

April 2019

Indlægsseddel til QuantiFERON[®]- TB Gold Plus (QFT[®]-Plus) ELISA



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Version 1



Til in vitro-diagnostisk brug

Interferon-gamma (IFN- γ)-test i fuldblod til måling af responser på
ESAT-6- og CFP-10-peptidantigener



622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
Tyskland



R6 1083163DA

Indholdsfortegnelse

Tilsigtet anvendelse	5
Opsummering og forklaring af testen	5
Analyseprincipper	7
Påkrævet tid til udførelse af analysen	9
Komponenter og opbevaring.....	10
Nødvendige materialer, som ikke medfølger	12
Prøveopbevaring og -håndtering.....	13
Blodprøvetagningsrør.....	13
Kittets reagenser.....	13
Rekonstituerede og ubrugte reagenser	13
Advarsler og forholdsregler.....	14
Advarsler	14
Forholdsregler.....	15
Prøveindsamling og -håndtering	18
Brugsvejledning	24
Stadie 1 – Inkubering af blod og opsamling af plasma	24
Stadie 2 – IFN- γ ELISA.....	25
Beregninger og testfortolkning	30
Generering af standardkurve	30
Kvalitetskontrol af testen	31
Fortolkning af resultater	31

Begrænsninger	34
Ydelseskarakteristika	35
Kliniske undersøgelser	35
Analysens ydelseskarakteristika	41
Teknisk information	46
Ubestemmelige resultater	46
Koagulerede plasmaprøver	46
Fejlfindingsvejledning	47
Litteraturhenvisninger	49
Symboler	59
Kontaktoplysninger	60
Forkortet testprocedure	61
Stadie 1 – inkubering af blod	61
Stadie 2 – IFN- γ ELISA	61
Væsentlige ændringer	63
Revisionshistorik for håndbogen	63

Tilsigtet anvendelse

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)-analysen er en in vitro-diagnostisk test, der benytter en peptidcocktail, som simulerer ESAT-6- og CFP-10-proteiner til stimulering af celler i hepariniseret fuldblod. Påvisning af interferon- γ (IFN- γ) vha. enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) anvendes til at identificere in vitro-responser på de peptidantigener, der er forbundet med *Mycobacterium tuberculosis*-infektion.

QFT-Plus er en indirekte test for *M. tuberculosis*-infektion (herunder sygdom) og skal anvendes i sammenhæng med risikovurdering, radiografi og andre medicinske og diagnostiske vurderinger.

Opsummering og forklaring af testen

Tuberkulose er en smitsom sygdom, der skyldes infektion med *M. tuberculosis* (MTB)-komplekse organismer (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*), som typisk spredes til nye værter via luftbårne dråbepartikler fra patienter med respiratorisk tuberkulose. En nyligt smittet person kan blive syg med tuberkulose inden for nogle uger eller måneder, men de fleste smittede personer føler sig raske. Latent tuberkuloseinfektion (LTBI), en ikke-smitsom tilstand uden symptomer, findes hos nogle personer, som kan udvikle tuberkulose nogle måneder eller år senere. Det primære formål med at diagnosticere LTBI er medicinsk behandling for at forebygge tuberkulose. Indtil for nylig var tuberkulin-hudprøvetest (TST, Tuberculin Skin Test) den eneste metode til diagnosticering af LTBI. Kutan sensitivitet over for tuberkulin udvikles fra 2 til 10 uger efter infektionen. Nogle smittede personer, herunder personer med en række sygdomme, som forhindrer immunfunktioner, men også andre personer uden disse sygdomme, reagerer dog ikke på tuberkulin. Omvendt viser nogle personer, som ikke burde have en *M. tuberculosis*-infektion, sensitivitet over for tuberkulin og har positive TST-resultater efter vaccination med Bacille Calmette-Guérin (BCG) eller infektion med mykobakterier udover *M. tuberculosis*-kompleks eller andre faktorer.

Der skal skelnes mellem LTBI og tuberkulose, som er en sygdom, der skal indberettes og som regel involverer lungerne og de nedre luftveje, selvom andre organsystemer også kan være påvirket. Sygdommen tuberkulose diagnosticeres på baggrund af de historiske og fysiske samt radiologiske, histologiske og mykobakteriologiske fund.

QFT-Plus er en test for cellemedierede immun (CMI)-responsers på peptidantigener, der simulerer mykobakterielle proteiner. Disse proteiner, ESAT-6 og CFP-10, mangler i alle BCG-stammer og de fleste ikke-tuberkuløse mykobakterier med undtagelse af *M. kansasii*, *M. szulgai* og *M. marinum* (1). Personer, som er smittet med MTB-komplekse organismer, har sædvanligvis lymfocytter i deres blod, som genkender disse og andre mykobakterielle antigener. Denne genkendelsesproces involverer dannelse og udskillelse af cytokinet IFN- γ . Påvisningen og den efterfølgende kvantificering af IFN- γ danner grundlag for denne test.

De antigener, der anvendes i QFT-Plus, er en peptidcocktail, som simulerer proteinerne ESAT-6 og CFP-10. Flere undersøgelser har vist, at disse peptidantigener stimulerer IFN- γ -responsers i T-celler fra personer, som er smittet med *M. tuberculosis*, men som regel ikke fra usmittede eller BCG-vaccinerede personer uden sygdom eller risiko for LTBI (1-32). Medicinske behandlinger eller sygdomme, som påvirker immunfunktionen, kan reducere IFN- γ -responsers. Patienter med visse andre mykobakterielle infektioner kan også reagere på ESAT-6 og CFP-10, da de gener, der afkoder disse proteiner, findes i *M. kansasii*, *M. szulgai* og *M. marinum* (1, 23). QFT-Plus er både en test for LTBI og en hjælp til at diagnosticere *M. tuberculosis* kompleks infektion hos syge patienter. Et positivt resultat understøtter diagnosen af tuberkulose, men infektioner med andre mykobakterier (f.eks. *M. kansasii*) kan også fremkalde positive resultater. Andre medicinske og diagnostiske vurderinger er nødvendige for at bekræfte eller udelukke tuberkulose.

QFT-Plus har to tydelige TB-antigen-rør: TB Antigen Tube (TB-antigen-rør) 1 (TB1) og TB Antigen Tube (TB-antigen-rør) 2 (TB2). Begge rør indeholder peptidantigener fra MTB-komplekse antigener, ESAT-6 og CFP-10. Mens TB1-røret indeholder peptider fra ESAT-6 og CFP-10, som er udviklet til at fremkalde CMI-responsers fra CD4⁺ T-helper-lymfocytter, indeholder TB2-røret et ekstra sæt peptider, som er beregnet til induktion af CMI-responsers fra

CD8⁺-cytotoksiske T-lymfocytter. I en MTB-infektion spiller CD4⁺ T-celler en vigtig rolle i immunologisk kontrol via deres udskillelse af cytokinet IFN- γ . Der er nu påvist, at CD8⁺ T-celler spiller en rolle i værtsforsvaret overfor MTB ved at producere IFN- γ og andre opløselige enhedsfaktor, som aktiverer makrofager for at undertrykke væksten af MTB, dræbe inficerede celler eller direkte lysere intracellulær MTB (33-35). Der er påvist MTB-specifikke CD8⁺-celler hos personer med LTBI og med aktiv TB-sygdom, hvor IFN- γ -producerende CD8⁺-celler ofte kan findes (36-38). Desuden påvises ESAT-6- og CFP-10-specifikke CD8⁺ T-lymfocytter oftere hos personer med aktiv TB-sygdom i forhold til LTBI og kan forbindes med en nylig MTB-eksponering (39-41). Derudover er der også påvist MTB-specifikke CD8⁺ T-celler, der producerer IFN- γ hos personer med aktiv TB og HIV co-infektion (42, 43) og hos børn med TB-sygdom (44).

Analyseprincipper

QFT-Plus-analysen bruger specialiserede blodprøvetagningsrør, som anvendes til at opsamle fuldblod. Inkubering af blodet forekommer i rørene i 16 til 24 timer, hvorefter plasma opsamles og testes for tilstedeværelsen af IFN- γ , der dannes som svar på peptidantigener.

QFT-Plus-testen udføres i to trin. Fuldblod indsamles først i hvert QFT-Plus Blood Collection Tubes, som omfatter et Nil tube, TB1 tube, TB2 tube, og et Mitogen tube. Alternativt kan blod opsamles i et enkelt generisk blodprøvetagningsrør, der indeholder lithiumheparin eller natriumheparin som antikoagulan, og derefter overføres til QFT-Plus-rør.

Mitogen-røret anvendes som positiv kontrol i QFT-Plus-testen. Dette kan være vigtigt, når der er tvivl om personens immunstatus. Mitogen-røret kan også anvendes som en kontrol for korrekt blodhåndtering og -inkubering.

QFT-Plus-rørene rystes for at blande antigen med blodet skal inkuberes ved 37 °C så hurtigt som muligt og inden for 16 timer efter prøvetagning. Efter en 16 til 24 timers inkuberingsperiode, centrifugeres rørene, plasmæt fjernes, og mængden af IFN- γ (IE/ml) målt vha. ELISA. QFT-Plus ELISA bruger en rekombinant human IFN- γ -standard, der er blevet

analyseret med en IFN- γ -forberedelse som reference (NIH-ref: Gxg01-902-535). Resultaterne for testprøven afreporteres i internationale enheder (IE) ift. standardkurven, der er klargjort ved test af fortyndinger af den standard, som blev leveret med kittet.

Heterofile (f.eks. humane anti-mus) antistoffer i serum eller plasma for bestemte personer har vist sig at kunne forårsage interferens med immunanalyser. Påvirkningen fra heterofile antistoffer i QFT-Plus ELISA minimeres ved at tilføjelse af normal museserum til grøn diluent og brugen af F(ab')₂-monoklonale antistoffragmenter som IFN- γ -antistoffopfangning dækket af mikropladen.

En QFT-Plus-analyse anses som positiv for en IFN- γ -respons, når værdien for hvert TB-antigen-rør ligger væsentligt over Nil IFN- γ IE/ml-værdien. Plasmaprøven fra Mitogen-røret bruges som en IFN- γ -positiv kontrol for hver prøve, der testes. En lav respons på Mitogen (<0,5 IE/ml) angiver et ubestemmeligt resultat, når en blodprøve også har en negativ respons for TB-antigener. Dette mønster kan forekomme ved et utilstrækkeligt antal lymfocytter, nedsat lymfocytaktivitet grundet ukorrekt prøvehåndtering, ukorrekt fyldning/blanding af Mitogen-røret eller manglende evne for patientens lymfocytter til at danne IFN- γ . Der kan forekomme forhøjede niveauer af IFN- γ i Nil-prøven ved tilstedeværelse af heterofile antistoffer eller intern IFN- γ -udskillelse. Nil-røret justerer for baggrund (f.eks. forhøjede niveauer af cirkulerende IFN- γ eller tilstedeværelsen af heterofile antistoffer). IFN- γ -niveauet i Nil-røret trækkes fra IFN- γ -niveauet for TB-antigen-rør og Mitogen-rør.

