

April 2022

QuantiFERON[®] SARS-CoV-2 ELISA Kit, Bruksanvisning



Version 1



För in vitro-diagnostisk användning

För användning med QuantiFERON[®] SARS-CoV-2 Blood Collection
Tubes



626420



QIAGEN, 19300 Germantown Road Germantown, MD 20874, USA
Telefon: +1-800-426-8157



QIAGEN GmbH
QIAGEN Strasse 1, 40724
Hilden, Tyskland



1124420SV

Innehåll

Avsedd användning	5
Avsedd användare	6
Beskrivning och princip	7
Sammanfattning och förklaring	7
Material som medföljer.....	9
Kitinnehåll	9
Paketets innehåll.....	10
Plattform och programvara	10
Material som behövs men inte medföljer.....	11
Ytterligare reagenser	11
Utrustning	11
Varningar och försiktighetsåtgärder	12
Säkerhetsinformation	12
Försiktighetsåtgärder.....	13
Förvaring och hantering av reagenser	16
Användningsstabilitet	16
Rekonstituerade och oanvända reagenser	16
Förvaring och hantering av prover	17
Procedur: Genomföra ELISA.....	18
Protokoll: IFN- γ ELISA	18
Resultat (beräkningar)	23
Generering av standardkurva och provvärden	23

Kvalitetskontroll av testet.....	25
Avläsning av resultat.....	27
Begränsningar.....	28
Analysens prestandaegenskaper.....	29
Analytisk prestanda.....	29
Klinisk prestanda.....	38
Referenser.....	45
Felsökningsguide.....	50
Symboler.....	53
Kontaktinformation.....	54
Bilaga A: Teknisk information.....	55
Indeterminanta resultat.....	55
Koagulerade plasmaprover.....	55
Lipemiska plasmaprover.....	55
Bilaga B: Förkortad ELISA-testprocedur.....	56
Beställningsinformation.....	58
Dokumentrevisioner.....	59

Avsedd användning

QuantiFERON SARS-CoV-2-analys är ett in vitro-diagnostiskt test avsett för kvalitativ detektion av interferon- γ (IFN- γ) producerat av CD4+ och CD8+ T-celler som svar på stimulering av en SARS-CoV-2-peptidblandning i hepariniserat helblod. Mängden IFN- γ som produceras mäts med hjälp av en enzymlänkad immunsorbent (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, ELISA).

QuantiFERON SARS-CoV-2-analysen är avsedd att understödja bedömningen av cellmedierad immunitet (Cell-Mediated Immune, CMI) hos individer utan en historik av SARS-CoV-2-infektion och som har fått vaccination mot COVID-19 med vacciner som riktar in sig mot det virala topproteinet (S) i SARS-CoV-2-virus.

QuantiFERON SARS-CoV-2-analysen bör användas i samband med andra laboratorietester och epidemiologisk/klinisk utvärdering för att bedöma en individs immunsvaret till följd av COVID-19-vaccination.

Att utveckla T-cellsimmunitet kan ta flera dagar efter vaccinationen, även om den tid som T-cellsimmunitet är närvarande inte är direkt utmärkande hos vaccinerade individer.

Icke-reaktiva resultat utesluter inte att det finns en aktiv SARS-CoV-2-infektion eller avgör hur pass effektiva COVID-19-vacciner är. Om misstanke om aktiv infektion föreligger bör denna bekräftas med ett annat molekyl- eller antigen-test för SARS-CoV-2. Resultaten från analysen ska alltid användas i kombination med den kliniska undersökningen, patientens sjukdomshistoria och övriga fynd.

För in vitro-diagnostisk användning.

Avsedd användare

Det här kitet är avsett för professionell användning.

Produkten är endast avsedd att användas av personal som fått särskild utbildning i molekylärbio-logiteknik och är väl förtrogen med detta område.

Beskrivning och princip

Sammanfattning och förklaring

QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) är en kvalitativ analys som använder specialiserade blodprovtagningsrör, som innehåller peptidantigener som stimulerar immunceller med hjälp av SARS-CoV-2-specifika proteiner. Blodet inkuberas i rören i mellan 16 och 24 timmar, och därefter samlas plasma in och provet testas om det innehåller IFN- γ som skapats som en respons på peptidantigenerna. Specifika T-cellsmedierade svar på SARS-CoV-2-infektion har rapporterats efter vaccination med olika typer av vacciner riktade mot topprotein [1–34].

Först samlas helblod in i vardera QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes, vilka inkluderar ett Nil-rör, Ag1-rör, Ag2-rör och ett mitogenrör. Alternativt kan blod samlas in i ett enda blodprovtagningsrör som innehåller litium- eller natriumheparin som antikoagulant och sedan överförs till QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes.

QuantiFERON SARS-CoV-2 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- γ (IE/ml) mäts med ELISA. QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA använder en rekombinant human IFN- γ -standard, som har analyserats mot en referens-IFN- γ -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 QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA minimeras genom tillsats av normalt musserum i den gröna diluenten och genom användning av F(ab')₂-fragment på monoklonala antikroppar som den IFN- γ -bindande antikroppen som är belagd på brunnar för mikroplatta.

Plasmaprovet från mitogenröret används som en IFN- γ -positiv kontroll för varje prov som testas. Nil-röret utför bakgrundskorrigerig (t.ex. höga nivåer av cirkulerande IFN- γ eller förekomst av heterofila antikroppar). IFN- γ -nivån i Nil-röret subtraheras från IFN- γ -nivån i Ag1-, Ag2-rören och mitogenröret.

Material som medföljer

Kitinnehåll

ELISA-komponenter	Sats med 2 platta
Katalognr.	626420
Microplate Strips (Remsor för mikroplattor, 12 x 8 brunnar, belagda med murin anti-human IFN- γ monoklonal antikropp)	2 uppsättningar remсор för mikroplattor 12 x 8
IFN- γ Standard, (IFN- γ standard, lyofiliserad; innehåller rekombinant human IFN- γ , bovint kasein, 0,01 % w/v timerosal)	1 x flaska (8 IE/ml rekonstituerad)
Green Diluent (Grön diluent; innehåller bovint kasein, normalt musserum, 0,01 % w/v timerosal)	1 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate, (Konjugat 100x koncentrat, lyofiliserat) (muring anti-humant IFN- γ HRP, innehåller 0,01 % timerosal)	1 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
Enzyme Substrate Solution (Enzymsubstratlösning; innehåller H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetrametylbenzidin)	1 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Enzymstoppande lösning, innehåller 0,5 M H ₂ SO ₄)*	1 x 15 ml
<i>QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA Kit, Bruksanvisning</i>	1

* Innehåller svavelsyra

Paketets innehåll

Kontroller och kalibratorer

QFN SARS ELISA använder en rekombinant human IFN- γ -standard, som har analyserats mot en referens-IFN- γ -beredning (NIH Ref: Gxg01-902-535).

Plattform och programvara

QFN SARS-analysprogram är valfritt för användning och används för att analysera rådata och beräkna resultaten. Det kan laddas ned från www.qiagen.com.

