

# Bruksanvisning för QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold Plus ELISA Kit



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Version 1



För in vitro-diagnostisk användning

För användning med QuantiFERON<sup>®</sup>-TB Gold Plus Blood Collection  
Tubes



622120, 622822



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Tyskland



1123669SV



# Innehåll

Avsedd användning .....	5
Avsedd användare .....	5
Beskrivning och princip .....	6
Information om patogen .....	6
Sammanfattning och förklaring .....	6
Användningsprinciper för analysen .....	9
Material som medföljer.....	11
Kitinnehåll .....	11
Paketets innehåll.....	12
Plattform och programvara .....	12
Material Som Behövs Men Inte Medföljer .....	13
Ytterligare reagenser .....	13
Förbrukningsartiklar .....	13
Utrustning .....	13
Varningar och försiktighetsåtgärder .....	14
Säkerhetsinformation .....	14
Vid nödsituationer .....	15
Försiktighetsåtgärder.....	16
Förvaring och hantering av reagenser .....	18
Användningsstabilitet .....	18
Rekonstituerade och oanvända reagenser .....	18
Förvaring och hantering av prover .....	19

Protokoll: Genomföra ELISA .....	20
Resultat (beräkningar) .....	26
Generering av standardkurva och provvärden .....	26
Kvalitetskontroll av testet.....	28
Avläsning av resultat .....	30
Begränsningar.....	32
Prestandaegenskaper .....	33
Kliniska studier .....	33
Känslighet .....	35
Förväntade värden .....	43
Säkerhets- och prestandasammanfattning .....	49
Analysens prestandaegenskaper .....	50
Analytisk prestanda .....	50
Bortskaffning .....	63
Referenser.....	64
Felsökningsguide .....	66
Symboler .....	69
Bilaga A: Teknisk information.....	72
Indeterminanta resultat .....	72
Koagulerade plasmaprover .....	72
Lipemiska plasmaprover .....	72
Bilaga B: Förkortad ELISA-testprocedur .....	73
Beställningsinformation.....	75
Dokumentrevisioner.....	77

## Avsedd användning

Analysen QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus) är ett *in vitro*-diagnostiskt test som använder en blandning av peptider för att simulera ESAT-6- och CFP-10-proteiner i syfte att stimulera celler i hepariniserat helblod. Detektion av interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) med enzymlänkad immunsorbent (ELISA) används för att identifiera *in vitro*-respons på de peptidantigener som är associerade med *Mycobacterium tuberculosis*-infektion.

QFT-Plus är ett indirekt test för *M. tuberculosis*-infektion (inklusive sjukdom) och är avsett för användning i samband med riskbedömning, radiografi och andra medicinska och diagnostiska utvärderingar.

## Avsedd användare

Det här kitet är avsett för professionell användning.

Analysen QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ska användas av utbildad personal i en professionell laboratoriemiljö.

# Beskrivning och princip

## Information om patogen

Tuberkulos är en smittsam sjukdom som orsakas av infektion med organismer ur *M. tuberculosis*-komplexet (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canettioch M. caprae*), som normalt sprids till nya smittbärare via luftburna droppar från personer med tuberkulos i luftvägarna. En nyligen infekterad person kan insjukna i tuberkulos inom några veckor till månader, men de flesta infekterade personer förblir friska. Vissa personer drabbas av latent tuberkulosinfektion (LTBI), som är ett icke smittsamt asymtomatiskt tillstånd där tuberkulos kan utvecklas inom månader eller år. Huvudsyftet med att diagnostisera LTBI är att bedöma vilken medicinsk behandling som behövs för att förebygga tuberkulos. I mer än 100 år var tuberkulintestet (Tuberculin Skin Test, TST) den enda tillgängliga metoden för diagnostisering av LTBI (4). Kutan känslighet mot tuberkulin utvecklas inom 2 till 10 veckor efter infektion. Vissa infekterade personer, t.ex. personer med många olika typer av sjukdomstillstånd som förhindrar immunfunktioner, men även andra som inte har dessa sjukdomstillstånd, svarar inte på tuberkulin. Omvänt uppvisar vissa personer som sannolikt inte är infekterade med *M. tuberculosis* känslighet mot tuberkulin och får positiva TST-resultat efter vaccination med Bacille Calmette-Guérin (BCG) eller infektion med andra mykobakterier än *M. tuberculosis*-komplexet eller andra obestämda faktorer.

Man måste skilja mellan LTBI och tuberkulos, en sjukdom med rapporteringsplikt som vanligtvis omfattar lungorna och nedre luftvägarna, men som även kan påverka andra organ. Tuberkulos diagnostiseras baserat på historiska, fysiska, radiologiska och mykobakteriologiska resultat.

## Sammanfattning och förklaring

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)-testet är den fjärde generationens QuantiFERON-TB-testteknologi och bedömer cellmedierade svar genom kvantitativ mätning av IFN- $\gamma$  i ett helblodsprov. QFT-Plus är ett kvalitativt test som mäter cellmedierad immunrespons (CMI) på

peptidantigener som simulerar mykobakteriella proteiner. Dessa proteiner, ESAT-6 och CFP-10, saknas i alla BCG-stammar och i de flesta icke-tuberkulösa mykobakterier, med undantag för *M. kansasii*, *M. szulgai* och *M. marinum* (1). Personer som är infekterade med *M. tuberculosis*-komplexorganismer har vanligtvis lymfocyter i blodet som känner igen de här och andra mykobakteriella antigener. Den här igenkänningsprocessen innefattar generering och sekretion av cytokinet, IFN- $\gamma$ . Detektionen och den efterföljande kvantifieringen av IFN- $\gamma$  utgör grunden för det här testet.

Tuberculin-hudtester och IGRA-tester är till hjälp men otillräckliga för att diagnostisera *M. tuberculosis*-komplexinfektion hos sjuka patienter. Ett positivt resultat kan stödja diagnosen tuberkulos men infektioner genom andra mykobakterier (t.ex. *M. kansasii*) kan också ge positiva resultat. Andra medicinska och diagnostiska bedömningar krävs för att tuberkulos ska kunna bekräftas eller uteslutas.

De antigener som används i QFT-Plus är en peptidblandning som simulerar proteinerna ESAT-6 och CFP-10. Flera studier har visat att dessa peptidantigener stimulerar IFN- $\gamma$ -responser i T-celler från individer som har infekterats med *M. tuberculosis* men i allmänhet inte från ej infekterade eller BCG-vaccinerade personer utan sjukdom eller risk för LTBI (1, 2, 6, 9). Emellertid kan medicinsk behandling eller sjukdomstillstånd som skadar immunsystemets funktioner potentiellt minska IFN- $\gamma$ -responserna. Patienter med vissa andra mykobakteriella infektioner kan också svara på ESAT-6 och CFP-10, eftersom de gener som avkodar de här proteinerna förekommer i *M. kansasii*, *M. szulgai* och *M. marinum* (1, 3,7).

Testpopulationen för QFT-Plus-testning är patienter med kliniskt bekräftad aktiv tuberkulos och patienter med risk för tuberkulosinfektion eller latent tuberkulosinfektion (LTBI). Inga ålders-, köns- eller andra begränsningar gäller.

Vid *Mycobacterium tuberculosis*-infektion (MTB) spelar CD4<sup>+</sup> T-celler en viktig roll inom immunologisk kontroll genom sekretion av cytokinets IFN- $\gamma$ . Evidensen stöder nu att CD8<sup>+</sup> T-celler deltar i värdförsvaret mot MTB genom att de producerar IFN- $\gamma$  och andra lättlösliga faktorer, vilka aktiverar makrofager som bromsar tillväxt av MTB, dödar infekterade celler eller lyserar intracellulär MTB direkt. IFN- $\gamma$  som producerar MTB-specifika CD8<sup>+</sup>-celler har upptäckts i deltagare med LTBI och med aktiv TB. Vidare beskrivs ESAT-6- och CFP-10-specifika CD8<sup>+</sup> T-lymfocyter vara mer vanligt förekommande hos individer med aktiv TB-sjukdom jämfört med LTBI, och kan associeras med en nylig MTB-exponering (8,10–12). Därtill har även MTB-specifika CD8<sup>+</sup> T-celler som producerar IFN- $\gamma$  detekterats hos individer med sam-infektion mellan aktiv TB och HIV (13, 14) samt hos barn med TB-sjukdom (15).

QFT-Plus har två distinkta TB-antigenrör: TB Antigen Tube 1 (TB1) och TB Antigen Tube 2 (TB2). Båda rören innehåller peptidantigener från antigener som är associerade med MTB-komplexet, ESAT-6 och CFP-10. Både TB1- och TB2-rören innehåller peptider från ESAT-6 och CFP-10 som är avsedda att framkalla CMI-respons från CD4<sup>+</sup> T-hjälparlymfocyter. TB2-röret innehåller en ytterligare uppsättning peptider avsedd att framkalla CMI-respons från cytotoxiska CD8<sup>+</sup> T-lymfocyter.

Risikfaktorer för *M. tuberculosis*-infektion inkluderar historiska, medicinska eller epidemiologiska prediktorer för tuberkulos eller exponering för tuberkulos. Se de senaste riktlinjerna från WHO <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment> för detaljerade rekommendationer om att diagnostisera *M. tuberculosis*-infektion (inklusive sjukdom) och val av personer för testning (16). QFT-Plus har testats i vissa patientgrupper indikerade för screening för TB-infektion enligt de aktuella riktlinjerna från WHO (16), inklusive personer som har testat positivt för humant immunbristvirus (HIV), personer som har haft kontakt med nyligen diagnostiserade TB-patienter samt personer boende i omgivningar med stora ansamlingar som har exponerats för vuxna med hög risk för TB (5).



## Användningsprinciper för analysen

QFT-Plus är en kvalitativ analys som använder specialiserade blodprovtagningsrör innehållande peptidantigener som simulerar *M. tuberculosis*-proteiner som används för att samla in helblod. Blodet inkuberas i rören i mellan 16 och 24 timmar, och därefter samlas plasma in och provet testas om det innehåller IFN- $\gamma$  som skapats som en respons på peptidantigenerna.

Först samlas helblod in i vardera QFT-Plus Blood Collection Tubes, vilka inkluderar ett Nil-rör, TB1-rör, TB2-rör och mitogenrör. Alternativ kan blod kan samlas in med ett enda blodprovtagningsrör som innehåller litium- eller natriumheparin som antikoagulant och sedan överförs till QFT-Plus Blood Collection Tubes.

QFT-Plus Blood Collection Tubes skakas för att blanda antigenen med blodet och ska inkuberas i  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  så fort som möjligt, och inom 16 timmar efter insamlingen. Efter en inkuberingstid på 16 till 24 timmar centrifugeras rören, plasman bearbetas och mängden IFN- $\gamma$  (IU/ml) mäts av ELISA. QFT-Plus ELISA använder en rekombinant human IFN- $\gamma$ -standard, som har analyserats mot en referens-IFN- $\gamma$ -beredning (NIH-ref.: Gxg01-902-535). Resultaten för testproven rapporteras i internationella enheter (International Units, IU) per ml (IE/ml) relaterat till en standardkurva som beretts med hjälp av testspädningar av standarden som medföljer kitet.

Heterofila (t.ex. human anti-mus) antikroppar i serum eller plasma hos vissa individer har visats orsaka interferens med immunanalyser. Effekten av heterofila antikroppar i QFT-Plus ELISA minimeras genom tillsats av normalt musserum i den gröna diluentsen och genom användning av F(ab')<sub>2</sub>-fragment på monoklonala antikroppar som den IFN- $\gamma$ -bindande antikroppen som är belagd på mikroplattans brunnar.

En QFT-Plus-analys anses vara positiv vid en IFN- $\gamma$ -respons på endera TB-antigenrören som ligger långt högre än IE/ml-värdet för Nil IFN- $\gamma$ . Plasmaprovet från mitogenröret används som en IFN- $\gamma$ -positiv kontroll för varje prov som testas. En låg respons på mitogen ( $< 0,5$  IU/ml) indikerar ett obestämt resultat när ett blodprov även har en negativ respons på TB-antigenerna. Detta mönster kan uppstå vid otillräckligt antal lymfocyter, minskad lymfocytaktivitet på grund av felaktig provhantering, fyllning/blandning av mitogenröret eller oförmåga hos patientens lymfocyter att generera IFN- $\gamma$ . Förhöjda nivåer av IFN- $\gamma$  i Nil-provet kan uppstå vid förekomst av heterofila antikroppar, eller på grund av inneboende IFN- $\gamma$ -sekretion. Nil-röret utför bakgrundskorrigerig (t.ex. höga nivåer av cirkulerande IFN- $\gamma$  eller förekomst av heterofila antikroppar). IFN- $\gamma$ -nivån i Nil-röret subtraheras från IFN- $\gamma$ -nivån i TB-antigen-rören och mitogenröret. Mätintervallet för QFT-Plus ELISA är upp till 10 IE/ml.

