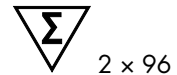


April 2022

Gebruiksaanwijzing QuantiFERON[®] SARS-CoV-2 ELISA Kit



Versie 1



Voor in-vitrodiagnostisch gebruik

Voor gebruik met QuantiFERON[®] SARS-CoV-2 Blood Collection
Tubes



626420



QIAGEN, 19300 Germantown Road, Germantown, MD 20874, VS
Telefoon: +1-800-426-8157



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724
Hilden, Duitsland



1124420NL

Inhoud

Beoogd gebruik.....	5
Beoogde gebruiker	6
Beschrijving en principe	7
Samenvatting en uitleg.....	7
Meegeleverde materialen	9
Inhoud van de kit	9
Bestanddelen van de kit	10
Platform en software	10
Benodigde, maar niet-meegeleverde materialen	11
Aanvullende reagentia	11
Uitrusting.....	11
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen	12
Veiligheidsinformatie	12
Voorzorgsmaatregelen.....	13
Opslag en hantering van reagentia	16
Stabiliteit tijdens gebruik	16
Gereconstitueerde en niet-gebruikte reagentia.....	16
Bewaren en hanteren van specimen	17
Procedure: De ELISA uitvoeren	18
Protocol: IFN- γ ELISA.....	18
Resultaten (Berekeningen)	24
Genereren van de standaardcurve en monsterwaarden	24

Kwaliteitscontrole van de test	26
Interpretatie van de resultaten	28
Beperkingen.....	29
Prestatiekenmerken assay	30
Analyseprestaties	30
Klinische prestaties.....	40
Referenties	47
Gids voor problemen oplossen	52
Symbolen	55
Contactgegevens	56
Bijlage A: Technische informatie.....	57
Onbepaalde resultaten.....	57
Gestolde plasmamonsters	57
Lipoedeemplasmamonsters	57
Bijlage B: Verkorte ELISA-testprocedure	58
Bestelgegevens.....	60
Revisiegeschiedenis van document.....	61

Beoogd gebruik

De QuantiFERON SARS-CoV-2-assay is een in-vitrodiagnostische test, ontwikkeld voor de kwalitatieve detectie van interferon- γ (IFN- γ) die wordt geproduceerd door CD4+ en CD8+ T-cellen als reactie op stimulatie door een SARS-CoV-2-peptidecocktail in gehepariniseerd volbloed. De hoeveelheid geproduceerde IFN- γ wordt gemeten aan de hand van Enzyme-Linked Immunosorbent Assay (ELISA).

De QuantiFERON SARS-CoV-2-assay is bedoeld als hulpmiddel bij het evalueren van de celgemedieerde immuunreactie (Cell-Mediated Immune, CMI) bij personen met een geschiedenis van SARS-CoV-2-infectie en die een vaccinatie tegen COVID-19 hebben ontvangen met vaccins die zich op de virusspike-eiwitten (S) van het de SARS-CoV-2-virus richten.

De QuantiFERON SARS-CoV-2-assay moet in combinatie met andere laboratoriumtests en epidemiologische/klinische evaluatie worden gebruikt om de immuunreactie van personen vast te stellen na vaccinatie tegen COVID-19.

Het kan tot enkele dagen na de vaccinatie duren voordat zich immuunreacties van T-cellen ontwikkelen, hoewel de tijdsduur waarop immuunreacties voor T-cellen plaatsvinden niet goed gekenmerkt zijn voor gevaccineerde personen.

Niet-reactieve resultaten sluiten actieve SARS-CoV-2-infectie niet uit of zijn geen indicatie van de effectiviteit van vaccinaties tegen COVID-19. Indien actieve besmetting wordt vermoed, dient u dit te bevestigen door middel van een andere moleculaire of antigeentest voor SARS-CoV-2. De resultaten van de assay moeten altijd gebruikt worden in combinatie met klinisch onderzoek, de medische geschiedenis van de patiënt en andere bevindingen.

Voor in-vitrodiagnostisch gebruik.

Beoogde gebruiker

Deze kit is bestemd voor professioneel gebruik.

Het product dient uitsluitend te worden gebruikt door personeel dat speciaal is opgeleid en getraind in het gebruik van moleculaire biologische technieken en bekend is met deze technologie.

Beschrijving en principe

Samenvatting en uitleg

QuantIFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) is een kwalitatieve assay dat gebruikmaakt van speciale bloedafnamebuisjes. Deze buisjes bevatten peptideantigenen die immuuncellen stimuleren aan de hand van SARS-CoV-2-specifieke eiwitten. De aansluitende incubatie van het bloed in het buisje duurt 16 tot 24 uur. Daarna wordt het plasma geëxtraheerd en getest op de aanwezigheid van IFN- γ dat is gevormd in reactie op de peptide-antigenen. Er zijn specifieke T-cel-gemedieerde reacties op SARS-CoV-2-besmetting gerapporteerd post-vaccinatie met verschillende typen vaccins die zich richten op de spike-eiwitten [1-34].

Eerst wordt volbloed verzameld in de QuantIFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes, bestaande uit een Nil-buisje, een Ag1-buisje, een Ag2-buisje en een Mitogen-buisje. U kunt ook bloed afnemen in één bloedafnamebuisje dat lithiumheparine of natriumheparine als antistollingsmiddel bevat en dit vervolgens overbrengen naar QuantIFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes.

De QuantIFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes worden geschud om antigenen te mengen met het bloed en dienen zo snel mogelijk bij 37 ± 1 °C te worden geïncubeerd, maar uiterlijk binnen 16 uur na de bloedafname. Na een incubatieperiode van 16 tot 24 uur worden de buisjes gecentrifugeerd, wordt het plasma verwerkt en wordt de hoeveelheid IFN- γ (IE/ml) gemeten met behulp van de ELISA-methode. De QuantIFERON SARS-CoV-2 ELISA maakt gebruik van een recombinante menselijke IFN- γ -standaard, waarvan een assay is uitgevoerd tegen een IFN- γ -referentiebereiding (NIH-ref: Gxg01-902-535). Resultaten voor testmonsters worden gerapporteerd in internationale eenheden per ml (IE/ml) ten opzichte van de standaardcurve die is voorbereid door verdunning van de standaard uit de kit te testen.

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

Het plasmamonster uit het Mitogen-buisje dient als IFN- γ positieve controle voor elk getest specimen. Het Nil-buisje dient als ijking voor achtergrondreacties (zoals zeer hoge concentraties circulerend IFN- γ of aanwezigheid van heterofiele antilichamen). De IFN- γ -waarde in het Nil-buisje wordt afgetrokken van de IFN- γ -waarde voor de Ag1-, Ag2- en Mitogen-buisjes.

Meegeleverde materialen

Inhoud van de kit

ELISA-bestanddelen	Set met 2 platen
Catalogusnr.	626420
Microplate strips (Strips voor microplaat) (12 x 8 putjes) voorzien van een laagje murine anti-menselijk IFN- γ monoklonaal antilichaam	2 sets van strips voor microplaten met 12 x 8 putjes
IFN- γ Standard, glyofiliseerd (bevat recombinant menselijk IFN- γ , bovine caseïne, 0,01% vol. Thimerosal)	1 x flacon (8 IE/ml indien gereconstitueerd)
Green Diluent (groene verdunningsoplossing) (bevat bovine caseïne, normaal muizenserum, 0,01% vol. Thimerosal)	1 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (conjugaatconcentraat 100x), glyofiliseerd (murine anti-menselijk IFN- γ HRP, bevat 0,01% Thimerosal)	1 x 0,3 ml (indien gereconstitueerd)
Wash Buffer 20x Concentrate (spoelbuffer, concentraat 20x) pH 7,2 bevat 0,05% vol. ProClin® 300)	1 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (enzymsubstraatoplossing) (bevat H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' Tetramethylbenzidine)	1 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (enzymremmingsoplossing) (bevat 0,5 M H ₂ SO ₄)*	1 x 15 ml
<i>Gebruiksaanwijzing QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA Kit</i>	1

* Bevat zwavelzuur

Bestanddelen van de kit

Controles en kalibrators

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

Platform en software

QFN SARS-analysesoftware is optioneel voor gebruik en kan worden gebruikt voor het analyseren van de onbewerkte gegevens en het berekenen van de resultaten. De software is te downloaden op www.qiagen.com.