Material som behövs men inte medföljer

Ytterligare reagenser

- Avjoniserat eller destillerat vatten, 2 liter

Utrustning*

- $37 \pm 1^\circ\text{C}$ inkubator (med eller utan CO_2)
- 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 från 500 till 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 till 3 000 RCF (g)
- Graderad cylinder, 1 liter eller 2 liter
- Plattlock
- Absorberande lågluddande handdukar

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

Varningar och försiktighetsåtgärder

Kunder i EU bör vara medvetna om att allvarliga incidenter som har inträffat i samband med enheten måste rapporteras till tillverkaren och den behöriga myndigheten i den medlemsstat där användaren och/eller patienten befinner sig.


Säkerhetsinformation

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

- Alla kemikalier och allt biologiskt material är potentiellt farliga. Prover är potentiellt smittsamma och måste hanteras som smittfarligt material.
- Kassera avfall från prover och analyser i enlighet med lokala säkerhetsprocedurer.
- Prover är potentiellt smittsamma. Kassera avfall från prover och analyser i enlighet med lokala säkerhetsprocedurer.
- QFN SARS-analysen bör användas i samband med andra laboratorietester och epidemiologisk/klinisk utvärdering för att bedöma en individs immunsvaret till följd av COVID-19-vaccination.
- Ett icke-reaktivt QFN SARS-resultat utesluter inte möjligheten till SARS-CoV-2-infektion eller avgör hur pass effektiva COVID-19-vaccinerna är. Felaktiga icke-reaktiva resultat kan bero på felaktig hantering av blodprovtagningsrören efter venpunktur, felaktigt utförande av analysen eller andra individuella immunologiska variabler inklusive de som är relaterade till eventuella komorbiditeter. Heterofila antikroppar eller ospecifik IFN- γ -produktion från andra inflammatoriska tillstånd kan dölja specifika svar på SARS-CoV-2-peptider.

- Ett reaktivt QFN SARS-resultat ska inte vara det enda eller det definitiva underlaget för att avgöra hur pass effektiva COVID-19-vacciner är. En felaktigt utförd analys kan leda till felaktigt reaktiva QFN SARS-resultat.
- Ett falskt reaktivt QFN SARS-resultat kan orsakas av felaktig blodprovtagning eller felaktig hantering av provet som påverkar lymfocytfunktionen. Se avsnittet "Procedur: Genomföra ELISA", sidan 18, för korrekt hantering av blodproverna. Förseiad inkubation kan orsaka falska icke-reaktiva eller obestämda resultat och andra tekniska parametrar kan påverka förmågan att upptäcka ett signifikant IFN- γ -svar.
- En låg respons på mitogen (< 0,5 IE/ml) indikerar ett obestämt resultat när ett blodprov även har ett icke-reaktivt respons på SARS CoV-2 proteinerna. 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- γ . Förhöjda nivåer av IFN- γ i Nil-provet kan uppstå vid förekomst av heterofila antikroppar, eller på grund av inneboende IFN- γ -sekretion.

Försiktighetsåtgärder

<p>IAKTTAG FÖRSIKTIGHET</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

- Thimerosal används som konserveringsmedel i vissa QFN SARS-reagenser. Det kan vara giftigt vid förtäring, inandning eller hudkontakt.
- Avvikelser från *Quantiferon ELISA Kit Bruksanvisningar* 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- γ 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- γ standardflaskorna för att minimera risken för skador från krymplocket i metall.
- Blanda eller använd inte remsor för mikropeltor, IFN- γ -standard, grön diluent eller konjugatkoncentrat 100x från olika QFN SARS-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 QFN SARS ELISA-kitet 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-kitet vid 2–8 °C.
- Skydda alltid enzymsubstratlösning mot direkt solljus.

Rekonstituerade och oanvända reagenser

- Instruktioner om hur reagenserna ska rekonstitueras finns i avsnitt "Procedur: Genomföra ELISA" (sida 18).
- 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.

Förvaring och hantering av prover

Se bruksanvisningen *QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) Blood Collection Tubes* (1124422) för mer information om blodinsamlingsarbetsflödet för QFN SARS-testet.

Procedur: Genomföra ELISA

Protokoll: IFN- γ ELISA

Viktiga anmärkningar

- Referera till "Kitinnehåll", sida 9 och "Material som behövs men inte medföljer", sida 11, för de material som krävs för att utföra ELISA.

Inställning (tid som krävs för att utföra analysen)

För att få giltiga resultat från QFN SARS-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

Procedur

1. Alla plasmaprover och reagenser utom konjugatkoncentrat (100x) måste ha rumstemperatur (22 ± 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 QFN SARS-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- γ -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- γ -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 4 IFN- γ -koncentrationer (se bild 1).
- 3c. En standardkurva bör genereras med följande IFN- γ -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 fyra rör: S1, S2, S3, S4
B	Tillsätt 150 μ l GD i S1, S2, S3, S4
C	Tillsätt 150 μ l av kit-standarden i S1 och blanda väl
D	Överför 50 μ l från S1 till S2 och blanda väl
E	Överför 50 μ l från S2 till S3 och blanda väl
F	Enbart GD används som nollstandard (S4)

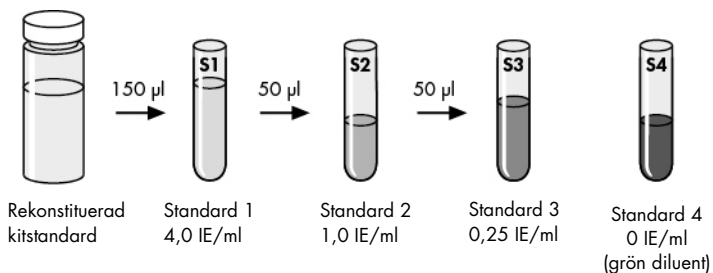


Bild 1. Beredning av standardkurvas spädningsserie.

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 2–8 °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 du blanda de lagrade proven noggrant innan de tillsätts i ELISA-brunnen. Plasmaprover kan förvaras i centrifugerade QFN SARS 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, plasmaprover kan också förvaras under -20 °C (helst lägre än -70 °C) i upp till 24 månader.

Plasmaprover kan laddas/användas direkt från centrifugerade blodprovtagningsrör till mätning i QFN SARS ELISA-plattan.

Viktigt: Om plasmaprover ska överföras direkt från de centrifugerade QFN SARS-blodprovtagningsrören 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 Ag1	3 Ag1	5 Ag1	7 Ag1	9 Ag1	S2	S2	13 Ag1	15 Ag1	17 Ag1	19 Ag1	21 Ag1
C	1 Ag2	3 Ag2	5 Ag2	7 Ag2	9 Ag2	S3	S3	13 Ag2	15 Ag2	17 Ag2	19 Ag2	21 Ag2
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 Ag1	4 Ag1	6 Ag1	8 Ag1	10 Ag1	11 Ag1	12 Ag1	14 Ag1	16 Ag1	18 Ag1	20 Ag1	22 Ag1
G	2 Ag2	4 Ag2	6 Ag2	8 Ag2	10 Ag2	11 Ag2	12 Ag2	14 Ag2	16 Ag2	18 Ag2	20 Ag2	22 Ag2
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 ELISA-plattlayout.** S1 (standard 1), S2 (standard 2), S3 (standard 3), S4 (standard 4). 1N (prov 1. Nil-kontrollplasma), 1 Ag1 (prov 1. Ag1 plasma), 1 Ag2 (prov 1. Ag2-plasma), 1M (prov 1. Mitogen-plasma).

