

# Mode d'emploi du QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold Plus ELISA Kit



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Version 1



Pour utilisation diagnostique in vitro

À utiliser avec les QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold Plus Blood Collection  
Tubes



622120, 622822



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Allemagne



1123669FR



# Sommaire

Utilisation prévue.....	5
Utilisateurs prévus.....	5
Description et principe.....	6
Informations sur l'agent pathogène.....	6
Résumé et explications.....	7
Principes du dosage.....	9
Matériel fourni.....	11
Contenu du kit.....	11
Composants du kit.....	12
Plate-forme et logiciel.....	12
Matériel nécessaire, mais non fourni.....	13
Réactifs supplémentaires.....	13
Consommables.....	13
Équipement.....	13
Avertissements et précautions.....	14
Informations de sécurité.....	14
Informations d'urgence.....	15
Précautions.....	16
Conservation et manipulation des réactifs.....	18
Stabilité à l'utilisation.....	18
Réactifs reconstitués et inutilisés.....	18
Conservation et manipulation des échantillons.....	19

Protocole : test ELISA.....	20
Résultats (Calculs) .....	26
Génération d'une courbe étalon et de valeurs d'échantillons .....	26
Contrôle qualité du test .....	28
Interprétation des résultats.....	30
Limitations.....	32
Caractéristiques de performances.....	33
Études cliniques.....	33
Sensibilité.....	35
Valeurs attendues .....	43
Résumé de la sécurité et des performances .....	49
Caractéristiques de performances du dosage.....	50
Performances analytiques .....	50
Mise au rebut.....	63
Références .....	64
Guide de dépannage.....	66
Symboles.....	69
Annexe A : informations techniques .....	72
Résultats indéterminés .....	72
Échantillons de plasma coagulés .....	72
Présence de graisse dans les échantillons de plasma .....	72
Annexe B : résumé de la procédure du test ELISA .....	73
Informations pour commander .....	75
Historique des révisions du document.....	77

## Utilisation prévue

Le dosage QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus) est un test diagnostique *in vitro* utilisant un mélange de peptides qui imitent les protéines ESAT-6 et CFP-10 afin de stimuler les cellules dans le sang total hépariné. La détection de l'interféron- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) par le dosage par méthode immuno-enzymatique (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA) est utilisée pour identifier les réponses *in vitro* aux antigènes peptidiques associés à l'infection à *Mycobacterium tuberculosis*.

Le QFT-Plus est un test indirect de dépistage de l'infection à *M. tuberculosis* (y compris la maladie), il doit être utilisé avec l'évaluation des risques, les examens radiologiques et d'autres évaluations médicales et diagnostiques.

## Utilisateurs prévus

Ce kit est réservé à un usage professionnel.

Le dosage QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) doit être utilisé par un personnel qualifié dans un environnement de laboratoire.

# Description et principe

## Informations sur l'agent pathogène

La tuberculose est une maladie contagieuse provoquée par une infection par les organismes complexes *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* et *M. caprae*) qui se propagent généralement à de nouveaux hôtes via des noyaux de gouttelettes transmis par voie pulmonaire par les patients atteints de tuberculose respiratoire. Un individu nouvellement infecté peut tomber malade en l'espace de quelques semaines à quelques mois, mais la plupart des individus infectés restent en bonne santé. L'infection tuberculeuse latente (ITL), un trouble asymptomatique non contagieux, persiste chez certaines personnes, qui peuvent développer une tuberculose quelques mois ou quelques années plus tard. Le principal objectif du diagnostic de l'ITL est d'envisager un traitement médical pour prévenir la tuberculose. Pendant plus de 100 ans, le test cutané à la tuberculine (TCT) était jusqu'à récemment la seule méthode disponible de diagnostic de l'ITL (4). La sensibilité cutanée à la tuberculine se développe entre 2 et 10 semaines après l'infection. Toutefois, certains individus infectés ne répondent pas à la tuberculine, notamment ceux qui souffrent d'une variété d'affections perturbant les fonctions immunitaires, mais aussi d'autres qui ne souffrent pas de ces problèmes. À l'inverse, certains individus ayant peu de risques de présenter une infection à *M. tuberculosis* montrent une sensibilité à la tuberculine et ont des résultats positifs au TCT après vaccination par le BCG (Bacille Calmette-Guérin), après une infection par une mycobactérie autre que le complexe *M. tuberculosis* ou en raison d'autres facteurs indéterminés.

Il faut distinguer l'ITL de la tuberculose, une maladie à déclaration obligatoire qui affecte généralement les poumons et les voies respiratoires inférieures, mais qui peut aussi toucher d'autres systèmes organiques. La tuberculose est diagnostiquée à partir des antécédents et d'examen physiques, radiologiques et mycobactériologiques.

## Résumé et explications

Le test QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) est la quatrième génération de la technologie de test QuantiFERON-TB évaluant la réponse à médiation cellulaire via une mesure quantitative de l'IFN- $\gamma$  dans un échantillon de sang total. Le QFT-Plus est un test qualitatif qui mesure les réponses immunitaires à médiation cellulaire (IMC) aux antigènes peptidiques qui imitent les protéines mycobactériennes. Ces protéines, ESAT-6 et CFP-10, sont absentes de toutes les souches du BCG et de la plupart des mycobactéries non tuberculeuses, à l'exception de *M. kansasii*, *M. szulgai* et *M. marinum* (1). Les individus infectés par les organismes du complexe *M. tuberculosis* présentent généralement des lymphocytes sanguins qui reconnaissent ces antigènes ainsi que d'autres antigènes mycobactériens. Ce processus de reconnaissance implique la génération et la sécrétion de la cytokine IFN- $\gamma$ . La détection et la quantification d'IFN- $\gamma$  constituent la base de ce test.

L'intradermoréaction à la tuberculine et les tests IGRA sont utiles, mais insuffisants, pour diagnostiquer l'infection au complexe *M. tuberculosis* chez les patients malades. Un résultat positif peut étayer le diagnostic de tuberculose. Toutefois, des infections à d'autres mycobactéries (p. ex. *M. kansasii*) peuvent aussi entraîner des résultats positifs. D'autres évaluations médicales et diagnostiques sont nécessaires pour confirmer ou exclure la tuberculose.

Les antigènes utilisés dans le QFT-Plus sont un mélange de peptides qui imitent les protéines ESAT-6 et CFP-10. De nombreuses études ont démontré que ces antigènes peptidiques stimulaient les réponses IFN- $\gamma$  dans les cellules T des individus infectés à *M. tuberculosis*. Ce n'est généralement pas le cas chez les individus non infectés ou vaccinés par le BCG ne présentant ni maladie ni risque d'ITL (1,2,6,9). Toutefois, les traitements médicaux ou les troubles perturbant la fonction immunitaire peuvent réduire la production d'IFN- $\gamma$ . Les patients souffrant de certaines autres infections mycobactériennes peuvent aussi présenter une réponse à ESAT-6 et CFP-10, car les gènes codant ces protéines sont présents dans *M. kansasii*, *M. szulgai* et *M. marinum* (1, 3,7).

La population testant le test QFT-Plus est composée de patients atteints de tuberculose active confirmée cliniquement et de patients présentant un risque d'infection tuberculeuse ou d'infection tuberculeuse latente (ITL). Aucune limite d'âge, de sexe ou autre ne s'applique.

Dans le cadre d'une infection à *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> jouent un rôle essentiel dans le contrôle immunologique grâce à leur sécrétion de cytokine IFN- $\gamma$ . D'après des données probantes récentes, les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> participent à la défense de l'hôte contre MTB en produisant de l'IFN- $\gamma$  et d'autres facteurs solubles, qui activent les macrophages pour stopper la croissance de MTB, détruisent les cellules infectées ou lysent directement le MTB intracellulaire. Des cellules CD8<sup>+</sup> spécifiques de MTB produisant de l'IFN- $\gamma$  ont été détectées chez des sujets atteints d'une ITL et avec une TB active. De plus, les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> spécifiques à ESAT-6 et CFP-10 semblent être plus fréquemment détectés chez les sujets avec TB active que chez les sujets avec ITL et peuvent être associés à une exposition récente à MTB (8,10–12). En outre, les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> spécifiques à MTB produisant de l'IFN- $\gamma$  ont également été détectés chez les sujets avec TB active présentant une co-infection au VIH (13, 14) et chez les jeunes enfants souffrant de la TB (15).

Le QFT-Plus comporte deux tubes d'antigènes de TB distincts : TB Antigen Tube 1 (TB1) et TB Antigen Tube 2 (TB2). Les deux tubes contiennent des antigènes peptidiques dérivés des antigènes associés au complexe MTB, ESAT-6 et CFP-10. Les tubes TB1 et TB2 contiennent des peptides dérivés des protéines ESAT-6 et CFP-10, qui sont conçus pour entraîner des réponses IMC de la part des lymphocytes T auxiliaires CD4<sup>+</sup>. Le tube TB2 contient un ensemble supplémentaire de peptides ciblés pour l'induction de réponses IMC de la part des lymphocytes T cytotoxiques CD8<sup>+</sup>.

Les facteurs de risque de l'infection à *M. tuberculosis* incluent les antécédents, les signes médicaux ou épidémiologiques de la tuberculose ou l'exposition à la tuberculose. Se reporter aux dernières recommandations de l'OMS <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment> pour des recommandations détaillées sur le diagnostic de l'infection à *M. tuberculosis* (y compris la maladie) et la sélection des personnes à tester (16). Le QFT-Plus a été testé dans



certains groupes de patients indiqués pour le dépistage d'infections tuberculeuses conformément aux recommandations actuelles de l'OMS (16), notamment : les personnes testées positives au virus de l'immunodéficience humaine (VIH), les cas contacts de patients récemment atteints de TB et les résidents de structures collectives à forte incidence et exposés à des adultes à haut risque de TB (5).

## Principes du dosage

Le QFT-Plus est un dosage qualitatif utilisant des tubes de prélèvement sanguin spécifiques, contenant des antigènes peptidiques qui simulent les protéines *M. tuberculosis*, qui sont utilisés pour prélever le sang total. L'incubation du sang est réalisée dans les tubes pendant 16 à 24 heures avant la collecte du plasma et la recherche d'IFN- $\gamma$  produit en réponse aux antigènes peptidiques.

Dans un premier temps, le sang total est prélevé dans chacun des QFT-Plus Blood Collection Tubes, qui incluent un tube Nil, un tube TB1, un tube TB2 et un tube Mitogen. Le sang peut également être collecté dans un seul tube de prélèvement sanguin générique contenant de l'héparine de lithium ou de l'héparine sodique comme anticoagulant avant d'être transféré dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes.

Les QFT-Plus Blood Collection Tubes sont agités pour mélanger les antigènes avec le sang et incubés à  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  dès que possible, dans les 16 heures suivant le prélèvement. Après une période d'incubation de 16 à 24 heures, les tubes sont centrifugés, le plasma est traité et la quantité d'IFN- $\gamma$  (UI/ml) est mesurée par ELISA. Le QFT-Plus ELISA utilise un étalon d'IFN- $\gamma$  humain recombinant, qui est dosé par rapport à une préparation d'IFN- $\gamma$  de référence (réf. NIH : Gxg01-902-535). Les résultats des échantillons de test sont exprimés en unités internationales par ml (UI/ml) par rapport à une courbe étalon établie en testant des dilutions de l'étalon fourni dans le kit.

Il est reconnu que la présence d'anticorps hétérophiles (p. ex. des anticorps humains antisouris) dans le sérum ou le plasma de certains individus peut interférer avec les dosages immuno-enzymatiques. L'effet des anticorps hétérophiles sur le QFT-Plus ELISA est réduit au minimum par l'ajout de sérum normal de souris au diluant vert et par l'utilisation de fragments d'anticorps monoclonaux F(ab')<sub>2</sub> comme anticorps de capture anti-IFN- $\gamma$  adsorbés dans les puits de la microplaque.

Un dosage QFT-Plus est considéré comme positif si la réponse d'IFN- $\gamma$  de l'un des deux tubes d'antigènes de TB est nettement supérieure à la valeur d'IFN- $\gamma$  du tube Nil en UI/ml. L'échantillon de plasma du tube Mitogen sert de contrôle positif de la réponse d'IFN- $\gamma$  pour chaque prélèvement testé. Une faible réponse au Mitogen (< 0,5 UI/ml) indique un résultat indéterminé lorsqu'un échantillon sanguin présente aussi un résultat négatif aux antigènes TB. Cela peut survenir dans le cas d'un nombre insuffisant de lymphocytes, d'une activité lymphocytaire réduite en raison d'une mauvaise manipulation de l'échantillon, du remplissage/mélange du tube Mitogen ou de l'incapacité des lymphocytes du patient à générer de l'IFN- $\gamma$ . L'échantillon Nil peut présenter des teneurs élevées en IFN- $\gamma$  en présence d'anticorps hétérophiles ou d'une sécrétion intrinsèque d'IFN- $\gamma$ . Le tube Nil compense le bruit de fond (p. ex. teneurs excessives en IFN- $\gamma$  circulant ou présence d'anticorps hétérophiles). La teneur en IFN- $\gamma$  du tube Nil est soustraite de la teneur en IFN- $\gamma$  des tubes d'antigènes TB et du Mitogen. La plage de mesure du QFT-Plus ELISA va jusqu'à 10 UI/ml.

