

Brugsanvisning til QuantiFERON[®]-TB Gold Plus ELISA Kit



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Version 1



Til in vitro-diagnostisk brug

Til brug sammen med QuantiFERON[®]-TB Gold Plus Blood Collection
Tubes



622120, 622822



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland



R4 1123669DA

Indhold

Tilsligtet anvendelse	5
Tilsligtet bruger	5
Beskrivelse og princip	6
Patogeninformation.....	6
Oversigt og forklaring.....	6
Analyseprincipper	9
Medfølgende materialer	11
Kit-indhold	11
Sættets komponenter.....	12
Platform og software.....	12
Nødvendige materialer, som ikke medfølger	13
Yderligere reagenser	13
Forbrugsartikler	13
Udstyr	13
Advarsler og forholdsregler.....	14
Sikkerhedsinformation	14
Oplysninger til brug i nødstilfælde.....	15
Forholdsregler	16
Opbevaring og håndtering af reagenser	18
Stabilitet under brug	18
Rekonstituerede og ubrugte reagenser	18
Prøveopbevaring og -håndtering.....	19

Protokol: Udførelse af ELISA	20
Resultater (beregninger)	26
Generering af standardkurve og prøveværdier	26
Kvalitetskontrol af testen	28
Fortolkning af resultater	30
Begrænsninger	32
Ydelseskarakteristika	33
Kliniske undersøgelser	33
Sensitivitet	35
Forventede værdier	43
Oversigt over sikkerhed og ydeevne	49
Analysens ydelseskarakteristika	50
Analytisk ydeevne	50
Bortskaffelse	63
Litteraturhenvisninger	64
Fejlfindingsvejledning	66
Symboler	69
Bilag A: Teknisk information	72
Ubestemmelige resultater	72
Koagulerede plasmaprøver	72
Lipemiske plasmaprøver	72
Bilag B: Forkortet ELISA-testprocedure	73
Bestillingsinformation	75
Revisionshistorik for dokumentet	77

Tilsigtet anvendelse

Analysen QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus) er en *in vitro*-diagnostisk test, hvor der anvendes en peptidcocktail, som simulerer ESAT-6- og CFP-10-proteiner til stimulering af celler i hepariniseret helblod. Påvisning af interferon- γ (IFN- γ) vha. Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA) anvendes til at identificere *in vitro*-responsen på de peptidantigener, der er forbundet med *Mycobacterium tuberculosis*-infektion.

QFT-Plus er en indirekte test for *M. tuberculosis*-infektion (herunder sygdom) og skal anvendes i sammenhæng med risikovurdering, radiografi og andre medicinske og diagnostiske vurderinger.

Tilsigtet bruger

Dette kit er beregnet til professionel brug.

Analysen QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) skal anvendes af uddannet personale i et laboratoriemiljø.

Beskrivelse og princip

Patogeninformation

Tuberkulose er en smitsom sygdom, der skyldes infektion med *M. tuberculosis*-komplekse organismer (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* og *M. caprae*), som typisk spredes til nye værter via luftbårne dråbepartikler fra patienter med lungetuberkulose. En nyligt smittet person kan blive syg med tuberkulose inden for nogle uger eller måneder, men de fleste smittede personer føler sig raske. Latent tuberkuloseinfektion (LTBI), en ikke-smitsom tilstand uden symptomer, findes hos nogle personer, som kan udvikle tuberkulose nogle måneder eller år senere. Det primære formål med at diagnosticere LTBI er medicinsk behandling for at forebygge tuberkulose. I over 100 år har tuberkulin-hudprøvetest (Tuberculin Skin Test, TST) været den eneste tilgængelige metode til diagnosticering af LTBI (4). Kutan sensitivitet over for tuberkulin udvikles fra 2 til 10 uger efter infektionen. Nogle smittede personer, herunder personer med en række sygdomme, som forhindrer immunfunktioner, men også andre personer uden disse sygdomme, reagerer dog ikke på tuberkulin. Omvendt udviser nogle personer, som ikke burde have *M. tuberculosis*-infektion, sensitivitet over for tuberkulin og positive TST-resultater efter vaccination med Bacille Calmette-Guérin (BCG) eller infektion med andre mykobakterier end *M. tuberculosis*-kompleks eller andre faktorer.

Der skal skelnes mellem LTBI og tuberkulose, som er en sygdom, der skal indberettes og som regel involverer lungerne og de nedre luftveje, selv om andre organsystemer også kan være påvirket. Sygdommen tuberkulose diagnosticeres på baggrund af de historiske og fysiske samt radiologiske og mykobakteriologiske fund.

Oversigt og forklaring

Testen QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) er fjerde generation af QuantiFERON-TB-testteknologi til vurdering af cellemedieret respons via en kvantitativ måling af IFN- γ i en helblodsprøve. QFT-Plus er en kvalitativ test til måling af cellemedierede immunrespons (CMI)

på peptidantigener, der simulerer mykobakterielle proteiner. Disse proteiner, ESAT-6 og CFP 10, mangler i alle BCG-stammer og de fleste ikke-tuberkuløse mykobakterier med undtagelse af *M. kansasii*, *M. szulgai* og *M. marinum* (1). Personer, som er smittet med *M. tuberculosis*-komplekse organismer, har sædvanligvis lymfocytter i deres blod, som genkender disse og andre mykobakterielle antigener. Denne genkendelsesproces involverer dannelse og udskillelse af cytokin IFN- γ . Påvisningen og den efterfølgende kvantificering af IFN- γ danner grundlag for denne test.

Tuberkulin-hudprøvetests og IGRA-tests er nyttige, men ikke tilstrækkelige til at diagnosticere infektion med *M. tuberculosis*-kompleks hos syge patienter – et positivt resultat kan understøtte diagnosen af tuberkulose, men infektioner med andre mykobakterier (f.eks. *M. kansasii*) kan også fremkalde positive resultater. Andre medicinske og diagnostiske vurderinger er nødvendige for at bekræfte eller udelukke tuberkulose.

De antigener, der anvendes i QFT-Plus, er en peptidcocktail, som simulerer proteinerne ESAT-6 og CFP-10. Flere undersøgelser har vist, at disse peptidantigener stimulerer IFN- γ -responsen i T-celler fra personer, som er smittet med *M. tuberculosis*, men som regel ikke fra usmittede eller BCG-vaccinerede personer uden sygdom eller risiko for LTBI (1,2,6,9). Medicinske behandlinger eller sygdomme, som påvirker immunfunktionen, kan reducere IFN- γ -responsen. Patienter med visse andre mykobakterielle infektioner kan også reagere på ESAT-6 og CFP-10, da de gener, der afkoder disse proteiner, findes i *M. kansasii*, *M. szulgai* og *M. marinum* (1,3,7).

Testpopulationen for QFT-Plus-test er patienter med klinisk bekræftet aktiv tuberkulose og patienter med risiko for tuberkuloseinfektion eller latent tuberkuloseinfektion (LTBI). Der er ingen alders- eller kønsmæssige begrænsninger eller andre begrænsninger.

Ved en infektion med *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) spiller CD4⁺ T-celler en vigtig rolle i forbindelse med immunologisk kontrol via deres udskillelse af cytokinet IFN- γ . Der er nu påvist, at CD8⁺ T-celler spiller en rolle i værtsforsvaret over for MTB ved at producere IFN- γ og andre opløselige faktorer, som aktiverer makrofager for at undertrykke væksten af MTB, dræbe inficerede celler eller direkte lysere intracellulær MTB. Der er påvist IFN- γ -producerende MTB-specifikke CD8⁺-celler hos personer med LTBI og aktiv TB. Desuden påvises ESAT-6- og CFP-10-specifikke CD8⁺ T-lymfocytter oftere hos personer med aktiv TB-sygdom i forhold til LTBI, og dette kan være forbundet med en nylig MTB-eksponering (8, 10-12). Derudover er der også påvist MTB-specifikke CD8⁺ T-celler, der producerer IFN- γ , hos personer med aktiv TB og HIV-co-infektion (13, 14) og hos børn med TB-sygdom (15).

QFT-Plus har to tydelige TB-antigen-rør: TB Antigen-rør 1 (TB1) og TB Antigen-rør 2 (TB2). Begge rør indeholder peptidantigener fra antigenerne ESAT-6 og CFP-10, der er forbundet med MTB-kompleks. Både TB1- og TB2-røret indeholder peptider fra ESAT-6 og CFP-10, som er udviklet til at fremkalde CMI-responser fra CD4⁺ T-helper-lymfocytter, og TB2-røret indeholder et ekstra sæt peptider, som er beregnet til induktion af CMI-responser fra CD8⁺-cytotoksiske T-lymfocytter.

Risikofaktorer for *M. tuberculosis*-infektion omfatter historiske, medicinske eller epidemiologiske prædiktorer for tuberkulose eller eksponering for tuberkulose. De seneste retningslinjer fra WHO, <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment>, indeholder udførlige anbefalinger vedrørende diagnosticering af *M. tuberculosis*-infektion (herunder sygdom) og udvælgelse af person til test (16). QFT-Plus er blevet testet i visse patientgrupper, der er indiceret til screening for TB-infektion, i henhold til de aktuelle retningslinjer fra WHO (16), heriblandt personer, som er testet positive for human immunodeficiency virus (HIV), kontakter til patienter, som for nylig har fået diagnosticeret TB, og personer i tætbefolkede områder og lignende, som er blevet eksponeret for voksne med stor risiko for at få TB (5).

Analyseprincipper

QFT-Plus er en kvalitativ analyse, hvor specialiserede blodprøvetagningsrør, som indeholder peptidantigener, der simulerer *M. tuberculosis*-proteiner, anvendes til opsamling af helblod. Inkubering af blodet forekommer i rørene i 16 til 24 timer, hvorefter plasma opsamles og testes for tilstedeværelsen af IFN- γ , der dannes som svar på peptidantigener.

Først opsamles helblod i QFT-Plus Blood Collection Tubes, som omfatter et Nil-rør, et TB1-rør, et TB2-rør og et Mitogen-rør. Alternativt kan blodet opsamles i et enkelt blodprøvetagningsrør, der indeholder lithium- eller natriumheparin som antikoagulan, og derefter overføres til QFT-Plus Blood Collection Tubes.

QFT-Plus Blood Collection Tubes rystes for at blande antigen med blodet og skal inkuberes ved $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ så hurtigt som muligt og inden for 16 timer efter prøvetagning. Efter en inkubationsperiode på 16 til 24 timer centrifugeres rørene, plasmaet behandles, og mængden af IFN- γ (IE/ml) måles vha. ELISA. QFT-Plus ELISA bruger en rekombinant human IFN- γ -standard, der er blevet analyseret med en IFN- γ -forberedelse som reference (NIH-ref: Gxg01-902-535). Resultaterne af testprøverne afrapporteres i internationale enheder (IE/ml) ift. en standardkurve, der er klargjort ved test af fortyndinger af den standard, som blev leveret med kittet.

Heterofile (f.eks. humane anti-mus) antistoffer i serum eller plasma for bestemte personer har vist sig at kunne forårsager interferens med immunanalyser. Påvirkningen fra heterofile antistoffer i QFT-Plus ELISA minimeres ved tilsætning af normalt museserum til grøn diluent og brug af F(ab')₂-monoklonale antistoffragmenter som antistof til opfangning af IFN- γ i mikropladebrøndene.

En QFT-Plus-analyse anses som positiv for en IFN- γ -respons, når værdien for hvert TB-antigen-rør ligger væsentligt over Nil IFN- γ IE/ml-værdien. Plasmaprøven fra Mitogen-røret bruges som en IFN- γ -positiv kontrol for hver prøve, der testes. En lav respons på Mitogen (<0,5 IE/ml) angiver et ubestemmeligt resultat, når en blodprøve også har en negativ respons for TB-antigenerne. Dette mønster kan forekomme ved et utilstrækkeligt antal lymfocytter, nedsat lymfocytaktivitet grundet ukorrekt prøvehåndtering, fyldning/blanding af Mitogen-røret eller manglende evne for patientens lymfocytter til at danne IFN- γ . Der kan forekomme forhøjede niveauer af IFN- γ i Nil-prøven ved tilstedeværelse af heterofile antistoffer eller intern IFN- γ -udskillelse. Nil-røret justerer for baggrund (f.eks. forhøjede niveauer af cirkulerende IFN- γ eller tilstedeværelsen af heterofile antistoffer). IFN- γ -niveauet i Nil-røret trækkes fra IFN- γ -niveauet for TB-antigen-rørene og Mitogen-røret. Måleområdet for QFT-Plus ELISA er op til 10 IE/ml.

