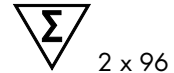


April 2022

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



Versjon 1



Til in vitro-diagnostisk bruk

Til bruk 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



1124420NB

Innhold

Tiltent bruk	5
Tiltente brukere	6
Beskrivelse og prinsipp	7
Oppsummering og forklaring	7
Materialer som følger med	9
Settets innhold	9
Komponenter i settet	10
Plattform og programvare	10
Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med	11
Ekstra reagenser	11
Utstyr	11
Advarsler og forholdsregler	12
Sikkerhetsinformasjon	12
Forholdsregler	13
Håndtering og oppbevaring av reagenser	16
Stabilitet under bruk	16
Rekonstituerte og ubrukte reagenser	16
Oppbevaring og håndtering av prøver	17
Prosedyre: Utføre ELISA	18
Protokoll: IFN- γ ELISA	18
Resultater (beregninger)	23
Generering av standardkurve og prøveverdier	23

Kvalitetskontroll av testen	25
Tolkning av resultater	27
Begrensninger	28
Analysens ytelsesegenskaper	29
Analytisk ytelse	29
Klinisk ytelse	38
Referanser	45
Feilsøkingsveiledning	50
Symboler	53
Kontaktinformasjon	54
Vedlegg A: Teknisk informasjon	55
Ubestemte resultater	55
Koagulerte plasmaprøver	55
Lipemiske plasmaprøver	55
Vedlegg B: Forkortet ELISA-testprosedyre	56
Bestillingsinformasjon	58
Endringshistorikk for dokument	59

Tiltenkt bruk

QuantiFERON SARS-CoV-2-analysen er en in vitro-diagnostisk test som brukes til kvalitativ deteksjon av interferon- γ (IFN- γ) produsert av CD4+ og CD8+ T-celler som respons på stimulering av en SARS-CoV-2-peptidblanding i heparinisert fullblod. Mengden IFN- γ som er produsert, måles ved hjelp av en enzyumbundet immunosorbentanalyse (ELISA).

QuantiFERON SARS-CoV-2-analysen er beregnet som et hjelpemiddel for å vurdere den cellemedierte immunresponsen (CMI-respons) hos personer uten tidligere SARS-CoV-2-infeksjon som er vaksinert mot COVID-19 med vaksiner som er rettet mot SARS-CoV-2-virusets spike-protein (S-protein).

QuantiFERON SARS-CoV-2-analysen skal brukes sammen med annen laboratorietesting og epidemiologisk/klinisk evaluering for å vurdere en persons immunrespons som følge av COVID-19-vaksinasjon.

Etter vaksinasjon kan det ta flere dager å utvikle T-celle-immunresponser, og det er ikke godt kjent hvor lenge T-celle-immunresponser er til stede hos vaksinerte personer.

Ikke-reaktive resultater utelukker ikke aktiv SARS-CoV-2-infeksjon og bestemmer ikke effekten av COVID-19-vaksiner. Hvis det er mistanke om aktiv infeksjon, må dette bekreftes med en annen molekylær test eller antigenest for SARS-CoV-2. Resultatene av analysen skal alltid brukes i kombinasjon med klinisk undersøkelse, pasientens sykehistorie og andre funn.

Til in vitro-diagnostisk bruk.

Tiltenkte brukere

Dette settet er beregnet for profesjonell bruk.

Produktet skal bare brukes av personell som har fått spesifikk instruksjon og opplæring i molekylærbiologiske teknikker, og som er kjent med denne teknologien.

Beskrivelse og prinsipp

Oppsummering og forklaring

QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) er en kvalitativ analyse som bruker spesialiserte blodprøvetakingsrør med peptidantigener som stimulerer immunceller ved hjelp av SARS-CoV-2-spesifikke proteiner. Blodet inkuberes i rørene i 16 til 24 timer. Deretter høstes plasma, som testes for forekomst av IFN- γ produsert som respons på peptidantigenene. Spesifikke T-celle-medierte responser på SARS-CoV-2-infeksjon er blitt rapportert etter vaksinasjon med ulike typer vaksiner rettet mot spike-protein [1–34].

Først blir fullblod tappet i de ulike QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes, som består av et Nil-rør, et Ag1-rør, et Ag2-rør og et Mitogen-rør. Alternativt kan blodet tappes i et enkelt blodprøvetakingsrør som inneholder litium- eller natriumheparin som antikoagulant, og deretter overføres til QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes.

QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes ristes for å blande antigen med blodet, og skal inkuberes ved 37 °C \pm 1 °C så snart som mulig, og innen 16 timer etter prøvetaking. Etter en inkubasjonsperiode på 16 til 24 timer blir rørene sentrifugert, plasmæt behandlet og mengden IFN- γ (IE/ml) målt med ELISA. QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA bruker en rekombinant human IFN- γ -standard, som har blitt analysert mot et IFN- γ -referansepreparat (NIH-ref.: Gxg01-902-535). Resultater for testprøver rapporteres i internasjonale enheter per ml (IE/ml) i forhold til en standardkurve utarbeidet ved å teste fortyninger av standarden som følger med settet.

Heterofile (f.eks. humane anti-murine) antistoffer i serum eller plasma hos enkelte personer er kjent for å forårsake interferens med immunanalyser. Effekten av heterofile antistoffer i QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA minimeres gjennom tilsetning av normalt museserum i den grønne fortyningsløsningen og bruk av monoklonale F(ab')₂-antistoffragmenter som IFN- γ -inngangsantistoffet belagt på mikroplatebrønnene.

Plasmaprøven fra Mitogen-røret fungerer som en positiv kontroll for IFN- γ for hver prøve som testes. Nil-røret justerer for bakgrunn (f.eks. svært høye nivåer av sirkulerende IFN- γ eller forekomst av heterofile antistoffer). IFN- γ -nivået i Nil-røret trekkes fra IFN- γ -nivået for Ag1-, Ag2- og Mitogen-rørene.

