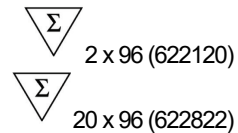


April 2019

QuantiFERON[®]-TB Gold Plus (QFT[®]-Plus) ELISA Fuljett ta' Tagħrif



Verżjoni 1

IVD

Għal użu dijanjostiku in vitro

It-test tal-IFN- γ tad-demm sħiħ li jkejjel risponsi għal antiġeni tal-peptidi ESAT-6 u CFP-10



REF

622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
il-Ġermanja

R6 **MAT**

1083163MT

Sample to Insight



Werrej

Użu Maħsub	5
Sommarju u Spjegazzjoni tat-Test.....	5
Il-prinċipji tal-assaġġ	7
Żmien meħtieġ biex isir l-assaġġ.....	9
Komponenti u Flażna	10
Materjali Meħtieġa iżda Mhux Ipprovduti	12
Flażna u Mmaniġġjar tal-Kampjun	13
Tubi tal-ġbir tad-demm	13
Reaġenti tal-kitt	13
Reaġenti mhux rikostitwiti u li ma ntużawx	13
Twissijiet u Prekawzjonijiet	14
Twissijiet.....	14
Prekawzjonijiet	15
Ġbir ta' Kampjuni u Mmaniġġjar	18
Direzzjonijiet għall-Użu	24
Stadju 1 – Inkubazzjoni tad-demm u ġbir tal-plażma.....	24
Stadju 2 – IFN- γ ELISA	25
Kalkoli u Interpretazzjoni tat-Test	30
Ġenerazzjoni tal-kurva standard	30
Il-Kontroll tal-kwalità tat-test	31

Intepretazzjoni tar-riżultati	31
Limitazzjonijiet	34
Karatteristiċi tal-Prestazzjoni	35
Studji kliniċi	35
Karatteristiċi tal-prestazzjoni tal-assaġġ	41
Informazzjoni Teknika.....	46
Riżultati indeterminati.....	46
Kampjuni tal-plażma bl-emboli	46
Gwida għal Individwazzjoni ta' Soluzzjoni	47
Referenzi	49
Simboli.....	59
Informazzjoni ta' Kuntatt.....	60
Proċedura tat-Test b'Abbrevjazzjonijiet	61
Stadju 1 – inkubazzjoni tad-demm	61
Stadju 2 – IFN- γ ELISA	61
Tibdil Konsiderevoli	63
Storja ta' Reviżjoni tal-Manwal	63

Użu Maħsub

L-assaġġ QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) huwa test dijanjostiku in vitro li juża taħlita ta' peptidi li jstimulaw il-proteini ESAT-6 u CFP-10 biex jstimulaw iċ-ċelloli fid-demm sñiħ eparinizzati. Id-detezzjoni ta' interferon- γ (IFN- γ) permezz ta' assaġġ immunosorbenti marbut mal-enzima (ELISA) jintuża biex jidentifika rispons in vitro għal dawk l-antiġeni tal-peptidi li huma assoċjati ma' infezzjoni b'*Mycobacterium tuberculosis*.

QFT-Plus huwa test indirett għal infezzjoni b'*M. tuberculosis* (inkluż il-marda) u huwa maħsub biex jintuża flimkien ma' valutazzjoni tar-riskju, radjografija, u evalwazzjonijiet mediċi u dijanjostiċi oħra.

Sommarju u Spjegazzjoni tat-Test

It-tuberkulożi hija marda li tittieħed ikkawżata minn infezzjoni b'organizmi kumplessi ta' *M. tuberculosis* (MTB) (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*), li tipikament jinfirxu għal ospiti ġodda permezz ta' nuklei ta' qtar fl-arja minn pazjenti b'marda tat-tuberkulożi respiratorja. Individwu li jkun għadu kif ġie infettat jista' jimrad bit-tuberkulożi fi żmien ġimgħat għal xhur, iżda l-aktar individwi infettati jibqgħu tajbin. Infezzjoni tat-tuberkulożi latenti (LTBI), kondizzjoni asintomatika li ma tittiħidx, tippersisti f'xi wħud li jistgħu jiżviluppaw il-marda tat-tuberkulożi xhur jew snin wara. L-għan ewlieni tad-dijanjożi tal-LTBI huwa li jiġi kkunsidrat trattament mediku għall-prevenzjoni tal-marda tat-tuberkulożi. Sa dan l-aħħar, it-test tal-ġilda tat-tuberkulin (Tuberculin Skin Test, TST) kien l-uniku metodu disponibbli għad-dijanjożi tal-LTBI. Sensittività tal-ġilda għat-tuberkulin tiżviluppa minn ġimagħtejn sa 10 ġimgħat wara l-infezzjoni. Madankollu, xi individwi infettati, inkluż dawk b'medda wiesgħa ta' kondizzjonijiet li jxekklu l-funzjonijiet immuni, iżda wkoll oħrajn mingħajr dawn il-kondizzjonijiet, ma jirrispondux għat-tuberkulin. Għall-kuntrarju, xi individwi li aktarx ma jkollhomx infezzjoni b'*M. tuberculosis* juru sensittività għat-tuberkulin u jkollhom riżultati tat-TST pożittivi wara tilqima b'Bacille Calmette-

Guérin (BCG) jew infezzjoni b'mikobatterji oħra minbarra l-kumpless ta' *M. tuberculosis* jew fatturi oħra mhux determinati.

Għandha ssir distinzjoni bejn il-LTBI u l-marda tat-tuberkulozi, kondizzjoni rapportabbli li normalment tinvolvi l-pulmun u l-apparat respiratorju t'isfel iżda li tista' taffettwa wkoll sistemi tal-organi oħra. Il-marda tat-tuberkulozi tiġi dijanjostikata minn sejbiet storici, fiżiċi, radjoloġiċi, istoloġiċi u mikobatterjoloġiċi.

QFT-Plus huwa test għal rispons immuni medjat miċ-ċelloli (Cell-Mediated Immune, CMI) għal antiġeni tal-peptidi li jstimulaw il-proteini mikobatterjiċi. Dawn il-proteini, ESAT-6 u CFP-10, huma nieqsa mir-razez kollha ta' BCG u mill-aktar mikobatterji mhux tuberkulozi bl-eċċezzjoni ta' *M. kansasii*, *M. szulgai*, u *M. marinum* (1). Individwi infettati bl-organiżmi tal-kumpless MTB normalment ikollhom limfoċiti fid-demm tagħhom li jagħrfu dawn u antiġeni mikobatterjiċi oħra. Dan il-proċess ta' rikonossiment jinvolvi l-ġenerazzjoni u s-sekrezzjoni taċ-ċitokina IFN- γ . L-identifikazzjoni u l-kwantifikazzjoni sussegwenti tal-IFN- γ tiffirma parti mill-bażi ta' dan it-test.

L-antiġeni li jintużaw f'QFT-Plus huma taħlita ta' peptidi li jstimulaw il-proteini ESAT-6 u CFP-10. Bosta studji wrew li dawn l-antiġeni tal-peptidi jstimulaw ir-rispons tal-IFN- γ f'ċelloli T minn individwi infettati b'*M. tuberculosis*, iżda ġeneralment mhux minn persuni mhux infettati jew imlaqqma b'BCG mingħajr marda jew riskju għal LTBI (1–32). Madankollu, trattamenti mediċi jew kondizzjonijiet li jindebolixxu l-funzjonalità immuni jistgħu potenzjalment inaqqsu r-rispons ta' IFN- γ . Pazjenti b'ċerti infezzjonijiet mikobatterjiċi oħra jistgħu wkoll juru rispons għal ESAT-6 u CFP-10, peress li l-ġeni li jikkodifikaw dawn il-proteini huma preżenti f'*M. kansasii*, *M. szulgai*, u *M. marinum* (1, 23). QFT-Plus huwa kemm test għal LTBI kif ukoll għajna siewja għad-dijanjozi ta' infezzjoni kumplessa b'*M. tuberculosis* f'pazjenti morda. Riżultat pożittiv jappoġġja d-dijanjozi tal-marda tat-tuberkulozi, iżda infezzjonijiet minn mikobatterji oħra (eż., *M. kansasii*) ukoll jistgħu jwasslu għal riżultati pożittivi. Evalwazzjonijiet mediċi u dijanjostiċi oħra huma meħtieġa biex jikkonfermaw jew jeskludu l-marda tat-tuberkulozi.

QFT-Plus għandu żewġ tubi tal-antigen tat-TB distinti: Tubu 1 tal-Antigen tat-TB (TB1) u Tubu 2 tal-Antigen tat-TB (TB2). Iż-żewġ tubi fihom antigeni tal-peptidi mill-antigeni assoċjati mal-kumplex tal-MTB, ESAT-6 u CFP-10. Filwaqt li t-tubu TB1 fih il-peptidi minn ESAT-6 u CFP-10 li huma mfassla biex jisiltu rispons CMI minn limfoċiti assistenti T tas-CD4⁺, it-tubu TB2 fih sett addizzjonali ta' peptidi mmirati għall-induzzjoni ta' rispons CMI minn limfoċiti T ċitotossici tas-CD8⁺. Fl-istorja naturali ta' infezzjoni b'MTB, iċ-ċelloli T tas-CD4⁺ għandhom rwol kritiku x'jaqdu fil-kontroll immunoloġiku permezz tas-sekrezzjoni tagħhom taċ-ċitokina IFN- γ . L-evidenza issa tappoġġja rwol għall-partecipazzjoni taċ-ċelloli T tas-CD8⁺ fid-difiża ospitanti għal MTB billi jipproduċu IFN- γ u fatturi solubbli oħra, li jattivaw il-makrofaġi biex jissoppressaw l-iżvilupp ta' MTB, joqtlu ċelloli infettati, jew jillizaw direttament MTB intraċellulari (33–35). Ċelloli tas-CD8⁺ speċifiċi għall-MTB ġew identifikati f'individwi b'LTBI u b'marda tat-TB attiva fejn spiss jinstabu ċ-ċelloli tas-CD8⁺ li jipproduċu IFN- γ (36–38). Barra minn hekk, limfoċiti T tas-CD8⁺ speċifiċi għal ESAT-6 u CFP-10 huma deskritti bħala li jinstabu aktar ta' spiss f'individwi b'marda tat-TB attiva kontra l-LTBI, u jistgħu jiġu assoċjati ma' esponiment riċenti ta' MTB (39–41). Barra minn hekk, ċelloli T tas-CD8⁺ speċifiċi għall-MTB li jipproduċu IFN- γ nstabu wkoll f'individwi b'TB attiva b'koinfezzjoni tal-HIV (42, 43) u fi tfal żgħar bil-marda tat-TB (44).

Il-prinċipji tal-assaġġ

L-assaġġ QFT-Plus juża tubi tal-ġbir tad-demem speċjalizzati, li jintużaw biex jiġbru demm sħiħ. L-inkubazzjoni tad-demem isseħħ fit-tubi għal 16 sa 24 siegħa, li warajha, il-plażma tingabar u tiġi ttestjata għall-preżenza ta' IFN- γ prodott b'rispons għall-antigeni tal-peptidi.

It-test QFT-Plus isir f'żewġ stadji. L-ewwel, jingabar demm sħiħ f'kull wieħed mit-Tubi tal-Ġbir tad-Demm ta' QFT-Plus, li jinkludu tubu Nil, tubu ta' TB1, tubu ta' TB2, u tubu ta' Mitogen. Inkella, id-demem jista' jingabar f'tubu ġeneriku wieħed tal-ġbir tad-demem li jkun fih eparina tal-litju jew eparina tas-sodju bħala l-antikoagulant, imbagħad jiġi trasferit f'tubi ta' QFT-Plus.

It-tubu ta' Mitogen jintuża mat-test ta' QFT-Plus bħala kontroll pożittiv. Dan jista' jkun importanti meta jkun hemm dubju dwar l-istat immuni tal-individwu. It tubu ta' Mitogen jista' jservi wkoll bħala kontroll għall-immuniġġjar u l-inkubazzjoni korretti tad-demem.

It-tubi ta' QFT-Plus jiġu mħawda biex l-antiġen jithallat mad-demem u għandhom jiġu inkubati f'37 C malajr kemm jista' jkun, u fi żmien 16-il siegħa minn meta jinġabru. Wara perjodu ta' inkubazzjoni ta' 16 sa 24 siegħa, it-tubi jiġu ċentrifugati, il-plażma titneħħa u l-ammont ta' IFN- γ (IU/ml) jitkejje minn ELISA. Il-QFT-Plus ELISA juża standard ta' IFN- γ uman rikombinati, li jista' jkun assaġġjat kontra preparazzjoni ta' IFN- γ ta' referenza (Ref NIH: Gxg01-902-535). Ir-riżultati għall-kampjun tat-test jiġu rrapportati f'Unitajiet Internazzjonali għal kull ml (IU/ml) relattivi għall-kurva standard ippreparata bl-ittestjar tad-dilwizzjonijiet tal-istandard fornut mal-kitt.

Antikorpi eterofili (eż., umani kontra l-ġurdien) fis-seru jew fil-plażma ta' ċerti individwi huma magħrufin li jikkawżaw interferenza mal-immunoassaġġi. L-effett tal-antikorpi tal-eterofili f'QFT-Plus ELISA jitnaqqas biż-żieda ta' sero normali tal-ġurdien mal-Green Diluent u l-użu ta' frammenti ta' antikorp monoklonali F(ab')₂ bħala l-antikorp ta' qbid tal-IFN- γ miksi mal-microplate.

Assaġġ QFT-Plus jiġi kkunsidrat reattiv għar-rispons ta' IFN- γ għal kwalunkwe tubu tal-antiġen tat-TB li jkun 'il fuq b'mod sinifikanti mill-valur ta' Nil IFN- γ IU/ml. Il-kampjun tal-plażma mit-tubu ta' Mitogen jservi bħala kontroll pożittiv ta' IFN- γ għal kull kampjun ittestjat. Rispons baxx għal Mitogen (<0.5 IU/ml) jindika riżultat inkonklużiv meta kampjun tad-demem ikollu wkoll rispons negattiv għall-antiġeni tat-TB. Din it-tendenza tista' sseħħ b'limfociti insuffiċjenti, attività limfocitika mnaqqsa minħabba ġestjoni mhux xierqa tal-kampjun, mili/taħlit mhux korrett tat-tubu ta' Mitogen, jew l-inkapaċità tal-limfociti tal-pazjent li jiġġeneraw IFN- γ . Livelli miżjuda ta' IFN- γ fil-kampjun Nil jistgħu jseħħu bil-preżenza ta' antikorpi ta' eterofili, jew għal sekrezzjoni intrinsika ta' IFN- γ . It-tubu Nil jaġġusta għal sfond (eż., livelli miżjuda ta' IFN- γ ċirkolanti jew preżenza ta' antikorpi ta' eterofili). Il-livell ta' IFN- γ tat-tubu Nil jitnaqqas mil-livell ta' IFN- γ għat-tubi tal-antiġen tat-TB u t-tubu ta' Mitogen.

