

Bruksanvisning for QuantiFERON[®]-TB Gold Plus ELISA Kit



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Versjon 1



Til in vitro-diagnostisk bruk

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



622120, 622822



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland



1123669NB

Innhold

Tiltent bruk	5
Tiltente brukere	5
Beskrivelse og prinsipp	6
Patogeninformasjon	6
Oppsummering og forklaring	7
Analyseprinsipp	9
Materialer som medfølger	11
Settets innhold	11
Komponenter i settet	12
Plattform og programvare	12
Materialer som er nødvendige, men ikke følger med	13
Ekstra reagenser	13
Forbruksvarer	13
Utstyr	13
Advarsler og forholdsregler	14
Sikkerhetsinformasjon	14
Nødsinformasjon	15
Forsiktighetsregler	16
Håndtering og oppbevaring av reagenser	18
Stabilitet under bruk	18
Rekonstituerte og ubrukte reagenser	18
Oppbevaring og håndtering av prøver	19

Protokoll: Utføre ELISA	20
Resultater (beregninger)	26
Generering av standardkurve og prøveverdier	26
Kvalitetskontroll av testen	28
Tolkning av resultater	30
Begrensninger	32
Ytelsesegenskaper	33
Kliniske studier	33
Sensitivitet	35
Forventede verdier	43
Oppsummering av sikkerhet og ytelse	49
Analysens ytelsesegenskaper	50
Analytisk ytelse	50
Avfallshåndtering	63
Referanser	64
Feilsøkingsveiledning	66
Symboler	69
Vedlegg A: Teknisk informasjon	72
Ubestemte resultater	72
Koagulerte plasmaprøver	72
Lipemiske plasmaprøver	72
Vedlegg B: Forkortet ELISA-testprosedyre	73
Bestillingsinformasjon	75
Endringshistorikk for dokument	76

Tiltenkt bruk

QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus)-analysen er en *in vitro*-diagnostisk test som bruker en peptidblanding som simulerer ESAT-6- og CFP-10-proteiner for å stimulere celler i heparinisert fullblod. Påvisning av interferon- γ (IFN- γ) med enzytbundet immunosorbentanalyse (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) brukes til å identifisere *in vitro*-responser på de peptidantigenene som forbindes med *Mycobacterium tuberculosis*-infeksjon.

QFT-Plus er en indirekte test for *M. tuberculosis*-infeksjon (inkludert sykdom) og skal brukes sammen med risikovurdering, radiografi og andre medisinske og diagnostiske vurderinger.

Tiltenkte brukere

Dette settet er beregnet for profesjonell bruk.

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)-analysen skal brukes av faglært personell i et laboratoriemiljø.

Beskrivelse og prinsipp

Patogeninformasjon

Tuberkulose er en smittsom sykdom som forårsakes av infeksjon med organismer av *M. tuberculosis*-komplekset (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* og *M. caprae*), som normalt spres til nye smittebærere via dråpesmitte i luften fra pasienter med tuberkulose i lungene. En person som nettopp er blitt smittet, kan bli syk av tuberkulose i løpet av uker eller måneder, men de fleste som smittes, blir ikke syke. Latent tuberkuloseinfeksjon (Latent tuberculosis infection, LTBI), en ikke-smittsom asymptomatisk tilstand, vedvarer hos noen, og disse kan utvikle tuberkuløs sykdom etter noen måneder eller år. Det viktigste med diagnostisering av LTBI er å vurdere hvilken medisinsk behandling som må til for å hindre tuberkuløs sykdom. I mer enn 100 år var tuberkulintesten (tuberculin skin test, TST) den eneste metoden for å diagnostisere LTBI (4). Hudreaksjoner overfor tuberkulin utvikler seg 2 til 10 uker etter infeksjon. Enkelte infiserte personer, også de som har andre sykdommer som hindrer immunforsvaret i å fungere, men også andre uten slike sykdommer, reagerer imidlertid ikke på tuberkulin. Og motsatt vil enkelte personer som mest sannsynlig ikke har en *M. tuberculosis*-infeksjon, være sensitive overfor tuberkulin og dermed få positive TST-resultater etter vaksinerings med Bacille Calmette-Guérin (BCG), infeksjon med andre mykobakterier enn *M. tuberculosis*-kompleks eller andre uavklarte faktorer.

Det må skilles mellom LTBI og tuberkuløs sykdom, en rapporterbar tilstand som normalt omfatter lungene og nedre luftveier, selv om andre organsystemer også kan bli berørt. Tuberkuløs sykdom diagnostiseres på bakgrunn av historiske, fysiske, radiologiske og mykobakteriologiske funn.

Oppsummering og forklaring

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)-testen er den fjerde generasjonen innen QuantiFERON-TB-testteknologi som vurderer cellemediert respons gjennom en kvantitativ måling av IFN- γ i en fullblodsprøve. QFT-Plus er en kvalitativ test som måler cellemediert immunrespons (CMI) på peptidantigener som simulerer mykobakterielle proteiner. Proteinene ESAT-6 og CFP-10 er fraværende i alle BCG-stammer og de fleste ikke-tuberkuløse mykobakterier, med unntak av *M. kansasii*, *M. szulgai* og *M. marinum* (1). Personer smittet med organismer fra *M. tuberculosis*-komplekset har vanligvis lymfocytter i blodet som gjenkjenner disse antigenene og andre mykobakterieantigener. Denne gjenkjennelsesprosessen omfatter generering og sekresjon av cytokinet IFN- γ . Påvisning og etterfølgende kvantifisering av IFN- γ danner grunnlaget for denne testen.

Tuberkulintester og IGRA-tester er nyttige, men utilstrekkelige for å diagnostisere en infeksjon med *M. tuberculosis*-komplekset hos syke pasienter. Et positivt resultat kan støtte diagnosen tuberkuløs sykdom, men infeksjoner med andre mykobakterier (f.eks. *M. kansasii*) kan også gi positive resultater. Andre medisinske og diagnostiske vurderinger må også tas for å bekrefte eller utelukke tuberkuløs sykdom.

Antigenene som brukes i QFT-Plus, er en blanding av peptider som simulerer proteinene ESAT-6 og CFP-10. Flere studier har vist at disse peptidantigenene stimulerer IFN- γ -respons i T-cellene fra personer infisert med *M. tuberculosis* men generelt ikke fra usmittede eller BCG-vaksinerte personer som ikke er syke eller har risiko for LTBI (1, 2, 6, 9). Medisinsk behandling eller tilstander som kan svekke immunforsvaret, kan imidlertid redusere IFN- γ -responsene. Pasienter med bestemte andre mykobakterieinfeksjoner kan også vise respons på ESAT-6 og CFP-10, ettersom genene som koder for disse proteinene, er til stede i *M. kansasii*, *M. szulgai* og *M. marinum* (1, 3,7).

Testpopulasjonen for QFT-Plus-testing er pasienter som har klinisk bekreftet aktiv tuberkulose, og pasienter som har risiko for tuberkuloseinfeksjon eller latent tuberkuloseinfeksjon (latent tuberculosis infection, LTBI). Alder, kjønn eller andre begrensninger gjelder ikke her.

Ved en *Mycobacterium tuberculosis*-infeksjon (MTB) spiller CD4⁺ T-celler en avgjørende rolle for immunologisk kontroll, fordi de utskiller cytokinet IFN- γ . Det finnes nå dokumentasjon som viser at CD8⁺ T-celler spiller en rolle som en del av smittebærerens forsvar mot MTB, ved å produsere IFN- γ og andre oppløselige faktorer, som aktiverer makrofager for å undertrykke veksten av MTB, drepe infiserte celler eller direkte lysere intracellulær MTB. IFN- γ -produserende MTB-spesifikke CD8⁺-celler er påvist hos personer med LTBI og aktiv TB. Videre beskrives ESAT-6- og CFP-10-spesifikke CD8⁺ T-lymfocytter som hyppigere påvist hos personer med aktiv TB-sykdom sammenlignet med LTBI, og det kan være forbundet med nylig MTB-eksponering (8,10–12). I tillegg er det også påvist MTB-spesifikke CD8⁺ T-celler som produserer IFN- γ , hos personer med aktiv TB og samtidig HIV-infeksjon (13, 14) og hos små barn med TB-sykdom (15).

QFT-Plus har to distinkte TB-antigenrør: TB Antigen Tube 1 (TB1) og TB Antigen Tube 2 (TB2). Begge rørene inneholder peptidantigener fra de MTB-kompleksassosierte antigenene ESAT-6 og CFP-10. Både TB1- og TB2-rør inneholder peptider fra ESAT-6 og CFP-10, som er utformet for å fremkalle CMI-respons fra CD4⁺ T-hjelpelymfocytter, og TB2-rør inneholder et ekstra sett med peptider målrettet mot fremkalling av CMI-respons fra CD8⁺ cytotoxiske T-lymfocytter.

Risikofaktorer for *M. tuberculosis*-infeksjon inkluderer historiske, medisinske eller epidemiologiske prediktorer for tuberkuløs sykdom eller eksponering for tuberkulose. Les den nyeste WHO-veiledningen <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment> for å få detaljerte anbefalinger knyttet til diagnostisering av *M. tuberculosis*-infeksjon (inkludert sykdom) og hvem som bør testes (16). QFT-Plus er testet i enkelte pasientgrupper indisert for screening for TB-infeksjon i henhold til gjeldende WHO-veiledning (16), inkludert personer som har testet positivt for humant immunsviktvirus (human immunodeficiency virus, HIV), personer som har vært i kontakt med pasienter med nylig TB-eksponering og personer i tett bebyggelse eller miljø som har vært eksponert for voksne med høy risiko for tuberkulose (5).

Analyseprinsipp

QFT-Plus er en kvalitativ analyse som bruker spesialutviklede Blood Collection Tubes, som inneholder peptidantigener som simulerer *M. tuberculosis*-proteiner, som brukes i prøvetaking av fullblod. Blodet inkuberes i rørene i 16 til 24 timer. Deretter høstes plasma, som testes for forekomst av IFN- γ produsert som respons på peptidantigenene.

Først blir fullblod tappet i de ulike QFT-Plus Blood Collection Tubes, som består av et Nil-rør, et TB1-rør, et TB2-rør og et Mitogen-rør. Blodprøver kan alternativt tas i et enkelt blodprøvetakingsrør med litium- eller natriumheparin som antikoagulant og deretter overføres til QFT-Plus Blood Collection Tubes.

QFT- Plus Blood Collection Tubes ristes for å blande antigen med blodet, og skal inkuberes ved $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ så snart som mulig, og innen 16 timer etter prøvetaking. Etter en inkubasjonsperiode på 16 til 24 timer blir rørene sentrifugert, plasmaet behandlet og mengden IFN- γ (IE/ml) målt med ELISA. QFT-Plus ELISA bruker en rekombinant human IFN- γ -standard som har blitt analysert mot et IFN- γ -referansepreparat (NIH-ref.: Gxg01-902-535). Resultater for testprøver rapporteres i internasjonale enheter per ml (IE/ml) i forhold til en standardkurve utarbeidet ved å teste fortyninger av standarden som følger med settet.

Heterofile (f.eks. humane anti-murine) antistoffer i serum eller plasma hos enkelte personer er kjent for å forårsake interferens med immunanalyser. Effekten av heterofile antistoffer i QFT-Plus ELISA minimeres ved tilsetning av normalt murint serum i grønn fortyningsløsning og bruk av monoklonale F(ab')₂-antistofffragmenter som IFN- γ -innfangingsantistoffet belagt på mikroplatebrønnene.