Medfølgende materialer

Kit-indhold

ELISA-komponenter	2-pladekit	Lab.-pakke til reference
Katalognr.	622120	622822
Microplate strips (12 x 8 wells) (Mikropladestrips (12 x 8 brønde)) dækket med murint anti-humant IFN- γ -monoklonalt museantistof	2 sæt mikropladestrips med 12 x 8 brønde	20 sæt mikropladestrips med 12 x 8 brønde
IFN- γ Standard (IFN- γ -standard), frysetørret (indeholder rekombinant humant IFN- γ , komælskasein, 0,01 % w/v Thimerosal)	1 x hætteglas (8 IE/ml, når det er rekonstitueret)	10 x hætteglas (8 IE/ml, når det er rekonstitueret)
Green Diluent (Grøn diluent) (indeholder komælskasein, normalt museserum, 0,01 % w/v Thimerosal)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Konjugat 100x-koncentrat), frysetørret (murint anti-humant IFN- γ -HRP, indeholder 0,01 % Thimerosal)	1 x 0,3 ml (når det er rekonstitueret)	10 x 0,3 ml (når det er rekonstitueret)
Wash Buffer 20x Concentrate (Vaskebuffer 20x koncentrat) (pH 7,2, indeholder 0,05 % v/v ProClin® 300)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Enzymsubstratopløsning) (indeholder H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetramethylbenzidin)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Enzymstandsingsopløsning) (indeholder 0,5 M H ₂ SO ₄)	1 x 15 ml	10 x 15 ml
<i>Brugsanvisning til QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA Kit</i>	1	1

Sættets komponenter

Kontroller og kalibratorer

QFT-Plus ELISA bruger en rekombinant human IFN- γ -standard, der er blevet analyseret med en IFN- γ -forberedelse som reference (NIH-ref: Gxg01-902-535).

Platform og software

QFT-Plus Analysis Software er valgfri og kan bruges til at analysere rådata og beregne resultater. Den kan downloades på www.qiagen.com.

Nødvendige materialer, som ikke medfølger

Yderligere reagenser

- QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes
- Deioniseret eller destilleret vand, 2 liter

Forbrugsartikler

- Pladelåg til en plade med 96 brønde
- Valgfrit: 1 ml-mikrorør med hætte i rack i et format med 96 brønde eller udækkede mikroplader med plastforsegling til opbevaring af plasma (22 patients pr. rack eller plade)
- Reagensbeholdere

Udstyr*

- 37 °C ± 1 °C-inkubator (med eller uden CO₂)
- Kalibrerede pipetter med variabelt volumen til tilførsel af 10 µl til 1000 µl med engangsspidser
- Kalibreret flerkanalspipette, som kan tilføre 50 µl og 100 µl med engangsspidser
- Mikropladeryster med hastigheder mellem 500 og 1000 omdr./min.
- Mikropladevasker (til forsvarlig håndtering af plasmaprøver anbefales en automatisk pladevasker)
- Mikropladelæser forsynet med 450 nm filter og 620 nm til 650 nm referencefilter
- Vortex med variabel hastighed
- Centrifuge til centrifugering af blodprøvetagningsrør ved mindst 3000 RCF (g)
- Graderet cylinder, 1 liter eller 2 liter

* Sørg for, at instrumenterne er blevet kontrolleret og kalibreret i henhold til producentens anbefalinger før brug.

Advarsler og forholdsregler

Bemærk: Alvorlige hændelser med relation til brugen af udstyret skal muligvis rapporteres til producenten og/eller dennes autoriserede repræsentant samt den ansvarlige myndighed i det land, hvor brugeren og/eller patienten befinder sig.

Til in vitro-diagnostisk brug.

Sikkerhedsinformation

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Yderligere information kan ses i de relevante sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er). Disse er tilgængelige online i et praktisk og kompakt PDF-format på adressen www.qiagen.com/safety, hvor det er muligt at finde, få vist og udskrive SDS'et for hvert QIAGEN-kit og alle kitkomponenter.

- Prøverne kan være smittefarlige. Prøve- og analyseaffald skal bortskaffes i henhold til lokale sikkerhedsprocedurer.
- Et negativt QFT-Plus-resultat udelukker ikke muligheden for *M. tuberculosis*-infektion eller tuberkulose: Falsk negative resultater kan skyldes infektionsstadiet (f.eks. prøve taget før udvikling af cellulær immunrespons), forkert håndtering af blodprøvetagningsrørene efter venepunktur, fejl i analysen eller andre individuelle immunologiske variabler, heriblandt dem, der er relateret til eventuelle ledsagesygdomme. Heterofile antistoffer eller uspecifik IFN- γ -produktion fra andre inflammatoriske tilstande kan skjule specifikke responser over for ESAT-6- eller CFP-10-peptider.
- Et positivt QFT-Plus-resultat bør ikke være den eneste eller den afgørende begrundelse for at fastslå infektion med *M. tuberculosis*. Fejlagtig analyse kan medføre falsk positive QFT-Plus-resultater.


- Et positivt QFT-Plus-resultat skal efterfølges af yderligere medicinsk vurdering for at konstatere aktiv tuberkulose (f.eks. Acid Fast Bacilli-udstygning og -dyrkning samt røntgenbillede af brystkassen).
- Mens ESAT-6 og CFP-10 mangler i alle BCG-stammer og de fleste kendte ikke-tuberkuløse mykobakterier, kan et positivt QFT-Plus-resultat skyldes infektion med *M. kansasii*, *M. szulgai* eller *M. marinum*. Hvis der er mistanke om sådanne infektioner, skal alternative test udføres.
- Et falsk negativt QFT-Plus-resultat kan skyldes forkert blodprøvetagning eller fejlhåndtering af prøven med deraf følgende indvirkning på lymfocytfunktionen. Se afsnittet Protokol: Udførelse af ELISA på side 20 vedrørende korrekt håndtering af blodprøver. Forsinket inkubation kan forårsage falsk negative eller ubestemmelige resultater, og andre tekniske parametre kan påvirke muligheden for at påvise en signifikant IFN- γ -respons.

Oplysninger til brug i nødstilfælde

CHEMTREC

Uden for USA og Canada: +1 703-527-3887

Forholdsregler

<p>FORSIGTIG</p> 	<p>Håndter humant blod som potentielt infektiøst.</p> <p>Overhold relevante retningslinjer for håndtering af blod. Bortskaf prøver og materialer, som har været i kontakt med blod eller blodprodukter, i overensstemmelse med nationale, regionale og lokale miljøbestemmelser.</p>
---	--

QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Indeholder svovlsyre. Advarsel! Kan være metalætsende. Forårsager hudirritation. Forårsager alvorlig øjenirritation. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Advarsel! Forårsager let hudirritation. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

QuantiFERON Green Diluent



Indeholder: tartrazin. Advarsel! Kan forårsage allergisk hudreaktion. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. Undgå udledning til miljøet.

Yderligere information

Sikkerhedsdatablade: www.qiagen.com/safety

- Thimerosal bruges som konserveringsmiddel i visse QFT-Plus-reagenser. Det kan være giftigt ved indtagelse, indånding eller kontakt med huden.
- Afvigelser fra *brugsanvisningen til QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)* kan forårsage fejlagtige resultater. Læs instruktionerne grundigt inden brug.
- Kittet må ikke anvendes, hvis en eller flere af reagensflaskerne viser tegn på beskadigelse eller lækage inden brug.
- **Vigtigt:** Inspicer hætteglassene før brug. Konjugat- eller IFN- γ Standard-hætteglas må ikke bruges, hvis der er tegn på skader, eller hvis gummiforseglingen er i stykker. Beskadigede hætteglas må ikke bruges. Træf de fornødne forholdsregler for at bortskaffe dem sikkert. Det anbefales at bruge en decrimper-tang til hætteglas til at åbne konjugat- eller IFN- γ Standard-hætteglas for at minimere risikoen for personskaade pga. metalforseglingen.
- Mikropladestrips, IFN- γ -standard, grøn diluent og konjugat 100x-koncentrat fra andre QFT-Plus-kitbatches må ikke blandes eller anvendes. Andre reagenser (vaskebuffer 20x koncentrat, enzymsubstratopløsning og enzymstandsningsoopløsning) kan udskiftes mellem kits, hvis reagenserne er inden for deres udløbsperioder, og lotdetaljerne er registreret.
- Bortskaf ubrugte reagenser og biologiske prøver i henhold til lokale, regionale og nationale bestemmelser.
- Anvend aldrig QFT-Plus ELISA-kits efter udløbsdatoen.
- Korrekte laboratorieprocedurer skal til enhver tid overholdes.
- Sørg for, at laboratorieudstyr, f.eks. pladevaskere og -læsere, er kalibreret/valideret til brug.

Opbevaring og håndtering af reagenser

Vær opmærksom på de udløbsdatoer og opbevaringsbetingelser, der er trykt på æsken og på etiketterne til samtlige komponenter. Brug aldrig for gamle eller ukorrekt opbevarede komponenter.

Stabilitet under brug

- ELISA-kittet opbevares ved 2–8 °C.
- Enzymsubstratopløsning skal altid beskyttes mod direkte sollys.

Rekonstituerede og ubrugte reagenser

- Se instruktioner i rekonstituering af reagenser i Protokol: Udførelse af ELISA på side 20.
- Den rekonstituerede kitstandard har en holdbarhed på op til 3 måneder, hvis den opbevares ved 2–8 °C.

Notér den dato, hvor kitstandarden blev rekonstitueret.

- Det rekonstituerede konjugat 100x koncentrat opbevares ved 2–8 °C og anvendes inden for 3 måneder.

Notér den dato, hvor konjugatet blev rekonstitueret.

- Konjugat med brugsstyrke skal anvendes inden for 6 timer efter fremstilling.
- Vaskebuffer med brugsstyrke kan opbevares ved stuetemperatur i op til 2 uger.
- Mikropladestrips er kun til engangsbrug. Ubrugte strips kan fjernes fra pladerammen og gemmes med henblik på senere brug.

Prøveopbevaring og -håndtering

Se *Brugsanvisning til QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes* (1123668) for at få flere oplysninger om proceduren for blodprøvetagning til QFT-Plus-testen.

Protokol: Udførelse af ELISA

Vigtige anvisninger før start

Opsætning (påkrævet tid til udførelse af analysen)

- For at opnå gyldige resultater fra QFT-Plus-analysen skal brugeren udføre en række specifikke opgaver inden for afgrænsede tidsintervaller. Før analysen udføres, anbefales det, at brugeren planlægger alle trin omhyggeligt for at have tilstrækkelig tid til at udføre dem. Den estimerede påkrævede tid er anført nedenfor; tiden til test af flere prøver, når de er samlede i batch, er også angivet.
 - Ca. 3 timer for én ELISA-plade
 - <1 times arbejde
 - Læg 10 til 15 minutter til for hver ekstra plade

IFN- γ ELISA

- Se "Kit-indhold" på side 11 og "Nødvendige materialer, som ikke medfølger" på side 13 for at få oplysninger om de påkrævede materialer til udførelse af ELISA.

Procedure

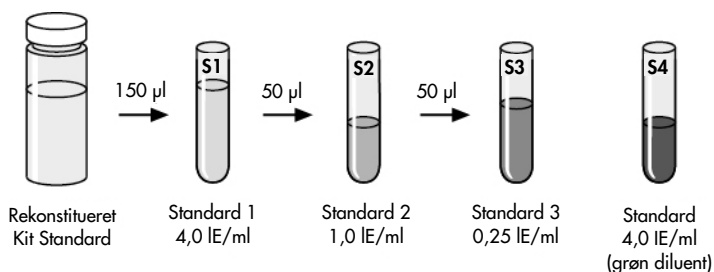
1. Alle plasmaprøver og reagenser, bortset fra konjugat 100x koncentrat, skal bringes til stuetemperatur ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) inden brug. Afsæt mindst 60 minutter til temperaturudligning.
2. Fjern de ELISA-pladestrips, der ikke er påkrævet, fra rammen, genforsegl dem i folieposen, og opbevar dem i køleskabet, indtil de skal bruges.
3. Anvend mindst 1 strip til QFT-Plus-standarden og et tilstrækkeligt antal strips til det antal personer, der skal testes (se figur 2 for at få oplysninger om det anbefalede

pladeformat). Gem rammen og låget efter brug med henblik på brug sammen med de resterende strips.