Materialer som følger med

Settets innhold

ELISA-komponenter	Sett med 2 plater
Katalognr.	626420
Microplate Strips (mikroplateremser) (12 x 8 brønner) belagt med murint anti-humant monoklonalt IFN- γ -antistoff	2 sett mikroplateremser med 12 x 8 brønner
IFN- γ Standard, lyofilisert (inneholder rekombinant humant IFN- γ , bovint kasein, 0,01 % vekt/volum timerosal)	1 flaske (8 IE/ml når rekonstituert)
Green Diluent (grønn fortynningsløsning) (inneholder bovint kasein, normalt museserum, 0,01 % vekt/volum timerosal)	1 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (100x-konjugatkonsentrat), lyofilisert (murint anti-humant IFN- γ -HRP, inneholder 0,01 % timerosal)	1 x 0,3 ml (når rekonstituert)
Wash Buffer 20x Concentrate (20x vaskebufferkonsentrat) (pH 7,2, inneholder 0,05 % volum/volum ProClin® 300)	1 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (enzymsubstratløsning) (inneholder H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetrametylbenzidin)	1 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (enzymstoppløsning) (inneholder 0,5 M H ₂ SO ₄)*	1 x 15 ml
<i>Bruksanvisning for QuantiFERON SARS-CoV-2 ELISA Kit</i>	1

* Inneholder svovelsyre

Komponenter i settet

Kontroller og kalibratorer

QFN SARS ELISA bruker en rekombinant human IFN- γ -standard som har blitt analysert mot et IFN- γ -referansepreparat (NIH-ref.: Gxg01-902-535).

Plattform og programvare

QFN SARS Analysis Software er valgfritt og brukes til å analysere rådata og beregne resultater. Programvaren kan lastes ned på www.qiagen.com.

Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med

Ekstra reagenser

- Deionisert eller destillert vann, 2 liter

Utstyr*

- 37 ± 1 °C inkubator (med eller uten CO₂)
- Kalibrerte pipetter med variabelt volum for levering av 10 µl til 1000 µl med spisser til engangsbruk
- Kalibrert pipette med flere kanaler for levering av 50 µl og 100 µl med spisser til engangsbruk
- Mikroplaterister med en hastighet på mellom 500 og 1000 o/min
- Mikroplatevasker (for sikker håndtering av plasmaprøver anbefales en automatisert platevasker)
- Mikroplateleser utstyrt med 450 nm filter og 620 nm til 650 nm referansefilter
- Vorteksblender med variabel hastighet
- Sentrifuge som kan sentrifugere blodprøvetakingsrørene ved minst 3000 RCF (g)
- Gradert sylinder, 1 liter eller 2 liter
- Platelokk
- Absorberende og lofrie håndklær

* Før bruk må du forsikre deg om at instrumentene er kontrollert og kalibrert i henhold til produsentens anbefalinger.

Advarsler og forholdsregler

For kunder i EU: Vær oppmerksom på at alvorlige hendelser knyttet til enheten må rapporteres til produsenten og den relevante myndigheten i medlemslandet der brukeren og/eller pasienten er etablert.


Sikkerhetsinformasjon

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablader (Safety Data Sheets, SDS) hvis du ønsker mer informasjon. Disse er tilgjengelige i praktisk og kompakt PDF-format på www.qiagen.com/safety, der du kan søke etter, vise og skrive ut sikkerhetsdatabladet for hvert QIAGEN-sett og hver settkomponent.

- Alle kjemikalier og biologiske materialer er potensielt farlige. Prøver kan være smittefarlige og må behandles som smittefarlig biologisk materiale.
- Kast prøve- og analyseavfall i henhold til lokale sikkerhetsprosedyrer.
- Prøvene er potensielt smittefarlige. Kast prøve- og analyseavfall i henhold til lokale sikkerhetsprosedyrer.
- QFN SARS-analysen skal brukes sammen med annen laboratorietesting og epidemiologisk/klinisk evaluering for å vurdere en persons immunrespons som følge av COVID-19-vaksinasjon.
- Et ikke-reaktivt QFN SARS-resultat utelukker ikke muligheten for SARS-CoV-2-infeksjon og bestemmer ikke effekten av COVID-19-vaksiner. Falskt ikke-reaktive resultater kan skyldes feil håndtering av blodprøvetakingsrørene etter venepunksjon, feil utført analyse eller andre individuelle immunologiske variabler, inkludert de som er relatert til eventuelle komorbiditeter. Heterofile antistoffer eller ikke-spesifikk IFN- γ -produksjon som følge av andre inflammatoriske tilstander kan skjule spesifikke responser på SARS-CoV-2-peptider.

- Et reaktivt QFN SARS-resultat bør ikke danne det eneste eller endelige grunnlaget for bestemmelse av COVID-19-vaksiners effekt. Feil utført analyse kan føre til falskt reaktive QFN SARS-resultater.
- Et falskt reaktivt QFN SARS-resultat kan skyldes feil blodprøvetaking eller feil håndtering av prøven, som kan påvirke lymfocytffunksjonen. Se avsnittet "Prosedyre: Utføre ELISA", side 18, for informasjon om riktig håndtering av blodprøvene. Forsinket inkubasjon kan føre til falskt ikke-reaktive eller ubestemte resultater, og andre tekniske parametre kan påvirke evnen til å detektere en signifikant IFN- γ -respons.
- En lav respons på Mitogen (< 0,5 IE/ml) indikerer et ubestemt resultat når en blodprøve også har en ikke-reaktiv respons på SARS CoV-2-proteinene. Dette mønsteret kan oppstå ved utilstrekkelig mengde lymfocytter, redusert lymfocytaktivitet grunnet feil prøvehåndtering, feil påfylling/blanding av Mitogen-røret eller hvis pasientens lymfocytter ikke klarer å fremstille IFN- γ . Forhøyede nivåer av IFN- γ i Nil-prøven kan forekomme med forekomst av heterofile antistoffer, eller iboende IFN- γ -utskillelse.

Forholdsregler

<p>FORSIKTIG</p> 	<p>Håndter humant blod som potensielt smittefarlig.</p> <p>Følg relevante retningslinjer for blodhåndtering. Prøver og materialer som har vært i kontakt med blod eller blodprodukter, skal kasseres i henhold til offentlige og lokale forskrifter.</p>
--	--

QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Inneholder: svovelsyre. Advarsel! Kan være etsende for metaller. Irriterer huden. Forårsaker alvorlig øyeirritasjon. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Advarsel! Forårsaker mild hudirritasjon. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm.

QuantiFERON Green Diluent



Inneholder: tartrazin. Advarsel! Kan utløse en allergisk hudreaksjon. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Skadelig, med langtidsvirkning, for vannlevende organismer. Unngå utslipp til miljøet.