9. Täck ELISA-plattan och blanda konjugat- och plasmaprover/standarder noga med en skakapparat för mikroplattor under 1 minut i 500 till 1 000 rpm. Undvik stänk.
10. Täck ELISA-plattan och inkubera i rumstemperatur (22 ± 5 °C) i 120 ± 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 tallriksvätt 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 till 1 000 varv/min med en skakapparat för mikroplattor.
14. Täck ELISA-plattan och inkubera i rumstemperatur (22 ± 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)

QFN SARS-analysprogram kan användas för att analysera rådata och beräkna resultaten. Det är tillgängligt från www.qiagen.com. Kontrollera att den senaste versionen av QFN SARS-analysprogrammet 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 27. 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 QFN SARS-analysprogram kan resultaten bestämmas enligt nedanstående metod.

Generering av standardkurva och provvärden

Om QFN SARS-analysprogrammet inte används

Bestämning av standardkurvan och bestämning av prov-IE/ml-värden kräver ett kalkylprogram, t.ex. Microsoft® Excel®, om QFN SARS-analysprogrammet inte används.

Använda ett kalkylprogram

1. Beräkna OD-medelvärdet för kitstandardreplikaten på varje platta.
2. Skapa en $\log_{(e)}\text{-}\log_{(e)}$ standardkurva genom att rita ut $\log_{(e)}$ för OD-medelvärdet (y-axeln) mot $\log_{(e)}$ för IFN- γ -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- γ -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 - logg(e) - följa de i tabell 2.

Tabell 2. Standardkurva

Standard	IE/ml	OD-värdena a och b	Medelvärde för OD	%CV	Logg _(e) IE/ml	Logg _(e) 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	NA	-1,386	-2,079
Standard 4	0	0,034, 0,037	0,036	NA	NA	NA

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. NA: Ej tillämpligt.

Med hjälp av kriterierna som anges i "Kvalitetskontroll av testet", sida 25, bestäms analysens giltighet.

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

Tabell 3. Provberäkning

Antigen	OD-värde	Logg _(e) OD-värde	X	e ^x (IE/ml)	Antigen -Nil (IE/ml)
Nil	0,037	-3,297	-2,934	0,05	-
Ag1	1,161	0,149	1,437	4,21	4,15
Ag2	1,356	0,305	1,634	5,12	5,07
Mitogen	1,783	0,578	1,981	7,25	7,20

IFN- γ -värden (i IE/ml) för Ag 1, Ag2 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.

QFN SARS-analysprogrammet beräknar och rapporterar dessa parametrar från kvalitetskontrollen.

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- γ har visat minskningar med upp till 50 % i koncentration när de förvaras vid antingen 2–8 °C och -20 °C. Rekombinant IFN- γ rekommenderas inte för att fastställa kontrollstandarder i plasmaprover.

Avläsning av resultat

QFN SARS-resultat ska tolkas med hjälp av följande kriterier (tabell 4):

Viktigt: QFN SARS-analysen bör användas i samband med andra laboratorietester och epidemiologisk/klinisk utvärdering för att bedöma en individs immunsvaret till följd av COVID-19-vaccination.

Tabell 4. Tolkning av QFN SARS-testresultat

Nil (IE/ml)	Ag1-antigen minus Nil (IE/ml)	Ag2-antigen minus Nil (IE/ml)	Mitogen minus Nil (IE/ml)*	QFN SARS-testresultat	Rapport/tolkning
≤ 8,0	≥0,15 och ≥25 % av Nil	Alla	Alla	Reaktiv	SARS-CoV-2-respons detekterad
	Alla	≥0,15 och ≥25 % av Nil			
	<0,15 eller ≥0,15 och <25 % av Nil	<0,15 eller ≥0,15 och <25 % av Nil	≥ 0,50	Icke-reaktiv	SARS-CoV-2-respons INTE detekterad
	<0,15 eller ≥0,15 och <25 % av Nil	<0,15 eller ≥0,15 och <25 % av Nil	< 0,50	Indeterminant†	SARS-CoV-2-respons och mitogen kan inte detekteras
>8,0§	Alla				

*Responser på mitogen-positivkontrollen (och ibland på Ag-antigensvaret) kan ligga utanför mikroplattläsarens mätområde. Detta påverkar inte testresultaten. Värden > 10 IE/ml rapporteras av QFN SARS-programmet som > 10 IE/ml.

† Se "Felsökningsguide" (sida 50) för möjliga orsaker.

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

Begränsningar

Resultaten av QFN SARS-testerna 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 Ag-antigenerna kan ligga utanför analysens mätområde.

- Ett icke-reaktivt resultat måste övervägas med personens medicinska och historiska data som är relevanta för sannolikheten för immunsvaret mot vaccination, särskilt för personer med nedsatt immunfunktion.
- QFN SARS-analysen bör användas i samband med andra laboratorietester och epidemiologisk/klinisk utvärdering för att bedöma en individs immunsvaret till följd av COVID-19-vaccination.

Ej tillförlitliga eller indeterminanta resultat kan bero på:

- Avvikelser från proceduren som beskrivs i bruksanvisningen
- Felaktig transport/hantering av blodprov
- Förhöjda nivåer cirkulerande IFN- γ eller förekomst av heterofila antikroppar
- Överskridande av validerade blodtider från blodprov till inkubation. Se bruksanvisningen *QFN SARS Blood Collection Tubes* (1124422).

Analysens prestandaegenskaper

Analytisk prestanda

Analys-cut-off

QFN SARS-analys-cut-off bestämdes med hjälp av data från tjugo (20) deltagare som testade SARS-CoV-2 icke-reaktiva med ett RT-PCR-test eller serologitest och tjugo (20) givare som var helt vaccinerade (mellan 2–16 veckor efter full vaccinationsstatus) med ett FDA EUA-godkänt vaccin. Datan rörande känslighet och specificitet tillsammans med den exakta tvåsidiga konfidensintervallen på 95 % (CI) analyserades och man kom fram till att optimal ELISA cut-off låg på 0,15 IE/ml (se tabell 5).