En QFT-Plus-analyse anses som positiv dersom en IFN- γ -respons for et av TB-antigenrørene ligger langt høyere enn Nil IFN- γ IE/ml-verdien. Plasmaprøven fra Mitogen-røret fungerer som en positiv kontroll for IFN- γ for hver prøve som testes. En lav reaksjon på Mitogen (<0,5 IE/ml) indikerer et ubestemt resultat når en blodprøve også har negativ respons på TB-antigenene. Dette mønsteret kan oppstå ved utilstrekkelig mengde lymfocytter, redusert lymfocytaktivitet grunnet feil prøvehåndtering, feil påfylling/blanding av Mitogen-røret eller hvis pasientens lymfocytter ikke klarer å fremstille IFN- γ . Forhøyede nivåer av IFN- γ i Nil-prøven kan forekomme med forekomst av heterofile antistoffer, eller iboende IFN- γ -utskillelse. Nil-røret justerer for bakgrunn (f.eks. svært høye nivåer av sirkulerende IFN- γ eller forekomst av heterofile antistoffer). IFN- γ -nivået i Nil-røret trekkes fra IFN- γ -nivået for TB-antigenrøret og Mitogen-røret. Måleområdet for QFT- Plus ELISA er opptil 10 IE/ml.

Materialer som medfølger

Settets innhold

ELISA-komponenter Katalognr.	Sett med 2 plater 622120	Pakke til referanselaboratorium 622822
Microplate Strips (mikroplateremser) (12 x 8 brønner) belagt med murint anti- humant monoklonalt IFN- γ -antistoff	2 sett mikroplateremser med 12 x 8 brønner	20 sett mikroplateremser med 12 x 8 brønner
IFN- γ Standard, lyofilisert (inneholder rekombinant humant IFN- γ , bovint kasein, 0,01 % vekt/volum timerosal)	1 x flaske (8 IE/ml rekonstituert)	10 x flasker (8 IE/ml rekonstituert)
Green Diluent (grønn fortynningsløsning) (inneholder bovint kasein, normalt murint serum, 0,01 % vekt/volum timerosal)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (100x-konjugatkonsentrat), lyofilisert (murint anti-humant IFN- γ HRP, inneholder 0,01 % timerosal)	1 x 0,3 ml (når rekonstituert)	10 x 0,3 ml (når rekonstituert)
Wash Buffer 20x Concentrate (vaskebufferkonsentrat 20x, pH 7,2, inneholder 0,05 % vekt/volum ProClin® 300)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (enzymsubstratløsning) (inneholder H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetrametylbenzidin)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (enzymstoppløsning) (inneholder 0,5 M H ₂ SO ₄)	1 x 15 ml	10 x 15 ml
<i>Bruksanvisning for QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA Kit</i>	1	1

Komponenter i settet

Kontroller og kalibratorer

QFT-Plus ELISA bruker en rekombinant human IFN- γ -standard som har blitt analysert mot et IFN- γ -referansepreparat (NIH-ref.: Gxg01-902-535).

Plattform og programvare

QFT-Plus Analysis Software er valgfritt og brukes til å analysere rådata og beregne resultater. Programvaren kan lastes ned på www.qiagen.com.

Materialer som er nødvendige, men ikke følger med

Ekstra reagenser

- QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes
- Deionisert eller destillert vann, 2 liter

Forbruksvarer

- Platelokk til en plate med 96 brønner
- Valgfritt: 1 ml mikrorør med hetter i stativformat med 96 brønner eller ubelagte mikroplater med plasforseglinger for oppbevaring av plasma (22 pasienter/stativ eller plate)
- Reagensbeholdere

Utstyr*

- 37 °C ±1 °C inkubator (med eller uten CO₂)
- Kalibrerte pipetter med variabelt volum for levering av 10 µl til 1000 µl med spisser til engangsbruk
- Kalibrert pipette med flere kanaler for levering av 50 µl og 100 µl med spisser til engangsbruk
- Mikroplaterister med en hastighet på mellom 500 og 1000 o/min
- Mikroplatevasker (for sikker håndtering av plasmaprøver anbefales en automatisert platevasker)
- Mikroplateleser utstyrt med 450 nm filter og 620 nm til 650 nm referansefilter
- Vorteksblender med variabel hastighet
- Sentrifuge som kan sentrifugere Blood Collection Tubes ved minst 3000 RCF (g)
- Gradert sylinder, 1 liter eller 2 liter

* Før bruk må du forsikre deg om at instrumentene er kontrollert og kalibrert i henhold til produsentens anbefalinger.

Advarsler og forholdsregler

Vær oppmerksom på at alvorlige hendelser i forbindelse med bruken av utstyret muligens må rapporteres til produsenten og/eller deres autoriserte representant og den ansvarlige myndigheten i det landet hvor brukeren og/eller pasienten befinner seg.

Til in vitro-diagnostisk bruk.

Sikkerhetsinformasjon

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablader (Safety Data Sheets, SDS) hvis du ønsker mer informasjon. Disse er tilgjengelige i praktisk og kompakt PDF-format på www.qiagen.com/safety, der du kan søke etter, vise og skrive ut sikkerhetsdatabladet (Safety Data Sheet, SDS) for hvert QIAGEN-sett og hver settkomponent.

- Prøvene er potensielt smittefarlige. Kast prøve- og analyseavfall i henhold til lokale sikkerhetsprosedyrer.
- Et negativt QFT-Plus-resultat utelukker ikke muligheten for *M. tuberculosis*-infeksjon eller tuberkuløs sykdom: et falskt negativt resultat kan avhenge av infeksjonens stadium (f.eks. om prøven ble tatt før utvikling av celleformet immunreaksjon), feil håndtering av Blood Collection Tubes etter venepunksjon, feil utført analyse eller andre immunologiske variabler, inkludert de som er relatert til eventuelle komorbiditeter. Heterofile antistoffer eller ikke-spesifikk IFN- γ -produksjon som følge av andre inflammatoriske tilstander kan skjule spesifikke responser på ESAT-6- eller CFP-10-peptider.
- Et positivt QFT-Plus-resultat bør ikke danne det eneste eller endelige grunnlaget for bestemmelse av *M. tuberculosis*-infeksjon. Feil utført analyse kan føre til falskt positive QFT-Plus-resultater.
- Et positivt QFT-Plus-resultat bør følges opp med ytterligere medisinsk vurdering av eventuell aktiv tuberkuløs sykdom (f.eks. AFB-utstryk og -dyrking samt røntgen av thorax).


- Selv om ESAT-6 og CFP-10 er fraværende i alle BCG-stammer og de mest kjente ikke-tuberkuløse mykobakteriene, er det mulig at et positivt QFT-Plus-resultat er forårsaket av infeksjon med *M. kansasii*, *M. szulgai* eller *M. marinum*. Hvis det er mistanke om slike infeksjoner, bør alternative tester utføres.
- Et falskt negativt QFT-Plus-resultat kan skyldes feil blodprøvetaking eller feil håndtering av prøven, noe som kan påvirke lymfocytffunksjonen. Se avsnittet "Protokoll: Utføre ELISA", side 20, for informasjon om riktig håndtering av blodprøvene. Forsinket inkubasjon kan føre til falskt negative eller ubestemte resultater, og andre tekniske parametre kan påvirke evnen til å detektere en signifikant IFN- γ -respons.

Nødsinformasjon

CHEMTREC

Utenfor USA og Canada +1 703-527-3887

Forsiktighetsregler

<p>FORSIKTIG</p> 	<p>Håndter humant blod som potensielt smittefarlig.</p> <p>Følg relevante retningslinjer for blodhåndtering. Prøver og materialer som har vært i kontakt med blod eller blodprodukter, skal kasseres i henhold til offentlige og lokale forskrifter.</p>
---	--

QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Inneholder: svovelsyre. Advarsel! Kan være etsende for metaller. Irriterer huden. Forårsaker alvorlig øyeirritasjon. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Advarsel! Forårsaker mild hudirritasjon. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm.

QuantiFERON Green Diluent



Inneholder: tartrazin. Advarsel! Kan utløse en allergisk hudreaksjon. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Skadelig, med langtidsvirkning, for vannlevende organismer. Unngå utslipp til miljøet.

Mer informasjon

Sikkerhetsdatablad: www.qiagen.com/safety

- Timerosal brukes som konserveringsmiddel i enkelte QFT-Plus-reagenser. Det kan være giftig ved svelging, innånding eller hudkontakt.
- Avvik fra bruksanvisningen for *QuantifERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)* kan føre til feilaktige resultater. Det er viktig at du leser anvisningene nøye før bruk.
- Ikke bruk settet hvis noen av reagensflaskene viser tegn til skade eller lekkasje før bruk.
- Viktig: Inspiser flasker før bruk. Flasker med konjugat eller IFN- γ -standard skal ikke brukes dersom flaskene har tegn til skader eller gummiforseglingen er åpnet. Knuste flasker skal ikke håndteres. Kast flaskene i tråd med egnede sikkerhetsforholdsregler. Det anbefales å bruke en krympelukkåpner til å åpne flaskene med konjugat eller IFN- γ -standard for å begrense risiko for skade fra krympelokket i metall.
- Mikroplateremser, IFN- γ -standard, grønn fortynningsløsning eller 100x-konjugatkonsentrat fra ulike QFT-Plus kit må ikke blandes eller brukes. Andre reagenser (20x vaskebufferkonsentrat, enzymsubstratløsning og enzymstoppløsning) kan byttes mellom sett, forutsatt at partiinformasjon er registrert og reagensene ikke er gått ut på dato.
- Kast ubrukte reagenser og biologiske prøver i samsvar med lokale, regionale og nasjonale bestemmelser.
- Ikke bruk QFT-Plus ELISA kit etter utløpsdatoen.
- Korrekte laboratorieprosedyrer bør følges til enhver tid.
- Sørg for at laboratorietstyr som platevaskere og -lesere er kalibrert/godkjent for bruk.

Håndtering og oppbevaring av reagenser

Vær spesielt oppmerksom på utløpsdatoene og oppbevaringsvilkårene angitt på komponentenes esker og etiketter. Bruk ikke komponenter som er gått ut på dato eller oppbevart feil.

Stabilitet under bruk

- Oppbevar ELISA-sett ved 2–8 °C.
- Enzymsubstratløsning må alltid beskyttes mot direkte sollys.

Rekonstituerte og ubrukte reagenser

- Du finner instruksjoner om hvordan du rekonstituerer reagensene, i "Protokoll: Utføre ELISA", side 20.
- Den rekonstituerte settstandard kan brukes i opptil 3 måneder hvis den oppbevares ved 2–8 °C.

Noter datoen for rekonstituering av settstandard.

- Det rekonstituerte 100x-konjugatkonsentratet må returneres til oppbevaring ved 2–8 °C og må også brukes innen 3 måneder.

Noter datoen for rekonstituering av konjugatet.

- Konjugat med arbeidsstyrke må brukes innen 6 timer etter klargjøring.
- Vaskebuffer med arbeidsstyrke kan oppbevares ved romtemperatur i opptil 2 uker.
- Mikroplateremser er kun til engangsbruk. Ubrukte remser kan fjernes fra platerammen og oppbevares til fremtidig bruk.

Oppbevaring og håndtering av prøver

Se *Bruksanvisning for QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes* (1123668) for informasjon om arbeidsflyten for blodprøvetaking for QFT-Plus-testen.

Protokoll: Utføre ELISA

Viktige punkter før du starter

Oppsett (tid som kreves for å utføre analysen)

- For å oppnå gyldige resultater med QFT-Plus-analysen må operatøren utføre spesifikke oppgaver innenfor angitte tidsfrister. Før analysen tas i bruk, anbefales det at operatøren planlegger hvert trinn i analysen nøye, for å være sikker på at det er nok tid til å utføre hvert trinn. Tiden som kreves, er anslått nedenfor. Også tiden som kreves for å utføre testserier av flere prøver, er angitt.
 - Cirka 3 timer for én ELISA-plate
 - <1 times arbeid
 - Legg til 10 til 15 minutter for hver ekstra plate

IFN- γ ELISA

- Se "Settets innhold", side 11 og "Materialer som er nødvendige, men ikke følger med", side 13 for informasjon om materialer som kreves for å utføre ELISA.