Mer informasjon

Sikkerhetsdatablad: www.qiagen.com/safety

- Timerosal brukes som konserveringsmiddel i enkelte QFN SARS-reagenser. Det kan være giftig ved svelging, innånding eller hudkontakt.
- Avvik fra *Bruksanvisning for QuantiFERON ELISA Kit* kan føre til feilaktige resultater. Det er viktig at du leser anvisningene nøye før bruk.
- Ikke bruk settet hvis noen av reagensflaskene viser tegn til skade eller lekkasje før bruk.
- **Viktig:** Inspiser flasker før bruk. Flasker med konjugat eller IFN- γ -standard skal ikke brukes dersom flaskene har tegn til skader eller gummiforseglingen er åpnet. Knuste flasker skal ikke håndteres. Kast flaskene i tråd med egnede sikkerhetsforholdsregler. Det anbefales å bruke en krympeløkkåpner til å åpne flaskene med konjugat eller IFN- γ -standard for å begrense risiko for skade fra krympeløkket i metall.
- Ikke bland eller bruk mikroplateremser, IFN- γ -standard, grønn fortynningsløsning eller 100x-konjugatkonsentrat fra forskjellige QFN SARS-settpartier. Andre reagenser (20x vaskebufferkonsentrat, enzymsubstratløsning og enzymstoppløsning) kan byttes mellom sett, forutsatt at partiinformasjon er registrert og reagensene ikke er gått ut på dato.

-
- Kast ubrukke reagenser og biologiske prøver i samsvar med lokale, regionale og nasjonale bestemmelser.
 - Ikke bruk QFN SARS ELISA-settet etter utløpsdatoen.
 - Korrekte laboratorieprosedyrer bør følges til enhver tid.
 - Se til at laboratoriestyr som platevaskere og -lesere er kalibrert/godkjent for bruk.

Håndtering og oppbevaring av reagenser

Vær spesielt oppmerksom på utløpsdatoene og oppbevaringsvilkårene angitt på komponentenes esker og etiketter. Bruk ikke komponenter som er gått ut på dato eller oppbevart feil.

Stabilitet under bruk

- Oppbevar ELISA-sett ved 2–8 °C.
- Enzymsubstratløsning må alltid beskyttes mot direkte sollys.

Rekonstituerte og ubrukte reagenser

- Du finner instruksjoner om hvordan du rekonstruerer reagensene, i "Prosedyre: Utføre ELISA", side 18.
- Den rekonstituerte settstandard kan brukes i opptil 3 måneder hvis den oppbevares ved 2–8 °C.
Noter datoen for rekonstituering av settstandard.
- Det rekonstituerte 100x-konjugatkonsentratet må returneres til oppbevaring ved 2–8 °C og må også brukes innen 3 måneder.
Noter datoen for rekonstituering av konjugatet.
- Konjugat med arbeidsstyrke må brukes innen 6 timer etter klargjøring.
- Vaskebuffer med arbeidsstyrke kan oppbevares ved romtemperatur i opptil 2 uker.

Oppbevaring og håndtering av prøver

Se *Bruksanvisning for QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) Blood Collection Tubes* (1124422) for informasjon om arbeidsflyten for blodprøvetaking for QFN SARS-testen.

Prosedyre: Utføre ELISA

Protokoll: IFN- γ ELISA

Viktige punkter

- Se Settets innhold, side 9 og Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med, side 11 for informasjon om materialer som kreves for å utføre ELISA.

Oppsett (tid som kreves for å utføre analysen)

For å oppnå gyldige resultater med QFN SARS-analysen må operatøren utføre spesifikke oppgaver innenfor angitte tidsfrister. Før analysen tas i bruk, anbefales det at operatøren planlegger hvert trinn i analysen nøye for å være sikker på at det er nok tid til å utføre hvert trinn. Tiden som kreves, er anslått nedenfor. Også tiden som kreves for å utføre testserier av flere prøver, er angitt.

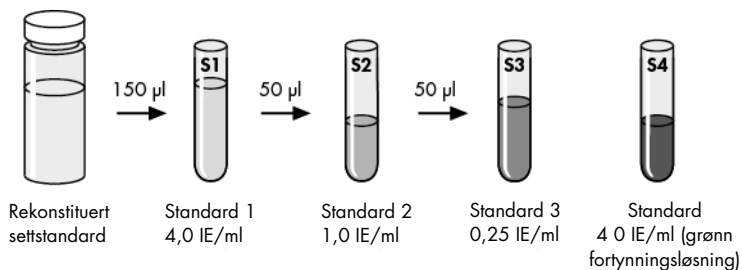
- Cirka 3 timer for én ELISA-plate
- < 1 times arbeid
- Legg til 10 til 15 minutter for hver ekstra plate

Prosedyre

1. Alle plasmaprøver og reagenser, unntatt 100x-konjugatkonsentratet, må nå romtemperatur ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) før bruk. Beregn minst 60 minutter for at komponentene skal nå romtemperatur.
2. Fjern ELISA-plateremser som ikke er nødvendige, fra rammen, forsegl disse i folieposen og sett tilbake i kjøleskapet for oppbevaring til senere bruk.
3. Beregn minst 1 remse til QFN SARS-standardene og nok remser til antallet pasienter som testes (se figur 2 for anbefalt plateformat). Etter bruk beholder du rammen og lokket for bruk med gjenværende remser.

- 3a. Rekonstituer IFN- γ -standarden med det volumet med deionisert eller destillert vann som er angitt på etiketten på flasken. Bland forsiktig for å minimere skumdannelse og sikre at alt innholdet i flasken blir helt oppløst. Rekonstituering av IFN- γ -standarden til riktig volum vil gi en løsning med en konsentrasjon på 8,0 IE/ml.
- 3b. Bruk den rekonstituerte standarden og klargjør en fortynningsserie på 4 IFN- γ -konsentrasjoner (se figur 1).
- 3c. Det skal genereres en standardkurve med følgende IFN- γ -konsentrasjoner:
- S1 (standard 1) inneholder 4,0 IE/ml
 - S2 (standard 2) inneholder 1,0 IE/ml
 - S3 (standard 3) inneholder 0,25 IE/ml
 - S4 (standard 4) inneholder 0 IE/ml (kun grønn fortynningsløsning [GD]).
- 3d. Standardene må analyseres minst to ganger.
- 3e. Klargjør ferske fortynninger av settstandarden for hver ELISA-prosedyre.

Prosedyre	
A	Merk 4 rør: S1, S2, S3, S4
B	Tilsett 150 μ l GD i S1, S2, S3, S4
C	Tilsett 150 μ l av settstandarden i S1, og bland godt
D	Overfør 50 μ l fra S1 til S2, og bland godt
E	Overfør 50 μ l fra S2 til S3, og bland godt
F	GD alene fungerer som null-standard (S4)



Figur 1. Klargjøring av fortynningsserie for standardkurve.