Żmien meħtieġ biex isir l-assaġġ

Iż-żmien meħtieġ biex isir l-assaġġ ta' QFT-Plus ELISA huwa stmat hawn taħt; iż-żmien għall-ittejtjar ta' ħafna kampjuni meta miġbura f'lott huwa indikat ukoll:

Inkubazzjoni f'37°C tat-tubi tad-demm: 16 sa 24 siegħa

ELISA: Madwar 3 sigħat għal plejt wieħed ta' ELISA
(22 individwu)

< siegħa xogħol

Żid 10 sa 15-il minuta għal kull plejt żejjed

Komponenti u Ғażna

Tubi tal-Ġbir tad-Demm*		200 tubu	Pakkett tal-Pazjent Wiehed	Pakkett għad-Dispensar	HA 200 tubu	HA Pakkett tal-Pazjent Wiehed	HA Pakkett għad-Dispensar
Nru tal-katalogu		622526	622222	622423	623526	623222	623423
Numru ta' testijiet/pakkett		50	10	25	50	10	25
QuantiFERON Nil Tube (tapp griż, ċirku abjad)	Nil	50 tubu	10 tubi	25 tubu			
QuantiFERON TB1 Tube (tapp aħdar, ċirku abjad)	TB1	50 tubu	10 tubi	25 tubu			
QuantiFERON TB2 Tube (tapp isfar, ċirku abjad)	TB2	50 tubu	10 tubi	25 tubu			
QuantiFERON Mitogen Tube (tapp vjola, ċirku abjad)	Mitogen	50 tubu	10 tubi	25 tubu			
QuantiFERON Nil HA Tube (tapp griż, ċirku abjad)	Nil HA				50 tubu	10 tubi	25 tubu
QuantiFERON TB1 HA Tube (tapp aħdar, ċirku isfar)	TB1 HA				50 tubu	10 tubi	25 tubu
QuantiFERON TB2 HA Tube (tapp isfar, ċirku isfar)	TB2 HA				50 tubu	10 tubi	25 tubu
QuantiFERON Mitogen HA Tube (tapp vjola, ċirku isfar)	Mitogen HA				50 tubu	10 tubi	25 tubu
Fuljett ta' Tagħrif dwar QFT-Plus Blood Collection Tube		1	1	1	1	1	1

* Mhux il-konfigurazzjonijiet tal-prodott kollha huma disponibbli f'kull pajjiż. Jekk jogħġbok irreferi għall-Assistenza lill-Klijenti ta' QIAGEN (id-dettalji fuq www.qiagen.com) għal aktar informazzjoni dwar x'konfigurazzjonijiet huma disponibbli biex tordnahom.

Komponenti ta' ELISA[†]	Kitt ta' ELISA b'2 Plejts	Referenza tal-Pakkett tal-Laboratorju
Nru tal-katalogu	622120	622822
Microplate Strips (Strixxi tal-Microplate) (12 x 8 toqob) miksija b'antikorp monoklonali IFN- γ antiuman murin	Strixxi tal-Microplate b'2 x 96 toqba	Strixxi tal-Microplate b'20 x 96 toqba
IFN- γ Standard (Standard IFN- γ), lijoifilzzat (fih IFN- γ uman rikombinanti, kaseina bovina, 0.01 % w/v Thimerosal)	1 x kunjett (8 IU/ml meta jkun rikostitwit)	10 x kunjett (8 IU/ml meta jkun rikostitwit)
Green Diluent (Dilwent Aħdar) (fih kaseina bovina, seru normali tal-gurdien, 0.01 % w/v Thimerosal)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Konjugat 100x Koncentrat), lijoifilzzat (IFN- γ HRP antiuman murin, fih 0.01 % w/v Thimerosal)	1 x 0.3 ml (meta jkun rikostitwit)	10 x 0.3 ml (meta jkun rikostitwit)
Wash Buffer 20x Concentrate (Wash Buffer 20x Koncentrat) (pH 7.2, fih 0.05 % v/v ProClin [®] 300)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Soluzzjoni tas-Substrat tal-Enzima) (fiha H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' Tetramethylbenzidine)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Soluzzjoni li Twaqqaf l-Enzima) (fiha 0.5M H ₂ SO ₄)	1 x 15 ml	10 x 15 ml
QFT-Plus ELISA Fuljett ta' Tagħrif	1	1

[†] Ara paġna 15 għal prekawzjonijiet u dikjarazzjonijiet ta' periklu.

Materjali Meħtieġa iżda Mhux Ipprovduti

- 37°C ± 1°C inkubatur*. CO₂ mhux meħtieġ
- Pipetti kkalibrati ta' volum varjabbli* għall-għoti ta' 10 µl sa 1000 µl b'ponot li jintremew
- Pipetti kkalibrati b'aktar minn kanal wieħed* li kapaċi jipprovdu 50 µl u 100 µl b'ponot li jintremew
- Għatu tal-plejt
- Shaker għal microplate*
- Ilma dejjonizzat jew distillat, 2 litri
- Washer għal-microplate (rakkomandat washer awtomatizzat)
- Qarrej tal-microplate* mgħammar b'filtru ta' 450 nm u filtru ta' referenza ta' 620 nm sa 650 nm

* Kun ċert li l-istrumenti ġew ivverifikati u kkalibrati skont ir-rakkomandazzjonijiet tal-manifattur.

Flażna u Mmaniġġjar tal-Kampjun

Tubi tal-ġbir tad-demem

- Aħżen it-tubi tal-ġbir tad-demem f'4 C sa 25 C.

Reaġenti tal-kitt

- Aħżen ir-reaġenti tal-kitt f'2 C sa 8 C.
- Dejjem iproteġi Soluzzjoni tas-Substrat tal-Enzima minn xemx diretta.

Reaġenti mhux rikostitwiti u li ma ntużawx

Għal istruzzjonijiet dwar kif tirrikostitwixxi r-reaġenti, jekk jogħġbok ara paġna 26.

- L-istandard tal-kitt rikostitwit jista' jinżamm sa 3 xhur jekk jinħażen f'temperatura bejn 2 C sa 8 C.

Innota d-data li fiha ġie rikostitwit l-kitt standard.

- Ladarba jiġi rikostitwit, Konjugat 100x Konċentrat mhux użat għandu jinħażen mill-ġdid f'2°C sa 8°C u għandu jintuża fi żmien 3 xhur.

Innota d-data li fiha l-konjugat ġie rikostitwit.

- Il-konjugat ta' qawwa tax-xogħol għandu jintuża fi żmien 6 sigħat minn xhin ikun ġie preparat.
- Il-wash buffer tal-qawwa tax-xogħol jista' jinħażen f'temperatura ambjentali sa ġimagħtejn.

Twissijiet u Prekawzjonijiet

Għal użu dijanjostiku in vitro biss.

Twissijiet

- Riżultat ta' QFT-Plus negattiv ma jipprekludix il-possibbiltà ta' infezzjoni b'*M. tuberculosis* jew marda tat-tuberkulożi: riżultati negattivi foloz jistgħu jkunu minħabba l-istadju tal-infezzjoni (eż., kampjun miksub qabel l-iżvilupp ta' rispons immuni ċellulari), kondizzjonijiet komorbidi li jaffettaw il-funzjonijiet immuni, immaniġġjar hażin tat-tubi tal-ġbir tad-demm wara t-titqib ġo vina, prestazzjoni hażina tal-assaġġ, jew varjabbli immunoloġiċi oħra.
- Riżultat ta' QFT-Plus pożittiv m'għandux ikun l-unika bażi jew bażi definittiva biex tiġi ddeterminata infezzjoni b'*M. tuberculosis*. Prestazzjoni hażina tal-assaġġ tista' tikkawża rispons pożittiv falz.
- Riżultat ta' QFT-Plus pożittiv għandu jiġi segwit minn evalwazzjoni medika ulterjuri u evalwazzjoni dijanjostika għal marda tat-tuberkulożi attiva (eż. AFB smear u kultura, raġġi X tas-sider).
- Waqt li ESAT-6 u CFP-10 huma nieqsa mir-razez kollha ta' BCG u mill-aktar mikobatteriji mhux tuberkulożi magħrufa, huwa possibbli li riżultat ta' QFT-Plus pożittiv jista' jkun minħabba infezzjoni b'*M. kansasii*, *M. szulgai*, jew *M. marinum*. Jekk jiġu suspettati tali infezzjonijiet, għandhom isiru testijiet alternattivi.

Prekawzjonijiet

Meta taħdem bis-sustanzi kimiċi, dejjem ilbes ġagaga tal-laboratorju xierqa, ingwanti li jintremew, u gogils protettivi. Għal aktar informazzjoni, jekk jogħġbok ikkonsulta l-iskedi ta' data ta' sigurtà (Safety Data Sheets, SDSs) xierqa. Dawn huma disponibbli online f'format PDF konvenjenti u kompatt fuq www.qiagen.com/safety, fejn tista' ssib, tara u tipprintja l-SDS għal kull kitt u komponent tal-kitt QIAGEN®.



ATTENZJONI: Immaniġġja d-demm u l-plażma tal-bniedem daqslikieku kienu potenzjalment infettivi. Osserva linji gwida tal-immaniġġjar rilevanti għad-demm u l-prodott tad-demm. Armi kampjuni u materjali li jiġu f'kuntatt mad-demm jew mal-prodotti tad-demm skont ir-regolamenti federali, tal-istat u dawk lokali.

Id-dikjarazzjonijiet ta' periklu u ta' prekawzjoni li ġejjin japplikaw għall-komponenti ta' QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA.

Dikjarazzjonijiet ta' Periklu



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

Fih: aċidu sulfuriku. Twissija! Jista' jkun korrużiv għall-metalli. Jagħmel irritazzjoni tal-ġilda. Jagħmel irritazzjoni serja lill-għajnejn. Ilbes ingwanti protettivi/ ilbies protettivi/ protezzjoni għall-għajnejn/ protezzjoni għall-wiċċ.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Twissija! Jagħmel irritazzjoni tal-ġilda ħafifa. Ilbes ingwanti protettivi/ ilbies protettivi/ protezzjoni għall-għajnejn/ protezzjoni għall-wiċċ.



QuantiFERON Green Diluent

Fih: trisodium 5-hydroxy-1-(4-sulphophenyl)-4-(4-sulphophenylazo)pyrazole-3-carboxylate. Fih: tartrazine. Twissija! Jista' jikkawża reazzjoni allerġika tal-ġilda. Ilbes ingwanti protettivi/ ilbies protettiv/ protezzjoni għall-għajnejn/ protezzjoni għall-wiċċ.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Jinkludi: Taħlita ta' 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one u 2-Methyl-2H - isothiazol-3-one (3:1). Jagħmel ħsara lill-organizmi akwatiċi b'mod li jħalli effetti dejjiema. Evita r-rilaxx fl-ambjent.

Dikjarazzjonijiet ta' Prekawzjoni

Ikkseb struzzjonijiet speċjali qabel l-użu. Ilbes ingwanti protettivi/ilbies protettiv/protezzjoni għall-għajnejn/protezzjoni għall-wiċċ. **F'KAŻ TA' KUNTATT MAL-ĠILDA** (jew ix-xagħar): Neħħi/Inża' mal-ewwel l-ilbies ikkontaminat. Laħlaħ il-ġilda bl-ilma/bix-xawer. **F'KAŻ TA' KUNTATT MAL-GĦAJNEJN**: Laħlaħ b'attenzjoni bl-ilma għal diversi minuti. Neħħi l-lentijiet tal-kuntatt, jekk ikun hemm u jkun faċli biex tneħħihom. Komplilaha. Jekk espost jew konċernat: Ikkonsulta tabib. Ikkuntattja ĊENTRU TAL-AVVELENAMENT jew tabib. Jekk ikun hemm irritazzjoni jew raxx tal-ġilda: Ikkonsulta tabib. Inża' l-ħwejjeġ kontaminati u aħsilhom qabel ma terġa' tużahom. Aħżen f'post imsakkar. Armi l-kontenut/kontenitur f'impjant għar-rimi tal-iskart approvat.

Aktar informazzjoni

Skedi ta' Data ta' Sigurtà: www.qiagen.com/safety

- Derivazzjonijiet mill-*QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Fuljett ta' Tagħrif* jistgħu jwasslu għal riżultati żbaljati. Jekk jogħġbok aqra l-istruzzjonijiet b'attenzjoni qabel l-użu.
- Tużax il-kitt jekk xi flixkun ta' reagent juri sinjali ta' ħsara jew tnixxija qabel l-użu.

-
- **Importanti:** Spezzjona I-kunjetti qabel l-użu. Tużax il-kunjetti Conjugate jew IFN- γ Standard li juru sinjali ta' ħsara jew jekk is-siġill tal-lasktu jkun ġie kompromess. Tużax kunjetti mkissrin. Flu l-prekawzjonijiet ta' sigurtà xierqa sabiex tarmi l-kunjetti b'mod sigur. **Rakkomandazzjoni:** Uża de-crimper tal-kunjett biex tiftaħ il-kunjetti Conjugate jew IFN- γ Standard sabiex timminimizza r-riskju ta' korriment mill-kappa tal-mettall li titgeżwer mal-flixxun.
 - Thallatx jew tużax Strixxi Microplate, IFN- γ Standard, Dilwent Aħdar, jew Konjugat 100x Konċentrat minn lottijiet differenti tal-kitt ta' QFT-Plus. Reaġenti oħra (Wash Buffer 20x Konċentrat, Soluzzjoni tas-Substrat tal-Enzima, u Soluzzjoni li Twaqqaf l-Enzima) jistgħu jintużaw minflok xulxin bejn il-kitts, diment li r-reaġenti jkunu fi żmien il-perjodi ta' skadenza tagħhom u li jitniżżlu d-dettalji tal-lott.
 - Armi reaġenti u kampjuni bijoloġiċi li ma jintużawx skont ir-regolamenti Lokali, tal-Istat u Federali.
 - Tużax il-QFT-Plus Blood Collection Tubes jew il-kitt ta' ELISA wara d-data ta' skadenza.
 - Wieħed għandu jikkonforma mal-proċeduri tal-laboratorju korretti l-ħin kollu.
 - Kun ċert li t-tagħmir tal-laboratorju ġie kkalbirat/validat għall-użu.

Ġbir ta' Kampjuni u Mmaniġġjar

QFT Plus juża t-tubi tal-ġbir li ġejjin:

1. QuantiFERON Tubu Nil (tapp griż b'ċirku abjad)
2. QuantiFERON Tubi TB1 (tapp aħdar b'ċirku abjad)
3. QuantiFERON Tubi TB2 (tapp isfar b'ċirku abjad)
4. QuantiFERON Tubi ta' Mitogen (tapp vjola b'ċirku abjad)
5. QuantiFERON Tubi HA Nil (tapp griż b'ċirku isfar)
6. QuantiFERON Tubi HA TB1 (tapp aħdar b'ċirku isfar)
7. QuantiFERON HA TB2 Tubi (tapp isfar b'ċirku isfar)
8. QuantiFERON Tubi HA ta' Mitogen (tapp vjola b'ċirku isfar)

L-antiġeni jkunu mnixxa fuq il-ġnub ta' ġewwa tat-tubi tal-ġbir tad-dem, għalhekk huwa essenzjali li l-kontenut tat-tubi jithallat sew mad-dem. Għal demm miġbud direttament fit-tubi ta' QFT-Plus, it-tubi ta' QFT-Plus għandhom jinżammu u jiġu ttrasportati f'temperatura ambjentali ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) u għandhom jiġu ttrasferiti għal inkubatur ta' 37°C malajr kemm jista' jkun u fi żmien 16-il siegħa minn meta jinġabru. Inkella, id-demm jista' jinġabar f'tubu wieħed ta' eparina tal-litju jew eparina tas-sodju għall-ħażna qabel jiġi ttrasferit għal QFT-Plus u l-inkubazzjoni. Il-kampjuni tad-demm miġbura f'eparina tal-litju jew f'eparina tas-sodju jistgħu jinħażnu sa massimu ta' 16-il siegħa f'temperatura ambjentali ($17\text{--}25^{\circ}\text{C}$) u mbagħad jiġu ttrasferiti għat-tubi ta' QFT-Plus. Il-kampjuni tad-demm f'tubi tal-eparina tal-litju jew eparina tas-sodju jistgħu jinħażnu wkoll f' $2\text{--}8^{\circ}\text{C}$ sa 48 siegħa qabel it-trasferiment għat-tubi ta' QFT-Plus. Irreferi għat-taqsimha "Ġbir tad-demm f'tubu wieħed ta' eparina tal-litju jew tas-sodju mbagħad ittrasferixxi għal QFT-Plus Blood Collection Tubes."