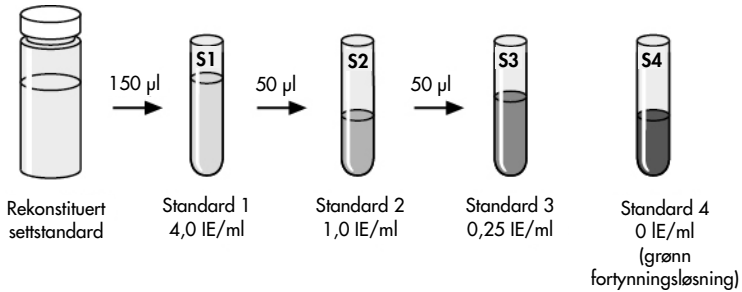
Prosedyre

1. Alle plasmaprøver og reagenser, unntatt 100x-konjugatkonsentratet, må nå romtemperatur ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) før bruk. Beregn minst 60 minutter for at komponentene skal nå romtemperatur.
2. Fjern ELISA-plateremser som ikke er nødvendige, fra rammen, forsegl disse i folieposen og sett tilbake i kjøleskapet for oppbevaring til senere bruk.

3. Beregn minst 1 remse til QFT-Plus-standardene og nok remser til antallet pasienter som testes (se figur 2 for anbefalt plateformat). Etter bruk beholder du rammen og lokket for bruk med gjenværende remser.
- 3a. Rekonstituer IFN- γ -standarden med det volumet med deionisert eller destillert vann som er angitt på etiketten på flasken. Bland forsiktig for å minimere skumdannelse og sikre at alt innholdet i flasken blir helt oppløst. Rekonstituering av IFN- γ -standarden til riktig volum vil gi en løsning med en konsentrasjon på 8,0 IE/ml.
- 3b. Bruk den rekonstituerte standarden og klargjør en fortynningsserie på 4 IFN- γ -konsentrasjoner (se figur 1).
- 3c. Det skal genereres en standardkurve med følgende IFN- γ -konsentrasjoner:
- S1 (standard 1) inneholder 4,0 IE/ml
 - S2 (standard 2) inneholder 1,0 IE/ml
 - S3 (standard 3) inneholder 0,25 IE/ml
 - S4 (standard 4) inneholder 0 IE/ml (kun grønn fortynningsløsning [GD]).
- 3d. Standardene må analyseres minst to ganger.
- 3e. Klargjør ferske fortynninger av settstandarden for hver ELISA-prosedyre.

Prosedyre

A	Merk 4 rør: S1, S2, S3, S4
B	Tilsett 150 μ l GD i S1, S2, S3, S4
C	Tilsett 150 μ l av settstandarden i S1, og bland godt
D	Overfør 50 μ l fra S1 til S2, og bland godt
E	Overfør 50 μ l fra S2 til S3, og bland godt
F	GD alene fungerer som null-standard (S4)



Figur 1. Klargjøring av fortynningsserie for standardkurve.

4. Rekonstruer lyofilisert 100x-konjugatkonsentrat med 0,3 ml deionisert eller destillert vann. Bland forsiktig for å minimere skumdannelse og sikre at alt innholdet i flasken blir helt oppløst.
 - 4a. Konjugat med arbeidsstyrke klargjøres ved å fortynne den nødvendige mengden rekonstituert 100x-konjugatkonsentrat i grønn fortynningsløsning (tabell 1).
 - 4b. Konjugat med arbeidsstyrke skal brukes innen 6 timer etter klargjøring.
 - 4c. Ubrukt 100x-konjugatkonsentrat skal umiddelbart etter bruk settes tilbake i en temperatur på 2 til 8 °C.

Tabell 1. Klargjøring av konjugat (arbeidsstyrke)

Antall remser	Volum konjugat (100x-konsentrat)	Volum grønn fortynningsløsning
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 som er høstet fra Blood Collection Tubes og deretter oppbevart (i kjøleskap eller fryser), må blandes godt før de tilsettes i ELISA-brønner. Plasmaprøver kan oppbevares i sentrifugerte QFT-Plus Blood Collection Tubes i opptil 28 dager ved 2–8 °C. Høstede plasmaprøver kan oppbevares i opptil 28 dager ved 2–8 °C. Høstede plasmaprøver kan også oppbevares under –20 °C (fortrinnsvis under –70 °C) i lengre perioder.

Plasmaprøver kan overføres direkte fra sentrifugerte Blood Collection Tubes for måling i QFT-Plus ELISA.

Viktig: Hvis plasmaprøver skal overføres direkte fra sentrifugerte QFT-Plus Blood Collection Tubes, må enhver form for blanding av plasmaet unngås. Du må til enhver tid passe på ikke å forstyrre materialet på geloverflaten.

6. Tilsett 50 µl nylig klargjort konjugat med arbeidsstyrke i hver ELISA-platebrønn.
7. Tilsett 50 µl testplasmaprøve i de riktige brønnene (se anbefalt ELISA-plateoppsett i figur 2).

8. Tilsett til slutt 50 µl av hver av standardene 1 til 4 i de riktige brønnene (se anbefalt ELISA-plateoppsett i figur 2). Standardene skal analyseres minst to ganger.

	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. Anbefalt ELISA-plateoppsett. S1 (standard 1), S2 (standard 2), S3 (standard 3), S4 (standard 4). 1N (prøve 1. Nil-kontrollplasma), 1 TB1 (prøve 1. TB1-plasma), 1 TB2 (prøve 1. TB2-plasma), 1 M (prøve 1. Mitogen-plasma).

9. Dekk ELISA-platen, og bland konjugat og plasmaprøver/standarder godt ved hjelp av en mikroplaterister i 1 minutt ved 500 til 1000 o/min. Unngå sprut.
10. Dekk ELISA-platen, og inkuber ved romtemperatur (22 °C ± 5 °C) i 120 ± 5 minutter. ELISA-platen må ikke utsettes for direkte sollys under inkubasjon. Avvik fra det angitte temperaturområdet kan føre til feilaktige resultater.
11. Klargjør vaskebuffer med arbeidsstyrke under inkubasjonen av ELISA-platen. Én del 20x vaskebufferkonsentrat skal fortynnes med 19 deler deionisert eller destillert vann og blandes grundig. Tilstrekkelig mengde 20x vaskebufferkonsentrat følger med for klargjøring av 2 liter vaskebuffer med arbeidsstyrke.
12. Når inkubasjonen av ELISA-platen er fullført, må ELISA-platebrønnene vaskes med 400 µl vaskebuffer med arbeidsstyrke. Utfør vasketrinnet minst 6 ganger. Av sikkerhetshensyn anbefales det å bruke en automatisert platevasker ved håndtering av plasmaprøver. Grundig vask er svært viktig for analyseytelsen. Sørg for at hver brønn fylles helt opp med vaskebuffer for hver vaskesyklus. En bløtleggingsperiode på minst 5 sekunder mellom hver syklus anbefales.

Standard laboratoriedesinfeksjonsmiddel må tilsettes avløpsvannreservoaret, og etablerte prosedyrer for dekontaminering av potensielt smittefarlig materiale må følges.

13. Dunk forsiktig ELISA-platen med oversiden ned på et absorberende, lofritt håndkle for å fjerne overflødig vaskebuffer. Tilsett 100 µl enzymsubstratløsning i hver platebrønn, og dekk platen. Bland godt i 1 minutt ved 500–1000 o/min ved hjelp av en mikroplaterister.
14. Dekk ELISA-platen, og inkuber ved romtemperatur ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) i 30 minutter. ELISA-platen må ikke utsettes for direkte sollys under inkubasjon.
15. Etter 30 minutters inkubasjon tilsetter du 50 µl enzymstoppløsning i hver platebrønn i samme rekkefølge som substratet ble tilsatt, og blander godt ved 500 til 1000 o/min ved hjelp av en mikroplaterister.
16. Mål den optiske tettheten (Optical Density, OD) for ELISA-platebrønner innen 5 minutter etter at reaksjonen er stoppet, ved å bruke en mikroplateleser utstyrt med et 450 nm filter og et 620 nm til 650 nm referansefilter. OD-verdier brukes til å beregne resultatene.

Resultater (beregninger)

QFT-Plus Analysis Software brukes til å analysere rådata og beregne resultater. Programvaren er tilgjengelig på www.qiagen.com. Sørg for at du bruker den siste versjonen av QFT-Plus Analysis Software.

Programvaren utfører en kvalitetskontrollvurdering av analysen, genererer en standardkurve og gir et testresultat for hver pasient, som nærmere beskrevet i "Tolkning av resultater" på side 30. Programvaren rapporterer alle konsentrasjoner som er større enn 10 IE/ml, som ">10", ettersom disse verdiene faller utenfor det validerte lineære området til ELISA.

Som et alternativ til å bruke QFT-Plus Analysis Software kan resultater bestemmes i henhold til følgende metode.

Generering av standardkurve og prøveverdier

Hvis QFT-Plus Analysis Software ikke brukes

Hvis du ikke bruker QFT-Plus Analysis Software, må du bruke et regnearkprogram, f.eks. Microsoft® Excel®, for å bestemme standardkurven og IE/ml-prøveverdier.

Bruke et regnearkprogram

1. Bestem gjennomsnittlige OD-verdier for settstandardreplikatene på hver plate.
2. Lag en $\log_{(e)}$ - $\log_{(e)}$ -standardkurve ved å plote $\log_{(e)}$ for gjennomsnittlig OD (y-akse) mot $\log_{(e)}$ for IFN- γ -konsentrasjonen til standardene i IE/ml (x-akse). Nullstandarden tas ikke med i disse beregningene. Beregn den best tilpassede linjen for standardkurven ved regresjonsanalyse.
3. Bruk standardkurven for å bestemme IFN- γ -konsentrasjonen (IE/ml) til hver av testplasmaprøvene ved å bruke OD-verdien for hver prøve.

4. Disse beregningene kan utføres ved hjelp av programvarepakker som er tilgjengelige med mikroplateleserne, og standard regnearkprogramvare eller statistisk programvare (f.eks. Microsoft Excel). Det anbefales at disse pakkene brukes til å beregne regresjonsanalysen, variasjonskoeffisienten (Coefficient of Variation, %CV) for standardene og korrelasjonskoeffisienten (r) til standardkurven.

Beregning av prøve

Hvis følgende OD-avlesninger ble oppnådd for standardene, vil beregningene med $-\log(e) -$ følge de som er oppgitt i tabell 2.

Tabell 2. Standardkurve

Standard	IE/ml	OD-verdier a og b	Gj.sn. OD	%CV	Log _(e) IE/ml	Log _(e) gj.sn. (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	I/R	-1,386	-2,079
Standard 4	0	0,034, 0,037	0,036	I/R	I/R	I/R

Ligningen for kurven er $y = 0,7885(X) - 0,9837$, der "m" = 0,7885 og "c" = -0,9837. Disse verdiene brukes i ligningen $X = (Y-c)/m$ for å finne X. Basert på standardkurven er den beregnede korrelasjonskoeffisienten (r) = 1,000. I/R: Ikke relevant.

Analysens gyldighet bestemmes ved hjelp av kriteriene angitt i "Kvalitetskontroll av testen", side 28.

Standardkurven (tabell 2) brukes til å konvertere antigen OD-responsene til internasjonale enheter (IE/ml).

Tabell 3. Beregning av prøve

Antigen	OD-verdi	Log _(e) OD-verdi	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 -verdier (i IE/ml) for TB1, TB2 og Mitogen korrigeres for bakgrunn ved å trekke fra IE/ml-verdien som ble oppnådd for den respektive Nil-kontrollen. Disse korrigererte verdiene brukes til å tolke testresultatene.

Kvalitetskontroll av testen

Nøyaktigheten til testresultatene er avhengig av at standardkurven som genereres, er nøyaktig. Derfor må resultatene som utledes fra standardene, undersøkes før testprøveresultatene kan tolkes.

For at ELISA skal være gyldig må:

- Gjennomsnittlig OD-verdi for standard 1 må være $\geq 0,600$.
- %CV for replikatverdier for standard 1 og standard 2 må være $\leq 15 \%$.
- Replikat-OD-verdier for standard 3 og standard 4 må ikke variere med mer enn 0,040 OD-enheter fra gjennomsnittsverdien.
- Korrelasjonskoeffisienten (r) beregnet fra gjennomsnittlige absorpsjonsverdier for standardene må være $\geq 0,98$.
- Hvis de ovennevnte kriteriene ikke oppfylles, er kjøringen ugyldig og må gjentas.
- Gjennomsnittlig OD-verdi for nullstandarden (grønn fortynningsløsning) skal være $\leq 0,150$. Hvis gjennomsnittlig OD-verdi er $>0,150$, må prosedyren for platevask undersøkes nærmere.