# Material som medföljer

## Kitinnehåll

<b>ELISA-komponenter</b>	<b>Sats med 2 platta</b>	<b>Referenslaboratorieförpackning</b>
<b>Katalognr</b>	<b>622120</b>	<b>622822</b>
Microplate Strips (remсор för mikroplattor, 12 x 8 brunnar, belagda med murin anti-human IFN- $\gamma$ monoklonal antikropp)	2 uppsättningar remсор för mikroplattor 12 x 8	20 uppsättningar remсор för mikroplattor 12 x 8
IFN- $\gamma$ Standard, (IFN- $\gamma$ standard, lyofiliserad; innehåller rekombinant human IFN- $\gamma$ , bovin kasein, 0,01 % w/v timerosal)	1 x flaska (8 IE/ml rekonstituerad)	10 x flaska (8 IE/ml rekonstituerad)
Green Diluent (Grön diluent; innehåller bovin kasein, normalt musserum, 0,01 % w/v timerosal)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate, (Konjugat 100x koncentrat, lyofiliserat) (murin anti-humant IFN- $\gamma$ HRP, innehåller 0,01 % timerosal)	1 x 0,3 ml (rekonstituerad)	10 x 0,3 ml (rekonstituerad)
Wash Buffer 20x Concentrate (Tvättbuffert 20x koncentrat; pH 7,2, innehåller 0,05 % v/v ProClin® 300)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Enzymsubstratlösning; innehåller H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3', 5,5' tetrametylbenzidin)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Enzymstoppande lösning, innehåller 0,5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )*	1 x 15 ml	10 x 15 ml
<i>Bruksanvisning för QuantiFERON TB-Gold Plus ELISA Kit</i>	1	1

## Paketets innehåll

### Kontroller och kalibratorer

QFT-Plus ELISA använder en rekombinant human IFN- $\gamma$ -standard som har analyserats mot en referens-IFN- $\gamma$ -beredning (NIH-ref.: Gxg01-902-535).

### Plattform och programvara

QFT-Plus Analysis Software är valfritt för användning och används för att analysera rådata och beräkna resultat. Det kan laddas ned från [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

# Material Som Behövs Men Inte Medföljer

## Ytterligare reagenser

- QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes
- Avjoniserat eller destillerat vatten, 2 liter

## Förbrukningsartiklar

- Plattlock för en 96-brunnsplatta
- Valfritt: 1 ml mikrotuber med lock i 96-ställ i brunnsformat eller ej täckta mikroplattor med plasttätning för plasmaförvaring (22 patienter/ställ eller platta)
- Reagensreservoarer

## Utrustning\*

- $37 \pm 1$  °C inkubator (med eller utan CO<sub>2</sub>)
- Kalibrerade pipetter med variabel volym för tillförsel av 10 µl till 1 000 µl med engångsspetsar
- Kalibrerad flerkanalpipett med kapacitet för tillförsel av 50 µl och 100 µl med engångsspetsar
- Mikroplattans skakapparat med hastigheter mellan 500 och 1 000 varv/min
- Mikroplattans bricka (för säkerhet vid hantering av plasmaprover rekommenderas en automatiserad plattbricka)
- Läsare för mikroplatta utrustad med 450 nm-filter och referensfilter för 620 nm till 650 nm
- Vortexblandare med varierande hastighet
- Centrifugering som kan centrifugera blodprovtagningsrören åtminstone på 3 000 RCF (g)
- Graduerad cylinder, 1 liter eller 2 liter

\* Säkerställ att instrumenten är kontrollerade och kalibrerade enligt tillverkarens rekommendationer före användning.

# Varningar och försiktighetsåtgärder

Var medveten om att du kan behöva konsultera lokala regelverk för rapportering av allvarliga incidenter som inträffat i samband med enheten till tillverkaren och/eller auktoriserad representant och den tillsynsmyndighet där användaren och/eller patienten befinner sig.

För in vitro-diagnostisk användning.

## Säkerhetsinformation

Använd alltid laboratorierock, engångshandskar och skyddsglasögon vid hantering av kemikalier. Mer information finns i tillämpliga säkerhetsdatablad (Safety Data Sheet, SDS). Dessa är tillgängliga på webben i behändiga PDF-format på adressen [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), där du kan hitta, visa och skriva ut SDS (säkerhetsdatablad) för varje QIAGEN-kit och kitkomponent.

- Prover är potentiellt smittsamma. Kassera avfall från prover och analyser i enlighet med lokala säkerhetsprocedurer.
- Ett negativt QFT-Plus-resultat utesluter inte möjligheten för *M. tuberculosis*-infektion eller tuberkulosjukdom. Ett falskt negativt resultat kan bero på infektionens stadium (t.ex. om prover tas innan cellerna har hunnit utveckla immunresponen), felaktig hantering av blodprovtagningsrören efter venpunktur, felaktigt utförd analys eller andra immunologiska variabler, inklusive de relaterade till komorbida tillstånd. Heterofila antikroppar eller ospecifik IFN- $\gamma$ -produktion från andra inflammatoriska tillstånd kan dölja specifika svar på ESAT-6 eller CFP-10-peptider.
- Ett positivt QFT-Plus-resultat ska inte vara det enda eller det definitiva underlaget för att diagnostisera *M. tuberculosis*. En felaktigt utförd analys kan leda till felaktigt-positiva QFT-Plus-resultat.


- Ett positivt QFT-Plus-resultat ska följas av ytterligare medicinsk utvärdering för aktiv tuberkulossjukdom (t.ex. Acid Fast Bacilli-utstrykningsprov och -odling och bröstkorgsröntgen).
- Även om ESAT-6 och CFP-10 inte förekommer i någon BCG-stam eller i de flesta kända icke-tuberkulösa mykobakterier, är det möjligt att ett positivt QFT-Plus-resultat orsakas av en infektion av *M. kansasii*, *M. szulgai* eller *M. marinum*. Om det finns misstanke om sådana infektioner ska alternativa tester utföras.
- Ett falskt negativt QFT-Plus-resultat kan orsakas av felaktig blodprovtagning eller felaktig hantering av provet som påverkar lymfocytfunktionen. Se avsnittet "Protokoll: Genomföra ELISA", sidan 20, för korrekt hantering av blodproverna. Förseiad inkubation kan orsaka falska negativa eller obestämda resultat och andra tekniska parametrar kan påverka förmågan att upptäcka ett signifikant IFN- $\gamma$ -svar.

## Vid nödsituationer

CHEMTREC

Utanför USA och Kanada +1 703-527-3887

## Försiktighetsåtgärder

<p><b>IAKTTAG FÖRSIKTIGHET</b></p> 	<p>Hantera humant blod som potentiellt infektiöst.</p> <p>Följ relevanta riktlinjer för hantering av blod. Kassera prover och material som kommit i kontakt med blod eller blodprodukter enligt gällande nationella och lokala föreskrifter.</p>
--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

### QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Innehåller svavelsyra. Varning! Kan vara korrosivt för metaller. Irriterar huden. Orsakar allvarlig ögonirritation. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.

### QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Varning! Orsakar lätt hudirritation. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.

### QuantiFERON Green Diluent



Innehåller: tartrazin. Varning! Kan orsaka allergisk hudreaktion. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.

### QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. Undvik miljöutsläpp.



## Mer information

Säkerhetsdatablad: [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)

- Thimerosal används som konserveringsmedel i vissa QFT-Plus-reagenser. Det kan vara giftigt vid förtäring, inandning eller hudkontakt.
- Avvikelser från *bruksanvisningen till QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)* kan leda till felaktiga resultat. Läs anvisningarna noga före användning.
- Använd inte kitet om någon reagensflaska uppvisar tecken på skador eller läckage.
- **Viktigt:** Kontrollera flaskorna innan användning. Använd inte konjugat eller IFN- $\gamma$  standardflaskor som uppvisar tecken på skada eller om gummiförslutningen är påverkad. Hantera inte trasiga flaskor. Vidta lämpliga säkerhetsåtgärder för säker kassering av flaskor. Det rekommenderas att du använder en krymplocksöppnare för att öppna konjugat eller IFN- $\gamma$  standardflaskorna för att minimera risken för skador från krymplocket i metall.
- Blanda eller använd inte remsor för mikroplattor, IFN- $\gamma$  standard, grön diluent eller konjugatkoncentrat 100x från olika QFT-Plus-kitbatchar. Andra reagenser (tvättbuffertkoncentrat (20x), enzymsubstratlösning och enzymstoppande lösning) kan bytas ut mellan kiten förutsatt att reagenserna inte har passerat utgångsdatum och att lotuppgifterna är sparade.
- Kassera oanvända reagenser och biologiska prover i enlighet med lokala och nationella föreskrifter.
- Använd inte QFT-Plus ELISA Kit efter utgångsdatumet.
- Korrekta laboratorieprocedurer bör alltid följas.
- Säkerställ att laboratorieutrustning som plattvättmaskiner och plattläsare har kalibrerats/validerats för användning.

# Förvaring och hantering av reagenser

Var uppmärksam på de utgångsdatum och förvaringsvillkor som anges på förpackningen och på etiketterna till alla komponenter. Använd inte komponenter vars utgångsdatum har passerat eller som har förvarats felaktigt.

## Användningsstabilitet

- Förvara ELISA Kit vid 2–8 °C.
- Skydda alltid enzymsubstratlösning mot direkt solljus.

## Rekonstituerade och oanvända reagenser

- Instruktioner om hur reagenserna ska rekonstitueras finns i avsnitt "Protokoll: Genomföra ELISA" (sida 20).
- Den rekonstituerade kitets standard kan förvaras i upp till 3 månader om den förvaras i 2–8 °C.

Notera datumet då kit-standarderna rekonstituerades.

- Efter rekonstituering måste konjugatkoncentrat 100x återföras till förvaring i 2–8 °C och måste även användas inom 3 månader.

Notera datumet då konjugatet rekonstituerades.

- Arbetsutspädning av konjugat måste användas inom 6 timmar efter beredning.
- Arbetsutspädning av tvättbuffert kan förvaras i rumstemperatur i upp till 2 veckor.
- Rensor för mikroplatta är endast för engångsbruk. Oanvända remsor kan avlägsnas från plattans ram och förvaras för framtida användning.

## Förvaring och hantering av prover

Se bruksanvisningen till *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes* (1123668) för mer information om arbetsflödet för blodinsamling för QFT-Plus-testet.

# Protokoll: Genomföra ELISA

Viktigt att tänka på före start

## Inställning (tid som krävs för att utföra analysen)

- För att få giltiga resultat från QFT-Plus-analysen måste operatören utföra specifika uppgifter inom bestämda tider. Innan analysen används rekommenderas det att operatören planerar varje steg i analysen noggrant för att ge tillräckligt med tid för att utföra varje steg. En uppskattning av den tid som krävs anges nedan. Tiden för att utföra testserier av flera prover visas också.
  - Ca 3 timmar för en ELISA-platta
  - < 1 timmes arbete
  - Lägg till 10 till 15 minuter för varje extra platta

## IFN- $\gamma$ ELISA

- Referera till "Kitinnehåll", sida 11 och "Material Som Behövs Men Inte Medföljer", sida 13, för de material som krävs för att utföra ELISA.

