



Maaliskuu 2023

# QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold Plus ELISA Kit -sarjan käyttöohje



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Versio 1



In vitro -diagnostiikkaan

Käytettäväksi QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold Plus Blood Collection Tubes -  
putkien kanssa



622120, 622822



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Saksa



1123669FI



# Sisältö

Käyttötarkoitus.....	5
Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä.....	5
Kuvaus ja toimintaperiaate .....	6
Patogeenitiedot .....	6
Yhteenveto ja selitykset.....	7
Määrittelyn periaatteet.....	9
Toimitetut materiaalit .....	11
Sarjan sisältö .....	11
Sarjan komponentit.....	12
Alusta ja ohjelmisto .....	12
Tarvittavat materiaalit, jotka eivät kuulu toimitukseen.....	13
Lisäreagenssit .....	13
Kulutustavarat .....	13
Välineet.....	13
Varoitukset ja varotoimet .....	14
Turvallisuustiedot .....	14
Tiedot hätätilanteeseen.....	15
Varotoimet.....	16
Reagenssien säilytys ja käsittely.....	18
Käytöstabiilius .....	18
Käyttövalmiit ja käytetyt reagenssit .....	18
Näytteiden säilytys ja käsittely.....	19

Protokolla: ELISA-testaus .....	20
Tulokset (laskelmat) .....	26
Standardikäyrän laatiminen ja näytteiden arvot .....	26
Testin laadunvarmistus .....	28
Tulosten tulkitseminen .....	30
Rajoitukset .....	32
Suorituskykyominaisuudet .....	33
Kliiniset tutkimukset .....	33
Herkkyyks .....	36
Odotusarvot.....	43
Turvallisuuden ja suorituskyvyn yhteenveto.....	49
Määrityksen suorituskykyominaisuudet .....	50
Analyttinen suoritus .....	50
Hävittäminen.....	63
Lähdeviitteet .....	64
Vianmääritysopas .....	66
Symbolit .....	69
Liite A: Teknisiä tietoja .....	72
Määrittämättömät tulokset.....	72
Hyytyneet plasmanäytteet .....	72
Lipeemiset plasmanäytteet .....	72
Liite B: ELISA-testimenetelmä lyhyesti .....	73
Tilastiedot .....	75
Asiakirjan muutoshistoria .....	76

# Käyttötarkoitus

QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus) -määritys on in vitro -diagnostinen testi, jossa käytetään ESAT-6- ja CFP-10-proteiineja simuloivaa peptidiseosta solujen stimuloimiseen heparinisoidussa kokoveressä.  $\gamma$ -interferonin (IFN- $\gamma$ ) havaitsemista entsyymivälitteisellä immunosorbenttimäärityksellä (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) käytetään *Mycobacterium tuberculosis* -tartunnalle ominaisten peptidiantigeenien in vitro -vasteiden tunnistamiseen.

QFT-Plus on epäsuora *M. tuberculosis* -infektion (mukaan lukien itse sairaus) testi, ja sitä käytetään yhdessä riskiarvioinnin, kuvaustutkimusten ja muiden lääketieteellisten ja diagnostisten arvioiden kanssa.

## Käyttötarkoituksen mukainen käyttäjä

Tämä sarja on tarkoitettu ammattikäyttöön.

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) -määritys on tarkoitettu koulutetun henkilöstön käytettäväksi laboratorioympäristössä.

# Kuvaus ja toimintaperiaate

## Patogeenitiedot

Tuberkuloosi on tarttuva sairaus, jonka aiheuttavat *M. tuberculosis* -ryhmän organismit (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* ja *M. caprae*), jotka tyypillisesti leviävät uusiin isäntiin keuhkotuberkuloosia sairastavien potilaiden hengittämien pisara-aerosolien välityksellä. Äskettäin tartunnan saanut henkilö saattaa sairastua tuberkuloosiin useiden viikkojen tai kuukausien kuluessa, mutta useimmat tartunnan saaneet henkilöt pysyvät terveinä. Joillekin jää latenti tuberkuloosi-infektio (LTBI), tarttumaton ja oireeton tila, ja he saattavat sairastua tuberkuloosiin useita kuukausia tai vuosia myöhemmin. LTBI:n diagnosoinnin päätarkoituksena on lääkinnällisen hoidon tarpeen harkinta tuberkuloosin ehkäisemistä varten. Yli 100 vuoden ajan LTBI:n diagnosoimiseen oli käytettävissä vain ihon tuberkuliinitestejä (Tuberculin Skin Test, TST) (4). Ihoherkkyys tuberkuliinille kehittyy 2–10 viikon kuluessa infektiosta. Jotkut infektoituneet henkilöt, muun muassa henkilöt, joilla on laaja-alaisia immuunitoimintoja estäviä sairauksia, sekä myös muut henkilöt, joilla ei ole näitä sairauksia, eivät kuitenkaan kehitä vastetta tuberkuliinille. Sitä vastoin, jotkut henkilöt, joilla *M. tuberculosis* -infektio on epätodennäköinen, osoittavat herkkyyttä tuberkuliinille, ja heillä esiintyy muita positiivisia TST-tuloksia Calmette-Guérin (Bacille Calmette-Guérin, BCG) -bakteerirokotteen jälkeen, muiden mykobakteerien kuin *M. tuberculosis* -ryhmän lajien aiheuttama infektio tai muita määrittämättömiä tekijöitä.

LTBI on erotettava tuberkuloosista, joka on ilmoitusta vaativa, yleensä keuhkojen ja alempien hengitysteiden sairaus mutta joka voi vaikuttaa myös muihin elinjärjestelmiin. Tuberkuloosi diagnosoidaan historiallisista, fyysisistä, radiologisista ja mykobakteriologisista löydöksistä.

## Yhteenveto ja selitykset

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) -testi on QuantiFERON-TB-testausteknologian neljäs sukupolvi ja arvioi soluvälitteistä vastetta IFN- $\gamma$ :n kvantitatiivisella mittauksella kokoverinäytteestä. QFT-Plus on kvalitatiivinen testi, joka mittaa soluvälitteistä immuunivastetta (cell-mediated immune, CMI) mykobakteeriproteiineja jäljitteleville peptidiantigeeneille. ESAT-6- ja CFP-10-proteiinit puuttuvat BCG-kannoista ja useimmista eituberkuliittisista mykobakteereista, joista poikkeuksena ovat *M. kansasii*, *M. szulgai* ja *M. marinum* (1). *M. tuberculosis* -ryhmän organismin aiheuttaman tartunnan saaneilla on yleensä veressään lymfosyyttejä, jotka tunnistavat nämä ja muut mykobakteeriantigeenit. Tämä tunnistusprosessi koostuu sytokiinin, gammainterferonin (IFN- $\gamma$ ), muodostumisesta ja erittämisestä. Gammainterferonin (IFN- $\gamma$ ) havaitseminen ja sitä seuraava kvantifiointi muodostaa testin perustan.

Ihon tuberkuliinitesti ja IGRA-testit auttavat sairaiden potilaiden *M. tuberculosis* -ryhmän aiheuttamien infektioiden diagnosoinnissa mutta eivät ole siihen yksin riittäviä: positiivinen tulos voi tukea tuberkuloosin diagnosointia, mutta myös muiden mykobakteerien (esim. *M. kansasii*) aiheuttamat infektiot saattavat johtaa positiivisiin tuloksiin. Tällöin tuberkuloosin vahvistamiseen tai poissulkemiseen tarvitaan muita lääketieteellisiä ja diagnostisia arviointeja.

QFT-Plus-testissä käytetyt antigeenit muodostavat peptidiseoksen, joka jäljittelee ESAT-6- ja CFP-10-proteiineja. Lukuisat tutkimukset ovat osoittaneet, että nämä peptidiantigeenit stimuloivat IFN- $\gamma$ -vasteen *M. tuberculosis* -infektion saaneiden henkilöiden T-soluissa, mutta näin ei yleensä tapahdu tartuntaa saamattomilla tai BCG-rokotuksen saaneilla henkilöillä, joilla ei ole sairautta tai LTBI-riskiä (1,2,6,9). Immunitoimintaa heikentävät lääkinnälliset hoidot tai sairaudet saattavat kuitenkin heikentää IFN- $\gamma$ -vastetta. Potilaat, joilla on muita mykobakteeritartuntoja, saattavat kehittää vasteen myös ESAT-6- ja CFP-10-proteiineille, sillä näitä proteiineja koodaavat geenit ovat läsnä myös *M. kansasii*-, *M. szulgai*- ja *M. marinum*-bakteereissa (1,3,7).

QFT-Plus-testauksen testipopulaatio koostuu potilaista, joilla on kliinisesti vahvistettu aktiivinen tuberkuloosi, ja potilaista, joilla on tuberkuloosi-infektion tai latentin tuberkuloosi-infektion (LTBI) riski. Muita, esimerkiksi ikään tai sukupuoleen liittyviä rajoitteita ei ole.

*Mycobacterium tuberculosis* (MTB) -infektiossa CD4<sup>+</sup>-T-soluilla on ratkaiseva rooli immuunihallinnassa niiden sytokiinin IFN- $\gamma$ :n erittymisen takia. Tutkimustulokset ovat nyt osoittaneet, että CD8<sup>+</sup>-T-solut osallistuvat elimistön omaan puolustukseen MTB:tä vastaan tuottamalla IFN- $\gamma$ :aa ja muita liukoisia tekijöitä, joiden aktivoimat makrofagit tukahduttavat MTB-bakteerien kasvua, tappavat infektoituneita soluja tai lyysaavat solunsisäisiä MTB-organismeja suoraan. IFN- $\gamma$ :aa tuottavia MTB-spesifisiä CD8<sup>+</sup>-soluja on havaittu tutkittavilla, joilla on LTBI tai aktiivinen tuberkuloosi. Lisäksi ESAT-6- ja CFP-10-spesifisiä CD8<sup>+</sup>-T-lymfosyyttejä pidetään useammin aktiivista kuin latenttia tuberkuloosia sairastavilla esiintyvänä, ja ne voivat liittyä äskettäin tapahtuneeseen MTB-altistukseen (8,10–12). Lisäksi MTB-spesifisiä IFN- $\gamma$ :aa tuottavia CD8<sup>+</sup>-T-soluja on havaittu aktiivista tuberkuloosia sairastavilla potilailla, joilla on HIV-koinfektio (13, 14), sekä tuberkuloosia sairastavilla pienillä lapsilla (15).

QFT-Plus-testiin kuuluu kaksi eri TB-antigeeniputkea: TB Antigen Tube 1 (TB1) ja TB Antigen Tube 2 (TB2). Molemmat putket sisältävät peptidiantigenejä MTB-kompleksiin liittyvistä ESAT-6- ja CFP-10-antigeneistä. Sekä TB1- että TB2-putket sisältävät peptidejä ESAT-6:sta ja CFP-10:stä, jotka on suunniteltu tuottamaan CMI-vasteita CD4<sup>+</sup>-auttaja-T-lymfosyyteistä; TB2-putki sisältää lisäpeptidiryhmän, jonka tarkoitus on saada aikaan CMI-vasteita sytotoksisista CD8<sup>+</sup>-T-lymfosyyteistä.

*M. tuberculosis* -infektion riskitekijöihin kuuluvat tuberkuloositaudin tai tuberkuloosille altistumisen historialliset, lääketieteelliset tai epidemiologiset ennustetekijät. Katso WHO:n uusimmasta ohjeistuksesta <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment> tarkat suositukset *M. tuberculosis* -infektion (tauti mukaan lukien) diagnosointiin ja testihenkilöiden valitsemiseen (16). QFT-Plus on testattu joissain potilasryhmissä, joilla nykyisen WHO:n ohjeistuksen (16) mukaan tuberkuloosi-infektion seulonta on aiheellista, mukaan lukien henkilöt, jotka ovat saaneet positiivisen tuloksen ihmisen immuunikatovirusta (HIV) testattaessa, ovat olleet kontaktissa hiljattain tuberkuloosia sairastaneen kanssa tai asuvat tiiviisti asutuissa laitoksissa ja ovat altistuneet aikuisille, joilla tuberkuloosin riski on suuri (5).



## Määrityksen periaatteet

QFT-Plus on kvalitatiivinen määrittäminen, jonka kanssa kokoveren keräämiseen käytetään erityisiä verinäyteputkia, jotka sisältävät *M. tuberculosis* -proteiineja simuloivia peptidiantigeenejä. Verta inkuboidaan putkissa 16–24 tunnin ajan, minkä jälkeen plasma kerätään ja siitä testataan peptidiantigeenien aiheuttama IFN- $\gamma$ -vaste.

Ensin kokoverta kerätään kuhunkin QFT-Plus Blood Collection Tubes -putkeen: Nil-putkeen, TB1-putkeen, TB2-putkeen ja Mitogen-putkeen. Vaihtoehtoisesti verinäyte voidaan ottaa yksittäiseen verinäytteenottoputkeen, joka sisältää antikoagulanttina litium- tai natriumhepariinia, ja siirtää se sitten QFT-Plus Blood Collection Tubes -putkiin.

QFT-Plus Blood Collection Tubes -putkia on ravistettava, jotta antigeeni sekoittuu vereen, sekä inkuboitava 37 °C:n  $\pm$  1 °C lämpötilassa mahdollisimman pian, viimeistään 16 tunnin sisällä verinäytteen ottamisesta. 16–24 tunnin inkubointijakson jälkeen putket sentrifugoidaan, plasma käsitellään ja IFN- $\gamma$ -määrä (IU/ml) mitataan ELISA-menetelmällä. QFT-Plus ELISA -testissä käytetään ihmisen rekombinanttia IFN- $\gamma$ -standardia, jonka määrittäminen on tehty IFN- $\gamma$ -viitevalmisteeseen vertaamalla (NIH Ref: Gxg01-902-535). Testinäytteitä koskevat tulokset on raportoitu kansainvälisinä yksiköinä (International Units, IU/ml) suhteessa standardikäyrään, joka on valmistettu testaamalla sarjan mukana tulevan standardin laimennuksia.

Heterofiilisten vasta-aineiden (esim. neutraloivien vasta-aineiden) esiintymisen seerumissa tai plasmassa tiedetään tietyillä yksilöillä aiheuttavan häiriöitä immunomäärityksessä. Heterofiilisten vasta-aineiden vaikutus QFT-Plus ELISA -testissä voidaan minimoida lisäämällä vihreään laimennusaineeseen normaalia hiiriseerumia ja käyttämällä F(ab')<sub>2</sub>-monoklonaalisen vasta-aineen fragmentteja sitovana IFN- $\gamma$ -vasta-aineena mikrolevyjen kuopissa.