Benodigde, maar niet-meegeleverde materialen

Aanvullende reagentia

- Gedeïoniseerd of gedestilleerd water, 2 liter

Uitrusting*

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

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

Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Onthoud dat klanten in de Europese Unie verplicht zijn om ernstige incidenten die hebben plaatsgevonden in verband met gebruik van het hulpmiddel te melden bij de fabrikant en de bevoegde instantie van de lidstaat waarin de gebruiker en/of de patiënt zich bevindt.


Veiligheidsinformatie

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

- Alle chemische en biologische materialen zijn mogelijk gevaarlijk. Specimens en monsters zijn potentieel besmettelijk en dienen als biologisch gevaarlijk materiaal te worden behandeld.
- Gooi afval van het monster en de assay weg conform uw lokale veiligheidsprocedures.
- Specimens en monsters kunnen besmettelijk zijn. Gooi afval van het monster en de assay weg conform uw lokale veiligheidsprocedures.
- De QFN SARS-assay moet in combinatie met andere laboratoriumtests en epidemiologische/klinische evaluatie worden gebruikt om de immuunreactie van personen vast te stellen na vaccinatie tegen COVID-19.
- Een niet-reactief QFN SARS resultaat sluit de mogelijkheid van een SARS-CoV-2-infectie niet uit of is geen indicatie van de effectiviteit van vaccinaties tegen COVID-19. Foutieve niet-reactieve resultaten kunnen het gevolg zijn van een onjuiste hantering van de bloedafnamebuisjes na venapunctie, onjuiste prestaties van de assay of andere afzonderlijke immunologische variabelen, waaronder die gerelateerd aan enigerlei comorbiditeiten. Productie van heterofiele antilichamen of niet-specifieke IFN- γ van andere ontstekingen kunnen specifieke reacties op SARS-CoV-2-peptiden markeren.

- Een reactief resultaat van de QFN SARS-test mag niet de enige of definitieve basis voor het vaststellen van de effectiviteit van vaccinaties tegen COVID-19 zijn. Door een onjuiste uitvoering van de assay is er een kans op een fout-reactieve QFN SARS-resultaten.
- Een fout-reactief QFN SARS-resultaat kan het gevolg zijn van onjuiste bloedmonsterafname of een onjuiste hantering van het specimen dat de functie van de lymfocyten aantast. Raadpleeg het deel 'Procedure: De ELISA uitvoeren', pagina 18 voor de juiste hantering van de bloedspecimens. Uitstel van de incubatie kan leiden tot foutieve niet-reactieve of onbepaalde resultaten, en andere technische parameters kunnen van invloed zijn op het kunnen vaststellen van een significante IFN- γ -reactie.
- Een lage reactie op Mitogen (< 0,5 IE/ml) duidt op een gemiddeld resultaat wanneer een bloedmonster tevens een niet-reactieve reactie te zien geeft op de SARS-CoV-2-eiwitten. Dit beeld kan optreden bij onvoldoende lymfocyten, een verminderde lymfocytenactiviteit vanwege een onjuiste verwerking van de specimens, onjuist vullen of mengen van het Mitogen-buisje of het feit dat de lymfocyten geen IFN- γ kunnen produceren. Bij de aanwezigheid van heterofiele antilichamen of bij intrinsieke IFN- γ afscheiding kan er sprake zijn van verhoogde waarden van IFN- γ in het Nil-monster.

Vorzorgsmaatregelen

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

QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Bevat: zwavelzuur. Waarschuwing! Kan bijtend zijn voor metalen. Veroorzaakt huidirritatie. Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Waarschuwing! Licht irriterend voor de huid. Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen.

QuantiFERON Green Diluent



Bevat: tartrazine. Waarschuwing! Kan een allergische huidreactie veroorzaken. Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Langdurig schadelijk voor in het water levende organismen. Voorkom vrijkomen in het milieu.

Overige informatie

Veiligheidsinformatiebladen: www.qiagen.com/safety

- Thimerosal wordt gebruikt als een conserveringsmiddel in sommige QFN SARS-reagentia. De stof is mogelijk giftig bij inslikken, inademing of bij contact met de huid.
- Afwijkingen van de *Gebruiksaanwijzing van de QuantiFERON ELISA Kit* kunnen tot onjuiste resultaten leiden. Lees voor gebruik zorgvuldig de instructies.
- Gebruik de kit niet als een flesje met reagens vóór gebruik tekenen van schade of lekkage vertoont.
- **Belangrijk:** Controleer de flacons vóór gebruik. Gebruik flacons met conjugaat of IFN- γ -standaard niet als deze tekenen van schade vertonen of als de rubberen afsluiting is beschadigd. Pak gebroken flacons niet vast. Neem geschikte voorzorgsmaatregelen om de flacons veilig af te voeren. Het wordt aanbevolen om de flacon-ontdopper te gebruiken om de flacons met conjugaat of IFN- γ -standaard te openen om het risico op letsel door de metalen dop te minimaliseren.

-
- Strips voor microtiterplaten, IFN- γ standaard, groene verdunningsoplossing of conjugaatconcentraat 100x uit verschillende QFN-SARS-kitpartijen mogen niet worden gemengd of door elkaar gebruikt. Andere reagentia (spoelbuffer 20x geconcentreerd, enzymsubstraatoplossing en enzymremmingsoplossing) kunnen worden uitgewisseld tussen kits op voorwaarde dat de vervaldatum van de reagentia nog niet is verstreken en dat de partijgegevens worden geregistreerd.
 - Werp niet-gebruikte reagentia en biologische monsters weg volgens de plaatselijke of nationale regelgeving.
 - Gebruik de QFN SARS ELISA-kit niet nadat de vervaldatum is verstreken.
 - Volg altijd de juiste laboratoriumprocedures.
 - Zorg ervoor dat laboratoriumapparatuur, zoals plaatspoelers en leesapparaten, is gekalibreerd en gevalideerd voor gebruik.

Opslag en hantering van reagentia

Let op de vervaldatum en opslagcondities die op de verpakking en etiketten van alle componenten staan vermeld. Gebruik geen componenten waarvan de vervaldatum is verstreken of die op de verkeerde manier zijn bewaard.

Stabiliteit tijdens gebruik

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

Gereconstitueerde en niet-gebruikte reagentia

- Raadpleeg 'Procedure: De ELISA uitvoeren', pagina 18 voor instructies voor het reconstitueren van de reagentia.
- De gereconstitueerde kitstandaard kan tot 3 maanden bewaard blijven indien opgeslagen bij 2-8 °C.
Let op de datum waarop de kitstandaard is gereconstitueerd.
- Het niet-gebruikte conjugaatconcentraat 100X moet opnieuw worden opgeslagen bij 2-8 °C en binnen 3 maanden worden gebruikt.
Let op de datum waarop het conjugaat is gereconstitueerd.
- Gebruiksklaar conjugaat moet binnen 6 uur na bereiding worden gebruikt.
- Gebruiksklare spoelbuffer kan gedurende 2 weken bij kamertemperatuur worden bewaard.

Bewaren en hanteren van specimens

Raadpleeg de *Gebruiksaanwijzing van de QuantiFERON-SARS-CoV-2 (QFN SARS) Blood Collection Tubes (1124422)* voor informatie over de bloedafnameprocedure voor de QFN SARS-test.

Procedure: De ELISA uitvoeren

Protocol: IFN- γ ELISA

Belangrijke aandachtspunten

- Raadpleeg Inhoud van de kit, pagina 9 en Benodigde, maar niet-meegeleverde materialen, pagina 11 voor de materialen die zijn vereist om ELISA uit te voeren.

Opstelling (Benodigde tijd voor de uitvoering van de assay)

Om geldige resultaten te verkrijgen van de QFN SARS-assay moet de gebruiker specifieke taken binnen specifieke tijden uitvoeren. Het wordt aangeraden dat de gebruiker vooraf gebruik van de assay elke fase van de assay nauwkeurig plant, zodat er voldoende tijd is voor elke fase. De geschatte benodigde tijd wordt hieronder gegeven. Tevens wordt de tijd aangegeven voor het testen van meerdere gegroepeerde monsters.