QFT-Plus Analysis Software beregner og rapporterer disse kvalitetskontrollparameterne.

Hvert laboratorium må bestemme egnede typer kontrollmaterialer og frekvensen på testing i samsvar med lokale, regionale, nasjonale eller andre gjeldende akkrediteringsorganisasjoner. Ekstern kvalitetsvurdering og alternative valideringsprosedyrer bør tas i betraktning.

Merk: Plasmaprøver tilsatt rekombinant IFN- γ har vist en reduksjon i konsentrasjon på opptil 50 % ved oppbevaring ved enten 2–8 °C eller –20 °C. Rekombinant IFN- γ anbefales ikke for etablering av kontrollstandarder.

Tolkning av resultater

QFT-Plus-resultater tolkes ved hjelp av følgende kriterier (tabell 4).

Viktig: Diagnostisering eller ekskludering av tuberkuløs sykdom, samt vurdering av sannsynligheten for LTBI, krever en kombinasjon av epidemiologiske, historiske, medisinske og diagnostiske funn som må vurderes ved tolking av QFT-Plus-resultater. Se generell veiledning om diagnose og behandling av TB-sykdom og LTBI:

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

Tabell 4. Tolkning av 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/tolkning
≤ 8,0	≥0,35 og ≥25 % av Nil	Hvilket som helst resultat	Hvilket som helst resultat	Positiv†	<i>M. tuberculosis</i> -infeksjon er sannsynlig
	Hvilket som helst resultat	≥0,35 og ≥25 % av Nil			
	< 0,35 eller ≥ 0,35 og < 25 % av Nil	< 0,35 eller ≥ 0,35 og < 25 % av Nil	≥0,50	Negativ	<i>M. tuberculosis</i> -infeksjon er IKKE sannsynlig
	< 0,35 eller ≥ 0,35 og < 25 % av Nil	< 0,35 eller ≥ 0,35 og < 25 % av Nil	<0,50	Ubestemt‡	Sannsynligheten for <i>M. tuberculosis</i> -infeksjon kan ikke bestemmes
> 8,0§	Hvilket som helst resultat				

* Responser på Mitogen-positiv kontroll (og tidvis TB-antigen) kan være vanlig utenfor området til mikroplateleseren.

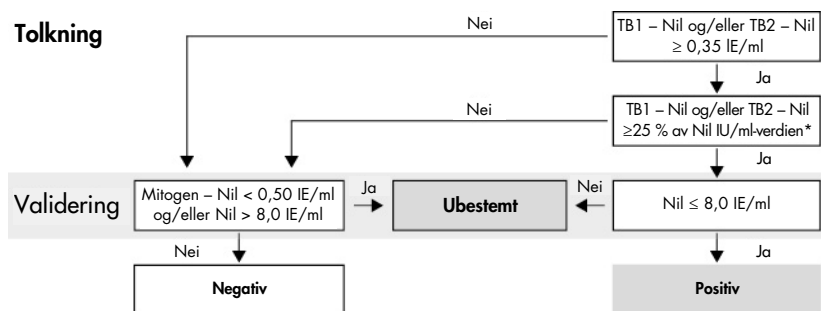
Dette har ingen påvirkning på testresultatene. Verdier > 10 IE/ml rapporteres av QFT-Plus software som > 10 IE/ml.

† Hvis det ikke er mistanke om *M. tuberculosis*-infeksjon, kan initielt positive resultater bekreftes ved å teste de originale plasmaprøvene på nytt to ganger i QFT-Plus ELISA. Hvis gjentatt testing av et av eller begge replikatene gir et positivt resultat, bør testresultatet betraktes som positivt.

‡ Se "Feilsøkningsveiledning", side 66 for mulige årsaker.

§ I kliniske studier hadde mindre enn 0,25 % av deltakerne IFN-γ-nivåer på >8,0 IU/ml for Nil-verdien.

Hvor høyt det målte IFN- γ -nivået er, har ingen sammenheng med infeksjonsstadiet eller hvor omfattende infeksjonen er, hvordan immunforsvaret er, eller sannsynligheten for progresjon til aktiv sykdom. En positiv TB-respons hos personer som er negative for Mitogen, er sjelden, men det har forekommet hos pasienter med TB-sykdom. Dette indikerer at IFN- γ -responsen på TB-antigener er større enn samme respons på Mitogen, som er mulig fordi Mitogen-nivået ikke stimulerer lymfocyttenes IFN- γ -produksjon maksimalt.



Figur 3. Tolkning av QFT-Plus-test. *For at TB1 minus Nil eller TB2 minus Nil-verdien skal være gyldig, må ≥ 25 % Nil IE/ml-verdien være fra samme rør som det opprinnelige $\geq 0,35$ IE/ml-resultatet.

Begrensninger

Resultater fra QFT-Plus-testing må brukes i sammenheng med hver enkelt persons epidemiologiske historie, aktuelle medisinske status og andre diagnostiske vurderinger.

Personer med Nil-verdier som er høyere enn 8 IE/ml, klassifiseres som "Indeterminate" (Ubestemt) fordi en 25 % høyere respons på TB-antigener kan være utenfor analysens måleområde.

- Den prediktive verdien av et positivt QFT-Plus-resultat ved diagnostisering av *M. tuberculosis*-infeksjon avhenger av sannsynligheten for infeksjon, som vurderes av historiske, epidemiologiske, diagnostiske og andre funn.
- En LTBI-diagnose krever at tuberkuløs sykdom må utelukkes ved medisinsk undersøkelse, inkludert en vurdering av gjeldende medisinske og diagnostiske tester for sykdom, som angitt.
- Et negativt resultat må vurderes i sammenheng med personens medisinske og historiske data relevant for sannsynlighet for *M. tuberculosis*-infeksjon og potensiell risiko for progresjon til tuberkuløs sykdom, særlig for personer med redusert immunforsvar.

Upålitelige eller ubestemte resultater kan oppstå på grunn av:

- Avvik fra prosedyren som er beskrevet i bruksanvisningen
- Feil transport/håndtering av blodprøve
- Forhøyede nivåer av sirkulerende IFN- γ eller forekomst av heterofile antistoffer
- Overskridelse av validerte tidsfrister fra blodprøvetaking til inkubasjon. Les *bruksanvisningen for QFT-Plus Blood Collection Tubes* (1123668).

Ytelsesegenskaper

Kliniske studier

Ettersom det ikke finnes noen definitiv standard test for bekreftelse eller eksklusjon av diagnosen LTBI, kan et estimat på sensitivitet og spesifisitet for QFT-Plus ikke evalueres praktisk. Spesifisiteten for QFT-Plus ble anslått ved å vurdere andelen falskt positive hos personene med lav risiko (ingen kjente risikofaktorer) for tuberkuløs infeksjon. Sensitiviteten ble anslått ved å vurdere studiepasienter med aktiv TB-sykdom bekreftet ved dyrking. I tillegg ble analyseytelsen evaluert for positiv og negative rater i en populasjon av friske personer med identifiserte risikofaktorer for tuberkuloseinfeksjon (en populasjon med blandet risiko).

Spesifisitet

En multisenterstudie som evaluerte den kliniske spesifisiteten til QFT-Plus ble utført, og inkluderte 733 studiepasienter som ble ansett å ha enten lav risiko for *M. tuberculosis*-infeksjon eller ingen risikofaktorer for eksponering for infeksjon eller sykdom. Demografisk informasjon og risikofaktorer for TB-eksponering ble bestemt ved hjelp av en standardisert spørreundersøkelse som ble utfylt på testtidspunktet. Studien ble utført på fire uavhengige steder, inkludert et i USA, to i Japan og et i Australia. QFT Plus- ble sammenlignet med QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT)-testen. Et sammendrag av ytelsesdataene for klinisk spesifisitet, stratifisert etter studiested og område, er angitt i tabell 5. Resultatene for ytelse er basert på det totale antallet gyldige tester. Det var ingen ubestemte resultater.

Tabell 5. Spesifisitet for QFT-Plus i en lavrisikopopulasjon

Sted	N	Positiv		Negativ		Ubestemt		Spesifisitet (95 % CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
USA									
(#1) USA-4	212	2	4	210	208	0	0	99,06 % (210/212) (96,63–99,74)	98,11 % (208/212) (95,25–99,26)
Japan									
(#2) JPN-3	106	1	2	105	104	0	0	99,06 % (105/106) (94,85–99,83)	98,11 % (104/106) (93,38–99,48)
(#3) JPN-1	216	3	5	213	211	0	0	98,61 % (213/216) (96,00–99,53)	97,69 % (211/216) (94,70–99,01)
Totalt Japan	322	4	7	318	315	0	0	98,76 % (318/322) (96,85–99,52)	97,83 % (315/322) (95,6–98,9)
Australia									
(#4) AU-3	199	8	9	191	190	0	0	95,98 % (191/199) (92,27–97,95)	95,48 % (190/199) (91,63–97,60)

Spesifisiteten for QFT-Plus var 98,11 % i USA, 97,83 % i Japan og 95,48 % i Australia. Generell spesifisitet for QFT-Plus var 97,27 % (713/733). Spesifisitet for QFT var 99,06 % i USA, 98,76 % i Japan og 95,98 % i Australia. Generell spesifisitet for QFT var 98,09 % (719/733).

En inndeling av resultatene etter TB-antigenrørtype og kombinasjoner av disse har vist et eksempel på forventede resultater i en lavrisikopopulasjon (tabell 6).

Tabell 6. Studieresultater for QFT-Plus spesifisitet etter TB-antigenrør

Tolkning basert på TB Antigen-Nil				
IE/ml i	TB1	TB2	QFT-Plus (positiv med TB1 og/eller TB2)*	Overensstemmende positiv TB1 og TB2 (alternativ analyse)†
Positiv	10	18	20	8
Negativ	723	715	713	725
Ubestemt	0	0	0	0
Spesifisitet (95 % CI)	–	–	97,3 % (713/733) (95,8–98,2)	–
Negativitetsrate (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)

* Tolkning basert på at et TB-antigen – Nil-verdi $\geq 0,35$ IE/ml i begge (TB1 og TB2) eller ett av TB-rørene, passer tolkningskriteriene, slik at QFT-Plus (TB1 eller TB2) kan angis som positiv.

† Alternativ analyse gitt kun for informasjon.

Hos pasienter med lav risiko for TB-infeksjon var det et positiv resultat for totalt 20/733 pasienter. Av disse ga bare 8 pasienter en verdi på $>0,35$ IE/ml i både TB1- og TB2-rør. En sammenligning av QFT versus QFT-Plus-analysene ble utført i studiekohorten med lav risiko, og denne viste et totalt samsvar på 97,5 % (715/733) og et negativt prosentvis samsvar på 98,3 % (707/719).

Sensitivitet

Siden det ikke finnes noen definitiv standardtest for LTBI, vil et egnet alternativ være mikrobiologisk dyrking av *M. tuberculosis*, siden en TB-infeksjon nødvendigvis vil være et forstadium for sykdom.

En multisenterstudie som evaluerte den kliniske sensitiviteten til QFT-Plus ble utført, der 434 studiepasienter ble inkludert. De hadde tegn og symptomer på aktiv *M. tuberculosis*-sykdom, og dette ble bekreftet ved dyrkning og/eller PCR-test, og de gikk ikke på TB-behandling eller det var ≤ 14 dager med behandling før blodprøvetaking. Studien ble utført på 7 uavhengige steder, inkludert tre steder i USA, tre steder i Japan og ett sted i Australia. QFT-Plus-testen ble sammenlignet med QuantiFERON-TB Gold in-Tube (QFT)-testen. Et sammendrag av ytelsesdataene for sensitivitet, stratifisert etter studiested og land, er angitt i tabell 7. Resultatene for ytelse er basert på det totale antallet gyldige tester. Frekvensen av ubestemte resultater for QFT og QFT-Plus var henholdsvis 2,3 % (10/434) og 2,5 % (11/434).