Iġbed dirett fit-Tubi tal-Ġbir tad-Demm ta' QFT-Plus

1. Immarka t-tubi b'mod xieraq.

Kun ċert li kull tubu (Nil, TB1, TB2, u Mitogen) ikun jista' jiġi identifikat mit-tikketta tiegħu jew b'mezzi oħra ladarba jitneħħa t-tapp.

Huwa rakkomandat li tniżżel il-ħin u d-data tal-ġbir tad-demm.

2. Għal kull pazjent, iġbed 1 ml ta' demm mit-toqba fil-vina direttament f'kull QFT-Plus Blood Collection Tube. Din il-proċedura għandha titwettaq minn flebotomista mħarreġ.

Nota importanti: It-tubi għandhom ikunu bejn 17°C u 25°C fil-ħin li jsir il-mili bid-demm.

Il-QFT-Plus Blood Collection Tube. Standard jistgħu jintużaw sa altitudni ta' 810 metri 'l fuq mil-livell tal-baħar. QFT-Plus Blood Collection Tubes ta' Altitudni Għolja jistgħu jintużaw bejn 1020 metru 'l fuq mil-livell tal-baħar sa altitudni ta' 1875 metru 'l fuq mil-livell tal-baħar.

Peress li t-tubi ta' 1 ml jiġbdu d-demm relattivament bil-mod, żomm it-tubu fuq il-labra għal 2–3 sekondi ladarba t-tubu jidher li ma baqax jimtela aktar. Dan ser jiżgura li jkun iġibed il-volum korrett.

- Il-marka s-sewda fuq il-ġenb tat-tubi tindika l-medda validata ta' 0.8 sa 1.2 ml. Jekk il-livell tad-demm f'xi tubu jkun barra mill-marka ta' indikazzjoni, għandu jinkiseb kampjun ġdid tad-demm. Mili mhux biżżejjed jew iżżejjed tat-tubu barra l-medda ta' 0.8 sa 1.2 ml jista' jwassal għal riżultati żbaljati.
- Jekk qed tintuża "butterfly needle" biex jinġabar id-demm, tubu "tat-tindif" għandu jintuża sabiex jiġi żgurat li t-tubu jimtela bid-demm qabel ma jintużaw it-tubi ta' QFT-Plus.
- Jekk qed jintużaw QFT-Plus Blood Collection Tubes f'altitudni oġġla minn 810 metri, jew jekk ikun hemm volum baxx ta' ġbid tad-demm, l-utenti jistgħu jiġbru d-demm permezz ta' siringa, u 1 ml jiġi ttrasferit immedjatament f'kull wieħed mill-4 tubi. Għal raġunijiet ta' sigurtà, dan l-aħjar li jsir billi titneħħa l-labra tas-siringa, jiġu żgurati proċeduri ta' sigurtà xierqa, jitneħħew it-tappijiet tal-4 tubi ta' QFT-Plus, u jiġi miżjud 1 ml ta' demm f'kull wieħed minnhom

(sa nofs il-marka s-sewda fil-ġenb tat-tikketta tat-tubu). Agħlaq it-tappijiet sew u ħawwadhom kif deskritt hawn taħt. Kun żgur li kull tubu (Nil, TB1, TB2, u Mitogen) ikun jista' jiġi identifikat mit-tikketta tiegħu jew b'mezzi oħra ladarba jitneħħa t-tapp.

3. Immedjament wara li timla t-tubi, ħawwadhom għal għaxar (10) darbiet b'saħħa biżżejjed biex tiżgura li l-wiċċ kollu ta' ġewwa tat-tubu jinkesa bid-dem. Dan sabiex l-antiġeni mal-wiċċ tat-tubu jinħallu.

Nota importanti: It-tubi għandhom ikunu bejn 17°C–25°C meta jkunu qed jithawdu. It-ħawwid b'saħħa żejda jista' jikkaguna sfaxxar tal-ġell u jista' jwassal għal riżultati anormali.

4. Wara li jkunu ġew tikkettati, mimlija, u mħawdin, it-tubi għandhom jiġu ttrasferiti f'inkubatur f'temperatura ta' 37°C ± 1°C malajr kemm jista' jkun, u fi żmien 16-il siegħa mill-ġbir. Qabel l-inkubazzjoni, żomm u ttrasporta t-tubi f'temperatura ambjentali (22°C ± 5°C). Jekk it-tubi ta' QFT-Plus ma jiġux inkubati f'37 C direttament wara l-ġbir tad-dem u jithawdu, eqleb it-tubi rashom 'l isfel biex tħallat 10 darbiet qabel l-inkubazzjoni f'37 C.
5. Inkuba t-tubi ta' QFT-Plus WEQFIN f'temperatura ta' 37°C ± 1°C għal bejn 16 sa 24 siegħa. L-inkubatur ma jeftieġx CO₂ jew umidifikazzjoni.

Ġbir tad-Demm f'tubu wieħed ta' eparina tal-litju jew tas-sodju mbagħad ittrasferixxi għat-QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Id-dem u jista' jingabar f'tubu wieħed tal-ġbir tad-dem u li jkun fih eparina tal-litju jew tas-sodju bħala l-antikoagulant imbagħad jiġi trasferit fi QFT-Plus Blood Collection Tubes. Uża biss eparina tal-litju jew tas-sodju bħala antikoagulant tad-dem minħabba li antikoagulanti oħrajn jinterferixxu mal-assaġġ. Immarka t-tubi b'mod xieraq.

Huwa rakkomandat li timmarka t-tubu bil-ħin u d-data tal-ġbir tad-dem.

Importanti: It-tubi tal-ġbir tad-dem għandhom ikunu f'temperatura ambjentali (17–25°C) meta jingabar id-dem.

2. Imla tubu tal-ġbir tad-demem tal-eparina tal-litju jew tas-sodju (volum minimu 5 ml) u ħallat bil-mod billi taqleb it-tubu diversi drabi rasu 'l isfel biex tinħall l-eparina. Din il-proċedura għandha titwettaq minn flebotomista mħarreg.
3. Żomm l-għażliet tal-ħin u tat-temperatura għal tubi tal-eparina tal-litju jew tas-sodju qabel it-trasferiment u l-inkubazzjoni fi QFT-Plus Blood Collection Tubes (ara l-Figuri 1-3 Għażliet tal-Ġbir tad-Demm).

Għażla 1 – Tubu tal-Eparina tal-Litju jew tas-Sodju Ħażna u Mmaniġġjar f' Temperatura Ambjentali Demm miġbur f'tubu tal-eparina tal-litju jew tas-sodju għandu jinżamm f' temperatura ambjentali ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) għal mhux aktar minn 16-il siegħa minn meta jinġabar qabel it-trasferiment għal Tubi tal-Ġbir tad-Demm ta' QFT-Plus u inkubazzjoni sussegwenti.

Għażla 2 – Tubu tal-Eparina tal-Litju jew tas-Sodju Ħażna u Mmaniġġjar fi Frigġ

Importanti: Il-passi proċedurali a–d għandhom jiġu segwiti wara xulxin.

- a. Id-demem li jinġibed f'tubu tal-eparina tal-litju jew tas-sodju jista' jinżamm f' temperatura ambjentali ($17\text{--}25^{\circ}\text{C}$) sa 3 sigħat wara li jinġabar id-demem.
- b. Id-demem li jinġibed f'tubu tal-eparina tal-litju jew tas-sodju jista' jinżamm fi frigġ ($2\text{--}8^{\circ}\text{C}$) sa 48 siegħa.
- c. Wara t-tkessiħ fi frigġ, tubu tal-eparina tal-litju jew tas-sodju għandu jiġi ekwilibrat għal temperatura ambjentali ($17\text{--}25^{\circ}\text{C}$) qabel it-trasferiment fi QFT-Plus Blood Collection Tubes.
- d. Tubi tal-Ġbir tad-Demm ta' QFT-Plus Alikwotati għandhom jitqiegħdu fl-inkubatur f' 37°C fi żmien sagħtejn mit-trasferiment tad-demem.

Jekk it-QFT-Plus Blood Collection Tubes ma jiġux inkubati f' 37°C direttament wara t-trasferiment għal QFT-Plus Blood Collection Tubes u jitħawdu, aqleb it-tubi rashom 'l isfel biex tħallat 10 darbiet qabel l-inkubazzjoni f' 37°C . Il-ħin totali minn meta jinġibed id-demem għall-inkubazzjoni fi QFT-Plus Blood Collection Tubes m'għandux jaqbeż 53 siegħa.

4. It-trasferiment tal-kampjun tad-demmm minn tubu tal-eparina tal-litju jew tas-sodju għal QFT-Plus Blood Collection Tubes:
 - a. Immarka kull QFT-Plus Blood Collection Tube kif xieraq.

Kun żgur li kull tubu (Nil, TB1, TB2, u Mitogen) ikun jista' jiġi identifikat mit-tikketta tiegħu jew b'mezzi oħra ladarba jitneħħa t-tapp. Huwa rakkomandat li tittrasferixxi l-ħin u d-data mniżżlin tal-ġbir tad-demmm mit-tubi tal-eparina tal-litju jew tas-sodju għall-QFT-Plus Blood Collection Tubes.
 - b. Il-kampjuni għandhom jiġihalltu indaqs billi jinqalbu rashom 'l isfel bil-mod qabel jiġu dispensati fit- QFT-Plus Blood Collection Tubes.
 - c. Id-dispensar għandu jsir b'mod asettiku, billi jiġu żgurati proċeduri ta' sigurtà xierqa, bit-tneħħija tat-tappijiet mill-4 QFT-Plus Blood Collection Tubes u biż-żieda ta' 1 ml demm f'kull tubu. Issostitwixxi t-tappijiet tat-tubi b'mod sigur u ħallat kif deskritt hawn isfel. Kun żgur li kull tubu (Nil, TB1, TB2, u Mitogen) ikun jista' jiġi identifikat mit-tikketta tiegħu jew b'mezzi oħra ladarba jitneħħa t-tapp.
5. Ħallat it-tubi. Immedjatament wara li timla l-QFT-Plus Blood Collection Tubes, ħawwadhom għal għaxar (10) darbiet b'saħħa biżżejjed biex tiżgura li l-wiċċ kollu ta' ġewwa tat-tubu jinkesa bid-demmm. Dan sabiex l-antiġeni mal-wiċċ tat-tubu jinħallu.

It-tħawwid b'saħħa żejda jista' jikkaguna sfaxxar tal-ġell u jista' jwassal għal riżultati anormali.
6. Wara li jkunu ġew tikkettati, mimlija, u mħawdin, it-tubi għandhom jiġu ttrasferiti f'inkubatur ta' $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ fi żmien sagħtejn. Jekk il-QFT-Plus Blood Collection Tubes ma jiġux inkubati f' 37°C direttament wara l-ġbir tad-demmm u jiġihawdu, aqleb it-tubi rashom 'l isfel biex tħallat 10 darbiet (10x) qabel l-inkubazzjoni f' 37°C . (Ara l-Figuri 1–3, il-paġna li jmiss, għal għażliet tal-ġbir tad-demmm).
7. Inkuba l-QFT-Plus Blood Collection Tubes WEQFIN f' $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ għal 16 sa 24 siegħa. L-inkubatur ma jeħtieġx CO_2 jew umidifikazzjoni.

Iġbed fi QFT-Plus Blood Collection Tubes u żomm f'temperatura ambjentali.

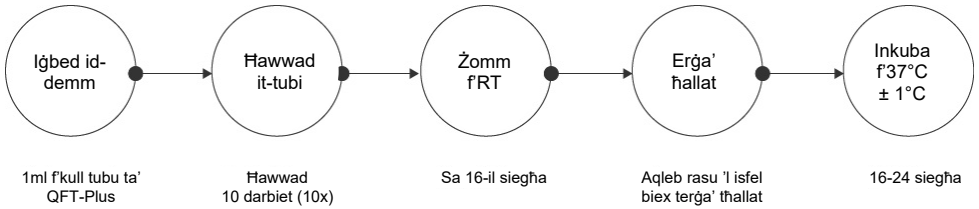


Figura 1. Għażla tal-ġbir tad-demm: Iġbed direttament fi QFT-Plus Blood Collection Tubes u żomm f'temperatura ambjentali.

Il-hin totali minn meta jinġibed id-demm fi QFT-Plus Blood Collection Tubes għall-inkubazzjoni f'37 C m'għandux jaqbeż 16-il siegħa.

Iġbed f'tubu tal-eparina tal-litju jew tas-sodju u żomm f'temperatura ambjentali.

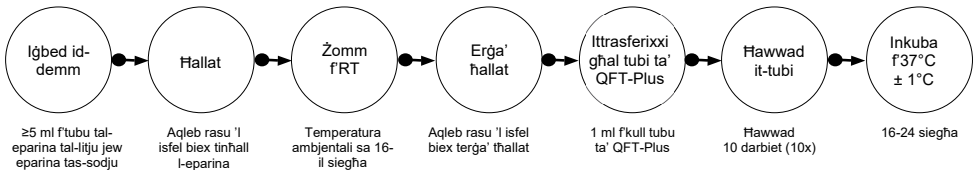


Figura 2. Għażla tal-ġbir tad-demm: Iġbed f'tubu tal-eparina tal-litju jew tas-sodju u żomm f'temperatura ambjentali.

Il-hin totali minn meta jinġibed id-demm f'tubu tal-eparina tal-litju jew tas-sodju għal inkubazzjoni f'37 C m'għandux jaqbeż 16-il siegħa.

Iġbed f'tubi tal-eparina tal-litju jew tas-sodju u żomm f'2–8°C.

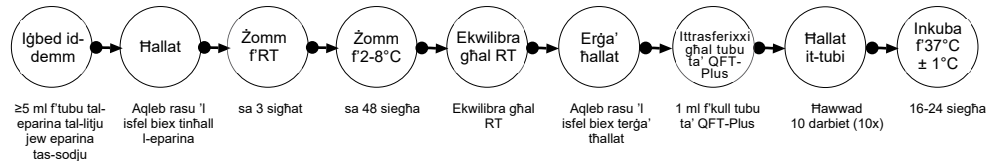


Figura 3. Għażla tal-ġbir tad-demm: Iġbed f'tubu tal-eparina tal-litju jew tas-sodju u żomm f'2–8°C.

Il-hin totali minn meta jinġibed id-demm f'tubu tal-eparina tal-litju jew tas-sodju għal inkubazzjoni f'37 C m'għandux jaqbeż 53 siegħa.

Direzzjonijiet għall-Użu

Stadju 1 – Inkubazzjoni tad-demem u ġbir tal-plażma

Materjali pprovduti

- QFT-Plus Blood Collection Tubes (Irreferi għal Taqsima 3)

Materjali meħtieġa (iżda mhux ipprovduti)

- Irreferi għal Taqsima 3

Proċedura

1. **Jekk id-demem ma jkunx inkubat immedjatement wara l-ġbir, it-tubi għandhom jiġihalltu mill-ġdid billi taqlibhom rashom 'l isfel 10 darbiet immedjatement qabel l-inkubazzjoni.**
2. **Inkuba t-tubi WEQFIN f'37°C ± 1°C għal 16 sa 24 siegħa. L-inkubatur ma jeħtieġx CO₂ jew umidifikazzjoni.**
3. **Wara l-inkubazzjoni f'37°C, it-tubi tal-ġbir tad-demem jistgħu jinżammu f'4°C u 27°C sa 3 ijiem qabel iċ-ċentrifugazzjoni.**
4. **Wara l-inkubazzjoni tat-tubi f'37°C, il-ġbir tal-plażma jiġi ffacilitat minn ċentrifugazzjoni tat-tubi għal 15-il minuta f'2000 sa 3000 x RCF (g). Il plagg tal-ġell ser jissepara ċ-ċellooli mill-plażma. Jekk dan ma jseħħx, it-tubi għandhom jerġgħu jiġu ċċentrifugati.**

Huwa possibbli li l-plażma tingabar mingħajr ċentrifugazzjoni, iżda hemm bżonn ta' attenzjoni addizzjonali sabiex il-plażma titneħħa mingħajr ma tiddisturba ċ-ċellooli.

