



Febbraio 2024

Riepilogo di sicurezza e prestazioni di QuantiFERON[®]-TB Gold Plus ELISA Kit



2 x 96 (622120)

Versione 1

IVD

Per uso diagnostico in vitro

Per l'uso con QuantiFERON[®]-TB Gold Plus Blood Collection Tubes

CE₀₁₉₇

REF

622120



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germania

R2 **MAT**

Riepilogo di sicurezza e prestazioni

Il presente Riepilogo di sicurezza e prestazioni (SSP) ha lo scopo di fornire accesso pubblico a una sintesi aggiornata dei principali aspetti relativi alla sicurezza e alle prestazioni del dispositivo.

Il presente SSP non intende sostituire le Istruzioni per l'uso come documento principale per garantire l'uso sicuro del dispositivo, né intende fornire suggerimenti diagnostici o terapeutici agli utenti previsti.

Le seguenti informazioni sono destinate agli utenti professionali.

Revisione del documento: Rev. 02

Data di pubblicazione: Febbraio 2024 Rev.02

Numero di riferimento del produttore per l'SSP: n/a

1. Informazioni generali e di identificazione del dispositivo	
1.1 Denominazione/i commerciale/i del dispositivo	<p>Tecnologia QuantiFERON-TB di quarta generazione</p> <p>QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) 622120 QuantiFERON-TB Gold Plus 2 Plate Kit ELISA 622822 QuantiFERON-TB Gold Plus Reference Lab Pack</p> <p>QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes 622423 QFT-Plus Dispenser Pack (25 provette) 622526 QFT-Plus Tubes (50x TB1/TB2/Nil/Mitogen) 622222 QFT-Plus Single Patient Pack (confezione da 10) 623423 QFT-Plus HA Dispenser Pack (25 provette) 623526 QFT-Plus HA tubes (50x TB1/TB2/Nil/Mitogen) 623222 QFT-Plus HA Single Patient Pack (confezione da 10)</p>
1.2 Nome e indirizzo del produttore	<p>QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Germania</p>
1.3 Numero di registrazione unico (single registration number, SRN) del produttore	DE-MF-000004949
1.4 UDI-DI di base	<p>4053228RTBQFT0000000001W8 (QFT ELISA)</p> <p>4053228RTBQFT0000000002WA (provette QFT)</p>
1.5 Descrizione/testo della nomenclatura europea dei dispositivi medici (European Medical Device Nomenclature, EMDN)	<p>Codice EMDN (5° livello) W01050107, GENERE + SPECIE MICOBATTERI (QFT ELISA)</p> <p>Codice EMDN (5° livello) W05010101, DISPOSITIVI PER LA RACCOLTA DEL SANGUE PER VIA VENOSA O ARTERIOSA (provette QFT)</p>
1.6 Classe di rischio del dispositivo	Classe C

1.7 Indicare se si tratta di un dispositivo per test presso il paziente e/o di diagnostica di accompagnamento	QuantiFERON®-TB Gold Plus non è un dispositivo per test presso il paziente né di diagnostica di accompagnamento.
1.8 Anno in cui è stato rilasciato il primo certificato ai sensi del Regolamento (UE) 2017/746 relativo al dispositivo	QuantiFERON-TB Gold Plus è stato certificato ai sensi del Regolamento UE 2017/746 nel 2023.
1.9 Rappresentante autorizzato, se applicabile; nome e SRN	Non applicabile
1.10 Organismo notificato e numero di identificazione (single identification number, SIN)	TÜV Rheinland LGA Products GmbH Tillystraße 2 90431 Nürnberg Germania TÜV: 0197
2. Uso previsto del dispositivo	
2.1 Scopo previsto	L'esame QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) è un test diagnostico <i>in vitro</i> che utilizza un cocktail peptidico che simula le proteine ESAT-6 e CFP-10 per stimolare le cellule nel sangue intero eparinizzato. La rilevazione dell'interferone-gamma (IFN- γ) mediante ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, esame immuno-assorbente legato agli enzimi) consente di identificare le risposte <i>in vitro</i> agli antigeni peptidici associati all'infezione da <i>Mycobacterium tuberculosis</i> . QFT-Plus è un test indiretto per la rilevazione dell'infezione da <i>M. tuberculosis</i> (patologia compresa) ed è destinato all'uso in associazione con la valutazione del rischio, le radiografie e altre indagini medico-diagnostiche.

<p>2.2 Indicazione/i e popolazione/i target</p>	<p>La conduzione del test per l'infezione tubercolare latente (LTBI) è auspicabile qualora praticabile per identificare le persone ad alto rischio di sviluppare la TB attiva, in modo da poter prendere in considerazione un trattamento preventivo della TB. In base alle raccomandazioni dell'OMS (https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/331170/9789240001503-eng.pdf), il test per l'LTBI è richiesto per i gruppi ad alto rischio, ivi inclusi, a titolo esemplificativo, coloro che vivono a contatto con casi di età superiore ai 5 anni, i pazienti con silicosi, quelli in emodialisi, in trattamento con agenti anti-TNF, in preparazione al trapianto e altri gruppi a rischio secondo le linee guida nazionali.</p>
<p>2.3 Limitazioni e/o controindicazioni</p>	<ul style="list-style-type: none"> • I risultati del test QFT-Plus devono essere utilizzati tenendo conto della storia epidemiologica, dello stato clinico attuale e di altre valutazioni diagnostiche relative a ogni paziente. • I pazienti con valori Nil maggiori di 8 UI/ml sono classificati come "Indeterminati" in quanto una risposta più alta del 25% agli antigeni TB potrebbe non rientrare nell'intervallo di misurazione dell'esame. • Il valore predittivo di un risultato del QFT-Plus positivo nella diagnosi di infezioni da <i>M. tuberculosis</i> dipende dalla probabilità di infezione, valutata da dati storici, epidemiologici, diagnostici e di altro tipo. • Una diagnosi di LTBI richiede l'esclusione della malattia tubercolare attraverso una valutazione medica che includa una valutazione dei test medici e diagnostici attuali per la malattia, secondo le indicazioni. • Un risultato negativo deve essere considerato con i dati medici e storici dell'individuo relativi alla probabilità di infezione da <i>M. tuberculosis</i> e al potenziale rischio di progressione in tubercolosi conclamata, in particolare per gli individui con funzione immunitaria compromessa. • Risultati inattendibili o indeterminati possono verificarsi a causa di deviazioni dalla procedura descritta nel foglietto illustrativo o Trasporto/manipolazione scorretti dei campioni di sangue.

	<ul style="list-style-type: none"> o Livelli elevati di IFN-γ in circolo o presenza di anticorpi eterofili. o Superamento dei tempi del sangue convalidati dal prelievo del campione di sangue all'incubazione.
3. Descrizione del dispositivo	
3.1 Descrizione del dispositivo, comprese le condizioni di utilizzo del dispositivo stesso	<p>L'esame QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) è un test diagnostico in vitro che utilizza un cocktail peptidico che simula le proteine ESAT-6 e CFP-10 per stimolare le cellule nel sangue intero eparinizzato. La rilevazione dell'interferone-γ (IFN-γ) mediante ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, esame immuno-assorbente legato agli enzimi) consente di identificare le risposte in vitro agli antigeni peptidici associati all'infezione da <i>Mycobacterium tuberculosis</i>.</p> <p>QFT-Plus è un test indiretto per la rilevazione dell'infezione da <i>M. tuberculosis</i> (patologia compresa) ed è destinato all'uso in associazione con la valutazione del rischio, le radiografie e altre indagini medico-diagnostiche.</p> <p>Questo kit è destinato all'uso professionale. L'esame QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) deve essere utilizzato da personale qualificato in ambiente di laboratorio professionale o da personale qualificato e addetto al prelievo ematico per analisi.</p> <p>Il test QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) rappresenta la quarta generazione della tecnologia di test QuantiFERON-TB per la valutazione della risposta cellulo-mediata attraverso una misurazione quantitativa dell'IFN-γ in un campione di sangue intero. QFT-Plus è un test qualitativo che misura le risposte immuni cellulo-mediate (CMI) agli antigeni peptidici che simulano le proteine micobatteriche. Queste proteine ESAT-6 e CFP-10 sono assenti in tutti i ceppi di BCG e nella maggior parte dei micobatteri non tubercolari, fatta eccezione per <i>M. kansasii</i>, <i>M. szulgai</i> e <i>M. marinum</i>. Il sangue dei soggetti infettati da organismi del complesso <i>M. tuberculosis</i> contiene in genere linfociti che sono in grado di riconoscere questi e altri antigeni micobatterici. Tale processo di riconoscimento comporta la generazione e la secrezione della citochina IFN-γ. La rilevazione e la successiva quantificazione dell'IFN-γ costituiscono il principio di questo test.</p>