Tabell 5. QFN SARS cut-off-värden (IE/ml) med motsvarande känslighet och specificitet tillsammans med tvåsidig CI på 95 %

Cut-off-värde	Känslighet			Specificitet		
	Värde	Lägre 95 % KI	Övre 95 % KI	Värde	Lägre 95 % KI	Övre 95 % KI
0,1	1,000	0,940	1,000	0,933	0,838	0,982
0,15	0,983	0,911	1,000	1,000	0,940	1,000
0,2	0,900	0,795	0,962	1,000	0,940	1,000
0,25	0,733	0,603	0,839	1,000	0,940	1,000
0,3	0,717	0,586	0,825	1,000	0,940	1,000
0,35	0,650	0,516	0,769	1,000	0,940	1,000
0,4	0,600	0,465	0,724	1,000	0,940	1,000
0,45	0,567	0,432	0,694	1,000	0,940	1,000
0,5	0,467	0,337	0,600	1,000	0,940	1,000
0,55	0,433	0,306	0,568	1,000	0,940	1,000
0,6	0,400	0,276	0,535	1,000	0,940	1,000
0,65	0,333	0,217	0,467	1,000	0,940	1,000
0,7	0,317	0,203	0,450	1,000	0,940	1,000
0,75	0,300	0,188	0,432	1,000	0,940	1,000
0,8	0,300	0,188	0,432	1,000	0,940	1,000

Linjäritet

QFN SARS ELISA har visat sig vara linjär vid placering av 5 replikat av 11 plasmapooler av kända IFN- γ -koncentrationer slumpvis på ELISA-plattan. Den linjära regressionslinjen har en lutning på $1,002 \pm 0,011$ och en korrelationskoefficient på 0,99 (bild 3).

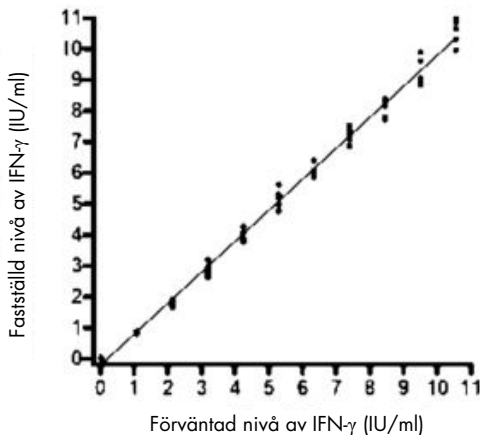


Bild 3. Illustration av linjäriteten för analys av studieregressionen.

Reproducerbarhet

En reproducerbarhetsstudie med flera laboratorier genomfördes för att utvärdera QFN SARS-analysens prestanda i laboratorier med flera operatörer. Denna studie genomfördes på tre laboratorier inom QIAGEN. Totalt tre (3) SARS-CoV-2-reaktiva och tre (3) SARS-CoV-2 icke-reaktiva studiedeltagare (fastställda genom RT-PCR-test eller serologitest) registrerades.

Blod insamlat i fyra (4) litiumheparin-blodprovtagingsrör erhöles från varje studiedeltagare. Litiumheparin-blodprovtagingsrören överfördes sedan till ett av laboratorierna där blodet delades upp i tre (3) uppsättningar QFN SARS Blood Collection Tubes (QFN SARS Ag1, Ag2, Mitogen och Nil). En uppsättning var av QFN SARS Blood Collection Tubes (BCTs) överfördes till var och en av testlaboratorierna och testades sedan i enlighet med QFN SARS-

analysproceduren. Varje deltagare testades med tio (10) replikat (fem (5) replikat för Ag1 och fem (5) replikat för Ag2) i varje laboratorium. I varje laboratorium körde en (1) operatör QFN SARS-testet oberoende. Varje operatör blindades för resultaten som erhållits av de andra operatörerna och blindades för RT-PCR- eller serologitestresultaten för studiedeltagaren.

30 resultat genererades vid vart och ett av de tre (3) testlaboratorierna, vilket resulterade i totalt 90 datapunkter. En sammanfattning av resultaten från studien om reproducerbarhet finns i tabell 6.

Tabell 6. Resultatsammanfattning från reproducerbarhetsstudie – N = 30 patientprover

Laboratorium 1 – 1 Operatör	Laboratorium 2 – 1 Operatör	Laboratorium 3 – 1 Operatör
25/30 = 83 %	30/30 = 100 %	30/30 = 100 %
Överensstämmelse med kvalitativt resultat	Överensstämmelse med kvalitativt resultat	Överensstämmelse med kvalitativt resultat

Total överensstämmelse i procent för alla reaktiva och icke-reaktiva prover till de förväntade kvalitativa resultaten (reaktiv deltagare som returnerar ett reaktivt resultat och icke-reaktiv deltagare som returnerar ett icke-reaktivt resultat baserat på resultatet av referensmetoden för individer) var 94,4 % (85/90) för alla tre (3) laboratorierna.

Interanalysreproducerbarhet

En studie genomfördes för att bestämma variabiliteten mellan olika loter av QFN SARS Blood Collection Tubes. Totalt två (2) SARS-CoV-2-reaktiva och tre (3) SARS-CoV-2 icke-reaktiva studiedeltagare (fastställda genom RT-PCR-test eller serologitest) testades. Tre (3) separata partier var och en av QFN SARS Ag1 och Ag2 blodprovtagningsrör inkluderades i denna studie. Fem (5) replikat per donator per blodprovtagningsrörslot testades. En sammanfattning av precisionsresultaten för inter-lot finns i tabell 7.

Tabell 7. Sammanfattning av precisionsresultaten för inter-lot - Totalt antal procent överensstämmelse för QFN SARS Ag1 och Ag2 blodprovtagningsrör; N = 25

QFN SARS BCT	Lotnummer för blodprovtagningsrör	Antal kvalitativa bestämningar i överensstämmelse/totalt antal bestämningar	Proportion	Lägre konfidensgräns	Högre konfidensgräns
Ag1	1	25/25	100,00%	86,28%	100,00%
	2	25/25	100,00%	86,28%	100,00%
	3	25/25	100,00%	86,28%	100,00%
Ag2	1	25/25	100,00%	86,28%	100,00%
	2	25/25	100,00%	86,28%	100,00%
	3	25/25	100,00%	86,28%	100,00%

Total överensstämmelse i procent för alla reaktiva och icke-reaktiva prover med de förväntade resultaten (reaktiv deltagare som returnerar ett reaktivt resultat och icke-reaktiv deltagare som returnerar ett icke-reaktivt resultat baserat på resultatet av referensmetoden för individer) var 100 % för alla tre (3) partierna tillhörande QFN SARS Ag1- och Ag2-blodprovtagningsrör.

Blankgräns (Limit of Blank, LOB)

Blankgränsen (Limit of Blank, LOB) utvärderades för QFN SARS-analysen. Två (2) replikat var och en av fjorton (14) individuella normala humana plasmaprover (som blank) testades med två (2) loter av QFN SARS ELISA av tre (3) operatörer på tre (3) testdagar, en (1) operatör per testdag för totalt 84 replikat från varje ELISA-kit.

LoB-värdena (IE/ml) för de två (2) ELISA-kitloterna beräknades separat, vilket visas i tabell 8.

Tabell 8. LoB-värdena (IE/ml) för de två (2) QFN SARS ELISA-kitloterna

QFN SARS ELISA-kit	LoB uppskattad (IE/ml)
Kit 1	0,030
Kit 2	0,040

Det större LoB-värdet, 0,040 IE/ml, för båda QFN SARS ELISA-kitloterna, rapporterades som det slutliga LoB-värdet.