Påkrævet tid til udførelse af analysen

Den tid, som skal anvendes til udførelse af QFT-Plus ELISA, er estimeret nedenfor. Tiden til test af flere prøver, når de er samlede i batch, er også angivet:

Inkubering af blodrør ved 37 °C: 16 til 24 timer

ELISA: Ca. 3 timer for én ELISA-plade

(22 personer)

<1 times arbejde

Læg 10 til 15 minutter til for hver ekstra plade

Komponenter og opbevaring

Blodprøvetagningsrør*		200 rør	Pakke til én patient	Dispenserpakke	200 HA-rør	HA-pakke til én patient	HA-dispenserpakke
Katalognr.		622526	622222	622423	623526	623222	623423
Antal test/pakke		50	10	25	50	10	25
QuantiFERON Nil Tube (grå hætte, hvid ring)	Nil	50 rør	10 rør	25 rør			
QuantiFERON TB1 Tube (grøn hætte, hvid ring)	TB1	50 rør	10 rør	25 rør			
QuantiFERON TB2 Tube (gul hætte, hvid ring)	TB2	50 rør	10 rør	25 rør			
QuantiFERON Mitogen Tube (lilla hætte, hvid ring)	Mitogen	50 rør	10 rør	25 rør			
QuantiFERON Nil HA Tube (grå hætte, gul ring)	Nil HA				50 rør	10 rør	25 rør
QuantiFERON TB1 HA Tube (grøn hætte, gul ring)	TB1 HA				50 rør	10 rør	25 rør
QuantiFERON TB2 HA Tube (gul hætte, gul ring)	TB2 HA				50 rør	10 rør	25 rør
QuantiFERON Mitogen HA Tube (lilla hætte, gul ring)	Mitogen HA				50 rør	10 rør	25 rør
Indlægsseddel til QFT-Plus Blood Collection Tubes		1	1	1	1	1	1

* Ikke alle produktkonfigurationer er tilgængelige i hvert land. Kontakt QIAGEN-kundeservice (detaljer på www.qiagen.com) for at få flere oplysninger om de tilgængelige konfigurationer.

ELISA-komponenter [†]	2 Plade-kit ELISA	Lab.-pakke til reference
Katalognr.	622120	622822
Microplate Strips (Mikropladestrips) (12 x 8 brønde) dækket med murint anti-humant IFN- γ -monoklonalt antistof	2 x mikropladestrips med 96 brønde	20 x mikropladestrips med 96 brønde
IFN- γ Standard, (IFN-standard), frysetørret (indeholder rekombinant humant IFN- γ , komælksekasein, 0,01 % w/v Thimerosal)	1 x hætteglas (8 IE/ml, når det er rekonstitueret)	10 x hætteglas (8 IE/ml, når det er rekonstitueret)
Green Diluent (Grøn diluent) (indeholder komælksekasein, normalt museserum, 0,01 % w/v Thimerosal)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate, (Konjugat 100x koncentrat), frysetørret (murint anti-humant IFN- γ HRP, indeholder 0,01 % w/v Thimerosal)	1 x 0,3 ml (når det er rekonstitueret)	10 x 0,3 ml (når det er rekonstitueret)
Wash Buffer 20x Concentrate (Vaskebuffer 20x koncentrat) (pH 7,2, indeholder 0,05 % v/v ProClin® 300)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Enzymsubstratopløsning) (indeholder H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetramethylbenzidin)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Enzymstandsningsopløsning) (indeholder 0,5M H ₂ SO ₄)	1 x 15 ml	10 x 15 ml
Indlægsseddel til QFT-Plus ELISA	1	1

[†] Se side 15 for forholdsregler og farer.

Nødvendige materialer, som ikke medfølger

- 37 °C ± 1 °C-inkubator*. CO₂ ikke påkrævet
- Kalibrerede pipetter med variabelt volumen* til tilførsel af 10 µl til 1000 µl med engangsspidser
- Kalibreret flerkanalspipette*, som kan tilføre 50 µl og 100 µl med engangsspidser
- Pladelåg
- Mikropladeryster*
- Deioniseret eller destilleret vand, 2 liter
- Mikropladevasker (automatiseret vasker anbefales)
- Mikropladelæser* forsynet med 450 nm filter og 620 nm til 650 nm referencefilter

* Sørg for, at instrumenterne regelmæssigt kontrolleres og kalibreres efter producentens anvisninger.

Prøveopbevaring og -håndtering

Blodprøvetagningsrør

- Blodprøvetagningsrør opbevares ved 4 °C til 25 °C.

Kittets reagenser

- Kittets reagenser opbevares ved 2 °C til 8 °C.
- Enzymsubstratopløsning skal altid beskyttes mod direkte sollys.

Rekonstituerede og ubrugte reagenser

Se instruktioner i rekonstituering af reagenser på side 26.

- Den rekonstituerede kitstandard har en holdbarhed på op til 3 måneder, hvis den opbevares ved 2 til 8 °C.
Notér den dato, hvor kitstandarden blev rekonstitueret.
- Efter rekonstituering skal ubrugt konjugat 100x koncentrat igen opbevares ved 2 °C til 8 °C og anvendes inden for 3 måneder.
Notér den dato, hvor konjugatet blev rekonstitueret.
- Konjugat med brugsstyrke skal anvendes inden for 6 timer efter fremstilling.
- Vaskebuffer med brugsstyrke kan opbevares ved stuetemperatur i op til 2 uger.

Advarsler og forholdsregler

Kun til in vitro-diagnostisk brug.

Advarsler

- Et negativt QFT-Plus-resultat udelukker ikke muligheden for en *M. tuberculosis*-infektion eller tuberkulose-sygdom: falsk-negative resultater kan skyldes infektionsstadiet (f.eks. prøve taget før udviklingen af cellulær immunrespons), komorbide tilstande, som påvirker immunfunktioner, forkert håndtering af blodprøvetagningsrør efter venepunktur, fejl i analysen eller andre immunologiske variabler.
- Et positivt QFT-Plus-resultat bør ikke være den eneste eller den afgørende begrundelse for at fastslå infektion med *M. tuberculosis*. Fejlagtig analyse kan medføre falsk-positive responser.
- Et positivt QFT-Plus-resultat skal efterfølges af yderligere medicinske og diagnostiske vurderinger for at konstatere aktiv tuberkulose (f.eks. AFB-udstyngning og -dyrking, røntgenbillede af brystkassen).
- Mens ESAT-6 og CFP-10 mangler i alle BCG-stammer og de fleste kendte ikke-tuberkuløse mykobakterier, kan et positivt QFT-Plus-resultat skyldes infektion med *M. kansasii*, *M. szulgai* eller *M. marinum*. Hvis der er mistanke om sådanne infektioner, skal alternative test udføres.

Forholdsregler

Der skal altid anvendes en egnet laboratoriekittel, engangshandsker og beskyttelsesbriller, når der arbejdes med kemikalier. Der henvises til de relevante sikkerhedsdatablade (Safety Data Sheets, SDS'er) for yderligere information. Disse er tilgængelige online i et praktisk og kompakt PDF-format på adressen www.qiagen.com/safety, hvor det er muligt at finde, få vist og udskrive SDS'et for hvert QIAGEN-kit og hver kitkomponent.



FORSIGTIG: Håndter humant blod og plasma som potentielt infektiøst. Overhold relevante retningslinjer for håndtering af blod. Bortskaf prøver og materialer, som har været i kontakt med blod eller blodprodukter, i overensstemmelse med nationale, regionale og lokale miljøbestemmelser.

Følgende farer og forholdsregler gælder for komponenterne i QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA.

Faresætninger



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

Indeholder svovlsyre. Advarsel! Kan være metalætsende. Forårsager hudirritation. Forårsager alvorlig øjenirritation. Bær beskytteshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Advarsel! Forårsager let hudirritation. Bær beskytteshandsker/beskyttelsestøj/øjenbeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.



QuantiFERON Green Diluent

Indeholder: trisodium 5-hydroxy-1-(4-sulfofenyl)-4-(4-sulfofenylazo)pyrazol-3-carboxylat. Indeholder: tartrazin. Advarsel!

Kan forårsage allergisk hudreaktion. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Indeholder: En blanding af 5-chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-one og 2-methyl-2H-isothiazol-3-one (3:1). Skadelig for vandlevende organismer, med langvarige virkninger. Undgå udledning til miljøet.

Forholdsregler

Se de særlige instruktioner før brug. Bær beskyttelseshandsker/beskyttelsestøj/øjebeskyttelse/ansigtsbeskyttelse. VED KONTAKT MED HUDEN (eller håret): Fjern/tag straks alt kontamineret tøj af. Skyl med vand/tag brusebad. VED KONTAKT MED ØJNENE: Skyl forsigtigt med vand i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser, hvis det kan gøres let. Fortsæt med at skylle. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søg lægehjælp. Ring straks til GIFTLINJEN, eller søg læge. Ved hudirritation eller udslet: Søg lægehjælp. Forurenet tøj tages af og vaskes, før det bruges igen. Opbevares under lås. Bortskaf indholdet/holderen på et godkendt genbrugssted.

Yderligere information

Sikkerhedsdatablade: www.qiagen.com/safety

- Afvigelser fra *indlægssedlen til QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA* kan forårsage fejlagtige resultater. Læs instruktionerne grundigt inden brug.
- Kittet må ikke anvendes, hvis en eller flere af reagensflaskerne viser tegn på beskadigelse eller lækage inden brug.

-
- Vigtigt: Inspicer hætteglassene før brug. Konjugat- eller IFN- γ Standard-hætteglas må ikke bruges, hvis der er tegn på skader, eller hvis gummiforseglingen er i stykker. Beskadigede hætteglas må ikke bruges. Træf de fornødne sikkerhedsforanstaltninger for at bortskaffe dem sikkert. Anbefaling: Brug en decrimper-tang til hætteglas til at åbne konjugat- eller IFN- γ Standard-hætteglas for at minimere risikoen for personskade pga. metalforseglingen.
 - Mikropladestrips, IFN- γ Standard, grøn diluent eller konjugat 100x koncentrat fra andre QFT-Plus-kitbatches må ikke iblandes eller anvendes. Andre reagenser (vaskebuffer 20x koncentrat, enzymsubstratopløsning og enzymstandsningsopløsning) kan udskiftes mellem kits, hvis reagenserne er inden for deres udløbsperioder, og lotdetaljerne er registreret.
 - Bortskaf ubrugte reagenser og biologiske prøver i henhold til lokale, regionale og nationale bestemmelser.
 - Hverken QFT-Plus Blood Collection Tubes eller ELISA-kit må anvendes efter udløbsdatoen.
 - Korrekte laboratorieprocedurer skal til enhver tid overholdes.
 - Sørg for, at laboratoriestyret er kalibreret/godkendt før brug.