QFT-Plus-määritys katsotaan positiiviseksi, jos jommassakummassa TB-antigeeniputkessa saadaan IFN- $\gamma$ -vaste, joka on huomattavasti Nil IFN- $\gamma$ :n IU/ml -arvoa korkeampi. Mitogen-putken plasmanäyte toimii kunkin testatun näytteen IFN- $\gamma$ -positiivisena kontrollina. Heikko Mitogen-vaste ( $< 0,5$  IU/ml) viittaa epäselvään tulokseen, jos verinäytteessä on lisäksi negatiivinen vaste TB-antigeeneille. Tämä malli saattaa ilmetä riittämättömien lymfosyyttien, näytteen epäasianmukaisen käsittelyn aiheuttaman vähentyneen lymfosyyttiaktiivisuuden, Mitogen-putken täytön tai sekoittamisen tai potilaan IFN- $\gamma$ :n tuotantoon kykenemättömien lymfosyyttien vuoksi. Nil-näytteen kohonneita IFN- $\gamma$ -tasoja voi esiintyä heterofiilisten vasta-aineiden tai sisäisen IFN- $\gamma$ -erityksen yhteydessä. Nil-putki sopeutuu taustaan (esim. liiallisiin verenkierron IFN- $\gamma$ -tasoihin ja heterofiilisten vasta-aineiden läsnäoloon). Nil-putken IFN- $\gamma$ -taso vähennetään TB-antigeeniputkien ja Mitogen-putken IFN- $\gamma$ -tasosta. QFT-Plus ELISA -testin mittausalueen yläraja on 10 IU/ml.

# Toimitetut materiaalit

## Sarjan sisältö

<b>ELISA-komponentit</b>	<b>2 levyn sarja</b>	<b>Referenssilaboratoriopakkaus</b>
<b>Tuotenumero</b>	<b>622120</b>	<b>622822</b>
Microplate strips (mikrolevyliuskat) (12 x 8 kuoppaa), päällystetty monoklonaalisella hiiren anti-ihmis-IFN- $\gamma$ -vasta-aineella	2 sarjaa 12 x 8 mikrolevyliuskoja	20 sarjaa 12 x 8 mikrolevyliuskoja
IFN- $\gamma$ Standard (IFN- $\gamma$ -standardi), kylmäkuivattu (sisältää ihmisen rekombinanti-IFN- $\gamma$ :aa, naudan kaseiinia, 0,01 % w/v timerosaalia)	1 x pullo (8 IU/ml käyttövalmiiksi saatettuna)	10 x pulloa (8 IU/ml käyttövalmiiksi saatettuna)
Green Diluent (vihreä laimennusaine) (sisältää naudan kaseiinia, normaalia hiiriseerumia, 0,01 % w/v timerosaalia)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (konjugaatin 100x-konsentraatti), kylmäkuivattu (hiiren anti-ihmis-IFN- $\gamma$ HRP, sisältää 0,01 % timerosaalia)	1 x 0,3 ml (käyttövalmiiksi saatettuna)	10 x 0,3 ml (käyttövalmiiksi saatettuna)
Wash Buffer 20x Concentrate (pesupuskurin 20x-konsentraatti) (pH 7,2; sisältää 0,05 % v/v ProClin <sup>®</sup> 300:a)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (entsyymin substraattiliuos) (sisältää H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3', 5,5'-tetrametylibentsidiiniä)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (entsyyminpysäytysliuos) (sisältää 0,5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	1 x 15 ml	10 x 15 ml
<i>QuantiFERON TB-Gold Plus ELISA Kit -sarjan käyttöohje</i>	1	1

## Sarjan komponentit

### Kontrollit ja kalibraattorit

QFT-Plus ELISA -testissä käytetään ihmisen rekombinanttia IFN- $\gamma$ -standardia, jonka määrittäminen on tehty IFN- $\gamma$ -viitevalmisteeseen vertaamalla (NIH Ref: Gxg01-902-535).

### Alusta ja ohjelmisto

QFT-Plus Analysis Software -analyysiohjelmiston käyttö on valinnaista, mutta sitä voidaan käyttää raakadatan analysointiin ja tulosten laskentaan. Ohjelmisto on ladattavissa osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Tarvittavat materiaalit, jotka eivät kuulu toimitukseen

## Lisäreagenssit

- QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes
- Deionisoitu tai tislattu vesi, 2 litraa

## Kulutustavarat

- Levyn kansi 96 kuopan levyille
- Valinnainen: 1 ml:n korkillisia mikroputkia 96 kuopan telineillä tai päällystämättömiä muovitiivisteisiä mikrolevyjä plasman säilytystä varten (22 potilasta / teline tai levy)
- Reagenssisäiliöitä

## Välineet\*

- 37 °C ±1 °C:n inkubaattori (CO<sub>2</sub> tai ilman sitä)
- Kalibroituja tilavuudeltaan vaihtelevia pipettejä 10 µl:n–1 000 µl:n annosteluun, kertakäyttöiset kärjet
- Kalibroituja monikanavaisia pipettejä, joilla voidaan annostella 50 µl ja 100 µl, kertakäyttöiset kärjet
- Mikrolevyravistin, jolla voidaan käyttää nopeuksia väliltä 500–1 000 rpm
- Mikrolevyepesuri (plasmanäytteiden käsittelyturvallisuuden parantamiseksi suositellaan automaattista levypesuria)
- Mikrolevyn lukulaite, johon on kiinnitetty 450 nm:n suodatin ja 620–650 nm:n referenssisuodatin
- Vaihtelevanopeuksinen vortex-laite
- Sentrifugi, jolla voidaan lingota verinäyteputkia vähintään voimalla 3 000 RCF (g)
- Asteikollinen mittalasi, 1 litra tai 2 litraa

\* Varmista ennen käyttöä, että laitteet on tarkistettu ja kalibroitu valmistajan suositusten mukaan.

# Varoitukset ja varotoimet

Huomaa, että saatat joutua tarkistamaan paikalliset määräykset laitteeseen liittyvien vakavien vaaratilanteiden raportoinnista valmistajalle ja/tai sen valtuutetulle edustajalle ja käyttäjän ja/tai potilaan oleskelumaan toimivaltaiselle viranomaiselle.

In vitro -diagnostiikkaan.

## Turvallisuustiedot

Työskenneltäessä kemikaalien kanssa on aina käytettävä asianmukaista laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoa saa tuotekohtaisista käyttöturvatiedotteista (Safety Data Sheet, SDS). Ne ovat saatavana PDF-tiedostoina Internet-osoitteessa [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety). Voit hakea, lukea ja tulostaa kaikkien QIAGEN-tarvikesarjojen ja niiden osien käyttöturvatiedotteet.

- Näytteet voivat olla tartuntavaarallisia. Hävitä näyte- ja määritys-jäte paikallisten turvallisuuskäytäntöjen mukaisesti.
- Negatiivinen QFT-Plus-tulos ei sulje pois *M. tuberculosis* -infektion tai tuberkuloosin mahdollisuutta. Virheellisesti negatiiviset tulokset voivat johtua infektiovaiheesta (esim. näyte on otettu ennen solutason immuunivasteen kehittymistä), verinäyteputkien virheellisestä käsittelystä laskimopunktion jälkeen, määrityksen virheellisestä suorittamisesta tai muista immunologisista muuttujista, kuten komorbiditeetteihin liittyvistä muuttujista. Heterofiiliset vasta-aineet tai muista tulehdustiloista johtuva epäspesifi IFN- $\gamma$ -tuotanto voivat naamioida ESAT-6- tai CFP-10-peptideille spesifit vasteet.
- Positiivinen QFT-Plus-tulos ei saa olla ainoa tai ratkaiseva perusta *M. tuberculosis* -infektion toteamiselle. Määrityksen virheellinen suorittaminen saattaa aiheuttaa virheellisesti positiivisia QFT-Plus-tuloksia.


- Positiivisen QFT-Plus-tuloksen jälkeen on jatkettava mahdollisen aktiivisen tuberkuloosin lääketieteellistä arviointia (esim. haponkestävien sauvabakteerien näyte ja viljely, rintakehän röntgenkuva).
- Koska ESAT-6- ja CFP-10 -proteiineja ei esiinny BCG-kannoissa eikä useimmissa ei-tuberkuloottisissa mykobakteereissa, on mahdollista, että positiivinen QFT-Plus-tulos johtuu *M. kansasii*, *M. szulgai*- tai *M. marinum* -bakteerin aiheuttamasta infektiosta. Jos epäillään tällaisia infektioita, on tehtävä vaihtoehtoisia testejä.
- Virheellisesti negatiivinen QFT-Plus-tulos voi johtua virheellisestä verinäytteen ottamisesta tai virheellisestä näytteen käsittelystä, joka vaikuttaa lymfosyyttien toimintaan. Katso ohjeet verinäytteiden oikeanlaiseen käsittelyyn kohdasta Protokolla: ELISA-testaus sivulta 20. Inkuboinnin viivästyminen voi aiheuttaa virheellisesti negatiivisia tai määrittämättömiä tuloksia, ja muut tekniset parametrit voivat vaikuttaa merkitsevän IFN- $\gamma$ -vasteen tunnistamiskykyyn.

## Tiedot hätätilanteeseen

CHEMTREC

Yhdysvaltojen ja Kanadan ulkopuolella +1 703-527-3887

## Varoimet

<p><b>HUOMIO</b></p> 	<p>Käsittele ihmisverta mahdollisesti tartuntavaarallisena.</p> <p>Noudata asianmukaisia verenkäsittelyohjeita. Hävitä veren tai verituotteiden kanssa kosketuksissa olleet näytteet ja materiaalit kansallisten, alueellisten ja paikallisten säädösten mukaisesti.</p>
--	--

### QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Sisältää rikkihappoa. Varoitus! Voi syövyttää metalleja. Aiheuttaa ihoärsytystä. Aiheuttaa vakavaa silmien ärsytystä. Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmäsuojainta/kasvosuojainta.

### QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Varoitus! Aiheuttaa vähäistä ihoärsytystä. Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmäsuojainta/kasvosuojainta.

### QuantiFERON Green Diluent



Sisältää tartratsiinia. Varoitus! Voi aiheuttaa allergisen ihoreaktion. Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmäsuojainta/kasvosuojainta.

### QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia vaikutuksia. Vältettävä päästämistä ympäristöön.



## Lisätietoja

Käyttöturvatiiedotteet (Safety Data Sheets, SDS): [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)

- Timerosaalia käytetään säilöntäaineena joissain QFT-Plus-reagensseissa. Se voi olla myrkyllistä nieltynä, hengitettynä tai päästessään ihokontaktiin.
- *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) -käyttöohjeesta* poikkeaminen saattaa tuottaa virheellisiä tuloksia. Lue ohjeet huolellisesti ennen käyttöä.
- Älä käytä sarjaa, jos yhdessäkin reagenssipullossa on merkkejä vaurioista tai vuodosta ennen käyttöä.
- Tärkeää: Tarkista pullo ennen käyttöä. Älä käytä konjugaattia tai IFN- $\gamma$ -standardin pulloja, joissa on havaittavissa vaurioita tai joiden kumitiiviste näyttää vaurioituneelta. Älä käsittele rikkoutuneita pulloja. Hävitä pullo turvallisesti asianmukaisia varotoimia noudattaen. Metallikorkin avaamiseen liittyviä loukkaantumisriskejä suositellaan vähentämään käyttämällä konjugaatin tai IFN- $\gamma$ -standardin pullojen avaamiseen pullonavauspihtejä.
- Älä sekoita tai käytä eri QFT-Plus-sarjaeristä peräisin olevia mikrolevyliuskoja, IFN- $\gamma$ -standardeja, vihreää laimennusainetta tai konjugaatin 100x-konsentraattia. Muita eri sarjaeristä peräisin olevia reagensseja (pesupuskurin 20x-konsentraatti, entsyymien substraattiliuos ja entsyyminpysäytysliuos) voidaan käyttää yhdessä edellyttäen, että reagenssien viimeinen käyttöpäivämäärä ei ole umpeutunut ja että erän tiedot on merkitty muistiin.
- Hävitä käyttämättömät reagenssit ja biologiset näytteet paikallisten viranomaismääräysten mukaisesti.
- QFT-Plus ELISA Kit -sarjaa ei saa käyttää viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.
- Asianmukaisia laboratorionkäytäntöjä on noudatettava kaikkina aikoina.
- Varmista, että laboratoriovälineet, kuten levyn pesimet ja levyn lukulaitteet on kalibroitu/hyväksytty käyttöön.

# Reagenssien säilytys ja käsittely

Kaikki kaikkien osien pakkauksiin ja etiketteihin painetut viimeistä käyttöpäivämäärää ja säilytystä koskevat ohjeet on huomioitava. Älä käytä vanhentuneita tai virheellisesti säilytettyjä komponentteja.

## Käyttöstabiilius

- Säilytä ELISA-sarjaa 2–8 °C:ssa.
- Suojaa entsyymien substraattiliuos suoralta auringonvalolta.

## Käyttövalmiit ja käytetyt reagenssit

- Katso reagenssien käyttökuntoon saattamista koskevat ohjeet kohdasta Protokolla: ELISA-testaus sivulta 20.
- Valmiiksi saatettuna sarjan standardia voidaan säilyttää enintään kolme kuukautta, jos säilytys tapahtuu 2–8 °C:n lämpötilassa.

Merkitse sarjan standardin käyttövalmiiksi saattamisen päivämäärä muistiin.

- Käyttövalmiiksi saatettu konjugaatin 100x-konsentraatti on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa ja myös käytettävä kolmen kuukauden kuluessa.

Merkitse konjugaatin käyttövalmiiksi saattamisen päivä muistiin.

- Käyttövahvuinen konjugaatti on käytettävä 6 tunnin kuluessa valmistamisesta.
- Käyttövahvuista pesupuskuria voidaan säilyttää huoneenlämpötilassa enintään kaksi viikkoa.
- Mikrolevyliuskat ovat kertakäyttöisiä. Käyttämättömät liuskat voidaan irrottaa levykehikosta ja säätää tulevaa käyttöä varten.

# Näytteiden säilytys ja käsittely

Katso tiedot verinäytteen ottamisesta QFT-Plus-testiä varten *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes* -putkien käyttöohjeesta (1123668).