- 3a. Rekonstituer IFN- γ Standard med det volumen deioniseret eller destilleret vand, som er angivet på etiketten på hætteglasset. Bland forsigtigt for at minimere skumning og sikre, at alt indholdet i hætteglasset er helt opløst. Rekonstituering af IFN- γ -standarden til det angivne volumen vil give en opløsning med en koncentration på 8,0 IE/ml.
- 3b. Brug den rekonstituerede standard til at fremstille en fortyndingsserie på 4 IFN- γ -koncentrationer i grøn diluent (se figur 1 på næste side).
- 3c. Generer en standardkurve med følgende IFN- γ -koncentrationer:
- S1 (Standard 1) indeholder 4,0 IE/ml
 - S2 (Standard 2) indeholder 1,0 IE/ml
 - S3 (Standard 3) indeholder 0,25 IE/ml
 - S4 (Standard 4) indeholder 0 IE/ml (kun grøn diluent (Green Diluent, GD)).
- 3d. Standarderne skal som minimum analyseres med dobbeltbestemmelse.
- 3e. Fremstil friske fortyndinger af kitstandarden til hver ELISA-session.

Procedure

A	Etikettér 4 rør: S1, S2, S3, S4
B	Tilsæt 150 μ l GD i S1, S2, S3, S4
C	Tilsæt 150 μ l af kitstandarden i S1, og bland grundigt
D	Overfør 50 μ l fra S1 til S2, og bland grundigt
E	Overfør 50 μ l fra S2 til S3, og bland grundigt
F	GD alene fungerer som nulstandard (S4)



Figur 1. Forberedelse af seriel fortynding til standardkurven.

4. Rekonstituer frysetørret konjugat 100x koncentrat med 0,3 ml deioniseret eller destilleret vand. Bland forsigtigt for at minimere skumning og sikre, at alt indholdet i hætteglasset er helt opløst.
 - 4a. Konjugat med brugsstyrke fremstilles ved at fortynde den påkrævede mængde rekonstitueret konjugat 100x koncentrat i grøn diluent (tabel 1).
 - 4b. Konjugat med brugsstyrke skal anvendes inden for 6 timer efter fremstilling.
 - 4c. Sæt ubrugt konjugat 100x koncentrat på køl igen ved 2 °C til 8 °C straks efter brug.

Tabel 1. Klargøring af konjugat (brugsstyrke)

Antal strips	Konjugatvolumen (100x koncentrat)	Volumen af grøn diluent
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. Plasmaprøver, der er opsamlet fra blodprøvetagningsrør og efterfølgende opbevaret (i køleskab eller nedfrosset), skal blandes grundigt, før de tilsættes i ELISA-brønden. Plasmaprøver kan opbevares i QFT-Plus Blood Collection Tubes i køleskab i op til 28 dage ved en temperatur på 2-8 °C. Alternativt kan opsamlede plasmaprøver opbevares i op til 28 dage ved en temperatur på 2-8 °C. Opsamlede plasmaprøver kan også opbevares ved en temperatur på under -20 °C (helst under -70 °C) i længere perioder.

Plasmaprøverne kan overføres/bruges direkte fra centrifugerede blodprøvetagningsrør til måling på QFT-Plus ELISA-pladen.

Vigtigt: Hvis plasmaprøver skal overføres direkte fra de centrifugerede QFT-Plus Blood Collection Tubes, skal blanding af plasmaet undgås. Pas til enhver tid på ikke at hvirvle materialet på gelens overflade op.

6. Tilsæt 50 µl friskfremstillet konjugat med brugsstyrke til hver ELISA-pladebrønd.

7. Tilsæt 50 µl plasmaprøve fra testen i passende brønde (se det anbefalede ELISA-pladelayout i figur 2).
8. Tilsæt til sidst 50 µl af standard 1 til 4 i passende pladebrønde (se anbefalet ELISA-pladelayout i figur 2). Standarderne skal som minimum analyseres med dobbeltbestemmelse.

	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

Figur 2. Anbefalet ELISA-pladelayout. S1 (Standard 1), S2 (Standard 2), S3 (Standard 3), S4 (Standard 4). 1N (prøve 1. Nil-kontrolplasma), 1 TB1 (prøve 1. TB1-plasma), 1 TB2 (prøve 1. TB2-plasma), 1M (prøve 1. Mitogen-plasma).

9. Dæk ELISA-pladen, og bland konjugat og plasmaprøver/standarder grundigt ved hjælp af en mikropladeryster i 1 minut ved 500 til 1000 omdr./min. Undgå sprøjt.
10. Dæk ELISA-pladen, og inkuber dem ved stuetemperatur (22 °C ± 5 °C) i 120 ± 5 minutter. ELISA-pladen må ikke udsættes for direkte sollys under inkuberingen. Afvigelse fra det angivne temperaturområde kan medføre fejlagtige resultater.
11. Klargør vaskebuffer med brugsstyrke under inkubering af ELISA-pladen. Fortynd én del vaskebuffer 20x koncentrat med 19 dele deioniseret eller destilleret vand, og bland grundigt. Der er leveret tilstrækkeligt vaskebuffer 20x koncentrat til fremstilling af 2 liter vaskebuffer med brugsstyrke.
12. Når inkuberingen af ELISA-pladen er udført, vaskes ELISA-pladebrøndene i 400 µl vaskebuffer med brugsstyrke. Udfør vasketrinnet mindst 6 gange. Af sikkerhedsårsager anbefales det at bruge en automatisk pladevasker ved håndtering af plasmaprøver.

Grundig vask er meget vigtig for analysens ydeevne. Sørg for at fylde alle brønde helt op til kanten med vaskebuffer i hver eneste vaskecyklus. En iblødsætningsperiode på mindst 5 sekunder mellem hver cyklus anbefales.

Der bør tilsættes laboratoriedesinfektionsmiddel af standardtype til spildevandsreservoiret, og fastlagte procedurer for dekontaminering af potentielt infektøst materiale bør følges.

13. Bank ELISA-pladen let med oversiden nedad mod et fnugfrit absorberende klæde for at fjerne resterende vaskebuffer. Tilsæt 100 µl enzymsubstratopløsning til hver pladebrønd, dæk pladen, og bland grundigt ved hjælp af en mikropladeryster i mindst 1 minut ved 500-1.000 omdr./min.
14. Dæk ELISA-pladen, og inkuber ved stuetemperatur ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) i 30 minutter. ELISA-pladen må ikke udsættes for direkte sollys under inkuberingen.
15. Efter inkubation i 30 minutter tilsættes 50 µl enzymstandsningsoopløsning til hver pladebrønd i samme rækkefølge som den, der blev brugt ved tilsætning af substratet, og der blandes grundigt ved 500 til 1.000 omdr./min. ved hjælp af en mikropladeryster.
16. Mål den optiske densitet (OD) for hver ELISA-pladebrønd inden for 5 minutter efter standsning af reaktionen ved hjælp af en mikropladelæser forsynet med et 450 nm-filter og et 620 nm- til 650 nm-referencefilter. OD-værdier anvendes til beregning af resultater.

Resultater (beregninger)

QFT-Plus Analysis Software kan bruges til at analysere rådata og beregne resultater. Den kan downloades på www.qiagen.com. Sørg for at anvende den sidste nye version af QFT-Plus Analysis Software.

Softwaren udfører en kvalitetskontrolvurdering af analysen, genererer en standardkurve og leverer et testresultat for hver patient som beskrevet under "Fortolkning af resultater" på side 30. Softwaren rapporterer alle koncentrationer over 10 IE/ml som ">10", idet sådanne værdier ligger under det validerede lineære område for ELISA.

Som alternativ til brug af QFT-Plus Analysis Software kan resultaterne bestemmes med følgende metode.

Generering af standardkurve og prøveværdier

Hvis QFT-Plus Analysis Software ikke anvendes

Hvis QFT-Plus-softwaren ikke anvendes, skal der anvendes et regnearksprogram, f.eks. Microsoft® Excel®, til bestemmelse af standardkurven og IE/ml-værdier for prøver.

Brug af regnearksprogram

1. Bestem de gennemsnitlige OD-værdier for kitstandardens replikater på hver plade.
2. Konstruer en $\log_{(e)}-\log_{(e)}$ -standardkurve ved at afbilde $\log_{(e)}$ af den gennemsnitlige OD (y-akse) mod $\log_{(e)}$ af IFN- γ -koncentrationen i standarderne i IE/ml (x-akse), idet nulstandard udelades fra disse beregninger. Beregn den bedst tilpassede linje for standardkurven ved regressionsanalyse.
3. Benyt standardkurven til at bestemme IFN- γ -koncentrationen (IE/ml) for hver af testplasmaprøverne ved hjælp af OD-værdien for hver prøve.

4. Disse beregninger kan udføres ved hjælp af de softwarepakker, der følger med mikropladelæsere og standardregnearks- eller statistiksoftware (såsom Microsoft Excel). Det anbefales, at disse pakker anvendes til at beregne regressionsanalysen, variationskoefficienten (coefficient of variation, %CV) for standarderne og korrelationskoefficienten (r) for standardkurven.

Prøveberegning

Hvis følgende OD-aflæsninger blev foretaget for standarderne, ville beregningerne med $-\log(e)$ – følge de anførte i tabel 2.

Tabel 2. Standardkurve

Standard	IE/ml	OD-værdi a og b	Middel OD	%CV	Log _(e) IE/ml	Log _(e) middel, optisk densitet (Optical Density, OD)
Standard 1	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
Standard 2	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
Standard 3	0,25	0,114, 0,136	0,125	Ikke relevant	-1,386	-2,079
Standard 4	0	0,034, 0,037	0,036	Ikke relevant	Ikke relevant	Ikke relevant

Kurvens ligning er $y = 0,7885(X) - 0,9837$, hvor "m" = 0,7885 og "c" = -0,9837. Disse værdier bruges i ligningen $X = (Y-c)/m$ til at finde X. Ud fra standardkurven er den beregnede korrelationskoefficient (r) = 1,000. IR: Ikke relevant.

Analysens validitet bestemmes ud fra kriterierne i "Kvalitetskontrol af testen" på side 28.

Standardkurven (tabel 2) bruges til at konvertere antigen-OD-responserne til internationale enheder (IE/ml).

Tabel 3. Prøveberegning

Antigen	OD-værdi	Log _(e) OD-værdi	X	e ^x (IE/ml)	Antigen - 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 -værdierne (i IE/ml) for TB1, TB2 og Mitogen er korrigeret for baggrunden ved at fratække IE/ml-værdien for den respektive Nil-kontrol. Disse korrigerede værdier bruges til at fortolke testresultaterne.

Kvalitetskontrol af testen

Testresultaternes nøjagtighed afhænger af generering af en nøjagtig standardkurve. Derfor skal resultater for standarderne undersøges, inden testprøveresultaterne kan fortolkes.

Følgende er nødvendigt, for at ELISA er gyldig:

- Den gennemsnitlige OD-værdi for Standard 1 skal være $\geq 0,600$.
- %CV for replikatværdierne for Standard 1 og Standard 2 skal være ≤ 15 %.
- Replikat-OD-værdierne for Standard 3 og Standard 4 må ikke variere med mere end 0,040 OD-enheder i forhold til deres gennemsnit.
- Den ud fra de gennemsnitlige absorbansværdier for standarderne beregnede korrelationskoefficient (r) skal være $\geq 0,98$.
- Hvis ovennævnte kriterier ikke er opfyldt, er kørslen ugyldig og skal gentages.
- Den gennemsnitlige OD-værdi for nulstandard (grøn diluent) bør være $\leq 0,150$. Hvis den gennemsnitlige OD-værdi er $> 0,150$, bør pladevaskeproceduren undersøges nærmere.

QFT-Plus Analysis Software beregner og rapporterer disse kvalitetskontrolparametre.