# Matériel fourni

## Contenu du kit

<b>Composants ELISA</b> <b>N° de référence</b>	<b>Kit de 2 plaques</b> <b>622120</b>	<b>Pack de laboratoire</b> <b>de référence</b> <b>622822</b>
Microplate Strips (Barrettes de microplaques) (12 × 8 puits) enduites d'anticorps monoclonaux murins anti-IFN- $\gamma$ humain	2 jeux de 12 barrettes de microplaques à 8 puits	20 jeux de 12 barrettes de microplaques à 8 puits
IFN- $\gamma$ Standard (Étalon d'IFN- $\gamma$ ), lyophilisé (contient de l'IFN- $\gamma$ humain recombinant, de la caséine bovine, du thiomersal à 0,01 % m/v)	1 flacon (8 UI/ml après reconstitution)	10 flacons (8 UI/ml après reconstitution)
Green Diluent (Diluant vert) (contient de la caséine bovine, du sérum normal de souris, du thiomersal à 0,01 % m/v)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Conjugué concentré 100x), lyophilisé (anticorps murins anti-IFN- $\gamma$ humain conjugués à la peroxydase de raifort ; contient du thiomersal à 0,01 %)	1 x 0,3 ml (après reconstitution)	10 x 0,3 ml (après reconstitution)
Wash Buffer 20x Concentrate (Concentré de tampon de lavage 20x) (pH 7,2 ; contient du ProClin® 300 à 0,05 % v/v)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Solution de substrat enzymatique) (contient H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> et 3,3',5,5'-tétraméthylbenzidine)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Solution de blocage d'enzyme) (contient H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 0,5 M)	1 x 15 ml	10 x 15 ml
<i>Mode d'emploi du QuantiFERON TB-Gold Plus ELISA Kit</i>	1	1

## Composants du kit

### Contrôles et étalons

Le QFT-Plus ELISA utilise un étalon d'IFN- $\gamma$  humain recombinant, qui est dosé par rapport à une préparation d'IFN- $\gamma$  de référence (réf. NIH : Gxg01-902-535).

### Plate-forme et logiciel

Le QFT-Plus Analysis Software est facultatif, il peut être utilisé pour analyser les données brutes et calculer les résultats. Il peut être téléchargé à l'adresse suivante [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Matériel nécessaire, mais non fourni

## Réactifs supplémentaires

- QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes
- Eau déionisée ou distillée, 2 litres

## Consommables

- Couvercle de plaque pour plaque de 96 puits
- Optionnel : microtubes de 1 ml avec bouchons dans des portoirs de 96 puits ou microplaques non enrobées avec joints en plastique pour la conservation du plasma (22 patients/portoir ou plaque)
- Réservoirs de réactif

## Équipement\*

- Incubateur  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  (avec ou sans  $\text{CO}_2$ )
- Pipettes à volume variable calibrées de  $10\ \mu\text{l}$  à  $1\ 000\ \mu\text{l}$  avec embouts jetables
- Pipettes multicanal calibrées pouvant distribuer des volumes de  $50\ \mu\text{l}$  et  $100\ \mu\text{l}$  avec embouts jetables
- Agitateur de microplaque pouvant atteindre des vitesses entre 500 et 1 000 tr/min
- Laveur de microplaques (pour la manipulation sûre des échantillons de plasma, il est recommandé d'utiliser un laveur de microplaques automatique)
- Lecteur de microplaques avec filtre de 450 nm et filtre de référence de 620 nm à 650 nm
- Agitateur à vitesse variable
- Centrifugeuse capable de centrifuger les tubes de prélèvement sanguin à au moins 3 000 FCR (g)
- Éprouvette graduée, 1 litre ou 2 litres

\* Avant utilisation, s'assurer que les instruments ont été vérifiés et calibrés conformément aux recommandations du fabricant.

# Avertissements et précautions

Noter qu'il peut être nécessaire de consulter la réglementation locale avant de signaler tout incident grave survenant en lien avec le produit au fabricant et/ou son représentant autorisé et à l'organisme de régulation du pays de l'utilisateur et/ou du patient.

Pour utilisation diagnostique in vitro.

## Informations de sécurité

Lors de la manipulation de produits chimiques, porter systématiquement une blouse de laboratoire, des gants jetables et des lunettes de protection adéquats. Pour plus d'informations, consulter les fiches de données de sécurité (FDS) appropriées. Celles-ci sont disponibles en ligne dans un format PDF pratique et compact sur le site [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety) répertoriant les FDS imprimables pour chaque kit QIAGEN et chaque composant.

- Les prélèvements et les échantillons sont potentiellement infectieux. Éliminer les échantillons et les dosages usagés conformément aux procédures de sécurité locales.
- Un résultat négatif au QFT-Plus n'exclut pas la possibilité d'une infection à *M. tuberculosis* ou d'une tuberculose active : les résultats faux négatifs peuvent être dus au stade de l'infection (p. ex. échantillon obtenu avant le développement de la réponse immunitaire cellulaire), à une mauvaise manipulation des tubes de prélèvement sanguin après la ponction veineuse, à une mauvaise réalisation du dosage ou à d'autres variables immunologiques individuelles, y compris celles liées à d'éventuelles comorbidités. Les anticorps hétérophiles ou la production d'IFN- $\gamma$  non spécifique induite par d'autres affections inflammatoires peuvent masquer les réponses spécifiques aux peptides du ESAT-6 ou du CFP-10.
- Un résultat positif au QFT-Plus ne doit pas constituer la preuve unique ou définitive d'une infection à *M. tuberculosis*. Une mauvaise exécution du dosage peut entraîner des résultats faux positifs au QFT-Plus.


- Un résultat positif au QFT-Plus doit être suivi d'autres évaluations médicales de la tuberculose active (p. ex. frottis de bacilles acido-résistants et culture des BAAR, radiographie du thorax).
- Bien qu'ESAT-6 et CFP-10 soient absents de toutes les souches du BCG et de la plupart des mycobactéries non tuberculeuses connues, un résultat positif au QFT-Plus peut être dû à une infection à *M. kansasii*, *M. szulgai* ou *M. marinum*. Si de telles infections sont suspectées, d'autres tests doivent être effectués.
- Un résultat faux négatif au QFT-Plus peut être dû à un prélèvement incorrect des échantillons de sang ou à une manipulation incorrecte de l'échantillon, qui a une incidence sur la fonction des lymphocytes. Se reporter à la section « Protocole : test ELISA », page 20, pour connaître la manipulation correcte des échantillons de sang. Une incubation retardée peut donner des résultats faux négatifs ou indéterminés, et d'autres paramètres techniques peuvent affecter la capacité à détecter une réponse IFN- $\gamma$  significative.

## Informations d'urgence

CHEMTREC

En dehors des États-Unis et du Canada +1 703-527-3887

## Précautions

<p><b>ATTENTION</b></p> 	<p>Manipuler le sang humain comme s'il était potentiellement infectieux.</p> <p>Observer les directives correspondantes de manipulation du sang. Jeter les échantillons et le matériel en contact avec le sang ou les produits sanguins conformément aux réglementations nationales, régionales et locales en vigueur.</p>
---	--

### QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Contient de l'acide sulfurique. Avertissement ! Peut être corrosif pour les métaux. Provoque une irritation cutanée. Provoque une sévère irritation des yeux. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

### QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Avertissement ! Provoque une légère irritation cutanée. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

### QuantiFERON Green Diluent



Contient de la tartrazine. Avertissement ! Peut provoquer une allergie cutanée. Porter des gants de protection/des vêtements de protection/un équipement de protection des yeux/du visage.

### QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Nocif pour les organismes aquatiques, entraîne des effets néfastes à long terme. Éviter tout rejet dans l'environnement.



## Autres informations

Fiches de données de sécurité (FDS) : [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)

- Le thiomersal est utilisé comme conservateur dans certains réactifs QFT-Plus. Il peut être toxique après ingestion, inhalation ou contact cutané.
- Le non-respect des consignes du *Mode d'emploi du QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)* peut entraîner l'obtention de résultats erronés. Lire attentivement les instructions avant toute utilisation.
- Ne pas utiliser le kit si un flacon de réactif présente des signes d'endommagement ou de fuite avant son utilisation.
- **Important :** examiner les flacons avant de les utiliser. Ne pas utiliser les flacons de conjugué ou d'étalon d'IFN- $\gamma$  s'ils semblent endommagés ou si l'étanchéité du joint en caoutchouc a été altérée. Ne pas manipuler de flacons cassés. Prendre les précautions nécessaires pour les éliminer en toute sécurité. Il est recommandé d'utiliser une pince à dessertir pour ouvrir les flacons de conjugué ou d'étalon d'IFN- $\gamma$  afin de réduire les risques de blessures avec la capsule en métal.
- Ne pas mélanger ou utiliser les barrettes de microplaques, l'étalon d'IFN- $\gamma$ , le diluant vert ou le conjugué concentré 100x provenant de différents lots de kits QFT-Plus. Les autres réactifs (concentré de tampon de lavage 20x, solution de substrat enzymatique et solution de blocage d'enzyme) sont interchangeables entre les kits si les réactifs ne sont pas périmés et si les détails du lot sont enregistrés.
- Éliminer les réactifs inutilisés et les échantillons biologiques conformément aux réglementations locales, régionales et nationales.
- Ne pas utiliser le QFT-Plus ELISA Kit après la date d'expiration.
- Des procédures de laboratoire correctes doivent être suivies en permanence.
- S'assurer que l'équipement de laboratoire tel que les laveurs et lecteurs de microplaques ont été calibrés/validés pour utilisation.

# Conservation et manipulation des réactifs

Prêter attention aux dates de péremption et aux conditions de conservation imprimées sur l'emballage et les étiquettes des composants. Ne pas utiliser de composants périmés ou stockés dans de mauvaises conditions.

## Stabilité à l'utilisation

- Conserver le kit ELISA entre 2 et 8 °C.
- Veiller à toujours protéger la solution de substrat enzymatique de la lumière directe du soleil.

## Réactifs reconstitués et inutilisés

- Pour obtenir des instructions sur la reconstitution des réactifs, se reporter à « Protocole : test ELISA », page 20.
- L'étalon du kit reconstitué peut être conservé jusqu'à 3 mois s'il est conservé entre 2 et 8 °C.

Noter la date à laquelle l'étalon du kit a été reconstitué.

- Le conjugué concentré 100x reconstitué doit être conservé entre 2 et 8 °C et utilisé dans les 3 mois.

Noter la date à laquelle le conjugué a été reconstitué.

- Le conjugué prêt à l'emploi doit être utilisé dans les 6 heures suivant sa préparation.
- Le tampon de lavage prêt à l'emploi peut être conservé à température ambiante jusqu'à 2 semaines.
- Les barrettes de microplaques sont à usage unique. Les barrettes inutilisées peuvent être retirées du support de plaque et stockées pour une utilisation ultérieure.

## Conservation et manipulation des échantillons

Se reporter au *Mode d'emploi des QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes* (1123668) pour plus de détails sur la procédure de prélèvement sanguin pour le test QFT-Plus.

# Protocole : test ELISA

## Points importants avant de commencer

### Configuration (Temps requis pour effectuer le dosage)

- Pour pouvoir obtenir des résultats valides au dosage QFT-Plus, l'opérateur doit effectuer des tâches spécifiques dans le temps imparti. Avant d'utiliser le dosage, il est recommandé à l'opérateur de planifier soigneusement chaque étape afin de prévoir le temps nécessaire pour chacune d'elles. Le temps requis est estimé ci-dessous ; le temps requis pour tester plusieurs échantillons en lots est également indiqué.
  - Environ 3 heures pour une plaque ELISA
  - < 1 heure de travail
  - Ajouter 10 à 15 minutes pour chaque microplaque supplémentaire

### IFN- $\gamma$ ELISA

- Se reporter aux sections « Contenu du kit », page 11 et « Matériel nécessaire, mais non fourni », page 13 pour connaître les produits nécessaires à la réalisation du test ELISA.

### Procédure

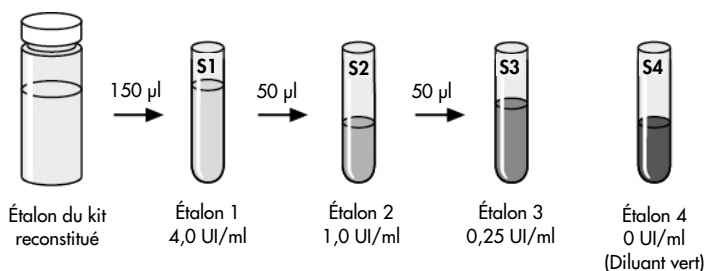
1. L'ensemble des échantillons de plasma et des réactifs, sauf le conjugué concentré 100x, doit être amené à température ambiante ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) avant utilisation. Attendre au moins 60 minutes pour l'équilibration.
2. Retirer du cadre les barrettes ELISA superflues, les remettre dans la poche en aluminium fermée et les replacer au réfrigérateur pour les conserver jusqu'à utilisation.
3. Prévoir au moins 1 barrette pour les étalons QFT-Plus et un nombre suffisant de barrettes pour le nombre de sujets testés (voir la Figure 2 pour le format de plaque recommandé).