Detektionsgräns (Limit of Detection, LoD)

Detektionsgränsen (Limit of Detection, LoD) utvärderades för QFN SARS-analysen. En mänsklig plasmapool genererades genom att kombinera fjorton (14) individuella plasmaprover. Var och en av de tre (3) operatörerna utarbetade ett IFN- γ referensstandardlager med 1,0 IE/ml utspädd i buffert. En spädningsserie med åtta (8) koncentrationer gjordes i plasma. Studien genomfördes under tre (3) dagar, av tre (3) alternerande operatörer som använde två (2) QFN SARS ELISA-kitloter. För varje testdag testades fem (5) replikat av varje koncentration inom varje uppsättning av serieutspädningsserien för totalt 45 replikat för varje utspädning av IFN- γ -koncentration för varje QFN SARS ELISA-kitlot.

LoD-värdet för vart och ett av de testade QFN SARS ELISA-kitloterna beräknades separat som visas i tabell 9. LoD uppskattades med Probit-regressionsmodell. LoD baserades på den uppskattade koncentrationen (IE/ml) som resulterade i 95 % uppskattad sannolikhet att få en träffkvot större än 0,04 IE/ml (fastställdes av LoB).

Tabell 9. Uppskattade LoD-värden (IE/ml) för de två (2) QFN SARS ELISA-kitloterna

QFN SARS 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
Kit2	0,95	0,065	0,060	0,073

Det större LoD-värdet beräknat över båda QFN SARS ELISA-kitloterna, 0,065 IE/ml, rapporterades som det slutgiltiga LoD-värdet.

Interfererande ämnen

En studie genomfördes för att bestämma effekterna av potentiella interfererande ämnen på prestanda för QFN SARS ELISA-detekteringen av IFN- γ . Interferenterna som ingick i denna testning var: triglycerider (totalt), hemoglobin, protein (totalt serum), bilirubin (konjugerat), bilirubin (okonjugerat), abacavirsulfat, cyklosporin och prednisolon. Fem (5) plasmapooler med kända koncentrationer av IFN- γ bereddades med användning av olika interferenskoncentrationer. Baspoolens IFN- γ -nivå framställdes tidigare med en förutbestämd mängd IFN- γ närvarande (cirka 0,21, 0,45 och 1,4 IE/ml). Denna pool användes sedan för att förbereda interferenspoolerna. Fem olika nivåer av målinterferenskoncentrationer testades och baserades på referensintervall, patologiska värden, terapeutiska intervall och toxiska intervall eller enligt rekommendationer från leverantörer eller allmänna kliniska nivåer. Sex (6) replikat testades för varje interferent-provkoncentrationsnivå.

För varje provkoncentration utfördes ett T-test, där skillnaden i genomsnittlig \log_{10} (IE/ml) jämfördes med den höga interferentnivån (10) jämfört med kontrollen (dvs. interferentfri nivå). Den uppskattade skillnaden i genomsnittligt svar, tillsammans med motsvarande tvåsidiga 95 % konfidensgränser och p-värde rapporteras i tabellen.

Tabell 10. Log10 IE/ml: T-tests sammanfattningstabell för skillnader i medel mellan kontroll och hög interferensnivå för varje interferent och IFN- γ Koncentrationsnivå

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

Tabellen fortsätter på nästa sida

Tabellen fortsätter från föregående sida

Tabell 10. Log₁₀ IE/ml: T-tests sammanfattningstabell för skillnader i medel mellan kontroll och hög interferensnivå för varje interferent och IFN- γ Koncentrationsnivå

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

Resultaten visade inga signifikanta statistiska skillnader mellan den högsta interferensnivån som testades och kontrollen (interferensfri nivå) utom koncentrationsnivån för triglycerid 0,45 IE/ml. Det gick att fastställa att medelskillnaden för detta värde var ± 2 standardavvikelser från måttet på medelkontrollnivån, vilket påvisade att den observerade skillnaden ligger inom den förväntade variabiliteten för analysen och att kliniskt relevanta nivåer av triglycerider inte väntas störa QFN SARS ELISA.

Klinisk prestanda

Den kliniska prestandan hos QFN SARS-analysen utvärderades i en prospektiv observationsstudie som genomfördes från juni till oktober 2021. I studien ingick deltagare som inte hade någon historik med SARS-CoV-2-infektion som hade fått COVID-19-vaccination med vacciner som riktar in sig på det virala S-proteinet hos SARS-CoV-2 samt de som inte hade någon historik med SARS-CoV-2-infektion som inte blivit vaccinerade mot COVID-19.

Deltagare som hade gett sitt samtycke utvärderades mot inklusions- och exklusionskriterier, och endast deltagare som uppfyllde alla inklusionskriterier, men inte något av exklusionskriterierna blev registrerade och fick ta blodprov för QFN SARS.

Nedan presenteras en sammanfattning av den registrerade populationen:

- Grupp 1: Innefattade deltagare utan någon historik med naturlig SARS-CoV-2 infektion, som inte blivit vaccinerade mot COVID-19 i samband med provtagning av blod för QFN SARS, aldrig hade testat positivt för SARS-CoV-2-infektion, hade rapporterat ett negativt resultat i ett icke-reaktivt serologitest, och inte uppvisade några tecken eller symtom på COVID-19 inom en 4-veckorsperiod före registreringen.
- Grupp 2: Innefattade deltagare utan historik med SARS-CoV-2-infektion, som hade blivit vaccinerade mot COVID-19 där vaccinationen var inriktad på S-proteinet i SARS-CoV-2 i samband med provtagning av blod för QFN SARS, och aldrig hade testat positivt för SARS-CoV-2-infektion.
- Ingen av deltagarna hade genomgått transplantation (fast organ eller cell) eller behandlades för cancer vid tidpunkten för studien.

Allt som allt registrerades 218 deltagare i Grupp 1 och 171 deltagare i Grupp 2. Efter provtagningen av blod för QFN SARS uppdagades det att fyra av deltagarna i Grupp 1 inte kunde delta i studien på grund av ett positivt resultat från ett reaktivt serologitest. Resultatet

framgick av provtagning samtidigt som provtagning av blod för QFN SARS ägde rum och dessa blev således exkluderade ur studien.

Prover samlades in, QFN SARS-blodprovtagningsrör bearbetades och plasma lagrades vid ≤ -20 °C tills det gick att använda den för att testa med QFN SARS ELISA. Samtliga körningar med QFN SARS ELISA-plattan var giltiga och det erhöles inga indeterminanta resultat, vilket ledde till 214 och 171 prover färdiga för utvärdering i Grupp 1 och 2.

Demografi

Antal insamlade prover per land och procentsats av det totala värdet för varje studiegrupp visas i tabell 11.

Tabell 11. Sammanfattning per land och uppsamling från provtagning

Land och uppsamling från provtagning	Grupp 1		Grupp 2	
	N	%	N	%
Nederländerna	214	100,00%	153	89,47%
USA	0	0,00%	18	10,53%

En sammanfattning av deltagarnas ålder, inklusive medel-, median-, minimi- och maximialder samt standardavvikelse för ålder visas i tabell 12.