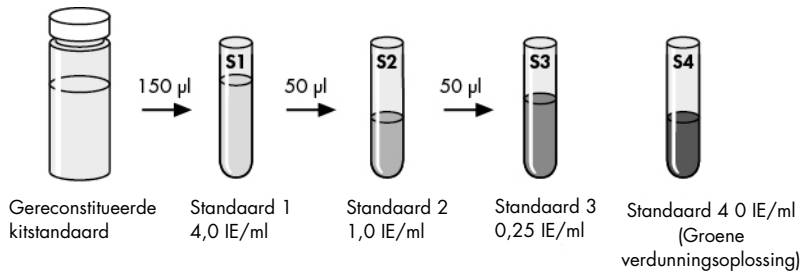
- Ongeveer 3 uur per ELISA-plaat
- < 1 uur arbeidstijd
- 10 tot 15 minuten toevoegen voor elke extra plaat

Procedure

1. Alle plasmamonsters en reagentia, behalve conjugaatconcentraat 100x, dienen vóór gebruik op kamertemperatuur (22 ± 5 °C) te worden gebracht. Laat minimaal 60 minuten staan om de monsters op kamertemperatuur te laten komen.
2. Verwijder ELISA-plaatstrips die niet nodig zijn van het frame, verzegel ze opnieuw in de folieverpakking en zet deze terug in de koelkast voor later gebruik.
3. Neem minstens 1 strip voor de QFN SARS-standaarden en voldoende strips voor het aantal proefpersonen dat wordt getest (zie afbeelding 2 voor aanbevolen plaatformaat). Bewaar na gebruik het frame en het deksel om later met de resterende strips te gebruiken.

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

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



Afbeelding 1. Maken van de standaardcurve met verdunningsreeksen.

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

Tabel 1. Bereiding conjugaat (gebruiksklaar)

Aantal strips	Hoeveelheid conjugaat (100x concentratie)	Hoeveelheid groene verduunningsoplossing
2	10 µl	1,0 ml
3	15 µl	1,5 ml
4	20 µl	2,0 ml
5	25 µl	2,5 ml
6	30 µl	3,0 ml
7	35 µl	3,5 ml
8	40 µl	4,0 ml
9	45 µl	4,5 ml
10	50 µl	5,0 ml
11	55 µl	5,5 ml
12	60 µl	6,0 ml

5. Voor plasmamonsters die zijn verkregen uit bloedafnamebuisjes en vervolgens zijn opgeslagen (gekoeld of bevroren), moet het opgeslagen monster grondig worden gemengd alvorens te worden toegevoegd aan het ELISA-potje. Plasmamonsters kunnen in gecentrifugeerde QFN SARS Blood Collection Tubes gedurende maximaal 28 dagen bij 2-8 °C worden bewaard, of verzamelde plasmamonster kunnen maximaal 28 dagen bij 2-8 °C worden bewaard. Verzamelde plasmamonsters kunnen ook onder -20 °C worden bewaard (bij voorkeur minder dan -70 °C) gedurende maximaal 24 maanden.

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

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

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

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1 N	3 N	5 N	7 N	9 N	S1	S1	13 N	15 N	17 N	19 N	21 N
B	1 Ag1	3 Ag1	5 Ag1	7 Ag1	9 Ag1	S2	S2	13 Ag1	15 Ag1	17 Ag1	19 Ag1	21 Ag1
C	1 Ag2	3 Ag2	5 Ag2	7 Ag2	9 Ag2	S3	S3	13 Ag2	15 Ag2	17 Ag2	19 Ag2	21 Ag2
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 Ag1	4 Ag1	6 Ag1	8 Ag1	10 Ag1	11 Ag1	12 Ag1	14 Ag1	16 Ag1	18 Ag1	20 Ag1	22 Ag1
G	2 Ag2	4 Ag2	6 Ag2	8 Ag2	10 Ag2	11 Ag2	12 Ag2	14 Ag2	16 Ag2	18 Ag2	20 Ag2	22 Ag2
H	2 M	4 M	6 M	8 M	10 M	11 M	12 M	14 M	16 M	18 M	20 M	22 M

Afbeelding 2. **Aanbevolen ELISA-plaatindeling.** S1 (standaard 1), S2 (standaard 2), S3 (standaard 3), S4 (standaard 4). 1N (monster 1. Nil controleplasma), 1 Ag1 (monster 1. Ag1-plasma), 1 Ag2 (monster 1. Ag2-plasma), 1M (monster 1. Mitogen-plasma).

9. Dek de ELISA-plaat af met een deksel en meng het conjugaat met de plasmamonsters/standaarden gedurende 1 minuut goed met behulp van een schudder voor microtiterplaten bij 500 tot 1000 trillingen per minuut. Vermijd spatten.
10. Dek de ELISA plaat af en incubeer gedurende 120 ± 5 minuten op kamertemperatuur (22 ± 5 °C). Tijdens het incuberen mag de ELISA-plaat niet aan direct zonlicht worden blootgesteld. Wanneer wordt afgeweken van het gespecificeerde temperatuurbereik, kan dit tot foutieve resultaten leiden.

11. Tijdens het incuberen van de ELISA-plaat bereidt u de gebruiksklare spoelbuffer voor. Verdun één deel spoelbuffer, concentraat 20x, met 19 delen gedeïoniseerd of gedestilleerd water en meng goed. Er is voldoende spoelbuffer, concentraat 20x, aanwezig om 2 liter gebruiksklare spoelbuffer te maken.
12. Spoel nadat de incubatie van de ELISA-plaat is afgerond de ELISA-plaatputjes met 400 µl gebruiksklare spoelbuffer. Voer de spoelstep minstens zes keer uit. Er wordt om veiligheidsredenen een geautomatiseerde plaatspoeler aanbevolen bij hantering van plasmamonsters.

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

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

Resultaten (Berekeningen)

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

De software voert een kwaliteitscontrole voor de assay uit, genereert een standaardcurve, en geeft voor elke proefpersoon een testresultaat, zoals verder is uitgewerkt in 'Interpretatie van de resultaten', pagina 28. De software rapporteert alle concentraties groter dan 10 IE/ml als '>10', gezien zulke waarden buiten het gevalideerde lineaire bereik van de ELISA vallen.

Als alternatief voor het gebruik van de QFN SARS-analysesoftware kunnen resultaten ook worden vastgesteld met behulp van de volgende methode.

Genereren van de standaardcurve en monsterwaarden

Als QFN SARS-analysesoftware niet wordt gebruikt

Bepaling van de standaardcurve en bepaling van de IE/ml-waarden van monsters vereisen een spreadsheetprogramma, zoals Microsoft® Excel® wanneer de QFN SARS-analysesoftware niet wordt gebruikt.

Een spreadsheetprogramma gebruiken

1. Bepaal de gemiddelde OD-waarden van de kitstandaardreplicaten op elke plaat.
2. Construeer een dubbellogaritmische standaardcurve door de \log_{10} van de gemiddelde OD (y-as) af te zetten tegen de \log_{10} van de IFN- γ -concentratie van de standaarden in IE/ml (x-as), waarbij de nulstandaard niet bij deze berekeningen moet worden betrokken. Bereken de best passende lijn voor de standaardcurve met behulp van regressieanalyse.
3. Gebruik de standaardcurve om de IFN- γ -concentratie (IE/ml) vast te stellen voor elk testplasmamonster met behulp van de OD-waarde van elk monster.

4. Deze berekeningen kunnen worden uitgevoerd met softwarepakketten die bij microtiterplaatlezers worden geleverd en een standaardspreadsheet of statistische software (zoals Microsoft Excel). Het wordt aanbevolen deze pakketten te gebruiken voor het berekenen van de regressieanalyse, de variatiecoëfficiënt (Coefficient of Variation, %CV) van de standaarden en de correlatiecoëfficiënt (r) van de standaardcurve.

Monsterberekening

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

Tabel 2. Standaardcurve

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

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

De validiteit van de assay is bepaald met behulp van de criteria gespecificeerd in 'Kwaliteitscontrole van de test', pagina 26.