# Protokolla: ELISA-testaus

Tärkeitä huomioita ennen kuin aloitat

## Valmistelu (määrityksen suorittamiseen tarvittava aika)

- Jotta QFT-Plus-määrityksestä voidaan saada päteviä tuloksia, käyttäjän on suoritettava tietyt vaiheet annetussa ajassa. Käyttäjän kannattaa suunnitella kaikki määrityksen vaiheet huolellisesti ennen määrityksen käyttöä, jotta vaiheet saadaan hoidettua riittävän nopeasti. Tarvittava aika on arvioitu jäljempänä. Useamman näytteen testaus eräkohtaisesti on myös arvioitu.
  - Noin kolme tuntia per ELISA-levy
  - < 1 työtunti
  - Kutakin ylimääräistä levyä kohti lisätään 10–15 minuuttia

## IFN- $\gamma$ ELISA

- Katso kohdista Sarjan sisältö sivulla 11 ja Tarvittavat materiaalit, jotka eivät kuulu toimitukseen sivulla 13 ELISA-testin suorittamiseen tarvittavat materiaalit.

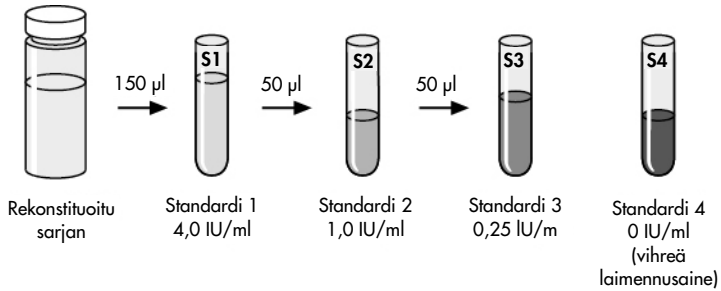
## Menetelmä

1. Kaikki plasmanäytteet ja reagenssit, paitsi konjugaatin 100x-konsentraatti, on tuotava huoneenlämpötilaan ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) ennen käyttöä. Tasaantumiselle on jätettävä aikaa vähintään 60 minuuttia.
2. Irrota ylimääräiset ELISA-levyn liuskat kehyksestä, sulje ne takaisin foliopussiin ja vie jääkaappiin myöhempää tarvetta varten.

3. Varaa vähintään yksi liuska QFT-Plus-standardeille ja riittävä määrä liuskoja kutakin testattavaa potilasta kohti (katso suositeltu levyasettelu kuvasta 2). Palauta kehys ja kansi käytön jälkeen jäljellä olevien liuskojen käyttöön.
- 3a. Saata IFN- $\gamma$ -standardi käyttökuntoon lisäämällä pulloon merkitty määrä deionisoitua tai tislattua vettä. Voit minimoida vaahtoamisen ja varmistaa pullon koko sisällön liukenemisen sekoittamalla varovasti. IFN- $\gamma$ -standardin liuottaminen uudelleen merkittyyn tilavuuteen saa aikaan liuoksen, jonka pitoisuus on 8,0 IU/ml.
- 3b. Käytä valmiiksi saatettua standardia ja valmistele laimennussarja neljälle IFN- $\gamma$ -konsentraatille (katso kuva 1).
- 3c. Standardikäyrä tehdään seuraavilla IFN- $\gamma$ -pitoisuuksilla:
- S1 (standardi 1) sisältää 4,0 IU/ml
  - S2 (standardi 2) sisältää 1,0 IU/ml
  - S3 (standardi 3) sisältää 0,25 IU/ml
  - S4 (standardi 4) sisältää 0 IU/ml (pelkkä vihreä laimennusaine [Green Diluent, GD]).
- 3d. Standarditestit on testattava vähintään kahtena otoksena.
- 3e. Valmistele kutakin ELISA-testiä varten sarjan standardista vastalaimennetut laimennukset.

### Menetelmä

- 
- |   |   |
|---|---|
| A | Merkitään 4 putkea: S1, S2, S3, S4.   |
| B | Lisätään 150 $\mu$ l vihreää laimennusainetta putkiin S1, S2, S3 ja S4.       |
| C | Lisätään 150 $\mu$ l standardisarjaa putkeen S1 ja sekoitetaan huolellisesti. |
| D | Siirretään 50 $\mu$ l putkesta S1 putkeen S2 ja sekoitetaan huolellisesti.    |
| E | Siirretään 50 $\mu$ l putkesta S2 putkeen S3 ja sekoitetaan huolellisesti.    |
| F | Pelkkä vihreä laimennusliuos toimii nollastandardina (S4).                    |



**Kuva 1. Standardikäyrän laimennussarjan valmistelu.**

4. Sekoita kylmäkuivattua konjugaatin 100x-konsentraattia 0,3 millilitraan deionisoitua tai tislattua vettä. Voit minimoida vaahtoamisen ja varmistaa pullon koko sisällön liukenemisen sekoittamalla varovasti.
  - 4a. Konjugaatin työskentelyvahvuus valmistetaan laimentamalla riittävä määrä käyttövalmiiksi saatettua konjugaatin 100x-konsentraattia vihreään laimennusaineeseen (taulukko 1).
  - 4b. Käyttövahvuinen konjugaatti on käytettävä 6 tunnin kuluessa valmistamisesta.
  - 4c. Palauta käyttämätön konjugaatin 100x-konsentraatti välittömästi käytön jälkeen 2–8 °C:n lämpötilaan.

Taulukko 1. Konjugaatin valmistaminen (työskentelyvahvuus)

Liuskojen määrä	Konjugaatin määrä (100x-konsentraatti)	Vihreän laimennusaineen määrä
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. Verinäyteputkista kootut plasmanäytteet, jotka on kokoamisen jälkeen varastoitu (kylmään tai pakkaseen), on sekoitettava ennen kuin ne lisätään ELISA-kuoppaan. Plasmanäytteitä voi säilyttää sentrifugoiduissa QFT-Plus Blood Collection Tubes -putkissa korkeintaan 28 vuorokautta 2–8 °C:n lämpötilassa tai kerättyjä plasmanäytteitä voi säilyttää korkeintaan 28 vuorokautta 2–8 °C:n lämpötilassa. Kerättyjä plasmanäytteitä voi säilyttää myös alle –20 °C:ssa (ei mielellään kylmemmässä kuin –70 °C:ssa) pidempiä aikoja.

Plasmanäytteet voidaan käyttää/ladata suoraan lingotuista verinäyteputkista QFT-Plus ELISA -levylle mittausta varten.

Tärkeää: Jos plasmanäytteet siirretään suoraan sentrifugissa lingotuista QFT-Plus Blood Collection Tubes -putkista, plasman sekoittumista on vältettävä. Varo aina rikkomasta geelin pinnalla olevaa materiaalia.

6. Lisää 50 µl juuri valmistettua, työskentelyvahvuista konjugaattia jokaiseen ELISA-levyn kuoppaan.

7. Lisää 50 µl testiplasmanäytettä asianmukaisiin kuoppiin (katso ELISA-levyn asetteluosuus kuvasta 2).
8. Lisää lopuksi 50 µl standardeista 1–4 vastaaviin levyn kuoppiin (katso ELISA-levyn asetteluosuus kuvasta 2). Standardit on testattava vähintään kahtena otoksena.

	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

**Kuva 2. ELISA-levyn suositeltu asettelu.** S1 (standardi 1), S2 (standardi 2), S3 (standardi 3), S4 (standardi 4). 1N (näyte 1. Nil (kontrolliplasma), 1 TB1 (näyte 1. TB1-plasma), 1 TB2 (näyte 1. TB2-plasma), 1M (näyte 1. Mitogen-plasma).

9. Peitä ELISA-levy ja sekoita konjugaattia sekä plasmanäytteitä/standardeja huolellisesti 1 minuutin ajan nopeudella 500–1 000 rpm mikrolevyrvavistimessa. Vältä läikyttämistä.
10. Peitä ELISA-levy ja inkuboi huoneenlämpötilassa (22 °C ± 5 °C) 120 ± 5 minuutin ajan. ELISA-levy ei saa olla suorassa auringonvalossa inkuboinnin aikana. Suositelluista lämpötiloista poikkeaminen voi aiheuttaa virheellisiä tuloksia.
11. Valmistele ELISA-levyn inkuboinnin aikana työskentelyvahuinen pesupuskuri. Laimenna yksi osa pesupuskurin 20x-konsentraattia 19 osaan deionisoitua tai tislattua vettä ja sekoita huolellisesti. Pesupuskurin 20x-konsentraattia on toimitettu riittävä määrä, jotta voidaan valmistaa kaksi litraa työskentelyvahuista pesupuskuria.
12. Kun ELISA-levyn inkubointi on valmis, pese ELISA-levyn kuopat 400 µl:lla työskentelyvahuista pesupuskuria. Suorita pesuvaihe ainakin kuusi kertaa. Plasmanäytteitä käsitellessä suositellaan käyttämään automaattista levypesuria turvallisuussyistä.



Huolellinen peseminen on erittäin tärkeää testin onnistumisen kannalta. Varmista, että jokainen kuoppa täytetään kokonaan pesupuskurilla kuopan yläreunaan saakka kunkin pesujakson aikana. Suosittelemme vähintään 5 sekunnin liotusta jaksojen välissä.

Jätevesisäiliöön on lisättävä laboratoriodesinfiointiainetta, ja vakiintuneita käytäntöjä on noudatettava mahdollisesti infektoivan materiaalin dekontaminaatiossa.

13. Taputa ELISA-levyä alaspäin käännettynä imukykyisen (vähänukkkaisen) liinan päällä pesupuskurijäämien poistamiseksi. Lisää 100 µl entsyymiin substraattiliuosta kuhunkin levyn kuoppaan, peitä levy ja sekoita huolellisesti 1 minuutin ajan 500–1 000 rpm:n nopeudella mikrolevyristimessä.
14. Peitä ELISA-levy ja inkuboi huoneenlämpötilassa ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) 30 minuutin ajan. ELISA-levy ei saa olla suorassa auringonvalossa inkuboinnin aikana.
15. Lisää 30 minuuttia kestäneen inkuboinnin jälkeen 50 µl entsyymipysäytysliuosta jokaiseen levyn kuoppaan samassa järjestyksessä kuin substraattia lisättiin. Sekoita huolellisesti 500–1 000 rpm:n nopeudella mikrolevyristimessä.
16. Mittaa ELISA-levyn kuoppien optinen tiheys (Optical Density, OD) viiden minuutin kuluessa reaktion pysäytyksestä mikrolevyn lukulaitteella, johon on asennettu 450 nm:n suodatin ja 620–650 nm:n referenssuodatin. Optisen tiheyden arvoja käytetään tulosten laskennassa.

# Tulokset (laskelmat)

QFT-Plus Analysis Software -ohjelmistoa voidaan käyttää raakadatan analysointiin ja tulosten laskentaan. Ohjelmisto on saatavilla osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Varmista, että käytössä on QFT-Plus Analysis Software -ohjelmiston uusin versio.

Ohjelmisto suorittaa määrittämisen laadunvarmistusarvion, luo standardikäyrän ja antaa kunkin tutkitavan testituloksen kohdassa Tulosten tulkitseminen sivulla 30 kuvatulla tavalla. Ohjelmisto raportoi kaikki yli 10 IU/ml:n pitoisuudet arvona ">10", koska ne ylittävät ELISA-testin hyväksytyt lineaarisen alueen.

Vaihtoehtona QFT-Plus Analysis Software -ohjelmistolla tehtävälle analyysille tulokset voidaan määrittää seuraavan menetelmän mukaisesti.

## Standardikäyrän laatiminen ja näytteiden arvot

### Jos QFT-Plus Analysis Software -ohjelmistoa ei käytetä

Standardikäyrän ja näytteiden IU/ml-arvojen määrittämiseen tarvitaan taulukkolaskentaohjelma, kuten Microsoft® Excel®, jos QFT-Plus Analysis Software -ohjelmistoa ei käytetä.

### Taulukkolaskentaohjelman käyttö

1. Määritetään sarjan standardin toisintojen optisen tiheyden arvot kussakin levyssä.
2. Laaditaan  $\log_{(e)}$ - $\log_{(e)}$ -standardikäyrä muodostamalla keskiarvoisen optisen tiheyden (y-akseli)  $\log_{(e)}$  suhteessa standardien IFN- $\gamma$ -konsentraation  $\log_{(e)}$ -arvoihin (x-akseli) IU/ml:ina jättäen nollastandardi pois näistä laskelmista. Laske standardikäyrä regressioanalyysillä.

- Standardikäyrää käytetään määrittäessä IFN- $\gamma$ -pitoisuus (IU/ml) kussakin testiplasmanäytteessä käyttämällä apuna kunkin näytteen optisen tiheyden arvoa.
- Nämä laskelmat voidaan tehdä mikrolevyn lukulaitteiden mukana toimitettavilla ohjelmistoilla tai esimerkiksi standarditaulukkolaskennalla tai tilastointiohjelmistolla (esim. Microsoft Excel). Suosituksena on, että näitä ohjelmistoja käytetään regressioanalyysin, standardien variaatiokerrointen (coefficient of variation, %CV) ja standardikäyrän korrelaatiokerroimen ( $r$ ) laskentaan.

## Näytteiden arviointi

Jos standardeille saataisiin seuraavat optisen tiheyden lukemat,  $\log(e)$ -laskelmat tehtäisiin kuten taulukossa 2.

Taulukko 2. Standardikäyrä

Standardi	IU/ml	OD-arvot a ja b	Keskimääräinen OD	%CV	$\log_{10}$ IU/ml	$\log_{10}$ -keskiarvo (Optical Density, OD)
Standardi 1	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
Standardi 2	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
Standardi 3	0,25	0,114, 0,136	0,125	-	-1,386	-2,079
Standardi 4	0	0,034, 0,037	0,036	-	-	-

Käyrän yhtälö on  $y = 0,7885(X) - 0,9837$ , missä  $m = 0,7885$  ja  $c = -0,9837$ . Näillä arvoilla ratkaistaan  $X$  yhtälössä  $X = (Y - c)/m$ . Standardikäyrän perusteella laskettu korrelaatiokerroin ( $r$ ) = 1,000. -: ei olennainen.

Määrittelyn pätevyys arvioidaan kohdassa Testin laadunvarmistus sivulla 28 esitetyillä kriteereillä.

Standardikäyrän (taulukko 2) avulla antigeenien optisen tiheyden vasteet muunnetaan kansainvälisiin yksiköihin (IU/ml).

### Taulukko 3. Näytteiden arviointi

Antigeeni	OD-arvo	Log <sub>(e)</sub> OD-arvo	X	e <sup>x</sup> (IU/ml)	Antigeeni – Nil (IU/ml)
Nil	0,037	-3,297	-2,934	0,05	–
TB1	1,161	0,149	1,437	4,21	4,16
TB2	1,356	0,305	1,634	5,12	5,07
Mitogen	1,783	0,578	1,981	7,25	7,20

TB1-, TB2- ja Mitogen-antigeenien IFN- $\gamma$ -arvot (yksikössä IU/ml) taustakorjataan vähentämällä saatu IU/ml-arvo vastaavasta Nil-kontrollista. Näitä korjattuja arvoja käytetään testitulosten tulkintaan.

