

Petunjuk Penggunaan QuantiFERON[®]-TB Gold Plus ELISA Kit



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Versi 1



Untuk Penggunaan Diagnostik In Vitro

Untuk penggunaan dengan QuantiFERON[®]-TB Gold Plus Blood
Collection Tubes



622120, 622822



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Jerman



1123669ID

Isi

Tujuan Penggunaan	5
Pengguna yang Dimaksudkan	5
Deskripsi dan Prinsip.....	6
Informasi patogen	6
Rangkuman dan penjelasan.....	7
Prinsip uji kadar	9
Bahan yang Disediakan	11
Isi kit.....	11
Komponen kit.....	12
Platform dan perangkat lunak	12
Materi yang Diperlukan, Tetapi Tidak Disediakan	13
Reagen tambahan	13
Bahan Habis Pakai.....	13
Peralatan.....	13
Peringatan dan Pencegahan	14
Informasi keselamatan	14
Informasi darurat.....	15
Tindakan pencegahan	16
Penyimpanan dan Penanganan Reagen	18
Stabilitas saat penggunaan	18
Reagen yang disusun kembali dan tidak digunakan	18
Penyimpanan dan Penanganan Spesimen	19

Protokol: Menjalankan ELISA.....	20
Hasil (Penghitungan)	26
Pembuatan kurva standar dan nilai sampel	26
Kontrol kualitas pengujian	28
Interpretasi Hasil.....	30
Batasan	32
Karakteristik Kinerja	33
Studi Klinis	33
Sensitivitas.....	35
Nilai yang diharapkan	43
Ringkasan Keselamatan dan Kinerja.....	49
Karakteristik Kinerja Uji Kadar	50
Kinerja analitik.....	50
Pembuangan.....	63
Referensi.....	64
Panduan Pemecahan Masalah	66
Simbol.....	69
Lampiran A: Informasi Teknis	72
Hasil yang tidak tentu	72
Sampel plasma membeku.....	72
Sampel plasma lipemik	72
Lampiran B: Ringkasan Prosedur Pengujian ELISA.....	73
Informasi Pemesanan	75
Riwayat Revisi Dokumen.....	77

Tujuan Penggunaan

Uji kadar QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus) adalah suatu pengujian diagnostik *in vitro* menggunakan koktail peptida yang meniru protein ESAT-6 dan CFP-10 untuk menstimulasi sel dalam darah utuh berheparin. Deteksi Interferon- γ (IFN- γ) melalui Uji Kadar Imunosorben Terangkai Enzim (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) digunakan untuk mengidentifikasi respons *in vitro* terhadap antigen peptida tersebut yang berhubungan dengan infeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

QFT-Plus adalah pengujian tidak langsung untuk infeksi *M. tuberculosis* (termasuk penyakit) dan ditujukan untuk digunakan bersama dengan penilaian risiko, radiografi, serta evaluasi medis dan diagnostik lainnya.

Pengguna yang Dimaksudkan

Kit ini ditujukan untuk penggunaan profesional.

Uji kadar QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) digunakan oleh personel terlatih dalam lingkungan laboratorium profesional.

Deskripsi dan Prinsip

Informasi patogen

Tuberkulosis adalah penyakit menular yang disebabkan oleh infeksi dengan organisme kompleks *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti*, and *M. caprae*), yang biasanya menyebar ke inang baru melalui butir halus yang dibawa udara dari pasien dengan penyakit tuberkulosis paru. Individu yang baru terinfeksi dapat merasa sakit akibat tuberkulosis selama beberapa minggu hingga bulan, tapi individu yang sudah terinfeksi parah tetap baik-baik saja. Infeksi tuberkulosis laten (Latent Tuberculosis Infection, LTBI), kondisi tanpa gejala yang tidak menular, bertahan dalam beberapa orang yang dapat terjangkit penyakit tuberkulosis beberapa bulan atau tahun kemudian. Tujuan utama mendiagnosis LTBI adalah untuk mempertimbangkan perawatan medis guna mencegah penyakit tuberkulosis. Selama lebih dari 100 tahun, pengujian kulit tuberkulin (Tuberculin Skin Test, TST) adalah satu-satunya metode yang tersedia untuk mendiagnosis LTBI (4). Kepekaan kulit terhadap tuberkulin berkembang sejak 2 sampai 10 minggu setelah infeksi. Namun, beberapa individu yang terinfeksi termasuk mereka dengan beragam kondisi yang menghalangi fungsi kekebalan, juga mereka tanpa kondisi ini, tidak merespons tuberkulin. Sebaliknya, beberapa individu yang cenderung tidak terinfeksi *M. tuberculosis* menunjukkan kepekaan terhadap tuberkulin dan memiliki hasil TST yang positif setelah vaksinasi menggunakan Bacille Calmette-Guérin (BCG) atau infeksi dengan mikobakteria selain kompleks *M. tuberculosis*, atau mengabaikan faktor lain.

LTBI harus dibedakan dari penyakit tuberkulosis, suatu kondisi yang dapat dilaporkan dan biasanya mencakup paru-paru dan sistem pernapasan, tapi dapat juga memengaruhi sistem organ lain. Penyakit tuberkulosis didiagnosis dari temuan historis, fisik, radiologis, dan mikrobiologi.

Rangkuman dan penjelasan

Pengujian QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) merupakan generasi keempat dalam teknologi pengujian QuantiFERON-TB yang mengakses respons berperantara sel melalui pengukuran kuantitatif IFN- γ dalam sampel darah utuh. QFT-Plus adalah pengujian kualitatif yang mengukur respons imunitas berperantara sel (Cell-Mediated Immune, CMI) terhadap antigen peptida yang meniru protein mikrobakteria. Protein ini, yaitu ESAT-6 dan CFP-10, tidak ditemukan di semua strain BCG dan di sebagian besar mikobakterium non-tuberkulosis, terkecuali *M. kansasii*, *M. szulgai*, dan *M. Marinum* (1). Individu yang terinfeksi organisme kompleks *M. tuberculosis* biasanya memiliki limfosit dalam darahnya yang mengenali organisme ini dan mikobakteria lainnya. Proses pengenalan ini melibatkan generasi dan sekresi sitokin, IFN- γ . Deteksi dan penghitungan IFN- γ yang berikutnya membentuk dasar pengujian.

Pengujian kulit tuberkulin dan pengujian IGRA sangat membantu tetapi tidak cukup untuk mendiagnosis infeksi *M. tuberculosis* kompleks pada pasien sakit – hasil positif dapat mendukung diagnosis tuberkulosis; akan tetapi, infeksi akibat mikobakteria lain (misalnya, *M. kansasii*) juga dapat menyebabkan hasil positif. Evaluasi medis dan diagnostik lainnya diperlukan untuk mengonfirmasi atau mengecualikan penyakit tuberkulosis.

Antigen yang digunakan dalam QFT-Plus adalah koktail peptida yang meniru protein ESAT-6 dan CFP-10. Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa antigen peptida ini menstimulasi respons IFN- γ dalam sel T dari individu yang terinfeksi *M. tuberculosis* namun secara umum bukan dari orang yang tidak terinfeksi atau yang sudah divaksin BCG tanpa penyakit atau risiko LTBI (1,2,6,9). Namun, perawatan medis atau kondisi yang mengganggu fungsi imunitas dapat berpotensi menurunkan respons IFN- γ . Pasien dengan infeksi mikobakteria tertentu lainnya mungkin juga akan responsif terhadap ESAT-6 dan CFP-10, karena gen yang mengkode protein ini ada dalam *M. kansasii*, *M. szulgai*, dan *M. marinum* (1, 3,7).

Populasi pengujian untuk pengujian QFT-Plus adalah pasien dengan tuberkulosis yang terkonfirmasi aktif secara klinis dan pasien dengan risiko infeksi tuberkulosis atau infeksi

tuberkulosis laten (latent tuberculosis infection, LTBI). Usia, jenis kelamin, atau batasan lain tidak berlaku.

Dalam infeksi Tuberkulosis mikobakteri (*Mycobacterium tuberculosis*, MTB), sel T CD4⁺ berperan penting dalam kontrol imunologis melalui sekresi sitokin IFN- γ . Saat ini terdapat bukti yang mendukung peran sel T CD8⁺ yang berpartisipasi dalam pertahanan inang terhadap MTB dengan memproduksi IFN- γ dan faktor larut lainnya, yang mengaktifkan makrofag untuk menekan pertumbuhan MTB, membunuh sel yang terinfeksi, atau secara langsung melisis intrasel MTB. IFN- γ menghasilkan sel CD8⁺ khusus MTB yang telah terdeteksi dalam subjek dengan LTBI dan dengan TB aktif. Bahkan limfosit T CD8⁺ khusus ESAT-6 dan CFP-10 dijelaskan lebih sering terdeteksi dalam subjek dengan penyakit TB aktif daripada LTBI dan mungkin berkaitan dengan paparan MTB terakhir (8,10-12). Selain itu, sel T CD8⁺ khusus MTB yang memproduksi IFN- γ juga terdeteksi pada subjek TB aktif dengan ko-infeksi HIV (13, 14) dan pada anak-anak dengan penyakit TB (15).

QFT-Plus memiliki dua tabung antigen TB: TB Antigen Tube 1 (TB1) dan TB Antigen Tube 2 (TB2). Kedua tabung berisi antigen peptida dari antigen terkait kompleks MTB, ESAT-6 dan CFP-10. Tabung TB1 dan TB2 berisi peptida dari ESAT-6 dan CFP-10 yang didesain untuk mendapatkan respons CMI dari limfosit T pembantu CD4⁺, sedangkan tabung TB2 berisi kumpulan tambahan peptida yang ditargetkan untuk menginduksi respons CMI dari limfosit T sitotoksik CD8⁺.

Faktor risiko infeksi *M. tuberculosis* meliputi prediktor epidemiologis, historis, atau medis untuk penyakit tuberkulosis atau paparan dengan tuberkulosis. Baca panduan WHO terbaru <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment> untuk rekomendasi detail tentang diagnosis infeksi (termasuk penyakit) *M. tuberculosis* dan memilih orang untuk pengujian (16). QFT-Plus telah diuji pada beberapa kelompok pasien yang diindikasikan untuk pemeriksaan infeksi TB sesuai dengan panduan WHO terbaru (16), termasuk: orang yang telah teruji positif virus imunodefisiensi manusia (HIV), kontak dengan pasien TB baru-baru ini dan residen dalam pengaturan massa tinggi yang telah terpapar dengan orang dewasa dengan risiko TB yang tinggi, (5).

Prinsip uji kadar

QFT-Plus adalah uji kadar kualitatif yang menggunakan Tabung Penampung Darah khusus, yang berisi antigen peptida yang meniru protein *M. tuberculosis*, yang digunakan untuk menampung darah utuh. Inkubasi darah terjadi di dalam tabung selama 16 sampai 24 jam, kemudian plasma dipanen dan diuji untuk keberadaan IFN- γ yang dihasilkan untuk merespons antigen peptida.

Pertama, darah utuh ditampung ke dalam setiap QFT-Plus Blood Collection Tubes, yang mencakup tabung Nil, TB1, TB2, dan Mitogen. Selain itu, darah dapat ditampung ke tabung penampung darah tunggal yang mengandung litium heparin atau natrium heparin sebagai antikoagulan, lalu dipindahkan ke QFT-Plus Blood Collection Tubes.

QFT-Plus Blood Collection Tubes diguncang untuk mencampur antigen dengan darah dan harus diinkubasi pada suhu $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ sesegera mungkin, dan dalam waktu 16 jam setelah pengambilan. Setelah periode inkubasi selama 16 sampai 24 jam, tabung disentrifugasi, plasma dikeluarkan dan jumlah IFN- γ (IU/ml) diukur dengan ELISA. QFT-Plus ELISA menggunakan standar IFN- γ manusia rekombinan, yang telah diuji kadarnya terhadap sediaan IFN- γ (Ref NIH: Gxg01-902-535). Hasil sampel pengujian dilaporkan dalam satuan Unit Internasional per ml (IU/ml) terhadap kurva standar yang disiapkan dengan menguji pengenceran standar yang disertakan bersama kit.

Antibodi heterofil (misalnya, manusia anti-tikus) dalam serum atau plasma pasien tertentu diketahui menyebabkan gangguan pada imunoasai. Pengaruh antibodi heterofil dalam QFT-Plus ELISA diperkecil dengan penambahan serum mencit normal ke Green Diluent dan penggunaan fragmen antibodi monoklonal F(ab')₂ karena IFN- γ menangkap antibodi yang dilampirkan ke sumuran mikroplat.