Prøveindsamling og -håndtering

Der anvendes følgende prøvetagningsrør til QFT-Plus:

1. QuantiFERON Nil-rør (grå hætte med hvid ring)
2. QuantiFERON TB1-rør (grøn hætte med hvid ring)
3. QuantiFERON TB2-rør (gul hætte med hvid ring)
4. QuantiFERON Mitogen-rør (lilla hætte med hvid ring)
5. QuantiFERON HA Nil-rør (grå hætte med gul ring)
6. QuantiFERON HA TB1-rør (grøn hætte med gul ring)
7. QuantiFERON HA TB2-rør (gul hætte med gul ring)
8. QuantiFERON HA Mitogen-rør (lilla hætte med gul ring)

Der er fasttørret antigener på blodprøvetagningsrørens inderside, så det er væsentligt, at rørens indhold blandes grundigt med blodet. Ved blod tappet direkte ned i QFT-Plus-rørene skal QFT-Plus-rørene opbevares og transporteres ved stuetemperatur ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) og overføres til en 37 °C varm inkubator så hurtigt som muligt og inden for 16 timer efter opsamling. Alternativt kan blod opsamles i et enkelt lithiumheparin- eller natriumheparinrør til opbevaring inden overførsel til QFT-Plus og inkubering. Blodprøver opsamlet i lithiumheparin eller natriumheparin kan opbevares op til 16 timer ved stuetemperatur ($17\text{-}25\text{ °C}$) efterfulgt af overførsel til QFT-Plus-rør. Blodprøver i lithiumheparin- eller natriumheparinrør kan også opbevares ved $2\text{-}8\text{ °C}$ i op til 48 timer inden overførsel til QFT-Plus-rørene. Se afsnittet "Blodprøvetagning i et enkelt lithium- eller natriumheparinrør og efterfølgende overførsel til QFT-Plus Blood Collection Tubes".

Tap direkte ned i QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Mærk rørene korrekt.

Sørg for, at hvert rør (Nil, TB1, TB2 og Mitogen) kan identificeres via mærkningen eller på anden måde, når hættten er fjernet.

Det anbefales at notere dato og klokkeslæt for blodprøvetagning.

2. For hver patient opsamles 1 ml blod ved venepunktur direkte i hvert QFT-Plus Blood Collection Tube. Denne procedure skal udføres af en uddannet bioanalytiker.

Vigtig bemærkning: Rørene skal have en temperatur på mellem 17 °C og 25 °C, når blodet fyldes i dem.

Standard QFT-Plus Blood Collection Tubes kan bruges i højder op til 810 meter over havoverfladen. High Altitude QFT-Plus Blood Collection Tubes kan bruges i højder fra 1020 meter over havoverfladen til 1875 meter over havoverfladen.

Eftersom 1 ml rør aftapper blod relativt langsomt, skal røret beholdes på kanylen i 2-3 sekunder, når røret ser ud til at være helt fyldt. Dette sikrer, at der aftappes det korrekte volumen.

- Det sorte mærke på siden af rørene angiver det gyldige område på 0,8-1,2 ml. Hvis blodniveauet i et eller flere af rørene er uden for området for indikatormærket, skal der tages en ny blodprøve. Hvis rørene fyldes mere eller mindre end området på 0,8 til 1,2 ml, kan det medføre fejlagtige resultater.
- Hvis der anvendes en sommerfuglekanyle til udtagning af blod, bør der anvendes et "gennemskylningsrør" for at sikre, at slangen fyldes med blod inden brug af QFT-Plus-rørene.
- Hvis QFT-Plus Blood Collection Tubes anvendes i større højder end 810 meter, eller hvis der aftappes for lidt blod, kan brugerne udtage blod ved hjælp af en sprøjte og straks overføre 1 ml til hvert af de 4 rør. Af sikkerhedsmæssige årsager gøres dette bedst ved at fjerne sprøjtekanylen under overholdelse af passende sikkerhedsprocedurer, fjerne hættterne fra de fire QFT-Plus-rør og tilsætte 1 ml blod i hvert (op til midten af det sorte mærke på siden med røretiketten). Sæt hættterne godt fast igen, og bland som beskrevet nedenfor.

Sørg for, at hvert rør (Nil, TB1, TB2 og Mitogen) kan identificeres via mærkningen eller på anden måde, når hæften er fjernet.

3. Straks efter påfyldning af rørene skal de rystes ti (10) gange lige akkurat kraftigt nok til at sikre, at hele indersiden af hvert rør er dækket af blod. Dette opløser antigener på rørets indersider.

Vigtig bemærkning: Rørene skal have en temperatur på mellem 17 °C til 25 °C, når de rystes. For kraftig rystning af rørene kan skabe gel-forstyrrelser og forårsage afvigende resultater.

4. Efter mærkning, fyldning og rystning skal rørene overføres til en 37 °C ± 1 °C inkubator så hurtigt som muligt og inden for 16 timer efter prøvetagning. Før inkubering skal rørene opbevares og transporteres ved stuetemperatur (22 °C ± 5 °C). Hvis QFT-Plus Blood Collection Tubes ikke inkuberes ved 37 °C umiddelbart efter blodprøvetagning og omrystning, skal rørene vendes op og ned 10 gange (10x) for at blande indholdet inden inkubation ved 37 °C.
5. Inkuber QFT-Plus-rørene STÅENDE ved 37 °C ± 1 °C i 16 til 24 timer. Inkubatoren kræver ikke CO₂ eller fugt.

Blodprøvetagning ned i et enkelt lithium- eller natriumheparinrør og efterfølgende overførsel til QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Blodet kan opsamles i et enkelt blodprøvetagningsrør, der indeholder lithium- eller natriumheparin som antikoagulans, og derefter overføres til QFT-Plus Blood Collection Tubes. Brug kun lithiumheparin eller natriumheparin som antikoagulans til blod, da andre antikoagulanter kan påvirke analysen. Mærk rørene korrekt.

Det anbefales at forsyne røret med etiket med dato og klokkeslæt for blodprøvetagning.

Vigtigt: Når blodet indsamles, skal blodprøvetagningsrørene have stuetemperatur (17-25 °C).

2. Fyld et blodprøvetagningsrør indeholdende lithiumheparin eller natriumheparin (mindst 5 ml volumen), og bland forsigtigt ved at vende røret flere gange for at opløse heparinen. Denne procedure skal udføres af en uddannet bioanalytiker.

3. Alternative valgmuligheder for holdetid og -temperatur for lithium- eller natriumheparinrør inden overførsel til og inkubation i QFT-Plus Blood Collection Tubes (se figur 1-3 Alternative fremgangsmåder ved blodprøvetagning).

Valgmulighed 1 – Opbevaring og håndtering af lithium- eller natriumheparinrør Blod, der er opsamlet i lithium- eller natriumheparinrør, må holdes ved stuetemperatur ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) i højst 16 timer efter opsamling, inden det overføres til QFT Plus Blood Collection Tubes og efterfølgende inkuberes

Valgmulighed 2 – Opbevaring og håndtering af lithium- eller natriumheparinrør i køleskab

Vigtigt: Trin a-d i fremgangsmåden skal udføres i rækkefølge.

- a. Blod, der er tappet i lithium- eller natriumheparinrør, må holdes ved stuetemperatur ($17\text{-}25\text{ }^{\circ}\text{C}$) i op til 3 timer efter blodprøvetagning.
- b. Blod, der er tappet i lithium- eller natriumheparinrør, må opbevares i køleskab ($2\text{-}8\text{ }^{\circ}\text{C}$) i op til 48 timer.
- c. Efter opbevaring i køleskab skal lithium- eller natriumheparinrør opnå stuetemperatur ($17\text{-}25\text{ }^{\circ}\text{C}$) før overførsel til QFT-Plus Blood Collection Tubes.
- d. QFT-Plus Blood Collection Tubes med alikvoter skal sættes i den $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ varme inkubator inden for 2 timer efter overførslen af blod.

Hvis QFT-Plus Blood Collection Tubes ikke inkuberes ved $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ umiddelbart efter overførsel til QFT-Plus Blood Collection Tubes og omrystning, skal rørene vendes op og ned 10 gange for at blande indholdet inden inkubation ved $37\text{ }^{\circ}\text{C}$. Den samlede tid fra blodtapning til inkubation i QFT-Plus Blood Collection Tubes ikke overstige 53 timer.

4. Overførsel af blodprøve fra et lithium- eller natriumheparinrør til

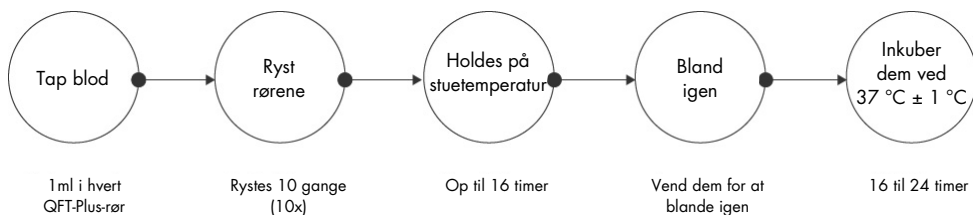
QFT-Plus Blood Collection Tubes:

- a. Mærk hvert QFT-Plus Blood Collection Tube behørigt med etiket.

Sørg for, at hvert rør (Nil, TB1, TB2 og Mitogen) kan identificeres via mærkningen eller på anden måde, når hæften er fjernet. Det anbefales at markere registreret dato og klokkeslæt for blodprøvetagning fra lithium- eller natriumheparinrør på de anvendte QFT-Plus Blood Collection Tubes.

- b. Prøverne skal være homogent blandet ved at vende dem forsigtigt op og ned før dispensering til QFT Plus Blood Collection Tubes.
 - c. Dispensering skal udføres aseptisk ved at sikre passende sikkerhedsprocedurer, fjerne hætteerne fra de fire QFT-Plus Blood Collection Tubes og tilsætte 1 ml blod i hvert rør. Sæt hætteerne godt fast på rørene igen, og bland som beskrevet nedenfor. Sørg for, at hvert rør (Nil, TB1, TB2 og Mitogen) kan identificeres via mærkningen eller på anden måde, når hættten er fjernet.
5. Bland indholdet i rørene. Straks efter påfyldning af QFT-Plus Blood Collection Tubes skal de rystes ti (10) gange lige akkurat kraftigt nok til at sikre, at hele indersiden af hvert rør er dækket af blod. Dette opløser antigener på rørets indersider.
- For kraftig rystning af rørene kan skabe gel-forstyrrelser og forårsage afvigende resultater.
6. Efter mærkning, fyldning og rystning skal rørene inden for 2 timer overføres til en $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ varm inkubator. Hvis QFT-Plus Blood Collection Tubes ikke inkuberes ved 37 °C umiddelbart efter blodprøvetagning og omrystning, skal rørene vendes op og ned 10 gange for at blande indholdet inden inkubation ved 37 °C . (Se figur 1-3 på næste side for at på oplysninger om alternative fremgangsmåder til blodprøvetagning).
7. Inkuber QFT-Plus Blood Collection Tubes STÅENDE ved $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ i 16 til 24 timer. Inkubatoren kræver ikke CO_2 eller fugt.