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

Tabel 3. Monsterberekening

Antigeen	OD-waarde	Log _(e) OD-waarde	X	e ^x (IE/ml)	Antigeen -Nil (IE/ml)
Nil	0,037	-3,297	-2,934	0,05	–
Ag1	1,161	0,149	1,437	4,21	4,15
Ag2	1,356	0,305	1,634	5,12	5,07
Mitogen	1,783	0,578	1,981	7,25	7,20

IFN- γ -waarden (in IE/ml) voor Ag1, Ag2 en Mitogen zijn gecorrigeerd voor achtergrond door de IE/ml-waarde verkregen uit de respectieve Nil-controle af te trekken. Deze gecorrigeerde waarden zijn gebruikt voor de interpretatie van de testresultaten.

Kwaliteitscontrole van de test

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

De ELISA is geldig als aan het volgende is voldaan:

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

-
- De gemiddelde OD-waarde van de nulstandaard (groene verdunningsoplossing) dient $\leq 0,150$ te zijn. Als de gemiddelde OD-waarde $> 0,150$ is, dient de plaatspoelprocedure te worden gecontroleerd.

De QFN SARS-analysesoftware berekent deze parameters voor kwaliteitscontrole en rapporteert deze.

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

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

Interpretatie van de resultaten

QFN SARS-resultaten worden geïnterpreteerd aan de hand van de volgende criteria (Tabel 4).

Belangrijk: De QFN SARS-assay moet in combinatie met andere laboratoriumtests en epidemiologische/klinische evaluatie worden gebruikt om de immunoreactie van personen vast te stellen na vaccinatie tegen COVID-19.

Tabel 4. Interpretatie van QFN SARS-testresultaten

Nil (IE/ml)	Ag1-antigeen minus Nil (IE/ml)	Ag2-antigeen minus Nil (IE/ml)	Mitogen minus Nil (IE/ml)*	QFN SARS-resultaat	Rapport/interpretatie
≤ 8,0	≥ 0,15 en ≥ 25% van Nil	Elke waarde	Elke waarde	Reactief	<i>SARS-CoV-2-respons gedetecteerd</i>
	Elke waarde	≥ 0,15 en ≥ 25% van Nil			
	< 0,15 of ≥ 0,15 en < 25% van Nil	< 0,15 of ≥ 0,15 en < 25% van Nil	≥ 0,50	Niet-reactief	<i>SARS-CoV-2-respons NIET gedetecteerd</i>
	< 0,15 of ≥ 0,15 en < 25% van Nil	< 0,15 of ≥ 0,15 en < 25% van Nil	< 0,50	Onbepaald [‡]	<i>SARS-CoV-2-respons en Mitogen niet gedetecteerd</i>
> 8,0 [§]	Elke waarde				

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

[‡] Raadpleeg 'Gids voor problemen oplossen', pagina 52 mogelijke oorzaken.

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

Beperkingen

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

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

- Een niet-reactief resultaat moet worden meegewogen in de medische en historische gegevens van de persoon die relevant is voor de kans op een immuunrespons op vaccinatie, met name bij personen met een gebrekkige immuunfunctie.
- De QFN SARS-assay moet in combinatie met andere laboratoriumtests en epidemiologische/klinische evaluatie worden gebruikt om de immuunreactie van personen vast te stellen na vaccinatie tegen COVID-19.

Onbetrouwbare of onbepaalde resultaten kunnen het gevolg zijn van:

- Afwijkingen van de in de gebruiksaanwijzing beschreven procedure
- Onjuist transport/onjuiste hantering van bloedspecimen
- Verhoogde concentraties circulerend IFN- γ of aanwezigheid van heterofiele antilichamen
- Overschrijding van gevalideerde bloedtijden van bloedspecimenafname tot incubatie. Raadpleeg de *Gebruiksaanwijzing van de QFN SARS Blood Collection Tubes* (1124422).

Prestatiekenmerken assay

Analyseprestaties

Grenswaarde van assay

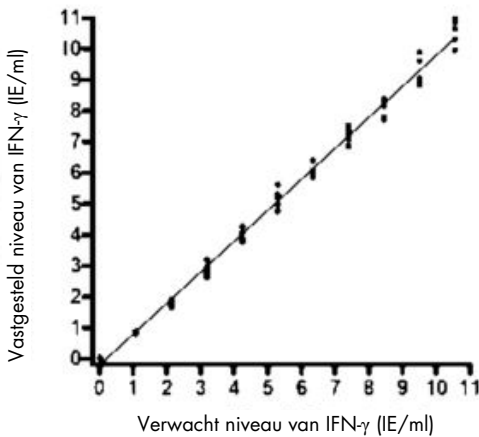
De grenswaarde van de QFN SARS-assay is vastgesteld met behulp van gegevens van twintig (20) proefpersonen die niet-reactief zijn getest op SARS-CoV-2 met een RT-PCR-test of serologietest en twintig (20) donors die volledig waren gevaccineerd (tussen 2 tot 16 weken na volledige vaccinatie) met een door de FDA EUA goedgekeurd vaccin. De data voor gevoeligheid en specificiteit samen met de exacte tweedelige betrouwbaarheidsintervallen van 95% (BI's) zijn geanalyseerd en toonden aan dat de optimale ELISA-grenswaarde 0,15 IE/mL was (zie tabel 5).

Tabel 5. QFN SARS grenswaarden (IE/ml) met overeenkomende gevoeligheid en specificiteit met exacte tweedelige BI van 95%

Grenswaarde	Gevoeligheid			Specificiteit		
	Waarde	Ondergrens 95%-BI	Bovengrens 95%-BI	Waarde	Ondergrens 95%-BI	Bovengrens 95%-BI
0,1	1,000	0,940	1,000	0,933	0,838	0,982
0,15	0,983	0,911	1,000	1,000	0,940	1,000
0,2	0,900	0,795	0,962	1,000	0,940	1,000
0,25	0,733	0,603	0,839	1,000	0,940	1,000
0,3	0,717	0,586	0,825	1,000	0,940	1,000
0,35	0,650	0,516	0,769	1,000	0,940	1,000
0,4	0,600	0,465	0,724	1,000	0,940	1,000
0,45	0,567	0,432	0,694	1,000	0,940	1,000
0,5	0,467	0,337	0,600	1,000	0,940	1,000
0,55	0,433	0,306	0,568	1,000	0,940	1,000
0,6	0,400	0,276	0,535	1,000	0,940	1,000
0,65	0,333	0,217	0,467	1,000	0,940	1,000
0,7	0,317	0,203	0,450	1,000	0,940	1,000
0,75	0,300	0,188	0,432	1,000	0,940	1,000
0,8	0,300	0,188	0,432	1,000	0,940	1,000

Lineariteit

Er is aangetoond dat de QFN SARS ELISA lineair is door 5 replicaten uit 11 plasmagroepen van bekende IFN γ -concentraties willekeurig over de ELISA-plaat te verdelen. De lineaire regressielijn heeft een helling van $1,002 \pm 0,011$ en een correlatiecoëfficiënt van 0,99 (afbeelding 3).



Afbeelding 3. **Illustratie van regressieanalyse uit het lineariteitsonderzoek.**

Reproduceerbaarheid

Een onderzoek naar reproduceerbaarheid is uitgevoerd in meerdere laboratoria om de prestaties van de QFN SARS-assay te beoordelen bij laboratoria met verschillende gebruikers. Dit onderzoek is uitgevoerd op drie laboratoria binnen QIAGEN. In totaal hebben er drie (3) SARS-CoV-2-reactieve en drie (3) SARS-CoV-2-niet-reactieve onderzoeksdeelnemers deelgenomen (resultaten vastgesteld met RT-PCR-test of serologietest).