Uji kadar QFT-Plus dianggap positif untuk respons IFN- γ terhadap tabung antigen TB yang jauh di atas nilai Nil IFN- γ IU/ml. Sampel plasma dari tabung Mitogen berfungsi sebagai kontrol positif IFN- γ untuk setiap spesimen yang diuji. Respons rendah terhadap Mitogen (<0,5 SIU/ml) menunjukkan hasil yang tidak tentu saat suatu sampel darah juga memiliki respons negatif terhadap antigen TB. Pola ini dapat terjadi dengan limfosit yang tidak memadai, aktivitas limfosit yang berkurang karena penanganan spesimen yang tidak tepat, pengisian/pencampuran tabung Mitogen, atau ketidakmampuan limfosit pasien untuk menghasilkan IFN- γ . Kadar IFN- γ yang meningkat dalam sampel Nil dapat terjadi dengan adanya antibodi heterofil, atau untuk sekresi IFN- γ intrinsik. Tabung Nil menyesuaikan dengan latar belakang (misalnya, peningkatan kadar IFN- γ yang bersirkulasi atau keberadaan antibodi heterofil). Kadar IFN- γ pada tabung Nil dikurangi dari kadar IFN- γ untuk tabung antigen TB dan tabung Mitogen. Rentang pengukuran QFT-Plus ELISA adalah sampai 10 IU/ml.

Bahan yang Disediakan

Isi kit

Komponen ELISA No. katalog	Kit 2-pelat 622120	Paket Laboratorium Referensi 622822
Strip pelat mikro (12 x 8 sumuran) yang dilapisi antibodi monoklonal murin antimanusia IFN- γ	2 set 12 x 8 Microplate Strips	20 set 12 x 8 Microplate Strips
IFN- γ Standard (Standar IFN-) yang diliofilisasi (mengandung rekombinan manusia IFN- γ , kasein sapi, 0,01% w/v Thimerosal)	1 x vial (8 IU/ml saat disusun kembali)	10 x vial (8 IU/ml saat disusun kembali)
Green Diluent (Pengencer Hijau) (berisi kasein sapi, serum mencit normal, 0,01% w/v Thimerosal)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Konjugat Konsentrat 100x), diliofilisasi (HRP murin antimanusia IFN- γ , mengandung 0,01% Thimerosal)	1 x 0,3 ml (saat disusun kembali)	10 x 0,3 ml (saat disusun kembali)
Wash Buffer 20x Concentrate (Dapar Pencuci Konsentrat 20x) (pH 7,2, mengandung 0,05% v/v ProClin® 300)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Larutan Enzim Substrat) (mengandung H ₂ O ₂ , 3,3',5,5' Tetrametilbenzidin)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Larutan Penghenti Enzim) (mengandung 0,5 M H ₂ SO ₄)	1 x 15 ml	10 x 15 ml
<i>Petunjuk Penggunaan QuantiFERON TB-Gold Plus ELISA Kit</i>	1	1

Komponen kit

Kontrol dan kalibrasi

QFT-Plus ELISA menggunakan standar IFN- γ manusia rekombinan, yang telah diuji kadarnya terhadap sediaan IFN- γ (Ref NIH: Gxg01-902-535).

Platform dan perangkat lunak

QFT-Plus Analysis Software bersifat opsional untuk digunakan dan dapat digunakan untuk menganalisis data mentah dan menghitung hasil. Perangkat lunak ini dapat diunduh di www.qiagen.com.

Materi yang Diperlukan, Tetapi Tidak Disediakan

Reagen tambahan

- QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes
- Air deionisasi atau distilasi, 2 liter

Bahan Habis Pakai

- Tutup pelat untuk pelat 96 sumuran
- Opsional: 1 ml tabung mikro dengan penutup dalam rak format 96-sumuran atau pelat mikro dengan segel plastik untuk penyimpanan plasma (22 pasien/rak atau pelat)
- Reservoir reagen

Peralatan*

- Inkubator $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (dengan atau tanpa CO_2)
- Pipet volume variabel yang dikalibrasi untuk memasok 10 μl hingga 1000 μl dengan ujung sekali pakai
- Pipet multisaluran yang dikalibrasi dapat memasok 50 μl dan 100 μl dengan ujung sekali pakai
- Pengocok pelat mikro dengan kecepatan antara 500 dan 1000 rpm
- Pencuci pelat mikro (untuk keselamatan penanganan sampel plasma, disarankan menggunakan pencuci pelat otomatis)
- Pembaca pelat mikro yang dipasang filter 450 nm dan filter referensi 620 nm hingga 650 nm
- Vorteks kecepatan variabel
- Alat sentrifugasi dengan kemampuan sentrifugasi Tabung Penampung Darah minimal hingga 3000 RCF (g)
- Gelas ukur, 1 liter atau 2 liter

* Sebelum digunakan, pastikan instrumen telah diperiksa dan dikalibrasi sesuai dengan rekomendasi produsen.

Peringatan dan Pencegahan

Perlu diketahui bahwa Anda mungkin diwajibkan untuk berkonsultasi dengan peraturan lokal Anda untuk melaporkan insiden serius yang terjadi sehubungan dengan perangkat pada produsen dan/perwakilan resmi dan otoritas regulasi tempat pengguna dan/atau pasien berada.

Untuk penggunaan diagnostik in vitro.

Informasi keselamatan

Saat bekerja dengan bahan kimia, selalu kenakan jas lab yang sesuai, sarung tangan sekali pakai, dan kacamata pelindung. Untuk informasi lebih lanjut, periksalah lembar data keselamatan (Safety Data Sheets, SDS) yang sesuai. Panduan tersedia online dalam format PDF yang mudah dan praktis di www.qiagen.com/safety, di mana Anda dapat menemukan, melihat, dan mencetak SDS untuk setiap kit dan komponen kit QIAGEN.

- Spesimen dan sampel berpotensi menyebabkan infeksi. Buang limbah sampel dan uji kadar sesuai dengan prosedur keselamatan setempat.
- Hasil QFT-Plus yang negatif tidak menajauhkan kemungkinan terinfeksi *M. tuberculosis* atau penyakit tuberkulosis: hasil yang negatif palsu dapat disebabkan oleh tahapan infeksi (misalnya, spesimen yang diperoleh sebelum terbentuknya respons imunitas sel), kesalahan penanganan Tabung Penampung Darah setelah tusukan vena, kesalahan pelaksanaan uji kadar atau variabel imunologis individual lainnya termasuk yang berkaitan dengan komorbiditas apa pun. Antibodi heterofil atau produksi IFN- γ non-spesifik dari kondisi peradangan dapat menyamarkan respons spesifik terhadap peptida ESAT-6 atau CFP-10.
- Hasil QFT-Plus yang positif tidak dapat menjadi dasar tunggal atau pasti untuk menentukan infeksi dengan *M. tuberculosis*. Ketidaktepatan pelaksanaan uji kadar dapat mengakibatkan hasil-positif palsu pada QFT-Plus.


- Hasil QFT-Plus yang positif harus diikuti dengan evaluasi medis untuk penyakit tuberkulosis aktif (misalnya, olesan dan kultur Acid Fast Bacilli, sinar-X dada).
- Meskipun ESAT-6 dan CFP-10 tidak ada pada semua strain BCG dan sebagian besar mikobakteria nontuberkulosis, hasil QFT-Plus yang positif dapat dihasilkan karena infeksi oleh *M. kansasii*, *M. szulgai*, atau *M. marinum*. Jika infeksi tersebut dicurigai, pengujian alternatif harus dilakukan.
- Hasil QFT-Plus negatif-palsu dapat disebabkan oleh pengumpulan sampel darah secara tidak tepat atau kesalahan penanganan spesimen yang memengaruhi fungsi limfosit. Silakan lihat bab "Protokol: Menjalankan ELISA", halaman 20, untuk penanganan spesimen darah secara tepat. Penundaan inkubasi dapat menyebabkan negatif palsu atau hasil yang tidak tentu, dan parameter teknis lain dapat memengaruhi kemampuan untuk mendeteksi respons IFN- γ yang signifikan.

Informasi darurat

CHEMTREC

Luar AS & Kanada +1 703-527-3887

Tindakan pencegahan

<p>PERHATIAN</p> 	<p>Tangani darah manusia seolah-olah darah tersebut berpotensi menularkan penyakit.</p> <p>Perhatikan pedoman yang relevan tentang menangani darah. Buang sampel dan materi yang terkena darah atau produk darah sesuai peraturan federal, negara bagian, dan lokal.</p>
---	--

QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Mengandung: asam sulfat. Peringatan! Dapat mengkorosi logam. Menyebabkan iritasi kulit. Menyebabkan iritasi mata serius. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Peringatan! Menyebabkan iritasi kulit ringan. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.

QuantiFERON Green Diluent



Mengandung: tartrazin. Peringatan! Dapat menyebabkan reaksi alergi terhadap kulit. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Berbahaya bagi kehidupan air dengan efek jangka panjang. Hindari terlepas ke lingkungan.

Informasi lebih lanjut

Lembar Data Keselamatan: www.qiagen.com/safety

- Thimerosal digunakan sebagai pengawet dalam beberapa reagen QFT-Plus. Thimerosal dapat beracun jika tertelan, terhirup, atau terkena kontak dengan kulit.
- Penyimpangan dari *Petunjuk Penggunaan QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)* dapat memunculkan hasil yang salah. Bacalah petunjuk dengan saksama sebelum digunakan.
- Jangan gunakan kita jika botol reagen yang mana pun menunjukkan tanda kerusakan atau kebocoran sebelum digunakan.
- **Penting:** Periksa vial sebelum digunakan. Jangan gunakan Konjugat atau vial Standar IFN- γ yang menunjukkan tanda-tanda kerusakan atau jika segel karetinya sudah tidak wajar. Jangan gunakan vial yang rusak. Lakukan tindakan pencegahan untuk keselamatan yang tepat guna membuang vial dengan aman. Disarankan untuk menggunakan penjepit vial untuk membuka Konjugat atau vial Standar IFN- γ guna mengurangi risiko cedera dari gerigi logam pada tutup.
- Jangan mencampur atau menggunakan Strip Pelat Mikro, Standar IFN- γ , Pengencer Hijau, atau Konjugat Konsentrat 100x dari batch kit QFT-Plus yang berbeda. Reagen lain (Dapar Pencuci Konsentrat 20x, Larutan Enzim Substrat, dan Larutan Penghenti Enzim) dapat dipertukarkan antar kit dengan ketentuan bahwa reagen-reagen tersebut belum kedaluwarsa dan detail lot dicatat.
- Buang reagen dan sampel biologis yang tidak terpakai sesuai peraturan lokal, negara bagian, dan federal.
- Jangan menggunakan QFT-Plus ELISA kit yang telah melewati tanggal kedaluwarsa.
- Prosedur laboratorium yang benar harus selalu dipatuhi.
- Pastikan peralatan laboratorium seperti pencuci dan pembaca pelat telah dikalibrasi/divalidasi untuk penggunaan.

Penyimpanan dan Penanganan Reagen

Tanggal kedaluwarsa dan kondisi penyimpanan yang tercetak pada kotak dan label di semua komponen harus diperhatikan. Jangan gunakan komponen yang disimpan dengan tidak benar atau kedaluwarsa.

Stabilitas saat penggunaan

- Simpan kit ELISA pada suhu 2–8 °C.
- Lindungi selalu Larutan Enzim Substrat dari cahaya matahari langsung.

Reagen yang disusun kembali dan tidak digunakan

- Untuk petunjuk tentang cara menyusun kembali reagen, lihat “Protokol: Menjalankan ELISA”, halaman 20.
- Kit standar yang disusun kembali dapat bertahan hingga 3 bulan jika disimpan pada suhu 2–8 °C.

Catat tanggal saat kit standar disusun kembali.

- Konjugat 100x Konsentrat yang disusun kembali harus dikembalikan ke penyimpanan pada suhu 2–8 °C dan harus digunakan dalam kurun waktu 3 bulan.

Catat tanggal saat konjugat disusun kembali.

- Konjugat dengan daya kerja harus digunakan dalam waktu 6 jam setelah disiapkan.
- Dapar pencucian berkekuatan kerja dapat disimpan pada suhu ruang hingga 2 minggu.
- Strip pelat mikro hanya untuk sekali pakai. Strip yang sudah tidak dipakai dapat dikeluarkan dari rangka pelat dan simpan untuk digunakan di masa mendatang.

Penyimpanan dan Penanganan Spesimen

Lihat *Petunjuk Penggunaan QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes* (1123668) untuk detail tentang alur kerja pengambilan darah untuk pengujian QFT-Plus.

Protokol: Menjalankan ELISA

Poin penting sebelum memulai

Pengaturan (Waktu yang diperlukan untuk melakukan uji kadar)

- Agar mendapatkan hasil yang valid dari uji kadar QFT-Plus, operator perlu melakukan tugas-tugas spesifik dalam waktu yang telah ditentukan. Sebelum menggunakan uji kadar, disarankan agar operator merencanakan setiap tahap uji kadar dengan cermat guna menyediakan waktu yang cukup untuk melakukan setiap tahap. Waktu yang diperlukan diperkirakan di bawah; waktu pengujian beberapa sampel dalam batch juga tertera.
 - Sekitar 3 jam untuk satu Pelat ELISA
 - Pekerjaan <1 jam
 - Tambahkan 10 sampai 15 menit untuk setiap pelat tambahan

IFN- γ ELISA

- Lihat “Isi kit”, halaman 11 dan “Materi yang Diperlukan, Tetapi Tidak Disediakan”, halaman 13 untuk material yang diperlukan untuk melakukan ELISA.

