddelde verschil is vastgesteld dat het tussen het bereik van de standaardafwijking van ± 2 ligt. Dit demonstreert dat het verschil binnen de verwachte variabiliteit van de assay ligt en dat Triglyceride geen storende werking heeft gehad op de QFT-Plus ELISA.

Afvoer

Houd u aan de relevante richtlijnen voor verwerking. Werp monsters en materialen die in contact zijn gekomen met bloed of bloedproducten weg volgens de plaatselijke of nationale regelgeving.

Referenties

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.

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.

Probleemoplossingsgids

Dit gedeelte kan nuttig zijn bij het oplossen van eventuele problemen. Ga voor technische ondersteuning en meer informatie naar ons centrum voor technische ondersteuning op www.qiagen.com/Support (kijk voor contactgegevens op www.qiagen.com).

Opmerkingen en suggesties

Problemen met ELISA oplossen

Niet-specifieke kleurreactie

- | | |
|--|---|
| a) Onvolledige spoeling van de plaat | Spoel de plaat minstens 6 maal met 400 µl wasbuffer per putje. Er kunnen meer dan 6 spoelcycli nodig zijn, afhankelijk van de gebruikte spoeler. Er dient een inweektijd van minstens 5 seconden tussen de cycli te worden aangehouden. |
| b) Kruisbesmetting van ELISA-putjes | Wees voorzichtig bij pipetteren en mengen van het monster om risico's te minimaliseren. |
| c) Kit/onderdelen over de vervaldatum | Zorg dat de kit vóór de vervaldatum wordt gebruikt. Zorg dat gereconstitueerde standaard en conjugaatconcentraat 100x binnen drie maanden na de reconstitutedatum worden gebruikt. |
| d) Enzym-substraatoplossing is verontreinigd | Gooi het substraat weg indien blauwkleuring optreedt. Zorg voor schone reservoirs voor de reagentia. |
| e) Plasma in QFT-Plus Blood Collection Tubes is gemengd voordat het is verzameld | Na het centrifugeren en voorafgaand aan het verzamelen moet op en neer bewegen van de pipet of mengen van het plasma te allen tijde worden vermeden. Zorg er altijd voor dat het materiaal aan het oppervlak van de gel niet wordt verstoord. |

Opmerkingen en suggesties

Aflezingen van lage optische dichtheden voor standaarden

- | | |
|---|--|
| a) Fout met standaardverdunding | Zorg dat de verdunningen van de kitstandaard volgens deze gebruikshandleiding worden gemaakt. |
| b) Pipetteerfout | Zorg dat pipetten worden gekalibreerd conform de instructies van de fabrikant. |
| c) Te lage incubatietemperatuur | Incubatie van de ELISA moet worden uitgevoerd bij kamertemperatuur (22 ± 5 °C). |
| d) Te korte incubatietijd | De incubatietijd van de plaat met het conjugaat, de standaarden en monsters bedraagt 120 ± 5 minuten. De enzymsubstraatoplossing moet gedurende 30 minuten op de plaat worden geïncubeerd. |
| e) Verkeerd filter voor plaatlezer gebruikt | De plaat moet bij 450 nm worden afgelezen met een referentiefilter tussen 620 en 650 nm. |
| f) Reagentia zijn te koud | Alle reagentia, met uitzondering van het conjugaatconcentraat 100x moeten voor het begin van de assay op kamertemperatuur worden gebracht. Dit duurt ongeveer 1 uur. |
| g) Kit/onderdelen over de vervaldatum | Zorg dat de kit vóór de vervaldatum wordt gebruikt. Zorg dat de gereconstitueerde standaard en conjugaatconcentraat 100x binnen 3 maanden na de reconstitutedatum worden gebruikt. |

Sterke achtergrondkleuring

- | | |
|--------------------------------------|---|
| a) Onvolledige spoeling van de plaat | Spoel de plaat minstens 6 maal met 400 µl wasbuffer per putje. Er zijn mogelijk meer dan zes spoelcycli vereist. Er dient een inweektijd van minstens 5 seconden tussen de cycli te worden aangehouden. |
|--------------------------------------|---|

Opmerkingen en suggesties

- | | |
|--|--|
| b) Te hoge incubatietemperatuur | Incubatie van de ELISA moet worden uitgevoerd bij kamertemperatuur (22 ± 5 °C). |
| c) Kit/onderdelen over de vervaldatum | Zorg dat de kit binnen de vervaldatum wordt gebruikt. Zorg dat gereconstitueerde standaard en conjugaatconcentraat 100x binnen drie maanden na de reconstitutedatum worden gebruikt. |
| d) Enzym-substraatoplossing is verontreinigd | Gooi het substraat weg indien blauwkleuring optreedt. Zorg voor schone reservoirs voor de reagentia. |