5. **Kampjuni tal-plażma għandhom jinġabru biss permezz ta' pipetta.**

Nota importanti: Wara ċ-ċentrifugazzjoni, evita li tippipetta 'l fuq jew 'l isfel jew li thallat il-plażma b'xi mod ieħor qabel il-ġbir. Fi kwalunkwe hin, oqgħod attent li ma tiddisturbax materjal fuq il-wiċċ tal-ġell.

Il-kampjuni ta' plazma jistgħu jiġu kkargati minn tubi tal-ġbir tad-demem ċentrifugat għal ġol-plejt ta' QFT-Plus ELISA, li jinkludi meta jintużaw stazzjonijiet tax-xogħol awtomatizzati ta' ELISA.

Il-kampjuni tal-plażma jistgħu jinħażnu sa 28 jum f'2°C sa 8°C jew, jekk jingabru, taħt -20°C għal perjodi estiżi.

Għal kampjuni adegwati tat-test, iġbor mill-inqas 150 µl tal-plażma.

Stadju 2 – IFN- γ ELISA

Materjali pprovduti

- QFT-Plus ELISA kitt (Irreferi għal Taqsima 3)

Materjali meħtieġa iżda mhux ipprovduti

- Irreferi għal Taqsima 3.

Proċedura

- 1. Il-kampjuni kollha tal-plażma u r-reagenti, minbarra Konjugat 100x Konċentrat, għandhom jingiebu f'temperatura ambjentali (22°C \pm 5°C) qabel jintużaw. Ħalli mill-inqas 60 minuta għall-ekwilibrizzjoni.**
- 2. Neħhi l-istrixxi li mhumiex meħtieġa mill-qafas, issiġilla mill-ġdid il-pawċ tal-fojl, u poġġi lura fil frigġ għal hażna sakemm jerga' jkun meħtieġ.**

Ħalli tal-anqas strixxa 1 għall-istandards ta' QFT-Plus u biżżejjed strixxi għall-għadd ta' individwi li qed jiġu ttestjati (irreferi għal Figura 5). Wara l-użu, żomm il-qafas biex tużah mal-istrixxi li fadal.

- 3. Irrikostitwixxi l-Istandard tal-IFN- γ bil-volum ta' ilma dejonizzat jew distillat indikat fuq it-tikketta tal-kunjett. Ħallat bil-mod sabiex timminimizza r-ragħwa u aċċerta li jkun hemm solubilizzazzjoni kompluta. Ir rikostituzzjoni tal-istandard għall-volum iddikjarat ser tipproduċi soluzzjoni b'konċentrazzjoni ta' 8.0 IU/ml.**

Nota importanti: Il-volum ta' rikostituzzjoni tal-kitt standard ser ikun differenti bejn il lottijiet. Uża l-kitt standard rikostitwit biex tipproduci dilwizzjoni 1 fi 2 segwita minn serje ta' dilwizzjoni 1 f4 ta' IFN- γ f'Dilwent Aħdar (Green Diluent, GD) (ara Figura 4). S1 (Standard 1) fih 4.0 IU/ml, S2 (Standard 2) fih 1.0 IU/ml, S3 (Standard 3) fih 0.25 IU/ml, u S4 (Standard 4) fih 0 IU/ml (GD biss). L-istandards għandhom jiġu assaġġati mill-ingas f'duplikat. Ipprepara dilwizzjonijiet friski tal-kitt standard għal kull sessjoni ta' ELISA.

Proċedura rakkomandata għal standards duplikati
Immarka 4 tubi "S1", "S2", "S3", "S4."
Žid 150 μl ta' GD ma' S1, S2, S3, S4.
Žid 150 μl tal-kitt standard ma' S1 u ħallat sew.
Ittrasferixxi 50 μl minn S1 għal S2 u ħallat sew.
Ittrasferixxi 50 μl minn S2 għal S3 u ħallat sew.
GD waħdu jservi bħala l-istandard zero (S4).

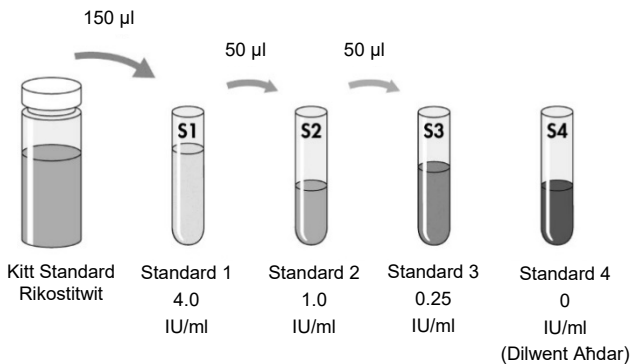


Figura 4. Preparazzjoni tal-kurva standard.

4. Irikkostitwixxi Konjugat 100x Konċentrat Ijofilizzat b'0.3 ml ta' ilma dejonizzat jew distillat. Hallat bil-mod biex timminimizza r-ragħwa u żgura solubilizzazzjoni sħiħa tal-konjugat.

Il-konjugat tal-qawwa tax-xogħol jittejjja billi jiġi dilwit l-ammont meħtieġ ta' Konjugat 100x Konċentrat rikostitwit f'Dilwent Aħdar (Tabella 1. Preppazzjoni tal-Konjugat). Irritorna kull Conjugate 100x Concentrate li ma jkunx intuża lura għal 2°C sa 8°C immedjatament wara l-użu. Uża biss Green Diluent.

Tabella 1. Preppazzjoni tal-Konjugat

Għadd ta' strixxi	Volum ta' Konjugat 100x Konċentrat	Volum tad-Dilwent Aħdar
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. Għal kampjuni tal-plażma miġbura minn tubi tal-ġbir tad-dem u maħzuna sussegwentement (fi friġġ jew fil-friża), hallat il-kampjuni qabel iż-żieda mat-toqba ta' ELISA.

Nota importanti: Jekk il-kampjuni tal-plażma għandhom jiġu miżjudin direttament mit-tubi ta' QFT-Plus ċentrifugati, kwalunkwe taħlit tal-plażma għandu jiġi evitat. Fi kwalunkwe ħin, oqgħod attent li ma tiddisturbax materjal fuq il-wiċċ tal-ġell.

6. Żid 50 µl ta' konjugat ta' qawwa li ser taħdem biha li jkun għadu kif ġie preparat għal got-toqob ta' ELISA meħtieġa b'pipetta b'aktar minn kanal wieħed.

7. **Żid 50 µl tal-kampjuni tal-plażma tat-test mat-toqob xierqa billi tuża pipetta b'aktar minn kanal wieħed (irreferi għat-tfassil rakkomandat tal-plejt f'Figura 5). Finalment, żid 50 µl għal kull wieħed minn standard 1 sa 4.**

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
A	1 N	3 N	5 N	7 N	9 N	S1	S1	13 N	15 N	17 N	19 N	21 N
B	1 TB1	3 TB1	5 TB1	7 TB1	9 TB1	S2	S2	13 TB1	15 TB1	17 TB1	19 TB1	21 TB1
C	1 TB2	3 TB2	5 TB2	7 TB2	9 TB2	S3	S3	13 TB2	15 TB2	17 TB2	19 TB2	21 TB2
D	1 M	3 M	5 M	7 M	9 M	S4	S4	13 M	15 M	17 M	19 M	21 M
E	2 N	4 N	6 N	8 N	10 N	11 N	12 N	14 N	16 N	18 N	20 N	22 N
F	2 TB1	4 TB1	6 TB1	8 TB1	10 TB1	11 TB1	12 TB1	14 TB1	16 TB1	18 TB1	20 TB1	22 TB1
G	2 TB2	4 TB2	6 TB2	8 TB2	10 TB2	11 TB2	12 TB2	14 TB2	16 TB2	18 TB2	20 TB2	22 TB2
H	2 M	4 M	6 M	8 M	10 M	11 M	12 M	14 M	16 M	18 M	20 M	22 M

Figura 5. Tfassil tal-kampjun rakkomandat (22 test għal kull plejt)

S1 (Standard 1), S2 (Standard 2), S3 (Standard 3), S4 (Standard 4)

1 N (Kampjun 1. Nil plażma), 1 TB1 (Kampjun 1. TB1 plażma), 1 TB2 (Kampjun 1. TB2 plażma), 1 M (Kampjun 1. plażma ta' Mitogen)

8. **Għatti kull plejt u ħallat il-konjugat u l-kampjuni/l-istandards tal-plażma sew billi tuża shaker għal microplate għal minuta. Evita li ttajjar.**
9. **Għatti kull plejt u inkuba f'temperatura ambjentali (22 C ± 5°C) għal 120± 5 minuti.**
Il-plejts m'għandhomx jiġu esposti għal xemx diretta waqt l-inkubazzjoni.
10. **Waqt l-inkubazzjoni, iddilwixxi parti waħda ta' Wash Buffer 20x Konċentrat b'19-il parti ta' ilma dejonizzat jew distillat u ħallat sew. Gie pprovdut biżżejjed Wash Buffer 20x Konċentrat biex jithejjew 2 litri ta' wash buffer ta' qawwa biex taħdem bih.**
Aħsel it-toqob b'400 µl ta' qawwa tax-xogħol ta' wash buffer għal tal-inqas 6 ċikli. Huwa rakkomandat li tuża plate washer awtomatizzata.

Hasil sew huwa importanti ħafna għall-prestazzjoni tal-assaġġ. Kun ċert li kull toqba tkun **mimlija kompletament** bil-wash buffer sa fuq nett tat-toqba għal kull ċiklu tal-ħasil. Huwa rakkomandat perjodu ta' tlaħliħ ta' mill-anqas 5 sekondi bejn kull ċiklu.

Għandu jiġdied diżinfettant standard tal-laboratorju mar-riċipjent tal-effluwent, u għandhom jiġu segwiti proċeduri stabbiliti għad-dekontaminazzjoni ta' materjal potenzjalment infettiv.

11. **Taptap il-plejts wiċċhom 'l isfel fuq xugaman assorbenti ħieles mit-tnietex biex tneħħi l-wash buffer li jkun fadal. Żid 100 µl ta' Soluzzjoni tas-Substrat tal-Enzima ma' kull toqba, għatti kull plejt, u ħallat sew billi tuża shaker għal microplate.**
12. **Għatti kull plejt u inkuba f'temperatura ambjentali (22 C ± 5°C) għal 30 minuta.**
Il-plejts m'għandhomx jiġu esposti għal xemx diretta waqt l-inkubazzjoni.
13. **Wara l-inkubazzjoni ta' 30 minuta, žid 50 µl ta' Soluzzjoni li Twaqqaf l-Enzima ma' kull toqba u ħallat.**
Soluzzjoni li Twaqqaf l-Enzima għandha tiġdied mat-toqob fl-istess ordni u bejn wieħed u ieħor bl-istess veloċità bħas-substrat fl-istadju 11.
14. **Kejfel id-Densità Ottika (Optical Density, OD) ta' kull toqba fi żmien 5 minuti wara li tkun waqqaft ir-reazzjoni permezz tal-qarrej tal-microplate mgħammar b'filtru ta' 450 nm u b'filtru ta' referenza ta' 620 nm sa 650 nm. Il-valuri OD jintużaw biex jiġu kkalkulati r-riżultati.**

Kalkoli u Interpretazzjoni tat-Test

Is-Softwer ta' Analizi ta' QFT-Plus jista' jintuża biex tiġi analizzata data mhux ipproċessata u jiġu kkalkulati r-riżultati. Dan huwa disponibbli minn **www.QuantiFERON.com**. Jekk jogħġbok kun ċert li qed tintuża l-aktar verżjoni kurrenti tas-Softwer ta' Analizi ta' QFT-Plus.

Is-softwer iwettaq valutazzjoni ta' kontroll tal-kwalità tal-assaġġ, jiġġenera kurva standard, u jagħti riżultat tat-test għal kull individwu, kif iddettaljat fit-taqsimha Interpretazzjoni tar-Riżultati.

Bħala alternattiva għall-użu tas-Softwer ta' Analizi ta' QFT-Plus, ir-riżultati jistgħu jiġu determinati skont il-metodu li ġej.

Ġenerazzjoni tal-kurva standard

(Jekk ma jintużax is-Softwer ta' Analizi ta' QFT-Plus)

Iddetermina l-valuri medji OD tar-repliki tal-kitt standard fuq kull plejt.

Fassal kurva standard $\log_{(e)}\text{-}\log_{(e)}$ billi tipplottja $\text{I-log}_{(e)}$ tal-OD medja (assi y) kontra $\text{I-log}_{(e)}$ tal-koncentrazzjoni ta' IFN- γ tal-istandards f'IU/ml (assi x), billi tneħħi l-istandard żero minn dawn il-kalkoli. Ikkalkula l linja li toqgħod l-aħjar għall-kurva standard permezz tal-analizi tar-rigressjoni.

Uża l-kurva standard biex tiddetermina l-koncentrazzjoni tal-IFN- γ (IU/ml) għal kull kampjun tal-plażma tat test, billi tuża l-valur OD ta' kull kampjun.

Dawn il-kalkoli jistgħu jitwettqu permezz tal-pakketti ta' softwer disponibbli mal-microplate readers, u software standard tal-ispreadsheets jew statistiku (bħal Microsoft® Excel®). Huwa rakkomandat li dawn il pakketti jintużaw biex tikkalkula l-analizi tar-rigressjoni, il-koeffiċjent tal-varjazzjoni (%CV) għall-istandards, u l-koeffiċjent ta' korrelazzjoni (r) tal-kurva standard.

II-Kontroll tal-kwalità tat-test

Il-precizjoni tar-riżultati tat-test hija dipendenti fuq il-generazzjoni ta' kurva standard preciza. Għalhekk, ir-riżultati dderivati mill-istandards għandhom jiġu eżaminati qabel ma r-riżultati tal-kampjuni tat-test jkunu jistgħu jiġu interpretati.

Sabiex ELISA tkun valida:

- Il-valur medju OD għal Standard 1 għandu jkun ≥ 0.600 .
- Il-%CV għall-valuri OD replikati ta' Standard 1 u Standard 2 għandu jkun ≤ 15 %.
- Valuri ta' OD replikati għal Standard 3 u Standard 4 m'għandhomx ivarjaw b'aktar minn 0.040 ta' unitajiet ta' densità ottika mill-medja tagħhom.
- Il-koeffiċjent ta' korrelazzjoni (r) ikkalkulat mill-valuri ta' assorbenza medji tal-istandards għandu jkun ≥ 0.98 .

Is-Softwer ta' Analizi ta' QFT-Plus jikkalkula u jirrapporta dawn il-parametri ta' kontroll tal-kwalità.

Jekk il-kriterji msemmija hawn fuq ma jintlaħqux, it-test ma jkunx validu u għandu jiġi ripetut.

Il-valur medju OD għall-Istandard Żero (Dilwent Aħdar) għandu jkun ≤ 0.150 . Jekk il-valur OD medju huwa > 0.150 , il-proċedura ta' hasil tal-plejt għandha tiġi investigata.

Intepretazzjoni tar-riżultati

Ir-riżultati ta' QFT-Plus jiġu intepretati permezz tal-kriterji li ġejjin (Tabella 2):

Nota importanti: Id-dijanjozi jew l-esklużjoni tal-marda tat-tuberkulozi, u l-valutazzjoni tal-probabbiltà tal-LTBI, teñtieg kombinazzjoni ta' sejbiet epidemjoloġiċi, storiċi, mediċi u dijanjostiċi li għandhom jiġu kkunsidrati meta jiġu intepretati r-riżultati ta' QFT-Plus.