4. Rekonstruer lyofilisert 100x-konjugatkonsentrat med 0,3 ml deionisert eller destillert vann. Bland forsiktig for å minimere skumdannelse og sikre at alt innholdet i flasken blir helt oppløst.
 - 4a. Konjugat med arbeidsstyrke klargjøres ved å fortynne den nødvendige mengden rekonstituert 100x-konjugatkonsentrat i grønn fortynningsløsning (tabell 1).
 - 4b. Konjugat med arbeidsstyrke skal brukes innen 6 timer etter klargjøring.
 - 4c. Ubrukt 100x-konjugatkonsentrat skal umiddelbart etter bruk settes tilbake i en temperatur på 2–8 °C.

Tabell 1. Klargjøring av konjugat (arbeidsstyrke)

Antall remser	Volum konjugat (100x-konsentrat)	Volum grønn fortynningsløsning
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 som er høstet fra blodprøvetakingsrør og som deretter er oppbevart (i kjøleskap eller fryser), må blandes godt før de tilsettes i ELISA-brønnen. Plasmaprøver kan oppbevares i sentrifugerte QFN SARS Blood Collection Tubes i opptil 28 dager ved

2–8 °C, og høstede plasmaprøver kan oppbevares i opptil 28 dager ved 2–8 °C. Høstede plasmaprøver kan også oppbevares under –20 °C (fortrinnsvis under –70 °C) i opptil 24 måneder.

Plasmaprøver kan overføres direkte fra sentrifugerte blodprøvetakingsrør for måling til QFN SARS ELISA-platen.

Viktig: Hvis plasmaprøver skal overføres direkte fra sentrifugerte QFN SARS Blood Collection Tubes, må enhver form for blanding av plasmæt unngås. Du må til enhver tid passe på ikke å forstyrre materialet på geloverflaten.

6. Tilsett 50 µl nylig klargjort konjugat med arbeidsstyrke i hver ELISA-platebrønn.
7. Tilsett 50 µl testplasmaprøve i de riktige brønnene (se anbefalt ELISA-plateoppsett i figur 2).
8. Tilsett til slutt 50 µl av hver av standardene 1 til 4 i de riktige brønnene (se anbefalt ELISA-plateoppsett i figur 2). Standardene skal analyseres minst to ganger.

	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

Figur 2. **Anbefalt ELISA-plateoppsett.** S1 (standard 1), S2 (standard 2), S3 (standard 3), S4 (standard 4). 1 N (prøve 1. Nil-kontrollplasma), 1 Ag1 (prøve 1. Ag1-plasma), 1 Ag2 (prøve 1. Ag2-plasma), 1 M (prøve 1. Mitogen-plasma).

9. Dekk ELISA-platen, og bland konjugat og plasmaprøver/standarder godt ved hjelp av en mikroplaterister i 1 minutt ved 500 til 1000 o/min. Unngå sprut.
10. Dekk ELISA-platen, og inkuber ved romtemperatur (22 °C ±5 °C) i 120 ±5 minutter. ELISA-platen må ikke utsettes for direkte sollys under inkubasjon. Avvik fra det angitte temperaturområdet kan føre til feilaktige resultater.

11. Klargjør vaskebuffer med arbeidsstyrke under inkubasjonen av ELISA-platen. Én del 20x vaskebufferkonsentrat skal fortynnes med 19 deler deionisert eller destillert vann og blandes grundig. Tilstrekkelig mengde 20x vaskebufferkonsentrat følger med for klargjøring av 2 liter vaskebuffer med arbeidsstyrke.
12. Når inkubasjonen av ELISA-platen er fullført, må ELISA-platebrønnene vaskes med 400 µl vaskebuffer med arbeidsstyrke. Utfør vasketrinnet minst 6 ganger. Av sikkerhetshensyn anbefales det å bruke en automatisert platevasker ved håndtering av plasmaprøver.

Grundig vask er svært viktig for analyseytelsen. Sørg for at hver brønn fylles helt opp med vaskebuffer for hver vaskesyklus. En bløtleggingsperiode på minst 5 sekunder mellom hver syklus anbefales.

Standard laboratoriedesinfeksjonsmiddel må tilsettes avløpsvannreservoaret, og etablerte prosedyrer for dekontaminering av potensielt smittefarlig materiale må følges.
13. Dunk forsiktig ELISA-platen med oversiden ned på et absorberende, lofritt håndkle for å fjerne overflødig vaskebuffer. Tilsett 100 µl enzymsubstratløsning i hver platebrønn, og dekk platen. Bland godt i 1 minutt ved 500 til 1000 o/min ved hjelp av en mikroplaterister.
14. Dekk ELISA-platen, og inkuber ved romtemperatur (22 °C ±5 °C) i 30 minutter. ELISA-platen må ikke utsettes for direkte sollys under inkubasjon.
15. Etter 30 minutters inkubasjon tilsetter du 50 µl enzymstoppløsning i hver platebrønn i samme rekkefølge som substratet ble tilsatt, og blander godt ved 500 til 1000 o/min ved hjelp av en mikroplaterister.
16. Mål den optiske tettheten (Optical Density, OD) for ELISA-platebrønner innen 5 minutter etter at reaksjonen er stoppet, ved å bruke en mikroplateleser utstyrt med et 450 nm filter og et 620 nm til 650 nm referansefilter. OD-verdier brukes til å beregne resultatene.

Resultater (beregninger)

QFN SARS Analysis Software kan brukes til å analysere rådata og beregne resultater. Programvaren er tilgjengelig på www.qiagen.com. Sørg for at du bruker den siste versjonen av QFN SARS Analysis Software.

Programvaren utfører en kvalitetskontrollvurdering av analysen, genererer en standardkurve og gir et testresultat for hver pasient, som nærmere beskrevet i "Tolkning av resultater", side 27. Programvaren rapporterer alle konsentrasjoner som er større enn 10 IE/ml, som ">10", ettersom disse verdiene faller utenfor det validerte lineære området til ELISA.

Som et alternativ til bruk av QFN SARS Analysis Software kan resultater bestemmes i henhold til følgende metode.

Generering av standardkurve og prøveverdier

Hvis du ikke bruker QFN SARS Analysis Software

Hvis du ikke bruker QFN SARS Analysis Software, må du bruke et regnearkprogram, f.eks. Microsoft® Excel®, for å bestemme standardkurven og IE/ml-prøveverdier.