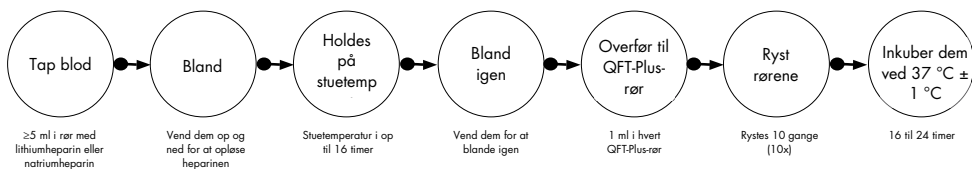
Tappes ned i QFT-Plus Blood Collection Tubes og holdes ved stuetemperatur.



Figur 1. Alternativ fremgangsmåde til blodprøvetagning: Tappes direkte ned i QFT-Plus Blood Collection Tubes og holdes ved stuetemperatur.

Den samlede tid fra blodtapning i QFT-Plus Blood Collection Tubes til inkubation ved 37 °C må ikke overstige 16 timer.

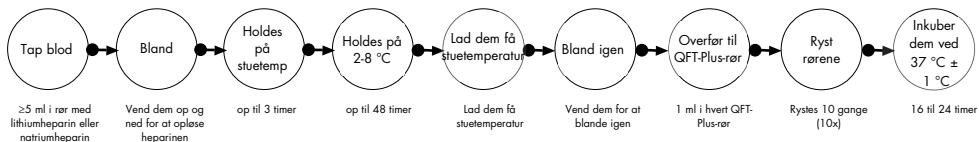
Tappes ned i lithium- eller natriumheparinrør og holdes ved stuetemperatur.



Figur 2. Alternativ fremgangsmåde til blodprøvetagning: Tappes ned i lithium- eller natriumheparinrør og holdes ved stuetemperatur.

Den samlede tid fra blodtapping i lithium- eller natriumheparinrør til inkubation ved 37 °C må ikke overstige 16 timer.

Tappes ned i lithium- eller natriumheparinrør og holdes ved 2-8 °C.



Figur 3. Alternativ fremgangsmåde til blodprøvetagning: Tappes ned i lithium- eller natriumheparinrør og holdes ved 2-8 °C.

Den samlede tid fra blodtapping i lithium- eller natriumheparinrør til inkubation ved 37 °C må ikke overstige 53 timer.

Brugsvejledning

Stadie 1 – Inkubering af blod og opsamling af plasma

Medfølgende materialer

- QFT-Plus Blood Collection Tubes (se Afsnit 3)

Nødvendige materialer (som ikke medfølger)

- Se Afsnit 3.

Procedure

1. Hvis rørene ikke inkuberes umiddelbart efter prøvetagningen, skal rørene blandes ved at vende dem på hovedet og op igen 10 gange straks før inkubering.
2. Inkuber rørene STÅENDE ved $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ i 16 til 24 timer. Inkubatoren kræver ikke CO_2 eller fugt.
3. Efter inkubering ved 37 °C kan blodprøvetagningsrørene opbevares ved mellem 4 °C og 27 °C i op til 3 dage før centrifugering.
4. Efter inkubering af rørene ved 37 °C opsamles plasmaet nemmere ved at centrifugere rørene i 15 minutter ved 2000 til 3000 x RCF (*g*). Gelproppen skiller cellerne fra plasmaet. Hvis dette ikke sker, skal rørene centrifugeres igen.

Det er muligt at opsamle plasmaet uden centrifugering, men der kræves større forsigtighed for at fjerne plasmaet uden at hvirvle cellerne op.

5. Plasmaprøver bør kun opsamles ved brug af en pipette.

Vigtig bemærkning: Efter centrifugering skal det undgås at pipettere op og ned eller på nogen måde blande plasmaet inden opsamling. Pas til enhver tid på ikke at hvirvle materialet på gelens overflade op.

Plasmaprøverne kan overføres direkte fra centrifugerede blodprøvetagningsrør til QFT-Plus-ELISA-pladen, også når der anvendes automatiserede ELISA-arbejdsstationer.

Plasmaprøver kan opbevares i op til 28 dage ved 2 °C til 8 °C eller, hvis de er opsamlet, under -20 °C i længere perioder.

For at opnå tilstrækkelige prøver skal der opsamles mindst 150 µl plasma.

Stadie 2 – IFN- γ ELISA

Medfølgende materialer

- QFT-Plus ELISA-kit (se Afsnit 3)

Nødvendige materialer, som ikke medfølger

- Se Afsnit 3.

Procedure

1. Alle plasmaprøver og reagenser, bortset fra konjugat 100x koncentrat, skal bringes til stuetemperatur ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) inden brug. Afsæt mindst 60 minutter til temperaturudligning.
2. Fjern de strips, der ikke er påkrævet, fra rammen, genforsegl dem i folieposen, og opbevar dem i køleskabet, indtil de skal bruges.

Anvend mindst 1 strip til QFT-Plus-standarder og tilstrækkelige strips til det antal personer, der skal testes (se figur Figur 5). Gem rammen efter brug med henblik på brug sammen med de resterende strips.

3. Rekonstituer IFN- γ Standard med det volumen deioniseret eller destilleret vand, som er angivet på etiketten på hætteglasset. Bland forsigtigt for at minimere skumdannelse og sikre fuldstændig genopløsning. Rekonstituering af standarden til det angivne volumen vil give en opløsning med en koncentration på 8,0 IE/ml.

Vigtig bemærkning: Rekonstitueringsvolumen i kitstandarden er forskellig for de forskellige batches.

Brug den rekonstituerede kit-standard til at producere en 1 i 2-fortyndingsserie efterfulgt af en 1 i 4-fortyndingsserie af IFN- γ i grøn diluent (Green Diluent, GD) (se Figur 4). S1 (Standard 1) indeholder 4,0 IE/ml, S2 (Standard 2) indeholder 1,0 IE/ml, S3 (Standard 3) indeholder 0,25 IE/ml og S4 (Standard 4) indeholder 0 IE/ml (GD alene). Standarderne skal som minimum analyseres med dobbeltbestemmelse. Fremstil friske fortyndinger af kitstandarden til hver ELISA-session.

Anbefalet procedure for standarder med dobbeltbestemmelse

Mærk 4 rør "S1", "S2", "S3", "S4".

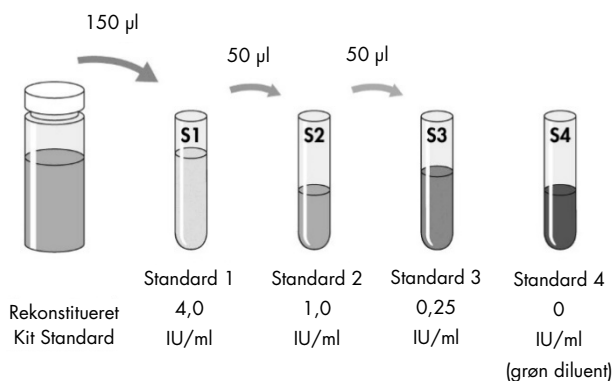
Tilsæt 150 μ l GD i S1, S2, S3, S4.

Tilsæt 150 μ l af kitstandarden i S1, og bland grundigt.

Overfør 50 μ l fra S1 til S2, og bland grundigt.

Overfør 50 μ l fra S2 til S3, og bland grundigt.

GD alene fungerer som nulstandard (S4).



Figur 4. Forberedelse af standardkurve.

4. Rekonstituer frysetørret konjugat 100x koncentrat med 0,3 ml deioniseret eller destilleret vand. Bland forsigtigt for at minimere skumdannelse og sikre fuldstændig opløsning af konjugatet.

Konjugat med brugsstyrke fremstilles ved at fortynde den påkrævede mængde rekonstitueret konjugat 100x koncentrat i grøn diluent (Tabel 1. Forberedelse af konjugat). Sæt ubrugt konjugat 100x koncentrat på køl igen ved 2 °C til 8 °C straks efter brug. Brug kun grøn diluent.

Tabel 1. Forberedelse af konjugat

Antal strips	Volumen af konjugat 100x koncentrat	Volumen af grøn 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. Plasmaprøver, der er opsamlet fra blodprøvetagningsrør og efterfølgende opbevaret (i køleskab eller nedfrosset), skal blandes, før de tilsættes i ELISA-brønden.

Vigtig bemærkning: Hvis plasmaprøver skal tilføjes direkte fra de centrifugerede QFT-Plus-rør, skal eventuel blanding af plasmaet undgås. Pas til enhver tid på ikke at hvirvle materialet på gelens overflade op.

6. Tilsæt 50 µl friskfremstillet konjugat med brugsstyrke til de påkrævede ELISA-brønde ved brug af en flerkanalspipette.

7. Tilsæt 50 µl testplasma i passende brønde ved hjælp af en flerkanalspipette (se det anbefalede pladelayout i Figur 5). Tilsæt til sidst 50 µl af hver af standard 1 til 4.

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

Figur 5. Anbefalet prøvelayout (22 test pr. plade)

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

1 N (prøve 1. Nil-plasma), 1 TB1 (prøve 1. TB1-plasma), 1 TB2 (prøve 1. TB2-plasma), 1 M (prøve 1. Mitogen-plasma)

8. Dæk hver plade, og bland konjugatet og plasmaprøver/standarder grundigt ved brug af en mikropladeryster i 1 minut. Undgå sprøjt.
9. Dæk hver plade, og inkuber dem ved stuetemperatur ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) i 120 ± 5 minutter. Pladerne bør ikke udsættes for direkte sollys under inkuberingen.
10. Mens inkuberingen foregår, fortyndes én del vaskebuffer 20x koncentrat med 19 dele deioniseret eller destilleret vand, hvorpå det blandes grundigt. Der er leveret tilstrækkeligt vaskebuffer 20x koncentrat til fremstilling af 2 liter vaskebuffer med brugsstyrke. Vask brøndene med 400 µl vaskebuffer med brugsstyrke i mindst 6 cyklusser. Det anbefales at benytte en automatiseret pladevasker.

Grundig vask er meget vigtig for analysens ydeevne. Sørg for at fylde alle brønde helt op til kanten med vaskebuffer i hver eneste vaskecyklus. En iblødsætningsperiode på mindst 5 sekunder mellem hver cyklus anbefales.

Der bør tilsættes laboratoriedesinfektionsmiddel af standardtype til spildevandsreservoiret, og fastlagte procedurer for dekontaminering af potentielt infektiøst materiale bør følges.

11. Bank pladerne let med oversiden nedad mod et fnugfrit absorberende klæde for at fjerne resterende vaskebuffer. Tilsæt 100 µl enzymsubstratopløsning til hver brønd, dæk hver plade, og bland grundigt ved brug af en mikropladeryster.
12. Dæk hver plade, og inkuber dem ved stuetemperatur ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) i 30 minutter.
Pladerne bør ikke udsættes for direkte sollys under inkuberingen.
13. Når der er inkuberet i 30 minutter, tilsættes 50 µl enzymstandsningsopløsning til hver brønd, hvorpå der blandes.
Enzymstandsningsopløsning bør tilsættes til brøndene i samme rækkefølge og med ca. samme hastighed som substratet i trin 11.
14. Mål Optical Density (OD) for hver brønd inden for 5 minutter efter standsning af reaktionen ved brug af en mikropladelæser forsynet med et 450 nm filter og et 620 nm til 650 nm referencefilter. OD-værdier anvendes til beregning af resultater.