Tabell 12. Sammanfattning av deltagaråldern (år)

N	Medelvärde	Median	SD	Minimum	Max
385	40,47	37,00	14,168	18,00	80,00

En sammanfattning av deltagarnas kön visas i tabell 13.

Tabell 13. Sammanfattning av deltagarnas kön

Kön	N	%
Kvinnor	234	60,78%
Män	151	39,22%

Specificitet

Den kliniska överensstämmelsen där resultat från QFN SARS jämförs med resultat från referensmetoden visas i tabell 14.

Tabell 14. Klinisk överensstämmelse: Resultat av QFN SARS jämfört med referensmetoden

		Resultat från referensmetoden		
		Grupp 1 (- vax, -infektion)	Grupp 2 (+ vax, -infektion)	Totalt
QFN SARS- testresultat	Icke-reaktiv	199	34	233
	Reaktiv	15	137	152
Totalt		214	171	385

När det gäller ovaccinerade deltagare (Grupp 1), testade 199 av 214 icke reaktivt med QFN SARS medan de återstående 15 testade reaktivt. När det gäller vaccinerade deltagare (Grupp 2), testade 137 av 171 reaktivt med QFN SARS medan de återstående 34 testade icke-reaktivt. Inget av de 15 och 34 diskrepanta proven i Grupp 1 och 2 genomgick ytterligare testning med en diskrepant metod.

Den negativa överensstämmelsen i procent (NPA) (specificitet) beräknades för ovaccinerade deltagare (Grupp 1), utmed den tvärsidiga konfidensintervallen på 95 % (CI), och visas i tabell 15.

Tabell 15. Negativ överensstämmelse i procent (specificitet)

Grupp #	NPA (specificitet)	95 % KI
Grupp 1 (-vacc, -infektion)	92,99 % (199/214)	88,70–96,02%

Känslighet

Den positiva överensstämmelsen i procent (PPA) (känslighet) beräknades för vaccinerade deltagare (Grupp 2), jämt den dubbelsidiga CI med 95 % precision, vilket framgår av tabell 16.

Tabell 16. Positiv överensstämmelse i procent (känslighet)

Grupp #	PPA (känslighet)	95 % KI
Grupp 2 (+vacc, -infektion)	80,12 % (137/171)	73,34–85,82 %

Positiv överensstämmelse i procent för ålder

För vaccinerade deltagare (Grupp 2), stratifierades positiv överensstämmelse i procent utifrån ålder < 60 och ≥ 60 år, vilket framgår av tabell 17.

Tabell 17. Positiv överensstämmelse i procent för < 60 och ≥ 60 år

Åldersintervall (år)	PPA (känslighet)	95 % KI
< 60	85,33 % (128/150)	78,78–90,64 %
≥ 60	42,86 % (9/21)	21,82–65,98 %

Positiv överensstämmelse i procent för COVID-19-vaccin

För vaccinerade deltagare (Grupp 2), stratifierades positiv överensstämmelse i procent utifrån COVID-19-vaccin som mottagits, vilket framgår av tabell 18.

Tabell 18. Positiv överensstämmelse i procent för COVID-19-vaccin

Vaccin	PPA (känslighet)	95 % KI
Astra Zeneca	62,50% (5/8)	24,49-91,48 %
Janssen (Johnson & Johnson)	86,67 % (13/15)	59,54-98,34 %
Moderna	77,27 % (17/22)	54,63-92,18 %
Pfizer - BioNTech	80,95 % (102/126)	73,00-87,40 %

Faktorer som är kopplade till icke-reaktiva resultat hos vaccinerade deltagare

För att fastställa om ökande ålder, tid från att allt COVID-19-vaccin getts, vaccin mottagits, och om det fanns ett samband mellan kön och icke-reaktiva resultat hos vaccinerade deltagare (Grupp 2) genomfördes en endimensionell logistisk regressionsanalys. Sambandet mellan varje faktor och icke-reaktiva resultat beräknades i form av en sannolikhetskvot (OR) och resultaten framgår av tabell 19.

Tabell 19. Koppling mellan faktorer och icke-reaktiva resultat hos vaccinerade individer

Faktor		ELLER (95 % CI)	p-värde
Ålder (år)		1,08 (1,05-1,12)	< 0,001
Tid från vaccinationen fram till QFN SARS-blodprovstagning (dagar)		1,02 (1,01-1,03)	< 0,001
Vaccin	Pfizer – BioNTech	1	–
	Astra Zeneca	2,55 (0,57-11,42)	0,221
	Janssen (Johnson & Johnson)	0,65 (0,14-3,09)	0,592
	Moderna	1,25 (0,42-3,72)	0,689
Kön	Kvinnor	1	–
	Män	1,25 (0,59-2,65)	0,565

De enda faktorer som hade en tydlig koppling till icke-reaktiva resultat hos vaccinerade individer var ålder och tid från vaccinationstillfället.

Eftersom studien genomfördes i länder där COVID-19-vaccin först hade getts till äldre individer, kan åldern haft en inverkan på kopplingen mellan tid från vaccinationstillfället och icke-reaktiva resultat. I tabell 20 visas regressionsanalys där ålder är en kovarians.

Tabell 20. Koppling mellan faktorer och icke-reaktiva resultat med ålderskontroll

Faktor	ELLER (95 % CI)	p-värde
Ålder (år)	1,07 (1,03-1,11)	< 0,001
Tid från vaccinationen fram till QFN SARS-blodprovstagning (dagar)	1,01 (1,00-1,02)	0,214

När åldern är kontrollerad har kopplingen mellan tiden från vaccinationen och de icke-reaktiva resultaten inte någon betydelse, men för ålder fanns det fortfarande ett starkt samband.

Referenser

1. Goletti D., Petrone L, Manissero D, Bertoletti A, Rao S, Ndunda N, et al. The potential clinical utility of measuring SARS-CoV-2-specific T-cell responses. *Clin Microbiol Infect* [Internet]. 2021 Jul [cited 2021 Jul 13];0(0). Available from: <http://www.clinicalmicrobiologyandinfection.com/article/S1198743X21003785/fulltext>
2. Petrone L., Petruccioli E, Vanini V, Cuzzi G, Najafi Fard S, Alonzi T, et al. A whole blood test to measure SARS-CoV-2-specific response in COVID-19 patients. *Clin Microbiol Infect*. 2021
3. Petrone L., Petruccioli E, Vanini V, Cuzzi G, Gualano G, Vittozzi P, et al. Coinfection of tuberculosis and COVID-19 limits the ability to in vitro respond to SARS-CoV-2. *Int J Infect Dis*. 2021
4. Shrotri M., van Schalkwyk MCI, Post N, Eddy D, Huntley C, Leeman D, et al. T cell response to SARS-Cov-2 infection in humans: A systematic review. *PLoS ONE*. 2021
5. Alessandra D'Abramo, Serena Vita, Gaetano Maffongelli, Andrea Mariano , Chiara Agrati , Concetta Castilletti ,Delia Goletti, Giuseppe Ippolito, Emanuele Nicastrì SC-19 CIT. Prolonged and severe SARS-CoV-2 infection inpatients under B-cell-depleting drug successfully treated: A tailored approach. *Int J Infect Dis*. 2021;(107):247–50
6. Soresina A, Moratto D, Chiarini M, Paolillo C, Baresi G, Focà E, et al. Two X-linked agammaglobulinemia patients develop pneumonia as COVID-19 manifestation but recover. *Pediatr Allergy Immunol*. 2020
7. Quinti I, Lougaris V, Milito C, Cinetto F, Pecoraro A, Mezzaroma I, et al. A possible role for B cells in COVID-19? Lesson from patients with agammaglobulinemia. *J Allergy Clin Immunol*. 2020