	<p>Le QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes sono destinate al prelievo, la conservazione, l'incubazione, la stimolazione e il trasporto di sangue umano.</p> <p>QFT-Plus è un esame qualitativo che utilizza speciali provette di raccolta per prelievo ematico, che contengono antigeni peptidici che simulano le proteine del <i>M. tuberculosis</i>, utilizzate per il prelievo di sangue intero. Il sangue viene lasciato incubare all'interno delle provette tra 16 e 24 ore, dopodiché viene raccolto il plasma e viene eseguito il test per rilevare la presenza dell'IFN-γ prodotto in risposta agli antigeni peptidici.</p> <p>Il sangue intero viene raccolto in ciascuna delle QFT-Plus Blood Collection Tubes che includono una provetta Nil, una provetta TB1, una provetta TB2 e una provetta Mitogen. In alternativa, è possibile prelevare il sangue in un'unica provetta di raccolta generica contenente eparina di litio o di sodio come anticoagulante e quindi trasferire il campione nelle QFT-Plus Blood Collection Tubes.</p> <p>L'utilizzo del software è facoltativo con il dispositivo.</p> <p>Il software effettua un controllo della qualità dell'esame, genera una curva standard e fornisce un risultato del test per ogni paziente. Il software riporta tutte le concentrazioni superiori a 10 UI/ml come ">10", poiché tali valori non rientrano nell'intervallo lineare convalidato dell'ELISA.</p>
<p>3.2 Nel caso in cui il dispositivo sia un kit, descrizione dei componenti (compreso lo status normativo dei componenti, ad esempio, IVD, dispositivi medici ed eventuali UDI-DI di base)</p>	<p>QFT-Plus ELISA è venduto sia in un kit per 2 piastre con componenti, sia come pacchetto laboratorio di riferimento che contiene 20 piastre e componenti.</p> <p>Le QFT-Plus BCT sono vendute in confezioni da 200 provette (50 provette Nil, 50 provette TB1, 50 provette TB2 e 50 provette Mitogen), 100 provette (25 di ciascun tipo di provetta) o in confezioni per singolo paziente (10 confezioni singole contenenti ciascuna 1 provetta Nil, 1 provetta TB1, 1 provetta TB2 e 1 provetta Mitogen). Anche le QFT-Plus BCT per il prelievo in altitudine sono disponibili nelle configurazioni indicate sopra.</p> <p>Descrizione dei componenti del dispositivo.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Strisce per micropiastre (12 x 8 pozzetti) • Standard IFN-γ, liofilizzato

	<ul style="list-style-type: none"> • Diluente verde • Coniugato concentrato 100X, liofilizzato • Tampone di lavaggio, concentrato 20x • Soluzione di substrato enzimatico • Soluzione di arresto enzimatico
3.3 Riferimento alla/e generazione/i precedente/i o alle varianti del dispositivo (se presenti) e descrizione delle differenze	<p>QuantiFERON® TB Gold In Tube (QFT) è un esame di terza generazione a tre provette che contiene peptidi studiati per stimolare solo le cellule T CD4 specifiche per MTB.</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Nil: controllo negativo 2. Antigene TB: rileva prevalentemente la risposta dei linfociti T CD4 specifici per MTB 3. Mitogen: controllo positivo <p>L'esame QFT Plus utilizza una combinazione proprietaria di peptidi studiata in base alle controindicazioni e all'attività. QFT Plus è un esame a quattro provette con due provette per la rilevazione della risposta cellulo-mediata specifica per MTB:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Nil: controllo negativo 2. TB1: rileva prevalentemente la risposta dei linfociti T CD4 specifici per MTB 3. TB2: ottimizzato per rilevare le risposte dei linfociti T CD4 e CD8 specifici per MTB 4. Mitogen: controllo positivo
3.4 Descrizione degli accessori destinati all'uso in combinazione con il dispositivo	Non applicabile - QFT-Plus è un esame indipendente.
3.5 Descrizione di altri dispositivi e prodotti destinati all'uso in combinazione con il dispositivo	Non applicabile - QFT-Plus è un esame indipendente.
4. Riferimenti a eventuali normative armonizzate e specifiche comuni (SC) applicate	
4 Standard armonizzati e SC applicate	<p>Per supportare la valutazione delle prestazioni sono state seguite le norme armonizzate pertinenti, come applicabili a QFT-Plus.</p> <p>Standard armonizzati (EN):</p>

- EN ISO 13612:2002+AC:2002 Valutazione delle prestazioni dei dispositivi medico-diagnostici in vitro
- EN ISO 14971:2019, EN ISO 14971:2019/A11:2021 Dispositivi medici - Applicazione della gestione dei rischi ai dispositivi medici
- ISO 13485 2016/AC:2018/A11:2021 (Dispositivi medici - Sistemi di gestione della qualità - Requisiti per scopi regolamentari)
- EN ISO 17511:2021 Dispositivi medico-diagnostici in vitro - Requisiti per stabilire la tracciabilità metrologica dei valori assegnati ai calibratori, ai materiali di controllo della correttezza e campioni umani
- EN ISO 18153:2003 Dispositivi medico-diagnostici in vitro - Misura di grandezze in campioni biologici - Riferibilità metrologica dei valori di concentrazione catalitica degli enzimi assegnati a calibratori e materiali di controllo
- EN ISO 23640:2015 Dispositivi medico-diagnostici in vitro. Valutazione della stabilità dei reagenti diagnostici in vitro
- EN ISO/DIS 20916 Dispositivi medici IVD - Studi sulle prestazioni cliniche con l'utilizzo di campioni provenienti da soggetti umani - Buona pratica di studio

Standard (CLSI):

- CLSI EP5-A3 Evaluation of Precision Performance of Quantitative Measurement Methods (Valutazione della prestazione in termini di precisione dei metodi di misurazione quantitativa)
- CLSI EP06-A Evaluation of the Linearity of Quantitative Measurement Procedures (Valutazione della linearità delle procedure di misurazione quantitativa)
- CLSI EP07-A2 Interference Testing in Clinical Chemistry (Test di interferenza nella chimica clinica)
- CLSI EP12-A2 User Protocol for Evaluation of Qualitative Test Performance (Protocollo per l'utente per la valutazione delle prestazioni dei test qualitativi)
- CLSI EP17-A2 Evaluation of Detection Capability for Clinical Laboratory Measurement Procedures (Valutazione della capacità di rilevazione per le procedure di misurazione di laboratorio clinico)