Beregninger og testfortolkning

QFT-Plus-analysesoftware kan bruges til at analysere rådata og beregne resultater. Den er tilgængelig fra www.QuantiFERON.com. Sørg for at anvende den seneste version af QFT-Plus-analysesoftware.

Software udfører en kvalitetskontrolvurdering af analysen, genererer en standardkurve og leverer et testresultat for hver patient, som beskrevet i afsnittet Fortolkning af resultater.

Som alternativ til brug af QFT-Plus-analysesoftware kan resultaterne bestemmes med følgende metode.

Generering af standardkurve

(Hvis QFT-Plus-analysesoftware ikke anvendes)

Bestem de gennemsnitlige OD-værdier for kitstandardens replikater på hver plade.

Konstruer en $\log_{(e)}\text{-}\log_{(e)}$ -standardkurve ved at afbilde $\log_{(e)}$ af den gennemsnitlige OD (y-akse) mod $\log_{(e)}$ af IFN- γ -koncentrationen i standarderne i IE/ml (x-akse), idet nulstandard udelades fra disse beregninger. Beregn den bedst tilpassede linje for standardkurven ved regressionsanalyse.

Benyt standardkurven til at bestemme IFN- γ -koncentrationen (IE/ml) for hver af testplasmaprøverne ved brug af OD-værdien for hver prøve.

Disse beregninger kan udføres ved brug af de softwarepakker, der følger med mikropladelæsere og standardregnearks- eller statistiksoftware (såsom Microsoft® Excel®). Det anbefales, at disse pakker anvendes til at beregne regressionsanalysen, variationskoefficienten (Coefficient of Variation, %CV) for standarderne og korrelationskoefficienten (r) for standardkurven.

Kvalitetskontrol af testen

Testresultaternes nøjagtighed afhænger af generering af en nøjagtig standardkurve. Derfor skal resultater for standarderne undersøges, inden testprøveresultaterne kan fortolkes.

Følgende er nødvendigt, for at ELISA er gyldig:

- Den gennemsnitlige OD-værdi for Standard 1 skal være $\geq 0,600$.
- %CV for replikat-OD-værdierne for Standard 1 og Standard 2 skal være $\leq 15\%$.
- Replikat-OD-værdierne for Standard 3 og Standard 4 må ikke variere med mere end 0,040 OD-enheder i forhold til deres gennemsnit.
- Den ud fra de gennemsnitlige absorbansværdier for standarderne beregnede korrelationskoefficient (r) skal være $\geq 0,98$.

QFT-Plus-analysesoftwaren beregner og rapporterer disse kvalitetskontrolparametre.

Hvis ovennævnte kriterier ikke er opfyldt, er kørslen ugyldig og skal gentages.

Den gennemsnitlige OD-værdi for nulstandard (grøn diluent) bør være $\leq 0,150$. Hvis den gennemsnitlige OD-værdi er $> 0,150$, bør pladevaskeproceduren undersøges nærmere.

Fortolkning af resultater

QFT-Plus-resultater fortolkes ved brug af følgende kriterier (Tabel 2):

Vigtig bemærkning: Diagnosticering eller udelukkelse af tuberkulose og vurdering af muligheden for LTBI kræver en kombination af epidemiologiske, historiske, medicinske og diagnostiske fund, der skal tages med i betragtning ved fortolkning af QFT-Plus-resultater.

Tabel 2. Fortolkning af QFT-Plus-resultater

Nil (IE/ml)	TB1 minus Nil (IE/ml)	TB2 minus Nil (IE/ml)	Mitogen minus Nil (IE/ml)*	QFT-Plus-resultat	Rapport/fortolkning
	≥0,35 og ≥25 % af Nil-værdi	Alle			
	Alle	≥0,35 og ≥25 % af Nil-værdi	Alle	Positiv†	<i>M. tuberculosis</i> -infektion sandsynlig
≤ 8,0	<0,35 eller ≥0,35 og <25 % af Nil-værdi	<0,35 eller ≥0,35 og <25 % af Nil-værdi	≥ 0,5	Negative (Negativ)	<i>M. tuberculosis</i> -infektion IKKE sandsynlig
	<0,35 eller ≥0,35 og <25 % af Nil-værdi	<0,35 eller ≥0,35 og <25 % af Nil-værdi	<0,5	Ubestemmeligt‡	Sandsynligheden for <i>M. tuberculosis</i> -infektion kan ikke bestemmes
> 8,0§		Alle		Ubestemmeligt‡	Sandsynligheden for <i>M. tuberculosis</i> -infektion kan ikke bestemmes

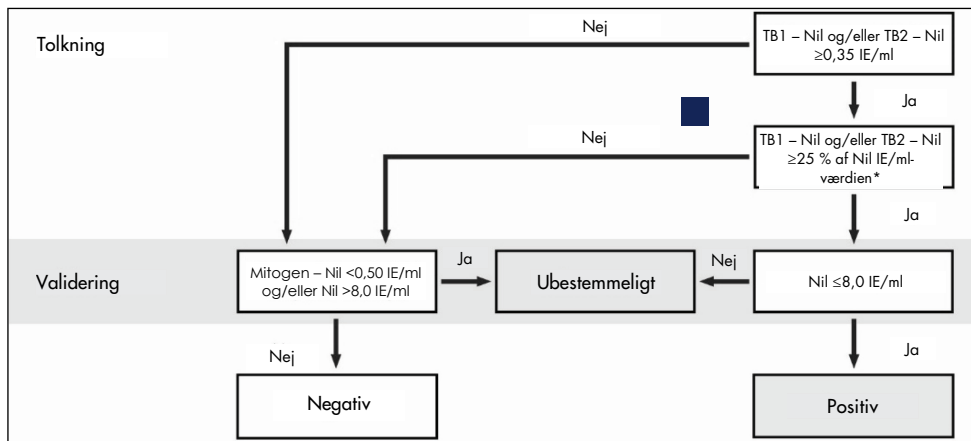
* Responser på den Mitogen-positive kontrol (og fra tid til anden TB-antigener) kan være uden for mikropladelæserens område. Dette har ingen betydning for testresultater. Values > 10 ml rapporteres af QFT-Plus-softwaren som > 10 IE/ml.

† Hvis der ikke er mistanke om *M. tuberculosis*-infektion, kan positive resultater bekræftes ved at teste de originale plasmaprøver med dobbeltbestemmelse i QFT-Plus ELISA. Hvis gentagne test af én eller begge replikater er positive, skal testen vurderes som positiv.

‡ Se mulige årsager i afsnittet "Fejlfinding".

§ I kliniske undersøgelser havde mindre end 0,25 % af patienterne IFN- γ -niveauer på >8,0 IE/ml for Nil-værdi.

Størrelsen på det målte IFN- γ -niveau korrelerer ikke med stadiet eller graden af infektion, niveauet for immunologisk respons eller sandsynligheden for udviklingen af aktiv sygdom. En positiv TB-respons hos personer, som er negative overfor Mitogen, er sjælden, men det er set hos patienter med TB-sygdom. Dette indikerer, at IFN- γ -responsen på TB-antigen er større end responsen på Mitogen, hvilket er muligt, da niveauet af Mitogen ikke stimulerer IFN- γ -produktionen maksimalt via lymfocytter.



* For at TB1 minus Nil eller TB2 minus Nil skal være valide, skal mængden $\geq 25\%$ af Nil IE/ml-værdien være fra det samme rør som det originale $\geq 0,35$ IE/ml-resultat.

Figur 6. QFT-Plus-fortolkningsdiagram.

Begrænsninger

Resultaterne af QFT-Plus-test skal anvendes i sammenhæng med hver enkelt persons epidemiologi, aktuelle helbredstilstand og andre diagnostiske vurderinger.

Personer med Nil-værdier, der er højere end 8,0 IE/ml, klassificeres som "ubestemmelige", da en 25 % højere respons på TB-antigener kan være uden for analysens måleområde.

Upålidelige eller ubestemmelige resultater kan forekomme som følge af:

- Afvigelser fra den procedure, der er beskrevet i denne indlægsseddel
- For høje niveauer af cirkulerende IFN- γ eller tilstedeværelsen af heterofile antistoffer.
- Mere end 16 timer mellem blodprøvetagningen og inkuberingen ved 37 °C. Dette gælder dog ikke, hvis arbejdsgangen med lithiumheparin- eller natriumheparinrør ved 2-8 °C anvendes.

Ydelseskarakteristika

Kliniske undersøgelser

Da der ikke findes en konkret standard for LTBI, kan et estimat af følsomheden og specificiteten for QFT-Plus ikke vurderes i praksis. Tilnærmet specificitet af QFT-Plus blev bestemt ved at vurdere falsk-positive rater hos personer med lav risiko (ingen kendte risikofaktorer) for tuberkuloseinfektion. Tilnærmet sensitivitet blev bestemt ved at vurdere grupper af patienter med aktiv TB-sygdom, der er bekræftet ved dyrkning.

Specificitet

Der blev gennemført en undersøgelse, som evaluerede QFT-Plus-specificiteten hos 409 personer. Demografiske oplysninger og risikofaktorer for TB blev bestemt ved hjælp af en standardiseret undersøgelse på tidspunktet for testen.

I en oversigt over fundene fra de 2 grupper af patienter med lav risiko (ingen kendte risikofaktorer) for tuberkuloseinfektion var den samlede specificitet af QFT-Plus 97,6 % (399/409) (Tabel 3 og Tabel 4).

Tabel 3. Resultater af QFT-Plus-specificitetsundersøgelsen baseret på undersøgelsessted

Undersøgelse	Positiv	Negativ	Ubestemmeligt	Specificitet (95 % CI)
Japan	4	203	0	98% (95-100%)
Australien	6	196	0	97 % (94-99 %)

Tabel 4. Resultater af QFT-Plus-specificitetsundersøgelsen baseret på TB-antigen-rør

Undersøgelse	TB1	TB2	QFT-Plus
Positiv	5	10	10
Negativ	404	399	399
Ubestemmeligt	0	0	0
Specificitet (95 % CI)	98,8% (97,2-99,6)	97,6% (95,6-98,8)	97,6% (95,6-98,8)

Sensitivitet for aktiv TB

Mens der ikke er nogen endelig standardtest for LTBI, udgør den mikrobiologiske dyrkning af *M. tuberculosis* et passende surrogat, da patienter med sygdom pr. definition er inficerede. Personer, hvor der var mistanke om TB fra 4 undersøgelsessteder i Australien og Japan, som efterfølgende blev bekræftet i at have en *M. tuberculosis*-infektion ved dyrkning, blev testet for at evaluere sensitiviteten for QFT-Plus (Tabel 5 og Tabel 6). Patienterne modtog mindre end 14 dages behandling før opsamlingen af blod til QFT-Plus-test.

I en oversigt over fundene fra de 4 grupper af patienter, der var testet positive ved *M. tuberculosis*-dyrkning, var den samlede sensitivitet for QFT-Plus for aktiv TB-sygdom 95,3 % (164/172). Blandt de 4 grupper var 159 patienter positive med både TB1- og TB2-rør, 1 patient var kun positiv med TB1, og 4 var kun positive med TB2. I alt 1,1 % (2/174) af resultaterne var ubestemmelige. TB2-resultatet identificerede 1 patient med infektion bekræftet ved dyrkning, som ville have været ubestemmelig (lav Mitogen) ud fra TB1-resultatet alene (se Tabel 5 og Tabel 6).