Niet-lineaire standaardcurve en dubbele variabiliteit

- | | |
|--|---|
| a) Onvolledige spoeling van de plaat | Spoel de plaat minstens 6 maal met 400 µl wasbuffer per putje. Er zijn mogelijk meer dan zes spoelcycli vereist. Er dient een inweektijd van minstens 5 seconden tussen de cycli te worden aangehouden. |
| b) Fout met standaardverdunding | Zorg dat de verdunningen van de standaard volgens deze gebruikshandleiding worden gemaakt. |
| c) Slecht mengen | Meng de reagentia grondig door ze meermaals om te keren of licht te schudden voordat ze op de plaat worden aangebracht. |
| d) Inconsistente pipetteertechniek of onderbreking tijdens het opzetten van de assay | Het toevoegen van monsters en standaarden moet op constante wijze gebeuren. Alle reagentia moeten worden voorbereid voorafgaand aan het begin van de assay. |

Symbolen

De volgende symbolen worden in de gebruiksaanwijzing of op de verpakking en etiketten weergegeven:

Symbol

Symbooldefinitie



<N>

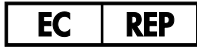
Bevat voldoende reagentia voor <N> reacties



Uiterste gebruiksdatum



Dit product voldoet aan de vereisten van de Europese regelgeving 2017/746 inzake in-vitrodiagnostische medische hulpmiddelen.



Geautoriseerde vertegenwoordiger in de Europese Gemeenschap/Europese Unie



In-vitrodiagnostisch medisch hulpmiddel



Catalogusnummer



Partijnummer



Materiaalnummer (m.b.t. labeling van componenten)



Bestanddelen



Bevat



Nummer



Global Trade Item Number (Artikelnummer wereldhandel)

Rn

'R' staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing; 'n' is het revisienummer

Symbol

Symboldefinitie



Temperatuurbepering



Fabrikant



Raadpleeg de gebruiksaanwijzing



Bescherm tegen licht



Waarschuwing/voorzichtig of voorzorgsmaatregelen, raadpleeg de meegeleverde documentatie

An in vitro diagnostic test using a peptide cocktail simulating ESAT-6 and CFP-10 proteins to stimulate cells in heparinized whole blood.

Een diagnostische in-vitrotest waarbij gebruik wordt gemaakt van een peptidecocktail die de proteïnen ESAT-6 en CFP-10 simuleert en cellen in gehepariniseerd volbloed stimuleert



Bevat biologisch materiaal van dierlijke oorsprong



Bevat biologisch materiaal van menselijke oorsprong

Symbool

Symbooldefinitie

UDI

Uniek hulpmiddel-identificatienummer

tartrazine

Bevat tartrazine

sulfuric acid

Bevat zwavelzuur

Bijlage A: Technische informatie

Onbepaalde resultaten

Onbepaalde resultaten komen slechts zelden voor en kunnen verband houden met de immuniteitsstatus van de geteste proefpersoon (5) maar kunnen ook met enkele technische factoren (bijv. onjuiste hantering/opslag van bloedafnamebuisjes, onvolledige ELISA-plaatspoeling) als de bovenstaande instructies voor gebruik niet worden gevolgd.

Indien technische problemen worden vermoed bij het bewaren van reagentia of het afnemen of verwerken van de bloedmonsters, dient de gehele QFT-Plus-test te worden herhaald met nieuwe bloedspecimens. Herhaling van de ELISA-test van gestimuleerde plasma's kan worden uitgevoerd als onvoldoende spoeling of andere procedurele afwijkingen van de ELISA-test worden vermoed. Artsen kunnen ervoor kiezen opnieuw een monster af te nemen of andere procedures uit te voeren, naargelang passend is.

Gestolde plasmamonsters

Indien bij een langduriger opslag van de plasmamonsters fibrinestolsels optreden, moeten de monsters worden gecentrifugeerd totdat sedimentatie heeft plaatsgevonden. Dit vereenvoudigt het pipetteren van plasma.

Lipoedeemplasmamonsters

Wees voorzichtig bij het pipetteren van lipoedeemonsters gezien vethopen pipetpunten kunnen verstopen.

Bijlage B: Verkorte ELISA-testprocedure

1. Laat de ELISA-onderdelen, met uitzondering van het conjugaatconcentraat 100x, minstens 60 minuten op kamertemperatuur komen.



2. Reconstitueer de kitstandaard naar 8,0 IE/ml met gedestilleerd of gedeïoniseerd water. Bereid vier (4) standaardverduunningen voor.

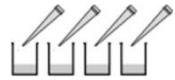


3. Reconstitueer gevriesdroogd conjugaatconcentraat 100x met gedestilleerd of gedeïoniseerd water.

4. Bereid gebruiksklare conjugaat in groene verdunningsoplossing voor en voeg 50 µl aan alle putjes toe.



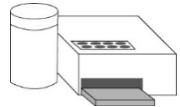
5. Voeg 50 µl testplasmamonsters en 50 µl standaard aan de betreffende putjes toe. Meng met behulp van de schudder.



6. Incubeer gedurende 120 minuten op kamertemperatuur.



7. Spoel de putjes minstens 6 maal met 400 µl wasbuffer per putje.



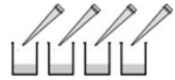
8. Voeg 100 µl enzymsubstraatoplossing aan alle putjes toe. Meng met behulp van de schudder.