Hvert laboratorium bestemmer sine passende typer af kontrolmaterialer og testfrekvens i henhold til lokale, regionale og nationale bestemmelser eller andre relevante akkrediteringsstyrelser. Ekstern kvalitetsvurdering og alternative valideringsprocedurer bør overvejes.

Bemærk: Plasmaer, der er blandet med rekombinant IFN- γ har udvist reduktioner i koncentration på op til 50 % under opbevaring ved 2–8 °C og –20 °C. Rekombinant IFN- γ anbefales ikke til etablering af kontrolstandarder.

Fortolkning af resultater

QFT-Plus-resultater fortolkes ved brug af nedenstående kriterier (tabel 4).

Vigtigt: Diagnosticering eller udelukkelse af tuberkulose og vurdering af muligheden for LTBI kræver en kombination af epidemiologiske, historiske, medicinske og diagnostiske fund, der skal tages med i betragtning ved fortolkning af QFT-Plus-resultater. Se de generelle retningslinjer for diagnosticering og behandling af TB-sygdom og LTBI:

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

Tabel 4. Fortolkning af QFT-Plus-testresultater

Nil (IE/ml)	TB1 minus Nil (IE/ml)	TB2 minus Nil (IE/ml)	Mitogen minus Nil (IE/ml)*	QFT-Plus-resultat	Rapport/fortolkning
≤8,0	≥0,35 og ≥25 % af Nil	Alle	Alle	Positiv†	<i>M. tuberculosis</i> -infektion sandsynlig
	Alle	≥0,35 og ≥25 % af Nil			
	<0,35 eller ≥0,35 og <25 % af Nil	<0,35 eller ≥0,35 og <25 % af Nil	≥0,50	Negativ‡	<i>M. tuberculosis</i> -infektion IKKE sandsynlig
	<0,35 eller ≥0,35 og <25 % af Nil	<0,35 eller ≥0,35 og <25 % af Nil	<0,50	Ubestemmeligt‡	Sandsynligheden for <i>M. tuberculosis</i> -infektion kan ikke bestemmes
>8,0§	Alle				

* Responser på den Mitogen-positive kontrol (og fra tid til anden TB-antigen) kan være uden for mikropladelæserens område. Dette har ingen betydning for testresultater. Værdier >10 IE/ml rapporteres af QFT-Plus-softwaren som >10 IE/ml.

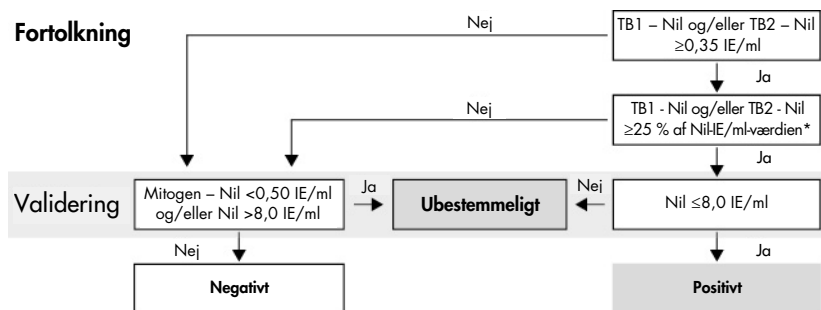
† Hvis der ikke er mistanke om *M. tuberculosis*-infektion, kan positive resultater bekræftes ved at teste de oprindelige plasmaprøver igen med dobbeltbestemmelse i QFT-Plus ELISA. Hvis gentagne test af én af replikaterne eller begge replikater er positive, skal testen vurderes som positiv.

‡ Mulige årsager kan ses under "Fejlfindingsvejledning" på side 66.

§ I kliniske forsøg havde under 0,25 % af patienterne IFN- γ -niveauer på >8,0 IE/ml for Nil-værdi.

Størrelsen på det målte IFN- γ -niveau korrelerer ikke med stadiet eller graden af infektion, niveauet for immunologisk respons eller sandsynligheden for udviklingen af aktiv sygdom.

En positiv TB-respons hos personer, som er negative overfor Mitogen, er sjælden, men er set hos patienter med TB-sygdom. Dette indikerer, at IFN- γ -responsen på TB-antigener er større end responsen på Mitogen, hvilket er muligt, da niveauet af Mitogen ikke stimulerer IFN- γ -produktionen maksimalt via lymfocytter.



Figur 3. Fortolkning af QFT-Plus-test. *Værdien for TB1 minus Nil eller TB2 minus Nil er kun valid, hvis $\geq 25\%$ af Nil-IE/ml-værdien er fra det samme rør som det oprindelige $\geq 0,35$ IE/ml-resultat.

Begrænsninger

Resultaterne af QFT-Plus-test skal anvendes i sammenhæng med hver enkelt persons epidemiologiske anamnese, aktuelle helbredstilstand og andre diagnostiske vurderinger.

Prøver fra personer med Nil-værdier, der er højere end 8 IE/ml, klassificeres som "Ubestemmelig", da en 25 % højere respons på TB-antigener kan være uden for analysens måleområde.

- Et positivt QFT-Plus-resultats prædiktive værdi i forbindelse med diagnosticering af *M. tuberculosis*-infektion afhænger af risikoen for infektion, som blandt andet vurderes ud fra historiske, epidemiologiske og diagnostiske fund.
- Diagnosen LTBI forudsætter udelukkelse af tuberkulose ved medicinsk vurdering, herunder vurdering af aktuelle medicinske og diagnostiske tests for sygdom som indikeret.
- Et negativt resultat skal vurderes under hensyntagen til patientens medicinske og historiske data i forhold til risikoen for *M. tuberculosis*-infektion og risikoen for udvikling af tuberkulose, især hvis der er tale om patienter med nedsat immunforsvar.

Upålidelige eller ubestemmelige resultater kan forekomme som følge af:

- Afvigelser fra proceduren i brugsanvisningen
- Fejlagtig transport/håndtering af blodprøve
- Forhøjede niveauer af cirkulerende IFN- γ eller tilstedeværelse af heterofile antistoffer
- Overstigelse af validerede blodtider fra blodprøveudtagning til inkubering. Se *Brugsanvisning til QFT-Plus Blood Collection Tubes* (1 123668).

Ydelseskarakteristika

Kliniske undersøgelser

Da der ikke findes en definitiv standardtest til bekræftelse eller udelukkelse af diagnosen LTBI, kan et estimat af sensitiviteten og specificiteten for QFT-Plus ikke vurderes i praksis. Tilnærmet specificitet for QFT-Plus blev bestemt ved at vurdere rater for falsk positive resultater blandt personer med lav risiko (ingen kendte risikofaktorer) for tuberkuloseinfektion. Tilnærmet sensitivitet blev bestemt ved at vurdere grupper af forsøgspersoner med aktiv TB-sygdom, der er bekræftet ved dyrkning. Derudover blev analysens ydeevne vurderet med hensyn til rater for positive og negative resultater i en population bestående af raske personer med identificerede risikofaktorer for tuberkuloseinfektion (en population med forskellige risikofaktorer).

Specificitet

Der blev udført et forsøg på flere centre for at vurdere den kliniske specificitet for QFT-Plus. I forsøget deltog 733 forsøgspersoner, som ansås for enten at have lav risiko for *M. tuberculosis*-infektion eller ingen risikofaktorer for eksponering for infektion eller sygdom. Demografiske oplysninger og risikofaktorer for TB blev bestemt ved hjælp af en standardiseret undersøgelse på tidspunktet for testen. Forsøget blev udført på fire forskellige teststeder: ét teststed i USA, to teststeder i Japan og ét teststed i Australien. QFT-Plus-testen blev sammenlignet med testen QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT). En oversigt over dataene for ydeevne med hensyn til klinisk specificitet, stratificeret efter forsøgssted og -region, kan ses i tabel 5. Resultaterne for ydeevne er baseret på det samlede antal valide tests. Der var ingen ubestemmelige resultater.

Tabel 5. QFT-Plus-specificitet i en population med lav risiko

Teststed	N	Positiv		Negativt		Ubestemmeligt		Specificitet (95 % CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
USA									
(Nr. 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									
(Nr. 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)
(Nr. 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)
Japan samlet set	322	4	7	318	315	0	0	98,76 % (318/322) (96,85- 99,52)	97,83 % (315/322) (95,6-98,9)
Australien									
(Nr. 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)

Specificiteten for QFT-Plus var 98,11 % i USA, 97,83 % i Japan og 95,48 % i Australien. Den generelle specificitet for QFT-Plus var 97,27 % (713/733). Specificiteten for QFT var 99,06 % i USA, 98,76 % i Japan og 95,98 % i Australien. Den generelle specificitet for QFT var 98,09 % (719/733).

En oversigt over resultaterne efter TB-antigenrørtype og kombinationer af rør er vist for at give et eksempel på de forventede resultater i en population med lav risiko (tabel 6).

Tabel 6. Forsøgsresultater for QFT-Plus-specificitet baseret på TB-antigenrør

Fortolkning baseret på TB-antigen-Nil IE/ml i	TB1	TB2	QFT-Plus (positivt baseret på TB1 og/eller TB2)*	Samstemmende positivt for TB1 og TB2 (alternativ analyse) [†]
Positivt	10	18	20	8
Negativt	723	715	713	725
Ubestemmeligt	0	0	0	0
Specificitet (95 % CI)	–	–	97,3 % (713/733) (95,8-98,2)	–
Negativitetsfrekvens (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)

* Fortolkning baseret på en værdi for TB-antigen – Nil på $\geq 0,35$ IE/ml for begge TB-rør (TB1 og TB2) eller ét af dem for opnåelse af et positivt resultat i henhold til fortolkningskriterierne for QFT-Plus (TB1 eller TB2).

[†] Dataene for den alternative analyse er kun beregnet til information.

Blandt de forsøgspersoner, der havde lav risiko for TB-infektion, returnerede i alt 20/733 et positivt resultat. Af disse returnerede kun 8 forsøgspersoner en værdi på $>0,35$ IE/ml for både TB1- og TB2-rør. Der blev foretaget en sammenligning af analyserne QFT og QFT-Plus for forsøgskohorten med lav risiko, og her blev der påvist en generel overensstemmelse på 97,5 % (715/733) og en negativ procentvis overensstemmelse på 98,3 % (707/719).

Sensitivitet

Selv om der ikke er nogen definitiv standardtest for LTBI, udgør mikrobiologisk dyrkning af *M. tuberculosis* et passende surrogat, da sygdommen forudsætter TB-infektion.

Der blev udført et forsøg på flere centre for at vurdere den kliniske sensitivitet for QFT-Plus. I forsøget deltog 434 forsøgspersoner, som viste tegn og symptomer på aktiv

M. tuberculosis-sygdom, bekræftet ved dyrkning og/eller PCR, og ikke var i behandling for TB eller kun var blevet behandlet for TB \leq 14 dage inden blodprøvetagning. Forsøget blev udført på 7 forskellige teststeder: tre teststeder i USA, tre teststeder i Japan og ét teststed i Australien. QFT-Plus-testen blev sammenlignet med testen QuantiFERON-TB Gold in Tube (QFT). En oversigt over dataene for ydeevne med hensyn til klinisk sensitivitet, stratificeret efter forsøgssted og -land, kan ses i tabel 7. Resultaterne for ydeevne er baseret på det samlede antal valide tests. Forekomsten af ubestemmelige resultater for QFT og QFT-Plus var henholdsvis 2,3 % (10/434) og 2,5 % (11/434).

Tabel 7. Oversigt over forsøgsresultater for ydeevne med hensyn til klinisk sensitivitet stratificeret efter teststed og -land samt generelle data

Teststed	N	Positivt		Negativt		Ubestemmeligt		Sensitivitet (95 % CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
USA									
(Nr. 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)
(Nr. 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)
(Nr. 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)
USA samlet set	53	47	47	6	6	0	0	88,7% (47/53) (77,4-94,7)	88,7 % (47/53) (77,4-94,7)
Japan									
(Nr. 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)
(Nr. 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)

Tabellen fortsættes på næste side

Tabellen fortsat fra foregående side

Tablet 7. Oversigt over forsøgsresultater for ydeevne med hensyn til klinisk sensitivitet stratificeret efter teststed og -land samt generelle data (fortsat)

Teststed	N	Positivt		Negativt		Ubestemmeligt		Sensitivitet (95 % CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
(Nr. 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)
Japan samlet set	352	328	322	15	19	9	11	95,63 % (328/343) (92,91- 97,33)	94,43 % (322/341) (91,5-96,4)
Australien									
(Nr. 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)

Analysen i tabellen ovenfor omfatter ikke ubestemmelige resultater.