Tabel 5. Resultater af QFT-Plus-sensitivitetsundersøgelsen baseret på undersøgelsessted

Undersøgelsessteder	Positive (Positiv)	Negative (Negativ)	Ubestemmeligt	QFT-Plus-sensitivitet* (95 % CI)
Japan, sted 1	36	7	0	84 % (69-93)
Japan, sted 2	53	1	2	98 % (90-100)
Japan, sted 3	54	0	0	100% (93-100)
Australien	21	0	0	100% (84-100)

* Sensitiviteten er baseret på det samlede antal valide test med undtagelse af ubestemmelige resultater.

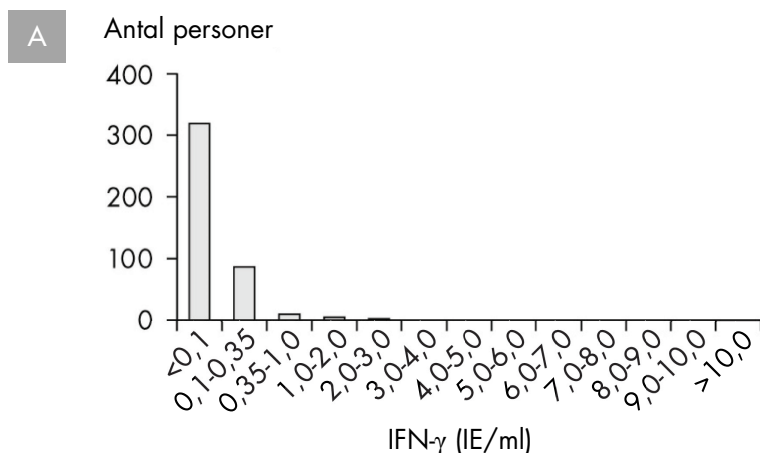
Tabel 6. Resultater af QFT-Plus-sensitivitetsundersøgelsen baseret på TB-antigen-rør

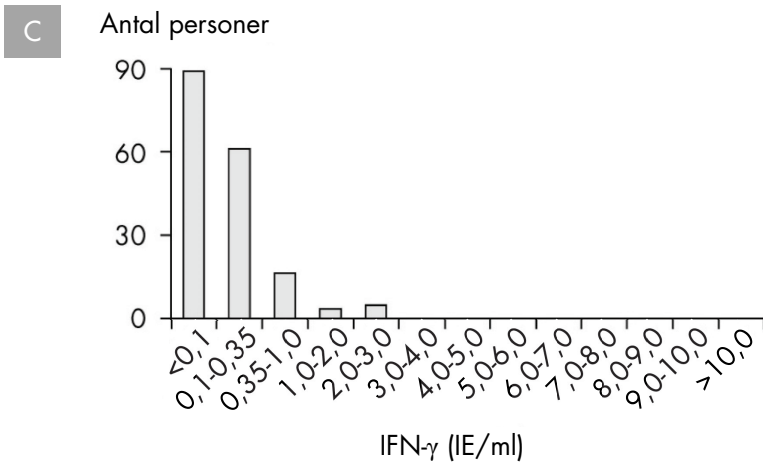
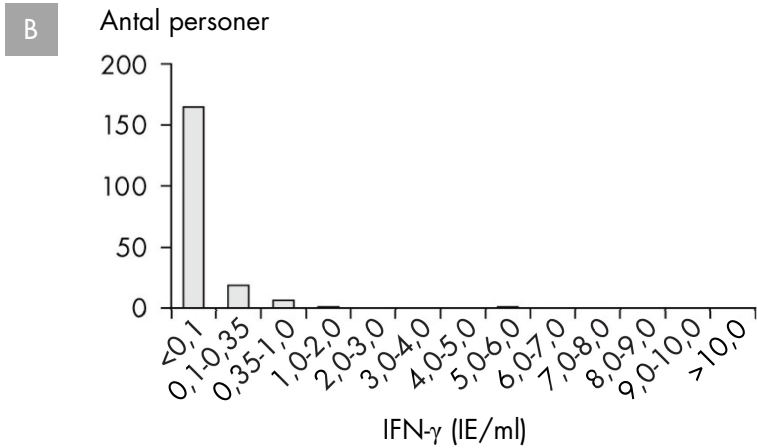
	TB1	TB2	QFT-Plus
Positiv	160	163	164
Negativ	11	9	8
Ubestemmeligt	3	2	2
Sensitivitet† (95 % CI)	93,6% (88,8-96,7)	94,8% (90,3-97,6)	95,3% (90,9-97,9)

* Sensitiviteten er baseret på det samlede antal valide test med undtagelse af ubestemmelige resultater.

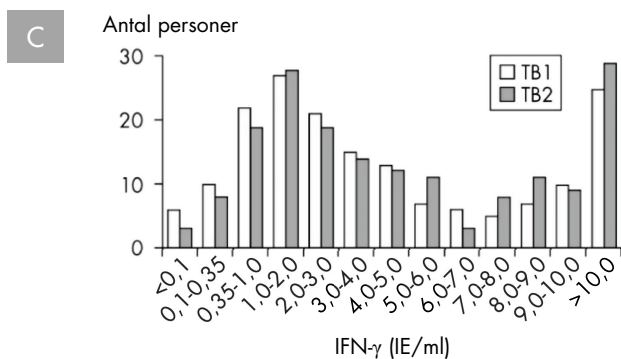
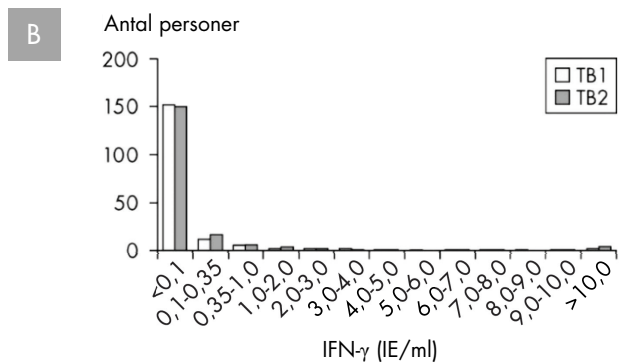
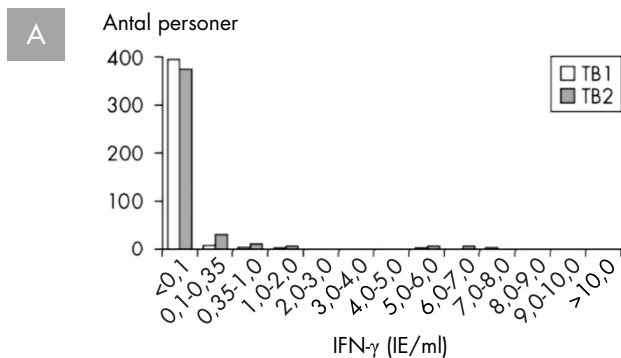
Observerede fordelinger af respons – stratificeret efter risiko

En række IFN γ -responsen på TB1-, TB2- og kontrolrør blev observeret i kliniske prøver og stratificeret efter risiko for *M. tuberculosis*-infektion (figur 7-9). Den blandede risikogruppe består af personer, som repræsenterer en generel testpopulation, herunder personer med og uden risikofaktorer for TB-eksponering, og hvor aktivt TB er usandsynligt (dvs. LTBI).

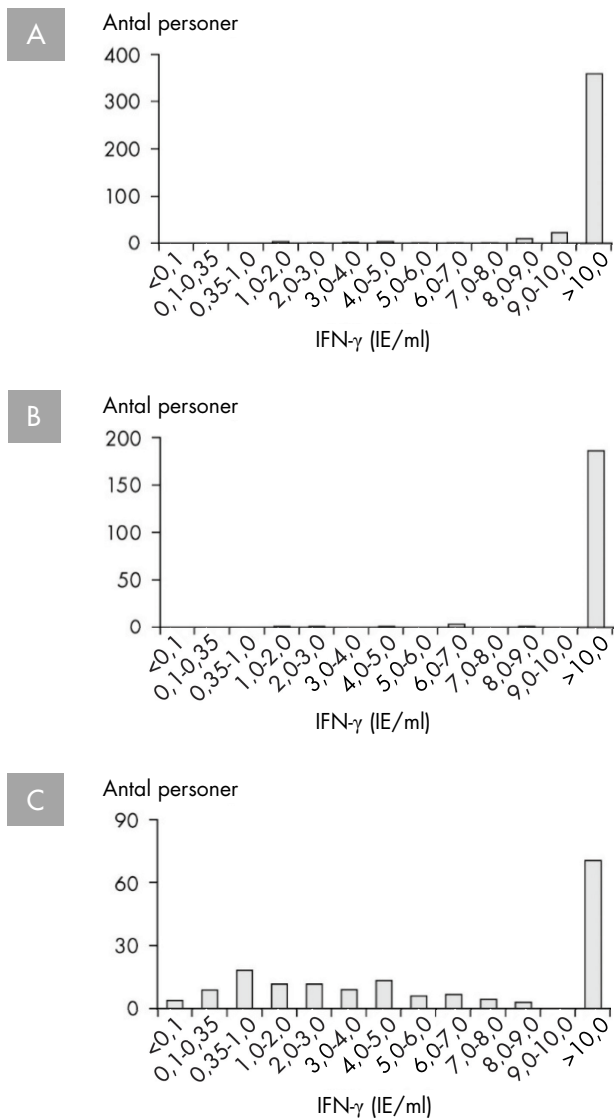




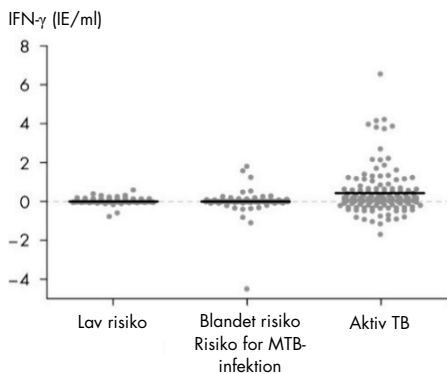
Figur 7. Fordeling af Nil. **A.** Fordeling af Nil-værdier i en population med lav risiko (n=409). **B.** Fordeling af Nil-værdier i en population med blandet risiko (n=194). **C.** Fordeling af Nil-værdier i en population med *M. tuberculosis*-infektion bekræftet ved dyrkning (n=174).



Figur 8. Fordeling af TB1 og TB2 (nil fratrukket). **A.** Fordeling af TB1- og TB2-værdier (nil fratrukket) i en population med lav risiko (n=409). **B.** Fordeling af TB1- og TB2-værdier (nil fratrukket) i en population med blandet risiko (n=194). **C.** Fordeling af TB1- og TB2-værdier (nil fratrukket) i en population med *M. tuberculosis*-infektion bekræftet ved dyrkning (n=174).