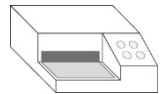
9. Incubeer gedurende 30 minuten op kamertemperatuur.



10. Voeg 50 μ l enzymremmingsoplossing aan alle putjes toe. Meng met behulp van de schudder.



11. Lees de resultaten af bij 450 nm met een referentiefilter van 620 tot 650 nm



12. Analyseer de resultaten.



Bestelgegevens

Product	Inhoud	Cat.nr.
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit	ELISA-kit met 2 platen	622120
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Reference Lab Pack	ELISA-kit met 20 platen	622822
Related products		
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes	200 buisjes (50 van elk Nil, TB1, TB2 en Mitogen)	622526
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 buisjes (25 van elk Nil, TB1, TB2 en Mitogen)	622423
QuantiFERON-TB Gold Plus Single Patient Pack	40 buisjes (1 van elk Nil, TB1, TB2 en Mitogen/verpakking), verpakking van 10	622222
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes	200 buisjes (50 van elk Nil, TB1, TB2 en Mitogen)	623526
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 buisjes (50 van elk Nil, TB1, TB2 en Mitogen)	623423
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Single Patient Pack	40 buisjes (1 van elk Nil, TB1, TB2 en Mitogen/verpakking), verpakking van 10	623222

Raadpleeg voor bijgewerkte licentie-informatie en productspecifieke disclaimers de desbetreffende gebruiksaanwijzingen van de QIAGEN-kit. De gebruiksaanwijzingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via www.qiagen.com of kunnen worden aangevraagd bij de technische diensten van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Revisiegeschiedenis van document

Datum	Wijzigingen
R2, juni 2021	Opname informatie over verpakking voor één patiënt Herziening tabellen 10 en 11 voor onderscheid gegevens QFT-GIT vs. QFT-Plus Bijwerking gedeelte over Beschrijving en principe, om informatie over de testpopulatie en het meetbereik toe te voegen Toevoeging tabel 9 met gegevens over waarschijnlijkheidsverhouding van QFT-Plus
R3, oktober 2021	Catalogusnummer teruggezet naar de originele catalogusnummers Toegevoegde vermelding over eenmalig gebruik toegevoegd voor strips voor microplaat in kit
R4, maart 2023	Formaatwijzigingen

Deze pagina is met opzet leeg gelaten

Overeenkomst voor beperkte licentie voor QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit

Door dit product te gebruiken verklaart de koper of gebruiker zich akkoord met de volgende voorwaarden:

1. Het product mag uitsluitend worden gebruikt in overeenstemming met de protocollen die bij het product en deze gebruiksaanwijzing zijn meegeleverd, en mag alleen worden gebruikt met onderdelen die zich in de panel bevinden. QIAGEN geeft onder haar intellectuele eigendom geen licentie om de bijgesloten onderdelen van deze panel te gebruiken of samen te stellen met onderdelen die niet bij de panel zijn meegeleverd, behalve zoals beschreven in de protocollen die bij het product en deze gebruiksaanwijzing zijn meegeleverd, en in aanvullende protocollen die beschikbaar zijn op www.qiagen.com. Enkele van deze aanvullende protocollen zijn door QIAGEN-gebruikers beschikbaar gesteld voor QIAGEN-gebruikers. Deze protocollen zijn niet uitgebreid door QIAGEN getest of geoptimaliseerd. QIAGEN garandeert deze protocollen niet en kan evenmin waarborgen dat ze geen rechten van derden schenden.
2. Anders dan uitdrukkelijk gesteld in licenties, garandeert QIAGEN niet dat dit paneel en/of het gebruik ervan geen rechten van derden schenden.
3. Dit paneel en de onderdelen ervan worden in licentie gegeven voor eenmalig gebruik en mogen niet worden hergebruikt, opgeknapt of doorverkocht.
4. QIAGEN doet in het bijzonder afstand van enige andere licenties die worden genoemd of geïmpliceerd, anders dan de uitdrukkelijk gestelde.
5. De koper en gebruiker van het paneel gaan ermee akkoord dat zij geen stappen ondernemen en niemand anders toestaan stappen te ondernemen die tot bovenstaande verboden handelingen kunnen leiden of deze vergemakkelijken. QIAGEN mag de verbodsbepalingen in deze Beperkte licentieovereenkomst afdwingen bij de rechter en zal alle onderzoekskosten en gerechtelijke kosten, inclusief advocaatkosten, verhalen bij elke handeling om deze Beperkte licentieovereenkomst of een intellectueel eigendomsrecht in verband met het paneel en/of de onderdelen ervan af te dwingen.

Kijk op www.qiagen.com voor actuele licentievoorwaarden.

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (QIAGEN Group) Proclin®, Gedeponeerde namen, handelsmerken enz. die in dit document worden gebruikt, ook al zijn deze niet specifiek als zodanig aangeduid, mogen niet worden beschouwd als niet wettelijk beschermd.

03/2023 L1123669 1123669NL © 2023 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

Bestellen www.qiagen.com/shop | Technische ondersteuning support.qiagen.com |
Website www.qiagen.com