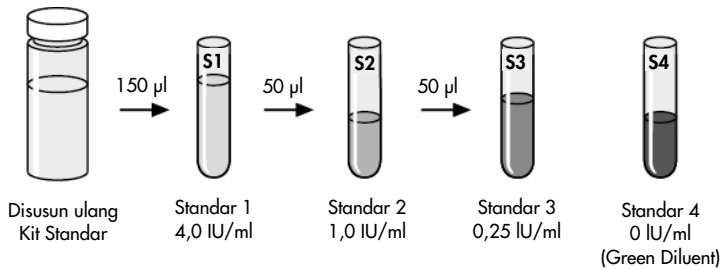
Prosedur

1. Semua sampel dan reagen plasma, kecuali Konjugat Konsentrat 100x, harus dibiarkan dalam suhu ruang ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) sebelum digunakan. Beri waktu setidaknya 60 menit untuk menyetimbangkan.
2. Lepas strip pelat ELISA yang tidak diperlukan dari rangka, segel kembali dalam kantong foil, dan kembalikan ke lemari pendingin untuk disimpan hingga diperlukan.

3. Biarkan setidaknya 1 strip untuk standar QFT-Plus dan strip yang memadai untuk sejumlah subjek yang akan diuji (lihat Gambar 2 untuk format pelat yang direkomendasikan). Setelah digunakan, simpan rangka dan penutup untuk digunakan dengan strip yang tersisa.
 - 3a. Susun kembali Standar IFN- γ dengan volume air deionisasi atau distilasi yang ditunjukkan pada label vial. Campur perlahan untuk mengurangi pembuihan dan memastikan seluruh isi vial benar-benar larut. Penyusunan kembali standar IFN- γ hingga ke volume yang tepat akan menghasilkan larutan dengan konsentrasi 8,0 IU/ml.
 - 3b. Dengan menggunakan standar yang dilarutkan, siapkan rangkaian pengenceran 4 konsentrasi IFN- γ (lihat Gambar 1).
 - 3c. Kurva standar harus dibuat dengan konsentrasi IFN- γ berikut:
 - S1 (Standar 1) berisi 4,0 IU/ml
 - S2 (Standar 2) berisi 1,0 IU/ml
 - S3 (Standar 3) berisi 0,25 IU/ml
 - S4 (Standar 4) berisi 0 IU/ml (Green Diluent [GD] saja).
 - 3d. Semua standar tersebut harus diuji kadarnya setidaknya dalam duplikat.
 - 3e. Siapkan pengencer segar dari kit standar untuk setiap sesi ELISA.

Prosedur

A	Beri label pada 4 tabung: S1, S2, S3, S4
B	Tambahkan 150 μ l GD ke S1, S2, S3, S4
C	Tambahkan 150 μ l standar kit ke S1 dan campur secara menyeluruh
D	Pindahkan 50 μ l dari S1 ke S2 lalu campur secara menyeluruh
E	Pindahkan 50 μ l dari S2 ke S3 lalu campur secara menyeluruh
F	GD saja bertindak sebagai standar nol (S4)



Gambar 1. Penyiapan rangkaian pengenceran kurva standar.

4. Susun kembali Konjugat Konsentrat 100x yang diliofilisasi dengan air deionisasi atau distilasi sebanyak 0,3 ml. Campur perlahan untuk mengurangi pembuihan dan memastikan seluruh isi vial benar-benar larut.
 - 4a. Konjugat berdaya kerja disiapkan dengan mengencerkan Konjugat Konsentrat 100x yang tersusun kembali dalam jumlah yang diperlukan dalam Pengencer Hijau (Tabel 1).
 - 4b. Konjugat dengan daya kerja harus digunakan dalam waktu 6 jam setelah disiapkan.
 - 4c. Segera kembalikan setiap Konjugat Konsentrat 100x yang tidak terpakai ke suhu 2 °C hingga 8 °C.

Tabel 1. Penyiapan konjugat (daya kerja)

Jumlah strip	Volume konjugat (100x konsentrat)	Volume Pengencer Hijau
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. Untuk sampel plasma yang dipanen dari Tabung Penampung Darah lalu disimpan (didinginkan atau dibekukan), campur sampel sebelum ditambahkan ke sumuran ELISA. Sampel plasma dapat disimpan dalam QFT-Plus Blood Collection Tubes yang disentrifugasi selama hingga 28 hari pada suhu 2–8 °C. Plasma sampel yang dipanen dapat disimpan selama hingga 28 hari pada suhu 2–8 °C. Sampel plasma yang dipanen juga dapat disimpan pada suhu di bawah –20 °C (lebih baik kurang dari –70 °C) untuk jangka waktu yang lebih lama.

Sampel plasma dapat dimuat/digunakan langsung dari Tabung Penampung Darah yang disentrifugasi untuk pengukuran dalam pelat QFT-Plus ELISA.

Penting: Jika sampel plasma harus ditransfer secara langsung dari QFT-Plus Blood Collection Tubes yang disentrifugasi, pencampuran plasma harus dihindari. Selalu berhati-hatilah agar tidak mengacaukan material pada permukaan gel.

6. Tambahkan 50 µl konjugat berdaya kerja ke masing-masing sumuran pelat ELISA.

7. Tambahkan sampel plasma pengujian sebanyak 50 µl ke sumuran yang sesuai (lihat tata letak pelat ELISA yang disarankan di Gambar 2).
8. Terakhir, tambahkan masing-masing Standar 1 sampai 4 sebanyak 50 µl ke sumuran pelat yang sesuai (lihat tata letak pelat ELISA yang disarankan di Gambar 2). Standar harus diuji kadar setidaknya rangkap dua.

	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

Gambar 2. Tata letak pelat ELISA yang disarankan. S1 (Standar 1), S2 (Standar 2), S3 (Standar 3), S4 (Standar 4). 1N (Sampel 1. plasma Kontrol Nil), 1 TB1 (Sampel 1. plasma TB1), 1 TB2 (Sampel 1. plasma TB2), 1M (Sampel 1. plasma Mitogen).

9. Tutup pelat ELISA dan campur konjugat dan sampel plasma/standar secara menyeluruh menggunakan pengocok pelat mikro selama 1 menit pada 500 hingga 1000 rpm. Jangan sampai memercik.
10. Tutup pelat ELISA dan inkubasi pada suhu ruang ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) selama 120 ± 5 menit. Pelat ELISA tidak boleh terpapar sinar matahari langsung selama inkubasi. Suhu yang menyimpang dari rentang suhu yang ditentukan dapat menyebabkan hasil yang salah.
11. Selama inkubasi pelat ELISA, siapkan dapar pencuci berdaya kerja. Encerkan satu bagian Dapar Pencuci 20x Konsentrat dengan 19 bagian air deionisasi atau air distilasi dan campur secara menyeluruh. Dapar Pencuci 20x Konsentrat yang memadai telah disediakan untuk menyiapkan 2 liter dapar pencuci berdaya kerja.
12. Jika inkubasi pelat ELISA selesai, cuci sumuran pelat ELISA dengan 400 µl dapar pencuci berdaya kerja. Lakukan tahap pencucian setidaknya 6 kali. Pencuci pelat otomatis disarankan karena alasan keselamatan saat menangani sampel plasma.

Pencucian menyeluruh sangat penting untuk kinerja uji kadar. Pastikan setiap sumuran terisi penuh dengan dapar pencuci hingga bagian atas sumuran untuk setiap siklus pencucian. Disarankan ada waktu rendam sekurangnya 5 detik antar siklus.

Disinfektan laboratorium standar harus ditambahkan ke reservoir effluen, dan prosedur yang telah ditetapkan dipatuhi untuk dekontaminasi material yang berpotensi menular.

13. Ketuk pelat ELISA secara terbalik pada handuk (serat rendah) yang mudah menyerap guna menghilangkan residu dapar pencuci. Tambahkan 100 µl Larutan Substrat Enzim ke masing-masing sumuran pelat, tutup pelat dan campur secara menyeluruh selama 1 menit pada 500–1000 rpm menggunakan pengocok pelat mikro.
14. Tutupi masing-masing pelat dan inkubasi pada suhu ruang ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) selama 30 menit. Pelat ELISA tidak boleh terpapar sinar matahari langsung selama inkubasi.
15. Setelah inkubasi 30 menit, tambahkan 50 µl Larutan Penghenti Enzim ke masing-masing sumuran pelat dalam urutan yang sama seperti ketika substrat ditambahkan, lalu campur secara menyeluruh pada 500 hingga 1000 rpm menggunakan pengocok pelat mikro.
16. Ukur Densitas Optik (OD) sumuran pelat ELISA dalam waktu 5 menit setelah reaksi berhenti menggunakan pembaca pelat mikro yang dipasang pada filter 450 nm dan pada filter referensi 620 nm sampai 650 nm. Nilai OD digunakan untuk menghitung hasil.

Hasil (Penghitungan)

QFT-Plus Analysis Software dapat digunakan untuk menganalisis data mentah dan menghitung hasil. Perangkat lunak ini tersedia di www.qiagen.com. Pastikan yang digunakan adalah versi terbaru dari QFT-Plus Analysis Software.

Perangkat lunak ini melakukan penilaian Kendali Mutu uji kadar, membuat kurva standar, dan memberikan hasil pengujian untuk masing-masing pasien seperti yang dijelaskan pada "Interpretasi Hasil", halaman 30. Perangkat lunak melaporkan semua konsentrasi sebesar lebih dari 10 IU/ml sebagai ">10" karena nilai tersebut berada di luar rentang linear tervalidasi ELISA.

Sebagai alternatif dari QFT-Plus Analysis Software, hasil dapat ditentukan dengan metode berikut ini.

Pembuatan kurva standar dan nilai sampel

Jika tidak menggunakan QFT-Plus Analysis Software

Penentuan kurva standar dan penentuan nilai IU/ml sampel memerlukan program spreadsheet, seperti Microsoft® Excel®, jika tidak menggunakan QFT-Plus Analysis Software.

Menggunakan program spreadsheet

1. Tentukan nilai mean OD pada pengulangan standar kit di setiap pelat.
2. Buat kurva standar $\log_{(e)}-\log_{(e)}$ dengan memplot $\log_{(e)}$ pada mean OD (sumbu y) terhadap $\log_{(e)}$ pada konsentrasi IFN- γ pada standar dalam IU/ml (sumbu x), dengan menghilangkan standar nol dari perhitungan ini. Hitung garis posisi terbaik untuk kurva standar dengan analisis regresi.

- Gunakan kurva standar untuk menentukan konsentrasi IFN- γ (IU/ml) untuk setiap sampel plasma pengujian, menggunakan nilai OD pada setiap sampel.
- Perhitungan ini dapat dilakukan menggunakan paket perangkat lunak yang tersedia dengan pembaca pelat mikro, dan perangkat lunak statistik atau spreadsheet standar (seperti Microsoft Excel). Disarankan agar paket ini digunakan untuk menghitung analisis regresi, koefisien variasi (%CV) untuk standar, dan koefisien korelasi (r) kurva standar.

Penghitungan sampel

Jika pembacaan OD berikut diperoleh untuk standar, penghitungan menggunakan $-\log(e)$ akan mengikuti yang ada dalam Tabel 2.

Tabel 2. Kurva standar

Standar	IU/ml	Nilai OD a dan b	Rata-rata OD	%CV	Log _(e) IU/ml	Rata-rata Log _(e) (OD)
Standar 1	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
Standar 2	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
Standar 3	0,25	0,114, 0,136	0,125	T/A	-1,386	-2,079
Standar 4	0	0,034, 0,037	0,036	T/A	T/A	T/A

Persamaan kurva tersebut adalah $y = 0,7885(X) - 0,9837$, di mana " m " = 0,7885 dan " c " = -0,9837. Nilai ini digunakan dalam persamaan $X = (Y-c)/m$ untuk menyelesaikan X . Berdasarkan kurva standar, koefisien korelasi yang dihitung (r) = 1,000. T/A: Tidak berlaku.

Dengan kriteria yang ditentukan dalam "Kontrol kualitas pengujian", halaman 28, validitas uji kadar ditentukan.

Kurva standar (Tabel 2) digunakan untuk mengonversi respons OD Antigen ke Satuan Internasional (IU/ml).

Tabel 3. Penghitungan sampel

Antigen	Nilai OD	Nilai Log_{10} OD	X	e^x (IU/ml)	Antigen –Nil (IU/ml)
Nil	0,037	-3,297	-2,934	0,05	–
TB1	1,161	0,149	1,437	4,21	4,16
TB2	1,356	0,305	1,634	5,12	5,07
Mitogen	1,783	0,578	1,981	7,25	7,20

Nilai $\text{IFN-}\gamma$ (dalam IU/ml) untuk TB1, TB2, dan Mitogen dikoreksi latar belakangnya dengan mengurangi nilai IU/ml yang diperoleh dari kontrol Nil terkait. Nilai yang dikoreksi tersebut digunakan untuk interpretasi hasil pengujian.

Kontrol kualitas pengujian

Keakuratan hasil pengujian bergantung pada pembuatan kurva standar yang akurat. Maka, hasil yang diturunkan dari standar harus diperiksa sebelum hasil sampel pengujian dapat diinterpretasi.