8. Geers D, Shamier MC, Bogers S, den Hartog G, Gommers L, Nieuwkoop NN, et al. SARS-CoV-2 variants of concern partially escape humoral but not T-cell responses in COVID-19 convalescent donors and vaccinees. *SciImmunol* [Internet]. 2021 May 1 [cited 2021 Jun 30];6(59). Available from: <http://immunology.sciencemag.org/>
9. Alter G, Yu J, Liu J, Chandrashekar A, Borducchi EN, Tostanoski LH, McMahan K, Jacob-Dolan C, Martinez DR, Chang A, Anioke T, Lifton M, Nkolola J, Stephenson KE, Atyeo C, Shin S, Fields P, Kaplan I, Robins H, Amanat F, Krammer F, Baric RS, Le Gars M, Sado BD. Immunogenicity of Ad26.COV2.S vaccine against SARS-CoV-2 variants in humans. *Nature*. 2021
10. Dan JM, Mateus J, Kato Y, Hastie KM, Yu ED, Faliti CE, et al. Immunological memory to SARS-CoV-2 assessed for up to 8 months after infection. *Science* (80-) [Internet]. 2021 Feb 5 [cited 2021 Jun 30];371(6529). Available from: <https://doi.org/10.1126/science.abf4063>
11. Chavarot N, Ouedrani A, Marion O, Leruez-Ville M, Villain E, Baaziz M, et al. Poor Anti-SARS-CoV-2 Humoral and T-cell Responses After 2 Injections of mRNA Vaccine in Kidney Transplant Recipients Treated with Belatacept. *Transplantation* [Internet]. 2021 Apr 8 [cited 2021 Jul 1];2. Available from: https://journals.lww.com/transplantjournal/Fulltext/9000/Poor_Anti_SARS_CoV_2_Humoral_and_T_cell_Responses.95281.aspx
12. Sekine T, Perez-Potti A, Rivera-Ballesteros O, Strålin K, Gorin JB, Olsson A, et al. Robust T Cell Immunity in Convalescent Individuals with Asymptomatic or Mild COVID-19. *Cell*. 2020
13. Alberto M. Borobia, Antonio J Carcas, Mayte Pérez-Olmeda, Luis Castaño, María Jesús Bertran, Javier García-Pérez, Magdalena Campins, Antonio Portolés, María González-Pérez, María Teresa García Morales, Eunat Arana-Arri, Marta Aldea, Francisco Díez-Fuerte CSG. Immunogenicity and reactogenicity of BNT162b2 booster in ChAdOx1-S

-
- primed participants (CombiVacS): a multicentre, open-label, randomised, controlled, phase 2 trial. *Lancet*. 2021
14. Mónica Martínez-Gallo, Juliana Esperalba-Esquerra, Ricardo Pujol-Borrell, Víctor Sandá, Iria Arrese-Muñoz, Candela Fernández Naval, Andrés Antón Pagarolas, Victoria Cardona, Moisés Labrador-Horrillo, Tomás Pumarola-Suñé MH-G. T-cell responses as a correlate of COVID-19 vaccination. A pilot study in Health Care Workers
15. Van Praet JT, Vandecasteele S, De Roo A, De Vriese AS, Reynders M. Humoral and cellular immunogenicity of the BNT162b2 mRNA Covid-19 Vaccine in nursing home residents. *Clin Infect Dis*. 2021
16. Pedersen RM, Tornby DS, Bistrup C, Johansen IS, Andersen TE JU. Negative SARS-CoV-2 antibodies, T cell response and virus neutralization following full vaccination in a renal transplant recipient: a call for vigilance. *Clin Microbiol Infect*. 2021
17. Grifoni A, Weiskopf D, Ramirez SI, Mateus J, Dan JM, Moderbacher CR, et al. Targets of T Cell Responses to SARS-CoV-2 Coronavirus in Humans with COVID-19 Disease and Unexposed Individuals. *Cell*. 2020
18. Rydzynski Moderbacher C, Ramirez SI, Dan JM, Grifoni A, Hastie KM, Weiskopf D, et al. Antigen-Specific Adaptive Immunity to SARS-CoV-2 in Acute COVID-19 and Associations with Age and Disease Severity. *Cell*. 2020
19. Tan AT, Linster M, Tan CW, Le Bert N, Chia WN, Kunasegaran K, et al. Early induction of functional SARS-CoV-2-specific T cells associates with rapid viral clearance and mild disease in COVID-19 patients. *Cell Rep*. 2021
20. Aiello A, Najafi Fard S, Petruccioli E, Petrone L, Vanini V, Farroni C, et al. Spike is the most recognized antigen in the whole-blood platform in both acute and convalescent COVID-19 patients. *Int J Infect Dis*. 2021

-
21. Soumya Jaganathan, Francis Stieber, Sonia N. Rao, Vladyslav Nikolayevskyy, Nadia Allen, Jeff Boyle JH. Preliminary Evaluation of QuantiFERON SARS-CoV-2 and QIArearch Anti-SARS-CoV-2 Total Test in Recently Vaccinated Individuals. 2021
 22. Zheng M, Gao Y, Wang G, Song G, Liu S, Sun D, et al. Functional exhaustion of antiviral lymphocytes in COVID-19 patients. *Cellular and Molecular Immunology*. 2020
 23. Aid M, Busman-Sahay K, Vidal SJ, Maliga Z, Bondoc S, Starke C, et al. Vascular Disease and Thrombosis in SARS-CoV-2-Infected Rhesus Macaques. *Cell*. 2020
 24. Kuri-Cervantes L, Pampena MB, Meng W, Rosenfeld AM, Ittner CAG, Weisman AR, et al. Comprehensive mapping of immune perturbations associated with severe COVID-19. *Sci Immunol*. 2020
 25. Lucas C, Wong P, Klein J, Castro TBR, Silva J, Sundaram M, et al. Longitudinal analyses reveal immunological misfiring in severe COVID-19. *Nature*. 2020
 26. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, Beckmann ND, Nirenberg S, Wang B, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nat Med*. 2020
 27. Peng Y, Mentzer AJ, Liu G, Yao X, Yin Z, Dong D, et al. Broad and strong memory CD4+ and CD8+ T cells induced by SARS-CoV-2 in UK convalescent individuals following COVID-19. *Nat Immunol*. 2020
 28. Sattler A, Angermair S, Stockmann H, Heim KM, Khadzhynov D, Treskatsch S, et al. SARS-CoV-2-specific T cell responses and correlations with COVID-19 patient predisposition. *J Clin Invest*. 2020
 29. Mathew D, Giles JR, Baxter AE, Greenplate AR, Wu JE, Alanio C, et al. Deep immune profiling of COVID-19 patients reveals patient heterogeneity and distinct immunotypes with implications for therapeutic interventions. *bioRxiv Prepr Serv Biol*. 2020