	<ul style="list-style-type: none"> • CLSI EP24-A2 Assessment of the Diagnostic Accuracy of Laboratory Tests Using Receiver Operating Characteristic (ROC) Curves (Valutazione dell'accuratezza diagnostica dei test di laboratorio mediante curve ROC (Receiver Operating Characteristic)) • CLSI EP-25-A Evaluation of Stability of In Vitro Diagnostic Reagents (Valutazione della stabilità dei reagenti diagnostici in vitro)
5. Rischi e avvertenze	
5.1 Rischi residui ed effetti indesiderati	<p>I rischi sono stati mitigati quanto possibile e ritenuti accettabili. Le Istruzioni per l'uso ("Avvertenze e precauzioni" e "Limitazioni") forniscono avvertenze sui rischi residui e sulle precauzioni da adottare per tenere tali rischi sotto controllo. Gli attuali rischi residui sono accettabili.</p> <p>Le informazioni e le istruzioni fornite dal produttore sono di facile comprensione e applicazione per l'utente previsto allo scopo di interpretare correttamente il risultato fornito dal dispositivo ed evitare informazioni fuorvianti.</p> <p>I risultati del test QFT-Plus devono essere utilizzati tenendo conto della valutazione del rischio, delle radiografie e di altre valutazioni mediche e diagnostiche.</p> <p>I pazienti con valori Nil maggiori di 8 UI/ml sono classificati come "Indeterminati" in quanto una risposta più alta del 25% agli antigeni CMV potrebbe non rientrare nell'intervallo di misurazione dell'esame.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Un risultato negativo di QFT-Plus non esclude la possibilità di un'infezione da M. tuberculosis o di una malattia TB in atto. Infatti, risultati falsi negativi possono essere dovuti allo stadio dell'infezione (ad esempio il campione è stato prelevato prima dello sviluppo della risposta cellulare), all'esistenza di patologie concomitanti che alterano la funzione immunitaria, a una manipolazione impropria delle provette dopo il prelievo di sangue per venopuntura, a errori nell'esecuzione dell'esame o ad altre variabili immunologiche. <p>In caso di risultati inattendibili o indeterminati, le possibili cause sono:</p>

	<ul style="list-style-type: none"> ● Mancata osservanza della procedura descritta nel foglietto illustrativo ● Trasporto/manipolazione scorretti del campione di sangue ● Livelli elevati di IFN-γ in circolo o presenza di anticorpi eterofili ● Superamento dei tempi del sangue convalidati dal prelievo del campione di sangue all'incubazione.
5.2 Avvertenze e precauzioni	<p>Se un flacone di reagente è danneggiato o presenta perdite prima dell'uso, non utilizzare il kit.</p> <p>Importante: ispezionare le fiale prima dell'uso. Non utilizzare il coniugato o le fiale di standard IFN-γ se appaiono danneggiate o se il sigillo di gomma è rovinato. Non manipolare le fiale rotte. Adottare le precauzioni di sicurezza opportune per smaltire le fiale correttamente. Raccomandazione: Utilizzare una pinza crimpatrice per fiale per aprire le fiale di coniugato o di standard IFN-γ per ridurre al minimo il rischio di lesioni dovute al tappo metallico.</p> <p>Se si sospetta che le QFT-Plus Blood Collection Tubes siano state danneggiate o che la sterilizzazione sia stata compromessa, contattare i servizi tecnici QIAGEN.</p> <p>Il thimerosal viene utilizzato come conservante in alcuni reagenti del QFT-Plus. Può essere tossico per ingestione, inalazione o contatto con la pelle. Quando si utilizzano sostanze chimiche, indossare sempre un camice da laboratorio adeguato, guanti monouso e occhiali di protezione. Per ulteriori informazioni, consultare le relative schede tecniche di sicurezza sul prodotto (SDS), disponibili online nel pratico formato PDF all'indirizzo www.qiagen.com/safety.</p> <p>QuantiFERON Enzyme Stopping Solution: Contiene: acido solforico. Avvertenza! Può essere corrosivo per i metalli. Causa irritazione</p>

	<p>cutanea. Causa grave irritazione agli occhi. Indossare guanti protettivi/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/Proteggere il viso.</p> <p>QuantIFERON Enzyme Substrate Solution: Avvertenza! Causa lieve irritazione cutanea. Indossare guanti protettivi/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/Proteggere il viso.</p> <p>QuantIFERON Green Diluent:</p> <p>Contiene: tartrazina. Avvertenza! Può provocare una reazione allergica cutanea. Indossare guanti protettivi/indumenti protettivi/Proteggere gli occhi/Proteggere il viso.</p> <ul style="list-style-type: none"> • Se conservato a una temperatura compresa tra 2 e 8°C, lo standard ricostituito del kit si mantiene fino a 3 mesi. Prendere nota della data in cui è stato ricostituito lo standard del kit. • Dopo la ricostituzione, il coniugato concentrato 100X inutilizzato deve essere conservato in frigorifero a una temperatura compresa tra 2 e 8°C e deve inoltre essere utilizzato entro 3 mesi. Prendere nota della data in cui è stato ricostituito il coniugato. • Il coniugato pronto per l'uso deve essere utilizzato entro 6 ore dalla preparazione. • Il tampone di lavaggio pronto per l'uso può essere conservato a temperatura ambiente fino a 2 settimane.
<p>5.3 Altri aspetti rilevanti della sicurezza, compreso un riepilogo di qualsiasi azione</p>	<p>Non ci sono state azioni correttive per la sicurezza sul campo per QFT TB Plus. Non sono stati identificati nuovi pericoli per questo prodotto.</p>

<p>correttiva per la sicurezza sul campo (FSCA, inclusi FSN), se applicabile</p>	
<p>6. Riepilogo della valutazione delle prestazioni e del follow-up delle prestazioni post-vendita (PMPF)</p>	
<p>6.1 Riepilogo della validità scientifica del dispositivo</p>	<p>L'esame QFT-Plus, comprese le generazioni precedenti, misura la produzione dell'IFN-γ mediante cellule T specifiche per MTB per identificare le risposte in vitro agli antigeni che sono associati con l'infezione da MTB. Di seguito è riportata una sintesi delle basi scientifiche di QFT-Plus, che collega la produzione dell'analita IFN-γ da parte delle cellule T in seguito all'esposizione ad antigeni MTB alla rilevazione della condizione clinica, l'infezione da MTB (TBI).</p> <p>Le attuali raccomandazioni nazionali e internazionali riconoscono l'importanza critica dello screening della TBI come fattore chiave per la riduzione e l'eliminazione dell'incidenza della TB. Poiché quello della TBI è uno stato non infettivo, può essere rilevato solo con metodi immunologici indiretti. Le due principali metodologie per la diagnosi di LTBI includono i test cutanei della tubercolina (TST) e gli esami per il rilascio dell'interferone-gamma (IGRA) [WHO Global Tuberculosis Report 2023 https://www.who.int/publications/i/item/9789240083851.</p> <p>QFT-Plus è l'esame IGRA più riconosciuto al mondo per la diagnosi di TBI. Molte pubblicazioni dimostrano le sue eccellenti prestazioni nei gruppi ad alto rischio e, all'ottobre 2023, in tutto il mondo erano stati utilizzati oltre 100 milioni di test. In particolare, sono state dimostrate prestazioni eccellenti (alta sensibilità e specificità) di QFT-Plus per i principali gruppi ad alto rischio, tra cui i bambini, le persone affette da HIV, quelle in terapia immunosoppressiva, i migranti, coloro che hanno contatti con casi di TBC attiva, eccetera [1, 2, 3, 4]. Le eccellenti prestazioni di QFT-Plus in vari gruppi ad alto rischio, compresi i bambini, sono state confermate da studi originali e da revisioni sistematiche e narrative [5].</p> <p>QFT-Plus è stato raccomandato sia dall'Organizzazione Mondiale della Sanità (WHO 2020, WHO, M3 2021, WHO, M5, 2022)</p>

[6,7,8] che dai Centers for Disease Control and Prevention (CDC) oltre al Centro europeo per la prevenzione e il controllo delle malattie (ECDC) [9]. Le raccomandazioni degli organismi internazionali si basano su diverse pubblicazioni, tra cui articoli originali e revisioni sistematiche, che dimostrano le eccellenti prestazioni del QFT-Plus in varie popolazioni, compresi i gruppi a rischio definiti dall'OMS per l'infezione da TB e la riattivazione della TB.

Studi pubblicati dimostrano che l'esame QFT-Plus ha una maggiore sensibilità per coloro che vivono a contatto con casi e nelle persone immunocompromesse (HIV, artrite reumatoide, anziani e persone con una bassa conta di cellule T CD4), dimostrando una specificità non inferiore a quella del QFT-GIT (generazione precedente) [10, 11].