Sensitiviteten for QFT-Plus var 88,7 % i USA, 94,43 % i Japan og 100,0 % i Australien. Den generelle sensitivitet for QFT-Plus var 94,09 % (398/423). Sensitiviteten for QFT var 88,7 % i USA, 95,63 % i Japan og 96,43 % i Australien. Den generelle sensitivitet for QFT var 94,81 % (402/424).

En oversigt over resultaterne efter TB-antigenrørtype og kombinationer af rør er vist for at give et eksempel på de forventede resultater i en population med bekræftet TB-infektion (tabel 8).

Tabel 8. Forsøgsresultater for QFT-Plus-sensitivitet baseret på TB-antigenrør

Fortolkning baseret på TB-antigen-Nil i IE/ml	QFT-Plus (positivt baseret på TB1 og/eller TB2)		
	TB1	TB2	
Positiv	388	397	398
Negativt	32	26	25
Ubestemmeligt	14	11	11
Sensitivitet* (95 % CI)	–	–	94 % (398/423) (91,4-96,0)
Positivitetsfrekvens* (95 % CI)	92,4 % (388/420) (89,4-94,6)	93,9 % (397/423) (91,1-95,8)	–

* Med undtagelse af ubestemmelige værdier.

Der blev foretaget en sammenligning af analyserne QFT og QFT-Plus for den kohorte, hvor aktiv TB var blevet bekræftet ved dyrkning (sensitivitetsforsøgskohorten), og her blev der påvist en generel overensstemmelse på 95,9 % og en positiv procentvis overensstemmelse på 97,3 % (391/402).

Tabel 9. QFT-Plus-sandsynlighedsforhold

Teststed*	Sensitivitet	Specificitet	LR+	LR-
Australien	100,00 %	95,48 %	22,11	0,00
Japan	94,43 %	97,83 %	43,44	0,06
USA	88,68 %	98,11 %	47,00	0,12

* Samlet set

Ydeevne hos personer med identificerede risikofaktorer for MTB-infektion (personer med forskellige risikofaktorer)

En kohorte bestående af 601 personer med forskellige risikofaktorer for TB-infektion (f.eks. HIV-positivitet, anamnese med hensyn til behandling for aktiv eller latent TB, eksponering for aktiv TB og status som sundhedsmedarbejder blev vurderet ved både QFT- og QFT-Plus-tests. Risikofaktorer blev identificeret via en standardiseret undersøgelse, og personerne udviste ingen symptomer, der er forbundet med aktiv TB, på rekrutteringstidspunktet. Demografiske oplysninger og risikofaktorer er angivet i tabel 10. I denne population returnerede 68/601 personer (11,3 %) et positivt QFT-Plus-resultat med en positiv procentvis overensstemmelse (Positive Percent Agreement, PPA) og negativ procentvis overensstemmelse (Negative Percent Agreement, NPA) på henholdsvis 98,44 % og 99,07 % (tabel 11). I denne kohorte med 68 QFT-Plus-positive personer var i alt 62 personer positive med både TB1- og TB2-rør, 2 personer var kun positive med TB1, og 4 personer var kun positive med TB2. Der blev ikke observeret ubestemmelige resultater (0/601).

Table 10. Demografiske oplysninger og faktorer, der er forbundet med risiko for TB-infektion, i en blandet kohorte

Antal personer i alt (601)		Antal	Procent
Køn	Mand	539	89,7 %
	Kvinde	62	10,3 %
Alder (år)	Aldersgruppe	18-70	–
	Middelværdi	46,7	
BCG-vaccineret	Ja	15	2,5 %
	Nej	586	97,5 %
HIV-positiv eller testet positiv for HTLV-vira	Ja	12	2,0 %
	Nej	589	98 %
Tidligere diagnosticeret med aktiv TB	Ja	11	1,8 %
	Nej	590	98,2 %
Har haft en positiv tuberkulin-hudprøvetest (Tuberculin Skin Test, TST)/Mantoux-test for TB	Ja	47	7,8 %
	Nej	554	92,2 %
Er blevet behandlet for aktiv eller latent TB	Ja	35	5,8 %
	Nej	566	94,2 %
Har været indsat eller arbejdet, eventuelt som frivillig (>1 måned), i et fængsel	Ja	373	62,1 %
	Nej	228	37,9 %
Har boet eller arbejdet, eventuelt som frivillig (>1 måned), på et herberg for hjemløse	Ja	525	87,4 %
	Nej	76	12,6 %
Sundhedsmedarbejder	Ja	8	1,3 %
	Nej	593	98,7 %
Nærkontakt med en person, som har eller mistænkes for at have aktiv TB-sygdom	Ja	9	1,5 %
	Nej	592	98,5 %

Table 11. Overview of agreement for QFT-Plus ift. QFT in persons with known risk factors for latent TB-infection

		QFT		
		Positiv (+)	Negativ (-)	I alt
QFT-Plus	Positiv (+)	63	5*	68
	Negativ (-)	1*	532	533
	I alt	64	537	601

*Alle 6 uoverensstemmende prøver havde IFN- γ -niveauer for TB-antigenrør, der lå tæt på analysens cut-off-værdi.

The positive percent agreement (Positive Percent Agreement, PPA) and negative percent agreement (Negative Percent Agreement, NPA) between the results for QFT and QFT-Plus were as follows:

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

The agreement for the QFT-Plus test ift. the QFT test in BCG-vaccinated trial persons is shown in table 12 below.

Table 12. Agreement for QFT-Plus test ift. QFT test in BCG-vaccinated trial persons (combined data for sensitivity-, specificity- and LTBI-trial)

		QFT		
		Positiv (+)	Negativ (-)	I alt
QFT-Plus	Positiv (+)	66	5	71
	Negativ (-)	3	268	271
	I alt	69	273	342*

* 2 trial persons from the sensitivity trial were excluded from the analysis due to indeterminate results

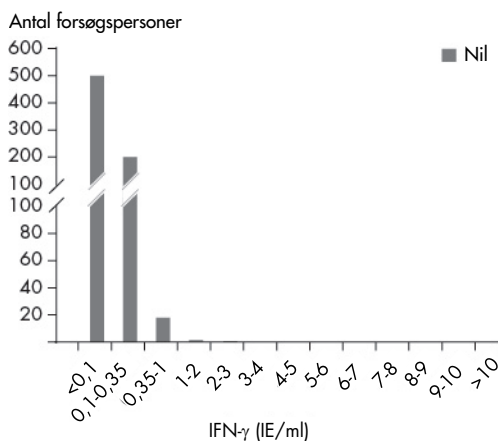
- PPA = 95,6 % (66/69), 95 % CI (87,98 og 98,51)
- NPA = 98,2 % (268/273), 95 % CI (95,79 og 99,22)

Forventede værdier

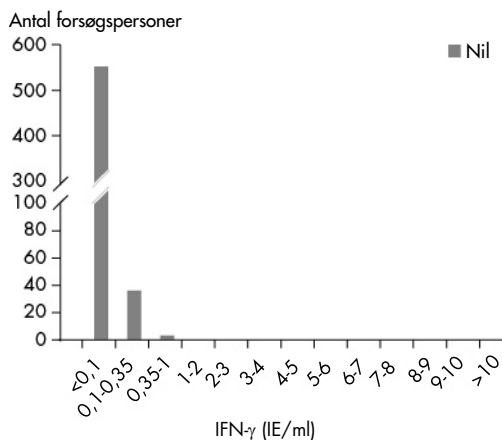
Observerede fordelinger af respons – stratificeret efter risiko

En række IFN- γ -respons på TB1-, TB2- og kontrolrør blev observeret i kliniske undersøgelser og stratificeret efter risiko for *M. tuberculosis*-infektion (figur 4 til figur 7). Den blandede risikogruppe består af personer, som repræsenterer en generel testpopulation, herunder personer med og uden risikofaktorer for TB-eksponering, og hvor aktivt TB er usandsynligt (dvs. LTBI).

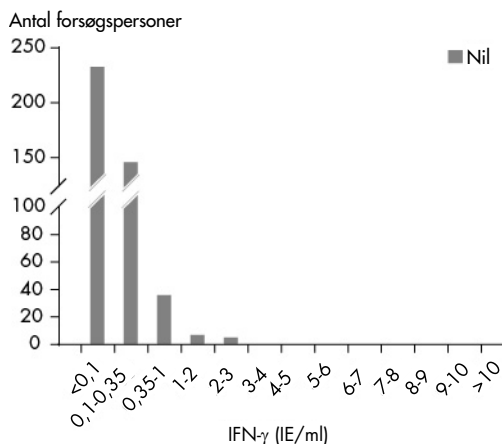
A



B

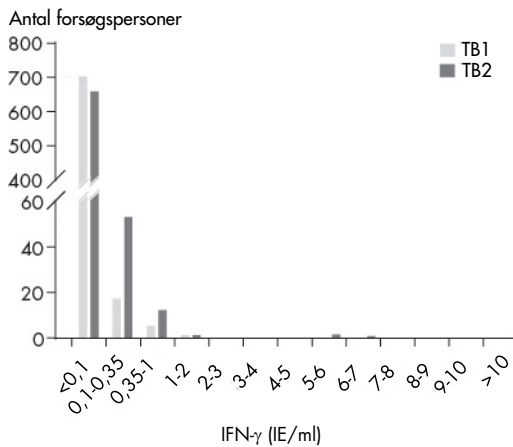


C

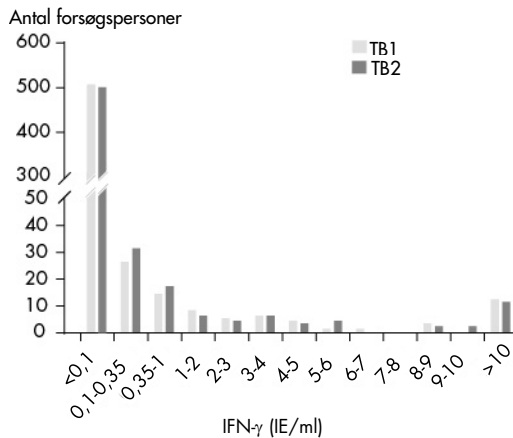


Figur 4. Fordeling af Nil-værdier. A. Fordeling af Nil-værdier i en population med lav risiko (n=744). B. Fordeling af Nil-værdier i en population med forskellige risikofaktorer (n=601). C. Fordeling af Nil-værdier i en population med *M. tuberculosis*-infektion bekræftet ved dyrkning (n=416).

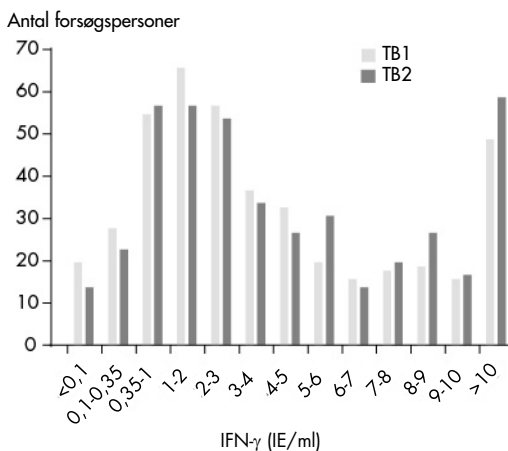
A



B

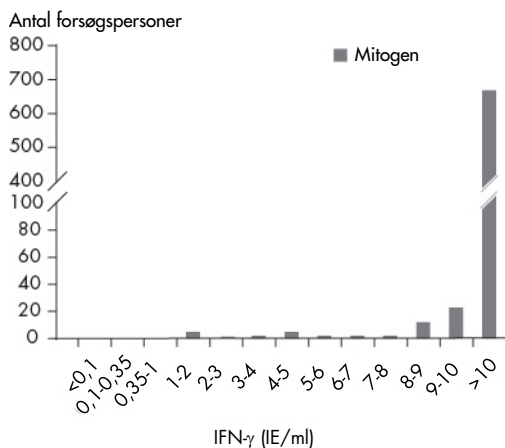


C

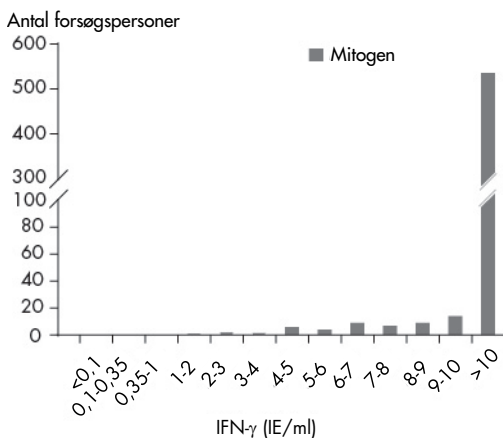


Figur 5. Fordeling af TB1 og TB2 (Nil fratrukket). A Fordeling af TB1- og TB2-værdier (Nil fratrukket) i en population med lav risiko (n=744). B. Fordeling af TB1- og TB2-værdier (Nil fratrukket) i en population med forskellige risikofaktorer (n=601). C Fordeling af TB1- og TB2-værdier (Nil fratrukket) i en population med *M. tuberculosis*-infektion bekræftet ved dyrkning (n=416).