Agar ELISA bisa menjadi valid:

- Nilai OD rata-rata untuk Standar 1 harus sebesar $\geq 0,600$.
- %CV untuk nilai replikat Standar 1 dan Standar 2 harus $\leq 15\%$.
- Pengulangan nilai OD untuk Standar 3 dan Standar 4 tidak boleh berbeda melebihi 0,040 unit densitas optik dari rata-ratanya.
- Koefisien korelasi (r) yang dihitung dari mean nilai daya serap standar harus sebesar $\geq 0,98$.
- Jika kriteria di atas tidak terpenuhi, proses tidak valid dan harus diulangi.
- Nilai OD rata-rata untuk Standar Nol (Pengencer Hijau) harus sebesar $\leq 0,150$. Jika nilai OD rata-rata $> 0,150$, prosedur pencucian pelat harus diinvestigasi.

QFT-Plus Analysis Software menghitung dan melaporkan parameter kontrol kualitas ini.

Masing-masing laboratorium harus menentukan jenis bahan kontrol yang sesuai dan frekuensi pengujian berdasarkan organisasi akreditasi setempat, negara bagian, federal atau organisasi akreditasi lain yang berlaku. Prosedur penilaian kualitas eksternal dan validasi alternatif harus dipertimbangkan.

Catatan: Plasma yang disuntikkan dengan IFN- γ rekombinan telah menunjukkan penurunan hingga 50% pada konsentrasi saat disimpan pada suhu 2–8 °C maupun –20 °C. IFN- γ is rekombinan tidak disarankan untuk menetapkan standar kontrol.

Interpretasi Hasil

Hasil QFT-Plus diinterpretasi menggunakan kriteria berikut (Tabel 4).

Penting: Mendiagnosis atau mengecualikan penyakit tuberkulosis, dan menilai kemungkinan LTBI, memerlukan kombinasi temuan epidemiologis, historis, medis, dan diagnostik yang harus dipertimbangkan saat menginterpretasi hasil QFT-Plus. Lihat panduan umum tentang diagnosis dan perawatan penyakit TB dan LTBI:

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

Tabel 4. Interpretasi Hasil Pengujian QFT-Plus

Nil (IU/ml)	TB1 dikurangi Nil (IU/ml)	TB2 dikurangi Nil (IU/ml)	Mitogen dikurangi Nil (IU/ml)	Hasil QFT-Plus	Laporan/Interpretasi
≤8,0	≥0,35 dan ≥25% Nil	Bebas	Bebas	Positif†	Infeksi <i>M. tuberculosis</i> mungkin terjadi
	Bebas	≥0,35 dan ≥25% Nil			
	<0,35 atau ≥0,35 dan <25% Nil	<0,35 atau ≥0,35 dan <25% Nil	≥0,50	Negatif	Infeksi <i>M. tuberculosis</i> TIDAK mungkin terjadi
	<0,35 atau ≥0,35 dan <25% Nil	<0,35 atau ≥0,35 dan <25% Nil	<0,50	Tidak tentu‡	Kemungkinan infeksi <i>M. tuberculosis</i> tidak dapat ditentukan
>8,0§	Bebas				

* Respons terhadap kontrol positif Mitogen (dan kadang kala Antigen TB) dapat berada di luar rentang pembaca pelat mikro. Ini tidak berpengaruh pada hasil pengujian. Nilai >10 IU/ml dilaporkan oleh perangkat lunak QFT-Plus sebagai >10 IU/ml.

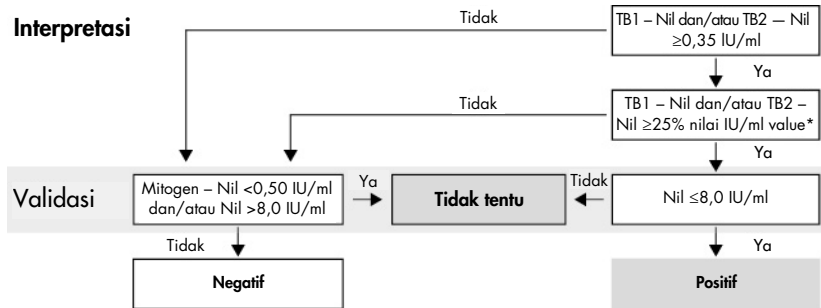
† Jika infeksi *M. tuberculosis* tidak dicurigai, hasil awal yang positif dapat dikonfirmasi dengan menguji kembali sampel plasma asli dalam duplikat di QFT-Plus ELISA. Jika pengujian yang diulang pada satu atau kedua replikat tersebut positif, hasil pengujian dianggap positif.

‡ Lihat "Panduan Pemecahan Masalah", halaman 66 untuk kemungkinan penyebab.

§ Dalam studi klinis, kurang dari 0,25% pasien memiliki kadar IFN-γ >8,0 IU/ml untuk nilai Nil.

Magnitudo dari tingkat IFN-γ yang dihitung tidak dapat dikaitkan dengan tahap, atau derajat infeksi, tingkat ketanggapan imunitas, atau kecenderungan untuk progresi penyakit aktif.

Respons TB yang positif pada individu yang juga negatif terhadap Mitogen itu jarang namun telah ditemukan pada pasien penyakit TB. Ini menunjukkan respons IFN- γ terhadap antigen TB lebih besar dari respons terhadap Mitogen, yang dapat terjadi karena tingkat Mitogen tidak secara maksimal menstimulasi produksi IFN- γ melalui limfosit.



Gambar 3. Interpretasi pengujian QFT-Plus. *Agar nilai TB1 yang dikurangi Nil atau TB2 dikurangi Nil menjadi valid, $\geq 25\%$ dari nilai Nil IU/ml harus berasal dari tabung yang sama dengan hasil asli $\geq 0,35$ IU/ml.

Batasan

Hasil dari pengujian QFT-Plus harus digunakan bersama dengan setiap riwayat epidemiologis individu, status kesehatan terkini, dan evaluasi diagnostik lainnya.

Individu dengan nilai NiL yang lebih besar dari 8 IU/ml diklasifikasikan sebagai “tidak tentu” karena respons yang 25% lebih tinggi terhadap Antigen TB yang dapat berada di luar rentang pengukuran uji kadar.

- Nilai prediktif hasil QFT-Plus positif dalam mendiagnosis infeksi *M. tuberculosis* bergantung pada probabilitas infeksi, yang dinilai dengan temuan historis, epidemiologis, diagnostik, dan temuan lain.
- Diagnosis LTBI mewajibkan agar penyakit tuberkulosis dikecualikan dengan evaluasi medis termasuk penilaian pengujian diagnostik dan medis terkini untuk penyakit seperti yang diindikasikan.
- Hasil negatif harus dipertimbangkan dengan data medis dan historis yang relevan dengan probabilitas infeksi *M. tuberculosis* dan potensi risiko progresi terhadap penyakit tuberkulosis, khususnya bagi individu dengan gangguan fungsi imun.

Hasil yang tidak andal atau tidak tentu dapat disebabkan oleh:

- Penyimpangan dari prosedur yang dijelaskan dalam Petunjuk Penggunaan
- Kesalahan penanganan/transpor spesimen darah
- Peningkatan kadar IFN- γ yang bersirkulasi atau keberadaan antibodi heterofil
- Waktu darah tervalidasi terlampaui untuk pengambilan spesimen darah untuk inkubasi. Lihat *Petunjuk Penggunaan QFT-Plus Blood Collection Tubes* (1123668).

Karakteristik Kinerja

Studi Klinis

Karena tidak ada pengujian standar pasti untuk mengonfirmasi atau meniadakan diagnosis LTBI, perkiraan sensitivitas dan kekhususan untuk QFT-Plus tidak dapat dievaluasi secara praktis. Spesifisitas QFT-Plus didekati dengan mengevaluasi tingkat positif palsu pada orang dengan risiko infeksi tuberkulosis yang rendah (tidak ada faktor risiko yang diketahui). Sensitivitas didekati dengan mengevaluasi kelompok subjek studi dengan penyakit TB aktif yang dikonfirmasi kultur. Selain itu, kinerja uji kadar dievaluasi tingkat negatif dan positifnya dalam populasi subjek sehat dengan faktor risiko yang teridentifikasi infeksi tuberkulosis (populasi risiko campur).

Spesifisitas

Studi multisenter yang mengevaluasi spesifisitas klinis QFT-Plus dilakukan, termasuk 733 subjek studi yang dianggap memiliki risiko infeksi *M. tuberculosis* rendah atau tidak ada faktor risiko untuk paparan terhadap infeksi atau penyakit. Informasi demografis dan faktor risiko untuk keterpaparan TB ditentukan menggunakan survei yang distandardisasi pada saat pengujian. Studi dilakukan pada empat lokasi independen, termasuk satu di Amerika Serikat, dua di Jepang, dan satu di Australia. Pengujian QFT-Plus dibandingkan dengan pengujian QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT). Ringkasan data kinerja spesifisitas klinis, yang terstratifikasi menurut lokasi dan wilayah studi, tersedia dalam Tabel 5. Hasil kinerja didasarkan pada total jumlah pengujian yang valid. Tidak ada hasil yang tidak tentu.

Tabel 5. Spesifisitas QFT-Plus dalam populasi risiko rendah

Lokasi	N	Positif		Negatif		Tidak tentu		Spesifisitas (95% CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
Amerika Serikat									
(#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)
Jepang									
(#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)
Total Jepang	322	4	7	318	315	0	0	98,76% (318/322) (96,85– 99,52)	97,83% (315/322) (95,6–98,9)
Australia									
(#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)

Spesifisitas QFT-Plus adalah 98,11% di AS, 97,83% di Jepang, dan 95,48% di Australia. Spesifisitas keseluruhan QFT-Plus adalah sebesar 97,27% (713/733). Spesifisitas QFT adalah 99,06% di AS, 98,76% di Jepang, dan 95,98% di Australia. Spesifisitas keseluruhan QFT adalah sebesar 98,09% (719/733).

Rincian hasil berdasarkan jenis tabung antigen TB dan kombinasinya ditunjukkan untuk memberikan contoh hasil yang diperkirakan dalam populasi risiko rendah (Tabel 6).

Tabel 6. Hasil Studi Spesifisitas QFT-Plus berdasarkan Tabung Antigen TB

Interpretasi berdasarkan Antigen TB-Nil			QFT-Plus (positif berdasarkan TB1 dan/atau TB2)*	TB1 dan TB2 positif konkordan (analisis alternatif) [†]
IU/ml dalam	TB1	TB2		
Positif	10	18	20	8
Negatif	723	715	713	725
Tidak tentu	0	0	0	0
Spesifisitas (95% CI)	–	–	97,3% (713/733) (95,8–98,2)	–
Tingkat negativitas (95% CI)	98,6% (723/733) (97,5–99,3)	97,5% (715/733) (96,2–98,4)	–	98,9% (725/733) (97,9–99,5)

* Interpretasi berdasarkan nilai antigen TB – Nil $\geq 0,35$ IU/ml pada kedua (TB1 dan TB2) atau salah satu tabung TB agar cocok dengan kriteria interpretasi untuk QFT-Plus (TB1 atau TB2) akan ditetapkan positif.

[†] Analisis alternatif hanya disediakan untuk informasi.

Dalam subjek dengan risiko rendah infeksi TB, total sebanyak 20/733 subjek menunjukkan hasil positif. Dari angka tersebut, hanya 8 subjek yang menunjukkan nilai sebesar $>0,35$ IU/ml pada kedua tabung TB1 dan TB2. Perbandingan uji kadar QFT versus QFT-Plus dilakukan dalam kohort studi risiko rendah, dan menunjukkan kesesuaian keseluruhan sebesar 97,5% (715/733), dan persentase kesesuaian negatif sebesar 98,3% (707/719).

Sensitivitas

Meskipun tidak ada pengujian standar yang pasti untuk LTBI, pengganti yang cocok adalah kultur mikrobiologis *M. tuberculosis* karena infeksi dengan TB merupakan prekursor yang diperlukan untuk penyakit.

Studi multisenter yang mengevaluasi sensitifitas klinis QFT-Plus dilakukan, termasuk 434 subjek studi yang ditampilkan dengan tanda dan gejala penyakit *M. tuberculosis* aktif yang terkonfirmasi dengan kultur dan/atau PCR, dan bukan pada perawatan TB atau dengan ≤ 14 hari perawatan sebelum pengambilan darah. Studi dilakukan pada 7 lokasi independen,

termasuk tiga lokasi di Amerika Serikat, tiga lokasi di Jepang, dan satu lokasi di Australia. Pengujian QFT-Plus dibandingkan dengan pengujian QuantiFERON-TB Gold in Tube (QFT). Ringkasan data kinerja sensitivitas klinis, yang terstratifikasi menurut lokasi dan negara studi tersedia dalam Tabel 7. Hasil kinerja didasarkan pada total jumlah pengujian yang valid. Frekuensi hasil yang tidak tentu untuk QFT dan QFT-Plus masing-masing adalah 2,3% (10/434) dan 2,5% (11/434).

Tabel 7. Ringkasan kinerja studi sensitivitas klinis yang terstratifikasi berdasarkan lokasi, negara, dan keseluruhan

Lokasi	N	Positif		Negatif		Tidak tentu		Sensitivitas (95% CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
Amerika Serikat									
(#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)
Total Amerika Serikat	53	47	47	6	6	0	0	88,7% (47/53) (77,4–94,7)	88,7% (47/53) (77,4–94,7)
Jepang									
(#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 dilanjutkan di halaman berikutnya

Tabel dilanjutkan dari halaman sebelumnya

Tabel 7. Ringkasan kinerja studi sensitivitas klinis yang terstratifikasi berdasarkan lokasi, negara, dan keseluruhan (lanj.)