1. Barcellini L, et al. First independent evaluation of QuantiFERON-TB Plus performance. *Eur Respir J.* 2016 May;47(5):1587-90. doi: 10.1183/13993003.02033-2015. Epub 11 febbraio 2016. PMID: 26869677
2. Fukushima K, Kubo T, Akagi K, et al. Clinical evaluation of QuantiFERON®-TB Gold Plus directly compared with QuantiFERON®-TB Gold In-Tube and T-Spot®.TB for active pulmonary tuberculosis in the elderly. *J Infect Chemother.* 2021;27(12):1716-1722. doi:10.1016/j.jiac.2021.08.016
3. Ho CS, Feng PI, Narita M, et al. Comparison of three tests for latent tuberculosis infection in high-risk people in the USA: an observational cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2022;22(1):85-96. doi:10.1016/S1473-3099(21)00145-6
4. Igari H, Akutsu N, Ishikawa S, et al. Positivity rate of interferon- γ release assays for estimating the prevalence of latent tuberculosis infection in renal transplant recipients in Japan. *J Infect Chemother.* 2019;25(7):537-542. doi:10.1016/j.jiac.2019.02.018
5. Ahmed A, Feng PI, Gaensbauer JT, et al. Interferon- γ Release Assays in Children <15 Years of Age [published correction appears in *Pediatrics.* Maggio 2020;145(5):]. *Pediatrics.*

	<p>2020;145(1):e20191930. doi:10.1542/peds.2019-1930</p> <ol style="list-style-type: none"> 6. WHO, M1.2020. 'WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 1: Prevention'. 7. WHO, M3. 2021. 'WHO consolidated guidelines on tuberculosis. Module 3: Diagnosis - Rapid diagnostics for tuberculosis detection 2021 update'. 8. WHO, M5. 2022. 'WHO consolidated guidelines on tuberculosis Module 5: Management of tuberculosis in children and adolescents'. 9. ECDC. 'Review of reviews and guidelines on target groups, diagnosis, treatment and programmatic issues for implementation of latent tuberculosis management' (September 2018) 10. Siegel SAR, Cavanaugh M, Ku JH, Kawamura LM, Winthrop KL. Specificity of QuantiFERON-TB Plus, a New-Generation Interferon Gamma Release Assay. <i>J Clin Microbiol.</i> 27 Novembre 2018;56(12):e00629-18. doi: 10.1128/JCM.00629-18. PMID: 30232132; PMCID: PMC6258840. 11. Sotgiu, G., L. Saderi, E. Petruccioli, S. Aliberti, A. Piana, L. Petrone, and D. Goletti. 2019. 'QuantiFERON TB Gold Plus for the diagnosis of tuberculosis: a systematic review and meta-analysis', <i>J Infect</i>, 79: 444-53.
<p>6.2 Riepilogo dei dati sulle prestazioni del dispositivo equivalente, se applicabile</p>	<p>Non applicabile</p>
<p>6.3 Riepilogo dei dati da studi condotti sul dispositivo equivalente, se applicabile</p>	<p>Di seguito è riportata una sintesi degli studi sulle prestazioni cliniche e analitiche:</p> <p>Valore limite dell'esame Il cut-off dell'esame QFT-Plus è stato determinato utilizzando dati da 216 soggetti senza fattori di rischio identificati per l'esposizione alla TB, vaccinati con BCG e presumibilmente non infetti e 118</p>

soggetti con infezione da *M. tuberculosis* confermata tramite coltura. I dati di sensibilità e specificità sono stati combinati e analizzati mediante analisi della curva ROC (Receiver Operator Characteristic). I dati di sensibilità e specificità analizzati utilizzando l'analisi ROC hanno dimostrato che il cut-off ELISA ottimale era di 0,35 UI/ml (vedere la Figura 1 Tabella 1).

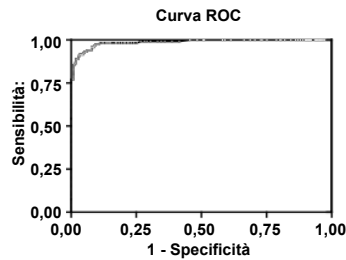


Figura 1. Curva ROC per le risposte ESAT-6 e CFP-10

Tabella 1. Valori di sensibilità e specificità per ELISA a vari cut-off

Cutoff UI/ml IFN- γ	Sensibilità %	IC 95%	Specificità %	IC 95%	Sensibilità + specificità
0,20	91,53	da 84,97% a 95,86%	96,31	da 92,87% a 98,40%	187,84
0,23	91,53	da 84,97% a 95,86%	96,77	da 93,47% a 98,69%	188,30
0,26	90,68	da 83,93% a 95,25%	96,77	da 93,47% a 98,69%	187,45
0,28	90,68	da 83,93% a 95,25%	97,24	da 94,08% a 98,98%	187,92
0,30	89,83	da 82,91% a 94,63%	97,24	da 94,08% a 98,98%	187,07
0,31	88,98	da 81,90% a 94,00%	97,24	da 94,08% a 98,98%	186,22
0,33	88,98	da 81,90% a 94,00%	97,70	da 94,71% a 99,25%	186,68
0,35	88,98	da 81,90% a 94,00%	98,16	da 95,35% a 99,50%	187,14
0,39	88,14	da 80,90% a 93,36%	98,16	da 95,35% a 99,50%	186,3
0,42	87,29	da 79,90% a 92,71%	98,16	da 95,35% a 99,50%	185,45
0,43	86,44	da 78,92% a 92,05%	98,16	da 95,35% a 99,50%	184,6
0,45	86,44	da 78,92% a 92,05%	98,62	da 96,01% a 99,71%	185,06
0,47	85,59	da 77,94% a 91,38%	99,08	da 96,71% a 99,89%	184,67
0,48	84,75	da 76,97% a 90,70%	99,08	da 96,71% a 99,89%	183,83
0,50	83,90	da 76,00% a 90,02%	99,08	da 96,71% a 99,89%	182,98

Cutoff UI/ml IFN- γ	Sensibilità %	IC 95%	Specificità %	IC 95%	Sensibilità + specificità
0,47	85,59	da 77,94% a 91,38%	99,08	da 96,71% a 99,89%	184,67
0,48	84,75	da 76,97% a 90,70%	99,08	da 96,71% a 99,89%	183,83
0,50	83,90	da 76,00% a 90,02%	99,08	da 96,71% a 99,89%	182,98

Linearità

La linearità del QFT-Plus ELISA è stata dimostrata distribuendo in modo casuale, sulla piastra ELISA, 5 repliche di 11 pool di plasma con concentrazioni note di IFN- γ . La retta di regressione lineare ha una pendenza di $1,002 \pm 0,011$ e un coefficiente delle correlazioni di 0,99 (Figura 2).

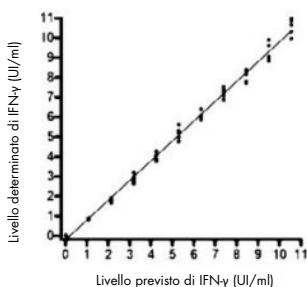


Figura 2. Illustrazione dell'analisi di regressione dello studio di linearità – Media pool alto = $-0,24 + 0,9964 \cdot \text{Previsto}$.

Riproducibilità

È stato condotto uno studio di riproducibilità dello studio multicentrico per valutare le prestazioni di QFT-Plus nei siti di studio con più operatori. Si trattava di uno studio prospettico condotto presso tre centri di test esterni e un sito di raccolta. È stato reclutato un totale di 32 soggetti positivi e 34 negativi (determinato dal test QFT). I soggetti erano operatori sanitari negli Stati Uniti. I soggetti rappresentavano gruppi con rischio misto per l'esposizione alla TB per via della loro professione o in quanto operatori sanitari nati all'estero in aree con un tasso di TB superiore a 50/100.000. Da ciascun soggetto dello studio sono state ottenute tre provette di raccolta del sangue con eparina di litio presso il sito di raccolta. Le provette di raccolta del sangue con eparina di litio sono quindi state trasferite a ognuno dei tre centri di test, dove sono state aliquotate in due set di QFT-Plus Blood Collection Tubes (QFT-Plus TB1, TB2, Mitogen e Nil), quindi testate come da procedura dell'esame

QFT-Plus. In ogni centro almeno due operatori hanno eseguito i due test per ogni soggetto dello studio in modo indipendente. Ciascun operatore era in cieco rispetto ai risultati ottenuti dall'altro operatore e in cieco rispetto ai risultati del test QFT del soggetto dello studio. Sono stati generati sei risultati in tutti e tre i siti di test per ciascuno dei 66 soggetti dello studio, per un totale di 396 punti dati. Un riepilogo dei risultati di riproducibilità è fornito nella Tabella 2.