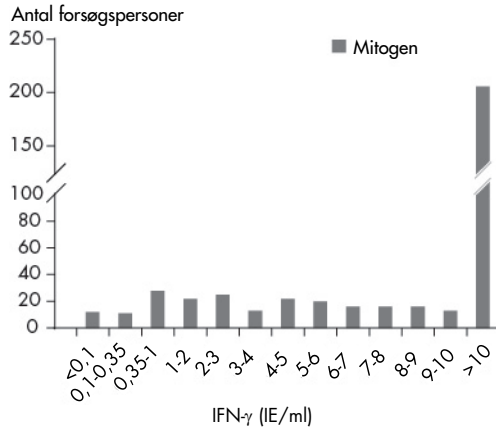
A



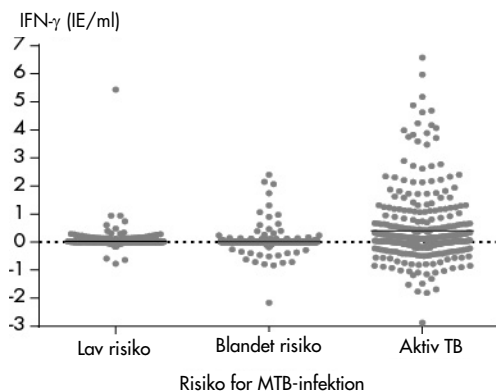
B



C



Figur 6. Fordeling af Mitogen-værdier (Nil fratrukket). A. Fordeling af Mitogen-værdier (Nil fratrukket) i en population med lav risiko (n=744). B. Fordeling af Mitogen-værdier (Nil fratrukket) i en population med forskellige risikofaktorer (n=601). C. Fordeling af Mitogen-værdier (Nil fratrukket) i en population med *M. tuberculosis*-infektion bekræftet ved dyrkning (n=415).



Figur 7. Observeret forskel mellem TB1- og TB2-værdier (Nil fratrukket), stratificeret efter risiko. Dataene omfatter data fra forsøgskohorten med forskellige risikofaktorer for at vise forskellene mellem kohorterne med lav risiko, aktiv risiko og forskellige risikofaktorer. Denne dataanalyse omfattede en kohorte med forskellige kendte risikofaktorer: Fra kohorten med lav risiko var $n=733$, fra kohorten med forskellige risikofaktorer var $n=588$, og fra kohorten med aktiv TB var $n=357$. Den kvantitative forskel med hensyn til IE/ml for hver person blev opnået ved at trække TB1-værdien fra TB2-værdien.

Oversigt over sikkerhed og ydeevne

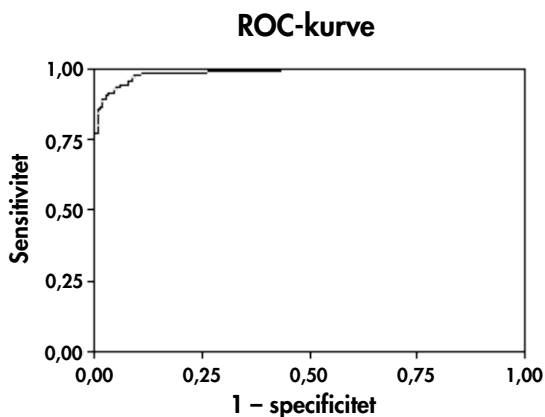
Oversigten over sikkerhed og ydeevne kan ses på webstedet for EUDAMED.

Analysens ydelseskarakteristika

Analytisk ydeevne

Analyse-cut-off

Cut-off-værdien for QFT-Plus-analysen blev bestemt ud fra data fra 216 forsøgspersoner, som ikke havde identificerede risikofaktorer for TB-eksponering, og som var blevet BCG-vaccineret og formodedes at være fri for infektion, samt 118 forsøgspersoner med *M. tuberculosis*-infektion bekræftet ved dyrkning. Sensitivitets- og specificitetsdataene blev kombineret og analyseret ved en ROC-kurveanalyse (Receiver Operator Characteristic-kurveanalyse). Sensitivitets- og specificitetsdataene, der blev analyseret ved hjælp af ROC-analysen, viste, at den optimale ELISA-cut-off var 0,35 IE/ml (se figur 8).



Figur 8. ROC-kurve for ESAT-6- og CFP-10-responser.

Tabel 13. Sensitivitets- og specificitetsværdier for ELISA ved forskellige cut-off-værdier

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

Tabellen fortsættes på næste side

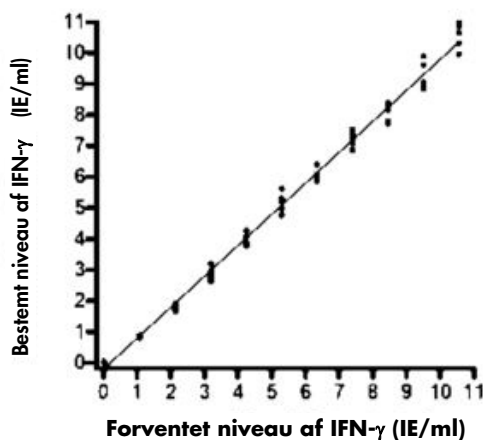
Tabellen fortsat fra foregående side

Tabel 13. Sensitivitets- og specificitetsværdier for ELISA ved forskellige cut-off-værdier

Cutoff-IE/ml for IFN- γ	Sensitivitet (%)	95 % CI	Specificitet (%)	95 % CI	Sensitivitet + specificitet
0,47	85,59	77,94 % til 91,38 %	99,08	96,71 % til 99,89 %	184,67
0,48	84,75	76,97 % til 90,70 %	99,08	96,71 % til 99,89 %	183,83
0,50	83,90	76,00 % til 90,02 %	99,08	96,71 % til 99,89 %	182,98

Linearitet

QFT-Plus ELISA har vist sig at være lineær ved at placere 5 replikater af 11 plasmapools med kendte IFN γ -koncentrationer tilfældigt på ELISA-pladen. Den lineære regressionslinje har en hældning på $1,002 \pm 0,011$ og en korrelationskoefficient på 0,99 (figur 9).



Figur 9. Illustration af regressionsanalyse af linearitetsforsøg – gennemsnit af høj pool = $-0,24 + 0,9964 \cdot \text{forventet}$.

Reproducerbarhed

Der blev udført et reproducerbarhedsforsøg på flere centre for at evaluere ydeevnen for QFT-Plus på tværs af forsøgssteder med flere brugere. Der var tale om et prospektivt forsøg, som blev udført på tre eksterne testcentre og ét prøvetagningssted. I alt 32 positive og 34 negative forsøgspersoner (bestemt ved QFT-test) deltog i forsøget. Forsøgspersonerne var sundhedsmedarbejdere i USA. Forsøgspersonerne repræsenterede en gruppe med forskellige risikofaktorer for TB-eksponering i kraft af deres job eller deres udenlandske herkomst fra et sted med en TB-rate på over 50/100.000.

På prøvetagningsstedet blev der tappet blod i tre blodprøvetagningsrør med lithiumheparin pr. forsøgsperson. Blodprøvetagningsrørene med lithiumheparin blev derefter overført til de tre testcentre, hvor de blev alikvoteret i to sæt QFT-Plus Blood Collection Tubes (QFT-Plus TB1, TB2, Mitogen og Nil) og derefter testet i henhold til QFT-Plus-analyseproceduren. På hvert center kørte mindst to brugere de to tests pr. forsøgsperson uafhængigt af hinanden. Hver bruger blev blindet for de resultater, der blev opnået af den anden bruger, og for resultatet af QFT-testen for hver forsøgsperson.

Der blev genereret seks resultater på tværs af de tre testcentre for hver af de 66 forsøgspersoner, hvilket gav i alt 396 datapunkter. Tabel 14 viser en oversigt over reproducerbarhedsresultaterne.

Tabel 14. Oversigt over resultater fra reproducerbarhedsforsøg – procentvis overensstemmelse inden for samme center af de kvalitative resultater mellem brugerne; N = 66 patientprøver

Center 1 – 2 brugere	Center 2 – 2 brugere	Center 3 – 3 brugere
64/66 = 96,97 %	64/66 = 96,97 %	59/66 = 89,39 %
Overensstemmelse mellem kvalitative resultater for rørsæt 1 og rørsæt 2	Overensstemmelse mellem kvalitative resultater for rørsæt 1 og rørsæt 2	Overensstemmelse mellem kvalitative resultater for rørsæt 1 og rørsæt 2

Den kvalitative procentvise overensstemmelse på tværs af alle forsøgssteder er 94,7 % (375/396). I denne beregning omfatter det samlede antal overensstemmende testresultater (375) de tilfælde, hvor der er overensstemmelse mht. alle 6 resultater, overensstemmelse mht. 5 ud af 6 resultater, overensstemmelse mht. 4 ud af 6 resultater og overensstemmelse mht. 3 ud af 6 resultater (kombineret).

Repeterbarhed mellem lots

Der blev udført et forsøg for at bestemme variabiliteten mellem lots for QFT-Plus Blood Collection Tubes i forhold til QFT-rør. I alt 30 forsøgspersoner (15 bekræftet TB-positive og 15 bekræftet TB-negative bestemt ved QFT-test) blev testet. Dette forsøg omfattede tre separate lots fra hver rørtype, dvs. henholdsvis QFT-Plus TB1, TB2 og QFT TB Blood Collection Tubes. Der blev testet tre replikater pr. donor pr. lot med blodprøvetagningsrør. Nil- og Mitogen-rør blev hver især testet med én replikat.

Blod fra hver forsøgsperson blev opsamlet i blodprøvetagningsrør med lithiumheparin, og derefter blev 1 ml blod overført til hvert rør af typen QFT og QFT-Plus Blood Collection Tubes og testet i henhold til analyseproceduren. For hver gruppe med positive og negative prøver måtte den samlede varians for resultaterne for QFT-Plus-rørene ikke være signifikant større end den samlede varians for resultaterne for QFT-rørene. Dette blev bestemt ud fra den p-værdi, der blev opnået ved Levenes HOV-test (Homogeneity of Variance, HOV). Hvis p-værdien ikke var signifikant ($p > 0,05$) og/eller variationen for QFT-Plus TB-rørene var mindre end variationen for QFT TB-røret, var der varians mellem QFT-Plus TB- og QFT TB-rørene.

Tablet 15. Sammenligning af varians mellem blodprøvetagningsrør af typen QFT-Plus TB og QFT TB ved brug af Levenes HOV-test

Prøvetype	Forskel	Effekt	Afhængighed	P-værdi	Signifikant
Positiv	TB2 ift. QFT	Sub_Type	Rest	0,0378	Ja
Positiv	TB2 ift. QFT	Sub_Type	Rest	0,0540	Nej
Negativt	TB2 ift. QFT	Sub_Type	Rest	0,1025	Nej
Negativt	TB2 ift. QFT	Sub_Type	Rest	0,6344	Nej

Variationen mellem blodprøvetagningsrørene af typen QFT-Plus TB og QFT TB var ikke signifikant med undtagelse af QFT-Plus TB2-røret ved test af positive prøver fra forsøgspersoner. Ved analyse af den estimerede standardafvigelse var den registrerede variation for QFT-Plus TB2-røret mindre (0,06089) end variationen for QFT TB-røret (0,07641) som vist i tabel 16. Variansen for blodprøvetagningsrørene af typen QFT-Plus TB1 og TB2 var altså ikke større end variansen for blodprøvetagningsrøret af typen QFT TB.