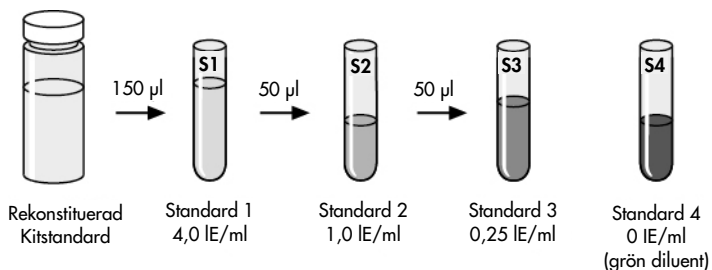
## Procedur

1. Alla plasmaprover och reagenser utom konjugatkoncentrat (100x) måste ha rumstemperatur ( $22 \pm 5$  °C) innan de används. Ekvilibrera i minst 60 minuter.
2. Ta bort ELISA-remsor som inte används från ramen. Lägg tillbaka i folieförpackningen, återförslut och förvara dem i kylskåp tills de behövs.
3. Se till att det finns minst 1 remsa för QFT-Plus-standarderna och tillräckligt många remsor för de individer som ska testas (se bild 2 för rekommenderat plattformat). Ramen och locket ska sparas efter användning och användas tillsammans med de oanvända remsorna.

- 3a. Rekonstituera IFN- $\gamma$ -standarden med den volym avjoniserat eller destillerat vatten som anges på etiketten till flaskan. Blanda försiktigt för att minimera skumbildning och se till att hela innehållet i injektionsflaskan är helt upplöst. Rekonstituering av IFN- $\gamma$ -standarden till den angivna volymen ger en lösning med en koncentration på 8,0 IE/ml.
- 3b. Med den rekonstituerade standarden, förbered en spädningsserie på fyra IFN- $\gamma$ -koncentrationer (se bild 1).
- 3c. En standardkurva bör genereras med följande IFN- $\gamma$ -koncentrationer:
- S1 (Standard 1) innehåller 4,0 IE/ml
  - S2 (Standard 2) innehåller 1,0 IE/ml
  - S3 (Standard 3) innehåller 0,25 IE/ml
  - S4 (Standard 4) innehåller 0 IE/ml (endast grön diluent [GD]).
- 3d. Standarderna måste minst analyseras som duplikat.
- 3e. Bered nya spädningar av kitstandarden för varje ELISA-procedur.

### Procedur

A	Märk 4 rör: S1, S2, S3, S4
B	Tillsätt 150 $\mu$ l GD i S1, S2, S3, S4
C	Tillsätt 150 $\mu$ l av kit-standarden i S1 och blanda väl
D	Överför 50 $\mu$ l från S1 till S2 och blanda väl
E	Överför 50 $\mu$ l från S2 till S3 och blanda väl
F	Enbart GD används som nollstandard (S4)



**Bild 1. Beredning av standardkurvas spädningsserie.**

4. Rekonstituera lyofiliserat konjugatkoncentrat (100x) med 0,3 ml avjoniserat eller destillerat vatten. Blanda försiktigt för att minimera skumbildning och se till att hela innehållet i injektionsflaskan är helt upplöst.
  - 4a. Arbetsutspädning av konjugat bereds genom att erforderad mängd rekonstituerat konjugatkoncentrat (100x) späds i grön diluent (tabell 1).
  - 4b. Arbetsutspädning av konjugat ska användas inom 6 timmar efter beredning.
  - 4c. Oanvänt konjugatkoncentrat (100x) ska återföras till förvaring i 2 till 8 °C omedelbart efter användning.

Tabell 1. Beredning av konjugat (arbetsutspädning)

Antal remсор	Volym av konjugat (100x koncentrat)	Volym grön diluent
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. Plasmaprover som har samlats in från blodprovtagingsrör och som sedan har förvarats (kylda eller frusna) ska blandas noggrant innan de tillsätts i ELISA-brunnen. Plasmaprover kan förvaras i centrifugerade QFT-Plus Blood Collection Tubes i upp till 28 dagar i 2–8 °C eller, om plasman har samlats in, i upp till 28 dagar i 2–8 °C. Insamlade plasmaprover kan också förvaras under -20 °C (helst mindre än -70 °C) under längre perioder.

Plasmaprover kan laddas/användas direkt från centrifugerade blodprovtagingsrör till mätning i QFT-Plus ELISA-plattan.

Viktigt: Om plasmaprover ska överföras direkt från centrifugerade QFT-Plus Blood Collection Tubes, ska all blandning av plasman undvikas. Var alltid försiktig så att inte materialet på gelytan förstörs.

6. Tillsätt 50 µl nyberedd arbetsutspädning av konjugat i varje ELISA-plattbrunn.

7. Tillsätt 50 µl av testplasmaproverna i brunnarna (se rekommenderad ELISA-plattlayout i bild 2).

8. Tillsätt slutligen 50 µl vardera av standarderna 1 till 4 i lämpliga brunnar (se rekommenderad ELISA-plattlayout i bild 2). Standarderna måste analyseras minst i duplikat.

	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

**Bild 2. Rekommenderad layout för ELISA-plattan.** S1 (standard 1), S2 (standard 2), S3 (standard 3), S4 (standard 4). 1N (prov 1. Nil-kontrollplasma), 1 TB1 (prov 1. TB1-plasma), 1 TB2 (prov 1. TB2-plasma), 1M (prov 1. Mitogen-plasma).

9. Täck ELISA-plattan och blanda konjugat- och plasmaprover/standarder noga med en skakapparat för mikropeltor under 1 minut i 500 till 1 000 rpm. Undvik stänk.
10. Täck ELISA-plattan och inkubera i rumstemperatur ( $22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ ) i  $120 \pm 5$  minuter. ELISA-plattan ska inte utsättas för direkt solljus under inkubering. Avvikelse från det angivna temperaturintervallet kan leda till felaktiga resultat.
11. Förbered en ELISA-platta-arbetsutspädning av tvättbufferten under inkuberingen. Späd en del tvättbuffertkoncentrat (20x) med 19 delar avjoniserat eller destillerat vatten och blanda väl. Tillräckligt med tvättbuffertkoncentrat (20x) medföljer för att bereda 2 liter arbetsutspädning av tvättbuffert.
12. När inkubationen av ELISA-plattan är klar, tvättar du ELISA-plattans brunnar med 400 µl arbetsutspädning av tvättbuffert. Utför tvättsteget minst 6 gånger. Av säkerhetsskäl rekommenderas en automatisk tallrikstvätt vid hantering av plasmaprover.
- För att analysen ska bli korrekt är det viktigt att brunnarna tvättas noggrant. Kontrollera att varje brunn är helt fylld med tvättbuffert ända upp till överkanten av brunnen under varje tvättcykel. Låt tvättbufferten verka i minst 5 sekunder mellan varje cykel.



Standarddesinfektionsmedel för laboratoriebruk ska tillsättas i avloppsbehållaren. Följ fastställda rutiner för dekontaminering av potentiellt smittfarligt material.

13. Vänd ELISA-plattorna med ovansidan nedåt på en absorberande (låggluddande) handduk för att avlägsna rester av tvättbuffert. Tillsätt 100 µl enzymsubstratlösning i varje plattbrunn, täck plattan och blanda noga i 1 minut på 500–1000 varv/min med en skakapparat för mikroplattor.
14. Täck ELISA-plattan och inkubera i rumstemperatur ( $22 \pm 5$  °C) i 30 minuter. ELISA-plattan ska inte utsättas för direkt solljus under inkubering.
15. Efter inkuberingen i 30 minuter, tillsätt 50 µl enzymstoppande lösning till varje plattbrunn i samma ordning som substratet tillsattes och blanda noggrant vid 500 till 1 000 rpm med en skakapparat för mikroplattor.
16. Mät den optiska densiteten (Optical Density, OD) för ELISA-plattbrunnar i en läsare för mikroplattor inom 5 minuter efter att reaktionen har stoppats. Läsaren ska ha ett 450 nm-filter och ett referensfilter på 620 nm till 650 nm. OD-värden används för att beräkna resultaten.

# Resultat (beräkningar)

QFT-Plus Analysis Software kan användas för att analysera rådata och beräkna resultat. Det är tillgängligt från [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Kontrollera att den senaste versionen av QFT-Plus Analysis Software används.

Programmet utför en kvalitetsbedömning av analysen, genererar en standardkurva och tillhandahåller ett testresultat för varje subjekt, som det visas i "Avläsning av resultat " på sida 30. Programmet rapporterar alla koncentrationer större än 10 IE/ml som ">10" eftersom sådana värden faller bortom det validerade linjära intervallet för ELISA.

Istället för att använda QFT-Plus Analysis Software kan resultaten bestämmas enligt nedanstående metod.

## Generering av standardkurva och provvärden

### Om QFT-Plus Analysis Software inte används

Bestämning av standardkurvan och bestämning av prov-IE/ml-värden kräver ett kalkylprogram, t.ex. Microsoft® Excel®, om QFT-Plus Analysis Software inte används.

### Använda ett kalkylprogram

1. Beräkna OD-medelvärdet för kitstandardreplikaten på varje platta.
2. Skapa en  $\log_{10}$ - $\log_{10}$  standardkurva genom att rita ut  $\log_{10}$  för OD-medelvärdet (y-axeln) mot  $\log_{10}$  för IFN- $\gamma$ -koncentrationen hos standarderna i IE/ml (x-axeln). Nollstandarden tas ej med i beräkningen. Beräkna standardkurvas trendlinje med regressionsanalys.
3. Använd standardkurvan för att bestämma IFN- $\gamma$ -koncentrationen (IE/ml) för vart och ett av plasmaproverna i testet genom att använda OD-värdet för dem.

4. Beräkningarna kan göras med hjälp av den programvara som är tillgänglig för läsare för mikroplattor och vanliga kalkyl- och statistikprogram (t.ex. Microsoft Excel). Den här programvaran ska användas för att beräkna regressionsanalysen, variationskoefficienten (Coefficient of Variation, %CV) för standarderna och standardkurvas korrelationskoefficient ( $r$ ).

## Provberäkning

Om följande OD-avläsningar erhöles för standarderna skulle beräkningarna med  $-\log(e)$  - följa de i tabell 2.

Tabell 2. Standardkurva

Standard	IE/ml	OD-värdena a och b	Medelvärde för OD	%CV	Log <sub>(e)</sub> IE/ml	Log <sub>(e)</sub> Medelvärde för OD
Standard 1	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
Standard 2	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
Standard 3	0,25	0,114, 0,136	0,125	Ej tillämpligt	-1,386	-2,079
Standard 4	0	0,034, 0,037	0,036	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt	Ej tillämpligt

Kurvans ekvation är  $y = 0,7885 (X) - 0,9837$ , där " $m$ " = 0,7885 och " $c$ " = -0,9837. Dessa värden används i ekvationen  $X = (Y-c)/m$  för att lösa för X. Baserat på standardkurvan är den beräknade korrelationskoefficienten ( $r$ ) = 1,000. Ej tillämpligt: Ej tillämpligt.

Med hjälp av kriterierna som anges i "Kvalitetskontroll av testet", sida 28, bestäms analysens giltighet.

Standardkurvan (Tabell 2) används för att konvertera Antigen OD-svar till internationella enheter (IE/ml).

Tabell 3. Provberäkning

Antigen	OD-värde	Log <sub>(e)</sub> OD-värde	X	e <sup>x</sup> (IE/ml)	Antigen - Nil (IE/ml)
Nil	0,037	-3,297	-2,934	0,05	-
TB1	1,161	0,149	1,437	4,21	4,16
TB2	1,356	0,305	1,634	5,12	5,07
Mitogen	1,783	0,578	1,981	7,25	7,20

IFN- $\gamma$ -värden (i IE/ml) för TB1, TB2 och Mitogen korrigeras för bakgrund genom att subtrahera IE/ml-värdet som erhållits för respektive Nil-kontroll. Dessa korrigerade värden används för tolkning av testresultaten.

## Kvalitetskontroll av testet

Hur exakt testresultatet blir beror på hur exakt standardkurvan är. Av den här anledningen måste de resultat som har beräknats från standarder utvärderas innan provresultaten från testet kan tolkas.

För att ELISA ska vara giltigt:

- Det genomsnittliga OD-värdet för standard 1 måste vara  $\geq 0,600$ .
- %CV för replikata-värden för standard 1 och standard 2 måste vara  $\leq 15\%$ .
- Replikata OD-värden för standard 3 och standard 4 får inte variera mer än 0,040 optiska densitetenheter från medelvärdet.
- Korrelationskoefficienten ( $r$ ) som beräknas utifrån de genomsnittliga absorbansvärdena för standarderna måste vara  $\geq 0,98$ .
- Om körningen inte uppfyller de ovanstående kriterierna är den ogiltig och måste göras om.
- Det genomsnittliga OD-värdet för nollstandard (grön diluent) bör vara  $\leq 0,150$ .  
Om det genomsnittliga OD-värdet är  $> 0,150$  bör plattrengöringsproceduren ses över.