Er is bloed bij elke onderzoeksdeelnemer afgenomen in vier (4) bloedafnamebuisjes met lithiumheparine. De bloedafnamebuisjes met lithiumheparine zijn vervolgens overgedragen aan een van de laboratoria waar het bloed in aliquot werd verdeeld over drie (3) sets QFN SARS Blood Collection Tubes (QFN SARS Ag1, Ag2, Mitogen en Nil). Eén set van elk van de QFN SARS Blood Collection Tubes (BCT's) is overgebracht naar elk van de laboratoria, waar ze zijn getest in overeenstemming met de QFN SARS-assayprocedure. Elk proefpersoon werd getest met tien (10) replicaten (vijf (5) replicaten voor Ag1 en vijf (5) replicaten voor Ag2) in elk laboratorium. In elk laboratorium voerde één (1) gebruiker de QFN SARS-test onafhankelijk uit. Elke gebruiker was niet op de hoogte (geblindeerd) van de resultaten die door de andere gebruikers zijn verkregen en waren onbekend met de RT-PCR-testresultaten of de serologietestresultaten van de onderzoeksdeelnemer.

Er zijn 30 resultaten bij elk van de drie (3) testlaboratoria gegenereerd. Het totale aantal datapunten kwam uit op 90. Een overzicht van het reproduceerbaarheidsonderzoek is weergegeven in tabel 6.

Tabel 6. Overzicht reproduceerbaarheid onderzoeksresultaten – N = 30 patiëntmonsters

Laboratorium 1; 1 gebruiker	Laboratorium 2; 1 gebruiker	Laboratorium 3; 1 gebruiker
25/30 = 83%	30/30 = 100%	30/30 = 100%
Overeengekomen kwalitatieve resultaten	Overeengekomen kwalitatieve resultaten	Overeengekomen kwalitatieve resultaten

Het percentage totale overeenstemming bij alle reactieve en niet-reactieve monsters ten opzichte van de verwachte kwalitatieve resultaten was $\geq 94,4\%$ (85/90) bij alle drie (3) de laboratoria (waarbij een reactieve proefpersoon een reactief resultaat opleverde, en een niet-reactieve proefpersoon een niet-reactief resultaat op basis van het resultaat van de referentiemethode).

Herhaalbaarheid tussen partijen

Er is een onderzoek uitgevoerd om de variabiliteit tussen partijen vast te stellen voor QFN SARS Blood Collection Tubes. In totaal zijn er twee (2) SARS-CoV-2-reactieve en drie (3) SARS-CoV-2-niet-reactieve onderzoeksdeelnemers getest (resultaten vastgesteld met RT-PCR-test of serologietest). Drie (3) afzonderlijke partijen met elk de QFN SARS Ag1 en Ag2 Blood Collection Tubes zijn gebruikt voor dit onderzoek. Vijf (5) replicaten per donor per partij bloedafnamebuisjes zijn getest. Een overzicht van de nauwkeurigheidresultaten tussen partijen is weergegeven in tabel 7.

Tabel 7. Overzicht resultaten nauwkeurigheidsonderzoek tussen partijen - Percentage totale overeenstemming voor de QFN SARS Ag1 en Ag2 bloedafnamebuisjes; N = 25

QFN SARS BCT	BCT-lotnummer	Aantal kwalitatieve resultaten in overeenstemming/totale resultaten	Proportie	Onderste betrouwbaarheidslimiet	Bovenste betrouwbaarheidslimiet
Ag1	1	25/25	100,00%	86,28%	100,00%
	2	25/25	100,00%	86,28%	100,00%
	3	25/25	100,00%	86,28%	100,00%
Ag2	1	25/25	100,00%	86,28%	100,00%
	2	25/25	100,00%	86,28%	100,00%
	3	25/25	100,00%	86,28%	100,00%

Het percentage totale overeenstemming bij alle reactieve en niet-reactieve monsters ten opzichte van de verwachte resultaten was $\geq 100\%$ bij alle drie (3) de partijen BCT's met QFN SARS Ag1 en Ag2 (waarbij een reactieve proefpersoon een reactief resultaat opleverde, en een niet-reactieve proefpersoon een niet-reactief resultaat op basis van het resultaat van de referentiemethode).

Blancolimiet (Limit of Blank, LoB)

De blancolimiet (Limit of Blank, LoB) is beoordeeld voor de QFN SARS-assay. Twee (2) replicaten van elk veertien (14) afzonderlijke normale menselijke plasmamonsters (als de blanco's) zijn getest met twee (2) partijen van de QFN SARS ELISA door drie (3) gebruikers of drie (3) testdagen, één (1) gebruiker per testdag voor een totaal van 84 replicaten van elke ELISA-kitpartij.

De LoB-waarden (IE/ml) voor de twee (2) ELISA-kitpartijen zijn afzonderlijk berekend zoals weergegeven in tabel 8.

Tabel 8. LoB-waarden (IE/ml) voor de twee (2) QFN SARS ELISA-kitpartijen

QFN SARS ELISA Kit	Geschatte LoB (IE/ml)
Kit 1	0,030
Kit 2	0,040

De hogere LoB-waarde, 0,040 IE/ml, voor beide QFN SARS ELISA-kitpartijen, is gerapporteerd als de definitieve LoB-waarde.

Detectielimiet (Limit of Detection, LoD)

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

De LoD-waarde voor elk van de geteste QFN SARS ELISA-kitpartijen is afzonderlijk berekend zoals weergegeven in tabel 9. De LoD is geschat met behulp van een probit-regressiemodel. De LoD is gebaseerd op de geschatte concentratie (IE/ml) die een geschatte kans van 95% gaf voor het verkrijgen van een succespercentage hoger dan 0,04 IE/ml (bepaald door de LoB).

Tabel 9. Geschatte LoD-waarden (IE/ml) voor de twee (2) QFN SARS ELISA-kitpartijen

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

De hogere LoD-waarde berekend voor beide QFN SARS ELISA-kitpartijen, 0,065 IE/ml, is gerapporteerd als de definitieve LoD-waarde.

Interfererende stoffen

Er is een onderzoek uitgevoerd om de effecten van mogelijke stoffen met een versturende werking op de prestaties van de QFN SARS ELISA-detectie van IFN- γ vast te stellen. De interfererende stoffen gebruikt voor deze test zijn: triglyceriden (totaal), hemoglobine, eiwit (totaal serum), bilirubine (geconjugeerd), bilirubine (onconjugeerd), abacavirsulfaat, cyclosporine en prednisolon. Vijf (5) plasmagroepen waarvan de concentraties IFN- γ bekend waren, zijn voorbereid met behulp van verschillende concentraties interfererende stoffen. De waarde van de basisgroep IFN- γ is vooraf voorbereid met een vooraf vastgestelde hoeveelheid IFN- γ (ongeveer 0,21, 0,45 en 1,4 IE/ml). De groep is vervolgens gebruikt om de groepen met interfererende stoffen voor te bereiden. Er zijn vijf verschillende concentratiewaarden interfererende stoffen getest. Ze zijn gebaseerd op referentie-intervallen, pathologische waarden, therapeutische bereiken en giftigheidsbereiken of zoals aanbevolen door leveranciers of algemene klinische waarden. Zes (6) replicaten zijn getest voor elke monsterconcentratiewaarde interfererende stoffen.

Voor elke monsterconcentratie is een T-test uitgevoerd, waarbij het verschil in gemiddelde log₁₀ (IE/ml) van de hoge waarde interfererende stof (10) is vergeleken met de controle (m.a.w. waarde zonder interfererende stof). Het geschatte verschil in gemiddelde respons, samen met de overeenstemmende tweedelige 95%-betrouwbaarheidslimieten en p-waarde staat vermeld in de tabel.

Tabel 10. Log10 IE/ml: Tabel met overzicht t-toets voor verschillen in gemiddelden tussen controle en hoge waarde interfererende stof voor elke interfererende stof en concentratiewaarde IFN- γ

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

Vervolg tabel op de volgende pagina

Vervolgde tabel van de vorige pagina

Tabel 10. Log₁₀ IE/ml: Tabel met overzicht t-toets voor verschillen in gemiddelden tussen controle en hoge waarde interfererende stof voor elke interfererende stof en concentratiewaarde IFN- γ

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

De resultaten toonden geen statistisch significante verschillen tussen de hoogste geteste concentratiewaarde interfererende stof en de controle (waarde zonder interfererende stof), behalve voor de concentratiewaarde triglyceride 0,45 IE/ml. Het gemiddelde verschil voor deze waarde werd vastgesteld binnen ± 2 standaarddeviaties van de gemiddelde controleniveaumeting, wat aantoonde dat het waargenomen verschil binnen de verwachte variabiliteit van het assay is en dat klinisch relevante niveaus van triglyceride naar verwachting de QFN SARS ELISA niet beïnvloeden.