Tabell 7. Sammendrag av studieresultater for klinisk sensitivitet stratifisert etter sted, land og totalt sett

Sted	N	Positiv		Negativ		Ubestemt		Sensitivitet (95 % CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
USA									
(#1) USA-5	15	13	13	2	2	0	0	86,67 % (13/15) (62,12–96,26)	86,67 % (13/15) (62,12–96,26)
(#2) USA-1	33	29	29	4	4	0	0	87,88 % (29/33) (72,67–95,18)	87,88 % (29/33) (72,67–95,18)
(#3) USA-4	5	5	5	0	0	0	0	100,0 % (5/5) (56,55–100,0)	100,0 % (5/5) (56,55–100,0)
Totalt USA	53	47	47	6	6	0	0	88,7 % (47/53) (77,4–94,7)	88,7 % (47/53) (77,4–94,7)
Japan									
(#4) JPN-2	76	72	67	1	3	3	6	98,63 % (72/73) (92,64–99,76)	95,71 % (67/70) (88,14–98,53)
(#5) JPN-3	99	97	98	2	1	0	0	97,98 % (97/99) (92,93–99,44)	98,99 % (98/99) (94,50–99,82)

Tabellen fortsetter på neste side

Tabellen fortsetter fra forrige side

Tabell 7. Sammendrag av studieresultater for klinisk sensitivitet stratifisert etter sted, land og totalt sett (forts.)

Sted	N	Positiv		Negativ		Ubestemt		Sensitivitet (95 % CI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
(#6) JPN-1	177	159	157	12	15	6	5	92,98 % (159/171) (88,14–95,94)	91,28 % (157/172) (86,11–94,64)
Totalt Japan	352	328	322	15	19	9	11	95,63 % (328/343) (92,91–97,33)	94,43 % (322/341) (91,5–96,4)
Australia									
(#7) AU-2	29	27	29	1	0	1	0	96,43 % (27/28) (82,29–99,37)	100,0 % (29/29) (88,30–100,0)

Analysen i tabellen over inkluderer ikke ubestemte resultater.

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

En inndeling av resultatene etter TB-antigentype og kombinasjoner av rør har vist et eksempel på forventede resultater i en bekreftet TB-smittet populasjon (tabell 8).

Tabell 8. Studieresultater for sensitivitet for QFT-Plus etter TB-antigenrør

Tolkning basert på TB Antigen-Nil i IE/ml	Tolkning basert på TB Antigen-Nil i IE/ml		QFT-Plus (positiv med TB1 og/eller TB2)
	TB1	TB2	
Positiv	388	397	398
Negativ	32	26	25
Ubestemt	14	11	11
Sensitivitet* (95 % CI)	–	–	94 % (398/423) (91,4–96,0)
Positivitetsrate* (95 % CI)	92,4 % (388/420) (89,4–94,6)	93,9 % (397/423) (91,1–95,8)	–

* Ekskluderer ubestemte verdier.

En sammenligning av QFT- og QFT-Plus-analysene ble utført i kohorten med aktiv TB bekreftet ved dyrking (sensitivitetsstudiekohorter), noe som viste et generelt samsvar på 95,9 % og et positivt prosentvis samsvar på 97,3 % (391/402).

Tabell 9. Sannsynlighetsforhold for QFT-Plus

Sted*	Sensitivitet	Spesifisitet	LR+	LR-
Australia	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

* Totalt

Ytelse hos pasienter med identifiserte risikofaktorer for en MTB-infeksjon (personer med blandet risiko)

En kohort bestående av 601 personer med blandede risikofaktorer for TB-infeksjon (f.eks. HIV-positiv, tidligere behandlet for aktiv eller latent tuberkulose, eksponert for aktiv tuberkulose, HCW-status, osv.) ble vurdert med både QFT- og QFT-Plus-testene. Risikofaktorer ble identifisert ved hjelp av en standard skjema, og personene viste ingen symptomer knyttet til aktiv TB ved rekrutteringstidspunktet. Demografi og risikofaktorer er rapportert i tabell 10. I denne populasjonen ga 68/601 (11,3 %) pasienter et positivt QFT-Plus-resultat, med et positivt prosentvis samsvar (PPA) og negativt prosentvis samsvar (NPA) på henholdsvis 98,44 % og 99,07 % (tabell 11). I denne kohorten av 68 QFT-Plus-positive pasienter var totalt 62 pasienter positive med både TB1- og TB2-rør, 2 pasienter var positive med kun TB1, og 4 pasienter var positive med kun TB2. Ingen ubestemte resultater (0/601) ble observert.

Tabell 10. Demografi og faktorer assosiert med risiko for TB-infeksjon i en blandet kohort

Totalt antall pasienter (601)		Antall	Prosent
Kjønn	Mann	539	89,7 %
	Kvinne	62	10,3 %
Alder (år)	Område	18–70	–
	Gj.sn.	46,7	
BCG-vaksinert	Ja	15	2,5 %
	Nei	586	97,5 %
HIV-positiv eller testet positiv for HTLV-virus	Ja	12	2,0 %
	Nei	589	98 %
Tidligere diagnostisert med aktiv TB	Ja	11	1,8 %
	Nei	590	98,2 %
Tok en positiv tuberkulintest (TST) / Mantoux-test for TB	Ja	47	7,8 %
	Nei	554	92,2 %
Er blitt behandlet for aktiv eller latent TB	Ja	35	5,8 %
	Nei	566	94,2 %
Bodd, jobbet eller vært frivillig (>1 måned) i fengsel	Ja	373	62,1 %
	Nei	228	37,9 %
Bodd, jobbet eller vært frivillig (>1 måned) med innkvartering av hjemløse	Ja	525	87,4 %
	Nei	76	12,6 %
Helsepersonell	Ja	8	1,3 %
	Nei	593	98,7 %
Nærkontakt med noen med aktiv tuberkulose eller mistanke om det	Ja	9	1,5 %
	Nei	592	98,5 %

Tabell 11. Sammendrag av ytelsen til QFT-Plus og QFT hos pasienter med kjente risikofaktorer for latent TB-infeksjon

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

*Alle de 6 uoverstemmende prøvene hadde IFN- γ -nivåer for TB-antigenrørene som var nær analysens cut-off.

Positivt prosentvis samsvar (PPA) og negativt prosentvis samsvar (NPA) mellom resultatene av QFT og QFT-Plus var som følger:

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

Tabell 12 nedenfor illustrerer ytelsen til QFT-Plus sammenlignet med QFT-testen hos BCG-vaksinerte studiepasienter.

Tabell 12. Ytelse for QFT-Plus sammenlignet med QFT-testen hos BCG-vaksinerte studiepasienter (kombinerte data fra studiepasienter med hensyn til sensitivitet, spesifisitet og LTBI)

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

* To pasienter fra sensitivitetsstudien ble ekskludert fra analysen på grunn av ubestemte resultater

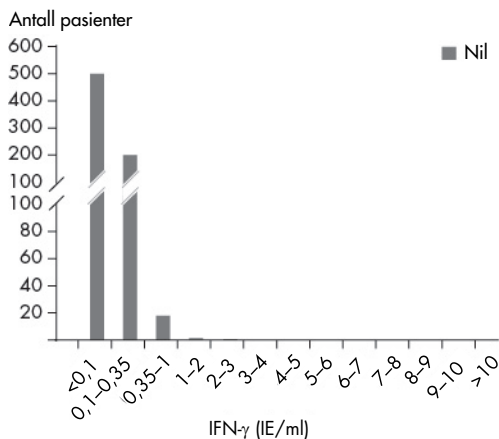
- PPA = 95,6 % (66/69), 95 % CI (87,98; 98,51)
- NPA = 98,2 % (268/273), 95 % CI (95,79; 99,22)

Forventede verdier

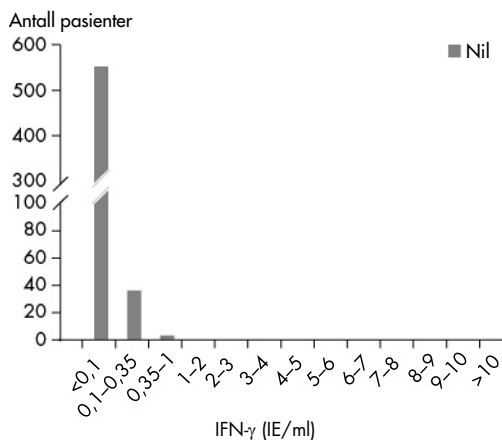
Observerte responsdistribusjoner – stratifisert risiko

Et utvalg av IFN- γ -responser på TB1, TB2 og kontrollrør ble observert i kliniske utprøvinger og stratifisert etter risiko for *M. tuberculosis*-infeksjon (figur 4 til figur 7). Gruppen med blandet risiko består av personer som er representative for en generell testpopulasjon, inkludert personer med og uten risikofaktorer for TB-eksponering og der aktiv TB er usannsynlig (f.eks. LTBI).

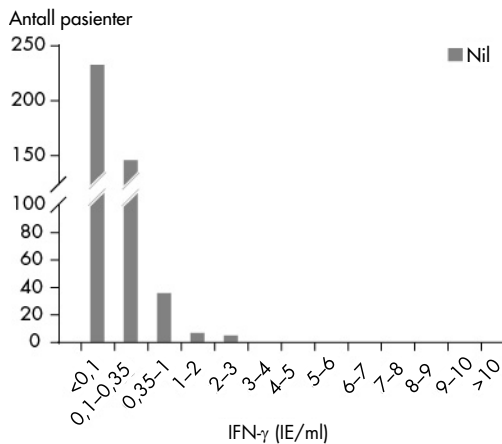
A



B

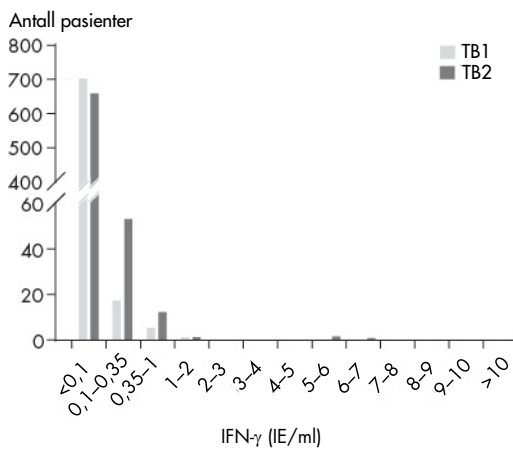


C

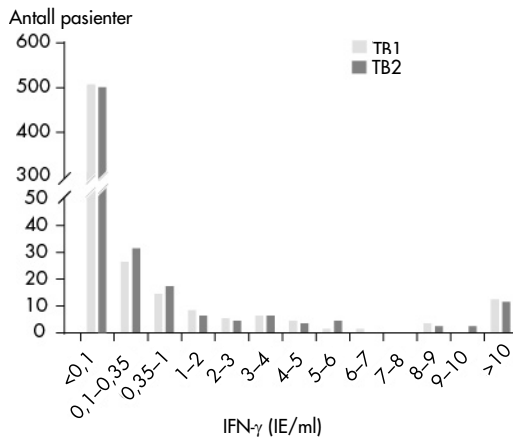


Figur 4. Distribusjon for Nil. A: Distribusjon av Nil-verdier i en populasjon med lav risiko (n=744). B: Distribusjon av Nil-verdier i en populasjon med blandet risiko (n=601). C Distribusjon av Nil-verdier i en populasjon med kulturbekreftet *M. tuberculosis*-infeksjon (n=416).