QFT-Plus Analysis Software beräknar och rapporterar dessa kvalitetskontrollparametrar.

Varje laboratorium bör bestämma lämpliga typer av kontrollmaterial och testfrekvens i enlighet med lokala, statliga, federala eller andra tillämpliga ackrediteringsorganisationer. Extern kvalitetsbedömning och alternativa valideringsprocedurer bör övervägas.

OBS! Plasma toppat med rekombinant IFN- $\gamma$  har visat minskningar med upp till 50 % i koncentration när de förvaras vid antingen 2–8 °C och -20 °C. Rekombinant IFN- $\gamma$  rekommenderas inte för att fastställa kontrollstandarder.

# Avläsning av resultat

QFT-Plus-resultat ska tolkas med hjälp av följande kriterier (tabell 4).

Viktigt: Att diagnostisera eller utesluta tuberkulosjukdom och bedöma sannolikheten för LTBI kräver att en kombination av epidemiologiska, historiska, medicinska och diagnostiska resultat tas med i bedömningen när QFT-Plus-resultat tolkas. Se allmän information om diagnos och behandling av TB-sjukdom och LTBI:

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

Tabell 4. Tolkning av QFT-Plus-testresultat

Nil (IU/ml)	TB1 minus Nil (IU/ml)	TB2 minus Nil (IU/ml)	Mitogen minus Nil (IU/ml)*	QFT-Plus-resultat	Rapport/tolkning
≤ 8,0	≥ 0,35 och ≥ 25 % av Nil	Alla	Alla	Positiv†	<i>M. tuberculosis</i> -infektion sannolik
	Alla	≥ 0,35 och ≥ 25 % av Nil			
	< 0,35 eller ≥ 0,35 och < 25 % av Nil	< 0,35 eller ≥ 0,35 och < 25 % av Nil	≥ 0,50	Negativ‡	<i>M. tuberculosis</i> -infektion INTE sannolik
	< 0,35 eller ≥ 0,35 och < 25 % av Nil	< 0,35 eller ≥ 0,35 och < 25 % av Nil	< 0,50	Indeterminant‡	Sannolikhet för <i>M. tuberculosis</i> -infektion kan inte bestämmas
> 8,0§	Alla				

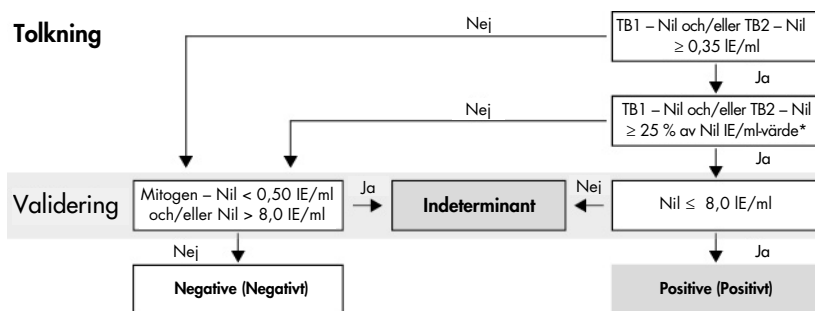
\* Responser på mitogen-positivkontrollen (och ibland på TB-antigener) kan ligga utanför mikroplattläsarens mätområde. Detta påverkar inte testresultaten. Värden > 10 IE/ml rapporteras av QFT-Plus-programmet som > 10 IE/ml.

† Om *M. tuberculosis*-infektion inte misstänks kan initialt positiva resultat bekräftas genom att ett nytt test utförs med de ursprungliga duplikata plasmaproverna med QFT-Plus ELISA. Om det nya testet av ett eller båda replikaten är positivt ska testresultatet anses positivt.

‡ Se "Felsökningsguide", sida 66 för möjliga orsaker.

§ Kliniska studier har visat att mindre än 0,25 % av individerna hade IFN- $\gamma$ -nivåer på > 8,0 IE/ml för Nil-värdet.

Hur hög den uppmätta IFN- $\gamma$ -nivån är har inget samband med infektionsstadiet eller hur omfattande infektionen är, och inte heller med nivån på immunresponsen eller sannolikheten för att tillståndet ska utvecklas till aktiv sjukdom. En positiv TB-respons hos personer som är negativa mot Mitogen är ovanligt, men har förekommit hos patienter med TB-sjukdom. Detta indikerar att IFN- $\gamma$ -responsen på TB-antigen är högre än vad den är på Mitogen, vilket är möjligt eftersom Mitogen-nivån inte stimulerar lymfocyterna till maximal IFN- $\gamma$ -produktion.



**Bild 3. Tolkning av QFT-Plus-test.** \*För att TB1 minus Nil eller TB2 minus Nil ska vara giltigt måste mängden  $\geq 25\%$  av Nil IE/ml-värdet komma från samma rör som det ursprungliga  $\geq 0,35$  IE/ml-resultatet.

# Begränsningar

Resultaten av QFT-Plus-testning måste användas tillsammans med den enskilda patientens epidemiologiska historik, aktuella medicinska status och andra diagnostiska bedömningar.

Individer med högre Nil-värden än 8 IE/ml klassificeras som "indeterminanta" eftersom en 25 % högre respons på TB-antigenerna kan ligga utanför analysens mätområde.

- Det förutsägande värdet för ett positivt QFT-Plus-resultat vid diagnos av *M. tuberculosis*-infektion beror på sannolikheten för infektion, vilken bedöms av historiska, epidemiologiska, diagnostiska och andra fynd.
- En diagnos av LTBI kräver att tuberkulosjukdom måste exkluderas genom medicinsk utvärdering inklusive en bedömning av nuvarande medicinska och diagnostiska tester för sjukdom som indikerat.
- Ett negativt resultat måste övervägas med personens medicinska och historiska data som är relevanta för sannolikheten för *M. tuberculosis*-infektion och potentiell risk av progression till tuberkulos-sjukdom, speciellt för individer med nedsatt immunfunktion.

Ej tillförlitliga eller indeterminanta resultat kan bero på:

- Avvikelser från proceduren som beskrivs i bruksanvisningen
- Felaktig transport/hantering av blodprov
- Förhöjda nivåer cirkulerande IFN- $\gamma$  eller förekomst av heterofila antikroppar
- Överskridande av validerade blodtider från blodprov till inkubation. Se *bruksanvisningen för QFT-Plus Blood Collection Tubes* [1123668].



# Prestandaegenskaper

## Kliniska studier

Eftersom det inte finns en bestämd standard för att bekräfta eller utesluta diagnos på LTBI-infektion kan uppskattningar av känslighet och specificitet för QFT-Plus inte utvärderas praktiskt. Specificiteten för QFT-Plus har uppskattats genom att utvärdera falskt positiva svar för personer med låg risk (inga kända riskfaktorer) för tuberkulosinfektion. Sensitiviteten har uppskattats genom att utvärdera studiesubjekt med odlingsverifierad aktiv TB-sjukdom. Dessutom analyserades analysprestandan för positiva och negativa frekvenser i en population med friska deltagare med identifierade riskfaktorer för tuberkulosinfektion (en blandad riskpopulation).

## Specificitet

En studie med flera center som utvärderade den kliniska specificiteten för QFT-Plus utfördes på 733 studiedeltagare som ansågs antingen ha låg risk för *M. tuberculosis*-infektion eller inga riskfaktorer för exponering för infektion eller sjukdom. Demografisk information och riskfaktorer för TB-exponering bestämdes med hjälp av en standardiserad enkät som genomfördes vid testningen. Studien utfördes på fyra oberoende platser, inklusive en i USA, två i Japan och en i Australien. QFT-Plus-testet jämfördes med QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT)-testet. En sammanfattning av prestationsdata för klinisk specificitet, stratifierad efter studieplats och region, finns i tabell 5. Prestationsrestilaten baseras på totalt antal giltiga tester. Det fanns inga obestämda resultat.

Tabell 5. QFT-Plus-specificitet i en population med låg risk

Plats	N	Positivt		Negative (Negativt)		Indeterminant		Specificitet (95 % KI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
USA									
(#1) USA-4	212	2	4	210	208	0	0	99,06 % (210/212) (96,63– 99,74)	98,11 % (208/212) (95,25– 99,26)
Japan									
(#2) JPN-3	106	1	2	105	104	0	0	99,06 % (105/106) (94,85– 99,83)	98,11 % (104/106) (93,38– 99,48)
(#3) JPN-1	216	3	5	213	211	0	0	98,61 % (213/216) (96,00– 99,53)	97,69 % (211/216) (94,70– 99,01)
Totalsumma Japan	322	4	7	318	315	0	0	98,76 % (318/322) (96,85– 99,52)	97,83 % (315/322) (95,6–98,9)
Australien									
(#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)

Specificiteten för QFT-Plus var 98,11 % i USA, 97,83 % i Japan och 95,48 % i Australien. Den övergripande specificiteten för QFT-Plus var 97,27 % (713/733). Specificitet av QFT var 99,06 % i USA, 98,76 % i Japan och 95,98 % i Australien. Övergripande specificitet av QFT var 98,09 % (719/733).

En nerbrytning av resultaten av TB-antigenrörtyper och kombinationer därav visas för att ge ett exempel på förväntade resultat i en population med låg risk (tabell 6).

Tabell 6. Resultat från QFT-Plus-specificitetsstudie för TB-antigenrör

Interpretation baserat på TB Antigen-Nil			QFT-Plus (positivt för TB1 och/eller TB2)*	Överensstämmande positiv TB1 och TB2 (alternativ analys) <sup>†</sup>
IE/ml i	TB1	TB2		
Positivt	10	18	20	8
Negativt	723	715	713	725
Indeterminant	0	0	0	0
Specificitet (95 % KI)	–	–	97,3 % (713/733) (95,8–98,2)	–
Negativitetsfrekvens (95 % KI)	98,6 % (723/733) (97,5–99,3)	97,5 % (715/733) (96,2–98,4)	–	98,9 % (725/733) (97,9–99,5)

\* Tolkning baserad på en TB-antigen – Nil-värde  $\geq 0,35$  IE/ml i både (TB1 och TB2) eller endera TB-röret för att uppfylla tolkningskriterierna för att QFT-Plus (TB1 eller TB2) ska bestämmas vara positivt.

<sup>†</sup> Alternativ analys tillhandahålls endast som information.

I deltagare med låg risk för TB-infektion fick totalt 20/733 deltagare ett positivt resultat. Av dessa fick endast 8 deltagare ett värde på  $> 0,35$  IE/ml i både TB1- och TB2-rör. En jämförelse mellan QFT- och QFT-Plus-analyser utfördes i studiegruppen med låg risk och visade en övergripande överensstämmelse på 97,5 % (715/733) och en negativ överensstämmelse på 98,3 % (707/719).

## Känslighet

Då det inte finns ett definitivt standardtest för LTBI är en mikrobiologisk odling av *M. tuberculosis* på grund av infektion med TB en nödvändig föregångare till sjukdom.

En studie med flera center som utvärderade klinisk känslighet hos QFT-Plus utfördes på 434 studiedeltagare som uppvisade tecken och symtom på aktiv *M. tuberculosis*-sjukdom bekräftad genom kultur och/eller PCR, och som inte var i TB-behandling eller inom  $\leq 14$  dagar av behandling före blodprovstagning. Studien utfördes på 7 oberoende platser inklusive tre platser i USA, tre platser i Japan och en plats i Australien. QFT-Plus-testet jämfördes med QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT)-testet. En sammanfattning av prestationsdata för klinisk känslighet stratifierad efter studieplats och land finns i tabell 7. Prestationsresultaten baseras på totalt antal giltiga tester. Frekvensen av indeterminanta resultat för QFT och QFT-Plus var 2,3 % (10/434) respektive 2,5 % (11/434).

Tabell 7. En prestationssammanfattning av studien om klinisk känslighet uppdelad efter plats, land och totalt

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

Tabellen fortsätter på nästa sida

Tabellen fortsätter från föregående sida

**Tabell 7. En prestationssammanfattning av studien om klinisk känslighet uppdelad efter plats, land och totalt (fortsättning)**

Plats	N	Positivt		Negativt		Indeterminant		Känslighet (95% KI)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
(#6) JPN-1	177	159	157	12	15	6	5	92,98 % (159/171) (88,14– 95,94)	91,28 % (157/172) (86,11– 94,64)
Totalsumma Japan	352	328	322	15	19	9	11	95,63 % (328/343) (92,91– 97,33)	94,43 % (322/341) (91,5–96,4)
Australien									
(#7) AU-2	29	27	29	1	0	1	0	96,43 % (27/28) (82,29– 99,37)	100,0 % (29/29) (88,30– 100,0)

Analysen i tabellen ovan inkluderar inte indeterminanta resultat.