Tabella 2. Riepilogo dei risultati dello studio di riproducibilità – % di concordanza all'interno del centro dei risultati qualitativi tra gli operatori; N=66 campioni di paziente

Centro 1 – 2 operatori	Centro 2 – 2 operatori	Centro 3 – 3 operatori
64/66 = 96,97% Concordanza dei risultati qualitativi del set di provette 1 e set di provette 2	64/66 = 96,97% Concordanza dei risultati qualitativi del set di provette 1 e set di provette 2	59/66 = 89,39% Concordanza dei risultati qualitativi del set di provette 1 e set di provette 2

La concordanza percentuale qualitativa in tutti i siti di studio è del 94,7% (375/396). In questo calcolo, il numero totale dei risultati dei test in concordanza (375) include i casi in cui vi è concordanza di tutti e 6 i risultati, concordanza di 5 risultati su 6, concordanza di 4 risultati su 6 e concordanza di 3 risultati su 6, combinati.

Ripetibilità tra lotti

È stato condotto uno studio per determinare la variabilità tra lotti delle QFT-Plus Blood Collection Tubes comparate con le provette QFT. È stato testato un totale di 30 soggetti (15 confermati positivi per TB e 15 confermati negativi per TB, determinato dal test QFT). In questo studio sono stati inclusi tre lotti separati di ciascuna QFT-Plus TB1, TB2 e QFT TB Blood Collection Tubes. Sono stati testati tre replicati per donatore per lotto di provette di raccolta del sangue. Le provette Nil e Mitogen sono state testate con un replicato ciascuna. Il sangue di ciascun soggetto è stato raccolto in provette di raccolta del sangue con eparina di litio e quindi 1 ml di sangue è stato trasferito in ciascuna delle QFT-Plus Blood Collection Tubes e testato secondo la procedura dell'esame. Per ogni gruppo di campioni positivi e negativi, la varianza totale dei risultati delle QFT-Plus Tubes non doveva essere significativamente maggiore

rispetto alla varianza totale dei risultati delle provette QFT. Questo è stato determinato dal valore p dato dal test di omogeneità della varianza (homogeneity of variance, HOV) di Levene. Se il valore p non era significativo ($p > 0,05$) e/o la variazione delle QFT-Plus TB Tubes era inferiore a quella della provetta QFT TB, allora non vi era varianza tra QFT-Plus Tubes e provette QFT TB.

Tabella 3. Confronto di varianze tra QFT-Plus e QFT TB Blood Collection Tubes utilizzando il test HOV di Levene

Tipo di campione	Differenza	Effetto	Dipendente	Valore p	Significativo
Positivo	TB2 vs QFT	Sub_Type	Residuo	0,0378	Si
Positivo	TB2 vs QFT	Sub_Type	Residuo	0,0540	No
Negativo	TB2 vs QFT	Sub_Type	Residuo	0,1025	No
Negativo	TB2 vs QFT	Sub_Type	Residuo	0,6344	No

La variazione tra QFT-Plus e QFT TB Blood Collection Tubes non è stata significativa, ad eccezione della provetta QFT-Plus TB2 quando è stata testata con soggetti positivi. Quando è stata analizzata la stima della deviazione standard, la variazione osservata nella provetta QFT-Plus TB2 è risultata inferiore (0,06089) rispetto alla provetta QFT TB (0,07641), come mostrato nella Tabella 4. Pertanto, la varianza delle QFT-Plus TB1 e TB2 Blood Collection Tubes non era superiore alla QFT TB Blood Collection Tube.

Tabella 4. Deviazione standard per residuo e intervallo di confidenza al 95% per soggetti positivi

Tipo di campione	Sottotipo	Stima della deviazione standard	95% LCL	95% UCL
Positivo	QFT	0,07641	0,06826	0,08680
Positivo	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Positivo	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

Ripetibilità intra-lotto

È stato condotto uno studio per valutare la riproducibilità intra-lotto delle QFT-Plus Blood Collection Tubes confrontando la concentrazione di IFN- γ da replicati di QFT-Plus TB Blood Collection Tubes di sangue. Sei aliquote di un campione di sangue provenienti dagli stessi soggetti con infezione da TB confermata sono state

analizzate in 6 provette di raccolta del sangue ripetute da un lotto ciascuna di entrambe le QFT-Plus Tubes (TB1 e TB2). Il test è stato condotto su 13 soggetti. Il %CV è stato calcolato per ogni donatore e per tutti i donatori, per generare un %CV medio, come indicato nella Tabella 5.

Tabella 5. Il %CV per media, deviazione standard, minima, mediana e massima in ogni QFT-Plus TB Blood Collection Tube in soggetti positivi per TB.

Provetta QFT-Plus	Dimensione del campione	Media (%CV)	Deviazione standard	Minimo	Mediana	Massimo
TB1	13	13,31	6,88	4,17	12,87	29,56
TB2	13	13,04	7,48	4,86	10,75	29,44

I risultati hanno dimostrato che il %CV medio per TB1 e TB2 era ~13%, soddisfacendo i criteri di accettazione <30% e dimostrando la ripetibilità intra-lotto.

Limite del bianco (LOB)

Il limite del bianco (Limit of Blank, LoB) è stato valutato per l'esame QFT-Plus. Due replicati ciascuno di 14 campioni individuali di plasma umano normale (come i bianchi) sono stati testati con 2 lotti di QFT-Plus ELISA da 3 operatori in 3 giorni di test, un operatore per giorno di test per un totale di 84 replicati da ciascun lotto di kit ELISA. I valori LoB (UI/ml) per i 2 lotti di kit ELISA sono stati calcolati separatamente come indicato in Tabella 6.

Tabella 6. Valori LoB (UI/ml) per i 2 lotti del QFT-Plus ELISA Kit

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

Il valore LoB più grande, 0,040 UI/ml, in entrambi i lotti del QFT-Plus ELISA kit, è stato segnalato come valore LoB finale.

Limite di sensibilità (Limit of Detection, LoD)

Il limite di sensibilità (Limit of Detection, LoD) è stato valutato per l'esame QFT-Plus. Un pool di plasma umano negativo per TB è stato generato combinando 14 campioni di plasma individuali. Ciascuno dei 3 operatori ha preparato uno stock standard di riferimento di IFN- γ a 1,0 UI/ml diluito in tampone. Sono state effettuate una serie di diluizioni di 8 concentrazioni. Lo studio è stato condotto nell'arco di 3 giorni, da 3 operatori alternati utilizzando 2 lotti di QFT-Plus ELISA kit. Per ogni giorno di test, sono stati testati 5 replicati di ciascuna concentrazione all'interno di ciascun set della serie di diluizioni seriali per un totale di 45 replicati per ciascuna diluizione della concentrazione di IFN- γ per ciascun lotto del QFT-Plus ELISA Kit. I valori LoD per ciascuno dei lotti di QFT-Plus ELISA kit testati sono stati calcolati separatamente come indicato in Tabella 7.

Tabella 7. Valori LoD stimati (UI/ml) per i 2 lotti del QFT-Plus ELISA Kit

QFT-Plus ELISA Kit	Probabilità	Concentrazione stimata (UI/ml)	Limite di confidenza del 95% inferiore per la stima	Limite di confidenza del 95% superiore per la stima
Kit 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Kit 2	0,95	0,065	0,060	0,073

Sostanze interferenti

È stato condotto uno studio per determinare gli effetti di potenziali sostanze interferenti sulle prestazioni del rilevamento del QFT-Plus ELISA di IFN- γ . Gli interferenti inclusi in questo test erano: trigliceridi (totali), emoglobina, proteine (totali nel siero), bilirubina (coniugata), bilirubina (non coniugata), abacavir solfato, ciclosporina e prednisolone. Sono stati preparati cinque pool di plasma con concentrazioni note di IFN- γ utilizzando diverse concentrazioni di interferenti. Il livello di IFN- γ del pool di base è stato precedentemente preparato con una quantità predeterminata di IFN- γ presente (circa 0,21, 0,45 e 1,4 UI/ml). Questo pool è stato quindi utilizzato per preparare i pool interferenti. Le concentrazioni di interferenti testate erano 0 mg/dl, 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl e 20 mg/dl. Le concentrazioni target di

interferenti erano basate su intervalli di riferimento, valori patologici, intervalli terapeutici e intervalli di tossicità, oppure come raccomandato dal fornitore o dai livelli clinici generali. Sono stati testati sei replicati per ogni livello di concentrazione del campione interferente. Per ciascuna concentrazione del campione, è stato eseguito un test T su due campioni, confrontando la differenza nel log10 medio (UI/ml) del livello di interferente primario rispetto al controllo (cioè livello privo di interferenti) come mostrato in Tabella 8 e 9. Sono riportate anche la differenza stimata nella risposta media, insieme ai limiti di confidenza al 95% bilaterali e al valore p corrispondenti.