Après utilisation, conserver le cadre et le couvercle pour une utilisation ultérieure avec les barrettes restantes.

- 3a. Reconstituer l'étalon d'IFN- $\gamma$  avec le volume d'eau déionisée ou distillée indiqué sur l'étiquette du flacon. Mélanger doucement pour réduire la formation de mousse et vous assurer que la totalité du contenu du flacon est bien dissoute. La reconstitution de l'étalon d'IFN- $\gamma$  au volume indiqué produit une solution à la concentration de 8,0 UI/ml.
- 3b. À l'aide de l'étalon reconstitué, préparer une série de dilution de 4 concentrations d'IFN- $\gamma$  (voir la Figure 1).
- 3c. Une courbe étalon doit être générée avec les concentrations d'IFN- $\gamma$  suivantes :
- S1 (étalon 1) contient 4,0 UI/ml
  - S2 (étalon 2) contient 1,0 UI/ml
  - S3 (étalon 3) contient 0,25 UI/ml
  - S4 (étalon 4) contient 0 UI/ml (Diluant vert [DV] seulement).
- 3d. Les étalons doivent être testés au moins en double.
- 3e. Préparer des dilutions fraîches de l'étalon du kit pour chaque session ELISA.

### Procédure

A	Étiqueter 4 tubes : S1, S2, S3, S4
B	Ajouter 150 $\mu$ l de DV à S1, S2, S3, S4
C	Ajouter 150 $\mu$ l de l'étalon du kit à S1 et mélanger soigneusement
D	Transférer 50 $\mu$ l de S1 à S2 et mélanger soigneusement
E	Transférer 50 $\mu$ l de S2 à S3 et mélanger soigneusement
F	Le DV seul sert d'étalon zéro (S4)



**Figure 1. Préparation d'une série de dilution avec courbe étalon.**

4. Reconstituer le conjugué concentré 100x lyophilisé avec 0,3 ml d'eau déionisée ou distillée. Mélanger doucement pour réduire la formation de mousse et vous assurer que la totalité du contenu du flacon est bien dissoute.
  - 4a. Le conjugué concentré prêt à l'emploi est préparé en diluant la quantité requise de conjugué concentré 100x reconstitué dans le diluant vert (Tableau 1).
  - 4b. Le conjugué prêt à l'emploi doit être utilisé dans les 6 heures suivant sa préparation.
  - 4c. Stocker de nouveau toute fraction non utilisée de conjugué concentré 100x entre 2 °C et 8 °C immédiatement après utilisation.

Tableau 1. Préparation du conjugué (prêt à l'emploi)

Nombre de barrettes	Volume de conjugué (concentré 100x)	Volume de diluant vert
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. Pour les échantillons de plasma collectés dans les tubes de prélèvement sanguin puis conservés (réfrigérés ou congelés), bien mélanger l'échantillon conservé avant de l'ajouter au puits ELISA. Les échantillons de plasma peuvent être conservés dans des QFT-Plus Blood Collection Tubes centrifugés jusqu'à 28 jours à 2–8 °C. Les échantillons de plasma collectés peuvent aussi être conservés jusqu'à 28 jours à 2–8 °C. Ils peuvent également être conservés à une température inférieure à –20 °C (de préférence à une température inférieure à –70 °C) pendant des périodes prolongées.

Les échantillons de plasma peuvent être chargés/utilisés directement à partir des tubes de prélèvement sanguin centrifugés pour une mesure dans la plaque QFT-Plus ELISA.

Important : si les échantillons de plasma sont transférés directement depuis les QFT-Plus Blood Collection Tubes centrifugés, tout mélange du plasma doit être évité. Pendant l'ensemble de la procédure, veiller à ne pas perturber la matière sur la surface du gel.

6. Ajouter 50 µl du conjugué prêt à l'emploi fraîchement préparé dans chaque puits de la plaque ELISA.

7. Ajouter 50 µl d'échantillon de plasma de test dans les puits appropriés (voir la configuration recommandée de plaque ELISA sur la Figure 2).
8. Ajouter enfin 50 µl de chacun des étalons 1 à 4 dans les puits appropriés de la plaque (voir la configuration recommandée de plaque ELISA sur la Figure 2). Les étalons doivent être testés au moins en double.

	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

**Figure 2. Configuration recommandée de plaque ELISA.** S1 (étalon 1), S2 (étalon 2), S3 (étalon 3), S4 (étalon 4). 1N (échantillon 1. Plasma de contrôle Nil), 1 TB1 (échantillon 1. Plasma TB1), 1 TB2 (échantillon 1. Plasma TB2), 1M (échantillon 1. Plasma Mitogen).

9. Couvrir la plaque ELISA puis mélanger soigneusement le conjugué et les échantillons de plasma/étalons en utilisant un agitateur de microplaque pendant 1 minute entre 500 et 1 000 tr/min. Éviter les projections de liquide.
10. Couvrir la plaque ELISA et incuber à température ambiante ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) pendant  $120 \pm 5$  minutes. La plaque ELISA ne doit pas être exposée à la lumière directe du soleil pendant l'incubation. Le non-respect de la plage de températures spécifiée peut fausser les résultats.
11. Pendant l'incubation de la plaque ELISA, préparer le tampon de lavage prêt à l'emploi. Diluer une mesure du concentré du tampon de lavage 20x avec 19 mesures d'eau déionisée ou distillée et mélanger soigneusement. Une quantité suffisante de concentré de tampon de lavage 20x est fournie pour préparer 2 litres de tampon de lavage prêt à l'emploi.
12. Au terme de l'incubation de la plaque ELISA, laver les puits de la plaque ELISA avec 400 µl de tampon de lavage prêt à l'emploi. Appliquer l'étape de lavage au moins 6 fois.



Pour des raisons de sécurité, un laveur de microplaques automatique est recommandé lors de la manipulation des échantillons de plasma.

Il est très important de procéder soigneusement au lavage avant d'exécuter le dosage. Veiller à ce que chaque puits soit rempli à ras bord de tampon de lavage pour chaque cycle de lavage. Un temps de trempage d'au moins 5 secondes est recommandé entre chaque cycle.

Un désinfectant de laboratoire standard doit être ajouté au réservoir d'effluent et les procédures établies pour la décontamination de matériel potentiellement infectieux doivent être suivies.

13. Tapoter la plaque ELISA face vers le bas sur une serviette absorbante (peu pelucheuse) pour éliminer le reste de tampon de lavage. Ajouter 100 µl de solution de substrat enzymatique dans chaque puits de la plaque, couvrir la plaque puis mélanger soigneusement en utilisant un agitateur de microplaque pendant 1 minute entre 500 et 1 000 tr/min.
14. Couvrir la plaque ELISA et incuber à température ambiante ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) pendant 30 minutes. La plaque ELISA ne doit pas être exposée à la lumière directe du soleil pendant l'incubation.
15. Après l'incubation de 30 minutes, ajouter 50 µl de solution de blocage d'enzyme dans chaque puits de la plaque dans l'ordre suivi pour ajouter le substrat puis mélanger soigneusement en utilisant un agitateur de microplaque entre 500 et 1 000 tr/min.
16. Mesurer la densité optique (DO) de chaque puits de la plaque ELISA au cours des 5 minutes suivant l'arrêt de la réaction en utilisant un lecteur de microplaques équipé d'un filtre de 450 nm et d'un filtre de référence de 620 nm à 650 nm. Les valeurs de DO sont utilisées pour calculer les résultats.

# Résultats (Calculs)

Le QFT-Plus Analysis Software peut être utilisé pour traiter les données brutes et calculer les résultats. Il peut être téléchargé sur [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Vérifier que la version la plus récente de QFT-Plus Analysis Software est utilisée.

Le logiciel effectue une évaluation de contrôle qualité du dosage, génère une courbe d'étalonnage et fournit un résultat de test pour chaque sujet, comme détaillé dans la section « Interprétation des résultats » page 30. Le logiciel indique toutes les concentrations supérieures à 10 UI/ml comme « >10 », autrement dit ces valeurs se trouvent au-delà de la plage linéaire validée d'ELISA.

Au lieu d'utiliser le QFT-Plus Analysis Software, les résultats peuvent être déterminés selon la méthode suivante.

## Génération d'une courbe étalon et de valeurs d'échantillons

### Si le QFT-Plus Analysis Software n'est pas utilisé

Si le QFT-Plus Analysis Software n'est pas utilisé, la détermination de la courbe d'étalonnage et des valeurs UI/ml des échantillons nécessite un tableur comme Microsoft® Excel®.

### Utilisation d'un tableur

1. Déterminer les valeurs de DO moyennes des réplicats de l'étalon du kit pour chaque plaque.
2. Établir une courbe étalon  $\log_{(e)} - \log_{(e)}$  en traçant le  $\log_{(e)}$  de la DO moyenne (axe des y) en fonction du  $\log_{(e)}$  de la concentration en IFN- $\gamma$  des étalons en UI/ml (axe des x), en omettant l'étalon zéro dans ces calculs. Déterminer la ligne correspondant le mieux à la courbe étalon par analyse de régression.

- Utiliser la courbe étalon pour déterminer la concentration en IFN- $\gamma$  (UI/ml) de chacun des échantillons de plasma du test à l'aide de la valeur de DO de chaque échantillon.
- Ces calculs peuvent être effectués à l'aide des packs logiciels disponibles avec les lecteurs de microplaques ainsi qu'avec les tableurs ou logiciels de statistiques classiques (comme Microsoft Excel). Il est recommandé d'utiliser ces packs logiciels pour calculer l'analyse de régression, le coefficient de variation (CV en %) pour les étalons et le coefficient de corrélation ( $r$ ) de la courbe étalon.

## Calcul d'échantillon

Si les résultats de DO suivants ont été obtenus pour les étalons, les calculs utilisant  $-\log(e)$  – doivent suivre ceux du Tableau 2.

Tableau 2. Courbe étalon

Étalon	UI/ml	Valeurs de DO a et b	DO moyenne	CV en %	Log <sub>(e)</sub> UI/ml	Log <sub>(e)</sub> (DO) moyenne
Étalon 1	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
Étalon 2	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
Étalon 3	0,25	0,114, 0,136	0,125	S.O.	-1,386	-2,079
Étalon 4	0	0,034, 0,037	0,036	S.O.	S.O.	S.O.

L'équation de la courbe est  $y = 0,7885(X) - 0,9837$ , où « m » = 0,7885 et « c » = -0,9837. Ces valeurs sont utilisées dans l'équation  $X = (Y-c)/m$  pour résoudre X. En fonction de la courbe étalon, le coefficient de corrélation calculé ( $r$ ) = 1,000. S.O. : Non applicable.

La validité du dosage est déterminée à l'aide des critères spécifiés dans « Contrôle qualité du test », page 28.

La courbe d'étalonnage (Tableau 2) permet de convertir les réponses de la DO aux antigènes en unités internationales (UI/ml).

Tableau 3. Calcul d'échantillon

Antigène	Valeur de la DO	$\log_{10}$ Valeur de la DO	X	$e^x$ (UI/ml)	Antigène – Nil (UI/ml)
Nil	0,037	-3,297	-2,934	0,05	–
TB1	1,161	0,149	1,437	4,21	4,16
TB2	1,356	0,305	1,634	5,12	5,07
Mitogen	1,783	0,578	1,981	7,25	7,20

Les valeurs d'IFN- $\gamma$  (en UI/ml) pour TB1, TB2 et Mitogen sont corrigées pour le fond en soustrayant la valeur UI/ml obtenue pour le contrôle Nil correspondant. Ces valeurs corrigées sont utilisées pour interpréter les résultats du test.

## Contrôle qualité du test

La fiabilité des résultats du test dépend de la précision de la courbe étalon. Il faut donc examiner les résultats dérivés des étalons avant d'interpréter les résultats des échantillons de test.

Pour que le test ELISA soit valide :

- La valeur de DO moyenne de l'étalon 1 doit être  $\geq 0,600$ .
- Le CV des valeurs des réplicats de l'étalon 1 et de l'étalon 2 doit être  $\leq 15 \%$ .
- Les valeurs de DO des réplicats pour l'étalon 3 et l'étalon 4 ne doivent pas s'écarter de plus de 0,040 unité de densité optique de leur valeur moyenne.
- Le coefficient de corrélation ( $r$ ) calculé à partir des valeurs d'absorbance moyennes des étalons doit être  $\geq 0,98$ .
- Si les critères ci-dessus ne sont pas respectés, l'analyse n'est pas valide et doit être répétée.
- La valeur de DO moyenne de l'étalon zéro (diluant vert) doit être  $\leq 0,150$ . Si la valeur de DO moyenne est  $> 0,150$ , la procédure de lavage des plaques doit être réévaluée.

Le QFT-Plus Analysis Software calcule et rapporte ces paramètres de contrôle qualité.