Känsligheten för QFT-Plus var 88,7 % i USA, 94,43 % i Japan och 100,0 % i Australien. Den övergripande känsligheten för QFT-Plus var 94,09 % (398/423). Känslighet av QFT var 88,7 % i USA, 95,63 % i Japan och 96,43 % i Australien. Övergripande känslighet av QFT var 94,81 % (402/424).

En nerbrytning av resultaten av TB-antigenrörtyper och kombinationer av rör visas för att ge ett exempel på förväntade resultat i en population med bekräftad TB-infektion (tabell 8).

Tabell 8. Resultat från QFT-Plus-känslighetsstudie för TB-antigenrör

Tolkning baserad på TB-antigen-Nil i IE/ml			QFT-Plus (positivt för TB1 och/eller TB2)
	TB1	TB2	
Positivt	388	397	398
Negativt	32	26	25
Indeterminant	14	11	11
Känslighet* (95% KI)	–	–	94 % (398/423) (91,4–96,0)
Positivitetsandel* (95% KI)	92,4 % (388/420) (89,4–94,6)	93,9 % (397/423) (91,1–95,8)	–

\* Exklusive obestämda värden.

En jämförelse av QFT- och QFT-Plus-analyser bedömdes i TB-kohorten med bekräftat aktiv kultur (studiekohorter för känslighet) och visade en övergripande överensstämmelse på 95,9 % och en positiv överensstämmelse på 97,3 % (391/402).

Tabell 9. QFT-Plus-sannolikhetskvoter

Plats*	Känslighet	Specificitet	LR+	LR-
Australien	100,00 %	95,48 %	22,11	0,00
Japan	94,43 %	97,83 %	43,44	0,06
USA	88,68 %	98,11 %	47,00	0,12

\* Total

## Prestation i deltagare med identifierade riskfaktorer för en MTB-infektion (individer med blandad risk)

En kohort med 601 individer med blandade riskfaktorer för TB-infektion (t.ex. HIV-positiv, historik av behandling för aktiv eller latent TB, exponering för aktivt TB-fall, HCW-status osv.) bedömdes med både QFT- och QFT-Plus-tester. Riskfaktorer identifierades med en standardiserade undersökning och individer uppvisade inga symtom associerade med aktiv TB vid rekryteringen. Demografi och riskfaktorer rapporterades i tabell 10. I denna population fick 68/601 (11,3 %) deltagare ett positivt QFT-Plus-resultat, med en positiv överensstämmelse i procent (PPA) och en negativ överensstämmelse i procent (NPA) på 98,44 % respektive 99,07 % (tabell 11). I denna kohort på 68 QFT-Plus-positiva patienter var totalt 62 deltagare positiva med både TB1- och TB2-rör, 2 deltagare var positiva med endast TB1 och 4 deltagare var positiva med endast TB2. Inga indeterminanta resultat (0/601) observerades.



**Tabell 10. Demografi och faktorer associerade med risk för TB-infektion i en blandad kohort**

Totalt antal subjekt (601)		Antal	Procentandel
Kön	Män	539	89,7 %
	Kvinnor	62	10,3 %
Ålder (år)	Område	18-70	–
	Medelvärde	46,7	–
BCG-vaccinerad	Ja	15	2,5 %
	Nej	586	97,5 %
HIV-positiv eller testat positivt för HTLV-virus	Ja	12	2,0 %
	Nej	589	98 %
Tidigare diagnostiserad med aktiv TB	Ja	11	1,8 %
	Nej	590	98,2 %
Hade ett positivt tuberculin-hudtest (TST)/Mantoux-test för TB	Ja	47	7,8 %
	Nej	554	92,2 %
Behandlats för aktiv eller latent TB	Ja	35	5,8 %
	Nej	566	94,2 %
Bott, arbetat eller varit volontär (> 1 månad) i häkte eller fängelse	Ja	373	62,1 %
	Nej	228	37,9 %
Bott, arbetat eller varit volontär (>1 månad) i ett härbärge för hemlösa	Ja	525	87,4 %
	Nej	76	12,6 %
Sjukvårdspersonal	Ja	8	1,3 %
	Nej	593	98,7 %
Nära kontakt med någon med eller som misstänks ha en aktiv TB-sjukdom	Ja	9	1,5%
	Nej	592	98,5%

**Tabell 11. Sammanfattning av prestandan hos QFT-Plus jämfört med QFT för deltagare med kända riskfaktorer för latent TB-infektion**

		QFT		
		Positivt (+)	Negativt (-)	Total
QFT-Plus	Positivt (+)	63	5*	68
	Negativt (-)	1*	532	533
	Totalt	64	537	601

\*Alla 6 avvikande prov hade IFN- $\gamma$ -nivåer av TB-antigenrör som var nära analys-cut-off.

Positiv överensstämmelse i procent (PPA) och negativ överensstämmelse i procent (NPA) mellan resultaten av QFT och QFT-Plus var enligt följande:

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

Tabell 12 nedan visar prestandan för QFT-Plus jämfört med QFT-testet hos BCG-vaccinerade studiedeltagare.

**Tabell 12. Prestanda för QFT-Plus jämfört med QFT-testet hos BCG-vaccinerade studiedeltagare (kombinerade data från känslighet, specificitet och LTBI-studiedeltagare)**

		QFT		
		Positivt (+)	Negativt (-)	Total
QFT-Plus	Positivt (+)	66	5	71
	Negativt (-)	3	268	271
	Totalt	69	273	342*

\* Två deltagare i känslighetsstudien exkluderas från analysen på grund av indeterminanta resultat

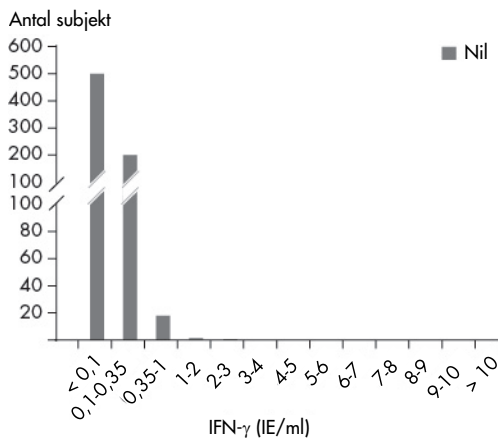
- PPA = 95,6 % (66/69), 95 % KI (87,98, 98,51)
- NPA = 98,2 % (268/273), 95 % KI (95,79, 99,22)

## Förväntade värden

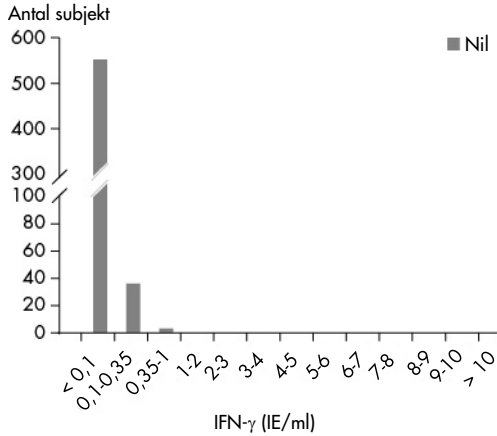
### Observerade responsdistributioner — riskstratifierade

En uppsättning IFN- $\gamma$  -responser på TB1-, TB2- och kontrollrör observerades i kliniska prövningar och stratifierades enligt risken för *M. tuberculosis*-infektion (figur 4 till figur 7). Den blandade riskgruppen består av representanter ur en allmän testpopulation bestående av individer med och utan riskfaktorer för TB-exponering och där aktiv TB är osannolik (dvs. LTBI).

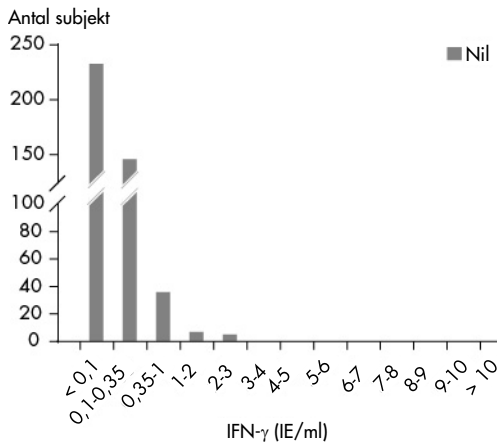
A



B

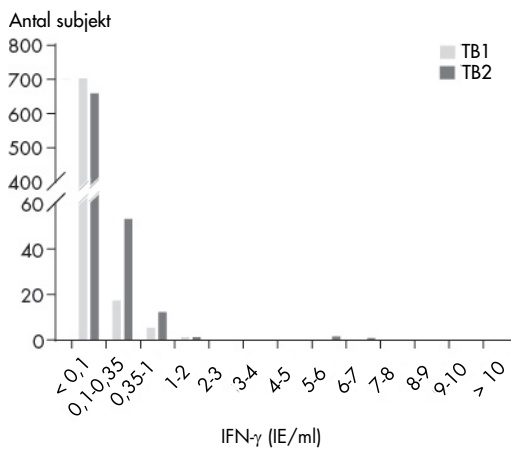


C

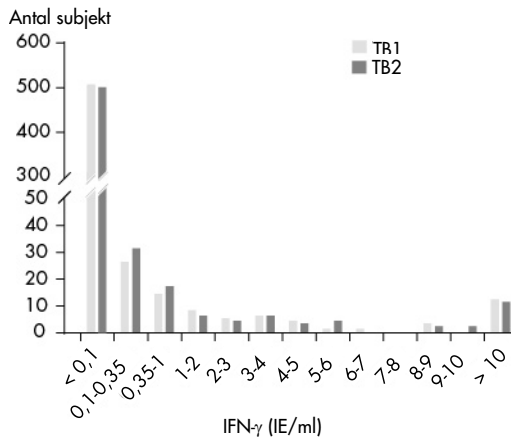


**Bild 4. Distribution av Nil.** A Distribution av Nil-värden i en population med låg risk (n = 744). B Distribution av Nil-värden i en population med blandad risk (n = 601). C Distribution av Nil-värden i en population odlingsverifierad *M. tuberculosis*-infektion (n = 416).

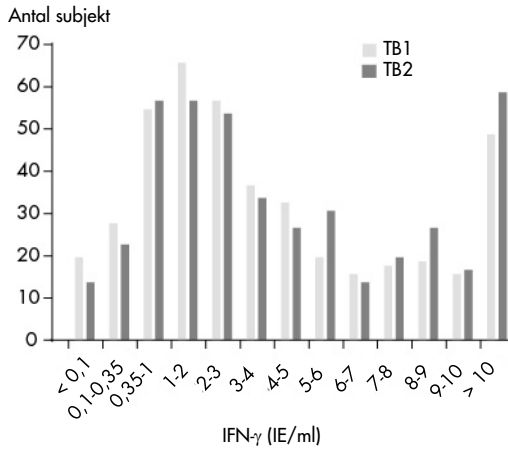
A



B

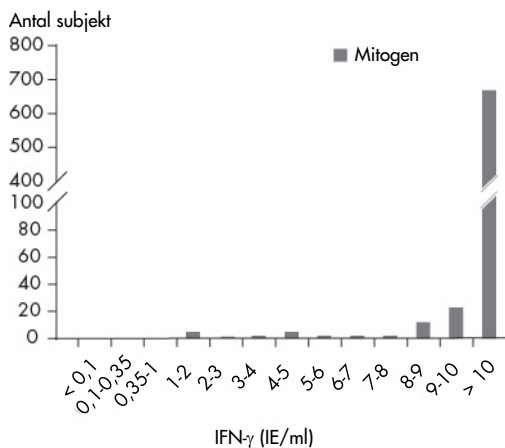


C

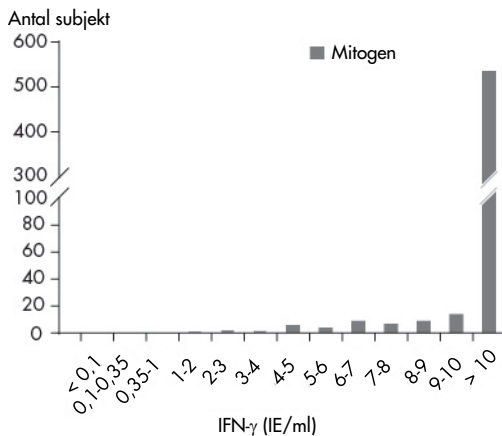


**Bild 5. Distribution av TB1 och TB2 (Nil subtraherat).** A Distribution av värden för Nil-subtraherat TB1 och TB2 i en population med låg risk (n = 744). B Distribution av värden för Nil-subtraherat TB1 och TB2 i en population med blandad risk (n = 601). C Distribution av värden för Nil-subtraherat TB1 och TB2 i en population med odlingsverifierad *M. tuberculosis*-infektion (n = 416).