Bruke et regnearkprogram

1. Bestem gjennomsnittlige OD-verdier for settstandardreplikatene på hver plate.
2. Lag en \log_{10} - \log_{10} -standardkurve ved å plote \log_{10} for gjennomsnittlig OD (y-akse) mot \log_{10} for IFN- γ -konsentrasjonen til standardene i IE/ml (x-akse). Nullstandarden tas ikke med i disse beregningene. Beregn den best tilpassede linjen for standardkurven ved regresjonsanalyse.
3. Bruk standardkurven for å bestemme IFN- γ -konsentrasjonen (IE/ml) til hver av testplasmaprøvene ved å bruke OD-verdien for hver prøve.

4. Disse beregningene kan utføres ved hjelp av programvarepakker som er tilgjengelige med mikroplateleserne, og standard regnearkprogramvare eller statistisk programvare (f.eks. Microsoft Excel). Det anbefales at disse pakkene brukes til å beregne regresjonsanalysen, variasjonskoeffisienten (Coefficient of Variation, %CV) for standardene og korrelasjonskoeffisienten (r) til standardkurven.

Beregning av prøve

Hvis følgende OD-avlesninger ble oppnådd for standardene, vil beregningene med $-\log(e)$ – følge de som er oppgitt i tabell 2.

Tabell 2. Standardkurve

Standard	IE/ml	OD-verdier a og b	Gj.sn. OD	%CV	Log _(e) IE/ml	Log _(e) gj.sn. (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	I/R	-1,386	-2,079
Standard 4	0	0,034, 0,037	0,036	I/R	I/R	I/R

Ligningen for kurven er $y = 0,7885(X) - 0,9837$, der "m" = 0,7885 og "c" = -0,9837. Disse verdiene brukes i ligningen $X = (Y-c)/m$ for å finne X. Basert på standardkurven er den beregnede korrelasjonskoeffisienten (r) = 1,000. I/R: Ikke relevant.

Analysens gyldighet bestemmes ved hjelp av kriteriene angitt i "Kvalitetskontroll av testen", side 25.

Standardkurven (tabell 2) brukes til å konvertere antigen OD-responsene til internasjonale enheter (IE/ml).

Tabell 3. Beregning av prøve

Antigen	OD-verdi	Log _(e) OD-verdi	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 -verdier (i IE/ml) for Ag1, Ag2 og Mitogen korrigeres for bakgrunn ved å trekke fra IE/ml-verdien som ble oppnådd for den respektive Nil-kontrollen. Disse korrigererte verdiene brukes til å tolke testresultatene.

Kvalitetskontroll av testen

Nøyaktigheten til testresultatene er avhengig av at standardkurven som genereres, er nøyaktig. Derfor må resultatene som utledes fra standardene, undersøkes før testprøveresultatene kan tolkes.

For at ELISA skal være gyldig må:

- Gjennomsnittlig OD-verdi for standard 1 må være $\geq 0,600$.
- %CV for replikatverdier for standard 1 og standard 2 må være $\leq 15 \%$.
- Replikat-OD-verdier for standard 3 og standard 4 må ikke variere med mer enn 0,040 OD-enheter fra gjennomsnittsverdien.
- Korrelasjonskoeffisienten (r) beregnet fra gjennomsnittlige absorbansverdier for standardene må være $\geq 0,98$.
- Hvis de ovennevnte kriteriene ikke oppfylles, er kjøringen ugyldig og må gjentas.

-
- Gjennomsnittlig OD-verdi for nullstandarden (grønn fortynningsløsning) skal være $\leq 0,150$. Hvis gjennomsnittlig OD-verdi er $> 0,150$, må prosedyren for platevask undersøkes nærmere.

QFN SARS Analysis Software beregner og rapporterer disse kvalitetskontrollparameterne.

Hvert laboratorium må bestemme egnede typer kontrollmaterialer og frekvensen på testing i samsvar med lokale, regionale, nasjonale eller andre gjeldende akkrediteringsorganisasjoner. Ekstern kvalitetsvurdering og alternative valideringsprosedyrer bør tas i betraktning.

Merk: Plasmaprøver tilsatt rekombinant IFN- γ har vist en reduksjon i konsentrasjon på opptil 50 % ved oppbevaring ved enten 2–8 °C eller –20 °C. Rekombinant IFN- γ anbefales ikke for etablering av kontrollstandarder i plasmaprøver.

Tolkning av resultater

QFN SARS-resultater tolkes ved hjelp av følgende kriterier (tabell 4).

Viktig: QFN SARS-analysen skal brukes sammen med annen laboratorietesting og epidemiologisk/klinisk evaluering for å vurdere en persons immunrespons som følge av COVID-19-vaksinasjon.

Tabell 4. Tolkning av QFN SARS-testresultater

Nil (IE/ml)	Ag1 Antigen minus Nil (IE/ml)	Ag2 Antigen minus Nil (IE/ml)	Mitogen minus Nil (IE/ml)*	QFN SARS-resultat	Rapport/tolkning
≤ 8,0	≥ 0,15 og ≥ 25 % av Nil	Hvilket som helst resultat	Hvilket som helst resultat	Reaktiv	SARS-CoV-2-respons detektert
	Hvilket som helst resultat	≥ 0,15 og ≥ 25 % av Nil			
	< 0,15 eller ≥ 0,15 og < 25 % av Nil	< 0,15 eller ≥ 0,15 og < 25 % av Nil	≥ 0,50	Ikke-reaktiv	SARS-CoV-2-respons IKKE detektert
	< 0,15 eller ≥ 0,15 og < 25 % av Nil	< 0,15 eller ≥ 0,15 og < 25 % av Nil	< 0,50	Ubestemt [‡]	SARS-CoV-2-respons og Mitogen kan ikke detekteres
> 8,0 [§]	Hvilket som helst resultat				

*Responser på Mitogen-positiv kontroll (og tidvis Ag-antigenresponsene) kan være utenfor området til mikroplateleseren. Dette har ingen påvirkning på testresultatene. Verdier > 10 IE/ml rapporteres av QFN SARS-programvaren som > 10 IE/ml.

[‡] Se "Feilsøkningsveiledning", side 50 for mulige årsaker.

[§] I kliniske studier hadde mindre enn 0,25 % av deltakerne IFN- γ -nivåer på > 8,0 IE/ml for Nil-verdien.

Begrensninger

Resultater fra QFN SARS-testing må brukes i sammenheng med hver enkelt persons epidemiologiske historie, aktuelle medisinske status og andre diagnostiske vurderinger.

Personer med Nil-verdier som er høyere enn 8 IE/ml, klassifiseres som "Indeterminate" (Ubestemt) fordi en 25 % høyere respons på Ag-antigener kan være utenfor analysens måleområde.