Il incombe à chaque laboratoire de déterminer les types de matériels de contrôle qui conviennent ainsi que la fréquence de test en fonction des réglementations locales, régionales, nationales, ou d'autres organismes d'agrément concernés. Il convient d'appliquer les procédures d'évaluation de la qualité externe et autres procédures de validation.

Remarque : les plasmas additionnés d'IFN- $\gamma$  recombinant ont affiché des réductions de concentration jusqu'à 50 % en étant conservés entre 2 et 8 °C et à -20 °C. L'IFN- $\gamma$  recombinant n'est pas recommandé pour définir des étalons de contrôle.

# Interprétation des résultats

Les résultats du QFT-Plus sont interprétés en utilisant les critères suivants (Tableau 4).

Important : le diagnostic ou l'exclusion de la tuberculose, ainsi que l'évaluation de la probabilité d'une ITL, exigent de prendre en compte les antécédents et les résultats épidémiologiques, médicaux et diagnostiques pour l'interprétation des résultats du QFT-Plus. Voir les directives générales sur le diagnostic et le traitement de la TB et de l'ITL : (<https://www.cdc.gov/tb/publications/guidelines/default.htm>).

Tableau 4. Interprétation des résultats du test QFT-Plus

Nil (UI/ml)	TB1 moins Nil (UI/ml)	TB2 moins Nil (UI/ml)	Mitogen moins Nil (UI/ml)*	Résultat du QFT-Plus	Rapport/interprétation
≤ 8,0	≥ 0,35 et ≥ 25 % de Nil	Toute valeur	Toute valeur	Positif†	Infection à <i>M. tuberculosis</i> probable
	Toute valeur	≥ 0,35 et ≥ 25 % de Nil			
	< 0,35 ou ≥ 0,35 et < 25 % de Nil	< 0,35 ou ≥ 0,35 et < 25 % de Nil	≥ 0,50	Négatif	Infection à <i>M. tuberculosis</i> NON probable
	< 0,35 ou ≥ 0,35 et < 25 % de Nil	< 0,35 ou ≥ 0,35 et < 25 % de Nil	< 0,50	Indéterminé‡	Impossible de déterminer la probabilité d'une infection à <i>M. tuberculosis</i>
> 8,0§	Toute valeur				

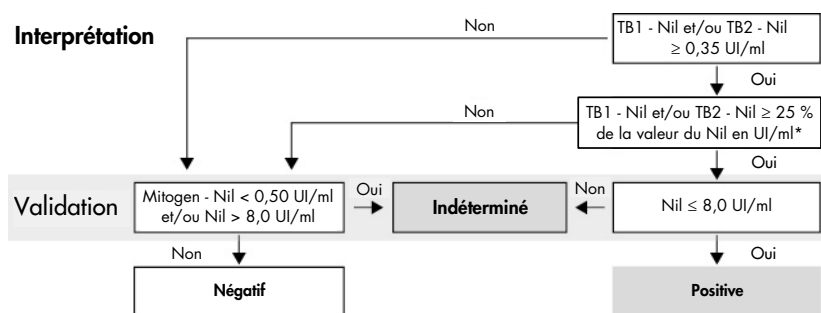
\* Les réponses au contrôle positif Mitogen (et parfois antigènes TB) peuvent être en dehors de la plage du lecteur de microplaque. Cela n'a pas d'impact sur les résultats du test. Les valeurs > 10 UI/ml sont rapportées par le logiciel QFT-Plus comme > 10 UI/ml.

† Si l'infection à *M. tuberculosis* n'est pas suspectée, les résultats initialement positifs peuvent être confirmés par un nouveau test des échantillons de plasma originaux en duplicats dans le dosage QFT-Plus ELISA. Si le test répété d'une ou des deux répliques est positif, le résultat du test est considéré comme positif.

‡ Consulter la section « Guide de dépannage », page 66 pour les causes possibles.

§ Dans les études cliniques, moins de 0,25 % des sujets présentaient des taux d'IFN-γ > 8,0 UI/ml pour la valeur Nil.

L'ampleur de la teneur en IFN- $\gamma$  mesurée ne peut être corrélée au stade ou au degré de l'infection, au niveau de la réponse immunitaire ou à la probabilité de progression vers la maladie active. Une réponse positive aux antigènes de tuberculose chez les personnes négatives au Mitogène est rare, mais a déjà été observée chez les patients atteints de tuberculose. Cela indique que la réponse de l'IFN- $\gamma$  aux antigènes TB est supérieure à la réponse au Mitogène, ce qui est possible, car la teneur en Mitogène ne stimule pas au maximum la production d'IFN- $\gamma$  par les lymphocytes.



**Figure 3. Interprétation du test QFT-Plus.** \* Pour que la valeur de TB1 moins Nil ou TB2 moins Nil soient valides, la quantité  $\geq 25\%$  de la valeur du tube Nil en UI/ml doit provenir du même tube que pour le résultat  $\geq 0,35$  UI/ml d'origine.

## Limitations

Les résultats du test QFT-Plus doivent être associés aux antécédents épidémiologiques, au statut médical actuel et à d'autres évaluations diagnostiques de chaque individu.

Les individus dont les valeurs Nil sont supérieures à 8 UI/ml sont considérés comme ayant des résultats « indéterminés », car une réponse 25 % plus élevée aux antigènes TB peut se situer hors de la plage de mesure du dosage.

- La valeur prédictive d'un résultat positif au QFT-Plus dans le diagnostic d'une infection à *M. tuberculosis* dépend de la probabilité de l'infection, laquelle est évaluée d'après les antécédents, les résultats épidémiologiques, diagnostiques et autres.
- Un diagnostic d'ITL requiert l'exclusion de la tuberculose par une évaluation médicale incluant une évaluation des tests médicaux et diagnostiques actuels pour la maladie, comme indiqué.
- Un résultat négatif doit être pris en compte avec les données médicales et les antécédents de l'individu concernant la probabilité d'une infection à *M. tuberculosis* et le risque potentiel de progression vers la tuberculose, en particulier pour les individus dont la fonction immunitaire est altérée.

Des résultats non fiables ou indéterminés peuvent survenir dans les cas suivants :

- Le non-respect de la procédure décrite dans le mode d'emploi
- Un transport/une manipulation incorrect(e) de l'échantillon de sang
- Des taux élevés d'IFN- $\gamma$  circulant ou la présence d'anticorps hétérophiles
- Un délai trop important entre le prélèvement sanguin et l'incubation. Se reporter au *Mode d'emploi des QFT-Plus Blood Collection Tubes* (1123668).



# Caractéristiques de performances

## Études cliniques

En l'absence de normes définitives permettant de confirmer ou d'exclure le diagnostic d'une ITL, une estimation de la sensibilité et de la spécificité du QFT-Plus ne peut être réalisée en pratique. La spécificité du QFT-Plus a été estimée par approximation en évaluant les taux de faux positifs chez les personnes présentant un faible risque (aucun facteur de risque connu) d'infection tuberculeuse. La sensibilité a été estimée par approximation en évaluant des groupes de sujets d'étude souffrant de la tuberculose active confirmée en culture. En outre, les performances du dosage ont été évaluées pour des taux positifs et négatifs dans une population d'individus sains présentant des facteurs de risque identifiés d'infection tuberculeuse (une population à risques modérés).

## Spécificité

Une étude multicentrique évaluant la spécificité clinique du QFT-Plus a été réalisée, incluant 733 sujets d'étude considérés comme présentant un faible risque d'infection à *M. tuberculosis* ou aucun facteur de risque d'exposition à l'infection ou à la maladie. Les données démographiques et les facteurs de risque d'exposition à la tuberculose ont été déterminés à l'aide d'une enquête normalisée effectuée au moment du test. L'étude a été menée sur quatre sites indépendants, dont un aux États-Unis, deux au Japon et un en Australie. Le test QFT-Plus a été comparé au test QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT). Une synthèse des données de performances de spécificité clinique, classées par site et région de l'étude, est présentée dans le Tableau 5. Les résultats de performances sont basés sur le nombre total de tests valides. Aucun résultat indéterminé n'a été obtenu.

Tableau 5. Spécificité du QFT-Plus dans une population à faible risque

Site	N	Positif		Négatif		Indéterminé		Spécificité (IC 95 %)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
États-Unis									
(N° 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)
Japon									
(N° 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)
(N° 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)
Total Japon	322	4	7	318	315	0	0	98,76 % (318/322) (96,85– 99,52)	97,83 % (315/322) (95,6–98,9)
Australie									
(N° 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)

La spécificité du QFT-Plus était de 98,11 % aux États-Unis, 97,83 % au Japon et 95,48 % en Australie. La spécificité globale du QFT-Plus était de 97,27 % (713/733). La spécificité de QFT était de 99,06 % aux États-Unis, 98,76 % au Japon et 95,98 % en Australie. La spécificité globale de QFT était de 98,09 % (719/733).

Une ventilation des résultats par type de tube d'antigène de tuberculose et par combinaison de ces derniers fournit un exemple de résultats attendus dans une population à faible risque (Tableau 6).

Tableau 6. Résultats de l'étude de spécificité du QFT-Plus par tube d'antigènes de TB

Interprétation basée sur l'antigène TB-Nil	TB1	TB2	QFT-Plus (positif pour TB1 et/ou TB2)*	TB1 et TB2 positifs concordants (analyse alternative) <sup>†</sup>
Positive	10	18	20	8
Négatif	723	715	713	725
Indéterminé	0	0	0	0
Spécificité (IC 95 %)	–	–	97,3 % (713/733) (95,8–98,2)	–
Taux de négativité (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)

\* Interprétation basée sur un antigène TB – la valeur Nil  $\geq 0,35$  UI/ml dans les deux (TB1 et TB2) ou dans l'un des deux tubes TB pour répondre aux critères d'interprétation pour que le QFT-Plus (TB1 ou TB2) soit déterminé comme positif.

<sup>†</sup> Une autre analyse est fournie à titre d'information uniquement.

Chez les sujets présentant un faible risque d'infection tuberculeuse, un total de 20/733 sujets a présenté un résultat positif. Parmi eux, seuls 8 sujets ont retourné une valeur  $> 0,35$  UI/ml dans les tubes TB1 et TB2. Une comparaison des dosages QFT et QFT-Plus a été effectuée dans la cohorte de l'étude des faibles risques, et a montré une concordance globale de 97,5 % (715/733) et un pourcentage de concordance négative de 98,3 % (707/719).

## Sensibilité

Bien qu'il n'existe pas de test normalisé définitif pour l'ITL, un substitut approprié s'avère être la culture microbiologique de *M. tuberculosis*, car l'infection par la tuberculose est un précurseur nécessaire de la maladie.

Une étude multicentrique d'évaluation de la sensibilité clinique du QFT-Plus a été réalisée, incluant 434 sujets de l'étude qui présentaient des signes et symptômes de la maladie à *M. tuberculosis* active confirmés par culture et/ou PCR, et qui n'étaient pas sous traitement anti-TB ou avec  $\leq 14$  jours de traitement avant le prélèvement sanguin. L'étude a été réalisée sur 7 sites indépendants comprenant trois sites aux États-Unis, trois sites au Japon et un site en Australie. Le test QFT-Plus a été comparé au test QuantiFERON-TB Gold in Tube (QFT). Une synthèse des données de performances de sensibilité clinique, classées par site et pays de l'étude, est présentée dans le Tableau 7. Les résultats de performances sont basés sur le nombre total de tests valides. La fréquence de résultats indéterminés pour le test QFT et le test QFT-Plus était respectivement de 2,3 % (10/434) et de 2,5 % (11/434).

Tableau 7. Résumé des performances de l'étude de sensibilité clinique classé par site, pays et dans l'ensemble

Site	N	Positive		Négatif		Indéterminé		Sensibilité (IC 95 %)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
États-Unis									
(N° 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)
(N° 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)
(N° 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)
Total États-Unis	53	47	47	6	6	0	0	88,7 % (47/53) (77,4–94,7)	88,7 % (47/53) (77,4–94,7)
Japon									
(N° 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)
(N° 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)

Suite du tableau page suivante

Suite du tableau de la page précédente

**Tableau 7. Résumé des performances de l'étude de sensibilité clinique classé par site, pays et dans l'ensemble (suite)**

Site	N	Positive		Négatif		Indéterminé		Sensibilité (IC 95 %)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
(N° 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)
Total Japon	352	328	322	15	19	9	11	95,63 % (328/343) (92,91– 97,33)	94,43 % (322/341) (91,5–96,4)
Australie									
(N° 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)

L'analyse dans le tableau ci-dessus n'inclut pas de résultats indéterminés.

La sensibilité du QFT-Plus était de 88,7 % aux États-Unis, 94,43 % au Japon et 100,0 % en Australie. La sensibilité globale du QFT-Plus était de 94,09 % (398/423). La sensibilité de QFT était de 88,7 % aux États-Unis, 95,63 % au Japon et 96,43 % en Australie. La sensibilité globale du QFT était de 94,81 % (402/424).

Une ventilation des résultats par type de tube d'antigène TB et par combinaison des tubes fournit un exemple des résultats attendus dans une population infectée par la tuberculose confirmée (Tableau 8).