Lokasi	N	Positif		Negatif		Tidak tentu		Sensitivitas (95% CI)	
		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)
Total Jepang	352	328	322	15	19	9	11	95,63% (328/343) (92,91– 97,33)	94,43% (322/341) (91,5–96,4)
Australia									
(#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)

Analisis dalam tabel di atas tidak mencakup hasil yang tidak tentu.

Sensitivitas QFT-Plus adalah 88,7% di AS, 94,43% di Jepang, dan 100,0% di Australia. Sensitivitas keseluruhan QFT-Plus adalah sebesar 94,09% (398/423). Sensitivitas QFT adalah 88,7% di AS, 95,63% di Jepang, dan 96,43% di Australia. Sensitivitas keseluruhan QFT adalah sebesar 94,81% (402/424).

Rincian hasil berdasarkan jenis tabung antigen TB dan kombinasi tabung ditunjukkan untuk memberikan contoh hasil yang diperkirakan dalam populasi terkonfirmasi terinfeksi TB (Tabel 8).

Tabel 8. Hasil studi sensitivitas QFT-Plus berdasarkan tabung antigen TB

Interpretasi berdasarkan Antigen TB-Nil dalam IU/ml			QFT-Plus (positif berdasarkan TB1 dan/atau TB2)
	TB1	TB2	
Positif	388	397	398
Negatif	32	26	25
Tidak tentu	14	11	11
Sensitivitas* (95% CI)	-	-	94% (398/423) (91,4-96,0)
Tingkat positivitas* (95% CI)	92,4% (388/420) (89,4-94,6)	93,9% (397/423) (91,1-95,8)	-

* Tidak termasuk nilai yang tidak tentu.

Perbandingan uji kadar QFT dan QFT-Plus dinilai dalam kohort TB aktif terkonfirmasi kultur (kohort studi sensitivitas) dan menunjukkan kesesuaian keseluruhan sebesar 95,9% dan persentase kesesuaian positif sebesar 97,3% (391/402).

Tabel 9. Rasio kecenderungan QFT-Plus

Lokasi*	Sensitivitas	Spesifisitas	LR+	LR-
Australia	100,00%	95,48%	22,11	0,00
Jepang	94,43%	97,83%	43,44	0,06
Amerika Serikat	88,68%	98,11%	47,00	0,12

* Total

Kinerja dalam subjek dengan faktor risiko yang diidentifikasi untuk infeksi MTB (individu risiko campuran)

Kohort sebanyak 601 individu dengan faktor risiko campuran untuk infeksi TB (misalnya, positif HIV, riwayat perawatan TB aktif atau laten, paparan dengan kasus TB aktif, status HCW, dll.) dinilai dengan pengujian QFT dan QFT-Plus. Faktor risiko diidentifikasi menggunakan survei terstandarisasi dan individu yang tidak menunjukkan gejala yang berkaitan dengan TB aktif pada saat rekrutmen. Demografik dan faktor risiko dilaporkan dalam Tabel 10. Dalam populasi ini, 68/601 (11,3%) subjek menunjukkan hasil QFT-Plus positif, dengan persentase kesesuaian positif (positive percent agreement, PPA) dan persentase kesesuaian negatif (negative percent agreement, NPA) masing-masing sebesar 98,44% dan 99,07% (Tabel 11). Dalam kohort sebanyak 68 subjek positif QFT-Plus ini, total sebanyak 62 subjek berstatus positif berdasarkan tabung TB1 dan TB2, 2 subjek berstatus positif hanya berdasarkan tabung TB1, dan 4 subjek berstatus positif hanya berdasarkan tabung TB2. Tidak ditemukan hasil yang tidak tentu (0/601).

Tabel 10. Demografik dan faktor yang berkaitan dengan risiko infeksi TB dalam kohort campuran

Total subjek (601)		Nomor	Persentase
Gender	Pria	539	89,7%
	Wanita	62	10,3%
Usia (tahun)	Rentang	18–70	–
	Rata-rata	46,7	–
Tervaksinasi BCG	Ya	15	2,5%
	Tidak	586	97,5%
Positif HIV atau teruji positif virus HTLV	Ya	12	2,0%
	Tidak	589	98%
Sebelum didiagnosis TB aktif	Ya	11	1,8%
	Tidak	590	98,2%
Mendapatkan hasil tes positif dari Tes Kulit Tuberkulin (Tuberculin Skin Test, TST)/Mantoux untuk TB	Ya	47	7,8%
	Tidak	554	92,2%
Pernah dirawat untuk TB aktif maupun laten	Ya	35	5,8%
	Tidak	566	94,2%
Tinggal, bekerja, atau menjadi relawan (>1 bulan) di lapas atau penjara	Ya	373	62,1%
	Tidak	228	37,9%
Tinggal, bekerja, atau menjadi relawan (>1 bulan) di penampungan tunawisma	Ya	525	87,4%
	Tidak	76	12,6%
Pekerja layanan kesehatan	Ya	8	1,3%
	Tidak	593	98,7%
Kontak erat dengan seseorang yang terjangkit atau dicurigai terjangkit TB aktif	Ya	9	1,5%
	Tidak	592	98,5%

Tabel 11. Ringkasan kinerja QFT-Plus versus QFT dalam subjek dengan faktor risiko infeksi TB laten yang diketahui

		QFT		Total
		Positif (+)	Negatif (-)	
QFT-Plus	Positif (+)	63	5*	68
	Negatif (-)	1*	532	533
	Total	64	537	601

*6 sampel diskordan memiliki kadar IFN- γ dari tabung Antigen TB yang mendekati batas uji kadar.

Persentase kesesuaian positif (positive percent agreement, PPA) dan persentase kesesuaian negatif (negative percent agreement, NPA) antara hasil QFT dan QFT-Plus adalah sebagai berikut:

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

Tabel 12 di bawah menunjukkan kinerja QFT-Plus yang dibandingkan dengan pengujian QFT dalam subjek studi yang sudah divaksin BCG.

Tabel 12. Kinerja QFT-Plus yang dibandingkan dengan Pengujian QFT dalam subjek studi yang sudah divaksin BCG (data gabungan dari subjek studi sensitivitas, spesifisitas, dan LTBI)

		QFT		Total
		Positif (+)	Negatif (-)	
QFT-Plus	Positif (+)	66	5	71
	Negatif (-)	3	268	271
	Total	69	273	342*

* Dua subjek studi sensitivitas tidak disertakan dalam analisis karena hasil yang tidak tentu

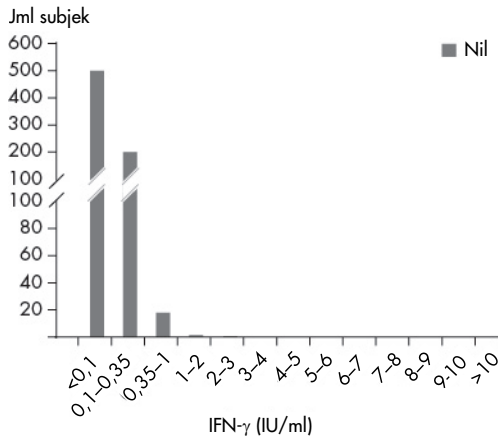
- PPA = 95,6% (66/69), 95% CI (87,98, 98,51)
- NPA = 98,2% (268/273), 95% CI (95,79, 99,22)

Nilai yang diharapkan

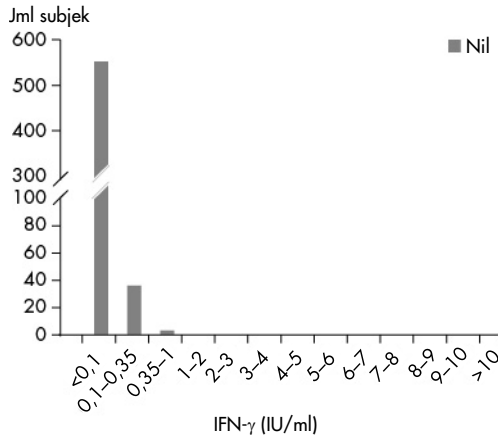
Distribusi respons yang teramati – diperingkat berdasarkan risiko

Rentang respons IFN- γ terhadap TB1, TB2, dan tabung kontrol diamati dalam percobaan klinis dan diperingkat berdasarkan risiko infeksi *M. tuberculosis* (Gambar 4 hingga Gambar 7). Kelompok risiko campuran berisi perwakilan subjek dari populasi pengujian umum, termasuk subjek dengan dan tanpa faktor risiko keterpaparan TB, dan di mana tidak ada kemungkinan TB aktif (yaitu, LTBI).

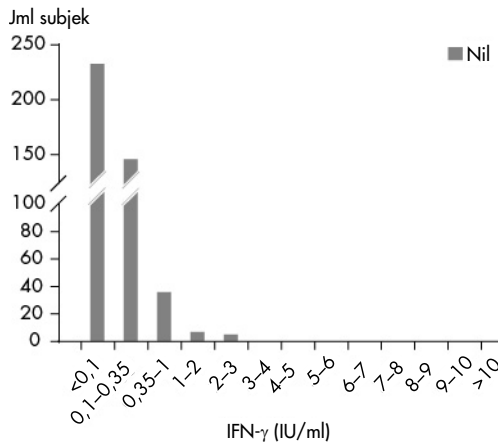
A



B

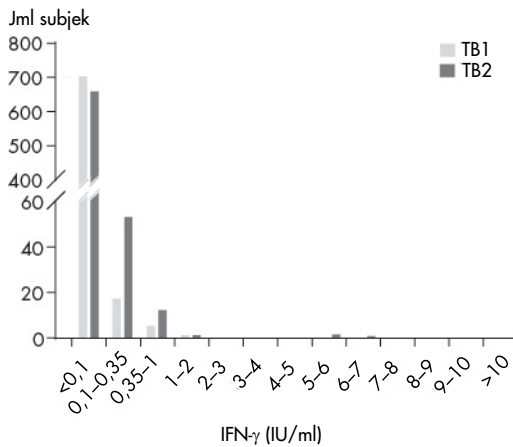


C

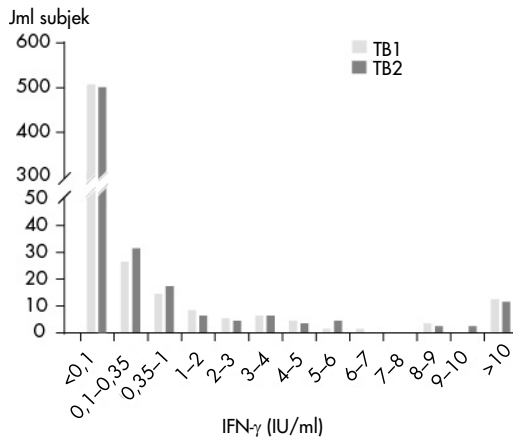


Gambar 4. Distribusi Nil. A Distribusi nilai Nil dalam populasi berisiko rendah (n=744). B Distribusi nilai Nil dalam populasi berisiko campuran (n=601). C Distribusi nilai Nil dalam populasi dengan infeksi *M. tuberculosis* yang terkonfirmasi kultur (n=416).

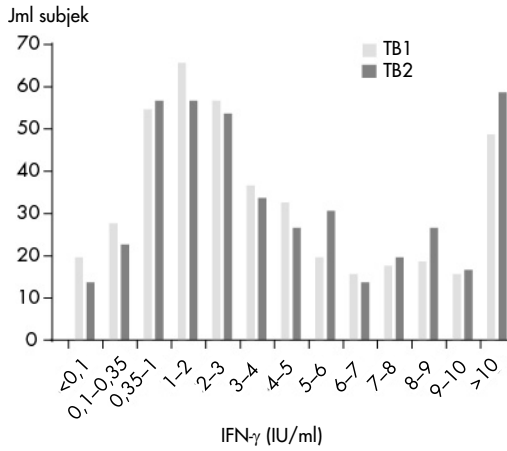
A



B

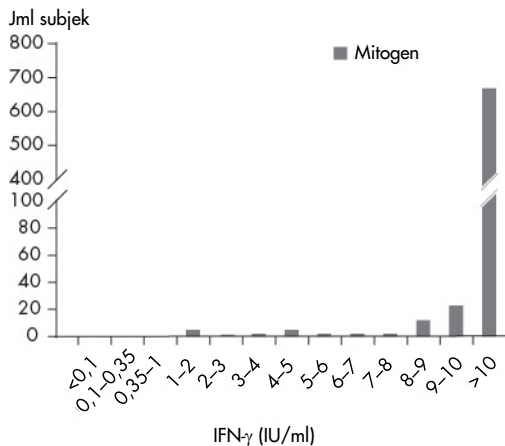


C

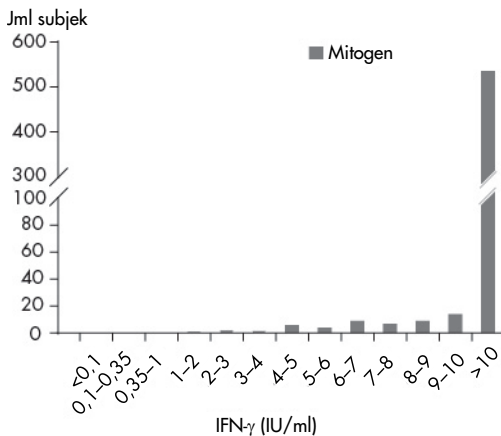


Gambar 5. Distribusi TB1 dan TB2 (Dikurangi Nil). A Distribusi nilai TB1 dan TB2 (dikurangi Nil) dalam populasi berisiko rendah (n=744). B Distribusi nilai TB1 dan TB2 (dikurangi Nil) dalam populasi berisiko campuran (n=601). C Distribusi nilai TB1 dan TB2 (dikurangi Nil) dalam populasi dengan infeksi *M. tuberculosis* yang terkonfirmasi kultur (n=416).