Tabella 8. Log10 UI/ml: Tabella riassuntiva del test T per le differenze nelle medie tra il controllo e il livello dell'interferente primario per ciascun interferente e il livello di concentrazione dell'IFN-γ.

Interferente	Livello interferente	Concentrazion e del campione (UI/ml)	Varianze	Differenza media	IC 95% inferiore	IC 95% superiore	Valore p	OK
Trigliceridi	Elevato	1,4	Uguale	0,019	-0,040	0,077	0,491	Si
		0,45	Uguale	0,004	-0,022	0,030	0,732	Si
		0,21	Uguale	0,006	-0,035	0,047	0,759	Si
Emoglobina	Elevato	1,4	Uguale	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Si
		0,45	Uguale	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Si
		0,21	Uguale	0,000	-0,034	0,035	0,980	Si
Proteina	Elevato	1,4	Uguale	0,004	-0,034	0,042	0,836	Si
		0,45	Uguale	0,001	-0,38	0,040	0,962	Si
		0,21	Uguale	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Si
Bilirubina coniugata	Elevato	1,4	Uguale	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Si
		0,45	Uguale	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Si
		0,21	Uguale	-0,014	0,074	0,046	0,625	Si
Bilirubina non coniugata	Elevato	1,4	Uguale	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Si
		0,45	Uguale	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Si
		0,21	Uguale	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Si
Abacavir	Elevato	1,4	Uguale	0,008	-0,025	0,041	0,601	Si
		0,45	Uguale	0,012	-0,019	0,044	0,412	Si
		0,21	Uguale	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Si

Interferente	Livello interferente	Concentrazion e del campione (UI/ml)	Varianze	Differenza media	IC 95% inferiore	IC 95% superiore	Valore p	OK
Ciclosporina	Elevato	1,4	Ugual	0,014	-0,020	0,047	0,383	Si
		0,45	Ugual	0,005	-0,035	0,045	0,773	Si
		0,21	Ugual	0,024	-0,008	0,056	0,131	Si
Prednisolone	Elevato	1,4	Ugual	0,017	-0,017	0,050	0,293	Si
		0,45	Ugual	0,000	-0,036	0,036	0,979	Si
		0,21	Ugual	0,015	-0,035	0,065	0,524	Si

Tabella 9. Log10 UI/ml: Tabella riassuntiva del test T per le differenze nelle medie tra il controllo e il livello di interferente alto per ciascun interferente e livello di concentrazione dell'IFN- γ

Interferente	Livello interferente	Concentrazion e del campione (UI/ml)	Varianze	Differenza media	IC 95% inferiore	IC 95% superiore	Valore p	OK
Trigliceridi	Elevato	1,4	Ugual	0,053	-0,004	0,1 10	0,063	Si
		0,45	Ugual	0,039	-0,021	0,058	<0,001	Si
		0,21	Ugual	0,034	-0,002	0,071	0,061	Si
Emoglobina	Elevato	1,4	Ugual	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Si
		0,45	Ugual	0,016	-0,007	0,040	0,152	Si
		0,21	Ugual	0,014	-0,030	0,059	0,489	Si
Proteina	Elevato	1,4	Ugual	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Si
		0,45	Ugual	0,000	-0,046	0,046	0,992	Si
		0,21	Ugual	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Si
Bilirubina coniugata	Elevato	1,4	Ugual	0,001	-0,046	0,048	0,961	Si
		0,45	Ugual	0,012	-0,043	0,067	0,639	Si
		0,21	Ugual	0,015	-0,044	0,074	0,586	Si
Bilirubina non coniugata	Elevato	1,4	Ugual	0,015	-0,011	0,042	0,231	Si
		0,45	Ugual	0,015	-0,023	0,052	0,411	Si
		0,21	Ugual	0,012	-0,033	0,057	0,566	Si
Abacavir	Elevato	1,4	Ugual	0,013	-0,015	0,040	0,322	Si
		0,45	Ugual	0,015	-0,014	0,044	0,283	Si
		0,21	Ugual	0,008	-0,034	0,050	0,677	Si

Interferente	Livello interferente	Concentrazion e del campione (UI/ml)	Varianze	Differenza media	IC 95% inferiore	IC 95% superiore	Valore p	OK
Ciclosporina	Elevato	1,4	Uguale	0,002	-0,019	0,024	0,816	Si
		0,45	Uguale	0,007	-0,030	0,043	0,682	Si
		0,21	Uguale	0,015	-0,007	0,038	0,155	Si
Prednisolone	Elevato	1,4	Uguale	0,007	-0,016	0,030	0,518	Si
		0,45	Uguale	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Si
		0,21	Uguale	0,021	-0,025	0,068	0,334	Si

I risultati non hanno mostrato differenze significative tra il livello di interferente primario e il controllo (livello privo di interferenti) e per il livello alto di interferente a eccezione del livello di concentrazione di trigliceridi 0,45 UI/ml. La differenza media determinata deve rientrare nell'intervallo di deviazione standard +/- 2. Ciò dimostra che la differenza rientra nella variabilità attesa dell'esame e che i trigliceridi non hanno avuto effetto di interferenza sul QFT-Plus ELISA.

Prestazioni cliniche

Specificità analitica

Uno studio multicentrico per la valutazione della specificità clinica di QFT-Plus è stato condotto su 733 soggetti considerati a basso rischio di infezione da M. tuberculosis o senza fattori di rischio per l'esposizione all'infezione o alla malattia. I fattori di rischio per l'esposizione a TB sono stati determinati attraverso un sondaggio standardizzato al momento dell'esame. Lo studio è stato condotto in 4 centri indipendenti: 1 negli Stati Uniti, 2 in Giappone e 1 in Australia. QFT-Plus è stato confrontato con QuantiFERON®-TB Gold In-Tube (QFT). Nella Figura 3 è riportata una sintesi dei dati delle prestazioni relative alla specificità clinica, stratificati per centro di studio e regione.

I risultati delle prestazioni su basano sul numero totale di test validi. Non vi erano risultati indeterminati.

Centro	N	Positivo		Negativo		Indeterminato		Specificità (IC 95%)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
Stati Uniti									
(#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)
Giappone									
(#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)
Totale Giappone	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)

Figura 3. Specificità di QFT-Plus

La specificità di QFT-Plus era del 98,11% negli Stati Uniti, del 97,83% in Giappone e del 95,48% in Australia. La specificità complessiva di QFT-Plus era del 97,27% (713/733). La specificità di QFT era del 99,06% negli Stati Uniti, del 98,76% in Giappone e del 95,98% in Australia. La specificità complessiva di QFT-Plus era del 98,09% (719/733).

Per fornire un esempio dei risultati attesi in una popolazione a basso rischio, nella Figura 4 viene mostrata una suddivisione dei risultati per tipo di provetta di antigene TB e relative combinazioni.

Interpretazione basata su antigene TB Nil				
UI/ml in	TB1	TB2	QFT-Plus (positivo per TB1 e/o TB2)*	TB1 e TB2 positivi concordanti (analisi alternata) [†]
Positivo	10	18	20	8
Negativo	723	715	713	725
Indeterminato	0	0	0	0
Specificità (IC 95%)	-	-	97,3% (713/733) (95,8-98,2)	-
Tasso di negatività (IC 95%)	98,6% (723/733) (97,5-99,3)	97,5% (715/733) (96,2-98,4)	-	98,9% (725/733) (97,9-99,5)

* Interpretazione basata su un valore antigene TB - Nil >0,35 UI/ml in entrambe (TB1 e TB2) o una delle provette, per soddisfare i criteri di interpretazione perché QFT-Plus (TB1 o TB2) risulti positivo.