- Et ikke-reaktivt resultat må vurderes i sammenheng med personens medisinske og historiske data relevant for sannsynlighet for immunrespons på vaksinasjon, særlig for personer med svekket immunfunksjon.
- QFN SARS-analysen skal brukes sammen med annen laboratorietesting og epidemiologisk/klinisk evaluering for å vurdere en persons immunrespons som følge av COVID-19-vaksinasjon.

Upålitelige eller ubestemte resultater kan oppstå på grunn av:

- Avvik fra prosedyren som er beskrevet i bruksanvisningen
- Feil transport/håndtering av blodprøve
- Forhøyede nivåer av sirkulerende IFN- γ eller forekomst av heterofile antistoffer
- Overskridelse av validerte tidsfrister fra blodprøvetaking til inkubasjon. Se *Bruksanvisning for QFN SARS Blood Collection Tubes* (1124422).

Analysens ytelsesegenskaper

Analytisk ytelse

Analysens cut-off

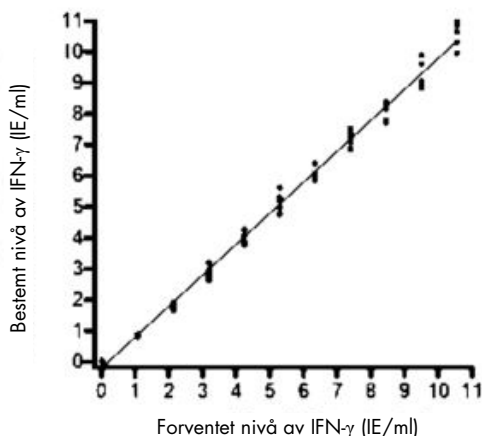
QFN SARS-analysens cut-off ble bestemt ved hjelp av data fra tjue (20) personer som testet ikke-reaktivt for SARS-CoV-2 med en RT-PCR-test eller serologitest, og tjue (20) donorer som var fullvaksinert (2–16 uker etter status som fullvaksinert) med en FDA EUA- autorisert vaksine. Sensitivitets- og spesifisitetsdataene ble analysert sammen med de nøyaktige tosidige 95 %-konfidensintervallene (Confidence Intervals, CI), og viste at den optimale cut-off-en for ELISA var 0,15 IE/ml (se tabell 5).

Tabell 5. QFN SARS-analysens cut-off-verdier (IE/ml) med tilhørende sensitivitet og spesifisitet med nøyaktig tosidig 95 % CI

Cut-off-verdi	Sensitivitet			Spesifisitet		
	Verdi	Nedre 95 % CI	Øvre 95 % CI	Verdi	Nedre 95 % CI	Øvre 95 % CI
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

Linearitet

QFN SARS ELISA har vist seg å være lineær ved vilkårlig plassering av 5 replikater av 11 plasmapooler med kjente IFN- γ -konsentrasjoner på ELISA-platen. Den lineære regresjonslinjen har et stigningstall på $1,002 \pm 0,011$ og en korrelasjonskoeffisient på 0,99 (figur 3).



Figur 3. Illustrasjon av linearitetsstudiens regresjonsanalyse.

Reproduserbarhet

En reproduserbarhetsstudie med flere laboratorier ble utført for å evaluere ytelsen til QFN SARS analysen over flere laboratorier med flere operatører. Studien ble utført på tre laboratorier innad i QIAGEN. Totalt tre (3) SARS-CoV-2-reaktive og tre (3) SARS-CoV-2-ikke-reaktive personer (bestemt med RT-PCR-test eller serologitest) deltok i studien.

Blod tatt i fire (4) blodprøvetakingsrør med litiumheparin ble samlet inn fra hver studiedeltaker. Blodprøvetakingsrørene med litiumheparin ble deretter overført til et av testlaboratoriene, der blodet ble alikvotert over i tre (3) sett med QFN SARS Blood Collection Tubes (QFN SARS Ag1, Ag2, Mitogen og Nil). Ett sett med QFN SARS Blood Collection Tubes (BCT-er) ble

overført til hvert av testlaboratoriene og deretter testet i samsvar med QFN SARS-analyseprosedyren. Hver person ble testet med ti (10) replikater (fem (5) replikater for Ag1 og fem (5) replikater for Ag2) på hvert laboratorium. Én (1) operatør på hvert laboratorium kjørte QFN SARS-testen uavhengig av hverandre. Hver operatør var blindet for resultatene som ble oppnådd av de andre operatørene, og blindet for resultatene av RT-PCR- eller serologitesten for hver studiedeltaker.

Det ble generert 30 resultater ved hvert av de tre (3) testlaboratoriene, noe som resulterte i totalt 90 datapunkter. En oppsummering av resultatene fra reproduserbarhetsstudien vises i tabell 6.

Tabell 6. Sammendrag av resultater fra reproduserbarhetsstudier – N = 30 pasientprøver

Laboratorium 1 – 1 operatør	Laboratorium 2 – 1 operatør	Laboratorium 3 – 1 operatør
25/30 = 83 %	30/30 = 100 %	30/30 = 100 %
Samsvar for kvalitative resultater	Samsvar for kvalitative resultater	Samsvar for kvalitative resultater

Generelt prosentvis samsvar for alle reaktive og ikke-reaktive prøver i forhold til de forventede kvalitative resultatene (reaktiv person som ga et reaktivt resultat og ikke-reaktiv person som ga et ikke-reaktivt resultat basert på resultatet av personens referansemetode) var 94,4 % (85/90) for alle tre (3) laboratorier.

Repeterbarhet innenfor parti

Det ble utført en studie for å bestemme variabiliteten innenfor parti for QFN SARS Blood Collection Tubes. Totalt to (2) SARS-CoV-2-reaktive og tre (3) SARS-CoV-2-ikke-reaktive studiedeltakere (bestemt med RT-PCR-test eller serologitest) ble testet. Tre (3) separate partier med QFN SARS Ag1 og Ag2 Blood Collection Tubes ble inkludert i studien. Fem (5) replikater per donor per blodprøvetakingsrør ble testet. En oppsummering av resultatene fra presisjonsstudien innenfor parti vises i tabell 7.

Tabell 7. Oppsummering av resultater fra presisjonsstudien innenfor parti – generelt prosentvis samsvar for QFN SARS Ag1 og Ag2 Blood Collection Tubes, N = 25

QFN SARS BCT	BCT-partinummer	Antall kvalitative funn i samsvar / totale funn	Andel	Nedre konfidensgrense	Øvre konfidensgrense
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 %

Generelt prosentvis samsvar for alle reaktive og ikke-reaktive prøver i forhold til de forventede resultatene (reaktiv person som ga et reaktivt resultat og ikke-reaktiv person som ga et ikke-reaktivt resultat basert på resultatet av personens referansem metode) var 100 % for alle tre (3) partier med QFN SARS Ag1 og Ag2 BCT-er.