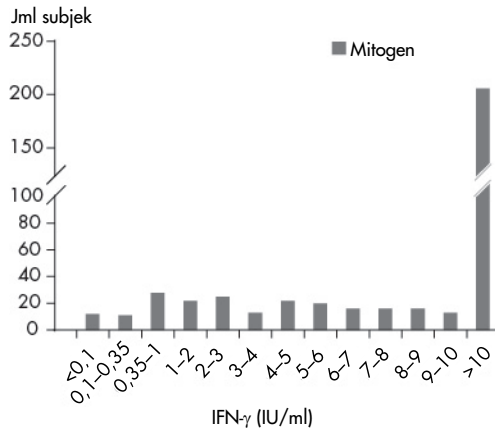
A



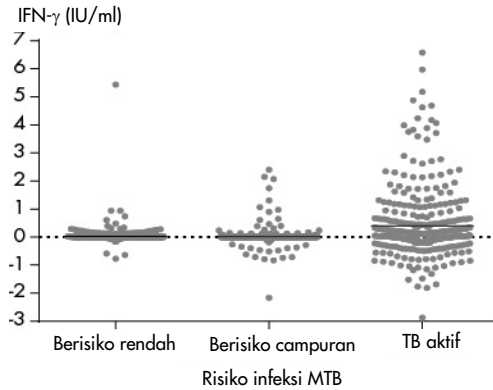
B



C



Gambar 6. Distribusi Mitogen (Dikurangi Nil). **A** Distribusi nilai Mitogen (dikurangi Nil) dalam populasi berisiko rendah (n=744). **B** Distribusi nilai Mitogen (dikurangi Nil) dalam populasi berisiko campuran (n=601). **C** Distribusi nilai Mitogen (dikurangi Nil) dalam populasi dengan infeksi *M. tuberculosis* yang terkonfirmasi kultur (n=415).



Gambar 7. Perbedaan yang teramati antara nilai TB1 dan TB2 (Dikurangi Nil), diperingkat berdasarkan risiko. Termasuk data dari studi kohort risiko campuran untuk menunjukkan selisih antara kohort risiko rendah, risiko aktif, dan risiko campuran. Analisis data ini mencakup kohort risiko campuran dengan faktor risiko yang diketahui. Sehingga, dari kohort risiko rendah $n=733$, dari kohort risiko campuran $n=588$, dan dari kohort TB aktif $n=357$. Selisih kuantitatif dalam IU/ml untuk masing-masing subjek diperoleh dengan mengurangkan nilai TB1 dari nilai TB2.

Ringkasan Keselamatan dan Kinerja

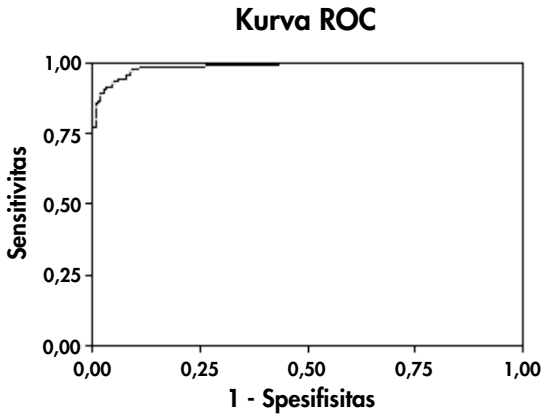
Ringkasan keselamatan dan kinerja dapat ditemukan di situs web EUDAMED.

Karakteristik Kinerja Uji Kadar

Kinerja analitik

Batas uji kadar

Batas uji kadar QFT-Plus ditentukan menggunakan data dari 216 subjek tanpa faktor risiko yang teridentifikasi paparan TB, yang telah menerima vaksin BCG dan dianggap bebas infeksi dan 118 subjek terkonfirmasi kultur infeksi *M. tuberculosis*. Data sensitivitas dan spesifisitas digabungkan dan dianalisis dengan analisis kurva Karakteristik Operator Penerima (Receiver Operator Characteristic, ROC). Data sensitivitas dan spesifisitas yang dianalisis menggunakan analisis ROC menunjukkan bahwa batas ELISA yang optimal adalah 0,35 IU/ml (lihat Gambar 8).



Gambar 8. Kurva ROC untuk Respons ESAT-6 dan CFP-10.

Tabel 13. Nilai Sensitivitas dan Spesifisitas untuk ELISA pada Berbagai Batas

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

Tabel dilanjutkan di halaman berikutnya

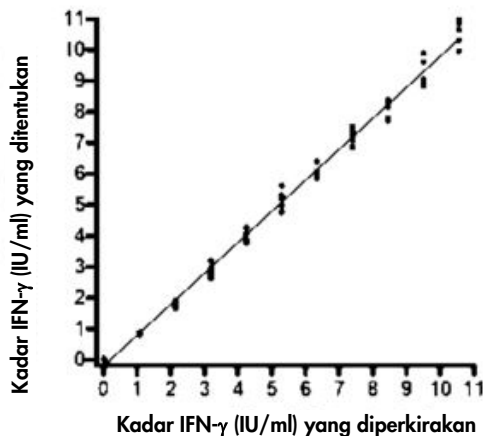
Tabel dilanjutkan dari halaman sebelumnya

Tabel 13. Nilai Sensitivitas dan Spesifisitas untuk ELISA pada Berbagai Batas

Batas IU/ml IFN- γ	Sensitivitas %	95% CI	Spesifisitas %	95% CI	Sensitivitas + Spesifisitas
0,47	85,59	77,94% hingga 91,38%	99,08	96,71% hingga 99,89%	184,67
0,48	84,75	76,97% hingga 90,70%	99,08	96,71% hingga 99,89%	183,83
0,50	83,90	76,00% hingga 90,02%	99,08	96,71% hingga 99,89%	182,98

Linearitas

QFT-Plus ELISA ditunjukkan sebagai linear dengan menempatkan secara acak 5 replikat dari 11 kumpulan plasma dengan konsentrasi IFN- γ yang diketahui pada pelat ELISA. Garis regresi linear memiliki kemiringan $1,002 \pm 0,011$ dan koefisien korelasi 0,99 (Gambar 9).



Gambar 9. Ilustrasi Analisis Regresi Studi Linearitas Rata-rata Kumpulan Tinggi = $-0,24 + 0,9964 \cdot \text{Diperkirakan}$.

Reproduksibilitas

Studi reproduksibilitas studi multisenter dilakukan untuk mengevaluasi kinerja QFT-Plus di seluruh lokasi studi dengan beberapa operator. Ini merupakan studi prospektif yang dilakukan pada tiga lokasi pengujian eksternal dan satu lokasi pengumpulan. Total sebanyak 32 subjek studi positif dan 34 negatif (ditentukan berdasarkan pengujian QFT) terdaftar. Subjek studi terdiri dari pekerja layanan kesehatan di Amerika Serikat. Subjek studi mewakili kelompok dengan risiko campuran pada paparan TB karena pekerjaannya atau sebagai pekerja layanan kesehatan yang lahir di luar negeri dari tempat dengan tingkat TB melampaui 50/100.000.

Tiga Tabung Penampung Darah litium-heparin diperoleh dari masing-masing subjek studi di lokasi pengumpulan. Tabung Penampung Darah litium-heparin kemudian ditransfer ke masing-masing dari ketiga lokasi pengujian tempatnya dialokasikan ke dalam dua set QFT-Plus Blood Collection Tubes (QFT-Plus TB1, TB2, Mitogen, dan Nil) kemudian diuji sesuai dengan prosedur uji kadar QFT-Plus. Di masing-masing lokasi, setidaknya terdapat dua operator yang menjalankan dua pengujian per subjek studi secara terpisah. Masing-masing operator tidak mengetahui hasil yang diperoleh operator lain dan tidak mengetahui hasil pengujian QFT subjek studi.

Terdapat enam hasil yang diperoleh di ketiga lokasi pengujian masing-masing dari 66 subjek studi, yang menghasilkan total sebanyak 396 poin data. Ringkasan hasil ringkasan reproduksibilitas tersedia dalam Tabel 14.

Tabel 14. Ringkasan hasil studi reproduksibilitas – dalam lokasi % kesesuaian hasil kualitatif antara operator; N = 66 sampel pasien

Lokasi 1 – 2 Operator	Lokasi 2 – 2 Operator	Lokasi 3 – 3 Operator
64/66 = 96,97%	64/66 = 96,97%	59/66 = 89,39%
Kesesuaian Hasil Kualitatif dari Set Tabung 1 dan Set Tabung 2	Kesesuaian Hasil Kualitatif dari Set Tabung 1 dan Set Tabung 2	Kesesuaian Hasil Kualitatif dari Set Tabung 1 dan Set Tabung 2

Persentase kesesuaian kualitatif di seluruh lokasi studi adalah 94,7% (375/396). Dalam penghitungan ini, total jumlah hasil pengujian dalam kesesuaian (375) termasuk instansi di mana terdapat kesesuaian dari seluruh 6 hasil, kesesuaian sebanyak 5 dari 6 hasil, kesesuaian sebanyak 4 dari 6 hasil, dan kesesuaian sebanyak 3 dari 6 hasil, digabungkan.

Pengulangan antarlot

Sebuah studi dilakukan untuk menentukan variabilitas antarlot dari QFT-Plus Blood Collection Tubes jika dibandingkan dengan tabung QFT. Total sebanyak 30 subjek (15 terkonfirmasi positif TB dan 15 terkonfirmasi negatif TB ditentukan berdasarkan pengujian QFT) diuji. Tiga lot terpisah masing-masing QFT-Plus TB1, TB2, dan QFT TB Blood Collection Tubes termasuk dalam studi ini. Tiga replikat per donor per lot tabung penampung darah diuji. Tabung Nil dan Mitogen diuji dengan masing-masing satu replikat.

Darah dari masing-masing subjek ditampung ke dalam Tabung Penampung Darah litium-heparin kemudian 1 ml darah ditransfer ke masing-masing QFT-Plus dan QFT Blood Collection Tubes dan diuji sesuai dengan prosedur uji kadar. Untuk masing-masing kelompok sampel positif dan negatif, total ragam hasil tabung QFT-Plus tidak boleh secara signifikan lebih besar dari total ragam hasil tabung QFT. Ini ditentukan dari nilai-p yang ditetapkan oleh pengujian Homogenitas Ragam (Homogeneity of Variance, HOV) Levene. Jika nilai-p tidak signifikan ($p > 0,05$) dan/atau ragam tabung TB QFT-Plus lebih rendah daripada variasi tabung TB QFT, maka terdapat ragam antara tabung TB QFT-Plus dan QFT.

Tabel 15. Perbandingan Ragam antara QFT-Plus dan QFT TB Blood Collection Tubes menggunakan Pengujian HOV Levene

Tipe sampel	Selisih	Pengaruh	Dependen	Nilai-p	Signifikan
Positif	TB2 vs QFT	Sub_Jenis	Sisa	0,0378	Ya
Positif	TB2 vs QFT	Sub_Jenis	Sisa	0,0540	Tidak
Negatif	TB2 vs QFT	Sub_Jenis	Sisa	0,1025	Tidak
Negatif	TB2 vs QFT	Sub_Jenis	Sisa	0,6344	Tidak

Ragam antara QFT-Plus dan QFT TB Blood Collection Tubes tidak signifikan dengan pengecualian tabung TB2 QFT-Plus jika diuji dengan subjek positif. Jika perkiraan simpangan baku dianalisis, ragam yang tampak dalam tabung TB2 QFT-Plus lebih kecil (0,06089) daripada tabung TB QFT (0,07641) sebagaimana ditunjukkan dalam Tabel 16. Sehingga, ragam QFT-Plus TB1 dan TB2 Blood Collection Tubes tidak lebih besar daripada QFT TB Blood Collection Tube.

Tabel 16. Simpangan Baku untuk Sisa dan Selang Kepercayaan 95% untuk Subjek Positif

Tipe sampel	Sub jenis	Perkiraan Simpangan Baku	95% LCL	95% UCL
Positif	QFT	0,07641	0,06826	0,08680
Positif	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Positif	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

Pengulangan intralot

Sebuah studi dilakukan untuk menilai reproduksibilitas intralot pada QFT-Plus Blood Collection Tubes dengan membandingkan konsentrasi IFN- γ dari replikat QFT-Plus TB Blood Collection Tubes pada darah.