Tabella 2. Interpretazzjoni tar-riżultati ta' QFT-Plus

Nil (IU/ml)	TB1 b'Nil imnaqqas (IU/ml)	TB2 b'Nil imnaqqas (IU/ml)	Mitogen b'Nil imnaqqas (IU/ml)*	Riżultat ta' QFT-Plus	Rapport/Interpretazzjoni
≤8.0	≥0.35 u ≥ 25% ta' valur Nil	Kwalunkwe	Kwalunkwe	Pożittiv†	Probabbli infezzjoni b' <i>M. tuberculosis</i>
	Kwalunkwe	≥0.35 u ≥ 25% ta' valur Nil			
	<0.35 jew ≥0.35 u <25% ta' valur Nil	<0.35 jew ≥0.35 u <25% ta' valur Nil	≥0.5	Negattiv	MHUX probabbli infezzjoni b' <i>M. tuberculosis</i>
	<0.35 jew ≥0.35 u <25% ta' valur Nil	<0.35 jew ≥0.35 u <25% ta' valur Nil	<0.5	Indeterminat‡	Il-probabbiltà ta' infezzjoni b' <i>M. tuberculosis</i> ma tistax tiġi determinata
>8.0§		Kwalunkwe		Indeterminat‡	Il-probabbiltà ta' infezzjoni b' <i>M. tuberculosis</i> ma tistax tiġi determinata

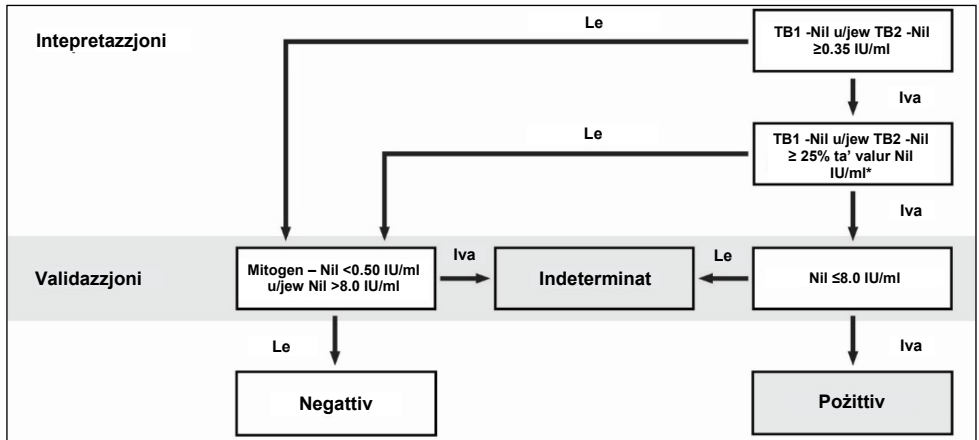
* Ir-risponsi għall-kontrolli pożittivi ta' Mitogen (u xi drabi Antigens tat-TB) jistgħu jkunu 'l barra mill-medda tal-qarrej tal-microplate. Dan m'għandu l-ebda impatt fuq ir-riżultati kwalitattivi. Valuri ta' >10 ml jiġu rrapportati mis-softwer ta' QFT-Plus bħala >10 IU/ml.

†Fejn ma tiġix issuspettata infezzjoni b'*M. tuberculosis*, riżultati li inizjalment jkunu pożittivi jistgħu jiġu kkonfermati billi l-kampjuni tal-plażma oriġinali jerġgħu jiġu ttestjati f'duplikat fil-QFT-Plus ELISA. Jekk ittestjar ripetut ta' wieħed jew iż-żewġ replikati jkun pożittiv, l-individwu għandu jitqies pożittiv għat-test.

‡Irreferi għat-taqsima "Individwazzjoni ta' soluzzjoni" għal kawżi possibbli.

§ FI-istudji kliniċi, inqas minn 0.25 % tal-individwi kellhom livelli ta' IFN- γ ta' >8.0 IU/ml għall-valur Nil.

Id-daqs tal-livell tal-IFN- γ imkejjel ma jistax jiġi korrelat ma' stadju jew grad ta' infezzjoni, livell ta' responsività immuni, jew probabbiltà għall-progressjoni għal marda attiva. Rispons għat-TB pożittiv f'persuni li huma negattivi għall-Mitogen huwa rari, iżda deher f'pazjenti bil-marda tat-TB. Dan jindika li r-rispons tal-IFN- γ għall-Antiġen tat-TB huwa ikbar minn dak għall-Mitogen, li huwa possibbli peress li l-livell tal-Mitogen ma jstimulax bl-aktar mod possibbli l-produzzjoni tal-IFN- γ mil-limfoċiti.



* Biex TB1 b'Nil imnaqqas jew TB2 b'Nil imnaqqas ikun validu, l-ammont $\geq 25\%$ tal-valur Nil IU/ml għandu jkun mill-istess tubu bħar-riżultat originali ta' ≥ 0.35 IU/ml.

Figura 6. Dijagramma sekwenzjali ta' intepretazzjoni ta' QFT-Plus

Limitazzjonijiet

Ir-riżultati mill-ittestjar ta' QFT-Plus għandhom jintużaw flimkien ma' kull epidemjoloġija tal-individwu, l-istat mediku attwali, u evalwazzjonijiet dijanjostiċi oħra.

Individwi b'valuri Nil akbar minn 8.0 IU/ml jiġu kklassifikati bħala "Indeterminati" peress li rispons ogħla ta' 25 % għall-antigeni tat-TB jista' jkun barra mill-medda tal-kejl tal-assaġġ.

Riżultati mhux affidabbli jew indeterminati jistgħu jseñhu minħabba:

- Devjazzjonijiet mill-proċedura deskritti f'dan il-fuljett ta' tagħrif
- Livelli eċċessivi ta' IFN- γ ċirkolanti jew preżenza ta' antikorpi ta' eterofili
- Żmien itwal minn 16-il siegħa bejn it-teħid tal-kampjun tad-demmu u l-inkubazzjoni f'37°C. Dan mhux applikabbli jekk jintuża fluss tax-xogħol bit-tubu tal-eparina tal-litju jew tal-eparina tas-sodju f'2-8°C.

Karatteristiċi tal-Prestazzjoni

Studji kliniċi

Peress li m'hemm l-ebda test definit għal-LTBI, stima tas-sensittività u speċifità għal QFT-Plus ma tistax tiġi evalwata b'mod prattiku. L-ispeċifità ta' QFT-Plus kienet imqarba billi ġew evalwati r-rati pożittivi foloz fil-persuni b'riskju baxx (l-ebda fattur ta' riskju magħruf) ta' infezzjoni tat-tuberkulozi. Is-sensittività ġiet imqarba billi ġew evalwati l-gruppi ta' pazjenti b'marda tat-TB attiva kkonfermata mill-koltura.

Speċifità

Ġie konkluż studju li evalwa l-ispeċifità ta' QFT-Plus f'409 individwi. Informazzjoni demografika u fatturi ta' riskju għal esponiment tat-TB ġew determinati permezz ta' sħarriġ standardizzat meta sar l-ittestjar.

F'sommarju ta' sejbiet miż-2 gruppi ta' pazjenti b'riskju baxx (l-ebda fattur ta' riskju magħruf) għal infezzjoni tat-tuberkulozi, l-ispeċifità globali ta' QFT-Plus kienet 97.6% (399/409) (Tabella 3 u Tabella 4).

Tabella 3. Riżultati tal-istudju tal-ispeċifità ta' QFT-Plus skont is-sit tal-istudju

Studju	Pożittiv	Negattiv	Indeterminat	Speċifità (95% CI)
Il-Ġappun	4	203	0	98% (95–100%)
L-Awstralja	6	196	0	97% (94–99%)

Tabella 4. Riżultati tal-istudju tal-ispeċifità ta' QFT-Plus skont it-tubu tal-antigen tat-TB

Studju	TB1	TB2	QFT-Plus
Pożittiv	5	10	10
Negattiv	404	399	399
Indeterminat	0	0	0
Speċifità (95% CI)	98.8% (97.2–99.6)	97.6% (95.6–98.8)	97.6% (95.6–98.8)

Sensittività għal TB attiva

Filwaqt li m'hemm l-ebda test standard definittiv għal LTBI, surrogat xieraq huwa l-kultura mikrobijoloġika ta' *M. tuberculosis* għax pazjenti bil-marda, skont id-definizzjoni, huma infettati. Suspetti tat-TB minn 4 siti tal-istudju fl-Awstralja u fil-Ġappun li sussegwentement ġew ikkonfermati li kellhom infezzjoni b'*M. tuberculosis* bil-kultura ġew ittestjati biex tiġi evalwata s-sensittività ta' QFT-Plus (Tabella 5 u Tabella 6). Il-pazjenti kienu rċivew inqas minn 14-il jum ta' trattament qabel il-ġbir tad-demem għall-ittejtjar b'QFT-Plus.

F'sommarju ta' sejbiet mill-4 gruppi ta' pazjenti pożittivi għall-kultura ta' *M. tuberculosis*, is-sensittività globali ta' QFT-Plus għall-marda tat-TB attiva kienet 95.3 % (164/172). Fl-4 gruppi, 159 pazjent kienu pożittivi kemm bit-tubu ta' TB1 kif ukoll ta' TB2, pazjent 1 kien pożittiv b'TB1 biss, u 4 kienu pożittivi b'TB2 biss. Total ta' 1.1% (2/174) tar-riżultati kienu indeterminati. Ir-riżultat ta' TB2 korrettament identifika pazjent 1 ikkonfermat bil-kultura li kien ikun indeterminat (Mitogen baxx) b'riżultat ta' TB1 biss (ara Tabella 5 u Tabella 6).

Tabella 5. Riżultati tal-istudju tas-sensittività ta' QFT-Plus skont is-sit tal-istudju

Siti tal-istudju	Pożittiv	Negattiv	Indeterminat	Sensittività ta' QFT-Plus* (95% CI)
Sit tal-Ġappun 1	36	7	0	84% (69–93)
Sit tal-Ġappun 2	53	1	2	98% (90–100)
Sit tal-Ġappun 3	54	0	0	100% (93–100)
Sit tal-Awstralja	21	0	0	100% (84–100)

* Is-sensittività hija bbażata fuq in-numru totali ta' testijiet validi, minbarra riżultati indeterminati.

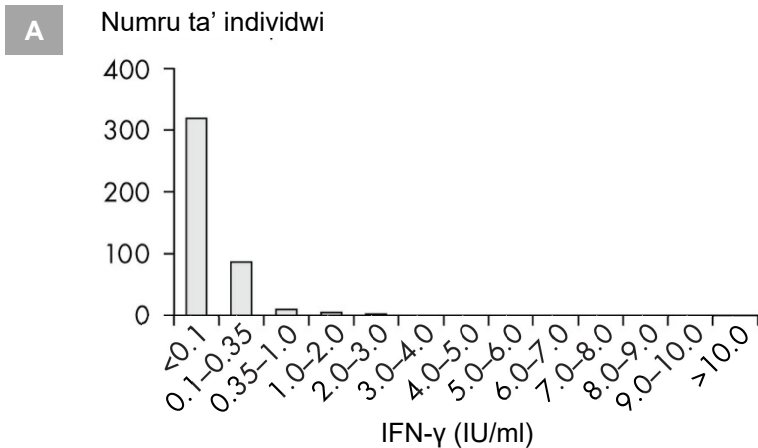
Tabella 6. Riżultati tal-istudju tas-sensittività ta' QFT-Plus skont it-tubu tal-antiġen ta' TB

	TB1	TB2	QFT-Plus
Pożittiv	160	163	164
Negattiv	11	9	8
Indeterminat	3	2	2
Sensittività [†] (95% CI)	93.6% (88.8–96.7)	94.8% (90.3–97.6)	95.3% (90.9–97.9)

* Is-sensittività hija bbażata fuq in-numru totali ta' testijiet validi, minbarra riżultati indeterminati.

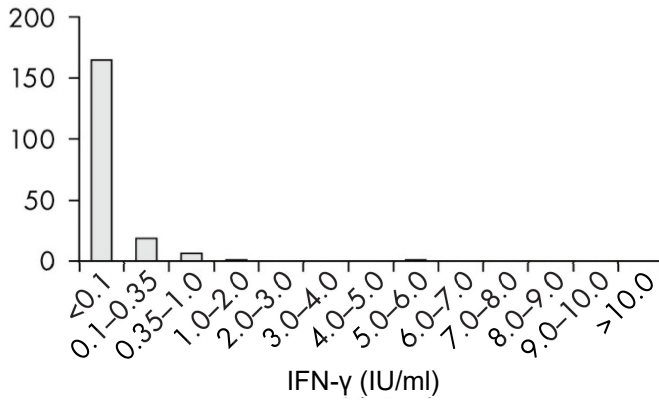
Distribuzzjonijiet tar-rispons osservati – riskju stratifikat

Ġiet osservata medda ta' rispons tal-IFN- γ għat-tubi ta' TB1, TB2 u ta' kontrolli fil-provi kliniċi u ġew stratifikati skont ir-riskju ta' infezzjoni b'*M. tuberculosis* (Figuri 7–9). Il-grupp ta' riskju mħallat jikkonsisti minn individwi rappreżentattivi ta' popolazzjoni ta' ttestjar ġenerali, li jinkludu individwi bi u mingħajr fatturi ta' riskju għal esponiment ta' TB, u fejn TB attiva mhijjex probabbli (jiġifieri, LTBI).



B

Numru ta' individwi

**C**

Numru ta' individwi

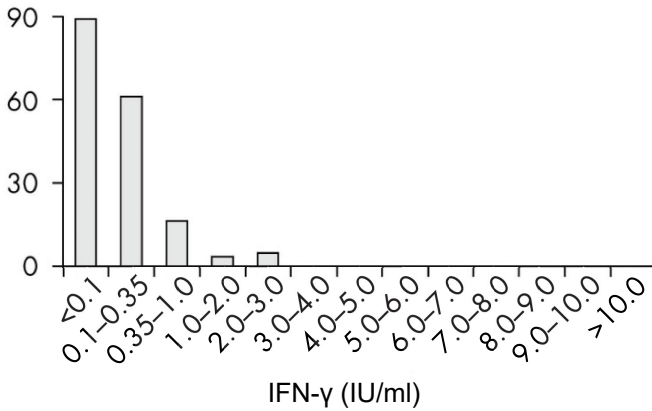


Figura 7. Distribuzzjoni ta' Nil. **A.** Distribuzzjoni ta' valuri Nil f'popolazzjoni b'riskju baxx (n=409). **B.** Distribuzzjoni ta' valuri Nil f'popolazzjoni b'riskju mħallat (n=194). **C.** Distribuzzjoni ta' valuri Nil f'popolazzjoni b'infezzjoni b'M. tuberculosis ikkonfermata mill-koltura (n=174).