Tableau 8. Résultats de l'étude de sensibilité du QFT-Plus par tube d'antigènes de TB

Interprétation basée sur l'antigène TB-Nil en UI/ml	TB1	TB2	QFT-Plus (positif pour TB1 et/ou TB2)
Positif	388	397	398
Négatif	32	26	25
Indéterminé	14	11	11
Sensibilité* (IC 95 %)	–	–	94 % (398/423) (91,4–96,0)
Taux de positivité* (IC 95 %)	92,4 % (388/420) (89,4–94,6)	93,9 % (397/423) (91,1–95,8)	–

\* En excluant les valeurs indéterminées.

Une comparaison des dosages QFT et QFT-Plus a été évaluée dans la cohorte de TB active confirmée par culture (cohorte de l'étude de sensibilité) et a révélé une concordance globale de 95,9 % et un pourcentage de concordance positive de 97,3 % (391/402).

Tableau 9. Ratios de probabilité du QFT-Plus

Site*	Sensibilité	Spécificité	TP+	TP-
Australie	100,00 %	95,48 %	22,11	0,00
Japon	94,43 %	97,83 %	43,44	0,06
États-Unis	88,68 %	98,11 %	47,00	0,12

\* Total

## Performances chez les sujets avec des facteurs de risque identifiés pour une infection à MTB (individus à risque modéré)

Une cohorte de 601 individus présentant des facteurs de risque modérés d'infection tuberculeuse (p. ex. positivité au VIH, antécédents de traitement pour la TB active ou latente, exposition à un cas de TB active, statut des professionnels de santé, etc.) a été évaluée à la fois avec les tests QFT et QFT-Plus. Les facteurs de risque ont été identifiés à l'aide d'un sondage standardisé et les individus n'ont présenté aucun symptôme associé à la TB active au moment du recrutement. Les données démographiques et les facteurs de risque sont indiqués dans le Tableau 10. Dans cette population, 68/601 (11,3 %) sujets ont présenté un résultat positif au QFT-Plus, avec un pourcentage de concordance positive (Positive Percent Agreement, PPA) et un pourcentage de concordance négative (Negative Percent Agreement, NPA) de 98,44 % et 99,07 % respectivement (Tableau 11). Dans cette cohorte de 68 sujets positifs au QFT-Plus, un total de 62 sujets étaient positifs à la fois pour les tubes TB1 et TB2, 2 sujets étaient positifs pour le TB1 uniquement et 4 sujets étaient positifs pour le TB2 uniquement. Aucun résultat indéterminé (0/601) n'a été observé.



**Tableau 10. Données démographiques et facteurs associés au risque d'infection TB dans une cohorte mixte**

Total des sujets (601)		Nombre	Pourcentage
Sexe	Masculin	539	89,7 %
	Féminin	62	10,3 %
Âge (ans)	Plage	18–70	–
	Moyenne	46,7	
Vaccinés par le BCG	Oui	15	2,5 %
	Non	586	97,5 %
VIH positif ou testé positif pour les virus HTLV	Oui	12	2,0 %
	Non	589	98 %
Diagnostic antérieur de TB active	Oui	11	1,8 %
	Non	590	98,2 %
Test cutané à la tuberculine (TCT)/Mantoux positif pour la tuberculose	Oui	47	7,8 %
	Non	554	92,2 %
A déjà été traité pour une TB active ou latente	Oui	35	5,8 %
	Non	566	94,2 %
A vécu, travaillé ou fait du bénévolat (> 1 mois) dans une prison ou un établissement pénitentiaire	Oui	373	62,1 %
	Non	228	37,9 %
A vécu, travaillé ou fait du bénévolat (> 1 mois) dans un refuge pour sans-abri	Oui	525	87,4 %
	Non	76	12,6 %
Professionnel de santé	Oui	8	1,3 %
	Non	593	98,7 %
Contact étroit avec une personne atteinte ou soupçonnée d'être atteinte de TB active	Oui	9	1,5 %
	Non	592	98,5 %

**Tableau 11. Synthèse des performances du QFT-Plus par rapport au QFT chez les sujets avec des facteurs de risque connus d'infection TB latente**

		QFT		
		Positif (+)	Négatif (-)	Total
QFT-Plus	Positif (+)	63	5*	68
	Négatif (-)	1*	532	533
	Total	64	537	601

\*Les 6 échantillons discordants présentaient des niveaux d'IFN- $\gamma$  dans les tubes d'antigène TB proches de la valeur seuil du dosage.

Le pourcentage de concordance positive (Positive Percent Agreement, PPA) et le pourcentage de concordance négative (Negative Percent Agreement, NPA) entre les résultats du QFT et du QFT-Plus étaient les suivants :

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

Le Tableau 12 ci-dessous illustre les performances du QFT-Plus par rapport au test QFT chez les sujets d'étude vaccinés par le BCG.

**Tableau 12. Performances du QFT-Plus par rapport au test QFT chez les sujets de l'étude vaccinés par le BCG (données combinées des sujets de l'étude de sensibilité, spécificité et ITL)**

		QFT		
		Positif (+)	Négatif (-)	Total
QFT-Plus	Positif (+)	66	5	71
	Négatif (-)	3	268	271
	Total	69	273	342*

\* Deux sujets de l'étude de sensibilité ont été exclus de l'analyse en raison de résultats indéterminés

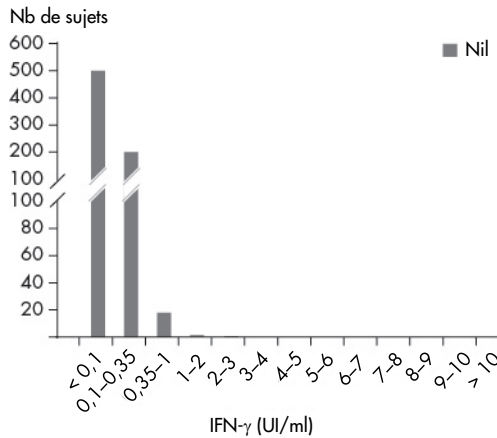
- PPA = 95,6 % (66/69), IC 95 % (87,98, 98,51)
- NPA = 98,2 % (268/273), IC 95 % (95,79, 99,22)

# Valeurs attendues

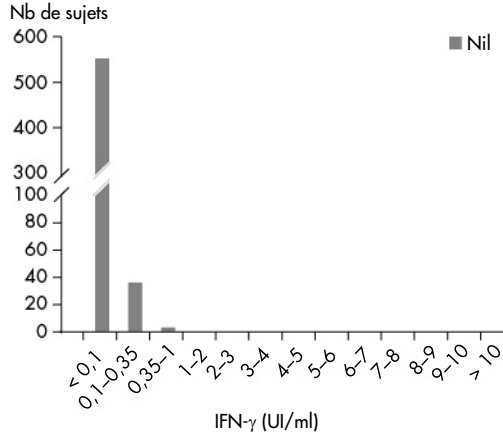
## Distributions des réponses observées — classées en fonction du risque

Une plage de réponses IFN- $\gamma$  aux tubes TB1, TB2 et de contrôle a été observée dans les essais cliniques et classée en fonction du risque d'infection à *M. tuberculosis* (Figure 4 à Figure 7). Le groupe à risque modéré est constitué de sujets représentatifs d'une population générale de test et inclut des sujets avec ou sans facteurs de risque d'exposition à la tuberculose et chez lesquels la tuberculose active est improbable (c'est-à-dire avec ITL).

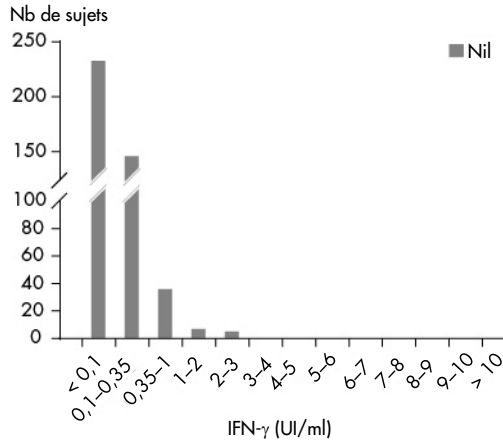
A



B

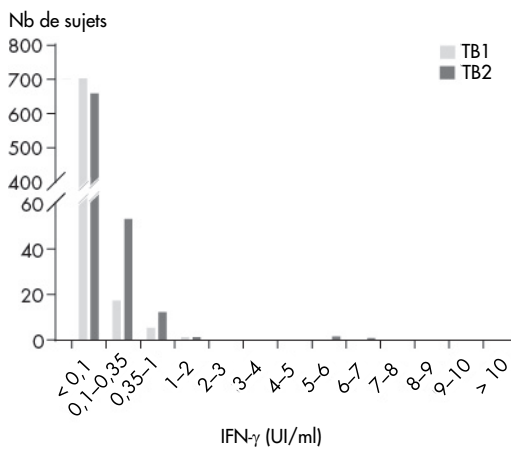


C

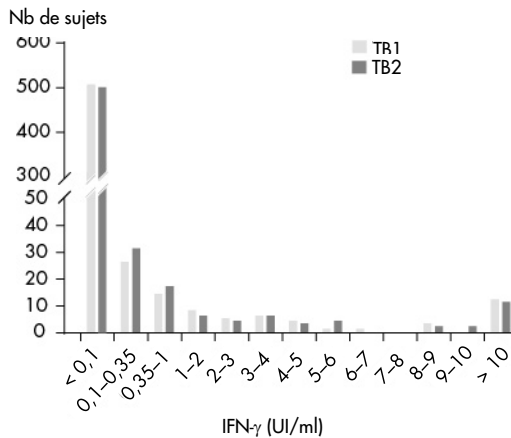


**Figure 4. Distribution des valeurs du tube Nil.** A. Distribution des valeurs du tube Nil dans une population à faible risque (n=744). B. Distribution des valeurs du tube Nil dans une population à risque modéré (n=601). C. Distribution des valeurs du tube Nil dans une population avec infection à *M. tuberculosis* confirmée par culture (n=416).

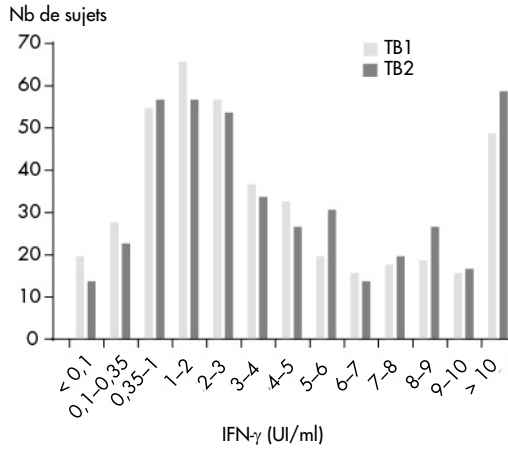
A



B

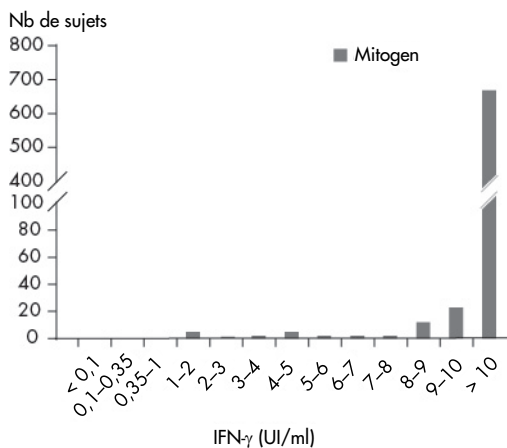


C

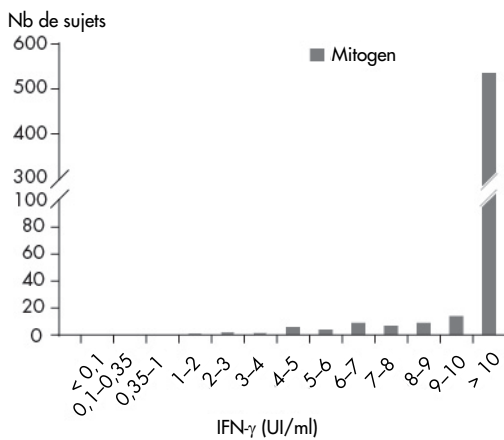


**Figure 5. Distribution de TB1 et TB2 (Nil soustrait).** A. Distribution des valeurs de TB1 et TB2 (Nil soustrait) dans une population à faible risque (n=744). B. Distribution des valeurs de TB1 et TB2 (Nil soustrait) dans une population à risque modéré (n=601). C. Distribution des valeurs de TB1 et TB2 (Nil soustrait) dans une population avec infection à *M. tuberculosis* confirmée par culture (n=416).