Enam alikuot dari satu sampel darah dari subjek yang sama dengan konfirmasi infeksi TB diproses dalam 6 pengulangan Tabung Penampung Darah dari satu lot masing-masing pada kedua tabung QFT-Plus (TB1 dan TB2). Pengujian dilakukan dengan 13 subjek. %CV dihitung untuk masing-masing donor dan pada seluruh donor untuk membuat rata-rata %CV seperti yang ditunjukkan dalam Tabel 17.

Tabel 17. %CV untuk Rata-rata, Simpangan Baku, Minimum, Median, dan Maksimum pada masing-masing QFT-Plus TB Blood Collection Tube dalam Subjek Positif TB

Tabung QFT-Plus	Ukuran sampel	Rata-rata(%CV)	Simpangan Baku	Minimum	Nilai tengah	Maksimum
TB1	13	13,31	6,88	4,17	12,87	29,56
TB2	13	13,04	7,48	4,86	10,75	29,44

Hasilnya menunjukkan bahwa rata-rata %CV untuk TB1 dan TB2 adalah ~13%, yang memenuhi kriteria penerimaan $\leq 30\%$ dan menunjukkan pengulangan intralot.

Batas Kosong (Limit of Blank, LoB)

Batas Kosong (Limit of Blank, LoB) dievaluasi untuk uji kadar QFT-Plus. Dua replikat masing-masing sebanyak 14 sampel plasma manusia normal individual (sebagai yang kosong) diuji dengan 2 lot QFT-Plus ELISA oleh 3 operator dalam 3 hari pengujian, satu operator per hari pengujian untuk total sebanyak 84 replikat dari masing-masing lot kit ELISA.

Nilai LoB (IU/ml) untuk 2 lot kit ELISA dihitung secara terpisah seperti yang ditunjukkan dalam Tabel 18.

Tabel 18. Nilai LoB (IU/ml) untuk 2 Lot QFT-Plus ELISA Kit

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

Nilai LoB yang lebih besar, 0,040 IU/ml, dari kedua lot QFT-Plus ELISA kit, dilaporkan sebagai nilai LoB akhir.

Batas Deteksi (Limit of Detection, LoD)

Batas Deteksi (Limit of Detection, LoD) dievaluasi untuk uji kadar QFT-Plus. Kumpulan plasma manusia negatif TB dihasilkan dengan mengkombinasikan 14 sampel plasma individual. Masing-masing dari 3 operator menyiapkan stok standar referensi IFN- γ sebanyak 1,0 IU/ml yang diencerkan dalam dapar. Dibuat rangkaian pengenceran sebanyak 8 konsentrasi. Studi dilakukan selama 3 hari, oleh 3 operator yang bergantian menggunakan 2 lot QFT-Plus ELISA kit. Untuk setiap hari pengujian, 5 replikat dari masing-masing konsentrasi dalam setiap set rangkaian pengenceran berseri diuji untuk total 45 replikat untuk setiap pengenceran konsentrasi IFN- γ untuk setiap lot QFT-Plus ELISA kit.

Nilai LoD untuk setiap lot QFT-Plus ELISA kit yang diuji dihitung secara terpisah seperti yang ditunjukkan dalam Tabel 19.

Tabel 19. Perkiraan Nilai LoD (IU/ml) untuk 2 Lot QFT-Plus ELISA Kit

QFT-Plus ELISA Kit	Probabilitas	Perkiraan konsentrasi (IU/ml)	Batas Bawah Kepercayaan 95% untuk Perkiraan	Batas Atas Kepercayaan 95% untuk Perkiraan
Kit 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Kit 2	0,95	0,065	0,060	0,073

Nilai LoD yang lebih besar yang dihitung dari kedua lot QFT-Plus ELISA kit, 0,065 IU/ml, dilaporkan sebagai nilai LoD akhir.

Zat yang mengganggu

Sebuah studi dilakukan untuk menentukan pengaruh potensi zat yang mengganggu terhadap kinerja deteksi QFT-Plus ELISA pada IFN- γ . Zat pengganggu yang termasuk dalam pengujian ini adalah: trigliserida (Total), hemoglobin, protein (total serum), bilirubin (terkonjugasi), bilirubin (tak terkonjugasi), Abakavir sulfat, Siklosporina, dan Prednisolon. Lima kumpulan plasma dengan konsentrasi IFN- γ yang diketahui disiapkan menggunakan konsentrasi zat pengganggu yang berbeda. Kadar kumpulan dasar IFN- γ sebelumnya disiapkan dengan jumlah IFN- γ yang ada yang sudah ditentukan sebelumnya (sekitar 0,21, 0,45 dan 1,4 IU/ml). Kumpulan ini kemudian digunakan untuk menyiapkan kumpulan zat pengganggu. Konsentrasi zat pengganggu yang diuji adalah 0 mg/dL, 5 mg/dL, 10 mg/dL, 15 mg/dL dan 20 mg/dL. Konsentrasi zat pengganggu target didasarkan pada rentang referensi, nilai patologis, rentang terapeutik, dan rentang racun atau sebagaimana yang disarankan oleh vendor atau tingkat klinis umum. Enam replikat diuji untuk masing-masing kadar konsentrasi sampel zat pengganggu.

Untuk masing-masing konsentrasi sampel, uji-t dua-sampel dilakukan, dengan membandingkan selisih dalam rata-rata log₁₀ (IU/ml) pada kadar zat pengganggu primer dibandingkan dengan kontrol (yaitu. kadar bebas zat pengganggu) seperti yang ditunjukkan dalam Tabel 20 dan 21. Perkiraan selisih dalam respons rata-rata, bersama dengan batas kepercayaan 95% dua sisi dan nilai-p juga dilaporkan.

Tabel 20. Log₁₀ IU/ml: Tabel Ringkasan Uji-T untuk Selisih pada Rata-rata antara Kadar Zat Pengganggu Kontrol dan Primer untuk setiap Zat Pengganggu dan Kadar Konsentrasi IFN- γ

Pengganggu	Kadar zat pengganggu	Konsentrasi sampel (IU/ml)	Ragam	Rata-Rata Selisih	95% CI Bawah	95% CI Atas	Nilai-p	Lulus
Trigliserida	Tinggi	1,4	Sama	0,019	-0,040	0,077	0,491	Ya
		0,45	Sama	0,004	-0,022	0,030	0,732	Ya
		0,21	Sama	0,006	-0,035	0,047	0,759	Ya
Hemoglobin	Tinggi	1,4	Sama	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Ya
		0,45	Sama	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Ya
		0,21	Sama	0,000	-0,034	0,035	0,980	Ya
Protein	Tinggi	1,4	Sama	0,004	-0,034	0,042	0,836	Ya
		0,45	Sama	0,001	-0,38	0,040	0,962	Ya
		0,21	Sama	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Ya
Bilirubin Terkonjugasi	Tinggi	1,4	Sama	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Ya
		0,45	Sama	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Ya
		0,21	Sama	-0,014	0,074	0,046	0,625	Ya
Bilirubin Tak Terkonjugasi	Tinggi	1,4	Sama	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Ya
		0,45	Sama	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Ya
		0,21	Sama	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Ya
Abakavir	Tinggi	1,4	Sama	0,008	-0,025	0,041	0,601	Ya
		0,45	Sama	0,012	-0,019	0,044	0,412	Ya
		0,21	Sama	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Ya

Tabel dilanjutkan di halaman berikutnya

Tabel dilanjutkan dari halaman sebelumnya

Tabel 20. Log₁₀ IU/ml: Tabel Ringkasan Uji-T untuk Selisih pada Rata-rata antara Kadar Zat Pengganggu Kontrol dan Primer untuk setiap Zat Pengganggu dan Kadar Konsentrasi IFN- γ

Pengganggu	Kadar zat pengganggu	Konsentrasi sampel (IU/ml)	Ragam	Rata-rata selisih	95% CI Bawah	95% CI Atas	Nilai-p	Lulus
Siklosporina	Tinggi	1,4	Sama	0,014	-0,020	0,047	0,383	Ya
		0,45	Sama	0,005	-0,035	0,045	0,773	Ya
		0,21	Sama	0,024	-0,008	0,056	0,131	Ya
Prednisolon	Tinggi	1,4	Sama	0,017	-0,017	0,050	0,293	Ya
		0,45	Sama	0,000	-0,036	0,036	0,979	Ya
		0,21	Sama	0,015	-0,035	0,065	0,524	Ya

Tabel 21. Log10 IU/ml: Tabel Ringkasan Uji-T untuk Selisih pada Rata-rata antara Kadar Zat Pengganggu Kontrol dan Tinggi untuk setiap Zat Pengganggu dan Kadar Konsentrasi IFN- γ

Pengganggu	Kadar zat pengganggu	Konsentrasi sampel (IU/ml)	Ragam	Rata-Rata Selisih	95% CI Bawah	95% CI Atas	Nilai-p	Lulus
Trigliserida	Tinggi	1,4	Sama	0,053	-0,004	0,110	0,063	Ya
		0,45	Sama	0,039	-0,021	0,058	<001	Ya
		0,21	Sama	0,034	-0,002	0,071	0,061	Ya
Hemoglobin	Tinggi	1,4	Sama	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Ya
		0,45	Sama	0,016	-0,007	0,040	0,152	Ya
		0,21	Sama	0,014	-0,030	0,059	0,489	Ya
Protein	Tinggi	1,4	Sama	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Ya
		0,45	Sama	0,000	-0,046	0,046	0,992	Ya
		0,21	Sama	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Ya
Bilirubin Terkonjugasi	Tinggi	1,4	Sama	0,001	-0,046	0,048	0,961	Ya
		0,45	Sama	0,012	-0,043	0,067	0,639	Ya
		0,21	Sama	0,015	-0,044	0,074	0,586	Ya
Bilirubin Tak Terkonjugasi	Tinggi	1,4	Sama	0,015	-0,011	0,042	0,231	Ya
		0,45	Sama	0,015	-0,023	0,052	0,411	Ya
		0,21	Sama	0,012	-0,033	0,057	0,566	Ya
Abakavir	Tinggi	1,4	Sama	0,013	-0,015	0,040	0,322	Ya
		0,45	Sama	0,015	-0,014	0,044	0,283	Ya
		0,21	Sama	0,008	-0,034	0,050	0,677	Ya

Tabel dilanjutkan di halaman berikutnya

Tabel dilanjutkan dari halaman sebelumnya

Tabel 21. Log10 IU/ml: Tabel Ringkasan Uji-T untuk Selisih pada Rata-rata antara Kadar Zat Pengganggu Kontrol dan Tinggi untuk setiap Zat Pengganggu dan Kadar Konsentrasi IFN- γ

Pengganggu	Kadar zat pengganggu	Konsentrasi sampel (IU/ml)	Ragam	Rata-rata selisih	95% CI Bawah	95% CI Atas	Nilai-p	Lulus
Siklosporina	Tinggi	1,4	Sama	0,002	-0,019	0,024	0,816	Ya
		0,45	Sama	0,007	-0,030	0,043	0,682	Ya
		0,21	Sama	0,015	-0,007	0,038	0,155	Ya
Prednisolon	Tinggi	1,4	Sama	0,007	-0,016	0,030	0,518	Ya
		0,45	Sama	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Ya
		0,21	Sama	0,021	-0,025	0,068	0,334	Ya

Hasil menunjukkan tidak ada selisih signifikan antara kadar zat pengganggu primer dan kontrol (kadar bebas zat pengganggu) dan untuk kadar zat pengganggu tinggi kecuali untuk Trigliserida kadar konsentrasi 0,45 IU/ml. Rata-rata selisih ditentukan dalam +/- 2 rentang simpangan baku. Hal ini menunjukkan bahwa selisihnya berada dalam keragaman uji kadar yang diperkirakan dan bahwa Trigliserida tidak memiliki pengaruh gangguan terhadap QFT-Plus ELISA.

Pembuangan

Perhatikan pedoman yang relevan tentang menangani darah. Buang sampel dan materi yang terkena darah atau produk darah sesuai peraturan federal, negara bagian, dan lokal.

Referensi

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.

Panduan Pemecahan Masalah

Panduan pemecahan masalah dapat membantu menyelesaikan masalah yang muncul. Untuk bantuan teknis dan informasi selengkapnya, silakan hubungi Pusat Dukungan Teknis di www.qiagen.com/Support (untuk informasi kontak, kunjungi www.qiagen.com).