## Testin laadunvarmistus

Testitulosten tarkkuus riippuu standardikäyrän tarkkuudesta. Tästä syystä standardeista saadut tulokset on tarkastettava, ennen kuin testituloksia voidaan tulkita.

ELISAa koskee seuraava:

- Standardin 1 keskimääräisen optisen tiheyden on oltava  $\geq 0,600$ .
- Standardin 1 ja 2 toistettujen arvojen %CV-arvon on oltava  $\leq 15 \%$ .
- Standardien 3 ja 4 rinnakkaisotosten optisten tiheyksien arvo ei saa poiketa yli 0,040 optisen tiheyden yksikköä niiden keskiarvosta.
- Keskimääräisistä imeytymisarvoista laskettujen korrelaatiokerrointen ( $r$ ) on oltava  $\geq 0,98$ .
- Jos yllä mainitut kriteerit eivät täyty, ajo on virheellinen ja testi on tehtävä uudelleen.
- Nollastandardin (vihreä laimennusaine) keskimääräisen optisen tiheyden on oltava  $\leq 0,150$ . Jos keskimääräinen optisen tiheyden arvo on  $> 0,150$ , levyn pesuprosessi on tarkastettava.

QFT-Plus Analysis Software -ohjelmisto laskee ja raportoi nämä laadunvalvontaparametrit.

Jokaisessa laboratoriossa on määritettävä soveltuvat kontrollimateriaalien tyypit ja testaustiheys paikallisten viranomaismääräysten tai akkreditointijärjestöjen ohjeiden mukaisesti. Ulkoista laadunarviointia ja vaihtoehtoisia tarkastusmenetelmiä on harkittava.

Huomautus: Plasmanäytteissä, joihin on lisätty rekombinantti-IFN- $\gamma$ :aa, on ilmennyt jopa 50 %:n pitoisuuslaskuja, kun näytteitä on säilytetty joko 2–8 °C:n tai –20 °C:n lämpötilassa. Rekombinantti-IFN- $\gamma$ :aa ei suositella kontrollistandardien tekemiseen.

# Tulosten tulkitseminen

QFT-Plus-tulokset tulkitaan seuraavien kriteerien mukaisesti (taulukko 4).

Tärkeää: Tuberkuloosin diagnosoiminen tai poissulkeminen ja latentin tuberkuloosin todennäköisyyden arviointi vaatii epidemiologisia, historiallisia, lääketieteellisiä ja diagnostisia löydöksiä, jotka on otettava huomioon QFT-Plus-testin tuloksia tulkittaessa. Katso yleisohjeet tuberkuloosin ja LTBI:n diagnosointiin ja hoitoon:

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

Taulukko 4. QFT-Plus-testitulosten tulkinta

Nil (IU/ml)	TB1 miinus Nil (IU/ml)	TB2 miinus Nil (IU/ml)	Mitogen miinus Nil (IU/ml)*	QFT-Plus-tulos	Raportti/tulkinta
≤ 8,0	≥ 0,35 ja ≥ 25 % Nil-arvosta	Mikä tahansa	Mikä tahansa	Positiivinen†	<i>M. tuberculosis</i> -infektio on todennäköinen
	Mikä tahansa	≥ 0,35 ja ≥ 25 % Nil-arvosta			
	< 0,35 tai ≥ 0,35 ja < 25 % Nil-arvosta	< 0,35 tai ≥ 0,35 ja < 25 % Nil-arvosta	≥ 0,50	Negatiivinen	<i>M. tuberculosis</i> -infektio EI ole todennäköinen
	< 0,35 tai ≥ 0,35 ja < 25 % Nil-arvosta	< 0,35 tai ≥ 0,35 ja < 25 % Nil-arvosta	< 0,50	Määrittämätön ‡	<i>M. tuberculosis</i> -infektion todennäköisyyttä ei voida määrittää
> 8,0§	Mikä tahansa				

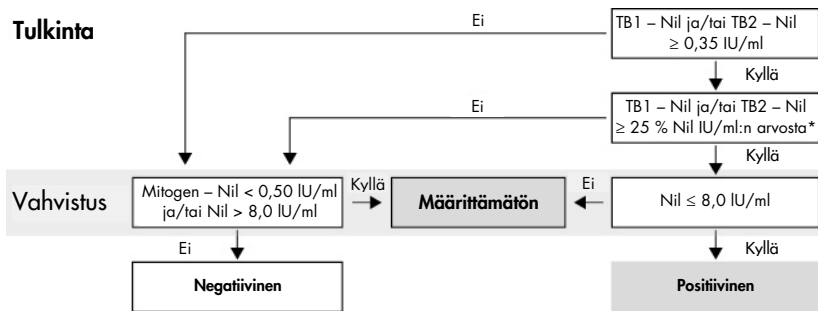
\* Vasteet Mitogen-positiiviseen kontrolliin (ja toisinaan myös TB-antigeeniin) ovat usein mikrolevyn lukulaitteen alueen ulkopuolella. Tällä ei ole vaikutusta testituloksiin. Kun arvot ovat > 10 IU/ml, QFT-Plus-ohjelmisto raportoi tulokseksi > 10 IU/ml.

† Silloin, kun *M. tuberculosis* -infektiota ei epäillä, alustavat positiiviset tulokset voidaan vahvistaa testaamalla alkuperäiset plasmanäytteet uudelleen toisintoina QFT-Plus ELISA -menetelmällä. Jos toistetun testin yksi tai molemmat toisinnot ovat positiivisia, testitulos katsotaan positiiviseksi.

‡ Lue ongelman mahdollisista syistä kohdasta Vianmääritysopas, sivulla 66.

§ Kliinisissä tutkimuksissa alle 0,25 prosentilla potilaista oli > 8,0 IU/ml IFN-γ-tasoja Nil-kontrollissa.

Mitatulla IFN- $\gamma$ -tason suuruudella ei voida korreloida infektion vaihetta tai astetta, immuunivasteen tasoa tai aktiivisen sairauden etenemisen mahdollisuutta. Positiivinen TB-vaste Mitogen-negatiivisilla henkilöillä on harvinainen, mutta sitä on tavattu tuberkuloosia sairastavilla potilailla. Se tarkoittaa, että IFN- $\gamma$ -vaste TB-antigeeneihin on suurempi kuin vaste Mitogen-mitogeeniin, mikä on mahdollista, koska Mitogen-taso ei stimuloi lymfosyyttien IFN- $\gamma$ -tuotantoa maksimaalisesti.



**Kuva 3. QFT-Plus-testin tulkinta.** \*Jotta TB1 miinus Nil -arvo ja TB2 miinus Nil -arvo ovat päteviä,  $\geq 25$  prosenttia Nil:n IU/ml-arvosta on oltava samasta putkesta kuin alkuperäinen  $\geq 0,35$  IU/ml -tulos.

# Rajoitukset

QFT-Plus-testissä saatuja tuloksia on käytettävä yhdessä kunkin henkilön epidemiologisen historian, nykyisen lääketieteellisen tilan ja muiden diagnostisten arviointien kanssa.

Henkilöt, joiden Nil-arvot ovat suuremmat kuin 8 IU/ml, luokitellaan määrittämättömiksi, koska 25 % korkeampi vaste TB-antigeeneihin saattaa olla määrityksen mittausalueen ulkopuolella.

- Positiivisen QFT-Plus-tuloksen ennustearvo *M. tuberculosis* -infektiota diagnosoitaessa riippuu infektion todennäköisyydestä, joka puolestaan arvioidaan historiallisten, epidemiologisten, diagnostisten ja muiden löydösten perusteella.
- LTBI-diagnoosi edellyttää, että tuberkuloositauti on suljettu pois lääketieteellisellä arviolla, joka sisältää sairauden nykyisten lääketieteellisten ja diagnostisten testien arvion kuvatulla tavalla.
- Negatiivisen tuloksen kohdalla on huomioitava henkilön hoito- ja taustatiedot, jotka viittaavat *M. tuberculosis* -infektion todennäköisyyteen ja tuberkuloositaudiksi etenemisen riskiin, erityisesti silloin, kun henkilön immuunitoiminta on heikentynyt.

Epäluotettavat tai määrittelemättömät tulokset voivat johtua seuraavasta:

- Prosessissa on poikettu käyttöohjeista.
- Verinäytteitä on kuljetettu/käsitelty virheellisesti.
- Verenkierrossa on kohonneita IFN- $\gamma$ -määriä tai kehossa on heterofiilisiä vasta-aineita.
- Verinäytteille hyväksytyt ajat niiden ottamisen ja inkuboinnin välillä on ylitetty. Katso *QFT-Plus Blood Collection Tubes -putkien käyttöohje* (1123668).



# Suorituskykyominaisuudet

## Kliiniset tutkimukset

Koska LTBI:n vahvistamisesta tai poissulkemisesta ei ole olemassa tarkkaa standarditestiä, QFT-Plus-testin herkkyyttä ja spesifisyyttä ei voida käytännössä arvioida. QFT-Plus-testin spesifisyys approksimoitiin arvioimalla virheellisesti positiivisia lukemia henkilöiltä, joilla on pieni tuberkuloosi-infektion riski (ei tunnettuja riskitekijöitä). Herkkyys keskiarvoistettiin arvioimalla tutkittavien ryhmiä, joilla oli viljelyllä vahvistettu aktiivinen tuberkuloosi. Lisäksi määrityksen suorituskykyä arvioitiin positiivisten ja negatiivisten osuuksilla populaatiosta, johon kuului terveitä tutkittavia, joilla oli tunnettuja tuberkuloosi-infektion riskitekijöitä (sekariskiryhmä).

## Spesifisyys

QFT-Plus-testin kliinistä spesifisyyttä arvioitiin monikeskustutkimuksella, johon osallistui 733 tutkittavaa, joilla katsottiin olevan joko pieni *M. tuberculosis* -infektion riski tai ei lainkaan infektiolle tai sairaudelle altistumisen riskitekijöitä. Demografiset tiedot ja tuberkuloosialtistuksen riskikertoimet määritettiin standarditutkimuksella testiajankohtana. Tutkimus suoritettiin neljässä itsenäisessä tutkimuspaikassa, joista yksi oli Yhdysvalloissa, kaksi Japanissa ja yksi Australiassa. QFT-Plus-testiä verrattiin QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT) -testiin. Yhteenveto suorituskyvyn kliinisestä spesifisyydestä tutkimuspaikoittain ja alueittain ryhmiteltynä on taulukossa 5. Suorituskyvyn tulokset perustuvat hyväksytyjen testien kokonaismäärään. Määrittämättömiä tuloksia ei ollut.

Taulukko 5. QFT-Plus-testin spesifisyys pienen riskin ryhmässä

Tutkimuskeskus	N	Positiivinen		Negatiivinen		Määrittämätön		Spesifisyys (95 %:n CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
Yhdysvallat									
(nro 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)
Japani									
(nro 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)
(nro 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)
Japani yhteensä	322	4	7	318	315	0	0	98,76 % (318/322) (96,85– 99,52)	97,83 % (315/322) (95,6– 98,9)
Australia									
(nro 4) AU-3	199	8	9	191	190	0	0	95,98 % (191/199) (92,27– 97,95)	95,48 % (190/199) (91,63– 97,60)

QFT-Plus-testin spesifisyys oli Yhdysvalloissa 98,11 %, Japanissa 97,83 % ja Australiassa 95,48 %. QFT-Plus-testin kokonaisspesifisyys oli 97,27 % (713/733). QFT-testin spesifisyys oli Yhdysvalloissa 99,06 %, Japanissa 98,76 % ja Australiassa 95,98 %. QFT-testin kokonaisspesifisyys oli 98,09 % (719/733).

Seuraavassa on tulosten erittely TB-antigeeniputkityypin ja niiden yhdistelmien mukaan esimerkiksi odotettavista tuloksista pienen riskin populaatiossa (taulukko 6).

Taulukko 6. QFT-Plus-testin spesifisyystutkimuksen tulokset TB-antigeeniputken mukaan

Tulkinta TB-antigeeni – Nil -arvon perusteella			QFT-Plus (positiivinen TB1- ja/tai TB2-putken perusteella)*	Yhtenevästi positiivinen TB1 ja TB2 (vuorotteluanalyysi)†
IU/ml putkessa	TB1	TB2		
Positiivinen	10	18	20	8
Negatiivinen	723	715	713	725
Määrittämätön	0	0	0	0
Spesifisyys (95 %-n CI)	–	–	97,3 % (713/733) (95,8–98,2)	–
Negatiivisuusaste (95 %-n luottamusväli)	98,6 % (723/733) (97,5–99,3)	97,5% (715/733) (96,2–98,4)	–	98,9% (725/733) (97,9–99,5)

\* Positiiviseksi tulkinta TB-antigeeni – Nil -arvon  $\geq 0,35$  IU/ml perusteella kummassakin (TB1 ja TB2) tai toisessa TB-putkessa QFT-Plus-testin (TB1 tai TB2) tulkintakriteerien mukaisesti.

† Vuorotteluanalyysi vain tiedoksi.

Pienen TB-infektorisikin tutkittavista yhteensä 20/733 tutkittavaa sai positiivisen tuloksen. Heistä kahdeksalla (8) tutkittavalla arvo oli  $> 0,35$  IU/ml sekä TB1- että TB2-putkessa. QFT- ja QFT-Plus-määritysten vertailu tehtiin pienen riskin tutkimuskohortissa, ja vertailussa kokonaiskonkordanssi oli 97,5 % (715/733) ja negatiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys 98,3 % (707/719).

## Herkyys

Koska LTBI:lle ei ole ehdotonta standarditestiä, sopivana korvaavana testinä voidaan käyttää *M. tuberculosis* -bakteerin mikrobiologista viljelyä, sillä tuberkuloosi-infektio on sairauden välttämätön esiaste.

QFT-Plus-testin kliinistä herkyyttä arvioitiin monikeskustutkimuksessa, johon osallistui 434 tutkittavaa, joilla oli aktiivisen *M. tuberculosis* -taudin merkkejä ja oireita ja joilla infektio oli vahvistettu viljelyllä ja/tai PCR-analyysillä ja jotka eivät saaneet tuberkuloosihoitoa tai joilla hoidosta oli  $\leq 14$  päivää ennen verinäytteen ottamista. Tutkimus suoritettiin seitsemässä (7) itsenäisessä tutkimuspaikassa, joista kolme oli Yhdysvalloissa, kolme Japanissa ja yksi Australiassa. QFT-Plus-testiä verrattiin QuantiFERON-TB Gold in Tube (QFT) -testiin. Yhteenveto suorituskyyvyn kliinisestä herkyudesta tutkimuspaikoittain ja maittain ryhmiteltynä on taulukossa 7. Suorituskyyvyn tulokset perustuvat hyväksytyjen testien kokonaismäärään. QFT-testin määrittämättömien tulosten yleisyys oli 2,3 % (10/434) ja QFT-Plus-testin 2,5 % (11/434).