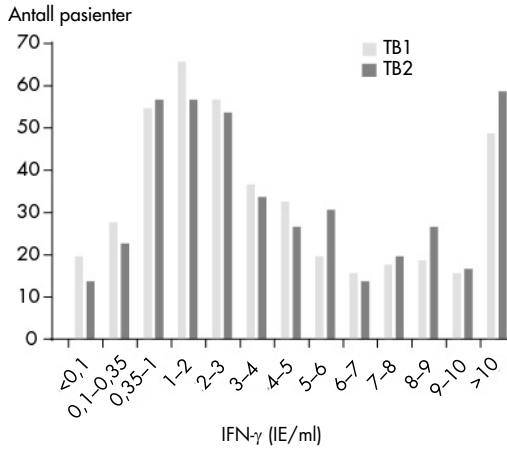
A



B

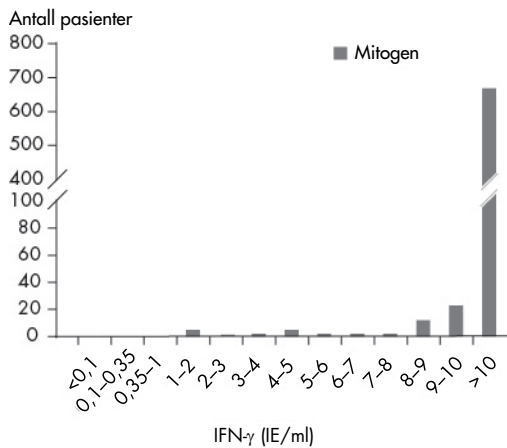


C

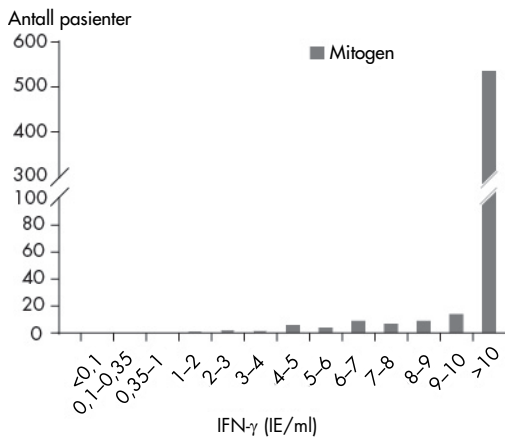


Figur 5. Distribusjon for TB1 og TB2 (Nil subtrahert). A: Distribusjon av TB1- og TB2-verdier (Nil subtrahert) i en populasjon med lav risiko (n=744). B: Distribusjon av TB1- og TB2-verdier (Nil subtrahert) i en populasjon med blandet risiko (n=601). C Distribusjon av TB1- og TB2-verdier (Nil subtrahert) i en populasjon med kulturbekreftet *M. tuberculosis*-infeksjon (n=416).

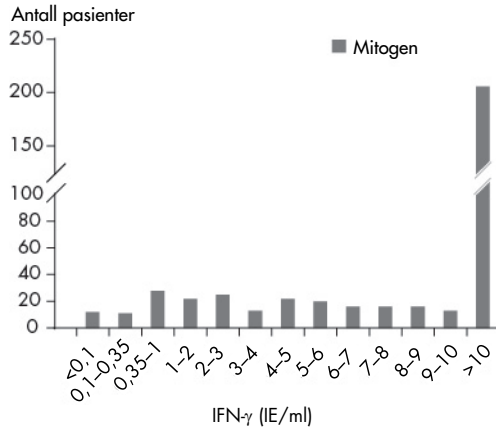
A



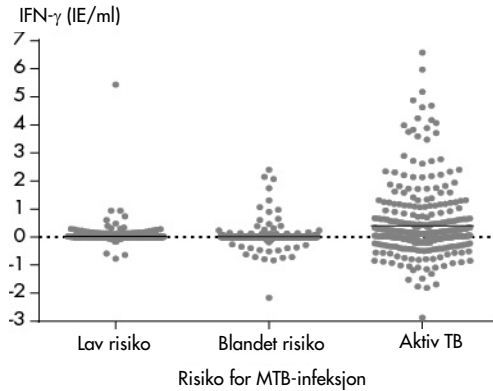
B



C



Figur 6. Distribusjon for Mitogen (Nil subtrahert). A. Distribusjon av Mitogen-verdier (Nil subtrahert) i en populasjon med lav risiko (n=744). B: Distribusjon av Mitogen-verdier (Nil subtrahert) i en populasjon med blandet risiko (n=601). C Distribusjon av Mitogen-verdier (Nil subtrahert) i en populasjon med kulturbekreftet *M. tuberculosis*-infeksjon (n=415).



Figur 7. Observert differanse mellom TB1- og TB2-verdier (Nil subtrahert), stratifisert etter risiko. Inkluderer data fra kohortstudien med blandet risiko for å vise forskjeller mellom kohorter med lav risiko, aktiv risiko og blandet risiko. Denne dataanalysen inkluderte en kohort med blandet risiko og kjente risikofaktorer. Fra kohorten med lav risiko er derfor n=733, fra kohorten med blandet risiko er n=588 og kohorten med aktiv TB er n=357. Den kvantitative forskjellen i IE/ml for hver pasient ble oppnådd ved å trekke TB1-verdien fra TB2-verdien.

Oppsummering av sikkerhet og ytelse

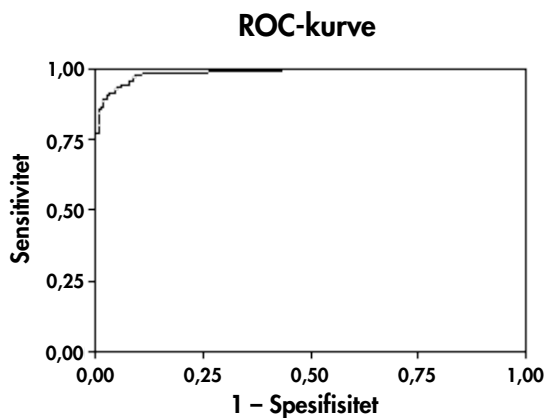
Sammendraget av sikkerhet og ytelse er tilgjengelig på nettsidene til EUDAMED.

Analysens ytelsesegenskaper

Analytisk ytelse

Analysens cut-off

Cut-off for QFT-Plus-analysen ble bestemt ved å bruke data fra 216 pasienter uten identifiserte risikofaktorer for TB-eksponering, som var BCG-vaksinert og antatt å ikke ha en infeksjon, og 118 pasienter der *M. tuberculosis*-infeksjon var bekreftet ved dyrking. Sensitivitets- og spesifisitetsdataene ble kombinert og analysert ved hjelp av kurveanalyse fra Receiver Operator Characteristic (ROC). Sensitivitets- og spesifisitetsdataene som ble analysert ved hjelp av ROC-analysen, viste at en optimal ELISA cut-off var på 0,35 IE/ml (se figur 8).



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

Tabell 13. Sensitivitets- og spesifisitetsverdier for ELISA ved ulike cut-off-verdier

Cut-off IE/ml IFN- γ	Sensitivitet %	95 % CI	Spesifisitet %	95 % CI	Sensitivitet + spesifisitet
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 fortsetter på neste side

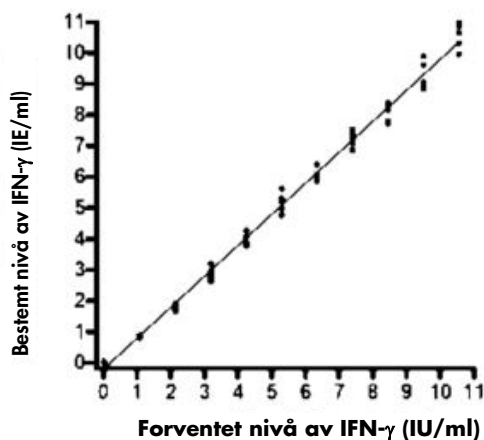
Tabellen fortsetter fra forrige side

Tabell 13. Sensitivitets- og spesifisitetsverdier for ELISA ved ulike cut-off-verdier

Cut-off IE/ml IFN- γ	Sensitivitet %	95 % CI	Spesifisitet %	95 % CI	Sensitivitet + spesifisitet
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 er vist å være lineær ved vilkårlig plassering av 5 replikater av 11 plasmapooler med kjente IFN- γ konsentrasjoner på ELISA-platen. Den lineære regresjonslinjen har et stigningstall på $1,002 \pm 0,011$ og en korrelasjonskoeffisient på 0,99 (figur 9).



Figur 9. Illustrasjon av regresjonsanalyse av linearitetsstudie – gjennomsnitt for høy pool = $-0,24 + 0,9964 \cdot \text{forventet}$.

Reproduserbarhet

En reproduserbarhetsstudie utført på flere sentre ble utført for å evaluere ytelsen til QFT-Plus på tvers av studiesteder med flere operatører. Dette var en prospektiv studie utført på tre eksterne teststeder og ett prøvetakingssted. Totalt 32 positive og 34 negative (bestemt av QFT-testen) pasienter ble inkludert i studien. Studiepasientene besto av helsepersonell i USA. Studiepasientene representerte grupper med blandet risiko for tuberkuloseeksponering på grunn av yrke eller som utenlandsfødte helsearbeidere med opprinnelse fra et sted med en tuberkuloserate på over 50/100 000.

Tre Blood Collection Tubes med litiumheparin ble tatt fra hver studiepasient på prøvetakingsstedet. Blood Collection Tubes med litiumheparin ble deretter overført til de tre ulike teststeder der de ble delt opp i to sett med QFT-Plus Blood Collection Tubes (QFT-Plus TB1, TB2, Mitogen og Nil) og deretter testet i samsvar med QFT-Plus-analyseprosedyren. På hvert sted var det minst to operatører som uavhengig analyserte de to testene per studiepasient. Hver operatør var blindet for resultatene som ble oppnådd av de andre operatørene, og blindet for resultatene av QFT-testresultatet for hver studiepasient.

Seks resultater ble generert på alle tre teststeder for hver av de 66 studiepasientene, noe som resulterte i totalt 396 datapunkter. Et sammendrag av reproduserbarhetsresultatene vises i tabell 14.

Tabell 14. Oppsummering av resultater fra reproduserbarhetsstudien – prosentvis (%) samsvar innenfor teststed for kvalitative resultater mellom operatører, N = 66 pasientprøver

Sted 1 – 2 operatører	Sted 2 – 2 operatører	Sted 3 – 3 operatører
64/66 = 96,97 %	64/66 = 96,97 %	59/66 = 89,39 %
Samsvar for kvalitative resultater for rørsett 1 og rørsett 2	Samsvar for kvalitative resultater for rørsett 1 og rørsett 2	Samsvar for kvalitative resultater for rørsett 1 og rørsett 2

Kvalitativt prosentvis samsvar på tvers av alle studiestedene er 94,7 % (375/396). I denne beregningen inkluderer det totale antallet testresultater som er i samsvar (375), de tilfellene der det er samsvar mellom alle 6 resultatene, samsvar med 5 av 6 resultater, samsvar med 4 av 6 resultater og samsvar med 3 av 6 resultater, kombinert.

Repeterbarhet mellom partier

Det ble utført en studie for å bestemme variabiliteten mellom partier for QFT-Plus Blood Collection Tubes sammenlignet med QFT-rør. Totalt 30 pasienter (15 bekreftet TB-positive og 15 bekreftet TB-negative, fastslått av QFT-testen) ble testet. Tre separate partier hver av QFT-Plus TB1, TB2 og QFT TB Blood Collection Tubes ble inkludert i denne studien. Tre replikater per donor per blodprøvetakingsrør ble testet. Nil- og Mitogen-rør ble testet med ett replikat hver.

Det ble tatt blod fra hver pasient i blodprøvetakingsrør med litiumheparin, og deretter ble 1 ml blod overført til QFT-Plus og QFT Blood Collection Tubes og testet i samsvar med analyseprosedyren. For hver positive og negative prøvegruppe må den totale variansen av resultatene for QFT-Plus-rør ikke ha vært signifikant større enn den totale variansen av resultatene for QFT-rør. Dette ble bestemt fra p-verdien gitt av testen kalt Levene's Homogeneity of Variance (HOV). Hvis p-verdien ikke var signifikant ($p > 0,05$) og/eller variasjonen for QFT-Plus TB-rørene var lavere enn for QFT TB-røret, var det varians mellom QFT-Plus- og QFT TB-rør.