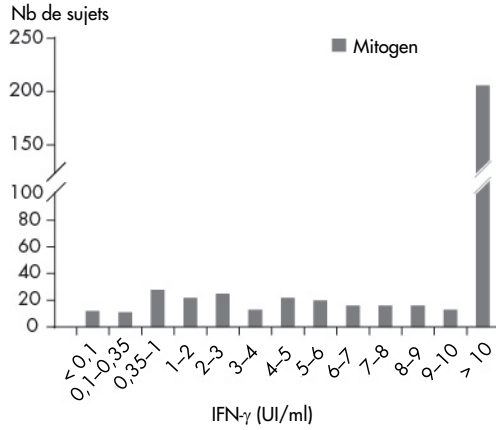
A



B

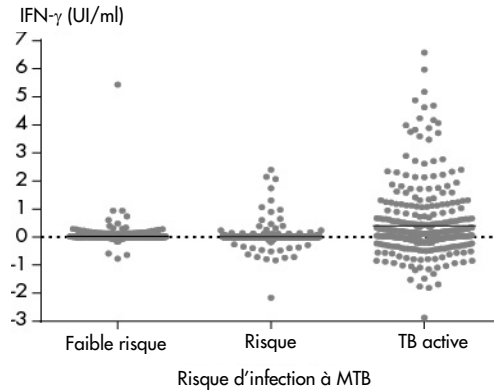


C



**Figure 6. Distribution des valeurs du tube Mitogen (Nil soustrait).** A Distribution des valeurs du tube Mitogen (Nil soustrait) dans une population à faible risque (n=744). B. Distribution des valeurs du tube Mitogen (Nil soustrait) dans une population à risque modéré (n=601). C. Distribution des valeurs du tube Mitogen (Nil soustrait) dans une population avec infection à *M. tuberculosis* confirmée par culture (n=415).





**Figure 7. Différence observée entre les valeurs de TB1 et TB2 (Nil soustrait), classée en fonction du risque.**

Inclut des données de l'étude de cohorte à risque modéré pour montrer les différences entre les cohortes à faible risque, à risque élevé et à risque modéré. Cette analyse des données incluait une cohorte à risque modéré présentant des facteurs de risque connus. Par conséquent, dans la cohorte à faible risque  $n = 733$ , dans la cohorte à risque modéré  $n = 588$  et dans la cohorte à risque élevé de TB active  $n = 357$ . La différence quantitative en UI/ml pour chaque sujet a été obtenue en soustrayant la valeur de TB1 de la valeur de TB2.

## Résumé de la sécurité et des performances

Le résumé de la sécurité et des performances est disponible sur le site Web EUDAMED.

# Caractéristiques de performances du dosage

## Performances analytiques

### Valeur seuil du dosage

Le seuil du dosage QFT-Plus a été déterminé à partir de données de 216 sujets sans facteur de risque identifié d'exposition à la TB, qui avaient été vaccinés par le BCG et sont exempts d'infection, et 118 sujets avec infection à *M. tuberculosis* confirmée par culture. Les données de sensibilité et spécificité ont été combinées et analysées par analyse de la courbe de la fonction d'efficacité du récepteur (Receiver Operator Characteristic, ROC). Les données de sensibilité et spécificité analysées par analyse de la courbe ROC ont démontré que la valeur seuil ELISA optimale était de 0,35 UI/ml (voir la Figure 8).

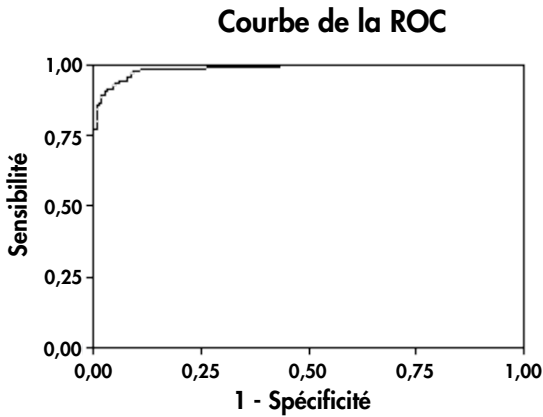


Figure 8. Courbe de la ROC pour les réponses d'ESAT-6 et CFP-10.

**Tableau 13. Valeurs de sensibilité et de spécificité pour le test ELISA à différents seuils**

Seuil UI/ml d'IFN- $\gamma$	Sensibilité (%)	IC à 95 %	Spécificité (%)	IC à 95 %	Sensibilité + spécificité
0,20	91,53	84,97 % à 95,86 %	96,31	92,87 % à 98,40 %	187,84
0,23	91,53	84,97 % à 95,86 %	96,77	93,47 % à 98,69 %	188,30
0,26	90,68	83,93 % à 95,25 %	96,77	93,47 % à 98,69 %	187,45
0,28	90,68	83,93 % à 95,25 %	97,24	94,08 % à 98,98 %	187,92
0,30	89,83	82,91 % à 94,63 %	97,24	94,08 % à 98,98 %	187,07
0,31	88,98	81,90 % à 94,00 %	97,24	94,08 % à 98,98 %	186,22
0,33	88,98	81,90 % à 94,00 %	97,70	94,71 % à 99,25 %	186,68
0,35	88,98	81,90 % à 94,00 %	98,16	95,35 % à 99,50 %	187,14
0,39	88,14	80,90 % à 93,36 %	98,16	95,35 % à 99,50 %	186,3
0,42	87,29	79,90 % à 92,71 %	98,16	95,35 % à 99,50 %	185,45
0,43	86,44	78,92 % à 92,05 %	98,16	95,35 % à 99,50 %	184,6
0,45	86,44	78,92 % à 92,05 %	98,62	96,01 % à 99,71 %	185,06

Suite du tableau page suivante

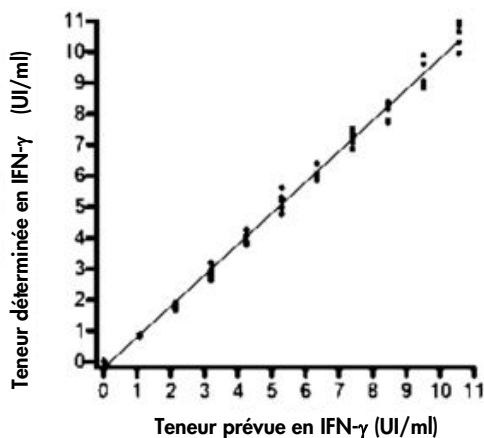
Suite du tableau de la page précédente

**Tableau 13.** Valeurs de sensibilité et de spécificité pour le test ELISA à différents seuils

Seuil UI/ml d'IFN-γ	Sensibilité (%)	IC à 95 %	Spécificité (%)	IC 95 %	Sensibilité + spécificité
0,47	85,59	77,94 % à 91,38 %	99,08	96,71 % à 99,89 %	184,67
0,48	84,75	76,97 % à 90,70 %	99,08	96,71 % à 99,89 %	183,83
0,50	83,90	76,00 % à 90,02 %	99,08	96,71 % à 99,89 %	182,98

## Linéarité

La linéarité du QFT-Plus ELISA a été démontrée en plaçant 5 réplicats de 11 pools de plasma de concentrations en IFN-γ connues de manière aléatoire sur la plaque ELISA. La droite de régression linéaire présente une pente de  $1,002 \pm 0,011$  et un coefficient de corrélation de 0,99 (Figure 9).



**Figure 9.** Illustration de l'analyse de régression pour l'étude de linéarité – Moyenne de pool élevée =  $-0,24 + 0,9964 \cdot \text{prévu}$ .

## Reproductibilité

Une étude multicentrique de reproductibilité a été menée pour évaluer les performances du QFT-Plus sur plusieurs sites avec plusieurs opérateurs. Il s'agissait d'une étude prospective menée sur trois sites de tests externes et un site de prélèvement. Au total, 32 sujets positifs et 34 sujets négatifs (déterminés par le test QFT) ont été intégrés à l'étude. Les sujets de l'étude étaient des professionnels de santé aux États-Unis. Les sujets de l'étude représentaient des groupes présentant un risque modéré d'exposition à la TB en raison de leur activité professionnelle ou en tant que professionnels de santé nés à l'étranger et provenant d'un endroit où le taux de TB était supérieur à 50/100 000.

Trois tubes de prélèvement sanguin avec héparine de lithium ont été prélevés sur chaque sujet de l'étude sur le site de prélèvement. Les tubes de prélèvement sanguin avec héparine de lithium ont ensuite été transférés vers chacun des trois sites de test où ils ont été aliquotés dans deux jeux de QFT-Plus Blood Collection Tubes (TB1, TB2, Mitogen et Nil QFT-Plus), puis testés conformément à la procédure de dosage QFT-Plus. Sur chaque site, au moins deux opérateurs ont effectué les deux tests indépendamment par sujet de l'étude. Chaque opérateur était aveugle aux résultats obtenus par l'autre opérateur et aveugle au résultat du test QFT du sujet de l'étude.

Sur l'ensemble des trois sites de test, six résultats ont été générés pour chacun des 66 sujets de l'étude, pour un total de 396 points de données. Une synthèse des résultats de reproductibilité est présentée dans le Tableau 14.

**Tableau 14. Synthèse des résultats de l'étude de reproductibilité – % de concordance sur site des résultats qualitatifs entre opérateurs ; N = 66 échantillons de patients**

Site 1 – 2 opérateur	Site 2 – 2 opérateur	Site 3 – 3 opérateur
64/66 = 96,97 %	64/66 = 96,97 %	59/66 = 89,39 %
Concordance des résultats qualitatifs du jeu de tubes 1 et du jeu de tubes 2	Concordance des résultats qualitatifs du jeu de tubes 1 et du jeu de tubes 2	Concordance des résultats qualitatifs du jeu de tubes 1 et du jeu de tubes 2

Le pourcentage de concordance qualitative sur l'ensemble des sites d'étude est de 94,7 % (375/396). Dans ce calcul, le nombre total de résultats de test concordants (375) inclut les cas où il y a concordance des 6 résultats, concordance de 5 résultats sur 6, concordance de 4 résultats sur 6 et concordance de 3 résultats sur 6 combinés.

## Répétabilité inter-lots

Une étude a été menée pour déterminer la variabilité inter-lots des QFT-Plus Blood Collection Tubes par rapport aux tubes QFT. Au total, 30 sujets (15 positifs à la TB et 15 négatifs à la TB confirmés déterminés par le test QFT) ont été testés. Trois lots distincts de chacun des QFT-Plus TB1, TB2 et QFT TB Blood Collection Tubes ont été intégrés à cette étude. Trois réplicats par donneur par lot de tubes de prélèvement sanguin ont été testés. Les tubes Nil et Mitogen ont été testés avec un réplicat chacun.

Le sang de chaque sujet était prélevé dans des tubes de prélèvement sanguin avec héparine de lithium puis 1 ml de sang était transféré dans chacun des QFT-Plus et QFT Blood Collection Tubes et testé suivant la procédure de dosage. Pour chaque groupe d'échantillons positif et négatif, la variance totale des résultats du tube QFT-Plus ne doit pas avoir été notablement supérieure à la variance totale des résultats du tube QFT. Celle-ci a été déterminée à partir de la valeur p donnée par le test d'homogénéité de la variance (HOV) de Levene. Si la valeur p n'était pas significative ( $p > 0,05$ ) et/ou que la variation des tubes TB QFT-Plus était inférieure à celle du tube TB QFT, il y avait une variance entre les tubes TB QFT-Plus et QFT.

**Tableau 15. Comparaison des variances entre les QFT-Plus et QFT TB Blood Collection Tubes avec le test HOV de Levene**

Type d'échantillon	Différence	Effet	Dépendant	Valeur p	Significatif
Positive	TB2 et QFT	Sub_Type	Résiduel	0,0378	Oui
Positif	TB2 et QFT	Sub_Type	Résiduel	0,0540	Non
Négatif	TB2 et QFT	Sub_Type	Résiduel	0,1025	Non
Négatif	TB2 et QFT	Sub_Type	Résiduel	0,6344	Non

La variation entre les QFT-Plus et QFT TB Blood Collection Tubes n'était pas significative, à l'exception du tube QFT-Plus TB2 testé avec des sujets positifs. Lorsque l'estimation de l'écart-type a été analysée, la variation observée dans le tube TB2 QFT-Plus était plus faible (0,06089) que le tube TB QFT (0,07641) comme indiqué dans le Tableau 16. Par conséquent, la variance des tubes de prélèvement sanguin QFT-Plus TB1 et TB2 n'était pas supérieure à celle du QFT TB Blood Collection Tube.

**Tableau 16. Écart-type pour l'intervalle de confiance résiduel et de 95 % pour les sujets positifs**

Type d'échantillon	Sous-type	Estimation de l'écart-type	LCL à 95 %	UCL à 95 %
Positive	QFT	0,07641	0,06826	0,08680
Positive	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Positive	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

## Répétabilité intra-lot

Une étude a été menée pour évaluer la reproductibilité intra-lot des QFT-Plus Blood Collection Tubes en comparant la concentration d'IFN- $\gamma$  à partir de répliqués des QFT-Plus TB Blood Collection Tubes contenant du sang.

Six aliquotes d'un échantillon sanguin issu des mêmes sujets avec infection TB confirmée ont été analysées dans 6 tubes de prélèvement sanguin répétés issus d'un lot de chacun des deux tubes QFT-Plus (TB1 et TB2). Le test a été effectué sur 13 sujets. Le % CV a été calculé pour chaque donneur et pour tous les donneurs afin de générer un % CV moyen, comme indiqué dans le Tableau 17.