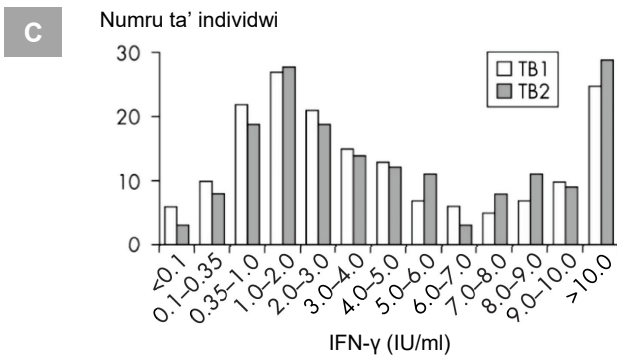
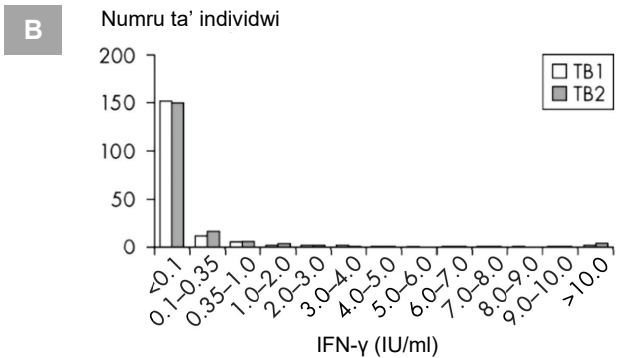
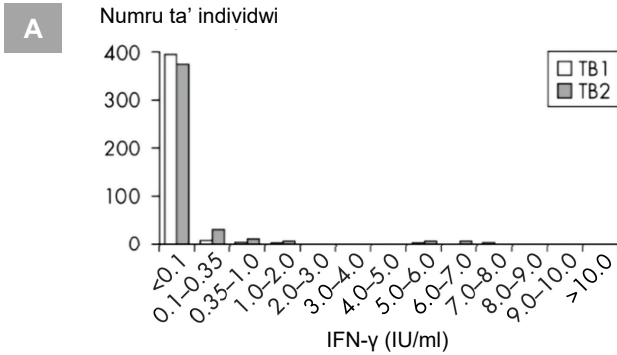


Figura 8. Distribuzzjoni ta' TB1 u TB2 (nil imnaqqas). **A.** Distribuzzjoni ta' valuri ta' TB1 u TB2 (nil imnaqqas) f'popolazzjoni b'riskju baxx (n=409). **B.** Distribuzzjoni ta' valuri ta' TB1 u TB2 (nil imnaqqas) f'popolazzjoni b'riskju mħallat (n=194). **C.** Distribuzzjoni ta' valuri ta' TB1 u TB2 (nil imnaqqas) f'popolazzjoni b'infezzjoni b'*M. tuberculosis* ikkonfermata mill-kultura (n=174).

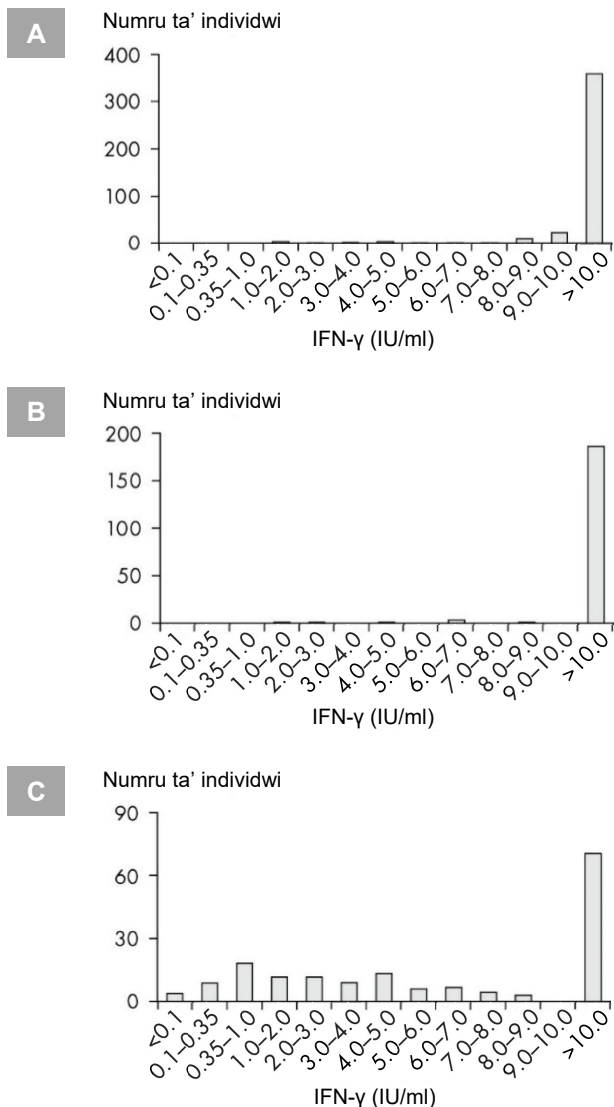


Figura 9. Distribuzzjoni ta' Mitogen (nil imnaqqas). **A.** Distribuzzjoni ta' valuri ta' Mitogen (nil imnaqqas) f'popolazzjoni b'riskju baxx (n=409). **B.** Distribuzzjoni ta' valuri ta' Mitogen (nil imnaqqas) f'popolazzjoni b'riskju mhallat (n=194). **C.** Distribuzzjoni ta' valuri ta' Mitogen (nil imnaqqas) f'popolazzjoni b'infezzjoni b'*M. tuberculosis* ikkonfermata mill-kultura (n=169).

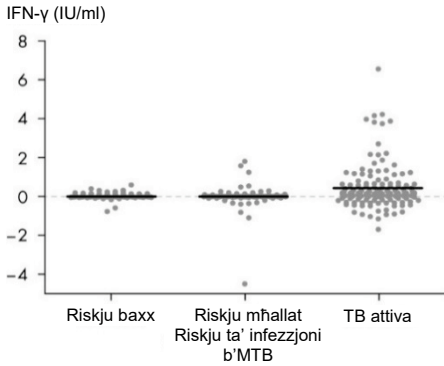


Figura 10. Differenza osservata bejn il-valuri ta' TB1 u TB2 (nil imnaqqas), stratifikati skont ir-riskju. Popolazzjoni b'riskju baxx (n=409), popolazzjoni b'riskju mhallas (n=189), u popolazzjoni b'infezzjoni b'*M. tuberculosis* ikkonfermata mill-kultura (n=141). Il-valuri ta' TB1 ġew imnaqqsa mill-valuri ta' TB2. Individwi b'valuri għal TB1 jew TB2 ta' >10.0 IU/ml ġew esklużi minhabba li kienu barra mill-medda lineari tal-assaġġ.

Karatteristiċi tal-prestazzjoni tal-assaġġ

QFT-Plus ELISA ntwera li huwa lineari billi jqiegħed 5 replikati ta' 11-il ġabra ta' plazma ta' konċentrazzjonijiet magħrufa ta' IFN- γ b'mod każwali fuq il-plejt tal-ELISA. Il-linja ta' rigressjoni lineari għandha inklinazzjoni ta' 1.002 ± 0.011 u koeffiċjent ta' korelazzjoni ta' 0.99 (Figura 11).

Il-limitu tad-detezzjoni tal-QFT-Plus ELISA huwa ta' 0.065 IU/ml, u m'hemm ebda evidenza ta' effett ganċ minhabba doża għolja (prozone) b'konċentrazzjonijiet ta' IFN- γ sa 10,000 IU/ml.

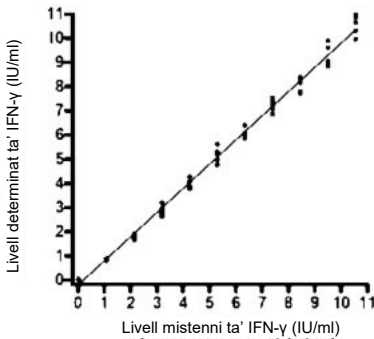


Figura 11. Profil tal-linearità ta' QFT-Plus ELISA

Impreċiżjoni bejn u ġol-assaġġ (% CV) tal-QFT-Plus ELISA ġiet stmata billi ġew ittestjati l-20 kampjun tal-plażma b'konċentrazzjonijiet tal-IFN- γ li jvarjaw f'replikati ta' 3, fi 3 laboratorji differenti, fuq 3 ijiem mhux konsekuttivi, u minn 3 operaturi differenti. Għalhekk, kull kampjun ġie ttestjat 27 darba f'9 ċikli ta' analiżi indipendenti. Kampjun wieħed kien kontroll nil u kellu konċentrazzjoni kkalkulata tal-IFN- γ ta' 0.08 IU/ml (95% CI: 0.07–0.09). Mid-19-il kampjun tal-plażma li jifdal, il-konċentrazzjonijiet varjaw minn 0.33 (95% CI: 0.31–0.34) sa 7.7 IU/ml (95% CI: 7.48–7.92).

Fiċ-ċiklu jew fl-assaġġ, l-impreċiżjoni ġiet stmata billi ttiehdet medja ta' %CVs għal kull plażma tat-test li fiha IFN- γ minn kull ċiklu ta' plejt (n=9), u l-impreċiżjoni varjat minn 4.1 sa 9.1 %CV. Il-medja fi hdan kovarjanza taċ-ċiklu ($\pm 95\%$ CI) kienet $6.6\% \pm 0.6\%$. Il-medja tal-plażma tal-IFN- γ żero kienet 14.1% CV.

L impreċiżjoni totali jew bejn assaġġ u ieħor ġiet determinata billi ġew mqabbla s-27 konċentrazzjoni kkalkulata tal-IFN- γ għal kull plażma tat-test. L-impreċiżjoni bejn assaġġ u ieħor varjat minn 6.6 sa 12.3% CV. Il-medja globali ta' %CV ($\pm 95\%$ CI) kienet ta' $8.7\% \pm 0.7\%$. Il-plażma tal-IFN- γ żero kellha medja ta' 26.1% CV. Dan il-livell ta' varjazzjoni għandu jkun mistenni minhabba li l-konċentrazzjoni kkalkulata ta' IFN- γ hija baxxa u l-varjazzjoni madwar stima baxxa ta' konċentrazzjoni tkun akbar minn dik għal konċentrazzjonijiet oġhla.

Ir-riproduċibbiltà tat-test ta' QFT-Plus ġiet determinata billi ntużaw kampjuni tad-demmi minn 102 individwi b'fatturi ta' riskju mħallat għal infezzjoni b'*M. tuberculosis*. Ġew ivvalutati tliet operaturi u kondizzjonijiet tal-laboratorju differenti.

Saru total ta' 3 determinazzjonijiet dijanjostiċi għal kull individwu u 306 b'kollox għall-individwi kollha. B'mod globali, ir-riproduċibbiltà dijanjostika kienet 99% (95% CI: 97.2–99.7), fejn ir-riżultat dijanjostiku kien konkordanti għal 303 minn 306 determinazzjonijiet. Ir-riżultat tat-3 individwi li kienu qrib il-cutoff ammonta għall-varjazzjoni kollha.

Dijanjoži ta' LTBI

Ġew ippubblikati numru ta' studji li juru l-prestazzjoni ta' QFT, il-prekursur għal QFT-Plus, f'diversi popolazzjonijiet f'riskju ta' infezzjoni b'MTB. Is-sejbiet prinċipali ta' xi studji magħżula jidhru fi Tabella 7.

Tabella 7. Studji ppubblikati magħżula fuq QFT

Popolazzjoni/kondizzjoni	Eżiti u sejbiet	Numru totali ta' studji ppubblikati
Pedjatriċi	Prestazzjoni murija fit-tfal, inkluż tfal ta' età ta' inqas minn 5 snin (45–46) bi preċiżjonih oghla minn IGRA bbażat fuq ELISpot (8). L-akbar studju s'issa li jgħabbel QFT u TST fi tfal mill-Vjetnam, il-Filippini u l-Messiku jappoġġja l-użu preferenzjali ta' QFT fuq TST għal ittestjar ta' tfal li twieldu barra mill-pajjiż għal LTBI (46). Studju ta' kuntatti limiti juri aħjar il-valur predittivi minn TST fi tfal (47) u riskju ta' 8 darbjet oghla ta' progressjoni għal marda tat-TB fi żmien sentej fost dawk li qelbu għal QFT meta mqabbel ma' dawk li ma qelbux (48). Id-dissonanza QFT-negattiva/TST-pożittiva hija għolja fi tfal imlaqqma b'BCG (46, 49), iżda ma kien hemm l-ebda impatt fuq ir-rispons tal-Mitogen fi tfal taht l-età ta' 5 snin (49) u rati indeterminati baxxi waqt skrinjar ta' rutina ta' tfal immigranti (46).	152
Tqala	F'ambjent ta' piż baxx, QFT juri prestazzjoni tajba b' mod indaq f'kull trimestru tat-tqala b'riżultati komparabbli għal nisa mhux tqal, huwa hafna aktar speċifiku, tal-inqas sensitiv daqsu, u jista' jbassar il-progressjoni tal-marda aħjar mit-TST (50). F'ambjent ta' piż għoli, QFT kien aktar stabbli matul it-tqala u qarrab il-prevalenza ta' LTBI ta' sfond aktar mill-qrib meta mqabbel ma' TST, għalkemm l-awtur kkonkludew li t-tqala taffettwa kemm QFT kif ukoll it-TST (51).	6

It-tabella tkompli fil-paġna li jmiss

Tabella 7. Studji ppubblikati magħżula fuq QFT (tkompli)

Popolazzjoni/kondizzjoni	Eżiti u sejbiet	Numru totali ta' studji ppubblikati
HIV/AIDS	Kemm I-IGRAs kif ukoll TST jiġu affettwati mill-infezzjoni tal-HIV, u l-gisem tal-evidenza jissuġerixxi li għandha tittiehed kawtela meta jiġu interpretati r-riżultati f'dawk b'għadd ta' CD4+ <200 (52). QFT intwera li huwa inqas affettwat mill-IGRA bbażat fuq ELISpot u TST (53–55). Vista waħda ta' IGRAs teghleb il-kwisjoni tat-TST ta' rati ta' ritorn baxxi f'din il-popolazzjoni (53).	101
Terapiji immunosoppressivi	QFT huwa inqas affettwat minn terapiji immunosoppressivi milli TST u jikkorelata aħjar ma' fatturi ta' riskju ta' TB (23, 27). QFT għandu sensittività għolja f'pazjenti b'marda rewmatika (23; 56, 57) u speċifità oghla mit-TST, inaqas ir-riżultati pożittivi foloz u jnaqqas trattament mhux meħtieġ li kieku jseħh bit-TST (23, 57, 58).	112
Ħaddiema tal-kura tas-saħħa	Intwera li huwa aktar speċifiku b'inqas riżultati pożittivi foloz mit-TST, u aktar kosteffikaċi mit-TST (59–62). Il-varjabbiltà madwar il-limitu hija sejba mistennija f'ittestjar serjali minħabba punt ta' qtugħ dikotomu u varjabbiltà inerenti ta' test bijoloġiku (63). L-istudji wrew rati ta' konverżjoni/reverżjoni oghla mit-TST f'ittestjar serjali ta' ħaddiema tal-kura tas-saħħa b'riskju baxx (64, 65). Il-US CDC tirrikonoxxi li l-kriterju klementi biex tiġi definita l-konverżjoni ta' IGRA jista' jipproduċi aktar konverżjoni milli huwa osseervat bil-kriterji kwantitattivi aktar stringenti tat-TST, u l-ittestjar mill-ġdid tal-istrateġiji wera li huwa effettiv fil-ġestjoni tal-fenomenu ta' konverżjoni/reverżjoni (65–68).	111
Kuntatti mat-TB	PPV u NPV oghla mit-TST (47); konvenjenza ta' vista waħda għal dawk li aktarx ma jerggħux jiġu (63), korrelazzjoni aħjar għall-esponiment (69), li tiġi nnutata speċjalment f'persuni mlaqqma b'BCG u popolazzjonijiet minn pajjiżi li jiehdu tilqim ta' BCG (70, 71).	89
Trapjant	Intwera li huwa tal-inqas effettiv daqs TST, iżda inqas affettwat minn marda tal-organu fl-aħħar stadju mit-TST (22).	23

It-tabella tkompli fil-paġna li jmiss

Tabella 7. Studji ppubblikati magħżula fuq QFT (tkompli)

Popolazzjoni/kondizzjoni	Eżiti u sejbiet	Numru totali ta' studji ppubblikati
Dijabete	Evidenza konfligġenti minn numru żgħir ta' pubblikazzjonijiet b'numri limitati ta' individwi. Studju minn zona b'piż baxx sab li s-sensittività ta' QFT ma tiġix kompromessa mid-dijabete f'pazjenti bit-TB (72). Studju mit-Tanzanja, ambjent b'piż għoli, li jissuġġerixxi impatt negattiv tad-dijabete fuq il-produzzjoni tal-IFN- γ , naqas milli jikkunsidra fatturi ta' konfużjoni bħall-HIV u infezzjonijiet ta' elminti (73). Fi studji Vjetnamiżi, 838 persuni dijabetiċi li rrappurtaw huma stess suspettati li għandhom TB minħabba CXRs anormali jew ikkonfermati mill-koltura li għandhom TB attiva (n=128), il-pożittività ta' QFT kienet daqs jew akbar mill-punti ta' qtugħ tat-TST ta' 10 u 15 mm (74).	9
Marda tal-kliewi fl-aħħar stadju	Ir-riżultati pożittivi għall-QFT jikkorelataw ma' fatturi ta' riskju għat-TB aħjar mit-TST u huma inqas assoċjati ma' BCG (75).	45
Migranti	Studji juru li QFT ma jiġix affettwat minn BCG u l-età għall-kuntrarju ta' TST (74). QFT jintwera li huwa l-akar metodu kosteffikaci (76). F'ambjenti ta' piż baxx, il-maġġoranza ta' TB ġeġja minn persuni li jitwieldu barra mill-pajjiż u minn riattivazzjoni ta' TB latenti wara li jaslu (77). L-akbar studju s'issa li jqabbel QFT ma' TST fi tfal immigranti jappoġġja l-użu preferenzjali ta' QFT fuq TST għal ittestjar ta' tfal li twieldu barra mill-pajjiż għal infezzjoni tat-TB latenti (46).	29

Informazzjoni Teknika

Riżultati indeterminati

Riżultati indeterminati mhumiex komuni u jistgħu jkunu marbuta mal-istat immuni tal-individwu li qed jiġi ttestjat, imma jistgħu jkunu relatati wkoll ma' għadd ta' fatturi tekniċi jekk l-istruzzjonijiet għall-użu ta' hawn fuq ma jiġux segwiti.