-
30. Chen Z, John Wherry E. T cell responses in patients with COVID-19. *Nat Rev Immunol*. 2020
31. Folegatti PM, Ewer KJ, Aley PK, Angus B, Becker S, Belij-Rammerstorfer S, et al. Safety and immunogenicity of the ChAdOx1 nCoV-19 vaccine against SARS-CoV-2: a preliminary report of a phase 1/2, single-blind, randomised controlled trial. *Lancet*. 2020
32. Sahin U, Muik A, Derhovanessian E, Vogler I, Kranz LM, Vormehr M, et al. COVID-19 vaccine BNT162b1 elicits human antibody and TH1 T cell responses. *Nature*. 2020
33. Ryu MR, Park MS, Cho EH, Jung CW, Kim K, Kim SJ, et al. Comparative evaluation of quantiFERON-TB gold in-tube and quantiFERON-TB gold plus in diagnosis of latent tuberculosis infection in immunocompromised patients. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2018 Nov 1 [cited 2021 Jul 1];56(11). Available from: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30135226/>
34. Petruccioli E, Vanini V, Chiacchio T, Cuzzi G, Cirillo DM, Palmieri F, et al. Analytical evaluation of QuantiFERON- Plus and QuantiFERON- Gold In-tube assays in subjects with or without tuberculosis. *Tuberculosis*. 2017

Felsökningsguide

Den här felsökningshandboken kan vara till hjälp för att lösa eventuella problem som uppstår. Mer information finns på sidan Vanliga frågor (Frequently Asked Questions, FAQ) på vårt tekniska supportcenter: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Dessutom svarar QIAGEN teknisk service gärna på frågor om informationen och/eller protokollen i denna handbok eller prov- och analysmetoder (för kontaktinformation, besök www.qiagen.com).

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) Enzymsubstrat-lösningen är kontaminerad | Kassera substratet om det är blåfärgat. Kontrollera att reagenserna endast förvaras i rena behållare. |
| e) Blandning av plasma i QFN SARS Blood Collection Tubes innan 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. |

Låga avläsningar av optisk densitet i standarder

- | | |
|----------------------------|---|
| a) Spädningsfel i standard | Kontrollera att spädningar av kitstandarderna bereds enligt denna bruksanvisning. |
|----------------------------|---|

Kommentarer och förslag

- | | |
|---|---|
| b) Pipetteringsfel | Kontrollera att pipetterna kalibreras och används i enlighet med tillverkarens instruktioner. |
| c) För låg inkuberingstemperatur | Inkubering av ELISA ska utföras i rumstemperatur ($22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$). |
| d) För kort inkuberingstid | Inkubering av plattan med konjugat, standarder och prover ska ske i 120 ± 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 från 620 till 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) 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) För hög inkuberingstemperatur | Inkubering av ELISA ska utföras i rumstemperatur ($22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$). |
| 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. |





Kommentarer och förslag


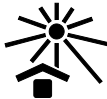

Icke-linjär standardkurva och variabilitet mellan duplikat

- | | |
|--|--|
| 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 spädningar 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

Följande symboler kan finnas i bruksanvisningen eller på förpackningar och etiketter:

Symbol	Symbolförklaring
 Σ <N>	Innehåller reagens som räcker till <N> reaktioner
	Utgångsdatum
IVD	In vitro-diagnostisk medicinteknisk enhet
REF	Katalognummer
LOT	Lotnummer
MAT	Materialnummer (dvs. komponentetikett)
COMP	Komponenter
CONT	Innehåller
NUM	Antal
GTIN	GSI-artikelnnummer
ECREP	Auktoriserad representant
R_n	R betyder revidering av bruksanvisningen och n är revisionsnumret
	Temperaturbegränsning
	Tillverkare

Symbol	Symbolförklaring
	Läs bruksanvisningen före användning
	Utsätt inte för direkt solljus
	Varning/försiktighet

Kontaktinformation

För teknisk support och ytterligare information är du välkommen att besöka vårt tekniska supportcenter på www.qiagen.com/Support, ringa oss på 00800-22-44-6000 eller kontakta QIAGEN teknisk service eller en lokal distributör (se baksidan eller besök www.qiagen.com).

Bilaga A: Teknisk information

Indeterminanta resultat

Indeterminanta resultat är sällsynta och kan bero på testpersonernas immunstatus, men de kan också vara relaterade till ett antal tekniska faktorer (t.ex. olämplig hantering/lagring av blodprovtagningsrör, 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 QFN SARS-testet göras om med nya 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 lågvarig 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.



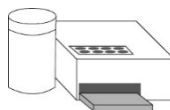
5. Tillsätt 50 µl av plasmaproverna och 50 µl standard i lämpliga brunnar. Blanda med en skakapparat.



6. Inkubera i 120 minuter i rumstemperatur.



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



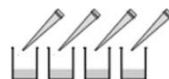
8. Tillsätt 100 µl enzymsubstratlösning i brunnarna. Blanda med en skakapparat.



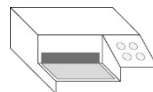
9. Inkubera i 30 minuter i rumstemperatur.



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 SARS-CoV-2 (QFN SARS) ELISA Kit	ELISA-kit med 2 plattor	626420
Relaterade produkter		
QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes	200 rör (50 vardera Nil, Ag1, Ag2 och Mitogen)	626725

Uppdaterad licensinformation och produktspecifika friskrivningsklausuler finns i respektive handbok eller användarmanual för QIAGEN-kit. Handböcker och användarmanualer till QIAGEN-kit finns på www.qiagen.com eller kan beställas från QIAGEN teknisk service eller din lokala återförsäljare.

Dokumentrevisioner

Datum	Beskrivning
R1, oktober 2021	Startversion
R2, november 2021	Uppdaterade avsnitten Prestandaegenskaper och Klinisk prestanda
R3, april 2022	Uppdaterade avsnittet Analytiska prestandaegenskaper vad gäller interfererande ämnen

Den här sidan har avsiktligt lämnats tom.

Den här sidan har avsiktligt lämnats tom.

Den här sidan har avsiktligt lämnats tom.

Avtal om begränsad licens för QuantiFERON® SARS-CoV-2 (QFN SARS) 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 handboken 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 handboken och ytterligare protokoll som finns på www.qiagen.com. Vissa av de här ytterligare protokollen har tillhandahållits av QIAGEN-användare för andra QIAGEN-användare. De här protokollen 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.

Uppdaterade licensvillkor finns på 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.

04-22 1124420 © 2022 QIAGEN, med ensamrätt.