Tabell 15. Sammenligning av varians mellom QFT-Plus og QFT TB Blood Collection Tubes ved hjelp av testen Levene's HOV

Prøvetype	Forskjell	Effekt	Avh.	P-verdi	Signifikant
Positiv	TB2 vs QFT	Sub_Type	Rest	0,0378	Ja
Positiv	TB2 vs QFT	Sub_Type	Rest	0,0540	Nei
Negativ	TB2 vs QFT	Sub_Type	Rest	0,1025	Nei
Negativ	TB2 vs QFT	Sub_Type	Rest	0,6344	Nei

Variasjonen mellom QFT-Plus og QFT TB Blood Collection Tubes var ikke signifikant med unntak av QFT-Plus TB2-røret når det ble testet med positive pasienter. Når estimatet av standardavvik ble analysert, var variasjonen i QFT-Plus TB2-røret mindre (0,06089) enn i QFT TB-røret (0,07641), som vist i tabell 16. Derfor var variansen til QFT-Plus TB1 og TB2 Blood Collection Tubes ikke større enn til QFT TB Blood Collection Tube.

Tabell 16. Standardavvik for rest og 95 % konfidensintervall for positive pasienter

Prøvetype	Undertype	Standardavvikestimert	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

Repeterbarhet innenfor parti

Det ble utført en studie for å vurdere reproduserbarheten innenfor parti til QFT-Plus Blood Collection Tubes ved å sammenligne IFN- γ -konsentrasjonen fra replikater av QFT-Plus Blood Collection Tubes med blod.

Seks alikvoter av én blodprøve fra de samme pasientene med en bekreftet TB-infeksjon ble analysert i 6 repeterte Blood Collection Tubes fra ett av partiene av begge QFT-Plus (TB1 og TB2). Testingen ble utført på 13 pasienter. %CV ble beregnet for hver donor og på tvers av alle donorer for å generere en gjennomsnittlig %CV som vist i tabell 17.

Tabell 17. %CV for gjennomsnitt, standardavvik, minimum, median og maksimum i hvert QFT-Plus TB Blood Collection Tube hos pasienter som var TB-positive

QFT-Plus Tube	Prøvestørrelse	Gj.sn. (%CV)	Standard avvik	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

Resultatene viste at gjennomsnittlig %CV for TB1 og TB2 var ~13 % og oppfylte akseptkriteriene på ≤ 30 % og viste repeterbarhet innenfor parti.

Grense for blank prøve (Limit of Blank, LoB)

Grensen for blank prøve (LoB) ble evaluert for QFT-Plus-analysen. To replikater hver av 14 individuelle normale humane plasmaprøver (som blanke prøver) ble testet med 2 partier med QFT-Plus ELISA av 3 operatører på 3 testdager, én operatør per testdag, dvs. totalt 84 replikater fra hvert ELISA kit-parti.

LoB-verdiene (IE/ml) for de 2 ELISA kit-partiene ble beregnet separat, som vist i tabell 18.

Tabell 18. LoB-verdier (IE/ml) for de 2 QFT-Plus ELISA Kit-partiene

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

Den høyeste LoB-verdien for de to QFT-Plus ELISA kit-partiene, 0,040 IE/ml ble rapportert som den endelige LoB-verdien.

Deteksjonsgrense (Limit of Detection, LoD)

Deteksjonsgrensen (LoD) ble evaluert for QFT-Plus-analysen. En TB-negativ human plasmapool ble generert ved å kombinere 14 individuelle plasmaprøver. Hver av de 3 operatørene klagjorde en stamløsning av IFN- γ -referansestandard på 1,0 IE/ml fortynnet i buffer. En fortynningsserie på 8 konsentrasjoner ble laget. Studien ble utført over 3 dager av 3 forskjellige operatører ved hjelp av 2 QFT-Plus ELISA kit-partier. På hver testdag ble 5 replikater av hver konsentrasjon innenfor hvert sett med fortynningsserie testet, dvs. totalt 45 replikater for hver fortynning av IFN- γ -konsentrasjon for hvert QFT-Plus ELISA kit-parti.

LoD-verdien for hvert QFT-Plus ELISA kit-parti som ble testet, ble beregnet separat, som vist i tabell 19.

Tabell 19. Estimerte LoD-verdier (IE/ml) for de 2 QFT-Plus ELISA kit-partiene

QFT-Plus ELISA Kit	Sannsynlighet	Konsentrasjonsestimat (IE/ml)	Nedre 95 % konfidensgrense for estimat	Øvre 95 % konfidensgrense for estimat
Sett 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Sett 2	0,95	0,065	0,060	0,073

Den høyeste LoD-verdien som ble beregnet for de to QFT-Plus ELISA kit-partiene, 0,065 IE/ml, ble rapportert som den endelige LoD-verdien.

Interfererende stoffer

Det ble utført en studie for å bestemme effekten av mulige interfererende stoffer på ytelsen til QFT-Plus ELISA for deteksjon av IFN- γ . Interferentene som ble inkludert i denne studien, var: triglyserider (totalt), hemoglobin, protein (totalt serum), bilirubin (konjugert), bilirubin (ukonjugert), abakavirsulfat, ciklosporin og prednisolon. Fem plasmapooler med kjente konsentrasjoner av IFN- γ ble klargjort ved hjelp av forskjellige interferentkonsentrasjoner. Grunnpoolens IFN- γ -nivå var tidligere klargjort med en forhåndsbestemt mengde IFN- γ til stede (ca. 0,21, 0,45 og 1,4 IE/ml). Denne poolen ble deretter brukt til å klargjøre interferentpoolene. Interferentkonsentrasjonene som ble testet, var 0 mg/dl, 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl og 20 mg/dl. Målintferentkonsentrasjonene var basert på referanseintervaller, patologiske verdier, terapeutiske områder og toksiske områder, eller som anbefalt av leverandør eller generelle kliniske nivåer. Seks replikater ble testet for hvert interferentnivå av prøvekonsentrasjonen.

For hver prøvekonsentrasjon ble det utført en t-test med to prøver, som sammenlignet forskjellen i gjennomsnittlig log₁₀ (IE/ml) for det første interferentnivået med kontrollen (dvs. interferentfritt nivå), som vist i tabell 20 og 21. Den estimerte forskjellen i gjennomsnittlig respons, sammen med de tilhørende tosidige 95 % konfidensgrensene og p-verdi, ble også rapportert.

Tabell 20. Log10 IE/ml: Sammendrag av T-test for forskjeller i gjennomsnitt mellom kontroll og primært interferentnivå for hver interferent og IFN- γ -konsentrasjonsnivå

Interferent	Interferentnivå	Prøvekonsentrasjon (IE/ml)	Varians	Gj.sn. forskjell	Nedre 95 % CI	Øvre 95 % CI	P-verdi	Bestått
Triglyserider	Høy	1,4	Lik	0,019	-0,040	0,077	0,491	Ja
		0,45	Lik	0,004	-0,022	0,030	0,732	Ja
		0,21	Lik	0,006	-0,035	0,047	0,759	Ja
Hemoglobin	Høy	1,4	Lik	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Ja
		0,45	Lik	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Ja
		0,21	Lik	0,000	-0,034	0,035	0,980	Ja
Protein	Høy	1,4	Lik	0,004	-0,034	0,042	0,836	Ja
		0,45	Lik	0,001	-0,38	0,040	0,962	Ja
		0,21	Lik	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Ja
Bilirubin konjugert	Høy	1,4	Lik	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Ja
		0,45	Lik	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Ja
		0,21	Lik	-0,014	0,074	0,046	0,625	Ja
Ukonjugert bilirubin	Høy	1,4	Lik	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Ja
		0,45	Lik	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Ja
		0,21	Lik	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Ja
Abakavir	Høy	1,4	Lik	0,008	-0,025	0,041	0,601	Ja
		0,45	Lik	0,012	-0,019	0,044	0,412	Ja
		0,21	Lik	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Ja

Tabellen fortsetter på neste side

Tabellen fortsetter fra forrige side

Tabell 20. Log₁₀ IE/ml: Sammendrag av T-test for forskjeller i gjennomsnitt mellom kontroll og primært interferentnivå for hver interferent og IFN- γ -konsentrasjonsnivå

Interferent	Interferentnivå	Prøvekonsentrasjon (IE/ml)	Varians	Gj.sn. forskjell	Nedre 95 % CI	Øvre 95 % CI	P-verdi	Bestått
Ciklosporin	Høy	1,4	Lik	0,014	-0,020	0,047	0,383	Ja
		0,45	Lik	0,005	-0,035	0,045	0,773	Ja
		0,21	Lik	0,024	-0,008	0,056	0,131	Ja
Prednisolon	Høy	1,4	Lik	0,017	-0,017	0,050	0,293	Ja
		0,45	Lik	0,000	-0,036	0,036	0,979	Ja
		0,21	Lik	0,015	-0,035	0,065	0,524	Ja

Tabell 21. Log10 IE/ml: Sammendrag av T-test for forskjeller i gjennomsnitt mellom kontroll og høyt interferentnivå for hver interferent og IFN- γ -konsentrasjonsnivå

Interferent	Interferentnivå	Prøvekonsentrasjon (IE/ml)	Varians	Gj.sn. forskjell	Nedre 95 % CI	Øvre 95 % CI	P-verdi	Bestått
Triglyserider	Høy	1,4	Lik	0,053	-0,004	0,110	0,063	Ja
		0,45	Lik	0,039	-0,021	0,058	<0,001	Ja
		0,21	Lik	0,034	-0,002	0,071	0,061	Ja
Hemoglobin	Høy	1,4	Lik	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Ja
		0,45	Lik	0,016	-0,007	0,040	0,152	Ja
		0,21	Lik	0,014	-0,030	0,059	0,489	Ja
Protein	Høy	1,4	Lik	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Ja
		0,45	Lik	0,000	-0,046	0,046	0,992	Ja
		0,21	Lik	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Ja
Bilirubin konjugert	Høy	1,4	Lik	0,001	-0,046	0,048	0,961	Ja
		0,45	Lik	0,012	-0,043	0,067	0,639	Ja
		0,21	Lik	0,015	-0,044	0,074	0,586	Ja
Ukonjugert bilirubin	Høy	1,4	Lik	0,015	-0,011	0,042	0,231	Ja
		0,45	Lik	0,015	-0,023	0,052	0,411	Ja
		0,21	Lik	0,012	-0,033	0,057	0,566	Ja
Abakavir	Høy	1,4	Lik	0,013	-0,015	0,040	0,322	Ja
		0,45	Lik	0,015	-0,014	0,044	0,283	Ja
		0,21	Lik	0,008	-0,034	0,050	0,677	Ja

Tabellen fortsetter på neste side

Tabellen fortsetter fra forrige side

Tabell 21. Log₁₀ IE/ml: Sammendrag av T-test for forskjeller i gjennomsnitt mellom kontroll og høy interferentnivå for hver interferent og IFN- γ -konsentrasjonsnivå

Interferent	Interferentnivå	Prøvekonsentrasjon (IE/ml)	Varians	Gj.sn. forskjell	Nedre 95 % CI	Øvre 95 % CI	P-verdi	Bestått
Ciklosporin	Høy	1,4	Lik	0,002	-0,019	0,024	0,816	Ja
		0,45	Lik	0,007	-0,030	0,043	0,682	Ja
		0,21	Lik	0,015	-0,007	0,038	0,155	Ja
Prednisolon	Høy	1,4	Lik	0,007	-0,016	0,030	0,518	Ja
		0,45	Lik	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Ja
		0,21	Lik	0,021	-0,025	0,068	0,334	Ja

Resultatene viste ingen signifikante forskjeller mellom det primære interferentnivået og kontrollen (interferentfritt nivå), eller for det høye interferentnivået, bortsett fra for konsentrasjonsnivået 0,45 IE/ml for triglyserid. Den gjennomsnittlige forskjellen ble bestemt til å være innenfor +/- 2 standardavviksområde. Dette viser at forskjellen er innenfor den forventede variasjonen til analysen, og at triglyserid ikke hadde en interfererende effekt på QFT-Plus ELISA.