Jekk jiġu suspettati kwistjonijiet tekniċi bil-ħażna tar-reagent, il-ġbir tad-demmi jew l-immaniġġjar ta' kampjuni ta' demm, irrepeti t-test kollu ta' QFT-Plus b'kampjuni tad-demmi godda. Ir-repetizzjoni tal-ittestjar ta' ELISA ta' plażmi stimulat jista' jsir jekk isir ħasil inadegwat jew jekk jiġi suspettat li jkun hemm devjazzjoni proċedurali oħra bit-test ta' ELISA. Testijiet indeterminati li jirriżultaw minn valuri baxxi ta' Mitogen jew għoljin ta' Nil mhux mistennija li jinbidlu malli jiġu ripetuti għajr meta jkun hemm żball bl-ittestjar ta' ELISA. Bħala tali, riżultati indeterminati għandhom jiġu rrapportati. It-tobba jistgħu jagħzlu li jergħu jiġbdu kampjun jew iwettqu proċeduri oħra kif xieraq.

Kampjuni tal-plażma bl-emboli

Jekk iseħħu emboli tal-fibrina mal-ħżin fit-tul tal-kampjuni tal-plażma, iċċentrifuga l-kampjuni sabiex tiddepożita l-emboli u tiffaċilita l-ippipettar tal-plażma.

Gwida għal Individwazzjoni ta' Soluzzjoni

Din il-gwida ta' individwazzjoni ta' soluzzjoni tista' tkun utli biex issolvi kwalunkwe problema li tista' tinholoq. Għal aktar informazzjoni, ara wkoll l-informazzjoni teknika pprovduta fuq www.QuantiFERON.com. Għall-informazzjoni ta' kuntatt, ara l-qoxra.

Individwazzjoni ta' soluzzjoni ta' ELISA

Żvilupp ta' kulur mhux speċifiku

Kawża possibbli	Soluzzjoni
a) Hasil mhux komplut tal-plejt	Aħsel il-plejt tal-anqas 6 darbiet b'400 µl/toqba ta' wash buffer. Jistgħu jkunu meħtieġa aktar minn 6 ċikli ta' hasil skont il-washer li jkun qed jintuża. Għandu jintuża perjodu ta' t'lahliħ ta' mill-inqas 5 sekondi bejn kull ċiklu.
b) Kontaminazzjoni kroċjata tat-toqob ta' ELISA	Ogħhod attent meta tippipetta u tħallat il-kampjun sabiex tnaqqas ir-riskji.
c) Il-kitt/komponenti skada/ew	Żgura li l-kitt jintuża qabel id-data ta' skadenza. Żgura li standard rikostitwit u Konjugat 100x Konċentrat jintużaw fi żmien tliet xhur mid-data ta' rikostituzzjoni.
d) Soluzzjoni tas-Substrat tal-Enzima	Armi s-substrat jekk ikun hemm kulurament blu. Żgura li jintużaw reċipjenti tar-reagenti nodfa.
e) Tahlit ta' plażma fit-tubi ta' QFT-Plus qabel il-ġbir	Wara ċ-ċentrifugazzjoni, evita li tippipetta 'l fuq jew 'l isfel jew li tħallat il-plażma b'xi mod ieħor qabel il-ġbir. Fi kwalunkwe ħin, ogħhod attent li ma tiddisturbax materjal fuq il-wiċċ tal-ġell.

Qari ta' densità ottika baxxa għall-istandards

Kawża possibbli	Soluzzjoni
a) Żball fid-dilwizzjoni standard	Żgura li d-dilwizzjonijiet tal-Kitt Standard ikunu ppreparati korrettament skont dan il fuljett ta' tagħrif.
b) Żball fil-pipetta	Żgura li l-pipetti jkunu kkalibrati u jintużaw skont l-istruzzjonijiet tal-manifattur.
c) It-temperatura tal-inkubazzjoni baxxa wisq	L-inkubazzjoni ta' ELISA għandha ssir f'temperatura ambjentali (22°C ± 5°C).
d) Il-ħin tal-inkubazzjoni qasir wisq	L-inkubazzjoni tal-plejt mal-konjugat, mal-istandards u mal-kampjuni għandha ssir għal 120 ± 5 minuti. Is-Soluzzjoni tas-Substrat tal-Enzima hija inkubata fuq il-plejt għal 30 minuta.

Individwazzjoni ta' soluzzjoni ta' ELISA

- | | |
|---|--|
| e) Intuża filtru tal-qarrej tal-plejt mhux tajjeb | Il-plejt għandu jinqara f'450 nm b'filtru ta' referenza bejn 620 u 650 nm. |
| f) Ir-reagenti keshin wisq | Ir-reagenti kollha, hlief Konjugat 100x Konċentrat, għandhom joqogħdu għal temperatura ambjentali qabel il-bidu tal-assaġġ. Dan jiehdu madwar siegħa. |
| g) Il-kitt/komponenti skada/ew | Żgura li l-kitt jintuża qabel id-data ta' skadenza. Żgura li l-istandard rikostitwit u Konjugat 100x Konċentrat jintużaw fi żmien 3 xhur mid-data ta' rikostituzzjoni. |

Sfond għoli

- | Kawża possibbli | Soluzzjoni |
|---|---|
| a) Hasil mhux komplut tal-plejt | Aħsel il-plejt tal-anqas 6 darbiet b'400 µl/toqba ta' wash buffer. Jistgħu jkunu meħtieġa aktar minn 6 ċikli ta' hasil skont il-washer li jkun qed jintuża. Għandu jintuża perjodu ta' t'lahliħ ta' mill-inqas 5 sekondi bejn kull ċiklu. |
| b) Temperatura tal-inkubazzjoni għolja wisq | L-inkubazzjoni ta' ELISA għandha titwettaq f'temperatura ambjentali (22°C ± 5°C). |
| c) Il-kitt/komponenti skada/ew | Żgura li l-kitt jintuża qabel id-data ta' skadenza. Żgura li l-istandard rikostitwit u Konjugat 100x Konċentrat jintużaw fi żmien 3 xhur mid-data ta' rikostituzzjoni. |
| d) Soluzzjoni tas-Substrat tal-Enzima hija kkontaminata | Armi s-substrat jekk ikun hemm kulurament blu. Żgura li jintużaw reċipjenti tar-reagenti nodfa. |

Kurva standard mhux lineari u varjabbiltà fid-duplikati

- | Kawża possibbli | Soluzzjoni |
|--|---|
| a) Hasil mhux komplut tal-plejt | Aħsel il-plejt tal-anqas 6 darbiet b'400 µl/toqba ta' wash buffer. Jistgħu jkunu meħtieġa aktar minn 6 ċikli ta' hasil skont il-washer li jkun qed jintuża. Għandu jintuża perjodu ta' t'lahliħ ta' mill-inqas 5 sekondi bejn kull ċiklu. |
| b) Żball fid-dilwizzjoni standard | Żgura li d-dilwizzjonijiet tal-istandard ikunu ppreparati korrettament skont dan il fuljett ta' tagħrif. |
| c) Tahlit hażin | Ħallat ir-reagenti sew billi taqilbhom rashom 'l isfel jew b'movimenti qosra rotatorji qabel ma żżidhom mal-plejt. |
| d) Teknika ta' pippettar inkonsistenti jew interruzzjoni matul il-preparazzjoni tal-assaġġ | Iż-żieda tal-kampjuni u tal-istandard għandha titwettaq f'mod kontinwu. Ir-reagenti kollha għandhom jitfejjew qabel jibda l-assaġġ. |

Informazzjoni dwar il-prodott u linji gwida tekniċi huma disponibbli bla ħlas minn QIAGEN, mid-distributur tiegħek, jew billi żżur www.QuantiFERON.com.

Referenzi

1. Andersen, P. et al. (2000) Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 356, 1099.
2. Balcells, M.E. et al. (2008) A comparative study of two different methods for the detection of latent tuberculosis in HIV-positive individuals in Chile. *Int. J. Infect. Dis.* 12, 645.
3. Bartalesi, F. et al. (2009) QuantiFERON-TB Gold and TST are both useful for latent TB screening in autoimmune diseases. *Eur. Respir. J.* 33, 586.
4. Bocchino, M. et al. (2008) Performance of two commercial blood IFN-gamma release assays for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in patient candidates for anti-TNF-alpha treatment. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 27,907.
5. Brock, I. et al. (2006) Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the *M. tuberculosis* specific interferon-gamma test. *Respir. Res.* 7, 56.
6. Chun, J.K. et al. (2008) The role of a whole blood interferon gamma assay for the detection of latent tuberculosis infection in bacille Calmette-Guerin vaccinated children. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 62, 389.
7. Connell, T.G. et al. (2008) A three-way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB gold and T-SPOT.TB in children. *PLoS ONE* 3, e2624. doi: 10.1371/journal.pone.0002624.
8. Detjen, A.K. et al. (2007) Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis. *Clin. Infect. Dis.* 45, 322.

-
9. Diel, R. et al. (2009) Comparative performance of tuberculin skin test, QuantiFERON-TB-Gold In-Tube assay, and T-Spot. TB test in contact investigations for tuberculosis. *Chest* 135, 1010.
 10. Diel, R. et al. (2008) Predictive value of a whole-blood IFN- γ assay for the development of active TB disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 177, 1164.
 11. Diel, R. et al. (2006) Tuberculosis contact investigation with a new, specific blood test in a low-incidence population containing a high proportion of BCG-vaccinated persons. *Respir. Res.* 7, 77.
 12. Dogra, S. et al. (2007) Comparison of a whole blood interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. *J. Infect.* 54, 267.
 13. Drobniowski, F. et al. (2007) Rates of latent tuberculosis in health care staff in Russia. *PLoS Med.* 4, e55.
 14. Gerogianni, I. et al. (2008) Whole-blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection in an unselected Greek population. *Respirology* 13, 270.
 15. Harada, N. et al. (2008) Comparison of the sensitivity and specificity of two whole blood interferon-gamma assays for *M. tuberculosis* infection. *J. Infect.* 56, 348.
 16. Higuchi, K. et al. (2009) Comparison of performance in two diagnostic methods for tuberculosis infection. *Med. Microbiol. Immunol.* 198, 33.
 17. Kang, Y.A. et al. (2005) Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. *JAMA* 293, 2756.

18. Katiyar, S.K. et al. (2008) Use of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test to monitor treatment efficacy in active pulmonary tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 12, 1146.
19. Kipfer, B. et al. (2008) Tuberculosis in a Swiss army training camp: contact investigation using an Interferon gamma release assay. *Swiss. Med. Wkly.* 138, 267.
20. Luetkemeyer, A. et al. (2007) Comparison of an interferon-gamma release assay with tuberculin skin testing in HIV-infected individuals. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 175, 737.
21. Mackensen, F. et al. (2008) QuantiFERON TB-Gold - A new test strengthening long-suspected tuberculous involvement in serpiginous-like choroiditis. *Am. J. Ophthalmol.* 146, 761.
22. Manuel, O. et al. (2007) Comparison of Quantiferon-TB Gold with tuberculin skin test for detecting latent tuberculosis infection prior to liver transplantation. *Am. J. Transplant.* 7, 2797.
23. Matulis, G. et al. (2007) Detection of latent tuberculosis in immunosuppressed patients with autoimmune diseases performance of a *Mycobacterium tuberculosis* antigen specific IFN-gamma assay. *Ann. Rheum. Dis.* 67, 84.
24. Mirtskhulava, V. et al. (2008) Prevalence and risk factors for latent tuberculosis infection among health care workers in Georgia. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 12, 513.
25. Nakaoka, H. et al. (2006) Risk for tuberculosis among children. *Emerging Infect. Dis.* 12, 1383.
26. Pai, M. et al. (2005) *Mycobacterium tuberculosis* infection in health care workers in rural India: comparison of a whole-blood, interferon-g assay with tuberculin skin testing. *JAMA* 293, 2746.

-
27. Ponce de Leon, D. et al. (2008) Comparison of an interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for detection of tuberculosis (TB) infection in patients with rheumatoid arthritis in a TB-endemic population. *J Rheumatol.* 35, 776.
 28. Richeldi, L. et al. (2008) Prior tuberculin skin testing does not boost QuantiFERON-TB results in paediatric contacts. *Eur. Respir. J.* 32, 524.
 29. Rothel, J.S. and Andersen, P. (2005) Diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: is the demise of the Mantoux test imminent? *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 3, 981.
 30. Schoepfer, A.M. et al. (2008) Comparison of interferon-gamma release assay versus tuberculin skin test for tuberculosis screening in inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol.* 103, 2799.
 31. Silverman, M.S. et al. (2007) Use of an interferon-gamma based assay to assess bladder cancer patients treated with intravesical BCG and exposed to tuberculosis. *Clin. Biochem.* 40, 913.
 32. Stebler, A. et al. (2008) Whole-blood interferon-gamma release assay for baseline tuberculosis screening of healthcare workers at a Swiss university hospital. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 29, 681.
 33. Turner, J. et al. (1996) Stimulation of human peripheral blood mononuclear cells with live *Mycobacterium bovis* BCG activates cytolytic CD8+ T cells in vitro. *Immunology* 87, 339.
 34. Brookes, R.H. et al. (2003) CD8+ T cell-mediated suppression of intracellular *Mycobacterium tuberculosis* growth in activated human macrophages. *Eur. J. Immunol.* 33, 3293.