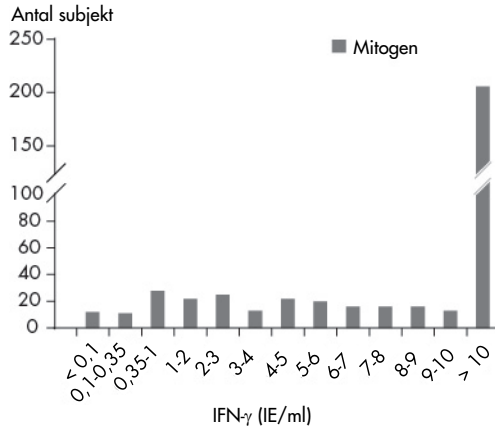
A



B

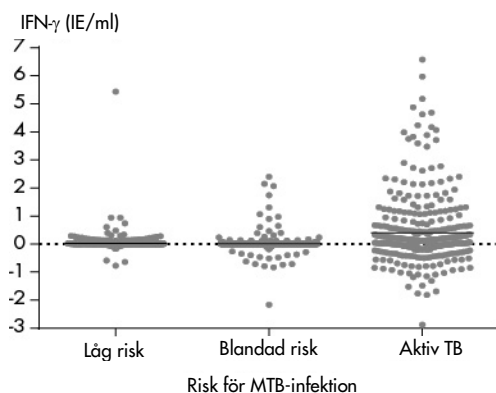


C



**Bild 6. Distribution av Nil-subtraherat mitogen.** **A** Distribution av värden för Nil-subtraherat mitogen i en population med låg risk (n=744). **B** Distribution av värden för Nil-subtraherat mitogen i en population med blandad risk (n = 601). **C** Distribution av värden för Nil-subtraherat mitogen i en population med odlingsverifierad *M. tuberculosis*-infektion (n = 415).





**Bild 7. Observerad skillnad mellan TB1- och TB2-värden (Nil subtraherat), stratifierat efter risk.** Inkluderad data från en kohortstudie med blandad risk för att visa skillnaderna mellan kohorter med låg risk, aktiv risk och blandad risk. Denna dataanalys inkluderade en kohort med blandad risk med kända riskfaktorer. Därför från kohorten med låg risk  $n=733$ , från kohorten med blandad risk  $n=588$  och från kohorten med aktiv TB  $n=357$ . Den kvantitativa skillnaden i IE/ml för varje deltagare fick man genom att subtrahera TB1-värdet från TB2-värdet.

## Säkerhets- och prestandasammanfattning

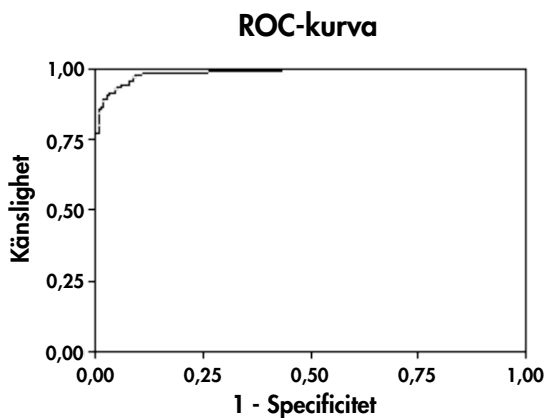
Sammanfattningen av säkerhets- och prestandasammanfattning finns på EUDAMED-webbplatsen.

# Analysens prestandaegenskaper

## Analytisk prestanda

### Analys-cut-off

QFT-Plus-analys-cut-off bestämdes med data från 216 deltagare utan identifierade riskfaktorer för TB-exponering, som hade BCG-vaccinerats och antogs vara infektionsfria och 118 deltagare med odling bekräftad med *M. tuberculosis*-infektion. Känslighets- och specificitetsdata kombinerades och analyserades med Receiver Operator Characteristic (ROC) kurveanalys. Känslighets- och specificitetsdata analyserade med ROC-analys visade att den optimala ELISA-avstängningen var 0,35 IE/ml (se Figur 8).



**Bild 8.** ROC-kurva för ESAT-6- och CFP-10-svar.

Tabell 13. Känslighets- och specificitetsvärden för ELISA vid olika cutoff-värden

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

Tabellen fortsätter på nästa sida

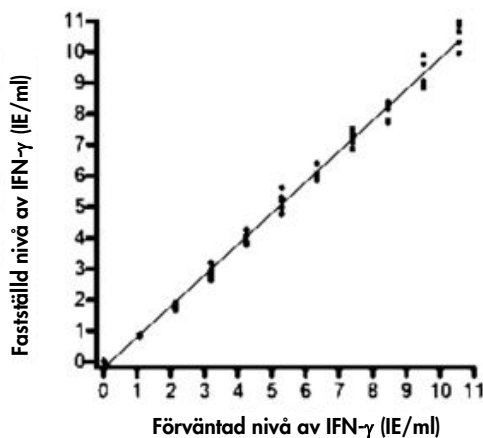
Tabellen fortsätter från föregående sida

**Tabell 13.** Känslighets- och specificitetsvärden för ELISA vid olika cutoff-värden

Cutoff IE/ml IFN- $\gamma$	Känslighet (%)	95 % KI	Specificitet (%)	95 %KI	Känslighet + specificitet
0,47	85,59	77,94 % till 91,38 %	99,08	96,71 % till 99,89 %	184,67
0,48	84,75	76,97 % till 90,70 %	99,08	96,71 % till 99,89 %	183,83
0,50	83,90	76,00 % till 90,02 %	99,08	96,71 % till 99,89 %	182,98

## Linjäritet

QFT-Plus ELISA har visat sig vara linjär vid placering av 5 replikat av 11 plasmapooler med kända IFN- $\gamma$ -koncentrationer slumpvis på ELISA-plattan. Den linjära regressionslinjen har en lutning på  $1,002 \pm 0,011$  och en korrelationskoefficient på 0,99 (bild 9).



**Bild 9.** Illustration av linjäritetsstudieregressionsanalys - högt poolmedelvärde =  $-0,24 + 0,9964 \cdot$   
Förväntat.

## Reproducerbarhet

En reproducerbarhetsstudie med flera center genomfördes för att utvärdera QFT-Plus prestanda på studieplatser med flera operatörer. Detta var en prospektiv studie utförd vid tre externa testplatser och en insamlingsplats. Totalt 32 positiva och 34 negativa (bestämt av QFT-test) studiedeltagare registrerades. Studiedeltagarna bestod av vårdpersonal i USA. Studiedeltagarna representerade grupper med blandad risk för TB-exponering på grund av sysselsättning eller som utländskt född vårdpersonal från en plats med en TB-frekvens som överstiger 50/100 000.

Tre blodprovtagningsrör med litiumheparin erhöles från varje studiedeltagare på insamlingsplatsen. Blodprovtagningsrören med litiumheparin överfördes sedan till var och en av de tre testplatserna där de alikvoterades till två set av QFT-Plus Blood Collection Tubes (QFT-Plus TB1, TB2, Mitogen och Nil) och sedan testades i enlighet med QFT-Plus-analysproceduren. På varje plats körde minst två operatörer de två testerna per studie oberoende av varandra. Varje operatör blindades för resultaten som erhållits av den andra operatören och blindades för QFT-testresultatet för studiedeltagaren.

Det genererades sex resultat på alla tre testplatserna per var och en av de 66 studiedeltagarna, vilket resulterade i totalt 396 datapunkter. En sammanfattning av reproducerbarhetssammanfattningsresultaten finns i tabell 14.

**Tabell 14. Sammanfattning av reproducerbarhetsstudieresultat - inom plats % överensstämmelse med kvalitativa resultat mellan operatörer; N = 66 patientprover**

<b>Plats 1 – 2 Operatörer</b>	<b>Plats 2 – 2 Operatörer</b>	<b>Plats 3 – 3 Operatörer</b>
64/66 = 96,97 % Överensstämmelse med kvalitativt resultat av rörset 1 och rörset 2	64/66 = 96,97% Överensstämmelse med kvalitativt resultat av rörset 1 och rörset 2	59/66 = 89,39% Överensstämmelse med kvalitativt resultat av rörset 1 och rörset 2

Det kvalitativa procentavtalet på alla studieplatser är 94,7 % (375/396). I denna beräkning inkluderar det totala antalet testresultat som överensstämmer (375), de fall där det finns

överensstämmelse för alla 6 resultat, överensstämmelse för 5 av 6 resultat, överensstämmelse för 4 av 6 resultat och överensstämmelse för 3 av 6 resultat, kombinerade.

## Interanalysreproducerbarhet

En studie genomfördes för att bestämma variabiliteten mellan olika loter av QFT-Plus Blood Collection Tubes i jämförelse med QFT-rören. Totalt 30 deltagare (15 bekräftade TB-positiva och 15 bekräftade TB-negativa genom QFT-test) testades. Tre separata loter av var och en av QFT-Plus TB1, TB2 och QFT TB Blood Collection Tubes ingick i denna studie. 3 replikat per givare per blodprovtagningsrörsats testades. Nil- och Mitogen-rör testades med en replika var.

Blod från varje individ uppsamlades i blodprovtagningsrör med litiumheparin och sedan överfördes 1 ml blod till vart och ett av QFT-Plus-rören och QFT-blodprovtagningsrören och testades i enlighet med analysproceduren. För varje positiv och negativ provgrupp får den totala variansen för QFT-Plus-rörresultaten inte vara större än den totala variansen för QFT-rörresultaten. Detta bestämdes av p-värdet givet av testet Levenes Homogeneity of Variance (HOV). Om p-värdet inte var signifikant ( $p > 0,05$ ) och/eller variationen för QFT-Plus TB Tubes var lägre än för QFT TB-röret, fanns det varians mellan QFT-Plus- och QFT TB-rören.

**Tabell 15. Jämförelse av varianser mellan QFT-Plus-rören och QFT TB-blodprovtagningsrören med Levenes HOV-test**

Provtyp	Skillnad	Effekt	Beroende	P-värde	Betydande
Positivt	TB2 vs QFT	Sub_Type	Kvarstående	0,0378	Ja
Positivt	TB2 vs QFT	Sub_Type	Kvarstående	0,0540	Nej
Negativt	TB2 vs QFT	Sub_Type	Kvarstående	0,1025	Nej
Negativt	TB2 vs QFT	Sub_Type	Kvarstående	0,6344	Nej

Variationen mellan QFT-Plus-rören och QFT TB-blodprovtagningsrören var inte signifikant, med undantag för QFT-Plus TB2-röret, vid testning med positiva deltagare. När uppskattningen av standardavvikelsen analyserades, var variationen som sågs för QFT-Plus TB2-röret mindre

(0,06089) än för QFT TB-röret (0,07641), vilket visas i tabell 16. Därför var variansen för blodprovtagningsrören QFT-Plus TB1 och TB2 inte större än för QFT TB-blodprovtagningsröret.

**Tabell 16. Standardavvikelse för residuala och 95 % konfidensintervall för positiva deltagare**

Provtyp	Undertyp	Uppskattad standardavvikelse	95 % LCL	95 % UCL
Positivt	QFT	0,07641	0,06826	0,08680
Positivt	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Positivt	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

## Uppreparhet intra-lot

En studie utfördes för att bedöma reproducerbarheten inom loten av QFT-Plus-blodprovtagningsrör genom att jämföra IFN- $\gamma$ -koncentrationen från replikat av QFT-Plus TB-blodprovtagningsrör med blod.