Tabel 16. Standardafvigelse for rest og 95 %-konfidensinterval for positive forsøgspersoner

Prøvetype	Undertype	Estimeret standardafvigelse	95 % LCL	95 % UCL
Positiv	QFT	0,07641	0,06826	0,08680
Positiv	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Positiv	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

Repeterbarhed mellem lots

Der blev udført et forsøg med det formål at vurdere reproducerbarheden mellem lots for QFT-Plus Blood Collection Tubes ved sammenligning af IFN- γ -koncentrationen fra replikater af blodprøver fra blodprøvetagningsrør af typen QFT-Plus TB.

Seks alikvoter af én blodprøve fra de samme forsøgspersoner med bekræftet TB-infektion blev kørt i 6 blodprøvetagningsrør fra ét lot af begge typer QFT-Plus-rør (TB1 og TB2). 13 forsøgspersoner blev testet. Den procentvise variationskoefficient (%CV) blev beregnet for hver donor og på tværs af alle donorer for at opnå en middelværdi for %CV som vist i tabel 17.

Tabel 17. %CV for middelværdi, standardafvigelse, minimum, median og maksimum i hvert blodprøvetagningsrør af typen QFT-Plus TB med blod fra TB-positive forsøgspersoner

QFT-Plus-rør	Prøvestørrelse	Middel (%CV)	Standardafvigelse	Minimum	Median	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

Resultaterne viste, at middelværdien for %CV for TB1 og TB2 var ~13 %, hvilket betød, at godkendelseskriterierne på ≤ 30 % var opfyldt, og at der var repeterbarhed mellem lots.

Tomgrænse (Limit of Blank, LoB)

Tomgrænsen (Limit of Blank, LoB) blev evalueret i forhold til QFT-Plus-analysen. To replikater af hver 14 individuelle normale humane plasmaprøver (som tomprøver) blev testet med 2 lots af QFT-Plus ELISA af 3 brugere på 3 testdage, én bruger pr. testdag, hvilket gav i alt 84 replikater fra hvert ELISA-kitlot.

LoB-værdierne (IE/ml) for de 2 ELISA-kitlots blev beregnet separat som vist i tabel 18.

Tabel 18. LoB-værdier (IE/ml) for de 2 QFT-Plus ELISA-kitlots

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

Den højeste LoB-værdi, 0,040 IE/ml, for begge QFT-Plus ELISA-kitlots, blev rapporteret som den endelige LoB-værdi.

Påvisningsgrænse (Limit of Detection, LoD)

Påvisningsgrænsen (Limit of Detection, LoD) blev evalueret i forhold til QFT-Plus-analysen. Der blev genereret en TB-negativ human plasmapool ved at kombinere 14 individuelle plasmaprøver. Hver af de 3 brugere klargjorde en IFN- γ -referencestandardstamme ved 1,0 IE/ml fortyndet i buffer. Derefter blev der lavet en fortyndingsserie bestående af 8 koncentrationer. Forsøget blev udført over 3 dage af 3 vekslende brugere ved hjælp af 2 QFT-Plus ELISA-kitlots. På hver testdag blev der testet 5 replikater af hver koncentration pr. sæt af de serielle fortyndingsserier, hvilket gav i alt 45 replikater pr. fortyndet IFN- γ -koncentration pr. QFT-Plus ELISA-kitlot.

LoD-værdien for hvert testet QFT-Plus ELISA-kitlot blev beregnet separat som vist i tabel 19.

Tabel 19. Estimerede LoD-værdier (IE/ml) for de 2 QFT-Plus ELISA-kitlots

QFT-Plus ELISA Kit	Sandsynlighed	Estimeret koncentration (IE/ml)	Estimatets nedre 95 %-konfidensgrænse	Estimatets øvre 95 %-konfidensgrænse
Kit 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Kit 2	0,95	0,065	0,060	0,073

Den højeste LoD-værdi, der blev beregnet for de to QFT-Plus ELISA-kitlots, 0,065 IE/ml, blev rapporteret som den endelige LoD-værdi.

Interfererende stoffer

Der blev udført et forsøg med det formål at bestemme potentielt interfererende stoffers effekt på QFT-Plus ELISA-påvisningen af IFN- γ . De interfererende stoffer i denne test var: triglycerider (total), hæmoglobin, protein (totalt serum), bilirubin (konjugeret), bilirubin (ukonjugeret), Abacavir-sulfat, cyclosporin og prednisolon. Der blev klargjort fem plasmapools med kendte koncentrationer af IFN- γ ved hjælp af forskellige koncentrationer af interfererende stoffer. IFN- γ niveauet for basispoolen var klargjort på forhånd med en forudbestemt mængde IFN- γ (ca. 0,21, 0,45 og 1,4 IE/ml). Denne pool blev brugt til at klargøre interferenspools. De testede interferenskoncentrationer var 0 mg/dL, 5 mg/dL, 10 mg/dL, 15 mg/dL og 20 mg/dL. Målværdierne for koncentrationerne af interfererende stoffer blev baseret på referenceintervaller, patologiske værdier, terapeutiske intervaller og toksiske intervaller eller som anbefalet af leverandøren eller de generelle kliniske niveauer. Der blev testet seks replikater pr. koncentrationsniveau for hver interferensprøve.

Der blev udført en t-test med to prøver for hver prøvekonzentration, hvorefter differencen i gennemsnitlig log₁₀ (IE/ml) for det primære interferensniveau blev sammenlignet med kontrollen (dvs. et interferensfrit niveau) som vist i tabel 20 og tabel 21. Den estimerede difference i gennemsnitligt respons samt de tilsvarende tosidede 95 %-konfidensgrænser og p-værdier blev også rapporteret.

Tabel 20. IE/ml for log10: Oversigt over t-test med differencer i gennemsnit mellem kontrol og det primære interferensniveau for hvert interfererende stof samt IFN- γ -koncentrationsniveau

Interfererende stof	Interferensniveau	Prøvekoncentration (IE/ml)	Varianser	Gennemsnits-difference	Nedre 95 % CI	Øvre 95 % CI	P-værdi	Godkendt
Triglycerider	Høj	1,4	Ens	0,019	-0,040	0,077	0,491	Ja
		0,45	Ens	0,004	-0,022	0,030	0,732	Ja
		0,21	Ens	0,006	-0,035	0,047	0,759	Ja
Hæmoglobin	Høj	1,4	Ens	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Ja
		0,45	Ens	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Ja
		0,21	Ens	0,000	-0,034	0,035	0,980	Ja
Protein	Høj	1,4	Ens	0,004	-0,034	0,042	0,836	Ja
		0,45	Ens	0,001	-0,38	0,040	0,962	Ja
		0,21	Ens	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Ja
Konjugeret bilirubin	Høj	1,4	Ens	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Ja
		0,45	Ens	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Ja
		0,21	Ens	-0,014	0,074	0,046	0,625	Ja
Ukonjugeret bilirubin	Høj	1,4	Ens	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Ja
		0,45	Ens	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Ja
		0,21	Ens	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Ja
Abacavir	Høj	1,4	Ens	0,008	-0,025	0,041	0,601	Ja
		0,45	Ens	0,012	-0,019	0,044	0,412	Ja
		0,21	Ens	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Ja

Tabellen fortsættes på næste side

Tabellen fortsat fra foregående side

Tablet 20. IE/ml for log10: Oversigt over t-test med differencer i gennemsnit mellem kontrol og det primære interferensniveau for hvert interfererende stof samt IFN- γ -koncentrationsniveau

Interfererende stof	Interferensniveau	Prøvekoncentration (IE/ml)	Varianser	Gennemsnits-difference	Nedre 95 % CI	Øvre 95 % CI	P-værdi	Godkendt
Cyclosporin	Høj	1,4	Ens	0,014	-0,020	0,047	0,383	Ja
		0,45	Ens	0,005	-0,035	0,045	0,773	Ja
		0,21	Ens	0,024	-0,008	0,056	0,131	Ja
Prednisolon	Høj	1,4	Ens	0,017	-0,017	0,050	0,293	Ja
		0,45	Ens	0,000	-0,036	0,036	0,979	Ja
		0,21	Ens	0,015	-0,035	0,065	0,524	Ja

Tabel 21. IE/ml for log10: Oversigt over t-test med differencer i gennemsnit mellem kontrol og højt interferensniveau for hvert interfererende stof samt IFN- γ -koncentrationsniveau

Interfererende stof	Interferensniveau	Prøvekoncentration (IE/ml)	Varianser	Gennemsnits-difference	Nedre 95 % CI	Øvre 95 % CI	P-værdi	Godkendt
Triglycerider	Høj	1,4	Ens	0,053	-0,004	0,110	0,063	Ja
		0,45	Ens	0,039	-0,021	0,058	<0,001	Ja
		0,21	Ens	0,034	-0,002	0,071	0,061	Ja
Hæmoglobin	Høj	1,4	Ens	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Ja
		0,45	Ens	0,016	-0,007	0,040	0,152	Ja
		0,21	Ens	0,014	-0,030	0,059	0,489	Ja
Protein	Høj	1,4	Ens	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Ja
		0,45	Ens	0,000	-0,046	0,046	0,992	Ja
		0,21	Ens	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Ja
Konjugeret bilirubin	Høj	1,4	Ens	0,001	-0,046	0,048	0,961	Ja
		0,45	Ens	0,012	-0,043	0,067	0,639	Ja
		0,21	Ens	0,015	-0,044	0,074	0,586	Ja
Ukonjugeret bilirubin	Høj	1,4	Ens	0,015	-0,011	0,042	0,231	Ja
		0,45	Ens	0,015	-0,023	0,052	0,411	Ja
		0,21	Ens	0,012	-0,033	0,057	0,566	Ja
Abacavir	Høj	1,4	Ens	0,013	-0,015	0,040	0,322	Ja
		0,45	Ens	0,015	-0,014	0,044	0,283	Ja
		0,21	Ens	0,008	-0,034	0,050	0,677	Ja

Tabellen fortsættes på næste side

Tabellen fortsat fra foregående side

Tablet 21. IE/ml for log10: Oversigt over t-test med differencer i gennemsnit mellem kontrol og højt interferensniveau for hvert interfererende stof samt IFN- γ -koncentrationsniveau

Interfererende stof	Interferensniveau	Prøvekoncentration (IE/ml)	Varianser	Gennemsnits-difference	Nedre 95 % CI	Øvre 95 % CI	P-værdi	Godkendt
Cyclosporin	Høj	1,4	Ens	0,002	-0,019	0,024	0,816	Ja
		0,45	Ens	0,007	-0,030	0,043	0,682	Ja
		0,21	Ens	0,015	-0,007	0,038	0,155	Ja
Prednisolon	Høj	1,4	Ens	0,007	-0,016	0,030	0,518	Ja
		0,45	Ens	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Ja
		0,21	Ens	0,021	-0,025	0,068	0,334	Ja

Resultaterne viste ingen signifikante differencer mellem det primære interferensniveau og kontrollen (interferensfrit niveau) og det høje interferensniveau, undtagen koncentrationsniveauet på 0,45 IE/ml triglycerid. Gennemsnitsdifferencen blev bestemt til at ligge inden for standardafvigelsesintervallet på +/- 2. Dette viser, at differencen er inden for analysens forventede variabilitet, og at triglycerid ikke havde nogen interfererende effekt på QFT-Plus ELISA.

Bortskaffelse

Overhold relevante retningslinjer for håndtering af blod. Bortskaf prøver og materialer, som har været i kontakt med blod eller blodprodukter, i overensstemmelse med nationale, regionale og lokale miljøbestemmelser.

Litteraturhenvisninger

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.

Fejlfindingsvejledning

Denne fejlfindingsvejledning kan være nyttig til at afhjælpe eventuelle problemer. Teknisk assistance og yderligere oplysninger kan fås via vores center for teknisk support på www.qiagen.com/Support (kontaktoplysninger kan ses på www.qiagen.com).