**Tableau 17. % CV pour la moyenne, l'écart-type, le minimum, la médiane et le maximum dans chaque tube de prélèvement sanguin TB QFT-Plus chez des sujets positifs à la TB**

Tube QFT-Plus	Volume d'échantillon	Moyenne (% CV)	Écart-type	Minimum	Médiane	Maximale
TB1	13	13,31	6,88	4,17	12,87	29,56
TB2	13	13,04	7,48	4,86	10,75	29,44

Les résultats ont montré que le % CV moyen pour TB1 et TB2 était d'environ 13 %, ce qui aux critères d'acceptation de  $\leq 30$  % et démontre la répétabilité intralot.

### Limite du blanc (Limit of Blank, LoB)

La limite du blanc (Limit of Blank, LoB) a été évaluée pour le dosage QFT-Plus. Deux réplicats de chacun des 14 échantillons de plasma humain sain (les blancs) ont été testés avec 2 lots de QFT-Plus ELISA par 3 opérateurs sur 3 jours de test, un opérateur par jour de test, soit un total de 84 réplicats de chaque lot de kits ELISA.

Les valeurs de LoB (UI/ml) pour les 2 lots de kits ELISA ont été calculées séparément comme indiqué dans le Tableau 18.

**Tableau 18. Valeurs de LoB (UI/ml) pour les 2 lots de QFT-Plus ELISA kit**

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

La valeur de LoB la plus importante, 0,040 UI/ml, sur les deux lots de QFT-Plus ELISA kit, a été présentée comme la valeur de LoB finale.



## Limite de détection (Limit of Detection, LoD)

La limite de détection (Limit of Detection, LoD) a été évaluée pour le dosage QFT-Plus. Un pool de plasma humain négatif à la TB a été généré en regroupant 14 échantillons de plasma individuels. Chacun des 3 opérateurs a préparé une réserve d'étalon d'IFN- $\gamma$  de référence à 1,0 UI/ml diluée dans un tampon. Une série de dilution de 8 concentrations a été effectuée. L'étude a été menée sur 3 jours, par 3 opérateurs différents avec 2 lots de QFT-Plus ELISA kit. Pour chaque jour de test, 5 réplicats de chaque concentration dans chaque série de dilution ont été testés, soit un total de 45 réplicats pour chaque dilution de concentration d'IFN- $\gamma$  pour chaque lot de QFT-Plus ELISA kit.

La valeur de LoD pour chaque lot de QFT-Plus ELISA kit testé a été calculée séparément comme indiqué dans le Tableau 19.

**Tableau 19. Valeurs estimées de la LoD (UI/ml) pour les 2 lots de QFT-Plus ELISA Kit**

QFT-Plus ELISA Kit	Probabilité	Concentration estimée (UI/ml)	Limite de confiance inférieure à 95 % pour estimation	Limite de confiance supérieure à 95 % pour estimation
Kit 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Kit2	0,95	0,065	0,060	0,073

La valeur de LoD la plus importante calculée sur les deux lots de QFT-Plus ELISA Kit, 0,065 UI/ml, a été présentée comme la valeur de LoD finale.

## Substances interférentes

Une étude a été menée pour déterminer les effets de substances potentiellement interférentes sur la détection QFT-Plus ELISA de l'IFN- $\gamma$ . Les substances interférentes concernées par ce test sont les suivantes : triglycérides (totales), hémoglobine, protéine (sérum total), bilirubine (conjuguée), bilirubine (non conjuguée), sulfate d'abacavir, cyclosporine et prednisolone. Cinq pools de plasma aux concentrations d'IFN- $\gamma$  connues ont été préparés avec différentes concentrations interférentes. Le taux d'IFN- $\gamma$  du pool de base a été précédemment préparé en présence d'une quantité prédéterminée d'IFN- $\gamma$  (environ 0,21, 0,45 et 1,4 UI/ml). Ce pool a ensuite été utilisé pour préparer les pools interférents. Les concentrations interférentes testées étaient de 0 mg/dl, 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl et 20 mg/dl. Les concentrations interférentes cibles étaient basées sur les intervalles de référence, les valeurs pathologiques, les plages thérapeutiques et les plages toxiques, ou sur les recommandations du fournisseur ou les taux cliniques généraux. Six réplicats ont été testés pour chaque taux de concentration d'échantillon interférent.

Pour chaque concentration d'échantillon, un test t de deux échantillons a été réalisé pour comparer la différence de log<sub>10</sub> moyen (UI/ml) du taux interférent primaire par rapport au contrôle (c.-à-d. un taux non interférent) comme indiqué dans le Tableau 20 et le Tableau 21. La différence estimée dans la réponse moyenne, ainsi que les limites de confiance bilatérales à 95 % et la valeur p correspondantes, ont aussi été rapportées.

**Tableau 20. Log10 UI/ml : tableau de synthèse du test t pour les différences de moyennes entre le contrôle et le taux interférent primaire pour chaque taux interférent et concentration d'IFN- $\gamma$**

Interférent	Taux interférent	Concentration d'échantillon (UI/ml)	Variances	Différence moyenne	IC à 95 % inférieur	IC à 95 % supérieur	Valeur p	Réussi
Triglycérides	Élevé	1,4	Égales	0,019	-0,040	0,077	0,491	Oui
		0,45	Égales	0,004	-0,022	0,030	0,732	Oui
		0,21	Égales	0,006	-0,035	0,047	0,759	Oui
Hémoglobine	Élevé	1,4	Égales	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Oui
		0,45	Égales	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Oui
		0,21	Égales	0,000	-0,034	0,035	0,980	Oui
Protéine	Élevé	1,4	Égales	0,004	-0,034	0,042	0,836	Oui
		0,45	Égales	0,001	-0,38	0,040	0,962	Oui
		0,21	Égales	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Oui
Bilirubine conjuguée	Élevé	1,4	Égales	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Oui
		0,45	Égales	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Oui
		0,21	Égales	-0,014	0,074	0,046	0,625	Oui
Bilirubine non conjuguée	Élevé	1,4	Égales	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Oui
		0,45	Égales	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Oui
		0,21	Égales	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Oui
Abacavir	Élevé	1,4	Égales	0,008	-0,025	0,041	0,601	Oui
		0,45	Égales	0,012	-0,019	0,044	0,412	Oui
		0,21	Égales	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Oui

Suite du tableau page suivante

Suite du tableau de la page précédente

Tableau 20. Log10 UI/ml : tableau de synthèse du test t pour les différences de moyennes entre le contrôle et le taux interférent primaire pour chaque taux interférent et concentration d'IFN- $\gamma$

Interférent	Taux interférent	Concentration d'échantillon (UI/ml)	Variances	Différence moyenne	IC à 95 % inférieur	IC à 95 % supérieur	Valeur p	Réussi
Cyclosporine	Élevé	1,4	Égales	0,014	-0,020	0,047	0,383	Oui
		0,45	Égales	0,005	-0,035	0,045	0,773	Oui
		0,21	Égales	0,024	-0,008	0,056	0,131	Oui
Prednisolone	Élevé	1,4	Égales	0,017	-0,017	0,050	0,293	Oui
		0,45	Égales	0,000	-0,036	0,036	0,979	Oui
		0,21	Égales	0,015	-0,035	0,065	0,524	Oui

**Tableau 21. Log10 UI/ml : tableau de synthèse du test t pour les différences de moyennes entre le contrôle et le taux interférent élevé pour chaque taux interférent et concentration d'IFN- $\gamma$**

Interférent	Taux interférent	Concentration d'échantillon (UI/ml)	Variances	Différence moyenne	IC à 95 % inférieur	IC à 95 % supérieur	Valeur p	Réussi
Triglycérides	Élevé	1,4	Égales	0,053	-0,004	0,110	0,063	Oui
		0,45	Égales	0,039	-0,021	0,058	< 0,001	Oui
		0,21	Égales	0,034	-0,002	0,071	0,061	Oui
Hémoglobine	Élevé	1,4	Égales	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Oui
		0,45	Égales	0,016	-0,007	0,040	0,152	Oui
		0,21	Égales	0,014	-0,030	0,059	0,489	Oui
Protéine	Élevé	1,4	Égales	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Oui
		0,45	Égales	0,000	-0,046	0,046	0,992	Oui
		0,21	Égales	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Oui
Bilirubine conjuguée	Élevé	1,4	Égales	0,001	-0,046	0,048	0,961	Oui
		0,45	Égales	0,012	-0,043	0,067	0,639	Oui
		0,21	Égales	0,015	-0,044	0,074	0,586	Oui
Bilirubine non conjuguée	Élevé	1,4	Égales	0,015	-0,011	0,042	0,231	Oui
		0,45	Égales	0,015	-0,023	0,052	0,411	Oui
		0,21	Égales	0,012	-0,033	0,057	0,566	Oui
Abacavir	Élevé	1,4	Égales	0,013	-0,015	0,040	0,322	Oui
		0,45	Égales	0,015	-0,014	0,044	0,283	Oui
		0,21	Égales	0,008	-0,034	0,050	0,677	Oui

Suite du tableau page suivante

Suite du tableau de la page précédente

Tableau 21. Log10 UI/ml : tableau de synthèse du test t pour les différences de moyennes entre le contrôle et le taux interférent élevé pour chaque taux interférent et concentration d'IFN- $\gamma$

Interférent	Taux interférent	Concentration d'échantillon (UI/ml)	Variances	Différence moyenne	IC à 95 % inférieur	IC à 95 % supérieur	Valeur p	Réussi
Cyclosporine	Élevé	1,4	Égales	0,002	-0,019	0,024	0,816	Oui
		0,45	Égales	0,007	-0,030	0,043	0,682	Oui
		0,21	Égales	0,015	-0,007	0,038	0,155	Oui
Prednisolone	Élevé	1,4	Égales	0,007	-0,016	0,030	0,518	Oui
		0,45	Égales	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Oui
		0,21	Égales	0,021	-0,025	0,068	0,334	Oui

Les résultats n'ont révélé aucune différence significative entre le taux d'interférence primaire et le contrôle (taux non interférent) ni pour le taux interférent élevé, excepté pour le taux de concentration des triglycérides de 0,45 UI/ml. La différence moyenne a été déterminée dans la plage d'écart-type de +/- 2. Cela prouve que la différence reste dans la variabilité prévue du dosage et que les triglycérides n'ont pas eu d'effet interférent sur le QFT-Plus ELISA.

## Mise au rebut

Observer les directives correspondantes de manipulation du sang. Jeter les échantillons et le matériel en contact avec le sang ou les produits sanguins conformément aux réglementations nationales, régionales et locales en vigueur.

## Références

1. Andersen, P. et al. (2000) Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. *Lancet* 356, 1099.
2. Balcells, M.E. et al. (2008) A comparative study of two different methods for the detection of latent tuberculosis in HIV-positive individuals in Chile. *Int. J. Infect. Dis.* 12, 645.
3. Matulis, G. et al. (2007) Detection of latent tuberculosis in immunosuppressed patients with autoimmune diseases performance of a *Mycobacterium tuberculosis* antigen specific IFN-gamma assay. *Ann. Rheum. Dis.* 67, 84.
4. Rothel, J.S., Andersen, P. (2005) Diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: Is the demise of the Mantoux test imminent? *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 3, 981.
5. Stebler, A. et al. (2008) Whole-blood interferon-gamma release assay for baseline tuberculosis screening of healthcare workers at a Swiss university hospital. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 29, 681.
6. Lewinsohn, D.M. et al. (2001) Classically restricted human CD8+ T lymphocytes derived from *Mycobacterium tuberculosis*-infected cells: definition of antigenic specificity. *J. Immunol.* 166, 439.
7. Lewinsohn, D.A. et al. (2007) Immunodominant tuberculosis CD8 antigens preferentially restricted by HLA-B. *PLoS Pathol.* 3, 1240.
8. Barcellini, L. et al. (2016) First independent evaluation of QuantiFERON-TB Plus performance. *Eur. Respir. J.* 47, 1587.
9. Day, C.L. et al. (2011) Functional capacity of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cell responses in humans is associated with mycobacterial load. *J. Immunol.* 187, 2222.