Taulukko 7. Yhteenveto kliinisen herkkyuden suorituskykytutkimuksesta tutkimuspaikoittain, maittain ja yleisesti

Tutkimuskeskus	N	Positiivinen		Negatiivinen		Määrittämätön		Herkkyys (95 %:n CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
Yhdysvallat									
(nro 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)
(nro 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)
(nro 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)
Yhdysvallat yhteensä	53	47	47	6	6	0	0	88,7% (47/53) (77,4– 94,7)	88,7 % (47/53) (77,4– 94,7)
Japani									
(nro 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)
(nro 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)

Taulukko jatkuu seuraavalla sivulla

Taulukko jatkuu edelliseltä sivulta

**Taulukko 7. Yhteenveto kliinisen herkkyden suorituskykytutkimuksesta tutkimuspaikoittain, maittain ja yleisesti (jatkuu)**

Tutkimuskeskus	N	Positiivinen		Negatiivinen		Määrittämätön		Herkkyyden (95 %:n CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
(nro 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)
Japani yhteensä	352	328	322	15	19	9	11	95,63 % (328/343) (92,91– 97,33)	94,43 % (322/341) (91,5– 96,4)
Australia									
(nro 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)

Edellä olevan taulukon analyysi ei sisällä määrittämättömiä tuloksia.

QFT-Plus-testin herkkyys oli Yhdysvalloissa 88,7 %, Japanissa 94,43 % ja Australiassa 100,0 %. QFT-Plus-testin kokonaisherkkyys oli 94,09 % (398/423). QFT-testin herkkyys oli Yhdysvalloissa 88,7 %, Japanissa 95,63 % ja Australiassa 96,43 %. QFT-testin kokonaisherkkyys oli 94,81 % (402/424).

Seuraavassa on tulosten erittely TB-antigeeniputkityypin ja putkien yhdistelmien mukaan esimerkiksi odotettavista tuloksista vahvistetusti tuberkuloosi-infektion saaneissa populaatioissa (taulukko 8).

Taulukko 8. QFT-Plus-herkkyystutkimuksen tulokset TB-antigeeniputken mukaan

Tulkinta TB-antigeeni – Nil -arvon perusteella (IU/ml)	TB1	TB2	QFT-Plus (positiivinen TB1- ja/tai TB2-putken perusteella)
Positiivinen	388	397	398
Negatiivinen	32	26	25
Määrittämätön	14	11	11
Herkkyys* (95 %:n CI)	–	–	94 % (398/423) (91,4–96,0)
Positiivisuusaste* (95 %:n luottamusväli)	92,4% (388/420) (89,4–94,6)	93,9% (397/423) (91,1–95,8)	–

\* Lukuun ottamatta määrittämättömiä arvoja.

QFT- ja QFT-Plus-määritysten vertailu arvioitiin viljelyllä vahvistetussa aktiivisen tuberkuloosin kohortissa (herkkyystutkimuksen kohortit), ja vertailussa kokonaiskonkordanssi oli 95,9 % ja positiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys 97,3 % (391/402).

Taulukko 9. QFT-Plus-testin todennäköisyysuhteet

Tutkimuskeskus*	Herkkyys	Spesifisyys	LR+	LR-
Australia	100,00 %	95,48 %	22,11	0,00
Japani	94,43 %	97,83 %	43,44	0,06
Yhdysvallat	88,68 %	98,11 %	47,00	0,12

\* Yhteensä

## Suorituskyky tutkittavilla, joilla on tunnettuja MTB-infektion riskitekijöitä (sekariskiryhmä)

Sekä QFT- että QFT-Plus-testillä arvioitiin 601 tutkittavan kohortti, jossa tutkittavilla oli tuberkuloosi-infektion sekariskitekijöitä (esim. HIV-positiivisuus, aiempi aktiivisen tai latentin tuberkuloosin hoito, altistuminen aktiiviselle tuberkuloositapaukselle, HCW-tila). Riskitekijät tunnistettiin standardisoidulla tutkimuksella, eikä tutkittavilla ollut aktiiviseen tuberkuloosiin liittyviä oireita tutkimukseen ottamisen aikaan. Demografiset tiedot ja riskitekijät esitetään taulukossa 10. Tässä ryhmässä 68/601 tutkittavaa (11,3 %) sai positiivisen QFT-Plus-tuloksen ja positiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys (Positive Percent Agreement, PPA) oli 98,44 % ja negatiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys (Negative Percent Agreement, NPA) oli 99,07 % (taulukko 11). Tästä 68 QFT-Plus-positiivisen tutkittavan kohortista kaikkiaan 62 tutkittavaa sai positiivisen tuloksen sekä TB1- että TB2-putkitestissä, kaksi (2) tutkittavaa oli positiivisia vain TB1-putken mukaan ja neljä (4) oli positiivisia vain TB2-putken mukaan. Määrittämättömiä tuloksia (0/601) ei havaittu.



**Taulukko 10. Demografiset tiedot ja tuberkuloosi-infektion riskiin liittyvät tekijät sekakohortissa**

<b>Kaikki tutkittavat (601)</b>		<b>Määrä</b>	<b>Prosenttiosuus</b>
Sukupuoli	Mies	539	89,7 %
	Nainen	62	10,3 %
Ikä (vuosina)	Alue	18–70	–
	Keskiarvo	46,7	–
BCG-rokotettu	Kyllä	15	2,5 %
	Ei	586	97,5 %
HIV-positiivinen tai positiivinen HTLV-virusten testissä	Kyllä	12	2,0 %
	Ei	589	98 %
Aiemmin diagnosoitu aktiivinen tuberkuloosi	Kyllä	11	1,8 %
	Ei	590	98,2 %
Positiivinen ihon tuberkuliin testi (TST) / Mantoux'n tuberkuloosikoe	Kyllä	47	7,8 %
	Ei	554	92,2 %
Joskus saanut hoitoa aktiivisen tai latenttiin tuberkuloosiin	Kyllä	35	5,8 %
	Ei	566	94,2 %
Asunut, työskennellyt tai tehnyt vapaaehtoistyötä (> 1 kk) vankilassa tai rangaistuslaitoksessa	Kyllä	373	62,1 %
	Ei	228	37,9 %
Asunut, työskennellyt tai tehnyt vapaaehtoistyötä (> 1 kk) asunottomien turvakodissa	Kyllä	525	87,4 %
	Ei	76	12,6 %
Terveystieteiden alan työntekijä	Kyllä	8	1,3 %
	Ei	593	98,7 %
Läheisessä kontaktissa henkilöön, jolla on tai epäillään olevan aktiivinen tuberkuloositauti	Kyllä	9	1,5 %
	Ei	592	98,5 %

**Taulukko 11. Yhteenvedo QFT-Plus-testin suorituskyvystä QFT-testiin verrattuna tutkittavilla, joilla tiedetään olevan latentin tuberkuloosi-infektion riskitekijöitä**

		QFT		
		Positiivinen (+)	Negatiivinen (-)	Yhteensä
QFT-Plus	Positiivinen (+)	63	5*	68
	Negatiivinen (-)	1*	532	533
	Yhteensä	64	537	601

\*Kaikkien kuuden (6) ristiriitaisen näytteen TB-antigeeniputkien IFN- $\gamma$ -tasot olivat lähellä määrittämisen raja-arvoa.

QFT- ja QFT-Plus-tulosten positiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys (PPA) ja negatiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys (NPA) olivat seuraavanlaiset:

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

Alla olevassa taulukossa 12 esitetään QFT-Plus-testin suorituskyky verrattuna QFT-testiin BCG-rokotetuilla tutkittavilla.

**Taulukko 12. QFT-Plus-testin suorituskyky verrattuna QFT-testiin BCG-rokotetuilla tutkittavilla (yhdistetyt tiedot herkkyys-, spesifisyys- ja LTBI-tutkimuksen tutkittavista)**

		QFT		
		Positiivinen (+)	Negatiivinen (-)	Yhteensä
QFT-Plus	Positiivinen (+)	66	5	71
	Negatiivinen (-)	3	268	271
	Yhteensä	69	273	342*

\* Kaksi herkkyystutkimuksen tutkittavaa suljettiin pois analyysistä määrittämättömien tulosten vuoksi

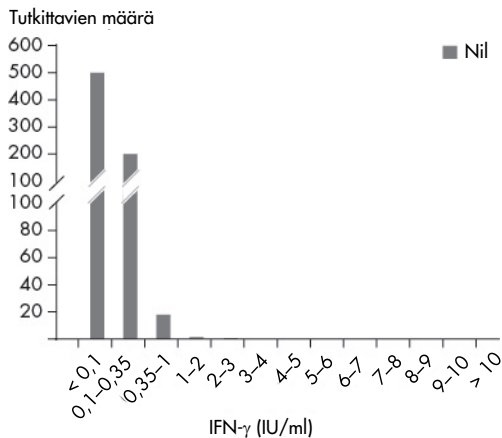
- PPA = 95,6 % (66/69), 95 %:n CI (87,98, 98,51)
- NPA = 98,2 % (268/273), 95 %:n CI (95,79, 99,22)

## Odotusarvot

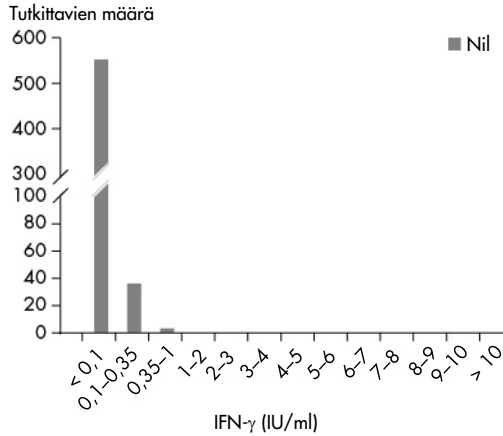
### Havaittujen vasteiden jakaumat – ryhmittely riskien mukaan

Kliinisissä tutkimuksissa havaittiin erilaisia TB1:n, TB2:n ja kontrolliputkien IFN- $\gamma$ -vasteita, ja ne ryhmiteltiin *M. tuberculosis* -infektion riskin mukaan (kuvat 4–7). Sekariskiryhmä koostuu yleistä testipopulaatiota edustavista tutkimushenkilöistä. Ryhmään kuuluu sekä henkilöitä, joilla on tuberkuloosialistuksen riskitekijöitä, että henkilöitä, joilla riskitekijöitä ei ole ja jolloin aktiivinen tuberkuloosi on epätodennäköinen (eli LTBI).

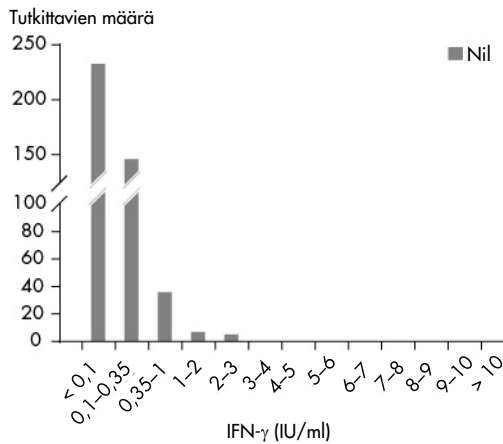
A



B

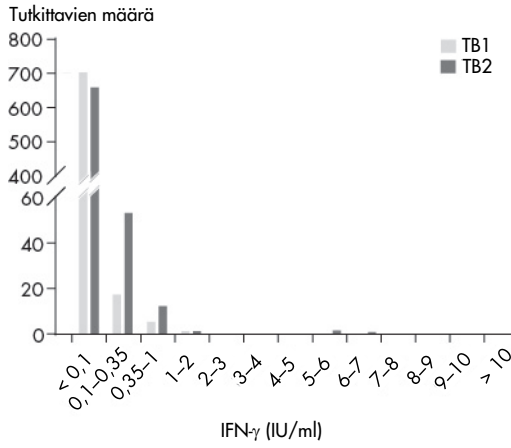


C

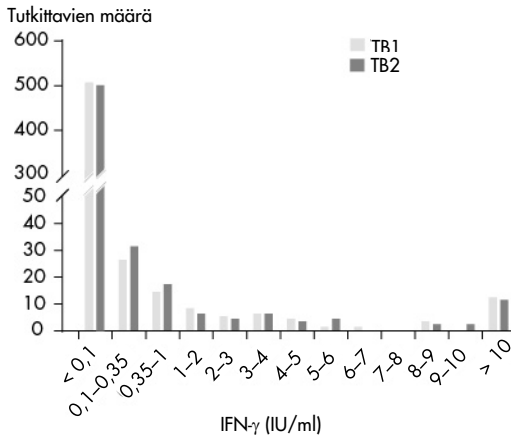


**Kuva 4. Nil-jakauma.** A Nil-arvojen jakauma pienen riskin potilasryhmässä (n = 744). B Nil-arvojen jakauma sekariskin potilasryhmässä (n = 601). C Nil-arvojen jakauma potilasryhmässä, jonka henkilöiden *M. tuberculosis*-infektio varmistettiin viljelyllä (n = 416).