Kommentarer og forslag

Fejlfinding af ELISA

Uspecifik farveudvikling

- | | |
|---|--|
| a) Ufuldstændig vask af pladen | Vask pladen mindst 6 gange med 400 µl vaskebuffer pr. brønd. Alt efter hvilken vasker, der anvendes, kan der være behov for mere end 6 vaskecyklusser. Der bør være en iblødsætningsperiode på mindst 5 sekunder mellem hver cyklus. |
| b) Krydskontaminering af ELISA-brønde | Vær forsigtig ved pipettering og blanding af prøver for at minimere risici. |
| c) Kittets/komponenternes udløbsdato er overskredet | Sørg for, at kittet anvendes inden udløbsdatoen. Sørg for, at rekonstitueret standard og konjugat 100x koncentrat anvendes inden for tre måneder efter rekonstitueringsdatoen. |
| d) Kontamineret enzymsubstratopløsning | Bortskaf substratet, hvis der er blåfarvning. Sørg for, at der anvendes rene reagensreservoirer. |
| e) Blanding af plasma i QFT-Plus Blood Collection Tubes inden opsamling | Efter centrifugering skal det undgås at pipettere op og ned eller på nogen måde blande plasmaet inden opsamling. Pas til enhver tid på ikke at hvirvle materialet på gelens overflade op. |

Kommentarer og forslag

Lave aflæsningsværdier for optisk densitet for standarder

- | | |
|---|---|
| a) Fejl ved fortynding af standard | Kontrollér, at fortyndingerne i kitstandarden er klargjort i henhold til denne brugsanvisning. |
| b) Pipetteringsfejl | Sørg for, at pipetterne kalibreres og anvendes i henhold til producentens instruktioner. |
| c) For lav inkuberingstemperatur | Inkubering af ELISA bør ske ved stuetemperatur ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$). |
| d) For kort inkuberingstid | Inkubering af pladen med konjugatet, standarderne og prøverne bør ske i 120 ± 5 minutter. Enzymsubstratopløsningen inkuberes på pladen i 30 minutter. |
| e) Brug af forkert pladelæserfilter | Pladen bør aflæses ved 450 nm med et referencefilter mellem 620 og 650 nm. |
| f) For kolde reagenser | Alle reagenser, med undtagelse af konjugat 100x koncentrat, skal bringes til stuetemperatur inden påbegyndelse af analysen. Dette tager ca. 1 time. |
| g) Kittets/komponenternes udløbsdato er overskredet | Sørg for, at kittet anvendes inden udløbsdatoen. Sørg for, at det rekonstituerede standard og konjugat 100x koncentrat anvendes inden for 3 måneder efter rekonstitueringsdatoen. |

Højt baggrund

- | | |
|----------------------------------|--|
| a) Ufuldstændig vask af pladen | Vask pladen mindst 6 gange med 400 µl vaskebuffer pr. brønd. Der kan være behov for mere end 6 vaskecyklusser. Der bør være en iblødsætningsperiode på mindst 5 sekunder mellem hver cyklus. |
| b) For høj inkuberingstemperatur | Inkubering af ELISA bør ske ved stuetemperatur ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$). |

Kommentarer og forslag

- | | |
|---|--|
| c) Kittets/komponenternes udløbsdato er overskredet | Sørg for, at kittet anvendes inden udløbsdatoen. Sørg for, at rekonstitueret standard og konjugat 100x koncentrat anvendes inden for tre måneder efter rekonstitueringsdatoen. |
| d) Kontamineret enzymsubstratopløsning | Bortskaf substratet, hvis der er blåfarvning. Sørg for, at der anvendes rene reagensreservoirer. |

Ikke-lineær standardkurve og variabilitet i dobbeltbestemmelse

- | | |
|---|--|
| a) Ufuldstændig vask af pladen | Vask pladen mindst 6 gange med 400 µl vaskebuffer pr. brønd. Der kan være behov for mere end 6 vaskecyklusser. Der bør være en iblødsætningsperiode på mindst 5 sekunder mellem hver cyklus. |
| b) Fejl ved fortynding af standard | Kontrollér, at standardens fortyndinger er klargjort i henhold til denne brugsanvisning. |
| c) Dårlig blanding | Bland reagenserne grundigt ved at vende dem eller forsigtigt vortexe dem, før de tilsættes pladen. |
| d) Inkonsekvent pipetteringsteknik eller afbrydelse under opsætningen af analysen | Prøven og standardtilsætningen skal udføres kontinuerligt. Alle reagenser skal forberedes, før analysen påbegyndes. |

Symboler

Følgende symboler vises muligvis i brugsanvisningen eller på emballagen og etiketten:

Symbol

Symboldefinition



<N>

Indeholder tilstrækkeligt med reagenser til <N>-reaktioner



Holdbarhedsdato



Dette produkt opfylder kravene i EU-direktivet 2017/746 for medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik.

EC

REP

Autoriseret repræsentant i EU

IVD

Medicinsk udstyr til in vitro-diagnostik

REF

Katalognummer

LOT

Lotnummer

MAT

Materialenummer (dvs. etiketten på komponenten)

COMP

Komponenter

CONT

Indeholder

NUM

Antal

GTIN

Globalt handelsvarenummer

Rn

R står for revision af brugsanvisningen, og n står for revisionsnummeret



Temperaturbegrænsning

Symbol

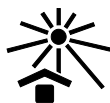
Symboldefinition



Producent



Læs brugsanvisningen



Beskyt mod direkte lys



Advarsel/forsigtig eller Forsigtig: Læs de medfølgende dokumenter

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

En in vitro-diagnostisk test, hvor der anvendes en peptidcocktail, som simulerer ESAT-6- og CFP-10-proteiner til stimulering af celler i hepariniseret helblod



Indeholder biologisk materiale af animalsk oprindelse



Indeholder biologisk materiale af human oprindelse



Unikt enheds-id

Symbol

Symboldefinition

tartrazine

Indeholder tartrazin

sulfuric acid

Indeholder svovlsyre

Bilag A: Teknisk information

Ubestemmelige resultater

Ubestemmelige resultater er ualmindelige og kan være relateret til immunstatus hos den person, som testes (5), men kan også skyldes en række tekniske faktorer (f.eks. forkert håndtering/opbevaring af blodprøvetagningsrør eller ufuldstændig vask af ELISA-plade), hvis ovenstående brugsanvisning ikke følges.

Hvis der er mistanke om tekniske problemer med opbevaringen af reagenser, blodprøvetagningen eller håndteringen af blodprøverne, skal hele QFT-Plus-testen gentages med nye blodprøver. Gentagelse af ELISA-testen af stimulerede plasmaprøver kan udføres, hvis vasken af pladen er ufuldstændig, eller der er anden proceduremæssig afvigelse i forbindelse med ELISA-testen. Læger kan vælge at trække en prøve tilbage eller udføre andre relevante procedurer.

Koagulerede plasmaprøver

Hvis der opstår fibrinkoagulater ved længere opbevaring af plasmaprøver, skal prøverne centrifugeres til bundfældet koaguleret materiale og lette pipetteringen af plasma.

Lipemiske plasmaprøver

Udvis passende omhu ved pipettering af lipemiske prøver, da der er risiko for tilstopning af pipettespidsen pga. fedtaflejringer.

Bilag B: Forkortet ELISA-testprocedure

1. Lad ELISA-komponenterne, med undtagelse af konjugat 100x koncentrat, temperaturudligne til stuetemperatur. Det tager mindst 60 minutter.



2. Rekonstituer Kit Standard (Kitstandarden) til 8,0 IE/ml med destilleret eller deioniseret vand. Fremstil fire (4) standardfortyndinger.



3. Rekonstituer frysetørret konjugat 100x koncentrat med destilleret eller deioniseret vand.

4. Fremstil konjugat med brugsstyrke i grøn diluent, og tilsæt 50 µl til alle brønde.



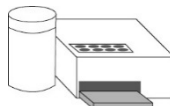
5. Tilsæt 50 µl testplasmaprøver og 50 µl standarder til de relevante brønde. Bland ved hjælp af en ryster.



6. Inkuber i 120 minutter ved stuetemperatur.



7. Vask brøndene mindst 6 gange med 400 µl vaskebuffer pr. brønd.



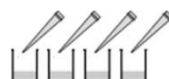
8. Tilsæt 100 µl enzymsubstratopløsning til brøndene. Bland ved hjælp af en ryster.



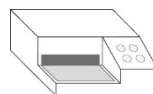
9. Inkuber i 30 minutter ved stuetemperatur.



10. Tilsæt 50 µl enzymstandsningopløsning til alle brønde. Bland ved hjælp af en ryster.



11. Aflæs resultater ved 450 nm med et 620 til 650 nm referencefilter.



12. Analysér resultaterne.



Bestillingsinformation

Produkt	Indhold	Kat.-nr.
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit	ELISA-kit med 2 plader	622120
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Reference Lab Pack	ELISA-kit med 20 plader	622822
Related products		
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes	200 rør (50 stk. med hhv. Nil, TB1, TB2 og Mitogen)	622526
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 rør (25 stk. med hhv. Nil, TB1, TB2 og Mitogen)	622423
QuantiFERON-TB Gold Plus Single Patient Pack	40 rør (1 stk. med hhv. Nil, TB1, TB2 og Mitogen pr. pakke), pakke med 10 stk.	622222
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes	200 rør (50 stk. med hhv. Nil, TB1, TB2 og Mitogen)	623526
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 rør (50 stk. med hhv. Nil, TB1, TB2 og Mitogen)	623423
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Single Patient Pack	40 rør (1 stk. med hhv. Nil, TB1, TB2 og Mitogen pr. pakke), pakke med 10 stk.	623222

Opdaterede licensoplysninger og produktspecifikke ansvarsfraskrivelser kan ses i brugsanvisningen til det aktuelle QIAGEN-kit. Brugsanvisninger til QIAGEN-kits kan fås via www.qiagen.com eller rekvireres hos QIAGEN Teknisk Service eller den lokale distributør.

Revisionshistorik for dokumentet

Dato	Ændringer
R2, juni 2021	<p>Der er medtaget oplysninger om pakke til én patient</p> <p>Tabel 10 og 11 er blevet revideret, så der skelnes mellem QFT-GIT- og QFT-Plus-data</p> <p>Afsnittet "Beskrivelse og princip" er blevet opdateret for at tilføje oplysninger om testpopulation og måleområde</p> <p>Tabel 9 er blevet tilføjet for at tilføje data om QFT-Plus-sandsynlighedsforhold</p>
R3, oktober 2021	<p>Katalognumrene er blevet ændret til de oprindelige</p> <p>Der er blevet tilføjet oplysninger om, at kittet indeholder mikropladestrips til engangsbrug</p>
R4, marts 2023	Rettelser af formatering

Denne side skal være tom

Aftale om begrænset licens til QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA-kit

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger af produktet accepterer følgende vilkår:

1. Produktet må kun anvendes i overensstemmelse med de protokoller, der følger med produktet, og denne brugsanvisning og kun sammen med de komponenter, der er inkluderet i panelet. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkludere komponenterne i dette panel sammen med komponenter, der ikke er inkluderet i dette panel, undtagen som beskrevet i de protokoller, der følger med produktet, denne brugsanvisning og andre protokoller, der er tilgængelige på www.qiagen.com. Nogle af disse andre protokoller er stillet til rådighed af QIAGEN-brugere for QIAGEN-brugere. Disse protokoller er ikke grundigt testet eller optimeret af QIAGEN. QIAGEN hverken garanterer for dem eller for, at de ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for, at dette panel, og/eller brugen af det, ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette panel og dets komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, genoprettes eller videresælges.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af panelet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt der kunne føre til, eller fremme, handlinger der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale ved enhver domstol og vil inddrive alle undersøgelses- og sagsomkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med panelet og/eller komponenterne deri.

Opdaterede licensbetingelser kan findes på www.qiagen.com.

Varemærker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (QIAGEN Group) Proclin®. Registrerede navne, varemærker osv., der bruges i dette dokument, er beskyttet af den relevante lovgivning, også når de ikke er specifikt markeret som sådan.

03/2023 L1123669 1123669DA © 2023 QIAGEN. Alle rettigheder forbeholdes.

Bestilling www.qiagen.com/shop | Teknisk support support.qiagen.com | Websted www.qiagen.com