10. Rozot, V. et al. (2013) Mycobacterium tuberculosis-specific CD8+ T cells are functionally and phenotypically different between latent infection and active disease. Eur. J. Immunol. 43, 1568.
11. Nikolava, M. et al. (2013) Antigen-specific CD4- and CD8-positive signatures in different phases of Mycobacterium tuberculosis infection. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 75, 277.
12. Chicchio, T. et al. (2014) Polyfunctional T-cells and effector memory phenotype are associated with active TB in HIV-infected patients. J. Infect. 69, 533.
13. Ongaya, A. et al. (2013) Mycobacterium tuberculosis-specific CD8+ T cell recall in convalescing TB subjects with HIV co-infection. Tuberculosis 93, S60.
14. Lanicioni, C. et al. (2012) CD8+ T cells provide an immunologic signature of tuberculosis in young children. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 185, 206.
15. Mazurek, G.H., et al.; IGRA Expert Committee; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2010) Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect Mycobacterium tuberculosis infection – United States, 2010. MMWR Recomm. Rep. 59, 1.
16. WHO consolidated guidelines on tuberculosis: tuberculosis preventive treatment. Geneva: World Health Organization; 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

# Guide de dépannage

Ce guide de dépannage peut vous permettre de résoudre les problèmes éventuels. Pour une assistance technique et plus d'informations, consulter notre Centre d'assistance technique à l'adresse [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) (pour nos coordonnées, visiter le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Commentaires et suggestions

---

### Dépannage ELISA

#### Développement de couleur non spécifique

- |   |  |
|---|--|
| a) Lavage incomplet de la plaque  | Laver la plaque au moins 6 fois avec 400 µl de tampon de lavage par puits. Plus de 6 cycles de lavage peuvent s'avérer nécessaires en fonction du laveur utilisé. Un temps de trempage d'au moins 5 secondes doit être utilisé entre chaque cycle.     |
| b) Contamination croisée des puits ELISA  | Faire attention lors du pipetage et du mélange des échantillons pour réduire le risque de contamination.   |
| c) Kit/composants périmés   | Veiller à utiliser le kit avant la date d'expiration. S'assurer que l'étalon reconstitué et le conjugué concentré 100x sont utilisés dans les trois mois suivant la date de reconstitution.  |
| d) La solution de substrat enzymatique est contaminée                           | Jeter le substrat en cas de coloration bleue. Vérifier la propreté des réservoirs de réactifs.   |
| e) Mélange du plasma dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes avant la collecte | Après la centrifugation, éviter de mélanger le plasma par aspiration-refoulement avec la pipette ou par tout autre moyen avant de le collecter. Pendant l'ensemble de la procédure, prendre garde à ne pas perturber la matière sur la surface du gel. |

### Faible densité optique mesurée pour les étalons

- |  |  |
|--|--|
| a) Erreur de dilution de l'étalon                      | Vérifier que les dilutions de l'étalon du kit sont préparées correctement et conformément à ce mode d'emploi.  |
| b) Erreur de pipetage                                  | Vérifier que les pipettes sont calibrées et utilisées conformément aux instructions du fabricant.  |
| c) Température d'incubation trop faible                | L'incubation d'ELISA doit être effectuée à température ambiante ( $22 \pm 5$ °C).  |
| d) Période d'incubation trop courte                    | L'incubation de la plaque avec le conjugué, les étalons et les échantillons doit durer $120 \pm 5$ minutes. La solution de substrat enzymatique doit être incubée dans la plaque pendant 30 minutes. |
| e) Utilisation du mauvais filtre de lecteur de plaques | La plaque doit être lue à 450 nm en utilisant un filtre de référence de 620 à 650 nm.  |
| f) Les réactifs sont trop froids                       | Tous les réactifs, à l'exception du conjugué concentré 100x, doivent être ramenés à température ambiante avant de commencer le dosage, Ce qui prend environ 1 heure.                                 |
| g) Kit/composants périmés                              | Veiller à utiliser le kit avant la date d'expiration. S'assurer que l'étalon reconstitué et le conjugué concentré 100x sont utilisés dans les 3 mois suivant la date de reconstitution.              |

### Bruit de fond élevé

- |                                  |  |
|----------------------------------|--|
| a) Lavage incomplet de la plaque | Laver la plaque au moins 6 fois avec 400 µl de tampon de lavage par puits. Plus de 6 cycles de lavage peuvent se révéler nécessaires. Un temps de trempage d'au moins 5 secondes doit être utilisé entre chaque cycle. |
|----------------------------------|--|

- |   |   |
|---|---|
| b) Température d'incubation trop élevée               | L'incubation d'ELISA doit être effectuée à température ambiante ( $22 \pm 5$ °C).   |
| c) Kit/composants périmés                             | Veiller à utiliser le kit avant la date d'expiration. S'assurer que l'étalon reconstitué et le conjugué concentré 100x sont utilisés dans les trois mois suivant la date de reconstitution. |
| d) La solution de substrat enzymatique est contaminée | Jeter le substrat en cas de coloration bleue. Vérifier la propreté des réservoirs de réactifs.  |

### Courbe étalon non linéaire et variabilité des doubles

- |   |  |
|---|--|
| a) Lavage incomplet de la plaque  | Laver la plaque au moins 6 fois avec 400 µl de tampon de lavage par puits. Plus de 6 cycles de lavage peuvent se révéler nécessaires. Un temps de trempage d'au moins 5 secondes doit être utilisé entre chaque cycle. |
| b) Erreur de dilution de l'étalon   | Vérifier que les dilutions de l'étalon sont préparées correctement et conformément à ce mode d'emploi.   |
| c) Mélange insuffisant  | Mélanger soigneusement les réactifs par inversion ou en les vortexant doucement avant de les ajouter à la plaque.  |
| d) Technique de pipetage incohérente ou interruption pendant la mise en place du dosage | L'ajout des échantillons et des étalons doit être effectué de manière continue. Tous les réactifs doivent être préparés avant le début du dosage.  |

# Symboles

Les symboles suivants apparaissent dans le mode d'emploi ou sur l'emballage et l'étiquetage :

## Symbole

## Définition du symbole



<N>

Contient suffisamment de réactifs pour <N> réactions



À utiliser avant



Ce produit est conforme aux exigences de la réglementation européenne 2017/746 relative aux dispositifs médicaux de diagnostic in vitro.

**EC**

**REP**

Représentant autorisé dans la Communauté européenne/Union européenne

**IVD**

Dispositif médical de diagnostic in vitro

**REF**

Numéro de référence

**LOT**

Numéro de lot

**MAT**

Numéro de matériel (c.-à-d. étiquette de composant)

**COMP**

Composants

**CONT**

Contient

**NUM**

Nombre

**GTIN**

Code article international (Global Trade Item Number, GTIN)

**Rn**

R désigne une révision du mode d'emploi et n représente le numéro de révision

## Symbole

## Définition du symbole



Limites de température



Fabricant



Consulter le mode d'emploi



Conserver à l'abri de la lumière



Avertissement/attention ou mises en garde, consulter les documents joints

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

Test de diagnostic in vitro utilisant un cocktail de peptides simulant les protéines ESAT-6 et CFP-10 afin de stimuler les cellules dans le sang total hépariné



Contient du matériel biologique d'origine animale



Contient du matériel biologique d'origine humaine

## Symbole

## Définition du symbole

---

**UDI**

Identificateur unique d'appareil

**tartrazine**

Contient de la tartrazine

**sulfuric acid**

Contient de l'acide sulfurique

# Annexe A : informations techniques

## Résultats indéterminés

Les résultats indéterminés sont peu fréquents et peuvent être liés au statut immunitaire de l'individu testé (5), mais aussi à un certain nombre de facteurs techniques (p. ex. manipulation/conservation incorrecte des tubes de prélèvement sanguin, lavage incomplet de la plaque ELISA) si le mode d'emploi ci-dessus n'est pas respecté.

Si des problèmes techniques sont suspectés avec le stockage des réactifs, le prélèvement du sang ou la manipulation des échantillons sanguins, répéter tout le test QFT-Plus avec de nouveaux prélèvements sanguins. Il est possible de répéter le test ELISA de plasmas stimulés si un lavage insuffisant ou un autre écart de procédure avec le test ELISA est suspecté. Les médecins peuvent choisir de prescrire un nouveau prélèvement ou d'autres procédures s'ils le jugent nécessaire.

## Échantillons de plasma coagulés

Si des caillots de fibrine apparaissent avec la conservation à long terme des échantillons de plasma, centrifuger les échantillons pour sédimenter la matière coagulée et faciliter le pipetage du plasma.

## Présence de graisse dans les échantillons de plasma

Il convient d'être prudent en pipettant des échantillons contenant des graisses, ces dernières peuvent boucher les pointes de pipette.



## Annexe B : résumé de la procédure du test ELISA

1. Amener les composants du kit ELISA, excepté le conjugué concentré 100x, à température ambiante pendant au moins 60 minutes.

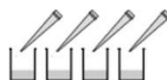


2. Reconstituer l'étalon du kit à raison de 8,0 UI/ml avec de l'eau distillée ou déionisée. Préparer quatre (4) dilutions de l'étalon.

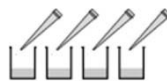


3. Reconstituer le conjugué concentré 100x lyophilisé avec de l'eau distillée ou déionisée.

4. Préparer le conjugué prêt à l'emploi dans le diluant vert et ajouter 50 µl dans tous les puits.



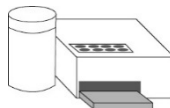
5. Ajouter 50 µl des échantillons de plasma de test et 50 µl des étalons dans les puits appropriés. Mélanger avec l'agitateur.



6. Incuber pendant 120 minutes à température ambiante.



7. Laver les puits au moins 6 fois avec 400 µl de tampon de lavage par puits.



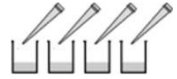
8. Ajouter 100 µl de solution de substrat enzymatique aux puits. Mélanger avec l'agitateur.



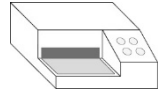
9. Incuber pendant 30 minutes à température ambiante.



10. Ajouter 50  $\mu$ l de solution de blocage d'enzyme dans tous les puits. Mélanger avec l'agitateur.



11. Lire les résultats à 450 nm avec un filtre de référence de 620 à 650 nm



12. Analyser les résultats.



## Informations pour commander

Produit	Sommaire	N° de réf.
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit	Kit ELISA à 2 plaques	622120
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Reference Lab Pack	Kit ELISA à 20 plaques	622822
<b>Related products</b>		
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes	200 tubes (Nil, TB1, TB2 et Mitogen, 50 de chaque)	622526
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 tubes (Nil, TB1, TB2 et Mitogen, 25 de chaque)	622423
QuantiFERON-TB Gold Plus Single Patient Pack	40 tubes (Nil, TB1, TB2 et Mitogen, 1 de chaque/pack), pack de 10	622222
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes	200 tubes (Nil, TB1, TB2 et Mitogen, 50 de chaque)	623526
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 tubes (Nil, TB1, TB2 et Mitogen, 50 de chaque)	623423
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Single Patient Pack	40 tubes (Nil, TB1, TB2 et Mitogen, 1 de chaque/pack), pack de 10	623222

Pour obtenir des informations actualisées sur les licences et les clauses de non-responsabilité spécifiques aux produits, consulter les instructions d'utilisation des kits QIAGEN respectifs. Les instructions d'utilisation des kits QIAGEN sont disponibles sur le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) ou peuvent être demandées aux services techniques QIAGEN ou à votre distributeur local.

# Historique des révisions du document

Date	Modifications
R2, juin 2021	Informations incluses sur le Pack pour patient unique Tableaux de conversion 10 et 11 pour distinguer les données QFT-GIT des données QFT-Plus Réactualisation de la section Description et principe pour ajouter des informations sur la population expérimentale et la plage de mesure Ajout du Tableau 9 pour ajouter des données sur le taux de probabilité du QFT-Plus
R3, octobre 2021	Retour aux numéros de référence originaux Ajout d'une mention à usage unique pour les barrettes de microplaques dans le contenu du kit
R4, mars 2023	Formatage corrigé

Cette page est intentionnellement laissée vierge

#### **Contrat de licence limitée pour le QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit**

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur accepte les conditions suivantes :

1. Le produit doit être utilisé uniquement avec les composants du panel, conformément aux protocoles fournis avec le produit et à ce mode d'emploi. QIAGEN n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans ce panel avec tout autre composant non fourni dans ce panel, à l'exception de ce qui est stipulé dans les protocoles fournis avec le produit, dans ce mode d'emploi et dans d'autres protocoles disponibles sur le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Parmi ces protocoles supplémentaires, certains ont été fournis par des utilisateurs QIAGEN pour des utilisateurs QIAGEN. Ces protocoles n'ont pas été rigoureusement testés ou optimisés par QIAGEN. QIAGEN ne saurait être tenu pour responsable de leur utilisation et n'offre aucune garantie que ces protocoles ne portent pas atteinte aux droits de tiers.
2. En dehors des licences énoncées expressément, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que ce panel et/ou sa ou ses utilisations ne violent pas les droits de tiers.
3. Ce panel et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique et ne peuvent pas être réutilisés, remis à neuf ou revendus.
4. QIAGEN rejette notamment toutes les autres licences, expresses ou tacites, autres que celles énoncées expressément.
5. L'acheteur et l'utilisateur du panel consentent à ne pas prendre, ni autoriser quiconque à prendre de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter la réalisation d'actes interdits par les conditions précédentes. QIAGEN peut faire appliquer les interdictions de ce Contrat de licence limitée par tout tribunal et pourra recouvrir tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocats, en cas d'action en application de ce Contrat de licence limitée ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés au panel et/ou à ses composants.

Pour consulter les mises à jour de la licence, voir le site [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Marques commerciales : QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (QIAGEN Group), Proclin®. Les noms déposés, marques commerciales, etc. cités dans ce document, même s'ils ne sont pas spécifiquement signalés comme tels, ne doivent pas être considérés comme non protégés par la loi.

03/2023 L1123669 1123669FR © 2023 QIAGEN, tous droits réservés.

Pour commander, [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Assistance technique, [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site Web, [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)