Figur 9. Fordeling af Mitogen (nil fratrukket). **A.** Fordeling af Mitogen-værdier (nil fratrukket) i en population med lav risiko (n=409). **B.** Fordeling af Mitogen-værdier (nil fratrukket) i en population med blandet risiko (n=194). **C.** Fordeling af Mitogen-værdier (nil fratrukket) i en population med *M. tuberculosis*-infektion bekræftet ved dyrkning (n=169).

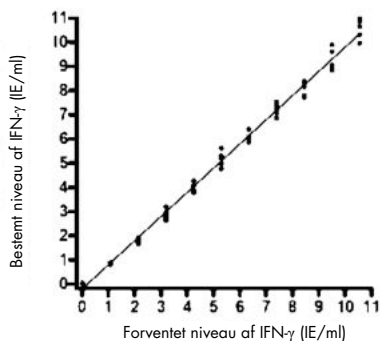


Figur 10. Observeret forskel mellem TB1- og TB2-værdier (nil fratrukket), stratificeret efter risiko. Population med lav risiko (n=409), population med blandet risiko (n=189) og population med *M. tuberculosis*-infektion bekræftet ved dyrkning (n=141). TB1-værdier blev trukket fra TB2-værdier. Personer med værdier for TB1 eller TB2 på >10,0 IE/ml blev ikke medtaget, da de lå uden for analysens lineære område.

Analysens ydelseskaraktistika

QFT-Plus ELISA har vist sig at være lineær ved at placere 5 replikater af 11 plasmapools med kendte IFN γ -koncentrationer tilfældigt på ELISA-pladen. Den lineære regressionslinje har en hældning på $1,002 \pm 0,011$ og en korrelationskoefficient på 0,99 (Figur 11).

Detektionsgrænsen for QFT-Plus ELISA er 0,065 IE/ml, og der er ikke noget tegn på en prozoneeffekt ("høj-dosiskrogeffekt") for koncentrationer af IFN γ på op til 10.000 IE/ml.



Figur 11. Linearitetsprofil for QFT-Plus ELISA

Unøjagtigheden inden for og mellem analyser (% CV) for QFT-Plus ELISA blev estimeret ved test af 20 plasmaprøver med varierende IFN- γ -koncentrationer med tredobbelt bestemmelse, i 3 forskellige laboratorier, på 3 ikke-fortløbende dage og udført af 3 forskellige operatører. Hver prøve blev således testet 27 gange og i 9 uafhængige analysekørsler. Den ene prøve var en negativ kontrol og havde en beregnet IFN- γ -koncentration på 0,08 IE/ml (95 % CI: 0,07-0,09). For de resterende 19 plasmaprøver var koncentrationsintervallet 0,33 (95 % CI: 0,31-0,34) til 7,7 IE/ml (95 % CI: 7,48-7,92).

Unøjagtigheden inden for en kørsel eller inden for samme analyse blev estimeret ved at beregne gennemsnittet af %CV-værdierne for hver testplasma med IFN- γ fra hver pladekørsel ($n = 9$), som lå fra 4,1 til 9,1 % CV. Inden for en kørsel var kovariansen i gennemsnit (± 95 % CI) 6,6 % \pm 0,6 %. Gennemsnittet af plasma uden IFN- γ var 14,1 % CV.

Unøjagtigheden samlet set eller mellem analyser blev bestemt ved at sammenligne de 27 beregnede koncentrationer af IFN- γ for hver testplasma. Unøjagtigheden mellem forskellige analyser lå fra 6,6 til 12,3 % CV. Samlet set var %CV-gennemsnittet (± 95 % CI) 8,7 % \pm 0,7 %. For plasma uden IFN- γ var resultatet 26,1 % CV. Dette variationsniveau er forventeligt, fordi den beregnede koncentration af IFN- γ er lav, og variationen omkring et lavt koncentrationsestimat vil være større end den for højere koncentrationer.

Reproducerbarheden af QFT-Plus-testen blev bestemt ved hjælp af blodprøver fra 102 personer med blandede risikofaktorer for *M. tuberculosis*-infektion. Tre forskellige operatører og laboratorieforhold blev vurderet.

Der blev foretaget i alt 3 diagnostiske bestemmelser for hver person og 306 i alt for alle personer. Samlet set var den diagnostiske reproducerbarhed på 99 % (95 % CI: 97,2-99,7), hvor det diagnostiske resultat var samstemmende for 303 af 306 bestemmelser. Resultaterne for 3 personer, som var tæt på cutoff-værdien, udgjorde variationen.

LTBI-diagnose

Der er udgivet flere undersøgelser, som påviser ydelsen i QFT, forløberen for QFT-Plus, i forskellige populationer med risiko for infektion med MTB. Tabel 7 viser de væsentligste fund fra nogle udvalgte undersøgelser.

Tabel 7. Udvalgte udgivne undersøgelser om QFT

Population/forhold	Resultater og fund	Samlet antal udgivne undersøgelser
Pædiatri	Bevist ydeevne blandt børn, herunder børn under 5 år (45-46) med højere nøjagtighed end ELISpot-baseret IGRA (8). Den hidtil største undersøgelse, der sammenligner QFT og TST hos børn fra Vietnam, Filippinerne og Mexico, understøtter den foretrukne anvendelse af QFT frem for TST til test af udenlandsk fødte børn for LTBI (46). En undersøgelse med begrænset kontakt viser bedre prædiktiv værdi end TST hos børn (47) og 8 gange så høj risiko for udviklingen af TB-sygdom inden for to år blandt QFT-konverterere sammenlignet med ikke-konverterere (48). Uoverensstemmelsen for QFT-negativ/TST-positiv er høj blandt BCG-vaccinerede børn (46, 49), men der var ingen indvirkning på Mitogen-responsen blandt børn under 5 år (49) og lave ubestemmelige rater under rutinemæssig screening af børn af indvandrere (46).	152
Graviditet	I et område med lav belastning er ydelsen i QFT lige høj i hvert graviditetstrimester med sammenlignelige resultater for kvinder, som ikke er gravide, og den er meget mere specifik, mindst lige så sensitiv og kan være en bedre prædikator for sygdomsprogression end TST (50). I et område med høj belastning var QFT mere stabil under graviditeten og kunne bestemme prævalensen for baggrunds-LTBI mere nøjagtigt sammenlignet med TST, selvom forfatterne konkluderede, at en graviditet påvirker både QFT og TST (51).	6

Tabellen fortsættes på næste side

Tabel 7. Udvalgte udgivne undersøgelser om QFT (fortsat)

Population/forhold	Resultater og fund	Samlet antal udgivne undersøgelser
HIV/AIDS	Både IGRAs og TST påvirkes af HIV-infektion, og en række beviser tyder på, at der skal udvises forsigtighed ved fortolkning af resultater blandt dem med CD4+-tællinger <200 (52). QFT har vist sig at være mindre påvirket end ELISpot-baseret IGRA og TST (53-55). Enkelt besøg af IGRAs overkommer TST-problemet med dårlige retrurrater blandt denne population (53).	101
Immunsuppressive behandlinger	QFT påvirkes i mindre grad af immunsuppressive behandlinger end TST og har bedre sammenfald med TB-risikofaktorer (23, 27). QFT har høj sensitivitet hos patienter med reumatisk sygdom (23, 56, 57) og højere specificitet end TST og reducerer falsk-positive resultater samt unødvendig behandling, der ville forekomme med TST (23, 57, 58).	112
Sundhedspersonale	Har vist sig at være mere specifikt med færre falsk-positive resultater end TST og mere omkostningseffektivt end TST (59-62). Variabiliteten ved tærsklen er et forventet fund i serietest som følge af dikotomisk skæringspunkt og indbygget variabilitet i en biologisk test (63). Undersøgelser har vist højere konverterings-/reversionsrater end TST i serietest af sundhedspersonale med lav risiko (64, 65). US CDC bekræfter, at det lempelige kriterium for at definere IGRA-konvertering kan producere mere konvertering, end den der observeres med det mere strenge kvantitative kriterium for TST, og strategier for nye test har vist sig at være effektive i administrationen af konverterings-/reversionsfænomenet (65-68).	111
TB-kontakter	Højere PPV og NPV end TST (47); nemheden ved et enkelt besøg for dem, der sandsynligvis ikke vender tilbage (63), bedre korrelation for eksponering (69), hvilket især bemærkes hos BCG-vaccinerede personer og populationer i lande, hvor man vaccinerer mod BCG (70, 71).	89
Transplantation	Har vist sig at være mindst lige så effektiv som TST men mindre påvirket af organsygdomme på sidste stadie end TST (22).	23

Tabellen fortsættes på næste side

Tabel 7. Udvalgte udgivne undersøgelser om QFT (fortsat)

Population/forhold	Resultater og fund	Samlet antal udgivne undersøgelser
Diabetes	Modstridende bevis fra et mindre antal udgivelser med begrænset antal personer. En undersøgelse fra et område med lav belastning viste, at QFT-sensitiviteten ikke kompromitteres af diabetes hos TB-patienter (72). En undersøgelse fra Tanzania, et område med høj belastning, der påpegede en negativ påvirkning fra diabetes på produktionen af IFN- γ , tog ikke højde for fejlkilder som HIV og helminth-infektioner (73). I vietnamesiske undersøgelser var QFT-positiviteten lig med eller højere end TST-skæringspunkterne på 10 og 15 mm (74) blandt 838 selvrapporterede diabetikere med mistanke om TB på grund af unormale CXR'er eller aktiv TB bekræftet ved dyrkning (n=128).	9
Nyresygdom på sidste stadie	QFT-positive resultater svarer til risikofaktorer for TB i højere grad end TST, som er mindre forbundet med BCG (75).	45
Indvandrere	Undersøgelser påviser, at QFT er upåvirket af BCG og alder i modsætning til TST (74). QFT har vist sig at være den mest omkostningseffektive metode (76). I områder med lav belastning kommer størstedelen af TB fra personer, der er født i udlandet, og fra reaktivering af latent TB efter ankomsten (77). Den hidtil største undersøgelse, der sammenligner QFT og TST hos børn af indvandrere, understøtter den foretrukne anvendelse af QFT frem for TST til test af udenlandsk fødte børn for latent TB-infektion (46).	29

Teknisk information

Ubestemmelige resultater

Ubestemmelige resultater er ualmindelige og kan være relateret til immunstatus hos den person, som testes, men kan også skyldes en række tekniske faktorer, hvis ovenstående brugsvejledning ikke følges.

Hvis der er mistanke om tekniske problemer med opbevaringen af reagenser, blodprøvetagningen eller håndteringen af blodprøverne, skal hele QFT-Plus-testen gentages med en ny blodprøve. Gentagelse af ELISA-testen af stimulerede plasmaprøver kan udføres, hvis vasken af pladen er ufuldstændig, eller der er anden proceduremæssig afvigelse i forbindelse med ELISA-testen. Ubestemmelige test, der skyldes lave Mitogen- eller høje Nil-værdier forventes ikke at ændres ved gentagelse, medmindre der var en fejl i ELISA-testen. Ubestemmelige resultater skal rapporteres som sådan. Læger kan vælge at trække en prøve tilbage eller udføre andre relevante procedurer.