Grense for blank prøve (Limit of Blank, LoB)

Grensen for blank prøve (Limit of Blank, LoB) ble evaluert for QFN SARS-analysen. To (2) replikater hver av fjorten (14) individuelle normale humane plasmaprøver (som blanke prøver) ble testet med to (2) partier med QFN SARS ELISA av tre (3) operatører på tre (3) testdager, én (1) operatør per testdag, dvs. totalt 84 replikater fra hvert ELISA-settparti.

LoB-verdiene (IE/ml) for de to (2) ELISA-settpartiene ble beregnet separat, som vist i tabell 8.

Tabell 8. LoB-verdier (IE/ml) for de to (2) QFN SARS ELISA Kit-partiene

QFN SARS ELISA Kit	LoB estimert (IE/ml)
Sett 1	0,030
Sett 2	0,040

Den høyeste LoB-verdien for de to QFN SARS ELISA Kit-partiene, 0,040 IE/ml, ble rapportert som den endelige LoB-verdien.

Deteksjonsgrense (Limit of Detection, LoD)

Deteksjonsgrensen (Limit of Detection, LoD) ble evaluert for QFN SARS-analysen. En human plasmapool ble generert ved å kombinere fjorten (14) individuelle plasmaprøver. Hver av de tre (3) operatørene klargjorde en stamløsning av IFN- γ -referansestandard på 1,0 IE/ml fortynt i buffer. En fortytningsserie på åtte (8) konsentrasjoner ble laget i plasma. Studien ble utført over tre (3) dager av tre (3) forskjellige operatører ved hjelp av to (2) QFN SARS ELISA Kit-parti. På hver testdag ble fem (5) replikater av hver konsentrasjon innenfor hvert sett med fortytningsserie testet, dvs. totalt 45 replikater for hver fortytning av IFN- γ -konsentrasjon for hvert QFN SARS ELISA-settparti.

LoD-verdien for hvert QFN SARS ELISA Kit-parti ble beregnet separat, som vist i tabell 9. LoD ble estimert ved hjelp av en Probit-regresjonsmodell. LoD var basert på den estimerte konsentrasjonen (IE/ml) som ga en 95 % estimert sannsynlighet for å oppnå en treffrate høyere enn 0,04 IE/ml (bestemt med LoB).

Tabell 9. Estimerte LoD-verdier (IE/ml) for de to (2) QFN SARS ELISA Kit-partiene

QFN SARS ELISA Kit	Sannsynlighet	Konsentrasjonsestimat (IE/ml)	Nedre 95 % konfidensgrense for estimat	Øvre 95 % konfidensgrense for estimat
Sett 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Sett 2	0,95	0,065	0,060	0,073

Den høyeste LoD-verdien som ble beregnet for de to QFN SARS ELISA Kit-partiene, 0,065 IE/ml, ble rapportert som den endelige LoD-verdien.

Interfererende stoffer

Det ble utført en studie for å bestemme effekten av mulige interfererende stoffer på ytelsen til QFN SARS ELISA-analysens deteksjon av IFN- γ . Interferentene som ble inkludert i denne studien, var: triglyserider (totalt), hemoglobin, protein (totalt serum), bilirubin (konjugert), bilirubin (ukonjugert), abakavirsulfat, ciklosporin og prednisolon. Fem (5) plasmapooler med kjente konsentrasjoner av IFN- γ ble klargjort ved hjelp av forskjellige interferentkonsentrasjoner. Grunnpoolens IFN- γ -nivå var tidligere klargjort med en forhåndsbestemt mengde IFN- γ til stede (ca. 0,21, 0,45 og 1,4 IE/ml). Denne poolen ble deretter brukt til å klargjøre interferentpoolene. Fem ulike nivåer av interferentkonsentrasjoner ble testet og var basert på referanseintervaller, patologiske verdier, terapeutiske områder og toksiske områder, eller som anbefalt av leverandør eller generelle kliniske nivåer. Seks (6) replikater ble testet for hvert interferentnivå av prøvekonsentrasjonen.

For hver prøvekonsentrasjon ble det utført en T-test, som sammenlignet forskjellen i gjennomsnittlig \log_{10} (IE/ml) for det høye interferentnivået (10) med kontrollen (dvs. interferentfritt nivå). Den estimerte forskjellen i gjennomsnittlig respons, sammen med de tilhørende tosidige 95 % konfidensgrensene og p-verdi er rapportert i tabellen.

Tabell 10. Log10 IE/ml: Oppsummering av T-test for forskjeller i gjennomsnitt mellom kontroll og høyt interferentnivå for hver interferent og IFN- γ -konsentrasjonsnivå

Interferent	Interferentnivå	Prøvekonsentrasjon (IE/ml)	Gj.sn. forskjell	Nedre 95 % CI	Øvre 95 % CI	P-verdi
Triglyserider	Høy	1,4	0,053	-0,004	0,110	0,063
		0,45	0,039	-0,021	0,058	< 0,001
		0,21	0,034	-0,002	0,071	0,061
Hemoglobin	Høy	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	Høy	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
Bilirubin konjugert	Høy	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
Ukonjugert bilirubin	Høy	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
Abakavir	Høy	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 fortsetter på neste side

Tabellen fortsetter fra forrige side

Tabell 10. Log10 IE/ml: Oppsummering av T-test for forskjeller i gjennomsnitt mellom kontroll og høyt interferentnivå for hver interferent og IFN- γ -konsentrasjonsnivå

Interferent	Interferentnivå	Prøvekonsentrasjon (IE/ml)	Gj.sn. forskjell	Nedre 95 % CI	Øvre 95 % CI	P-verdi
Ciklosporin	Høy	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
Prednisolon	Høy	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

Resultatene viste ingen statistisk signifikante forskjeller mellom det høyeste interferentnivået testet og kontrollen (interferentfritt nivå), bortsett fra for konsentrasjonsnivået 0,45 IE/ml for triglyserid. Den gjennomsnittlige forskjellen for denne verdien ble bestemt til å være innenfor ± 2 standardavvik fra målingen av gjennomsnittlig kontrollnivå, og viste at den observerte forskjellen er innenfor forventet variabilitet for analysen, og at klinisk relevante triglyseridnivåer ikke forventes å interferere med QFN SARS ELISA.