-
35. Stenger, S. et al. (1998) An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science* 282, 121.
 36. Lalvani, A. et al. (1998) Human cytolytic and interferon gamma-secreting CD8+ T lymphocytes specific for *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 270.
 37. Lewinsohn, D.M. et al. (2001) Classically restricted human CD8+ T lymphocytes derived from *Mycobacterium tuberculosis*-infected cells: definition of antigenic specificity. *J. Immunol.* 166, 439.
 38. Lewinsohn, D.A. et al. (2007) Immunodominant tuberculosis CD8 antigens preferentially restricted by HLA-B. *PLoS Pathol.* 3, 1240.
 39. Day, C.L. et al. (2011) Functional capacity of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cell responses in humans is associated with mycobacterial load. *J. Immunol.* 187, 2222.
 40. Rozot, V. et al. (2013) *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD8+ T cells are functionally and phenotypically different between latent infection and active disease. *Eur. J. Immunol.* 43, 1568.
 41. Nikolova, M. et al. (2013) Antigen-specific CD4- and CD8-positive signatures in different phases of *Mycobacterium tuberculosis* infection. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 75, 277.
 42. Chicchio, T. et al. (2014) Polyfunctional T-cells and effector memory phenotype are associated with active TB in HIV-infected patients. *J. Infect.* doi: 10.1016/j.jinf.2014.06.009. Epub.
 43. Ongaya, A. et al. (2013) *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD8+ T cell recall in convalescing TB subjects with HIV co-infection. *Tuberculosis* 93, S60.

-
44. Lanicioni, C. et al. (2012) CD8+ T cells provide an immunologic signature of tuberculosis in young children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 185, 206.
 45. Long, G., Ji-Chun, M., Min, Jin-Long, L., Jin-Hui, T. (2014) Interferon- γ release assay for the diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in children younger than 5 years: a meta-analysis. *Clin. Pediatr.* 53, 1255.
 46. Howley, M.M. et al. (2015) Evaluation of QuantiFERON-TB Gold In-Tube and tuberculin skin tests among immigrant children being screened for latent tuberculosis infection. *Ped. Infect. Dis.* 34, 35.
 47. Diel, R., Loddenkemper, R., Niemann, S., Meywald-Walter, K., and Nienhaus, A. (2011) Negative and positive predictive value of a whole-blood interferon- γ release assay for developing active tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 183, 88.
 48. Machingadaize, S. et al. (2012) Predictive value of recent QuantiFERON conversion for tuberculosis disease in adolescents. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 186, 1051.
 49. Riazi, S. et al. (2012) Rapid diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children using interferon-gamma release assays (IGRAs). *Allergy Asthma Proc.* 33, 217.
 50. Lighter-Fisher, J. and Surette, A-M. (2012) Performance of an interferon-gamma release assay to diagnose latent tuberculosis infection during pregnancy. *Obstet. Gynecol.* 119, 1088.
 51. Mathud, J.S. et al. (2014) Pregnancy differentially impacts performance of latent tuberculosis diagnostics in a high-burden setting. *PLoS ONE* 9, e92308.
 52. Hoffman, M. and Ravn, P. (2010) The use of interferon-gamma release assays in HIV-positive individuals. *Eur. Infect. Dis.* 4, 23.

-
53. Cheallaigh, C.N. et al. (2013) Interferon gamma release assays for the diagnosis of latent TB infection in HIV-infected individuals in a low TB burden country. PLoS ONE 8, e53330.
 54. Ramos, J. M. et al. (2012) Contribution of interferon gamma release assays testing to the diagnosis of latent tuberculosis infection in HIV-infected patients: A comparison of QuantiFERON-TB gold in tube, T-SPOT.TB and tuberculin skin test. BMC Infect. Dis. 12, 169.
 55. Wolf, T. et al. (2013) Tuberculosis skin test, but not interferon- γ releasing assays is affected by BCG vaccination in HIV patients. J. Infect. 66, 376.
 56. Hsia, E.C. et al. (2012) Interferon- γ release assay versus tuberculin skin test prior to treatment with golimumab, a human anti-tumor necrosis factor antibody, in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, or ankylosing spondylitis. Arthritis Rheum. 64, 2068.
 57. Garcovich, S. et al. (2012) Clinical applicability of QuantiFERON-TB-Gold testing in psoriasis patients during long-term anti-TNF-alpha treatment: a prospective, observational study. J. Eur. Acad. Dermatol. Ven. 26, 1572.
 58. Kwakernaak, A.J. et al. (2011) A comparison of an interferon-gamma release assay and tuberculin skin test in refractory inflammatory disease patients screened for latent tuberculosis prior to the initiation of a first tumor necrosis factor α inhibitor. Clin. Rheumatol. 30, 505.
 59. Vinton, P. et al. (2009) Comparison of QuantiFERON-TB Gold In-Tube test and tuberculin skin test for identification of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in healthcare staff and association between positive test results and known risk factors for infection. Infect. Control Hosp. Epidemiol. 30, 215.














-
60. de Perio, M.A., Tsevat, J., Roselle, G.A., Kralovic, S.M., and Eckman, M.H. (2009) Cost-effectiveness of interferon gamma release assays vs tuberculin skin tests in health care workers. *Arch. Intern. Med.* 169, 179.
 61. Nienhaus, A. et al. (2008) Evaluation of the interferon- γ release assay in healthcare workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 81, 295.
 62. Nienhaus, A. et al. (2011) Systematic review of cost and cost-effectiveness of different TB-screening strategies. *BMC Health Serv. Res.* 11, 247.
 63. Centers for Disease Control and Prevention (2010) Updated guidelines for using interferon-gamma release assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection — United States, 2010. *MMWR Recomm. Rep.* 59 (RR-5), 1.
 64. Dorman, S.E. et al. (2014) Interferon- γ release assays and tuberculin skin testing for diagnosis of latent tuberculosis infection in healthcare workers in the United States. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 189, 77.
 65. Fong, K.S. et al. (2012) Challenges of interferon-gamma release assay conversions in serial testing of health care workers in a tuberculosis control program. *Chest* 142, 55.
 66. Thanassi, W. et al. (2012) Delineating a retesting zone using receiver operating characteristic analysis on serial QuantiFERON tuberculosis test results in US healthcare workers. *Pulm. Med.* doi: 10.1155/2012/291294. Epub.
 67. Behrman, A. et al. (2013) Protecting Health Care Workers from Tuberculosis, 2013: ACOEM Medical Center Occupational Health Section Task Force on Tuberculosis and Health Care Workers. *J. Occup. Environ. Med.* 55, 985.

-
68. Nienhaus, A., Ringshausen, F.C., Costa, J.T, Schablon, A., and Tripodi, D. (2013) IFN- γ release assay versus tuberculin skin test for monitoring TB infection in healthcare workers. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 11, 37.
 69. Arend, S.M. et al. (2007) Comparison of two interferon-gamma assays and tuberculin skin test for tracing TB contact. *Amer. J. Respir. Crit. Care Med.* 175, 618.
 70. Mandalakas, A.M., Detjen, A.K., Hesselting, A.C., Benedetti, A., and Menzies, D. (2011) Interferon-gamma release assays and childhood tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15, 1018.
 71. Grinsdale, J.A., Ho, C.S., Banouvong, H., Kwamura, L.M. (2011) Programmatic impact of using QuantiFERON-TB Gold in routine contact investigation activities. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15, 1614.
 72. Walsh, M.C. et al. (2011) Sensitivity of interferon- γ release assays is not compromised in tuberculosis patients with diabetes. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15, 179.
 73. Faurholt-Jespén, D. et al. (2014) Diabetes is associated with lower tuberculosis antigen-specific interferon gamma release in Tanzanian tuberculosis patients and non-tuberculosis controls. *Scand. J. Infect. Dis.* 46, 384.
 74. Painter, J.A. et al. (2013) Tuberculosis screening by tuberculosis skin test or QuantiFERON-TB Gold In-Tube Assay among an immigrant population with a high prevalence of tuberculosis and BCG vaccination. *PLoS ONE* 8, e82727.
 75. Rogerson, T.E. et al. (2012) Tests for latent tuberculosis in people with ESRD: a systematic review. *Amer. J. Kidney Dis.* 61, 33.

-
76. Pareek, M. et al. (2013) Community-based evaluation of immigrant tuberculosis screening using interferon γ release assays and tuberculin skin testing: observational study and economic analysis. *Thorax*. 68, 230.
77. CDC, Tuberculosis — United States, 2018.
https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/68/wr/mm6811a2.htm?s_cid=mm6811a2_w
Accessed 22 March 2019.

Simboli

Jistgħu jidhru s-simboli li ġejjin fuq l-imballaġġ jew it-tikkettar:

Simbolu	Definizzjoni tas-simbolu
 2 × 96	Bizżejjed għal 2 × 96 preparazzjonijiet tal-kampjun
	Manifattur legali
	Simbolu mmarkat CE-IVD
	Għal użu dijanjostiku in vitro
	Kodiċi tal-lott
	Numru tal-katalgu
	Numru tal-Oġġett tal-Kummerċ Globali
	Uża sad-data
	Limitazzjoni tat-temperatura
	Ikkonsulta l-istruzzjonijiet għall-użu
	Tergax tuża'
	Żomm 'il bogħod mid-dawl tax-xemx
	Numru tal-materjal
Rn	R hija għal revizzjoni tal-Istruzzjonijiet għall-Użu u n hija n-numru tar-revizjoni

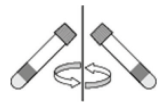
Informazzjoni ta' Kuntatt

Għal assistenza teknika u għal aktar informazzjoni, jekk jogħġbok ċempel mingħajr ħlas fuq 00800-22-44-6000, żur iċ-Ċentru ta' Appoġġ Tekniku tagħna fuq www.qiagen.com/contact jew ikkuntattja wieħed mid-Dipartimenti tas-Servizzi Tekniku QIAGEN (ara l-qoxra jew żur www.qiagen.com).

Proċedura tat-Test b'Abbrevjazzjonijiet

Stadju 1 – inkubazzjoni tad-demm

1. Iġbor id-demm tal-pazjent f'tubi tal-ġbir tad-demm u ħallat billi tħawwadhom għal għaxar (10) darbiet iżda b'saħħa biżżejjed li tiżgura li l-wiċċ sfiħ ta' ġewwa tat-tubu jkun miksi bid-demm. Dan sabiex l-antiġeni mal-wiċċ tat-tubu jinħallu.
2. Inkuba t-tubi weqfin f' $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ għal 16 sa 24 siegħa.
3. Wara l-inkubazzjoni, iċċentrifuga t-tubi għal madwar 15-il minuta f' 2000 sa $3000 \times g$ RCF (g) sabiex tissepara l-plażma u ċ-ċelloli ħomor.
4. Wara ċ-ċentrifugazzjoni, evita li tippipetta 'l fuq jew 'l isfel jew tħallat il-plażma b'xi mod ieħor qabel il-ġbir. Fi kwalunkwe ħin, oqgħod attent li ma tiddisturbax materjal fuq il-wiċċ tal-ġell.



Stadju 2 – IFN- γ ELISA

1. Ekwilibra l-komponenti ta' ELISA, minbarra l-Konjugat 100x Konċentrat, f'temperatura ambjentali ($22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) għal mill-inqas 60 minuta.
2. Irrikostitwixxi mill-ġdid l-kitt standard għal 8.0 IU/ml b'ilma distillat jew dejonizzat. Ipprepara erba' (4) dilwizzjonijiet standard.
3. Irrikostitwixxi Konjugat 100x Konċentrat imnixxef bil-friża b'ilma distillat jew dejonizzat.



4. Ipprepara l-konjugat b'qawwa tax-xogħol f'Dilwent Aħdar u žid 50 μ l fit-toqob kollha.



5. Žid 50 μ l ta' kampjuni ta' plazma tat-test u standards ta' 50 μ l lit-toqob xierqa. Ħallat bix-shaker.

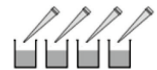
6. Inkuba għal 120 ± 5 minuti f'temperatura ambjentali.



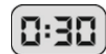
7. Aħsel il-plejt tal-anqas 6 darbiet b'400 μ l/toqba tal-wash buffer.



8. Žid 100 μ l Soluzzjoni tas-Substrat tal-Enzima ġot-toqob. Ħallat bix-shaker.



9. Inkuba għal 30 minuta f'temperatura ambjentali.



10. Žid 50 μ l Soluzzjoni li Twaqqaf l-Enzima fit-toqob kollha. Ħallat bix-shaker.



11. Aqra r-riżultati f'450 nm b'filtru ta' referenza ta' bejn 620 u 650 nm.



12. Analizza r-riżultati.



Tibdil Konsiderevoli

Taqsim	Paġna	Tibdil
Varji	Varji	Istruzzjonijiet miżjuda marbuta mal-użu tat-tubu ta' eparina tal-litju jew tal-eparin tas-sodju
Varji	Varji	Istruzzjonijiet miżjuda marbuta mal-qawwa tax-xoghol tal-ġbir tad-demm f'2–8°C
Varji	Varji	L-għatu tal-plejt issa huwa materjal li huwa meħtieġ iżda mhux iġġudat

Storja ta' Revizjoni tal-Manwal

Dokument	Tibdil
R6 04/2019	Bidliet fl-eparina tal-Litju/eparina tas-Sodju Istruzzjonijiet tax-xoghol ġodda għal fluss tax-xoghol tal-ġbir tad-demm f'2–8°C Għotjen tal-plejts imneħħija mill-Plejts ta' QF

Trademarks: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (QIAGEN Group); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProCin® (Rohm and Haas Co.).

Ftehim ta' Liċenzja Limitata ghal QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA

L-użu ta' dan il-prodott ifisser li kwalunkwe xerrej jew utent tal-prodott jaqbel mat-termini li ġejjin:

1. Il-prodott jista' jintuza biss skont il-protokolls ipprovduti mal-prodott u dan il-fuljett ta' taghrif u għall-użu bil-komponenti li hemm fil-kitt biss. QIAGEN ma taghti l-ebda liċenzja, taht l-ebda proprjetà intellettuali tagħha, biex wiehed juża jew jinkorpora l-komponenti f'dan il-pannell ma' kwalunkwe komponent li ma jkunx inkluż f'dan il-kitt, hief kif deskritt fil-protokoll ipprovduti mal-prodott u f'dan il-fuljett ta' taghrif.
2. Ghajr il-liċenzji ddikjarati espressament, QIAGEN ma titlobx li dan il-pannell u/jew l-użu(i) tiegħu ma jksrux id-drittijiet ta' partijiet terzi.
3. Dan il-kitt u l-komponenti tiegħu huma liċenzjati għal użu ta' darba u ma jstgħux jerggħu jintużaw, jinbidlu jew jerggħu jinbigħu sakemm ma jkunx definit minn QIAGEN.
4. QIAGEN speċifikament tirrinunzja kwalunkwe liċenzja oħra, espressa jew impliċita ghajr dawk iddikjarati espressament.
5. Ix-xerrej u l-utent tal-kitt jaqblu li ma jiddux jew ma jhallu lil hadd jieħu xi pass li jista' jwassel għal jew jiffacilita kwalunkwe att ipprobit hawn fuq. QIAGEN tista' tinforza l-projbizzjonijiet ta' dan il-Ftehim ta' Liċenzja Limitata fi kwalunkwe Qorti, u għandha tkopri l-kostijiet investigattivi u tal-Qorti kollha tagħha, inklużi l-tariffi tal-avukat, fi kwalunkwe azzjoni biex jiġi inforzat dan il-Ftehim ta' Liċenzja Limitata jew kwalunkwe wiehed mid-drittijiet ta' proprjetà intellettuali tagħha li jirrelata mal-kitt u/jew mal-komponenti tiegħu.

Għal termini tal-liċenzja agġornati, ara www.qiagen.com.

© 2019 QIAGEN, id-drittijiet kollha riżervati.

www.QuantiFERON.com

Asja-Pacifiku | techservice-ap@qiagen.com

Ewropa | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Lvant Nofsani/Afrika | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Amerka t'Isfel (ma tinkludix il-Brazil jew il-Messiku) | techservice-latam@qiagen.com

Noti

Noti