Klinische prestaties

De klinische prestaties van het QFN SARS-assay werden geëvalueerd in een prospectief observatieonderzoek dat werd uitgevoerd van juni tot oktober 2021 met proefpersonen zonder geschiedenis van SARS-CoV-2-infectie die de vaccinatie tegen COVID-19 hebben ontvangen met vaccins die zich op de viruseiwitten (S) van het SARS-CoV-2-virus richten, en met proefpersonen zonder geschiedenis van SARS-CoV-2-infectie die geen vaccinatie tegen COVID-19 hebben ontvangen.

Proefpersonen die toestemden met deelname werden geëvalueerd aan de hand van inclusie- en exclusiecriteria voor het onderzoek en alleen proefpersonen die voldeden aan alle inclusiecriteria maar geen van de exclusiecriteria hebben deelgenomen en bloedafname voor QFN SARS ondergaan.

Hieronder staat een overzicht van de deelnemende populatie:

- Groep 1: Omvatte proefpersonen zonder geschiedenis van natuurlijke SARS-CoV-2-infectie, die ten tijde van bloedafname voor QFN SARS geen vaccinatie tegen COVID-19 hadden ontvangen, die nooit positief waren getest op SARS-CoV-2-infectie, die een niet-reactief serologietestresultaat hadden en die geen tekenen of symptomen van COVID-19 hadden binnen een periode van 4 weken vooraf deelname.
- Groep 2: Omvatte proefpersonen zonder geschiedenis van SARS-CoV-2-infectie, die ten tijde van bloedafname voor QFN SARS een vaccinatie tegen COVID-19 die zich richt op de viruseiwitten (S) van SARS-CoV-2 hadden ontvangen en nooit positief waren getest op SARS-CoV-2-infectie.
- Geen van de proefpersonen had een transplantatie (organen of cellen) en/of behandeling voor kanker ondergaan ten tijde van deelname aan het onderzoek.

In totaal namen 218 proefpersonen deel in groep 1 en 171 in groep 2. Na bloedafname voor QFN SARS bleek dat vier proefpersonen in groep 1 niet in aanmerking kwamen vanwege een reactief serologietestresultaat met een monster dat werd afgenomen bij hetzelfde bezoek als bloedafname voor QFN SARS, en werden derhalve uitgesloten van analyse.

Monsters werden afgenomen, de QFN SARS-bloedafnamebuisjes werden verwerkt en plasma werd opgeslagen bij ≤ -20 °C tot ze gereed waren voor tests met de QFN SARS ELISA. Alle testen met QFN SARS ELISA-platen waren geldig en er werden geen onbepaalde resultaten verkregen, wat resulteerde in 214 en 171 evalueerbare monsters in groepen 1 en 2 respectievelijk.

Demografische gegevens

Het aantal monsters dat werd verzameld in elk land en het totaalpercentage voor elke onderzoeksgroep worden weergegeven in tabel 11.

Tabel 11. Overzicht van land van monsterafname

Land van monsterafname	Groep 1		Groep 2	
	N	%	N	%
Nederland	214	100,00%	153	89,47%
VS	0	0,00%	18	10,53%

Een overzicht van de leeftijd van de proefpersonen, waaronder gemiddelde, mediane, minimale en maximale leeftijd en standaardafwijking (SD) van leeftijd wordt weergegeven in tabel 12.

Tabel 12. Overzicht van leeftijd proefpersoon (jaren)

N	Gemiddelde	Mediaan	SD	Minimum	Maximum
385	40,47	37,00	14,168	18,00	80,00

In tabel 13 wordt een overzicht gegeven van het geslacht van proefpersonen.

Tabel 13. Overzicht van geslacht proefpersoon

Geslacht	N	%
Vrouwen	234	60,78%
Mannen	151	39,22%

Specificiteit

De klinische overeenstemming waarbij QFN SARS-resultaten worden vergeleken met de resultaten van de referentiemethode wordt weergegeven in tabel 14.

Tabel 14. Klinische overeenstemming: QFN SARS-resultaat vs referentiemethode

		Resultaat referentiemethode		Totaal
		Groep 1 (- vacc., -infectie)	Groep 2 (+ vacc., -infectie)	
QFN SARS- resultaat	Niet-reactief	199	34	233
	Reactief	15	137	152
Totaal		214	171	385

Bij de ongevaccineerde proefpersonen (groep 1) testten 199 van 214 niet-reactief met QFN SARS en de overige 15 testten reactief. Bij de gevaccineerde proefpersonen (groep 2) testten 137 van 171 reactief met QFN SARS en de overige 34 testten niet-reactief. Geen van de

15 en 34 afwijkende monsters in groep 1 en 2 respectievelijk heeft aanvullende testen ondergaan met een afwijkende methode.

Het percentage negatieve overeenstemming (Negative Percent Agreement, NPA) (specificiteit) werd berekend voor ongevaccineerde proefpersonen (groep 1), samen met de exacte tweedelige betrouwbaarheidsinterval (BI) van 95%, en wordt weergegeven in tabel 15.

Tabel 15. Percentage negatieve overeenstemming (specificiteit)

Nr. groep	NPA (specificiteit)	95%-BI
Groep 1 (-vax, -infectie)	92,99% (199/214)	88,70–96,02%

Gevoeligheid

Het percentage positieve overeenstemming (Positive Percentage Agreement, PPA) (gevoeligheid) is berekend voor gevaccineerde proefpersonen (groep 2) samen met de exacte tweedelige BI van 95%, en wordt weergegeven in tabel 16.

Tabel 16. Percentage positieve overeenstemming (gevoeligheid)

Nr. groep	PPA (gevoeligheid)	95%-BI
Groep 2 (+vax, -infectie)	80,12% (137/171)	73,34-85,82%

Percentage positieve overeenstemming op leeftijd

Voor gevaccineerde proefpersonen (groep 2) is het percentage positieve overeenstemming gestratificeerd op leeftijd < 60 en ≥ 60 jaar en wordt weergegeven in tabel 17.

Tabel 17. Percentage positieve overeenstemming op leeftijd van < 60 en ≥ 60 jaar

Leeftijdgebied (jaren)	PPA (gevoeligheid)	95%-BI
< 60	85,33% (128/150)	78,78-90,64%
≥ 60	42,86% (9/21)	21,82-65,98%

Percentage positieve overeenstemming per vaccinatie tegen COVID-19

Voor gevaccineerde proefpersonen (groep 2) is het percentage positieve overeenstemming gestratificeerd op ontvangen vaccinatie tegen COVID-19 en wordt weergegeven in tabel 18.

Tabel 18. Percentage positieve overeenstemming per vaccinatie tegen COVID-19

Vaccin	PPA (gevoeligheid)	95%-BI
Astra Zeneca	62,50% (5/8)	24,49-91,48%
Janssen (Johnson & Johnson)	86,67% (13/15)	59,54-98,34%
Moderna	77,27% (17/22)	54,63-92,18%
Pfizer - BioNTech	80,95% (102/126)	73,00-87,40%

Factoren die zijn gekoppeld aan niet-reactieve resultaten bij gevaccineerde proefpersonen

Om te bepalen of toenemende leeftijd, moment van afronding van de vaccinatie tegen COVID-19, moment van ontvangen van de vaccinatie en geslacht gekoppeld zijn aan niet-reactieve resultaten bij gevaccineerde proefpersonen (groep 2), is een univariate logistische regressieanalyse uitgevoerd. De toewijzing tussen elke factor en niet-reactieve resultaten is berekend voor odds ratio (OR) en de resultaten worden weergegeven in tabel 19.