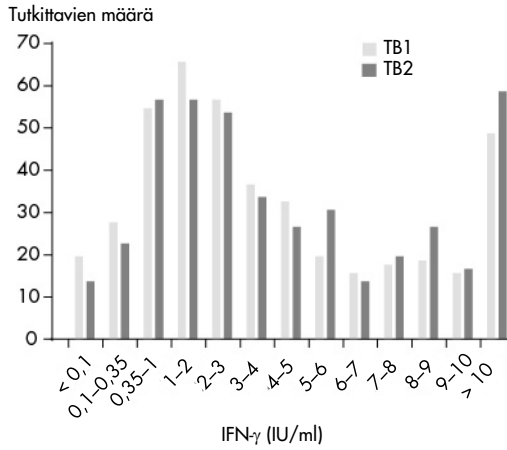
A



B

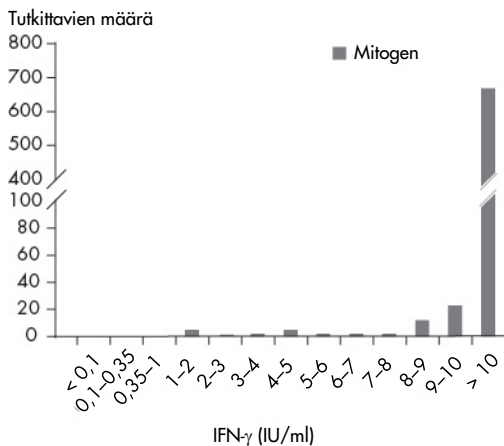


C

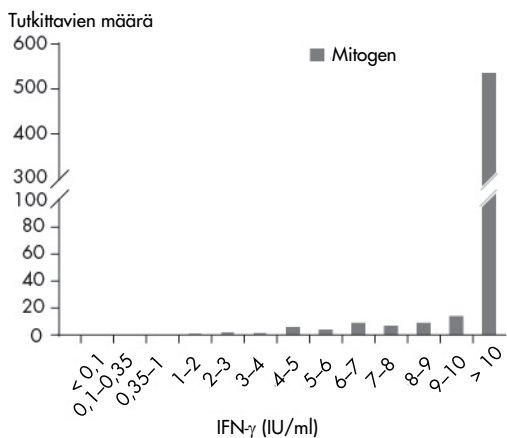


**Kuva 5. TB1:n ja TB2:n jakauma (Nil-arvo vähennettynä).** A TB1:n ja TB2:n jakauma (Nil-arvo vähennettynä) pienen riskin potilasryhmässä (n = 744). B TB1:n ja TB2:n jakauma (Nil-arvo vähennettynä) sekariskin potilasryhmässä (n = 601). C TB1:n ja TB2:n jakauma (Nil-arvo vähennettynä) potilasryhmässä, jonka henkilöiden *M. tuberculosis*-infektio varmistettiin viljelyllä (n = 416).

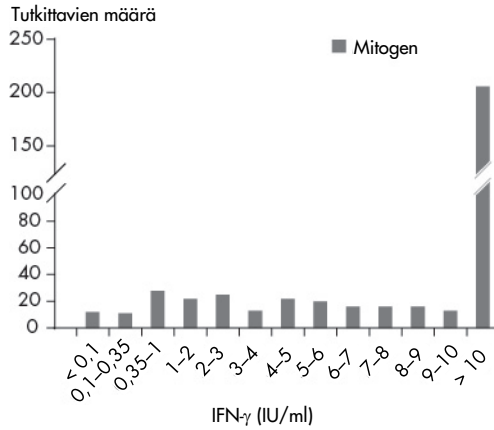
A



B

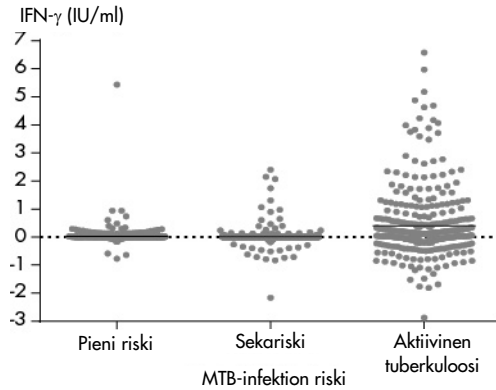


C



**Kuva 6. Mitogen-jakauma (Nil-arvo vähennettynä).** **A** Mitogen-jakauma (Nil-arvo vähennettynä) pienen riskin potilasryhmässä (n = 744). **B** Mitogen-jakauma (Nil-arvo vähennettynä) sekariskin potilasryhmässä (n = 601). **C** Mitogen-jakauma (Nil-arvo vähennettynä) potilasryhmässä, jonka henkilöiden *M. tuberculosis* -infektio varmistettiin viljelyllä (n = 415).





**Kuva 7. Havaittu TB1- ja TB2-arvojen välinen ero (Nil-arvo vähennettynä) – ryhmittely riskin mukaan.**

Sisältää tiedot sekariskikohortin tutkimuksesta, jotta voidaan esittää erot pienen riskin, aktiivisen riskin ja sekariskin kohorttien välillä. Tähän analyysiin sisällytettiin tiedot sekariskikohortista, jolla oli tunnettuja riskitekijöitä. Pienen riskin kohortin  $n = 733$ , sekariskikohortin  $n = 588$  ja aktiivisen tuberkuloosin kohortin  $n = 357$ . Kvantitatiivinen IU/ml-ero kunkin tutkitavan kohdalla saatiin vähentämällä TB1-arvo TB2-arvosta.

## Turvallisuuden ja suorituskyvyn yhteenveto

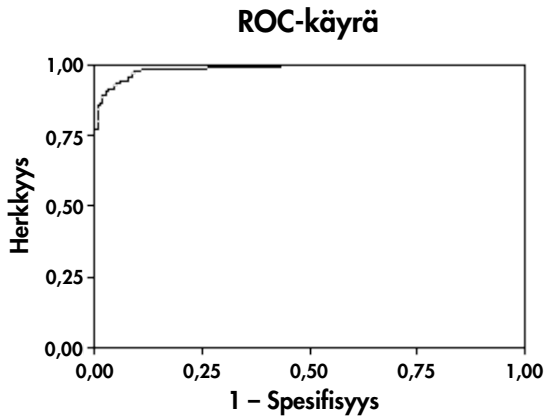
Turvallisuuden ja suorituskyvyn yhteenveto on saatavilla EUDAMED-sivustolla.

# Määrittelyn suorituskykyominaisuudet

## Analyttinen suoritus

### Määrittelyn raja-arvo

QFT-Plus-määrittelyn raja-arvo määritettiin käyttämällä tietoja 216 tutkittavasta, joilla ei ollut tiedossa riskitekijöitä tuberkuloosialtistukselle, jotka oli BCG-rokotettu ja joiden oletettiin olevan infektiottomia, ja 118 tutkittavasta, joiden *M. tuberculosis* -infektio oli vahvistettu viljelyllä. Herkkyys- ja spesifisyystiedot yhdistettiin ja analysoitiin ROC-käyräanalyysillä (Receiver Operator Characteristic, ROC). ROC-analyysillä saadut herkkyys- ja spesifisyystiedot osoittivat, että optimaalinen ELISA-testin raja-arvo oli 0,35 IU/ml (katso kuva 8).



Kuva 8. ESAT-6- ja CFP-10-vasteiden ROC-käyrä

**Taulukko 13. ELISA-testin herkkyys ja spesifisyys eri raja-arvoilla**

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

Taulukko jatkuu seuraavalla sivulla

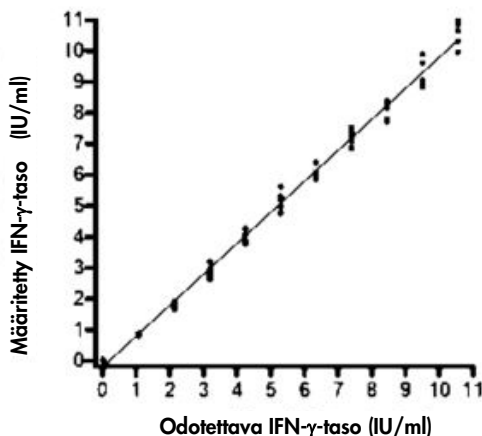
Taulukko jatkuu edelliseltä sivulta

**Taulukko 13.** ELISA-testin herkkyys ja spesifisyys eri raja-arvoilla

Raja-arvo IU/ml IFN- $\gamma$	Herkkyys-%	95 %:n CI	Spesifisyys-%	95 %:n CI	Herkkyys + spesifisyys
0,47	85,59	77,94–91,38 %	99,08	96,71–99,89 %	184,67
0,48	84,75	76,97–90,70 %	99,08	96,71–99,89 %	183,83
0,50	83,90	76,00–90,02 %	99,08	96,71–99,89 %	182,98

## Lineaarisuus

QFT-Plus ELISA -testin lineaarisuus on todistettu asettamalla ELISA-levylle sattumanvaraisesti viisi replikaattia 11 plasmapoolista, joiden IFN- $\gamma$ -pitoisuus tunnetaan. Lineaarisen regressiosuoran kulmakertoimen on  $1,002 \pm 0,011$ , ja korrelaatiokerroin on 0,99 (kuva 9).



**Kuva 9.** Kuva lineaarisuustutkimuksen regressioanalyysistä – korkean poolin keskiarvo =  $-0,24 + 0,9964 \cdot \text{odotettava}$ .

## Uusittavuus

QFT-Plus-määrityksen suorituskyky eri tutkimuspaikoissa ja eri käyttäjien käytössä on arvioitu monikeskustutkimuksen uusittavuustutkimuksella. Tämä prospektiivinen tutkimus suoritettiin kolmessa ulkoisessa testauspaikassa ja yhdessä näytteenottopaikassa. Tutkimukseen osallistui yhteensä 32 positiivista ja 34 negatiivista (QFT-testin määrityksen mukaan) tutkittavaa. Tutkittavat olivat Yhdysvalloissa työskenteleviä terveydenhuoltoalan työntekijöitä. Tutkittavat edustivat tuberkuloosialitistuksen suhteen sekariskiryhmiä ammattinsa vuoksi. Osa tutkittavista terveydenhuoltoalan työntekijöistä oli myös syntynyt toisessa maassa, jossa tuberkuloosin esiintyvyys on yli 50 / 100 000.

Jokaiselta tutkittavalta otettiin näyte kolmeen (3) litiumhepariinia sisältävään verinäyteputkeen näytteenottopaikalla. Sen jälkeen litiumhepariinia sisältävät verinäyteputket siirrettiin kuhunkin kolmesta testauspaikasta, missä ne alikvoitiin kahteen settiin QFT-Plus Blood Collection Tubes -putkia (QFT-Plus TB1, TB2, Mitogen ja Nil) ja testattiin QFT-Plus-määritysmenetelmän mukaisesti. Jokaisessa testauspaikassa kunkin tutkittavan kaksi testiä teki itsenäisesti vähintään kaksi käyttäjää. Jokainen käyttäjä sokkoutettiin toisen käyttäjän saamien tulosten osalta sekä tutkittavan QFT-testituloksen osalta.

Jokaista 66 testattavaa kohden saatiin kolmessa testauspaikassa yhteensä kuusi tulosta, joten tietopisteitä oli yhteensä 396. Yhteenveto uusittavuustutkimuksen tuloksista esitetään taulukossa 14.

### Taulukko 14. Yhteenveto uusittavuustutkimuksen tuloksista – testauspaikan prosentuaalinen yhtäpitävyys kvalitatiivisissa tuloksissa käyttäjien välillä, N = 66 potilasnäytettä

Testauspaikka 1 – 2 käyttäjää	Testauspaikka 2 – 2 käyttäjää	Testauspaikka 3 – 3 käyttäjää
64/66 = 96,97 %	64/66 = 96,97 %	59/66 = 89,39 %
Putkisettien 1 ja 2 kvalitatiivisten tulosten yhtäpitävyys	Putkisettien 1 ja 2 kvalitatiivisten tulosten yhtäpitävyys	Putkisettien 1 ja 2 kvalitatiivisten tulosten yhtäpitävyys

Kvalitatiivinen prosentuaalinen yhtäpitävyys tutkimuspaikkojen välillä on 94,7 % (375/396). Tässä laskelmassa yhtäpitävien testitulosten yhteismäärä (375) sisältää tapaukset, joissa kaikki 6 tulosta ovat yhtäpitävät, 5/6 tulosta ovat yhtäpitävät, 4/6 tulosta ovat yhtäpitävät tai 3/6 tulosta ovat yhtäpitävät.

## Erien välinen toistettavuus

QFT-Plus Blood Collection Tubes -putkien erien välinen vaihtelu on määritetty tutkimuksella, jossa niitä verrattiin QFT-putkiin. Tutkimuksessa testattiin yhteensä 30 henkilöä (15 QFT-testillä vahvistetusti TB-positiivista ja 15 vahvistetusti TB-negatiivista tutkittavaa). Sekä QFT-Plus TB1- ja TB2-putkista että QFT TB Blood Collection Tubes -putkista käytettiin tutkimuksessa kolmea eri erää. Jokaista luovuttajaa ja jokaista verinäyteputkea kohden testattiin kolme replikaattia. Nil- ja Mitogen-putkista testattiin yhdet replikaatit.

Jokaiselta tutkittavalta kerättiin verta litiumhepariinia sisältäviin verinäyteputkiin ja sitten 1 ml verta siirrettiin jokaiseen QFT-Plus- ja QFT Blood Collection Tubes -putkeen ja testattiin määritysmenetelmän mukaisesti. Positiivista ja negatiivista näyteryhmää kohden QFT-Plus-putkien tulosten kokonaisvarianssi ei saanut olla huomattavasti suurempi kuin QFT-putkien tulosten kokonaisvarianssi. Tämä määritettiin Levenen varianssin homogeenisyydestistä (Homogeneity of Variance, HOV) saadun p-arvon perusteella. Jos p-arvo ei ollut merkittävä ( $p > 0,05$ ) ja/tai QFT-Plus-TB-putkien variaatio oli pienempää kuin QFT-TB-putken, QFT-Plus- ja QFT-mallin TB-putkien välillä oli varianssi.

**Taulukko 15. QFT-Plus and QFT TB Blood Collection Tubes -putkien varianssien vertailu Levenen HOV-testillä**

Näytetyyppi	Ero	Vaikutus	Riippuvainen	P-arvo	Merkittävä
Positiivinen	TB2 vs. QFT	Alatyypin	Residuaalinen	0,0378	Kyllä
Positiivinen	TB2 vs. QFT	Alatyypin	Residuaalinen	0,0540	Ei
Negatiivinen	TB2 vs. QFT	Alatyypin	Residuaalinen	0,1025	Ei
Negatiivinen	TB2 vs. QFT	Alatyypin	Residuaalinen	0,6344	Ei

QFT-Plus and QFT TB Blood Collection Tubes -putkien välinen variaatio ei ollut merkittävää, lukuun ottamatta QFT-Plus-mallin TB2-putkea positiivisia tutkittavia testattaessa. Kun keskihajonnan arvio analysoitiin, QFT-Plus-mallin TB2-putkessa nähty variaatio oli pienempi (0,06089) kuin QFT-TB-putken (0,07641) taulukon 16 mukaisesti. Näin ollen QFT-Plus Blood Collection Tubes -putkien TB1:n ja TB2:n varianssi ei ollut suurempi kuin QFT TB Blood Collection Tube -putken.