Komentar dan saran

Pemecahan masalah ELISA

Pengembangan warna nonspesifik

- | | |
|--|---|
| a) Pencucian pelat yang tidak selesai | Cuci pelat sekurangnya 6 kali dengan dapar pencuci sebanyak 400 µl/sumuran. Mungkin diperlukan lebih dari 6 siklus pencucian, bergantung pada pencuci yang digunakan. Waktu rendam sekurangnya 5 detik antar siklus harus diterapkan. |
| b) Lintas kontaminasi sumuran ELISA | Berhati-hatilah saat menggunakan pipet dan mencampur sampel untuk mengurangi risiko. |
| c) Kit/komponen kedaluwarsa | Pastikan kit digunakan sebelum tanggal kedaluwarsa. Pastikan standar yang disusun kembali dan Konjugat Konsentrat 100x digunakan dalam waktu tiga bulan setelah tanggal penyusunan kembali. |
| d) Larutan Enzim Susbrat terkontaminasi | Buang substrat jika terdapat perubahan warna biru. Pastikan penampung reagen bersih digunakan. |
| e) Pencampuran plasma dalam tabung QFT-Plus Blood Collection Tubes sebelum panen | Setelah sentrifugasi, hindari menambah atau mengurangi penggunaan pipet atau mencampur plasma dengan cara apa pun sebelum memanen. Selalu berhati-hatilah agar tidak mengacaukan material pada permukaan gel. |

Komentar dan saran

Pembacaan densitas optik rendah untuk standar

- | | |
|--|--|
| a) Kesalahan pengenceran standar | Pastikan pengenceran Standar Kit telah disiapkan dengan benar sesuai Petunjuk Penggunaan ini. |
| b) Penggunaan pipet mengalami kesalahan | Pastikan pipet dikalibrasi dan digunakan sesuai petunjuk produsen. |
| c) Suhu inkubasi terlalu rendah | Inkubasi ELISA harus dilakukan pada suhu ruang ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$). |
| d) Waktu inkubasi terlalu singkat | Inkubasi pelat dengan konjugat, standar, dan sampel harus selama 120 ± 5 menit. Larutan Enzim Substrate harus diinkubasi pada pelat selama 30 menit. |
| e) Filter pembaca pelat yang tidak tepat digunakan | Pelat harus menunjukkan 450 nm dengan filter referensi antara 620 dan 650 nm. |
| f) Reagen terlalu dingin | Semua reagen, kecuali Konjugat Konsentrat 100x, harus dibiarkan dalam suhu ruang sebelum memulai uji kadar. Hal ini memerlukan waktu sekitar 1 jam. |
| g) Kit/komponen kedaluwarsa | Pastikan bahwa kit digunakan sebelum tanggal kedaluwarsa. Pastikan bahwa Standar dan Konjugat 100x Konsentrat yang dilarutkan digunakan dalam kurun waktu 3 bulan setelah tanggal pelarutan. |

Latar belakang tinggi

- | | |
|---------------------------------------|--|
| a) Pencucian pelat yang tidak selesai | Cuci pelat sekurangnya 6 kali dengan dapar pencuci sebanyak $400\text{ }\mu\text{l}$ /sumuran. Mungkin diperlukan lebih dari 6 siklus pencucian. Waktu rendam sekurangnya 5 detik antar siklus harus diterapkan. |
|---------------------------------------|--|

Komentar dan saran

- | | |
|--|---|
| b) Suhu inkubasi terlalu tinggi | Inkubasi ELISA harus dilakukan pada suhu ruang ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$). |
| c) Kit/komponen kedaluwarsa | Pastikan bahwa kit digunakan sebelum tanggal kedaluwarsa. Pastikan standar yang disusun kembali dan Konjugat Konsentrat 100x digunakan dalam waktu tiga bulan setelah tanggal penyusunan kembali. |
| d) Larutan Enzim Substrat terkontaminasi | Buang substrat jika terdapat perubahan warna biru. Pastikan penampung reagen bersih digunakan. |

Kurva standar dan variabilitas duplikat nonlinear

- | | |
|---|---|
| a) Pencucian pelat yang tidak selesai | Cuci pelat sekurangnya 6 kali dengan dapar pencuci sebanyak 400 μl /sumuran. Mungkin diperlukan lebih dari 6 siklus pencucian. Waktu rendam sekurangnya 5 detik antar siklus harus diterapkan. |
| b) Kesalahan pengenceran standar | Pastikan pengenceran standar telah disiapkan dengan benar sesuai Petunjuk Penggunaan ini. |
| c) Proses pencampuran yang kurang baik | Campur reagen secara menyeluruh dengan inversi atau vorteks ringan sebelum ditambahkan ke pelat. |
| d) Teknik pemipetan yang tidak konsisten atau interupsi saat pengaturan uji kadar | Penambahan sampel dan standar harus dilakukan secara terus-menerus. Semua reagen harus disiapkan sebelum memulai uji kadar. |

Simbol

Simbol berikut ini terdapat di petunjuk penggunaan atau pada kemasan dan label:

Simbol

Definisi simbol



<N>

Berisi reagen yang cukup untuk reaksi <N>



Gunakan sebelum



Produk ini memenuhi persyaratan Peraturan Eropa 2017/746 untuk perangkat medis diagnostik in vitro.

EC

REP

Perwakilan resmi di Masyarakat Eropa / Uni Eropa

IVD

Perangkat medis diagnostik in vitro

REF

Nomor katalog

LOT

Nomor lot

MAT

Nomor materi (yaitu, pelabelan komponen)

COMP

Komponen

CONT

Mengandung

NUM

Nomor

GTIN

Nomor Barang Perdagangan Global (Global Trade Item Number, GTIN)

Rn

R adalah untuk revisi Instruksi Penggunaan dan n adalah nomor revisi



Batas suhu

Simbol

Definisi simbol



Produsen



Baca petunjuk penggunaan



Lindungi dari cahaya



Peringatan/perhatian atau Perhatian, cermati dokumen yang menyertai

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

Suatu pengujian diagnostik in vitro menggunakan koktail peptida yang meniru protein ESAT-6 dan CFP-10 untuk menstimulasi sel dalam darah utuh berheparin



Mengandung bahan biologis yang berasal dari hewan



Mengandung bahan biologis yang berasal dari manusia



Pengidentifikasi Unik Perangkat

Simbol

Definisi simbol

tartrazine

Mengandung Tartrazin

sulfuric acid

Mengandung asam sulfat

Lampiran A: Informasi Teknis

Hasil yang tidak tentu

Hasil yang tidak tentu tidak lazim terjadi dan mungkin berhubungan dengan status imunitas individu yang diuji (5) tetapi dapat juga berhubungan dengan sejumlah faktor teknis (misalnya, penanganan/penyimpanan Tabung Penampung Darah yang tidak sesuai, pencucian pelat ELISA yang tidak selesai) jika petunjuk penggunaan di atas tidak diikuti.

Jika dicurigai terjadi masalah teknis pada penyimpanan reagen, pengambilan darah, atau penanganan sampel darah, ulangi keseluruhan pengujian QFT-Plus dengan spesimen darah yang baru. Pengulangan pengujian ELISA pada plasma yang disimulasi dapat dilakukan jika dicurigai terjadi pencucian yang tidak memadai atau penyimpangan prosedural lainnya pada pengujian ELISA. Dokter dapat memilih untuk mengambil kembali spesimen atau melakukan prosedur lain sebagaimana diperlukan.

Sampel plasma membeku

Jika gumpalan fibrin muncul dengan penyimpanan sampel plasma jangka panjang, sentrifugasi sampel untuk mengendapkan material gumpalan dan memudahkan pemipetan plasma.

Sampel plasma lipemik

Berhati-hatilah saat menggunakan pipet pada sampel lipemik karena endapan lemak dapat menyumbat ujung pipet.

Lampiran B: Ringkasan Prosedur Pengujian ELISA

1. Seimbangkan komponen ELISA, kecuali Konjugat 100x Konsentrat, ke suhu ruang selama setidaknya 60 menit.



2. Larutkan Standar Kit hingga 8,0 IU/ml dengan air distilasi atau air deionisasi. Siapkan empat (4) pengenceran standar.



3. Susun kembali Konjugat Konsentrat 100x yang dikeringbekukan dengan air distilasi atau deionisasi.



4. Siapkan konjugat berkekuatan kerja pada Pengencer Hijau dan tambahkan 50 µl ke semua sumuran.



5. Tambahkan sampel plasma pengujian sebanyak 50 µl dan standar sebanyak 50 µl ke sumuran yang sesuai. Campur menggunakan pengocok.



6. Inkubasi selama 120 menit pada suhu ruang.

7. Cuci sumuran setidaknya 6 kali dengan 400 µl/sumuran dapar pencuci.



8. Tambahkan 100 µl Larutan Substrat Enzim ke sumuran. Campur menggunakan pengocok.



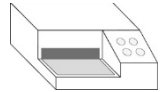
9. Inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang.



10. Tambahkan 50 μ l Larutan Penghenti Enzim ke semua sumuran.
Campur menggunakan pengocok.



11. Baca hasil pada 450 nm dengan filter referensi 620 hingga 650 nm



12. Analisis hasil.



Informasi Pemesanan

Produk	Isi	No. Kat.
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit	Kit 2-pelat ELISA	622120
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Reference Lab Pack	Kit 20-pelat ELISA	622822
Related products		
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes	200 tabung (masing-masing 50 Nil, TB1, TB2 dan Mitogen)	622526
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 tabung (masing-masing 25 Nil, TB1, TB2 dan Mitogen)	622423
QuantiFERON-TB Gold Plus Single Patient Pack	40 tabung (masing-masing 1 Nil, TB1, TB2 dan Mitogen/kemasan), kemasan isi 10	622222
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes	200 tabung (masing-masing 50 Nil, TB1, TB2 dan Mitogen)	623526
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 tabung (masing-masing 50 Nil, TB1, TB2 dan Mitogen)	623423
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Single Patient Pack	40 tabung (masing-masing 1 Nil, TB1, TB2 dan Mitogen/kemasan), kemasan isi 10	623222

Untuk informasi pelisensian terbaru dan penafian produk-spesifik, lihat Petunjuk Penggunaan kit QIAGEN. Petunjuk Penggunaan kit QIAGEN tersedia di www.qiagen.com atau dapat dipesan dari Layanan Teknis QIAGEN atau distributor lokal Anda.

Riwayat Revisi Dokumen

Tanggal	Perubahan
R2, Juni 2021	Penyertaan informasi tentang Kemasan Pasien Tunggal Revisi Tabel 10 dan 11 untuk membedakan data QFT-GIT vs. QFT-Plus Pembaruan bab Deskripsi dan Prinsip untuk menambahkan informasi tentang populasi pengujian dan rentang pengukuran Penambahan Tabel 9 untuk menambahkan data tentang rasio kecenderungan QFT-Plus
R3, Oktober 2021	Pengembalian nomor katalog ke nomor katalog asli Penambahan pernyataan sekali pakai untuk strip Pelat Mikro dalam Konten kit
R4, Maret 2023	Perbaikan format

Halaman ini sengaja dikosongkan

Perjanjian Lisensi Terbatas untuk QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit

Dengan menggunakan produk ini, setiap pembeli atau pengguna produk menyetujui ketentuan berikut:

1. Produk hanya boleh digunakan sesuai dengan protokol yang disediakan bersama produk dan Petunjuk Penggunaannya ini serta hanya digunakan dengan komponen yang terdapat di dalam panel saja. QIAGEN tidak memberikan lisensi apa pun berdasarkan kekayaan intelektualnya untuk menggunakan atau menggabungkan komponen yang tersedia dengan panel ini dengan komponen apa pun yang tidak termasuk dalam panel ini kecuali sebagaimana dijelaskan dalam protokol yang disediakan dengan produk, Petunjuk Penggunaannya ini, dan protokol tambahan yang tersedia di www.qiagen.com. Beberapa protokol tambahan ini telah disediakan oleh pengguna QIAGEN bagi pengguna QIAGEN. Protokol-protokol tersebut belum diuji secara menyeluruh atau dioptimalkan oleh QIAGEN. QIAGEN tidak memberikan garansi atau menjamin bahwa pihaknya tidak melanggar hak pihak ketiga.
2. Selain lisensi yang dinyatakan secara tegas, QIAGEN tidak membuat jaminan bahwa panel ini dan/atau penggunaannya tidak melanggar hak-hak pihak ketiga.
3. Panel ini serta komponennya dilisensikan untuk penggunaan satu kali dan tidak boleh digunakan kembali, diperbarui, atau dijual kembali.
4. QIAGEN secara khusus menyangkal segala lisensi lain, yang dinyatakan secara tegas maupun tersirat selain yang dinyatakan secara tegas di atas.
5. Pembeli dan pengguna panel setuju untuk tidak mengambil atau mengizinkan orang lain mengambil langkah apa pun yang dapat menyebabkan atau mendukung tindakan apa pun yang dilarang di atas. QIAGEN dapat memberlakukan larangan Perjanjian Lisensi Terbatas ini di Pengadilan mana pun, dan akan memulihkan semua biaya investigasi dan Pengadilannya, termasuk biaya pengacara, dalam tindakan apa pun untuk menegakkan Perjanjian Lisensi Terbatas ini atau hak kekayaan intelektualnya yang terkait dengan panel dan/atau komponennya.

Untuk ketentuan lisensi yang diperbarui, lihat www.qiagen.com.

Merek Dagang: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (QIAGEN Group) Proclin®. Nama, merek dagang terdaftar, dll. yang digunakan di dalam dokumen ini, meski tidak secara khusus ditandai sebagaimana demikian, tidak akan dianggap tidak dilindungi oleh undang-undang.

03/2023 L1123669 1123669ID © 2023 QIAGEN, hak cipta dilindungi undang-undang.

Pemesanan www.qiagen.com/shop | Dukungan Teknis support.qiagen.com | Situs Web
www.qiagen.com