[†] Analisi alternata fornita a solo scopo informativo.

Figura 4. Specificità di QFT-Plus per provetta di antigene TB.

Nei soggetti a basso rischio di infezione da TB, 20 soggetti su 733 hanno riportato un risultato positivo. Di questi, solo 8 soggetti hanno riportato un valore >0,35 UI/ml sia nella provetta TB1 che TB2.

Un confronto tra l'esame QFT e QFT-Plus è stato effettuato nella coorte dello studio a basso rischio e ha mostrato una concordanza complessiva del 97,5% (715/733) e una concordanza percentuale di negatività del 98,3% (707/719).

Sensibilità clinica

Sebbene non esista un test standard definitivo per l'infezione tubercolare latente (LTBI), la coltura microbiologica del batterio *M. tuberculosis* rappresenta un surrogato, in quanto l'infezione da TB è un precursore necessario per la malattia.

Uno studio multicentrico sulla valutazione della sensibilità clinica di QFT-Plus è stato condotto su 434 soggetti che presentavano segni e sintomi di malattia da *M. tuberculosis* confermata tramite coltura e/o PCR, non in trattamento per TB o con ≤14 giorni di trattamento prima del prelievo ematico. Lo studio è stato condotto in 7 centri

indipendenti: 3 negli Stati Uniti, 3 in Giappone e 1 in Australia. QFT-Plus è stato confrontato con GIT.

Nella Figura 5 è riportata una sintesi dei dati delle prestazioni relativi alla sensibilità clinica, stratificati per sito di studio e Paese. I risultati delle prestazioni su basano sul numero totale di test validi. La frequenza di risultati indeterminati per GIT e QFT-Plus è stata rispettivamente del 2,3% (10/434) e del 2,5% (11/434).

Centro	N	Positivo		Negativo		Indeterminato		Sensibilità (n/N) (IC 95%)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QF	QFT-Plus
Stati Uniti									
(#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)
Totale Stati Uniti	53	47	47	6	6	0	0	88,7% (47/53) (77,4–94,7)	88,7% (47/53) (77,4–94,7)
Giappone									
(#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)
(#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)
Totale Giappone	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)

Figura 5. Sintesi delle prestazioni dello studio di sensibilità clinica stratificato per centro, Paese e complessiva

Si noti che l'analisi nella Figura 5 non include i risultati indeterminati.

La sensibilità di QFT-Plus era dell'88,7% negli Stati Uniti, del 94,43% in Giappone e del 100,0% in Australia. La sensibilità

complessiva di QFT-Plus era del 94,09% (398/423). La sensibilità di QFT era dell'88,7% negli Stati Uniti, del 95,63% in Giappone e del 96,43% in Australia. La sensibilità complessiva di QFT era del 94,81% (402/424).

Per fornire un esempio dei risultati attesi in una popolazione con infezione da TB confermata, nella Figura 6 viene mostrata una suddivisione dei risultati per tipo di provetta di antigene TB e relative combinazioni.

Interpretazione basata su antigene TB Nil UI/ml in	TBI	TB2	QFT-Plus (positivo per TBI e/o TB2)
Positivo	388	397	398
Negativo	32	26	25
Indeterminato	14	11	11
Sensibilità- (IC 95%)	-	-	94% (398/423) (91,4-96,0)
Tasso di positività* (IC 95%)	92,4% (388/420) (89,4-94,6)	93,9% (397/423) (91,1-95,8)	-

* Esclusi valori indeterminati.

Figura 6. Risultati dello studio di sensibilità di QFT-Plus suddivisi per provetta di antigene TB.

Un confronto degli esami GIT e QFT-Plus in una coorte di TB attiva confermata da coltura (coorti dello studio sulla sensibilità) mostra una concordanza complessiva del 95,9% e una concordanza percentuale di positività del 97,3% (391/402).

Prestazioni in soggetti con fattori di rischio identificati per un'infezione da MTB (individui a rischio misto)

Una coorte di 601 soggetti con fattori di rischio misto per l'infezione da TB (ad es. positività all'HIV, precedente trattamento di TB attiva o latente, esposizione a casi di TB attiva, stato HCW, ecc.) è stata valutata sia con il test QFT-GIT (=QFT) che con il test QFT-Plus. I fattori di rischio sono stati identificati mediante un'indagine standardizzata e i soggetti non presentavano sintomi

associati alla TB attiva al momento del reclutamento. I dati demografici e i fattori di rischio sono riportati nella Tabella 7.

Totale soggetti (601)		Numero	Percentuale
Sesso	Maschio	539	89,7%
	Femmina	62	10,3%
Età (anni)	Intervallo	18-70	-
	Media	46,7	-
Vaccinazione BCG	Sì	15	2,5%
	No	586	97,5%
HIV positivo o test positivo per virus HTLV	Sì	12	2,0%
	No	589	98%
Precedente diagnosi di TB attiva	Sì	11	1,8%
	No	590	98,2%
Test cutaneo tubercolinico (TST)/Test di Mantoux positivo per TB	Sì	47	7,8%
	No	554	92,2%
Precedente trattamento per TB attiva o latente	Sì	35	5,8%
	No	566	94,2%
Vissuto, lavorato o fatto volontariato (>1 mese) in carcere o prigione	Sì	373	62,1%
	No	228	37,9%
Vissuto, lavorato o fatto volontariato (>1 mese) in rifugio per senzatetto	Sì	525	87,4%
	No	76	12,6%
Operatore sanitario	Sì	8	1,3%
	No	593	98,7%
Stretto contatto con persona affetta da o con sospetto di TB attiva	Sì	9	1,5%
	No	592	98,5%

Figura 7. Dati demografici e fattori associati a rischio di infezione da TB in una coorte mista.

In questa popolazione 68 soggetti su 601 (11,3%) hanno riportato un risultato QFT-Plus positivo. Dei 68 soggetti con QFT-Plus positivo, un totale di 62 soggetti sono risultati positivi sia per TB1 e TB2, 2 soggetti sono risultati positivi solo per TB1 e 4 solo per TB2. Non sono stati osservati risultati indeterminati (0/601).

QFT		Positivo (+)	Negativo (-)	Totale
	Positivo (+)	63	5*	68
QFT-Plus	Negativo (-)	1*	532	533
	Totale	64	537	601

*Tutti e 6 i campioni discordanti avevano livelli di IFN- γ delle provette con antigene TB vicini al cut-off dell'esame.

Figura 8. Riepilogo delle prestazioni: QFT-Plus vs QFT in soggetti con fattori di rischio noti per LTBI.

La concordanza percentuale di positività e la concordanza percentuale di negatività tra i risultati di QFT e QFT-Plus erano le seguenti:

- Concordanza percentuale di positività: 98,44% (63/64), IC 95% (91,67, 99,72)
- Concordanza percentuale di negatività: 99,07% (532/537), IC 95% (97,84, 99,60)

La Figura 8 illustra le prestazioni di QFT-Plus a confronto con il test QFT in soggetti vaccinati con BCG.