Tabel 19. Toewijzing tussen factoren en niet-reactieve resultaten bij gevaccineerde proefpersonen

Factor		OR (95% BI)	p-waarde
Leeftijd (jaren)		1,08 (1,05-1,12)	< 0,001
Tijd tussen vaccinatie en QFN SARS-bloedafname (dagen)		1,02 (1,01-1,03)	< 0,001
Vaccin	Pfizer – BioNTech	1	–
	Astra Zeneca	2,55 (0,57-11,42)	0,221
	Janssen (Johnson & Johnson)	0,65 (0,14-3,09)	0,592
	Moderna	1,25 (0,42-3,72)	0,689
Geslacht	Vrouwen	1	–
	Mannen	1,25 (0,59-2,65)	0,565

De enige factoren die nauw verbonden waren aan niet-reactieve resultaten bij gevaccineerde proefpersonen waren leeftijd en moment van vaccinatie.

Omdat het onderzoek is uitgevoerd in landen waar het vaccin tegen COVID-19 eerst beschikbaar was voor oudere personen, heeft leeftijd mogelijk invloed gehad op de toewijzing tussen het moment van vaccinatie en niet-reactieve resultaten. Tabel 20 toont de regressieanalyse met leeftijd als covariantie.

Tabel 20. Toewijzing tussen factoren en niet-reactieve resultaten beheerst voor leeftijd

Factor		OR (95% BI)	p-waarde
Leeftijd (jaren)		1,07 (1,03-1,11)	< 0,001
Tijd tussen vaccinatie en QFN SARS-bloedafname (dagen)		1,01 (1,00-1,02)	0,214

Als leeftijd beheerst is, is de toewijzing tussen moment van vaccinatie en niet-reactieve resultaten niet langer belangrijk; leeftijd bleef echter wel nauw hieraan verbonden.

Referenties

1. Goletti D., Petrone L, Manissero D, Bertoletti A, Rao S, Ndunda N, et al. The potential clinical utility of measuring SARS-CoV-2-specific T-cell responses. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2021 Jul [cited 2021 Jul 13];0(0). Available from: <http://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198743X21003785/fulltext>
2. Petrone L., Petruccioli E, Vanini V, Cuzzi G, Najafi Fard S, Alonzi T, et al. A whole blood test to measure SARS-CoV-2-specific response in COVID-19 patients. *Clin Microbiol Infect*. 2021
3. Petrone L., Petruccioli E, Vanini V, Cuzzi G, Gualano G, Vittozzi P, et al. Coinfection of tuberculosis and COVID-19 limits the ability to in vitro respond to SARS-CoV-2. *Int J Infect Dis*. 2021
4. Shrotri M., van Schalkwyk MCI, Post N, Eddy D, Huntley C, Leeman D, et al. T cell response to SARS-Cov-2 infection in humans: A systematic review. *PLoS ONE*. 2021
5. Alessandra D’Abramo, Serena Vita, Gaetano Maffongelli, Andrea Mariano , Chiara Agrati , Concetta Castilletti ,Delia Goletti, Giuseppe Ippolito, Emanuele Nicastrì SC-19 CIT. Prolonged and severe SARS-CoV-2 infection inpatients under B-cell-depleting drug successfully treated: A tailored approach. *Int J Infect Dis*. 2021;(107):247–50
6. Soresina A, Moratto D, Chiarini M, Paolillo C, Baresi G, Focà E, et al. Two X-linked agammaglobulinemia patients develop pneumonia as COVID-19 manifestation but recover. *Pediatr Allergy Immunol*. 2020
7. Quinti I, Lougaris V, Milito C, Cinetto F, Pecoraro A, Mezzaroma I, et al. A possible role for B cells in COVID-19? Lesson from patients with agammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol*. 2020

8. Geers D, Shamier MC, Bogers S, den Hartog G, Gommers L, Nieuwkoop NN, et al. SARS-CoV-2 variants of concern partially escape humoral but not T-cell responses in COVID-19 convalescent donors and vaccinees. *Sci Immunol* [Internet]. 2021 May 1 [cited 2021 Jun 30];6(59). Available from: <http://immunology.sciencemag.org/>
9. Alter G, Yu J, Liu J, Chandrashekar A, Borducchi EN, Tostanoski LH, McMahan K, Jacob-Dolan C, Martinez DR, Chang A, Anioke T, Lifton M, Nkolola J, Stephenson KE, Atyeo C, Shin S, Fields P, Kaplan I, Robins H, Amanat F, Krammer F, Baric RS, Le Gars M, Sado BD. Immunogenicity of Ad26.COV2.S vaccine against SARS-CoV-2 variants in humans. *Nature*. 2021
10. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science* (80-) [Internet]. 2021 Feb 5 [cited 2021 Jun 30];371(6529). Available from: <https://doi.org/10.1126/science.abf4063>
11. Chavarot N, Ouedrani A, Marion O, Lereuz-Ville M, Villain E, Baaziz M, et al. Poor Anti-SARS-CoV-2 Humoral and T-cell Responses After 2 Injections of mRNA Vaccine in Kidney Transplant Recipients Treated with Belatacept. *Transplantation* [Internet]. 2021 Apr 8 [cited 2021 Jul 1];2. Available from: https://journals.lww.com/transplantjournal/Fulltext/9000/Poor_Anti_SARS_CoV_2_Humoral_and_T_cell_Responses.95281.aspx
12. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, Strålin K, Gorin JB, Olsson A, et al. Robust T Cell Immunity in Convalescent Individuals with Asymptomatic or Mild COVID-19. *Cell*. 2020
13. Alberto M. Borobia, Antonio J Carcas, Mayte Pérez-Olmeda, Luis Castaño, María Jesús Bertran, Javier García-Pérez, Magdalena Campins, Antonio Portolés, María González-Pérez, María Teresa García Morales, Eunáte Arana-Arri, Marta Aldea, Francisco Díez-Fuerte CSG. Immunogenicity and reactogenicity of BNT162b2 booster in ChAdOx1-S-primed participants (CombiVacS): a multicentre, open-label, randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2021

14. Mónica Martínez-Gallo, Juliana Esperalba-Esquerria, Ricardo Pujol-Borrell, Victor Sandá, Iria Arrese-Muñoz, Candela Fernández Naval, Andrés Antón Pagarolas, Victoria Cardona, Moisés Labrador-Horrillo, Tomás Pumarola-Suñé MH-G. T-cell responses as a correlate of COVID-19 vaccination. A pilot study in Health Care Workers
15. Van Praet JT, Vandecasteele S, De Roo A, De Vriese AS, Reynders M. Humoral and cellular immunogenicity of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine in nursing home residents. *Clin Infect Dis.* 2021
16. Pedersen RM, Tornby DS, Bistrup C, Johansen IS, Andersen TE JU. Negative SARS-CoV-2 antibodies, T cell response and virus neutralization following full vaccination in a renal transplant recipient: a call for vigilance. *Clin Microbiol Infect.* 2021
17. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell.* 2020
18. Rydyznski Moderbacher C, Ramirez SI, Dan JM, Grifoni A, Hastie KM, Weiskopf D, et al. Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity. *Cell.* 2020
19. Tan AT, Linster M, Tan CW, Le Bert N, Chia WN, Kunasegaran K, et al. Early induction of functional SARS-CoV-2-specific T cells associates with rapid viral clearance and mild disease in COVID-19 patients. *Cell Rep.* 2021
20. Aiello A, Najafi Fard S, Petruccioli E, Petrone L, Vanini V, Farroni C, et al. Spike is the most recognized antigen in the whole-blood platform in both acute and convalescent COVID-19 patients. *Int J Infect Dis.* 2021
21. Soumya Jaganathan, Francis Stieber, Sonia N. Rao, Vladyslav Nikolayevskyy, Nadia Allen, Jeff Boyle JH. Preliminary Evaluation of QuantiFERON SARS-CoV-2 and QIAreach Anti-SARS-CoV-2 Total Test in Recently Vaccinated Individuals. 2021