**Taulukko 16. Residuaalisen ja 95 %:n luottamusvälin keskihajonta positiivisilla tutkittavilla**

Näytetyppi	Alatyyppi	Keskihajonnan arvio	95 %:n LCL	95 %:n UCL
Positiivinen	QFT	0,07641	0,06826	0,08680
Positiivinen	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Positiivinen	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

### Erän sisäinen toistettavuus

QFT-Plus Blood Collection Tubes -putkien erän sisäinen uusittavuus arvioitiin tutkimuksella, jossa verrattiin QFT-Plus Blood Collection Tubes -putkissa olevien veren replikaattien IFN- $\gamma$  -pitoisuutta.

Yhdestä saman vahvistetusti tuberkuloosi-infektion saaneen tutkittavan verinäytteestä ajettiin kuusi alikvoottia toistaen kuudessa (6) kummankin tyyppisessä yhden erän QFT-Plus Blood Collection Tubes -verinäyteputkessa (TB1 ja TB2). Testi tehtiin 13 tutkittavalle. %CV laskettiin jokaisen tutkittavan osalta ja kaikilta tutkittavilta yhdessä, jolloin saatiin taulukon 17 mukainen keskimääräinen %CV.

**Taulukko 17. %CV keskiarvolle, keskihajonnalle, minimille, mediaanille ja maksimille kummallakin QFT-Plus Blood Collection Tubes -putkien TB-putkella TB-positiivisilla tutkittavilla**

QFT-Plus-putki	Näytteen koko	Keskiarvo (%CV)	Keskihajonta	Vähintään	Mediaani	Enintään
TB1	13	13,31	6,88	4,17	12,87	29,56
TB2	13	13,04	7,48	4,86	10,75	29,44

Tulokset osoittivat, että keskiarvoinen %CV TB1-putkella ja TB2-putkella oli ~13 %, mikä täyttää  $\leq 30$  %:n hyväksymiskriteerin ja todistaa erän sisäisen toistettavuuden.

### Tyhjän raja (Limit of Blank, LoB)

QFT-Plus-määrityksen tyhjän raja (Limit of Blank, LoB) on arvioitu. 14 erillisestä normaalista ihmisen plasmanäytteestä (tyhjä) testattiin kaksi (2) replikaattia kahdella (2) QFT-Plus ELISA -erällä niin, että käyttäjiä oli kolme (3) ja testauspäiviä oli kolme (3), yksi käyttäjä testauspäivää kohden, jolloin kummastakin ELISA-sarjan erästä saatiin 84 replikaattia.

ELISA-sarjan kahden eri erän LoB-arvot (IU/ml) laskettiin erikseen, ja ne esitetään taulukossa 18.

**Taulukko 18. Kahden QFT-Plus ELISA Kit -sarjan erän LoB-arvot (IU/ml)**

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

Lopulliseksi LoB-arvoksi ilmoitettiin QFT-Plus ELISA Kit -sarjan erien LoB-arvoista suurempi, 0,040 IU/ml.



## Havaitsemisraja (Limit of Detection, LoD)

QFT-Plus-määrityksen havaitsemisraja (Limit of Detection, LoD) on arvioitu. TB-negatiivisesta ihmisen plasmasta muodostettiin pooli yhdistämällä 14 erillistä plasmanäytettä. Kolme (3) käyttäjää valmisteli IFN- $\gamma$ -referenssistandardivaraston puskuriin laimennettuna pitoisuudella 1,0 IU/ml. Laimennussarjassa oli kahdeksan (8) pitoisuutta. Tutkimuksessa kolme (3) vaihtuvaa käyttäjää teki testin kolmena (3) päivänä kahdella (2) QFT-Plus ELISA Kit -sarjan erällä. Jokaisena testauspäivänä jokaisessa sarjalaimennuksen sarjassa kutakin pitoisuutta kohden testattiin viisi (5) replikaattia, joten kummallakin QFT-Plus ELISA Kit -sarjan erällä testattiin 45 replikaattia jokaisen IFN- $\gamma$ -pitoisuuden laimennuksella.

QFT-Plus ELISA Kit -sarjan erien LoD-arvot laskettiin erikseen, ja ne esitetään taulukossa 19.

**Taulukko 19. Kahden QFT-Plus ELISA Kit -sarjan erän LoD-arvot (IU/ml)**

QFT-Plus ELISA Kit	Todennäköisyys	Pitoisuusarvio (IU/ml)	Alempi 95 %:n luottamusraja arviossa	Ylempi 95 %:n luottamusraja arviossa
Sarja 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Sarja 2	0,95	0,065	0,060	0,073

Lopulliseksi LoD-arvoksi ilmoitettiin QFT-Plus ELISA Kit -sarjan erien lasketuista LoD-arvoista suurempi, 0,065 IU/ml.

## Häiritsevät aineet

Mahdollisten häiritsevien aineiden vaikutus QFT-Plus ELISA -sarjan kykyyn havaita IFN- $\gamma$  määritettiin tutkimuksella. Testauksessa tarkasteltiin seuraavia häiritseviä aineita: triglyseridit (kokonaisuudessaan), hemoglobiini, proteiini (koko seerumi), bilirubiini (konjugoitu), bilirubiini (konjugoitumaton), abakaviirisulfaatti, syklosporiini ja prednisoloni. Tunnettuja IFN- $\gamma$  -pitoisuuksia käyttäen valmisteltiin viisi plasmapoolia, joissa käytettiin häiritsevästä aineista eri pitoisuuksia. Lähtöpoolin IFN- $\gamma$  -taso valmisteltiin aiemmassa vaiheessa ennalta määritetyllä IFN- $\gamma$  -määrällä (noin 0,21, 0,45 ja 1,4 IU/ml). Tämän poolin avulla valmisteltiin häiritsevien aineiden poolit. Häiritsevästä aineista testattiin pitoisuudet 0 mg/dl, 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl ja 20 mg/dl. Häiritsevien aineiden kohdepitoisuudet perustuivat referenssiväleihin, patologiisiin arvoihin, hoitoalueisiin ja toksisiin alueisiin tai toimittajan tai yleisten kliinisten tasojen suosituksiin. Jokaista häiritsevän aineen näytteen pitoisuustasoa kohden testattiin kuusi replikaattia.

Jokaisella näytepitoisuudella tehtiin kahden näytteen T-testi, jossa verrattiin ensimmäisen häiritsevän aineen tason keskimääräisen log<sub>10</sub>-arvon (IU/ml) ja kontrollin (eli häiritsevää ainetta sisältämättömän tason) eroa, ja tulokset esitetään taulukoissa 20 ja 21. Myös arvioitu ero keskimääräisessä vasteessa ja vastaavat kaksipuoleiset 95 %:n luottamusrajat ja p-arvo on ilmoitettu.

**Taulukko 20. Log10 IU/ml: T-testin yhteenvetotaulukko häiritsevän aineen kontrollitason ja ensisijaisen tason keskiarvojen eroista kullakin häiritsevän aineen ja IFN- $\gamma$  -pitoisuuden tasolla**

Häiritsevä aine	Häiritsevän aineen taso	Näytteen pitoisuus (IU/ml)	Varianssit	Keskiarvojen ero	Matalampi 95 %:n CI	Korkeampi 95 %:n CI	P-arvo	Hyväksytyt
Triglyseridit	Korkea	1,4	Yhtä suuri	0,019	-0,040	0,077	0,491	Kyllä
		0,45	Yhtä suuri	0,004	-0,022	0,030	0,732	Kyllä
		0,21	Yhtä suuri	0,006	-0,035	0,047	0,759	Kyllä
Hemoglobiini	Korkea	1,4	Yhtä suuri	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Kyllä
		0,45	Yhtä suuri	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Kyllä
		0,21	Yhtä suuri	0,000	-0,034	0,035	0,980	Kyllä
Proteiini	Korkea	1,4	Yhtä suuri	0,004	-0,034	0,042	0,836	Kyllä
		0,45	Yhtä suuri	0,001	-0,38	0,040	0,962	Kyllä
		0,21	Yhtä suuri	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Kyllä
Konjugoitu bilirubiini	Korkea	1,4	Yhtä suuri	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Kyllä
		0,45	Yhtä suuri	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Kyllä
		0,21	Yhtä suuri	-0,014	0,074	0,046	0,625	Kyllä
Konjugoitumaton bilirubiini	Korkea	1,4	Yhtä suuri	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Kyllä
		0,45	Yhtä suuri	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Kyllä
		0,21	Yhtä suuri	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Kyllä
Abakaviiri	Korkea	1,4	Yhtä suuri	0,008	-0,025	0,041	0,601	Kyllä
		0,45	Yhtä suuri	0,012	-0,019	0,044	0,412	Kyllä
		0,21	Yhtä suuri	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Kyllä

Taulukko jatkuu seuraavalla sivulla

Taulukko jatkuu edelliseltä sivulta

Taulukko 20. Log<sub>10</sub> IU/ml: T-testin yhteenvetotaulukko häiritsevän aineen kontrollitason ja ensisijaisen tason keskiarvojen eroista kullakin häiritsevän aineen ja IFN- $\gamma$  -pitoisuuden tasolla

Häiritsevä aine	Häiritsevän aineen taso	Näytteen pitoisuus (IU/ml)	Varianssit	Keskiarvojen ero	Matalampi 95 %:n CI	Korkeampi 95 %:n CI	P-arvo	Hyväksytty
Syklosporiini	Korkea	1,4	Yhtä suuri	0,014	-0,020	0,047	0,383	Kyllä
		0,45	Yhtä suuri	0,005	-0,035	0,045	0,773	Kyllä
		0,21	Yhtä suuri	0,024	-0,008	0,056	0,131	Kyllä
Prednisoloni	Korkea	1,4	Yhtä suuri	0,017	-0,017	0,050	0,293	Kyllä
		0,45	Yhtä suuri	0,000	-0,036	0,036	0,979	Kyllä
		0,21	Yhtä suuri	0,015	-0,035	0,065	0,524	Kyllä

**Taulukko 21. Log<sub>10</sub> IU/ml: T-testin yhteenvetotaulukko häiritsevän aineen kontrollitason ja korkean tason keskiarvojen eroista kullakin häiritsevän aineen ja IFN- $\gamma$  -pitoisuuden tasolla**

Häiritsevä aine	Häiritsevän aineen taso	Näytteen pitoisuus (IU/ml)	Varianssit	Keskiarvojen ero	Matalampi 95 %:n CI	Korkeampi 95 %:n CI	P-arvo	Hyväksyty
Triglyseridit	Korkea	1,4	Yhtä suuri	0,053	-0,004	0,110	0,063	Kyllä
		0,45	Yhtä suuri	0,039	-0,021	0,058	< 0,001	Kyllä
		0,21	Yhtä suuri	0,034	-0,002	0,071	0,061	Kyllä
Hemoglobiini	Korkea	1,4	Yhtä suuri	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Kyllä
		0,45	Yhtä suuri	0,016	-0,007	0,040	0,152	Kyllä
		0,21	Yhtä suuri	0,014	-0,030	0,059	0,489	Kyllä
Proteiini	Korkea	1,4	Yhtä suuri	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Kyllä
		0,45	Yhtä suuri	0,000	-0,046	0,046	0,992	Kyllä
		0,21	Yhtä suuri	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Kyllä
Konjugoitu bilirubiini	Korkea	1,4	Yhtä suuri	0,001	-0,046	0,048	0,961	Kyllä
		0,45	Yhtä suuri	0,012	-0,043	0,067	0,639	Kyllä
		0,21	Yhtä suuri	0,015	-0,044	0,074	0,586	Kyllä
Konjugoitumaton bilirubiini	Korkea	1,4	Yhtä suuri	0,015	-0,011	0,042	0,231	Kyllä
		0,45	Yhtä suuri	0,015	-0,023	0,052	0,411	Kyllä
		0,21	Yhtä suuri	0,012	-0,033	0,057	0,566	Kyllä
Abakaviiri	Korkea	1,4	Yhtä suuri	0,013	-0,015	0,040	0,322	Kyllä
		0,45	Yhtä suuri	0,015	-0,014	0,044	0,283	Kyllä
		0,21	Yhtä suuri	0,008	-0,034	0,050	0,677	Kyllä

Taulukko jatkuu seuraavalla sivulla

Taulukko jatkuu edelliseltä sivulta

Taulukko 21. Log<sub>10</sub> IU/ml: T-testin yhteenvetotaulukko häiritsevän aineen kontrollitason ja korkean tason keskiarvojen eroista kullakin häiritsevän aineen ja IFN- $\gamma$  -pitoisuuden tasolla

Häiritsevä aine	Häiritsevän aineen taso	Näytteen pitoisuus (IU/ml)	Varianssit	Keskiarvojen ero	Matalampi 95 %:n CI	Korkeampi 95 %:n CI	P-arvo	Hyväksyty
Syklosporiini	Korkea	1,4	Yhtä suuri	0,002	-0,019	0,024	0,816	Kyllä
		0,45	Yhtä suuri	0,007	-0,030	0,043	0,682	Kyllä
		0,21	Yhtä suuri	0,015	-0,007	0,038	0,155	Kyllä
Prednisoloni	Korkea	1,4	Yhtä suuri	0,007	-0,016	0,030	0,518	Kyllä
		0,45	Yhtä suuri	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Kyllä
		0,21	Yhtä suuri	0,021	-0,025	0,068	0,334	Kyllä

Tuloksissa ei ilmennyt merkitseviä eroja ensisijaisen häiriötason ja kontrollitason (häiritsevää ainetta sisältämättömän tason) välillä eikä korkealla häiritsevän aineen tasolla, lukuun ottamatta triglyseridiä pitoisuustasolla 0,45 IU/ml. Keskimääräisen eron määritettiin olevan keskihajonnan alueella +/-2. Näin ollen ero on määrittelyn odotettavan vaihtelun sisällä ja triglyseridillä ei ollut häiritsevää vaikutusta QFT-Plus ELISA -testiin.

# Hävittäminen

Noudata asianmukaisia verenkäsittelyohjeita. Hävitä veren tai verituotteiden kanssa kosketuksissa olleet näytteet ja materiaalit kansallisten, alueellisten ja paikallisten säädösten mukaisesti.

# Lähdeviitteet

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.