Koagulerede plasmaprøver

Hvis der opstår fibrinkoagulater ved længere opbevaring af plasmaprøver, skal prøverne centrifugeres til bundfældet koaguleret materiale og lette pipetteringen af plasma.

Fejlfindingsvejledning

Denne fejlfindingsvejledning kan være nyttig til at afhjælpe eventuelle problemer. For yderligere information henvises også til den tekniske information på www.QuantiFERON.com. Se kontaktoplysninger på bagsiden.

Fejlfinding af ELISA

Uspecifik farveudvikling

Mulig årsag	Løsning
a) Ufuldstændig vask af pladen	Vask pladen mindst 6 gange med 400 µl vaskebuffer pr. brønd. Alt efter hvilken vasker, der anvendes, kan der være behov for mere end 6 vaskecyklusser. Der bør være en ibrødsætningsperiode på mindst 5 sekunder mellem hver cyklus.
b) Krydskontaminering af ELISA-brønde	Vær forsigtig ved pipettering og blanding af prøver for at minimere risici.
c) Kittets/komponenternes udløbsdato er overskredet	Sørg for, at kittet anvendes inden udløbsdatoen. Sørg for, at rekonstitueret standard og konjugat 100x koncentrat anvendes inden for tre måneder efter rekonstitueringsdatoen.
d) Kontamineret enzymsubstratopløsning	Bortskaf substratet, hvis der er blåfarvning. Sørg for, at der anvendes rene reagensreservoirer.
e) Blanding af plasma i QFT-Plus-rør inden opsamling	Efter centrifugering skal det undgås at pipettere op og ned eller på nogen måde blande plasmaet inden opsamling. Pas til enhver tid på ikke at hvirvle materialet på gelens overflade op.

Lave aflæsningsværdier for optisk densitet for standarder

Mulig årsag	Løsning
a) Fejl ved fortynding af standard	Sørg for, at fortyndingerne af kitstandarderne forberedes korrekt i henhold til denne indlægsseddel.
b) Pipetteringsfejl	Sørg for, at pipetterne kalibreres og anvendes i henhold til producentens instruktioner.
c) For lav inkuberingsstemperatur	Inkubering af ELISA bør ske ved stuetemperatur (22 ± 5 °C).
d) For kort inkuberingsstid	Inkubering af pladen med konjugatet, standarderne og prøverne bør ske i 120 ± 5 minutter. Enzymsubstratopløsning inkuberes på pladen i 30 minutter.
e) Brug af forkert pladelæsefilter	Pladen bør aflæses ved 450 nm med et referencefilter mellem 620 og 650 nm.

Fejlfinding af ELISA

- | | |
|---|--|
| f) For kolde reagenser | Alle reagenser, med undtagelse af konjugat 100x koncentrat, skal bringes til stuetemperatur inden påbegyndelse af analysen. Dette tager ca. én time. |
| g) Kittets/komponenternes udløbsdato er overskredet | Sørg for, at kittet anvendes inden udløbsdatoen. Sørg for, at rekonstitueret standard og konjugat 100x koncentrat anvendes inden for 3 måneder efter rekonstitueringsdatoen. |

Højt baggrunds-

Mulig årsag

Løsning

- | | |
|---|--|
| a) Ufuldstændig vask af pladen | Vask pladen mindst 6 gange med 400 µl vaskebuffer pr. brønd. Alt efter hvilken vasker, der anvendes, kan der være behov for mere end 6 vaskecyklusser. Der bør være en iblødsætningsperiode på mindst 5 sekunder mellem hver cyklus. |
| b) For høj inkuberingsstemperatur | Inkubering af ELISA bør ske ved stuetemperatur ($22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$). |
| c) Kittets/komponenternes udløbsdato er overskredet | Sørg for, at kittet anvendes inden udløbsdatoen. Sørg for, at rekonstitueret standard og konjugat 100x koncentrat anvendes inden for 3 måneder efter rekonstitueringsdatoen. |
| d) Kontamineret enzymsubstratopløsning | Bortskaf substratet, hvis der er blåfarvning. Sørg for, at der anvendes rene reagensreservoirer. |

Ikke-lineær standardkurve og variabilitet i dobbeltbestemmelse

Mulig årsag

Løsning

- | | |
|---|--|
| a) Ufuldstændig vask af pladen | Vask pladen mindst 6 gange med 400 µl vaskebuffer pr. brønd. Alt efter hvilken vasker, der anvendes, kan der være behov for mere end 6 vaskecyklusser. Der bør være en iblødsætningsperiode på mindst 5 sekunder mellem hver cyklus. |
| b) Fejl ved fortynding af standard | Sørg for, at fortyndingerne af standarden forberedes korrekt i henhold til denne indlægseddell. |
| c) Dårlig blanding | Bland reagenserne grundigt ved at vende dem eller forsigtigt vortexe dem, før de tilsættes pladen. |
| d) Inkonsekvent pipetteringsteknik eller afbrydelse under opsætningen af analysen | Prøven og standardtilsætningen skal udføres kontinuerligt. Alle reagenser skal forberedes, før analysen påbegyndes. |

Produktoplysninger og tekniske vejledninger kan fås hos QIAGEN via din forhandler eller ved at besøge www.QuantiFERON.com.

Litteraturhenvisninger

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

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

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

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

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

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

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














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

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

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

Symboler

Følgende symboler kan evt. findes på emballagen og etiketten:

Symbol	Symboldefinition
 2 x 96	Tilstrækkeligt til 2 x 96 prøveforberedelser
	Producent
	CE-IVD-symbol
	Til in vitro-diagnostisk brug
	Batchkode
	Katalognummer
	Globalt handelsvarenummer
	Anvendes inden
	Temperaturbegrænsning
	Læs brugervejledningen
	Må ikke genbruges
	Opbevares uden for sollys
	Materialenummer
Rn	R står for revision af brugsanvisningen, og n står for revisionsnummeret

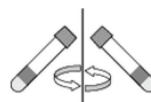
Kontaktoplysninger

For teknisk bistand og yderligere oplysninger henvises til vores gratisnummer 00800-22-44-6000, se vores tekniske supportcenter på www.qiagen.com/contact, eller kontakt en af QIAGENs tekniske serviceafdelinger (se bagsiden, eller besøg www.qiagen.com).

Forkortet testprocedure

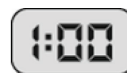
Stadie 1 – inkubering af blod

1. Udtag patientblod i blodprøvetagningsrør, og bland ved at ryste dem ti (10) gange lige akkurat kraftigt nok til at sikre, at hele indersiden af hvert rør er dækket af blod. Dette opløser antigener på rørets indersider.
2. Inkuber rørene stående ved $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ i 16 til 24 timer.
3. Efter inkubering centrifugeres rørene i 15 minutter ved 2000 til 3000 x g RCF (g) for at skille plasmaet og de røde celler.
4. Efter centrifugering skal det undgås at pipettere op og ned eller på nogen måde blande plasmaet inden opsamling. Pas til enhver tid på ikke at hvirvle materialet på gelens overflade op.



Stadie 2 – IFN- γ ELISA

1. Lad ELISA-komponenterne, med undtagelse af konjugat 100x koncentrat, temperaturudligne til stuetemperatur ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$). Det tager mindst 60 minutter.
2. Rekonstituer kitstandarden til 8,0 IE/ml med destilleret eller deioniseret vand. Fremstil fire (4) standardfortyndinger.
3. Rekonstituer frysetørret konjugat 100x koncentrat med destilleret eller deioniseret vand.



4. Fremstil konjugat med brugsstyrke i grøn diluent, og tilsæt 50 µl til alle brønde.



5. Tilsæt 50 µl testplasmaoprøver og 50 µl standarder til de relevante brønde. Bland ved brug af en ryster.

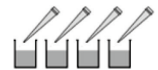
6. Inkuber i 120 ± 5 minutter ved stuetemperatur.



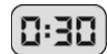
7. Vask brøndene mindst 6 gange med 400 µl vaskebuffer pr. brønd.



8. Tilsæt 100 µl enzymsubstratopløsning til brøndene. Bland ved brug af en ryster.



9. Inkuber i 30 minutter ved stuetemperatur.



10. Tilsæt 50 µl enzymstandsningsoopløsning til alle brønde. Bland ved brug af en ryster.



11. Aflæs resultater ved 450 nm med et 620 til 650 nm referencefilter.



12. Analysér resultaterne.



Væsentlige ændringer

Afsnit	Side	Ændring(er)
Forskellige	Forskellige	Tilføjet instruktioner i forbindelse med brugen af lithiumheparin- eller natriumheparinrør
Forskellige	Forskellige	Tilføjet instruktioner i forbindelse med arbejdsgangen med blodprøvetagning ved 2-8 °C
Forskellige	Forskellige	Pladelåg er nu et materiale, der er nødvendigt, men som ikke medfølger

Revisionshistorik for håndbogen

Dokument	Ændringer
R6 04/2019	Ændringer i forbindelse med lithiumheparin/natriumheparin Nye instruktioner til arbejdsgangen for blodprøvetagning ved 2-8 °C QF-pladelåg fjernet

Varemærker: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (QIAGEN Gruppen); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.).

Aftale om begrænset licens til QuantiFERON-TB Gold Plus (QFTPlus) ELISA

Brug af dette produkt betyder, at enhver køber eller bruger af produktet accepterer følgende vilkår:

1. Produktet må kun anvendes i overensstemmelse med protokoller leveret med produktet og denne indlægsseddel og kun med de komponenter, der er i kittet. QIAGEN giver ingen licens, under nogen intellektuel ejendomsret, til at bruge eller inkludere komponenterne i dette panel med komponenter, der ikke er inkluderet i dette kit, undtagen som beskrevet i protokoller leveret med dette produkt og denne indlægsseddel.
2. Ud over de udtrykkeligt givne licenser giver QIAGEN ingen garanti for, at dette panel, og/eller brugen af det, ikke overtræder tredjeparts rettigheder.
3. Dette kit og dets komponenter er under licens til engangsbrug og må ikke genbruges, genoprettes eller videresælges, medmindre andet er angivet af QIAGEN.
4. QIAGEN afviser specifikt alle andre licenser, udtrykte eller underforståede, end dem, der udtrykkeligt er angivet.
5. Køberen og brugeren af kittet indvilliger i ikke at tage, eller lade andre tage, skridt, der kunne føre til, eller fremme, handlinger der forbydes ovenfor. QIAGEN kan håndhæve forbuddene i denne begrænsede licensaftale ved enhver domstol og vil inddrive alle undersøgelses- og retsomkostninger, herunder advokatsalærer, i ethvert søgsmål for at håndhæve denne begrænsede licensaftale samt alle deres intellektuelle ejendomsrettigheder i forbindelse med kittet og/eller komponenterne deri.

Opdaterede licensbetingelser kan findes på www.qiagen.com.

© 2019 QIAGEN. Alle rettigheder forbeholdes.

www.QuantiFERON.com

Asia-Pacific | techservice-ap@qiagen.com

Europe | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Middle East/Africa | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Latin America (not including Brazil or Mexico) | techservice-latam@qiagen.com

Bemærkninger

Bemærkninger