-
22. Zheng M, Gao Y, Wang G, Song G, Liu S, Sun D, et al. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cellular and Molecular Immunology*. 2020
 23. Aid M, Busman-Sahay K, Vidal SJ, Maliga Z, Bondoc S, Starke C, et al. Vascular Disease and Thrombosis in SARS-CoV-2-Infected Rhesus Macaques. *Cell*. 2020
 24. Kuri-Cervantes L, Pampena MB, Meng W, Rosenfeld AM, Ittner CAG, Weisman AR, et al. Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19. *Sci Immunol*. 2020
 25. Lucas C, Wong P, Klein J, Castro TBR, Silva J, Sundaram M, et al. Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature*. 2020
 26. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, Beckmann ND, Nirenberg S, Wang B, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nat Med*. 2020
 27. Peng Y, Mentzer AJ, Liu G, Yao X, Yin Z, Dong D, et al. Broad and strong memory CD4+ and CD8+ T cells induced by SARS-CoV-2 in UK convalescent individuals following COVID-19. *Nat Immunol*. 2020
 28. Sattler A, Angermair S, Stockmann H, Heim KM, Khadzhynov D, Treskatsch S, et al. SARS-CoV-2-specific T cell responses and correlations with COVID-19 patient predisposition. *J Clin Invest*. 2020
 29. Mathew D, Giles JR, Baxter AE, Greenplate AR, Wu JE, Alanio C, et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals patient heterogeneity and distinct immunotypes with implications for therapeutic interventions. *bioRxiv Prepr Serv Biol*. 2020
 30. Chen Z, John Wherry E. T cell responses in patients with COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2020

-
31. Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, Angus B, Becker S, Belij-Rammerstorfer S, et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 2020
 32. Sahin U, Muik A, Derhovanessian E, Vogler I, Kranz LM, Vormehr M, et al. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses. *Nature*. 2020
 33. Ryu MR, Park MS, Cho EH, Jung CW, Kim K, Kim SJ, et al. Comparative evaluation of quantiFERON-TB gold in-tube and quantiFERON-TB gold plus in diagnosis of latent tuberculosis infection in immunocompromised patients. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2021 Jul 1];56(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30135226/>
 34. Petruccioli E, Vanini V, Chiacchio T, Cuzzi G, Cirillo DM, Palmieri F, et al. Analytical evaluation of QuantiFERON- Plus and QuantiFERON- Gold In-tube assays in subjects with or without tuberculosis. *Tuberculosis*. 2017

Gids voor problemen oplossen

Deze gids voor problemen oplossen kan helpen bij het oplossen van eventuele problemen. Raadpleeg ook de pagina Veelgestelde vragen (Frequently Asked Questions, FAQ) in ons centrum voor technische ondersteuning voor meer informatie: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. De wetenschappers van de technische diensten van QIAGEN beantwoorden graag al uw vragen over de informatie en/of protocollen in deze handleiding of over test- en assaytechnieken (kijk op www.qiagen.com voor contactgegevens).

Opmerkingen en suggesties

Problemen met ELISA oplossen

Niet-specifieke kleurreactie

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

Opmerkingen en suggesties

Aflezingen van lage optische dichtheden voor standaarden

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

Sterke achtergrondkleuring

- | | |
|--------------------------------------|--|
| a) Onvolledige spoeling van de plaat | Spoel de plaat minstens 6 maal met 400 μl spoelbuffer per putje. Er zijn mogelijk meer dan zes spoelcycli vereist. Er dient een inweektijd van minstens 5 seconden tussen de cycli te worden aangehouden. |
| b) Te hoge incubatietemperatuur | Incubatie van de ELISA moet worden uitgevoerd bij kamertemperatuur ($22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$). |

Opmerkingen en suggesties














- c) Kit/onderdelen over de vervaldatum Zorg dat de kit binnen de vervaldatum wordt gebruikt. Zorg dat gereconstitueerde standaard en conjugaatconcentraat 100X binnen drie maanden na de reconstitutedatum worden gebruikt.
- d) Enzymsubstraatoplossing is verontreinigd Gooi het substraat weg indien blauwkleuring optreedt. Zorg voor schone reservoirs voor de reagentia.





Niet-lineaire standaardcurve en dubbele variabiliteit

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

Symbolen

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

Symbol	Symbooldefinitie
	Bevat voldoende reagentia voor <N> reacties
	Uiterste gebruiksdatum
	In-vitrodiagnostisch medisch hulpmiddel
	Catalogusnummer
	Partijnummer
	Materiaalnummer (m.b.t. labeling van componenten)
	Bestanddelen
	Bevat
	Nummer
	Global Trade Item Number (Artikelnummer wereldhandel)
	Bevoegde vertegenwoordiger
	'R' staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing; 'n' is het revisienummer
	Temperatuurbepering

Symbool	Symbooldefinitie
	Fabrikant
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	Verwijderd houden van zonlicht
	Waarschuwing/voorzichtig

Contactgegevens

Neem voor technische ondersteuning en aanvullende informatie contact op met ons centrum voor technische ondersteuning via **www.qiagen.com/Support**. U kunt ook bellen naar 00800-22-44-6000 of contact opnemen met de afdeling technische diensten van QIAGEN of de plaatselijke distributeur (zie achterzijde of ga naar www.qiagen.com).

Bijlage A: Technische informatie

Onbepaalde resultaten

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

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

Gestolde plasmamonsters

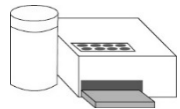
Indien bij een langduriger opslag van de plasmamonsters fibrinestolsels optreden, moeten de monsters worden gecentrifugeerd totdat sedimentatie heeft plaatsgevonden. Dit vereenvoudigt het pipetteren van plasma.

Lipoedeemplasmamonsters

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

Bijlage B: Verkorte ELISA-testprocedure

1. Laat de ELISA-onderdelen, met uitzondering van het conjugaatconcentraat 100x, minstens 60 minuten op kamertemperatuur komen.
2. Reconstitueer de kitstandaard naar 8,0 IE/ml met gedestilleerd of gedeïoniseerd water. Bereid vier (4) standaardverduunningen voor.
3. Reconstitueer gevriesdroogd conjugaatconcentraat 100x met gedestilleerd of gedeïoniseerd water.
4. Bereid gebruiksklare conjugaat in groene verdunningsoplossing voor en voeg 50 µl aan alle putjes toe.
5. Voeg 50 µl testplasmamonsters en 50 µl standaard aan de betreffende putjes toe. Meng met behulp van de schudder.
6. Incubeer gedurende 120 minuten op kamertemperatuur.
7. Spoel de putjes minstens 6 maal met 400 µl spoelbuffer per putje.
8. Voeg 100 µl enzymsubstraatoplossing aan alle putjes toe. Meng met behulp van de schudder.



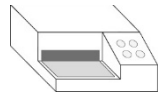
9. Incubeer gedurende 30 minuten op kamertemperatuur.



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



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



12. Analyseer de resultaten.



Bestelgegevens

Product	Inhoud	Cat.nr.
QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) ELISA Kit	ELISA-kit met 2 platen	626420
Verwante producten		
QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes	200 buisjes (50 van elk Nil, Ag1, Ag2 en Mitogen)	626725

Raadpleeg de handleiding of gebruiksaanwijzing van de betreffende QIAGEN-kit voor actuele informatie over licenties en productspecifieke vrijwaringsclausules. Handleidingen en gebruikershandleidingen van QIAGEN-kits zijn verkrijgbaar via www.qiagen.com of kunnen worden aangevraagd bij de technische diensten van QIAGEN of bij uw plaatselijke distributeur.

Revisiegeschiedenis van document

Datum	Beschrijving
R1, oktober 2021	Eerste uitgave
R2, november 2021	De hoofdstukken Prestatiekenmerken en Klinische prestaties bijgewerkt
R3, april 2022	Het hoofdstuk Analytische prestatiekenmerken bijgewerkt voor interfererende stoffen

Deze pagina is met opzet leeg gelaten.

Deze pagina is met opzet leeg gelaten.

Deze pagina is met opzet leeg gelaten.

Beperkte licentieovereenkomst voor QuantiFERON® SARS-CoV-2(QFN SARS) ELISA Kit

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

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

Raadpleeg www.qiagen.com voor bijgewerkte licentievoorwaarden.

Handelsmerken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (QIAGEN Group) Proclin®. De gedeponeerde namen, handelsmerken, etc. die in dit document worden gebruikt, moeten altijd als wettelijk beschermd worden beschouwd, zelfs als ze niet specifiek als zodanig zijn aangegeven.

04-22 1124420 © 2022 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