QFT		Positivo (+)	Negativo (-)	Totale
	Positivo (+)	66	5	71
QFT-Plus	Negativo (-)	3	268	271
	Totale	69	273	342*

*Due soggetti dello studio sulla sensibilità sono stati esclusi dall'analisi per via di risultati indeterminati

Figura 9. Prestazioni di QFT-Plus a confronto con il test QFT in soggetti vaccinati con BCG (dati combinati da soggetti degli studi su sensibilità, specificità e LTBI)

La concordanza percentuale di positività e la concordanza percentuale di negatività risultanti erano le seguenti:

- Concordanza percentuale di positività: 95,6% (66/69), IC 95% (87,98, 98,51)
- Concordanza percentuale di negatività: 98,2% (268/273), IC 95% (95,79, 99,22)

	<p>Le prestazioni cliniche sono state comprovate sulla base di una revisione sistematica della letteratura e di studi sulle prestazioni con indicatori di prestazioni cliniche come la sensibilità, specificità, concordanza percentuale di positività, concordanza percentuale di negatività, concordanza con altri IGRA ed esperienze (pubblicate) ottenute attraverso i test diagnostici di routine. La valutazione di tali fonti ha dimostrato l'adeguatezza delle prestazioni cliniche di QFT-Plus per il suo uso previsto.</p>
6.4 Riepilogo dei dati sulle prestazioni da altre fonti, se applicabile	Non applicabile
6.5 Riepilogo complessivo delle prestazioni e della sicurezza	<p>Per quanto riguarda la sicurezza, la valutazione complessiva del rapporto beneficio/rischio basata sulla revisione sistematica della letteratura e delle banche dati, sulle attività di valutazione del rischio (valutazione del rischio medico, di produzione e dell'utente), sulle attività di vigilanza condotte da QIAGEN e sull'esperienza acquisita con i test diagnostici di routine supporta un rapporto beneficio/rischio favorevole per il test QFT-Plus ed è adeguato in riferimento all'attuale stato dell'arte.</p>
6.6 Follow-up delle prestazioni post-vendita (PMPF) programmato o in corso	<p>Sulla base della densità e della validità dei dati analitici e clinici disponibili, non vi sono attualmente domande aperte per il QFT-Plus. Le evidenze raccolte dimostrano che il test QFT-Plus soddisfa i requisiti di valutazione delle prestazioni, l'esame è considerato sicuro ed efficace per l'uso previsto e non permangono rischi residui accettabili; si è concluso che non sono attualmente necessarie attività PMPF per questo dispositivo.</p> <p>QIAGEN ha implementato e mantiene programmi di sorveglianza che svolgono un monitoraggio di routine delle prestazioni cliniche e della sicurezza del prodotto. Ciò comprende la raccolta proattiva e la valutazione di dati scientifici sulla sicurezza e sulle prestazioni e la rivalutazione del rapporto beneficio/rischio. I dati post-commercializzazione sono raccolti da diverse fonti, come l'esperienza clinica del dispositivo nell'uso di routine, il feedback di utenti/distributori/importatori, le tendenze, lo screening della</p>

	letteratura tecnica e scientifica pubblicata o i dati sulla qualità. Inoltre, vengono valutate le segnalazioni di sicurezza e di eventi avversi.
7. Riferibilità metrologica di valori assegnati	
7.1 Spiegazione dell'unità di misura, se applicabile	<p>Le informazioni e le istruzioni fornite dal produttore sono di facile comprensione e applicazione per l'utente previsto allo scopo di interpretare correttamente il risultato fornito dal dispositivo ed evitare informazioni fuorvianti.</p> <p>QFT-Plus Analysis Software può essere utilizzato per analizzare i dati grezzi e calcolare i risultati. È disponibile all'indirizzo www.QuantiFERON.com. Assicurarsi di utilizzare la versione più aggiornata del QFT-Plus Analysis Software.</p> <p>Il software effettua un controllo della qualità dell'esame, genera una curva standard e fornisce un risultato del test per ogni paziente.</p> <p>Il software riporta tutte le concentrazioni superiori a 10 UI/ml come ">10", poiché tali valori non rientrano nell'intervallo lineare convalidato dell'ELISA.</p> <p>In alternativa all'uso del QFT-Plus Analysis Software, per determinare i risultati è possibile adottare il metodo descritto di seguito.</p> <p><u>Generazione della curva standard e dei valori del campione</u></p> <p>Se non viene utilizzato QFT-Plus Analysis Software</p> <p>La determinazione della curva standard e la determinazione dei valori UI/ml del campione richiedono un programma di foglio di calcolo, ad es. Microsoft® Excel®, se non si usa il software QFT-Plus. Utilizzando un programma di foglio di calcolo:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Determinare i valori medi della densità ottica dei replicati dello standard del kit su ogni piastra. 2. Costruire una curva standard $\log(e) - \log(e)$ tracciando il $\log(e)$ della densità ottica media (asse y) rispetto al $\log(e)$ della concentrazione IFN-γ in UI/ml (asse x), omettendo da

questi calcoli lo standard zero. Calcolare la linea ottimale per la curva standard mediante analisi di regressione.

3. Utilizzare la curva standard per determinare la concentrazione dell'IFN- γ (UI/ml) per ognuno dei campioni di plasma da analizzare, utilizzando il valore della densità ottica di ogni campione.
4. Questi calcoli possono essere eseguiti utilizzando i pacchetti software forniti con i lettori per micropiastre e i normali software di foglio di calcolo o statistici (ad es. Microsoft Excel). Si consiglia di utilizzare questi pacchetti per calcolare l'analisi di regressione, il coefficiente di variazione (%CV) degli standard e il coefficiente di correlazione (r) della curva standard.

I valori dell'IFN- γ (in UI/ml) per TB1, TB2 e Mitogen vengono corretti per il rumore di fondo, sottraendo il valore UI/ml ottenuto per il rispettivo controllo Nil. Questi valori corretti vengono utilizzati per l'interpretazione dei risultati del test.

Controllo della qualità del test

La precisione dei risultati analitici dipende dalla generazione di una curva standard accurata. Pertanto, i risultati ottenuti dagli standard devono essere esaminati prima di poter interpretare i risultati dei campioni in esame.

Perché il test ELISA possa considerarsi valido:

- Il valore medio della densità ottica dello standard 1 deve essere $\geq 0,600$.
- Il %CV dei valori dei replicati per Standard 1 e Standard 2 deve essere $\leq 15\%$.
- I valori della densità ottica dei replicati per Standard 3 e Standard 4 non devono discostarsi di oltre 0,040 unità densità ottica dalla loro media.
- Il coefficiente di correlazione (r) calcolato a partire dai valori medi di assorbanza degli standard deve essere $\geq 0,98$.
- Se i criteri summenzionati non vengono soddisfatti, il test non è valido e va ripetuto.
- Il valore medio della densità ottica dello standard zero (diluente verde) deve essere $\leq 0,150$. Se il valore della

	<p>densità ottica medio è $>0,150$, è opportuno verificare la procedura di lavaggio delle piastre.</p> <p>Il QFT-Plus Analysis Software calcola e documenta questi parametri di controllo della qualità.</p>
<p>7.2 Identificazione dei materiali di riferimento applicati e/o delle procedure di misurazione di riferimento di ordine superiore utilizzate dal produttore per la calibrazione del dispositivo</p>	<p>QFT-Plus ELISA utilizza uno standard IFN-γ umano ricombinante che è stato analizzato rispetto a un preparato IFN-γ di riferimento (Rif. NIH: Gxg01-902-535).</p>
<p>8. Profilo e formazione utente consigliati</p>	
<p>8.1 Profilo e formazione utente consigliati</p>	<p>Questo kit è destinato all'uso professionale.</p> <p>Il prodotto deve essere utilizzato esclusivamente da personale specificamente istruito e formato in relazione alle tecniche di buona pratica di laboratorio e con competenze specifiche su questa tecnologia.</p> <p>Il prodotto deve essere utilizzato esclusivamente da personale specificamente istruito e formato in relazione alle tecniche di buona pratica di laboratorio e che sia stato addestrato per eseguire questo esame.</p>

Cronologia delle revisioni

Numero di revisione SSP	Data di pubblicazione	Descrizione della modifica	Revisione convalidata dall'organismo notificato
01	Febbraio 2023	Generazione del documento	<input checked="" type="checkbox"/> Sì Lingua di convalida: Inglese <input type="checkbox"/> No (applicabile solo per la classe C (IVDR, Articolo 48 (7)) per la quale l'SSP non è ancora stato convalidato da NB)
02	Febbraio 2024	Trasferimento a un nuovo modello secondo MDCG 2022-9	<input checked="" type="checkbox"/> Sì Lingua di convalida: Inglese <input type="checkbox"/> No (applicabile solo per la classe C (IVDR, Articolo 48 (7)) per la quale l'SSP non è ancora stato convalidato da NB)