Avfallshåndtering

Følg relevante retningslinjer for blodhåndtering. Prøver og materialer som har vært i kontakt med blod eller blodprodukter, skal kasseres i henhold til offentlige og lokale forskrifter.

Referanser

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.

Feilsøkingsveiledning

Denne feilsøkingsveiledningen kan være nyttig for å løse problemer som kan oppstå. For teknisk assistanse og mer informasjon, se vårt tekniske supportcenter på www.qiagen.com/Support (se www.qiagen.com for kontaktinformasjon).

Kommentarer og forslag

ELISA-feilsøking

Ikke-spesifikk fargeutvikling

- | | |
|---|---|
| a) Ufullstendig vasking av platen | Vask platen minst 6 ganger med 400 µl vaskebuffer per brønn. Mer enn 6 vaskesykluser kan være nødvendig, avhengig av oppvaskmaskinen som brukes. En bløtleggingsperiode på minst 5 sekunder mellom syklusene må benyttes. |
| b) Krysskontaminering av ELISA-brønner | Vær forsiktig ved pipettering og blanding av prøver for å redusere risikoen. |
| c) Settet/komponentene har gått ut på dato | Se til at settet brukes før utløpsdatoen. Kontroller at rekonstituert standard og konjugat 100x-konsentrat brukes innen tre måneder etter rekonstitueringsdatoen. |
| d) Enzymsubstratløsning er kontaminert | Kast substratet dersom det forekommer blåfarging. Forsikre deg om at rene reagensbeholdere brukes. |
| e) Blanding av plasma i QFT-Plus Blood Collection Tubes før høsting | Etter sentrifugering må du unngå å pipettere opp og ned eller blande plasma på noen måte før høsting. Du må til enhver tid passe på ikke å forstyrre materialet på geloverflaten. |

Kommentarer og forslag

Avlesninger av lav optisk tetthet for standarder

- a) Standardfortynningsfeil Påse at fortynninger av settstandarder er klargjort på riktig måte i henhold til denne bruksanvisningen.
- b) Pipetteringsfeil Sørg for at pipettene er kalibrert og brukes i henhold til produsentens instruksjoner.
- c) For lav inkubasjonstemperatur Inkubasjon av ELISA skal utføres ved romtemperatur ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$).
- d) For kort inkubasjonstid Plate med konjugat, standarder og prøver skal inkuberes i 120 ± 5 minutter. Enzymsubstratløsningen skal inkuberes på platen i 30 minutter.
- e) Feil plateleserfilter brukt Platen skal leses ved 450 nm med et referansefilter på mellom 620 og 650 nm.
- f) For kalde reagenser Alle reagenser, med unntak av 100x-konjugatkonsentrat, må bringes til romtemperatur før du begynner analysen. Dette tar ca. 1 time.
- g) Settet/komponentene har gått ut på dato Se til at settet brukes før utløpsdatoen. Sørg for at rekonstituert standard og 100x-konjugatkonsentrat brukes innen 3 måneder etter rekonstitueringsdatoen.

Høy bakgrunn

- a) Ufullstendig vasking av platen Vask platen minst 6 ganger med 400 µl vaskebuffer per brønn. Det kan være nødvendig med mer enn 6 vaskesykluser. En bløtleggingsperiode på minst 5 sekunder mellom syklusene må benyttes.
- b) For høy inkubasjonstemperatur Inkubasjon av ELISA skal utføres ved romtemperatur ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$).

Kommentarer og forslag

- | | |
|--|---|
| c) Settet/komponentene har gått ut på dato | Se til at settet brukes før utløpsdatoen. Kontroller at rekonstituert standard og konjugat 100x-konsentrat brukes innen tre måneder etter rekonstitueringsdatoen. |
| d) Enzymsubstratløsning er kontaminert | Kast substratet dersom det forekommer blåfarging. Forsikre deg om at rene reagensbeholdere brukes. |

Ikke-lineær standardkurve og variabilitet mellom duplikat

- | | |
|---|---|
| a) Ufullstendig vasking av platen | Vask platen minst 6 ganger med 400 µl vaskebuffer per brønn. Det kan være nødvendig med mer enn 6 vaskesykluser. En bløtleggingsperiode på minst 5 sekunder mellom syklusene må benyttes. |
| b) Standard fortynningsfeil | Påse at fortynninger av standarden er klargjort på riktig måte i henhold til denne bruksanvisningen. |
| c) Dårlig blanding | Bland reagensene grundig ved å snu dem opp og ned eller ved å vortekse dem før de settes på platen. |
| d) Inkonsekvent pipetteringsteknikk eller avbrudd under oppsett av analysen | Prøve- og standardtillegg skal utføres på kontinuerlig måte. Alle reagenser skal klargjøres før analysen starter. |

Symboler

Følgende symboler vises i bruksanvisningen eller på emballasjen og etiketter:

Symbol

Symboldefinisjon



<N>

Inneholder reagenser som er tilstrekkelig til <N> reaksjoner



Siste forbruksdato



Dette produktet oppfyller kravene i den europeiske bestemmelsen 2017/746 for in vitro-diagnostiske medisinske enheter.

EC

REP

Godkjent representant fra EF/EU

IVD

In vitro-diagnostisk medisinsk enhet

REF

Katalognummer

LOT

Partinummer

MAT

Materialnummer (dvs. komponentmerking)

COMP

Komponenter

CONT

Innhold

NUM

Antall

GTIN

Globalt artikkelnummer

Rn

R står for revisjon av bruksanvisningen, og n står for revisjonsnummeret



Temperaturbegrensning

Symbol

Symboldefinisjon



Produsent



Se bruksanvisningen



Skal beskyttes mot lys



Advarsel/forsiktig eller forsiktighetsregler, se 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 som bruker en peptidblanding som simulerer ESAT-6- og CFP-10-proteiner for å stimulere celler i heparinisert fullblod



Inneholder biologisk materiale av animalsk opprinnelse



Inneholder biologisk materiale av human opprinnelse



Entydig utstyrsidentifikator

Symbol

Symboldefinisjon

tartrazine

Inneholder tartrazin

sulfuric acid

Inneholder svovelsyre

Vedlegg A: Teknisk informasjon

Ubestemte resultater

Ubestemte resultater er sjeldne og kan knyttes til testpersonens immunstatus (5), men det kan også være relatert til en rekke tekniske faktorer (f.eks. feil håndtering/oppbevaring av Blood Collection Tubes, utilstrekkelig vasking av ELISA-plate) hvis ovenstående bruksanvisning ikke følges.

Hvis det er mistanke om tekniske problemer ved reagensoppbevaring, blodprøvetaking eller behandling av blodprøver, må hele QFT-Plus-testen gjentas med nye blodprøver. Gjentatt ELISA-testing på stimulert plasma kan utføres hvis det er mistanke om utilstrekkelig vasking eller andre prosedyreavvik i forbindelse med ELISA-testen. Legen kan velge å ta en ny prøve eller utføre andre egnede prosedyrer.

Koagulerte plasmaprøver

Hvis det dannes fibrin i forbindelse med langvarig oppbevaring av plasmaprøver, kan prøvene sentrifugeres for å sedimentere det koagulerte materialet og forenkle pipetteringen av plasma.

Lipemiske plasmaprøver

Vær forsiktig når du pipetterer lipemiske prøver, ettersom fettavleiringer kan blokkere pipettespisser.

Vedlegg B: Forkortet ELISA-testprosedyre

1. Ekvilibrer ELISA-komponenter, med unntak av 100x-konjugatkonsentratet, til romtemperatur i minst 60 minutter.



2. Rekonstituer settstandarden til 8,0 IE/ml med destillert eller deionisert vann. Klargjør fire (4) standardfortynninger.



3. Rekonstituer frysetørret 100x konjugatkonsentrat med destillert eller deionisert vann.

4. Klargjør konjugat med arbeidsstyrke i grønn fortynningsløsning, og tilsett 50 μ l i alle brønner.



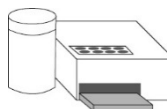
5. Tilsett 50 μ l testplasmaprøver og 50 μ l standarder i de aktuelle brønnene. Bland med en rister.



6. Inkuber i 120 minutter ved romtemperatur.



7. Vask brønnene minst 6 ganger med 400 μ l vaskebuffer per brønn.



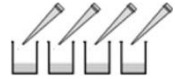
8. Tilsett 100 μ l enzymsubstratløsning til brønnene. Bland med en rister.



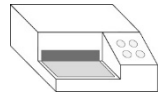
9. Inkuber i 30 minutter ved romtemperatur.



10. Tilsett 50 μ l enzymstoppløsning til alle brønnene. Bland med en rister.



11. Les av resultatene ved 450 nm med 620 til 650 nm referansefilter



12. Analyser resultatene.



Bestillingsinformasjon

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

For oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser, se bruksanvisningen for det aktuelle QIAGEN-settet. Bruksanvisninger for QIAGEN-sett kan fås på www.qiagen.com eller kan leveres fra QIAGENs tekniske serviceavdeling eller din lokale distributør.

Endringshistorikk for dokument

Dato	Endringer
R2, juni 2021	Inkludert informasjon om pakke til enkeltpasient Tabell 10 og 11 er revidert for å skille mellom QFT-GIT- og QFT-Plus-data Beskrivelse og prinsipp-avsnittet er oppdatert, og informasjon om testpopulasjon og måleområde er lagt til. Tabell 9 er lagt til og inneholder data om sannsynlighetsforhold for QFT-Plus
R3, oktober 2021	Katalognumre er tilbakestilt til opprinnelige katalognumre Informasjon om at mikroplateremser i settets innhold er til engangsbruk, er lagt til
R4, mars 2023	Formateringsutbedringer

Denne siden skal være tom

Begrenset lisensavtale for QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit

Bruk av dette produktet innebærer at enhver kjøper eller bruker av produktet samtykker i følgende vilkår:

1. Produktet kan bare brukes i samsvar med protokollene som leveres med produktet og denne bruksanvisningen, og skal bare brukes med komponenter som er inkludert i panelet. QIAGEN gir ingen lisens for noen av sine åndsprodukter til å bruke eller innlemme komponenter i dette panelet med andre komponenter som ikke er inkludert i dette panelet, med unntak av det som er beskrevet i protokollene som leveres med produktet, denne bruksanvisningen og andre protokoller som er tilgjengelige på www.qiagen.com. Noen av disse andre protokollene er utarbeidet av QIAGEN-brukere for QIAGEN-brukere. Disse protokollene er ikke blitt grundig testet eller optimalisert av QIAGEN. QIAGEN garanterer ikke for dem og gir heller ingen garanti for at de ikke krenker rettighetene til tredjeparter.
2. QIAGEN gir ingen garanti for at dette panelet og/eller dets bruk ikke krenker rettighetene til tredjeparter, bortsett fra uttrykkelig oppgitte lisenser.
3. Dette panelet og tilhørende komponenter er lisensiert til engangsbruk og kan ikke brukes flere ganger, modifiseres eller selges på nytt.
4. QIAGEN frasier seg spesifikt andre lisenser, uttrykt eller antydnet, bortsett fra de som er uttrykkelig oppgitt.
5. Kjøperen og brukeren av panelet samtykker i at de ikke skal gjøre eller la noen andre gjøre noe som kan resultere i eller fremme handlinger som er forbudt ovenfor. QIAGEN kan håndheve forbud i denne begrensede lisensavtalen i en hvilken som helst domstol, og skal få tilbake alle sine etterforsknings- og domstolskostnader, inkludert advokathonorarer, knyttet til enhver handling som iverksettes for å håndheve denne begrensede lisensavtalen eller eventuelle immaterielle rettigheter forbundet med panelet og/eller komponentene.

Oppdaterte lisensvilkår er tilgjengelige på www.qiagen.com.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (QIAGEN-gruppen) Proclin®, Registrerte navn, varemerker, osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke anses som ubeskyttet ved lov, selv når de ikke er spesielt merket som sådan.

03/2023 L1123669 1123669NB © 2023 QIAGEN, med enerett.

Bestilling www.qiagen.com/shop | Teknisk støtte support.qiagen.com | Nettsted www.qiagen.com