# Vianmääritysopas

Tämä vianmääritysopas voi auttaa mahdollisissa esiin tulevissa ongelmissa. Jos tarvitset teknistä tukea tai lisätietoja, käy teknisen tukemme sivuilla osoitteessa [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) (katso yhteystiedot osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Huomautuksia ja ehdotuksia

---

### ELISAn vianmääritys

#### Epämääräinen värin kehittyminen

- |   |  |
|---|--|
| a) Levy ei ole täysin pesty   | Pese levy pesupuskurilla 400 µl/kuoppa vähintään 6 kertaa. Käytettävän pesimen mukaan saatetaan tarvita enemmän kuin 6 pesujaksoa. Jokaisen pesujakson välissä on suoritettava vähintään 5 sekunnin liotusjakso. |
| b) ELISA-kuoppien ristikontaminaatio  | Pipetoinnissa ja näytteen sekoituksessa on oltava huolellinen riskin vähentämiseksi minimiin.  |
| c) Sarja/komponentit ovat vanhentuneet  | Varmista, että sarja käytetään ennen viimeistä käyttöpäivää. Varmista, että standardi ja konjugaatin 100x -konsentraatti käytetään kolmen kuukauden kuluessa käyttövalmiiksi saattamisen päivämäärästä.          |
| d) Entsyymien substraattiliuos kontaminoitunut.                                     | Heitä substraatti pois, jos sinistä väriä on havaittavissa. Varmista, että käytössä olevat reagenssisäiliöt ovat puhtaat.  |
| e) Plasma on sekoittunut QFT-Plus Blood Collection Tubes -putkissa ennen keräämistä | Kun sentrifugointi on tehty, varo pipetin ylös ja alas suuntautuvaa liikettä tai plasman sekoittumista millään tavoin ennen sen talteenottoa. Varo aina rikkomasta geelin pinnalla olevaa materiaalia.           |

## Huomautuksia ja ehdotuksia

---

### Standardien lukemien alhainen optinen tiheys

- |   |   |
|---|---|
| a) Standardin laimennusvirhe                                      | Varmista, että sarjan standardin laimennukset on tehty oikein näiden käyttöohjeiden mukaan.   |
| b) Pipetointivirhe  | Varmista, että pipetit on kalibroitu ja niitä käytetään valmistajan ohjeiden mukaan.  |
| c) Inkubointilämpötila on liian alhainen                          | ELISA-testin inkubointi on suoritettava huoneenlämpötilassa ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ).   |
| d) Inkubointiaika on liian lyhyt                                  | Konjugaatin, standardit ja näytteet sisältävän levyn inkubointiajan on oltava $120 \pm 5$ minuuttia. Entsyymien substraattiliuosta inkuboidaan levyssä 30 minuutin ajan.                                  |
| e) On käytetty virheellistä levyn lukulaitteen suodatinta         | Levy on luettava $450\text{ nm:n}$ suodattimella, ja referenssisuodattimen on oltava $620\text{--}650\text{ nm}$ .  |
| f) Reagenssit ovat liian kylmiä                                   | Kaikki reagenssit lukuun ottamatta konjugaatin $100\times$ -konsentraattia on tuotava huoneenlämpöön ennen määrittämisen aloittamista. Se vie noin 1 tunnin.  |
| g) Sarjan/ komponenttien viimeinen käyttöpäivämäärä on umpeutunut | Varmista, että sarja käytetään ennen viimeistä käyttöpäivää. Varmista, että standardi ja konjugaatin $100\times$ -konsentraatti käytetään 3 kuukauden kuluessa käyttövalmiiksi saattamisen päivämäärästä. |

## Huomautuksia ja ehdotuksia

---

### Paljon taustahäiriöitä

- a) Levy ei ole täysin pesty  
Pese levy pesupuskurilla 400 µl/kuoppa vähintään 6 kertaa. Pesuja voidaan tarvita enemmän kuin 6. Jokaisen pesujakson välissä on suoritettava vähintään 5 sekunnin liotusjakso.
- b) Inkubointilämpötila on liian korkea  
ELISA-testin inkubointi on suoritettava huoneenlämpötilassa (22 °C ± 5 °C).
- c) Sarja/komponentit ovat vanhentuneet  
Varmista, että sarja käytetään viimeiseen käyttöpäivään mennessä. Varmista, että standardi ja konjugaatin 100x-konsentraatti käytetään kolmen kuukauden kuluessa käyttövalmiiksi saattamisen päivämäärästä.
- d) Entsyymien substraattiliuos on kontaminoitunut.  
Heitä substraatti pois, jos sinistä väriä on havaittavissa. Varmista, että käytössä olevat reagenssisäiliöt ovat puhtaat.

### Epälineaarinen standardikäyrä ja rinnakkaisotoksen vaihtelu

- a) Levy ei ole täysin pesty  
Pese levy pesupuskurilla 400 µl/kuoppa vähintään 6 kertaa. Pesuja voidaan tarvita enemmän kuin 6. Jokaisen pesujakson välissä on suoritettava vähintään 5 sekunnin liotusjakso.
- b) Standardin laimennusvirhe  
Varmista, että standardien laimennukset on tehty oikein näiden käyttöohjeiden mukaan.
- c) Huono sekoitus  
Sekoita reagenssit huolellisesti kääntelemällä putkia tai pyöräyttämällä niitä kevyesti ennen niiden lisäämistä levyille.
- d) Epäjohdonmukainen pipetointitekniikka tai keskeytys testin suorituksessa  
Näytteen ja standardin lisääminen on suoritettava yhtäjaksoisesti. Kaikki reagenssit on valmistettava ennen testin aloittamista.

# Symbolit

Käyttöohjeessa tai pakkauksessa ja etiketeissä käytetään seuraavia symboleita:

## Symboli

## Selitys



<N>

Sisältää reagensseja, jotka riittävät <N> reaktioon



Viimeinen käyttöpäivämäärä



Tämä tuote täyttää in vitro -diagnostisia lääkinnällisiä laitteita koskevan eurooppalaisen säännöksen 2017/746 vaatimukset.

**EC**

**REP**

Valtuutettu edustaja Euroopan yhteisössä / Euroopan unionissa

**IVD**

In vitro -diagnostinen lääketieteellinen laite

**REF**

Tuotenumero

**LOT**

Eränumero

**MAT**

Materialinumero (ts. komponentin merkintä)

**COMP**

Komponentit

**CONT**

Sisältö

**NUM**

Numero

**GTIN**

GTIN-numero

R<sub>n</sub>

R tarkoittaa käyttöohjeiden versiota ja n on versionumero



Lämpötilarajoitus

## Symboli

## Selitys



Valmistaja



Katso käyttöohjeet



Suojattava valolta



Varoitus/huomio tai Huomio, lue oheisasiakirjat

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

In vitro -diagnostinen testi, jossa käytetään ESAT-6- ja CFP-10-proteiineja simuloivaa peptidiseosta solujen stimuloimiseen heparinisoidussa kokoveressä



Sisältää eläinperäistä biologista ainesta



Sisältää ihmisperäistä biologista ainesta



Yksilöllinen laitetunniste

Symboli

Selitys

---

**tartrazine**

Sisältää tartratsiinia

**sulfuric acid**

Sisältää rikkihappoa

# Liite A: Teknisiä tietoja

## Määrittämättömät tulokset

Määrittämättömät tulokset ovat epätavallisia, ja ne saattavat johtua testattavan henkilön immunologisesta tilasta (5). Ne voivat kuitenkin liittyä myös useisiin teknisiin tekijöihin (kuten verinäyteputkien virheelliseen käsittelyyn/säilytykseen tai ELISA-levyn puutteelliseen pesuun), jos yllä annettuja käyttöohjeita ei noudateta.

Jos epäillään teknisiä ongelmia reagenssien varastoinnissa, verinäytteiden ottamisessa tai niiden käsittelyssä, koko QFT-Plus-testi on toistettava uusilla verinäytteillä. Stimuloidun plasman ELISA-testaus voidaan toistaa, jos epäillään riittämätöntä pesua tai muuta poikkeamaa ELISA-testin toimenpiteistä. Lääkäri voi ottaa uuden näytteen tai suorittaa muita toimenpiteitä tarpeen mukaan.

## Hyytyneet plasmanäytteet

Jos plasmanäytteitä kauan säilytettäessä syntyy fibriinihytyymiä, näytteet on lingottava hyytyneen aineksen saostamiseksi ja plasman pipetoinnin helpottamiseksi.

## Lipeemiset plasmanäytteet

Lipeemisiä näytteitä pipetoitaessa on oltava erityisen huolellinen, sillä rasvakertymät voivat tukkia pipettikärkiä.



## Liite B: ELISA-testimenetelmä lyhyesti

1. Anna ELISA-komponenttien (konjugaatti 100x -tiivistettä lukuun ottamatta) tasaantua huoneenlämpöön vähintään 60 minuuttia.



2. Sekoita standardi ja 8,0 IU/ml tislattua tai deionisoitua vettä. Valmista neljä (4) laimennettua standardia.



3. Sekoita kylmäkuivattu konjugaatti 100x tiiviste sekä tislattu tai deionisoitu vesi.

4. Valmista käyttöpitoinen liuos konjugaattia vihreään laimennusliuokseen ja lisää sitä 50 µl kaikkiin kuoppiin.



5. Lisää 50 µl testiplasmanäytettä ja 50 µl standardia asianomaisiin kaivoihin. Sekoita käyttämällä ravistelijaa.



6. Inkuboi 120 minuuttia huoneenlämpötilassa.



7. Pese kuopat pesupuskurilla 400 µl/kuoppa vähintään 6 kertaa.



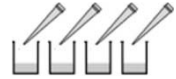
8. Lisää 100 µl entsyymiin substraattiliuosta kuoppiin. Sekoita käyttämällä ravistelijaa.



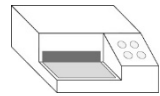
9. Inkuboi 30 minuuttia huoneenlämpötilassa.



10. Lisää 50 µl entsyyminpysäytysliuosta kuoppiin. Sekoita käyttämällä ravistelijaa.



11. Lue tulos 450 nm:n suodattimella ja 620–650 nm:n referenssuodattimella.



12. Analysoi tulokset.



# Tilaustiedot

Tuote	Sisältö	Tuotenro
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit	2 levyn ELISA-sarja	622120
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Reference Lab Pack	20 levyn ELISA-sarja	622822
<b>Related products</b>		
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes	200 putkea (50 kutakin tyyppiä: Nil, TB1, TB2 ja Mitogen)	622526
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 putkea (25 kutakin tyyppiä: Nil, TB1, TB2 ja Mitogen)	622423
QuantiFERON-TB Gold Plus Single Patient Pack	40 putkea (1 kutakin tyyppiä: Nil, TB1, TB2 ja Mitogen / pakkaus), 10 kpl/pakkaus	622222
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes	200 putkea (50 kutakin tyyppiä: Nil, TB1, TB2 ja Mitogen)	623526
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 putkea (50 kutakin tyyppiä: Nil, TB1, TB2 ja Mitogen)	623423
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Single Patient Pack	40 putkea (1 kutakin tyyppiä: Nil, TB1, TB2 ja Mitogen / pakkaus), 10 kpl/pakkaus	623222

Katso päivitetty lisenssitiedot ja tuotekohtaiset vastuuvapauslausekkeet vastaavan QIAGEN-sarjan käyttöoppaasta. QIAGEN-sarjojen käyttöoppaat ovat saatavilla osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com), tai niitä voi tiedustella QIAGENin teknisestä palvelusta tai paikalliselta jälleenmyyjältä.

# Asiakirjan muutoshistoria

## Päiväys

## Muutokset

R2, heinäkuu 2021	Lisätty tietoa yhden potilaan pakkauksesta Päivitetty taulukot 10 ja 11, jotta QFT-GIT- ja QFT-Plus-tiedot erottuvat paremmin toisistaan Päivitetty kohta Kuvaus ja toimintaperiaate, lisätty tietoa testipopulaatiosta ja mittausalueesta Lisätty taulukko 9, jossa on tietoa QFT-Plus-testin todennäköisyysuhteesta
R3, lokakuu 2021	Tuotenumero muutettu takaisin alkuperäisiin tuotenumeroihin Lisätty maininta mikrolevyliuskojen kertakäyttöisyydestä Sarjan sisältö -kohtaan
R4, maaliskuu 2023	Muutoksia muotoiluun

Tämä sivu on jätetty tarkoituksella tyhjäksi.

#### **QuantiferON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit -sarjan rajoitettu lisenssisopimus**

Tämän tuotteen käyttö tarkoittaa ostajan tai käyttäjän suostumusta noudattaa seuraavia ehtoja:

1. Tuotetta saa käyttää ainoastaan tuotteen mukana toimitettujen protokollien ja tämän käyttöohjeen mukaisesti sekä ainoastaan paneelin sisältämien osien kanssa. QIAGEN ei myönnä immateriaaliomaisuutensa lisenssiä tarkoitukseen käyttää tai liittää tämän paneelin sisältämiä osia muiden osien kanssa, jotka eivät sisälly tähän paneeliin lukuun ottamatta osia, jotka kuvataan tuotteen mukana toimitetuissa protokollissa, tässä käyttöohjeessa ja muissa protokollissa, jotka ovat saatavana osoitteessa [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Osa lisäprotokollista on QIAGEN-käyttäjien toisille QIAGEN-käyttäjille laatimaa. QIAGEN ei ole testannut tai tarkistanut kyseisiä protokollia. QIAGEN ei anna takuuta lisämateriaalille eikä takaa, ettei se loukkaa kolmansien osapuolten oikeuksia.
2. Muutoin kuin selvästi ilmoitettujen lisenssien osalta QIAGEN ei takaa, että tämä paneeli ja/tai sen käyttäjä(t) ei (eivät) loukkaa kolmansien osapuolten oikeuksia.
3. Tämä paneeli ja sen osat on lisensoitu kertakäyttöön, ja niiden uudelleenkäyttö, kunnostaminen tai edelleenmyynti ovat kiellettyjä.
4. QIAGEN kiistää nimenomaisesti kaikki käyttöoikeudet, suorat tai epäsuorat, joita ei ole tässä nimenomaisesti ilmoitettu.
5. Paneelin ostaja tai käyttäjä suostuu siihen, ettei hän suorita tai anna muiden suorittaa toimenpiteitä, jotka voisivat johtaa edellä mainittuihin kiellettyihin tapahtumiin tai edesauttaa niiden syntymistä. QIAGEN saattaa vedota tämän rajoitetun lisenssisopimuksen kieltoihin tuomioistuimessa. QIAGEN perii kaikki tutkimus- ja oikeuskulut asianajajan palkkiot mukaan lukien, jotka aiheutuvat tämän rajoitetun lisenssisopimuksen tai sen henkistä omaisuutta koskevien oikeuksien toimeenpanemisesta paneelin ja/tai sen osien osalta.

Katso päivitetyt käyttöoikeusehdot osoitteesta [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Tavaramerkit: QIAGEN® , Sample to Insight® , QuantiferON® (QIAGEN Group) Proclin®. Tässä asiakirjassa mainittuja rekisteröityjä nimiä, tavaramerkkejä jne. on pidettävä lain suojaamina, vaikkei niitä olisi erityisesti sellaisiksi merkitty.

03/2023 L1123669 1123669FI © 2023 QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.

Tilaukset [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Tekninen tuki [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Verkkosivusto  
[www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)