Sex alikvoter av ett blodprov med en bekräftad TB-infektion kördes i sex upprepade blodprovtagningsrör från en lot var av båda QFT-Plus rören (TB1 och TB2). Testningen utfördes med 13 deltagare. %CV beräknades för varje givare och över alla givare för att generera en genomsnittligt %CV som visas i tabell 17.

**Tabell 17. % CV för genomsnitt, standardavvikelse, minimum, median och maximum i varje QFT-Plus TB-blodprovtagningsrör för TB-positiva deltagare**

QFT-Plus-rör	Provstorlek	Medelvärde (%CV)	Standardavvikelse	Minimum	Median	Max
TB1	13	13,31	6,88	4,17	12,87	29,56
TB2	13	13,04	7,48	4,86	10,75	29,44

Resultaten demonstrerar att genomsnittligt %CV för TB1 och TB2 var ~13 %, vilket uppfyller godkännandekriteriet på  $\leq 30$  % och demonstrerar upprepbarhet intra-lot.

### Blankgräns (Limit of Blank, LOB)

Blankgränsen (Limit of Blank, LoB) utvärderades för QFT-Plus-analysen. Två replikat var av 14 individuella normala humana plasmaprover (som blank) testades med 2 loter av QFT-Plus ELISA av 3 operatörer på 3 testdagar, en operatör per testdag för totalt 84 replikat från varje ELISA Kit-lot.

LoB-värdena (IE/ml) för de 2 ELISA Kit-loterna beräknades separat, vilket visas i tabell 18.

**Tabell 18. LoB-värdena (IE/ml) för de 2 QFT-Plus ELISA Kit-loterna**

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

Det större LoB-värdet, 0,040 IE/ml, för båda QFT-Plus ELISA Kit-loterna, rapporterades som det slutliga LoB-värdet.



## Detektionsgräns (Limit of Detection, LoD)

Detektionsgränsen (Limit of Detection, LoD) utvärderades för QFT-Plus-analysen. En TB-negativ mänsklig plasmapool genererades genom att kombinera 14 individuella plasmaprover. Var och en av de tre operatörerna utarbetade ett IFN- $\gamma$  referensstandardlager med 1,0 IE/ml utspätt i buffert. En spädningsserie med 8 koncentrationer gjordes. Studien genomfördes under 3 dagar, av 3 omväxlande operatörer som använde 2 QFT- Plus ELISA Kit-loter. För varje testdag testades 5 replikat av varje koncentration inom varje uppsättning av serieutspädningsserien för totalt 45 replikat för varje utspädning av IFN- $\gamma$ -koncentration för varje QFT-Plus-ELISA Kit-lot.

LoD-värdet för vart och ett av de testade QFT-Plus ELISA Kit-loterna beräknades separat, vilket visas i Tabell 19.

**Tabell 19. Uppskattade LoD-värden (IE/ml) för de 2 QFT-Plus ELISA Kit-loterna**

QFT-Plus ELISA Kit	Sannolikhet	Koncentrationsuppskattning (IE/ml)	Lägre 95 % konfidensgräns för uppskattning	Övre 95 % konfidensgräns för uppskattning
Kit 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Kit 2	0,95	0,065	0,060	0,073

Det större LoD-värdet, som beräknades för båda QFT-Plus ELISA Kit-loterna, 0,065 IE/ml, rapporterades som det slutgiltiga LoD-värdet

## Interfererande ämnen

En studie genomfördes för att bestämma effekterna av potentiella interfererande ämnen på prestandan för QFT-Plus ELISA-detekteringen av IFN- $\gamma$ . Interferensen som ingick i denna testning var: triglycerider (totalt), hemoglobin, protein (totalt serum), bilirubin (konjugerat), bilirubin (okonjugerat), abacavirsulfat, cyklosporin och prednisolon. Fem plasmapoolar med kända koncentrationer av IFN- $\gamma$  bereddes med användning av olika interferenskoncentrationer. Baspoolens IFN- $\gamma$ -nivå framställdes tidigare med en förutbestämning mängd IFN- $\gamma$  närvarande (cirka 0,21, 0,45 och 1,4 IE/ml). Denna pool användes sedan för att förbereda interferenspoolerna. De interferenta koncentrationerna som testades var 0 mg/dL, 5 mg/dL, 10 mg/dL, 15 mg/dL och 20 mg/dL. Målinterferenskoncentrationerna baserades på referensintervall, patologiska värden, terapeutiska intervall och toxiska intervall eller enligt rekommendationer från leverantörer eller allmänna kliniska nivåer. Sex replikat testades för varje interferent-provkoncentrationsnivå.

För varje provkoncentration utfördes ett t-test med två prov, där skillnaden i genomsnittlig log<sub>10</sub> (IE/ml) för den primära interferentnivån jämfördes med kontrollen (dvs. interferentfri nivå), vilket visas i tabell 20 och tabell 21. Den uppskattade skillnaden i genomsnittligt svar, tillsammans med motsvarande tvåsidiga 95 % konfidensgränser och p-värde rapporterades också.

**Tabell 20. Log10 IE/ml: T-tests sammanfattningstabell för skillnader i medel mellan kontroll och primär interferensnivå för varje interferent och IFN- $\gamma$  koncentrationsnivå**

Interferent	Interferentnivå	Provkoncentration (IE/ml)	Varianser	Medelskillnad	Lägre 95 % KI	Övre 95 % KI	P-värde	OK
Triglycerider	Höga	1,4	Likvärdig	0,019	-0,040	0,077	0,491	ja.
		0,45	Likvärdig	0,004	-0,022	0,030	0,732	ja.
		0,21	Likvärdig	0,006	-0,035	0,047	0,759	ja.
Hemoglobin	Höga	1,4	Likvärdig	-0,005	-0,42	0,032	0,784	ja.
		0,45	Likvärdig	-0,000	-0,023	0,023	0,981	ja.
		0,21	Likvärdig	0,000	-0,034	0,035	0,980	ja.
Protein	Höga	1,4	Likvärdig	0,004	-0,034	0,042	0,836	ja.
		0,45	Likvärdig	0,001	-0,38	0,040	0,962	ja.
		0,21	Likvärdig	-0,008	-0,076	0,060	0,809	ja.
Konjugerat bilirubin	Höga	1,4	Likvärdig	-0,011	-0,057	0,034	0,589	ja.
		0,45	Likvärdig	-0,002	-0,058	0,053	0,923	ja.
		0,21	Likvärdig	-0,014	0,074	0,046	0,625	ja.
Okonjugerat bilirubin	Höga	1,4	Likvärdig	-0,008	-0,041	0,026	0,614	ja.
		0,45	Likvärdig	-0,000	-0,042	0,041	0,982	ja.
		0,21	Likvärdig	-0,000	-0,048	0,048	0,989	ja.
Abacavir	Höga	1,4	Likvärdig	0,008	-0,025	0,041	0,601	ja.
		0,45	Likvärdig	0,012	-0,019	0,044	0,412	ja.
		0,21	Likvärdig	-0,006	-0,052	0,040	0,770	ja.

Tabellen fortsätter på nästa sida

Tabellen fortsätter från föregående sida

Tabell 20. Log<sub>10</sub> IE/ml: T-tests sammanfattningstabell för skillnader i medel mellan kontroll och primär interferensnivå för varje interferent och IFN- $\gamma$  Koncentrationsnivå

Interferent	Interferentnivå	Provkonzentration (IE/ml)	Varianser	Medelskillnad	Lägre 95 % KI	Övre 95 % KI	P-värde	OK
Cyklosporin	Höga	1,4	Likvärdig	0,014	-0,020	0,047	0,383	ja.
		0,45	Likvärdig	0,005	-0,035	0,045	0,773	ja.
		0,21	Likvärdig	0,024	-0,008	0,056	0,131	ja.
Prednisolone	Höga	1,4	Likvärdig	0,017	-0,017	0,050	0,293	ja.
		0,45	Likvärdig	0,000	-0,036	0,036	0,979	ja.
		0,21	Likvärdig	0,015	-0,035	0,065	0,524	ja.

**Tabell 21. Log10 IE/ml: T-tests sammanfattningstabell för skillnader i medel mellan kontroll och hög interferensnivå för varje interferent och IFN- $\gamma$  koncentrationsnivå**

Interferent	Interferentnivå	Provkoncentration (IE/ml)	Varianser	Medelskillnad	Lägre 95 % KI	Övre 95 % KI	P-värde	OK
Triglycerider	Höga	1,4	Likvärdig	0,053	-0,004	0,110	0,063	ja.
		0,45	Likvärdig	0,039	-0,021	0,058	< ,001	ja.
		0,21	Likvärdig	0,034	-0,002	0,071	0,061	ja.
Hemoglobin	Höga	1,4	Likvärdig	-0,001	-0,042	0,040	0,967	ja.
		0,45	Likvärdig	0,016	-0,007	0,040	0,152	ja.
		0,21	Likvärdig	0,014	-0,030	0,059	0,489	ja.
Protein	Höga	1,4	Likvärdig	-0,030	-0,071	0,011	0,136	ja.
		0,45	Likvärdig	0,000	-0,046	0,046	0,992	ja.
		0,21	Likvärdig	-0,045	-0,103	0,012	0,109	ja.
Konjugerat bilirubin	Höga	1,4	Likvärdig	0,001	-0,046	0,048	0,961	ja.
		0,45	Likvärdig	0,012	-0,043	0,067	0,639	ja.
		0,21	Likvärdig	0,015	-0,044	0,074	0,586	ja.
Okonjugerat bilirubin	Höga	1,4	Likvärdig	0,015	-0,011	0,042	0,231	ja.
		0,45	Likvärdig	0,015	-0,023	0,052	0,411	ja.
		0,21	Likvärdig	0,012	-0,033	0,057	0,566	ja.
Abacavir	Höga	1,4	Likvärdig	0,013	-0,015	0,040	0,322	ja.
		0,45	Likvärdig	0,015	-0,014	0,044	0,283	ja.
		0,21	Likvärdig	0,008	-0,034	0,050	0,677	ja.

Tabellen fortsätter på nästa sida

Tabellen fortsätter från föregående sida

Tabell 21. Log<sub>10</sub> IE/ml: T-tests sammanfattningstabell för skillnader i medel mellan kontroll och hög interferensnivå för varje interferent och IFN- $\gamma$  Koncentrationsnivå

Interferent	Interferensnivå	Provkoncentration (IE/ml)	Varianser	Medelskillnad	Lägre 95 % KI	Övre 95 % KI	P-värde	OK
Cyklosporin	Höga	1,4	Likvärdig	0,002	-0,019	0,024	0,816	ja.
		0,45	Likvärdig	0,007	-0,030	0,043	0,682	ja.
		0,21	Likvärdig	0,015	-0,007	0,038	0,155	ja.
Prednisolone	Höga	1,4	Likvärdig	0,007	-0,016	0,030	0,518	ja.
		0,45	Likvärdig	-0,001	-0,034	0,033	0,964	ja.
		0,21	Likvärdig	0,021	-0,025	0,068	0,334	ja.

Resultaten visade inga signifikanta skillnader mellan den primära interferensnivån och kontrollen (interferensfri nivå) och för den höga interferensnivån utom koncentrationsnivån för Triglycerid 0,45 IE/ml. Medelskillnaden bestämdes vara inom  $\pm 2$  standardavvikelsens intervall. Detta visar att skillnaden ligger inom analysens förväntade variabilitet och att triglycerid inte hade någon störande effekt på QFT-Plus ELISA.

# Bortskaffning

Följ relevanta riktlinjer för hantering av blod. Kassera prover och material som kommit i kontakt med blod eller blodprodukter enligt gällande nationella och lokala föreskrifter.

# Referenser

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.

# Felsökningsguide

Den här felsökningsguiden kan vara till hjälp för att lösa eventuella problem som uppstår. För teknisk support och ytterligare information är du välkommen att besöka vårt tekniska supportcenter på [www.qiagen.com/Support](http://www.qiagen.com/Support) (gå till [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) för att få kontaktinformation).

## Kommentarer och förslag

---

### Felsökning av ELISA

#### Icke-specifik färgutveckling

- |                                                                         |                                                                                                                                                                                                                   |
|-------------------------------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| a) Brisfällig rengöring av plattan                                      | Tvätta plattan minst 6 gånger med 400 µl tvättbuffert per brunn. Det kan krävas fler än 6 tvättcykler beroende på vilken tvättmaskin som används. Låt tvättbufferten verka i minst 5 sekunder mellan varje cykel. |
| b) Korskontaminering av ELISA-brunnarna                                 | Var försiktig när du pipetterar och blandar proverna för att minimera riskerna.                                                                                                                                   |
| c) Kitets/komponenternas utgångsdatum har passerats                     | Kontrollera att kitet används innan utgångsdatumet. Se till att rekonstituerad standard och konjugatkoncentrat (100x) används inom tre månader efter rekonstituering.                                             |
| d) Enzymsubstratlösningen är kontaminerad                               | Kassera substratet om det är blåfärgat. Kontrollera att reagenserna endast förvaras i rena behållare.                                                                                                             |
| e) Blandning av plasma i QFT-Plus Blood Collection Tubes före insamling | Efter centrifugering ska du undvika att pipettera upp och ned eller blanda plasman på något sätt innan insamling. Var alltid försiktig så att inte materialet på gelytan förstörs.                                |

## Kommentarer och förslag

---

### Låga avläsningar av optisk densitet i standarder

- |                                                     |                                                                                                                                                                     |
|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| a) Spädningsfel i standard                          | Kontrollera att spädningar av kitstandarderna bereds enligt denna bruksanvisning.                                                                                   |
| b) Pipetteringsfel                                  | Kontrollera att pipetterna kalibreras och används i enlighet med tillverkarens instruktioner.                                                                       |
| c) För låg inkuberingstemperatur                    | Inkubering av ELISA ska utföras i rumstemperatur ( $22 \pm 5$ °C).                                                                                                  |
| d) För kort inkuberingstid                          | Inkubering av plattan med konjugat, standarder och prover ska ske i $120 \pm 5$ minuter. Enzymsubstratlösningen ska inkuberas på plattan i 30 minuter.              |
| e) Ett felaktigt filter används i plattläsaren      | Plattan ska läsas vid 450 nm med ett referensfilter på mellan 620 och 650 nm.                                                                                       |
| f) Reagenserna är för kalla                         | Alla reagenser, med undantag för konjugatkoncentrat (100x), måste ha antagit rumstemperatur innan analysen påbörjas. Detta tar ungefär 1 timme.                     |
| g) Kitets/komponenternas utgångsdatum har passerats | Kontrollera att kitet används innan utgångsdatumet. Se till att rekonstituerad standard och konjugatkoncentrat (100x) används inom 3 månader efter rekonstituering. |

### Tillstånd med

- |                                    |                                                                                                                                                                        |
|------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| a) Brisfällig rengöring av plattan | Tvätta plattan minst 6 gånger med 400 µl tvättbuffert per brunn. Det kan krävas fler än 6 tvättcykler. Låt tvättbufferten verka i minst 5 sekunder mellan varje cykel. |
| b) För hög inkuberingstemperatur   | Inkubering av ELISA ska utföras i rumstemperatur ( $22 \pm 5$ °C).                                                                                                     |

## Kommentarer och förslag

---

- |                                                     |                                                                                                                                                                       |
|-----------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| c) Kitets/komponenternas utgångsdatum har passerats | Kontrollera att kitet används innan utgångsdatumet. Se till att rekonstituerad standard och konjugatkoncentrat (100x) används inom tre månader efter rekonstituering. |
| d) Enzymsubstratlösningen är kontaminerad           | Kassera substratet om det är blåfärgat. Kontrollera att reagenserna endast förvaras i rena behållare.                                                                 |

## Icke-linjär standardkurva och variabilitet mellan duplikat

- |                                                                                                  |                                                                                                                                                                        |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| a) Bristfällig rengöring av plattan                                                              | Tvätta plattan minst 6 gånger med 400 µl tvättbuffert per brunn. Det kan krävas fler än 6 tvättcykler. Låt tvättbufferten verka i minst 5 sekunder mellan varje cykel. |
| b) Spädningsfel i standard                                                                       | Kontrollera att spädnings av standarden bereds enligt denna bruksanvisning.                                                                                            |
| c) Bristfällig blandning                                                                         | Blanda reagenserna noggrant genom vändning eller genom att vortexblanda försiktigt innan de appliceras på plattan.                                                     |
| d) Inkonsekvent pipetteringsteknik eller avbrott under pipetteringen vid beredningen av analysen | Prover och standard ska tillsättas i anslutning till varandra. Alla reagenser ska ha preparerats innan analysen påbörjas.                                              |

# Symboler

Nedanstående symboler finns i användningsinstruktionerna eller på förpackningar och etiketter:

## Symbol

## Symbolförklaring



<N>

Innehåller reagens som räcker till <N> reaktioner



Utgångsdatum



Den här produkten uppfyller kraven i Europeisk Regel 2017/746 för in vitro-diagnostiska medicintekniska enheter.

**EC**

**REP**

Auktoriserad representant i Europeiska gemenskapen/europeiska unionen

**IVD**

In vitro-diagnostisk medicinteknisk enhet

**REF**

Katalognummer

**LOT**

Lotnummer

**MAT**

Materialnummer (dvs. komponentetikett)

**COMP**

Komponenter

**CONT**

Innehåller

**NUM**

Antal

**GTIN**

GSI-artikelnummer

Rn

R betyder revidering av bruksanvisningen och n är revisionsnumret



Temperaturbegränsning

## Symbol

## Symbolförklaring



Tillverkare



Läs bruksanvisningen



Skyddas mot ljus



Varning/försiktighet eller försiktighet, läs medföljande dokument

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

Ett in vitro-diagnostiskt test som använder en blandning av peptider som simulerar ESAT-6- och CFP-10-proteiner i syfte att stimulera celler i hepariniserat helblod



Innehåller biologiskt material från djur



Innehåller biologiskt material från människor



Unik enhetsidentifierare

## Symbol

## Symbolförklaring

---

**tartrazine**

Innehåller tartrazin

**sulfuric acid**

Innehåller svavelsyra

# Bilaga A: Teknisk information

## Indeterminanta resultat

Indeterminanta resultat är sällsynta och kan bero på testpersonernas immunstatus (5), men de kan också vara relaterade till ett antal tekniska faktorer (t.ex. olämplig hantering/lagring av blodprovtagningsrör eller ofullständig ELISA-plattbricka) om bruksanvisningen ovan inte följs.

Om det finns misstanke om tekniska problem med reagenslagringen i samband med provtagning eller hantering av blodprover, ska hela QFT-Plus-testet göras om med ett nytt blodprov. ELISA-testet för stimulerad plasma kan göras om ifall det finns misstankar om bristfällig rengöring eller om att proceduren för ELISA-testet inte har följts. Läkaren kan då välja att ta ett nytt prov eller vidta andra åtgärder.

## Koagulerade plasmaprover

Om fibrin bildas under långvarig lagring av plasmaprover ska proverna centrifugeras för att det koagulerade materialet ska sedimenteras och för att underlätta pipettering av plasman.

## Lipemiska plasmaprover

Var försiktig vid pipettering av lipemiska prover eftersom fettavlagringar kan blockera pipettspetsar.



## Bilaga B: Förkortad ELISA-testprocedur

1. Ekvilibrera ELISA-komponenterna, med undantag för konjugatkoncentrat (100x), i rumstemperatur i minst 60 minuter.



2. Rekonstituera kitstandarden till 8,0 IE/ml med destillerat eller avjoniserat vatten. Bered fyra (4) standardspädningar.



3. Rekonstituera frystorkat konjugatkoncentrat (100x) med destillerat eller avjoniserat vatten.

4. Bered arbetsutspädning av konjugat i den gröna diluenten och tillsätt 50 µl i alla brunnar.



5. Tillsätt 50 µl av plasmaproverna och 50 µl standard i lämpliga brunnar. Blanda med en skakapparat.



6. Inkubera i 120 minuter i rumstemperatur.



7. Tvätta brunnarna minst 6 gånger med 400 µl tvättbuffert per brunn.



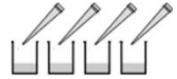
8. Tillsätt 100 µl enzymsubstratlösning i brunnarna. Blanda med en skakapparat.



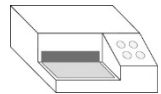
9. Inkubera i 30 minuter i rumstemperatur.



10. Tillsätt 50 µl enzymstoppande lösning i brunnarna. Blanda med en skakapparat.



11. Läs av resultaten vid 450 nm med ett 620 till 650 nm referensfilter



12. Analysera resultaten.



# Beställningsinformation

Produkt	Innehåll	Kat. nr
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit	ELISA Kit med 2 plattor	622120
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Reference Lab Pack	ELISA Kit med 20 plattor	622822
<b>Related products</b>		
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes	200 rör (50 vardera Nil, TB1, TB2 och Mitogen)	622526
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 rör (25 vardera Nil, TB1, TB2 och Mitogen)	622423
QuantiFERON-TB Gold Plus Single Patient Pack	40 rör (1 vardera Nil, TB1, TB2 och Mitogen/paket). paket med 10	622222
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes	200 rör (50 vardera Nil, TB1, TB2 och Mitogen)	623526
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 rör (50 vardera Nil, TB1, TB2 och Mitogen)	623423
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Single Patient Pack	40 rör (1 vardera Nil, TB1, TB2 och Mitogen/paket). paket med 10	623222

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i bruksanvisningen till respektive QIAGEN-kit. Bruksanvisningar för QIAGEN-kit finns på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) eller kan beställas från QIAGEN teknisk service eller din lokala återförsäljare.

# Dokumentrevisioner

Datum	Ändringar
R2, juni 2021	<p>Inkluderar information om förpackning för en patient</p> <p>Reviderade tabeller 10 och 11 för att skilja mellan QFT-GIT- och QFT-Plus-data</p> <p>Uppdaterat avsnitt Beskrivning och princip för att lägga till information om testpopulation och mätfrekvens</p> <p>Lade till tabell 9 för att lägga till data om QFT-Plus-sannolikhetskvot</p>
R3, oktober 2021	<p>Återställda katalognummer tillbaka till original katalognummer</p> <p>Lade till uttalande om engångsanvändning för remsa för mikroplatta i Kitinnehåll</p>
R4 mars 2023	Formateringsåtgärder

Den här sidan har avsiktligt lämnats tom

#### **Avtal om begränsad licens för QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit**

Användning av denna produkt innebär att köpare eller användare av produkten godkänner följande villkor:

1. Produkten får endast användas i enlighet med de protokoll som medföljer produkten och den här bruksanvisningen och får endast användas med komponenterna som ingår i panelen. QIAGEN ger ingen licens för någon av sina immateriella tillgångar för att använda eller inkludera komponenterna i denna panel med komponenter som inte ingår i denna panel förutom vad som beskrivs i de protokoll som medföljer produkten, den här bruksanvisningen och ytterligare protokoll som finns på [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Vissa av dessa ytterligare protokoll har tillhandahållits av QIAGEN-användare för andra QIAGEN-användare. Dessa protokoll har inte testats noggrant eller optimerats av QIAGEN. QIAGEN garanterar inte att de inte kränker tredje parts rättigheter.
2. Förutom de uttryckligen angivna licenserna kan QIAGEN inte garantera att denna panel och/eller dess användning inte kränker tredje parts rättigheter.
3. Panelen och dess komponenter är licensierade för engångsbruk och får inte återanvändas, förbättras eller säljas vidare.
4. QIAGEN avsäger sig specifikt ansvar för alla andra licenser, uttryckliga eller underförstådda, förutom de uttryckligen angivna.
5. Köparen och användaren av panelen godkänner att inte tillåta någon annan att utföra något som kan leda till eller orsaka otillåtna situationer beskrivna ovan. QIAGEN kan kräva att detta avtal om begränsad licens upprätthålls i domstol, och ska ersättas för alla undersöknings- och rättegångskostnader, inklusive advokatkostnader, som uppstår vid försök att bestrida detta avtal om begränsad licens eller någon av de immateriella rättigheter som avser panelen och/eller någon av dess komponenter.

För uppdaterade licensvillkor, se [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

Varumärken: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (QIAGEN Group) Proclin®. Registrerade namn, varumärken med mera som används i detta dokument ska inte anses som oskyddade enligt lag, även om de inte uttryckligen anges som skyddade.

03/ 2023 L1 1123669 1123669SV © 2023 QIAGEN, med ensamrätt.

Beställning [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Teknisk support [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) |  
Webbplats [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)