Klinisk ytelse

Den kliniske ytelsen til QFN SARS-analysen ble evaluert i en prospektiv observasjonsstudie utført fra juni til oktober 2021 med personer uten tidligere SARS-CoV-2-infeksjon som hadde blitt vaksinert mot COVID-19 med vaksiner rettet mot SARS-CoV-2-virusets spike-protein, og med personer uten tidligere SARS-CoV-2-infeksjon som ikke hadde blitt vaksinert mot COVID-19.

Samtykkende personer ble evaluert mot studiens inklusjons- og eksklusjonskriterier, og kun personer som oppfylte alle inklusjonskriteriene, men ingen av eksklusjonskriteriene, var med i studien og fikk tatt blodprøver for QFN SARS.

Nedenfor følger en oppsummering av studiepopulasjonen:

- Gruppe 1: Inkluderte personer uten tidligere naturlig SARS-CoV-2-infeksjon, hadde ikke blitt vaksinert mot COVID-19 på tidspunktet for blodprøvetaking for QFN SARS, hadde aldri testet positivt for SARS-CoV-2-infeksjon, hadde rapportert et ikke-reaktivt resultat fra en serologitest og hadde ingen tegn eller symptomer på COVID-19 i løpet av en 4 ukersperiode før deltakelse.
- Gruppe 2: Inkluderte personer uten tidligere SARS-CoV-2-infeksjon, hadde blitt vaksinert mot COVID-19 med vaksine som rettet seg mot SARS-CoV-2-virusets spike-protein, på tidspunktet for blodprøvetaking for QFN SARS, og hadde aldri testet positivt for SARS-CoV-2-infeksjon.
- Ingen av personene hadde fått organ- eller celledonasjon og/eller behandling for kreft på tidspunktet for studiedeltakelse.

Totalt 218 personer deltok i gruppe 1, mens 171 personer deltok i gruppe 2. Etter blodprøvetaking for QFN SARS ble fire personer i gruppe 1 funnet å ikke være kvalifisert som følge av et reaktivt resultat på en serologitest for en prøve som ble tatt på samme besøk som blodprøven for QFN SARS, og som deretter ble ekskludert fra analysen.

Prøver ble tatt, QFN SARS Blood Collection Tubes ble behandlet, og plasma ble oppbevart ved ≤ -20 °C frem til det var klart for testing med QFN SARS ELISA. Alle QFN SARS ELISA-platekjøringer var gyldige, og det var ingen ubestemte resultater, noe som resulterte i henholdsvis 214 og 171 evaluerbare prøver i gruppe 1 og gruppe 2.

Demografi

Antall prøver som ble tatt i hvert land, og prosent av totalen for hver studiegruppe vises i tabell 11.

Tabell 11. Oppsummering av prøvetakingsland

Prøvetakingsland	Gruppe 1		Gruppe 2	
	N	%	N	%
Nederland	214	100,00 %	153	89,47 %
USA	0	0,00 %	18	10,53 %

En oppsummering av deltakernes alder, inkludert gjennomsnittsalder, medianalder, minimumsalder og maksimumsalder, og standardavvik (SD) for alder vises i tabell 12.

Tabell 12. Oppsummering av deltakernes alder (år)

N	Gj.sn.	Median	SD	Minimum	Maksimum
385	40,47	37,00	14,168	18,00	80,00

En oppsummering av deltakernes kjønn vises i tabell 13.

Tabell 13. Oppsummering av deltakernes kjønn

Kjønn	N	%
Kvinne	234	60,78 %
Mann	151	39,22 %

Spesifisitet

Det kliniske samsvaret, som sammenligner resultater fra QFN SARS med resultater fra referansem metode, vises i tabell 14.

Tabell 14. Klinisk samsvar: QFN SARS-resultat versus referansem metode

		Resultat fra referansem metode		Totalt
		Gruppe 1 (- vaks., -infeksjon)	Gruppe 2 (+ vaks., -infeksjon)	
QFN SARS- resultat	Ikke- reaktiv	199	34	233
	Reaktiv	15	137	152
Totalt		214	171	385

For uvaksinerte personer (gruppe 1) testet 199 av 214 ikke-reaktivt med QFN SARS, mens de resterende 15 testet reaktivt. For vaksinerte personer (gruppe 2) testet 137 av 171 reaktivt med QFN SARS, mens de resterende 34 testet ikke-reaktivt. Ingen av de henholdsvis 15 og 34 diskordante prøvene i gruppe 1 og gruppe 2 ble testet på nytt med en diskordant metode.

Negativt prosentvis samsvar (Negative Percent Agreement, NPA) (spesifisitet) ble beregnet for uvaksinerte personer (gruppe 1), sammen med nøyaktig tosidig 95 % konfidensintervall (Confidence Interval, CI), og vises i tabell 15.

Tabell 15. Negativt prosentvis samsvar (spesifisitet)

Gruppenr.	NPA (spesifisitet)	95 % CI
Gruppe 1 (-vaks, -infeksjon)	92,99 % (199 / 214)	88,70–96,02 %

Sensitivitet

Positivt prosentvis samsvar (Positive Percent Agreement, PPA) (sensitivitet) ble beregnet for vaksinerte personer (gruppe 2), sammen med nøyaktig tosidig 95 % CI, og vises i tabell 16.

Tabell 16. Positivt prosentvis samsvar (sensitivitet)

Gruppenr.	PPA (sensitivitet)	95 % CI
Gruppe 2 (+vaks, -infeksjon)	80,12 % (137 / 171)	73,34–85,82 %

Positivt prosentvis samsvar etter alder

For vaksinerte personer (gruppe 2) ble positivt prosentvis samsvar delt inn etter en alder på < 60 og ≥ 60 år, og vises i tabell 17.

Tabell 17. Positivt prosentvis samsvar etter en alder på < 60 og ≥ 60 år

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

Positivt prosentvis samsvar etter COVID-19-vaksine

For vaksinerte personer (gruppe 2) ble positivt prosentvis samsvar delt inn etter mottatt COVID-19-vaksine, og vises i tabell 18.

Tabell 18. Positivt prosentvis samsvar etter COVID-19-vaksine

Vaksine	PPA (sensitivitet)	95 % CI
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 knyttet til ikke-reaktive resultater hos vaksinerte personer

For å bestemme om økende alder, tid fra fullføring av COVID-19-vaksinasjon, mottatt vaksine og kjønn kan assosieres med ikke-reaktive resultater hos vaksinerte personer (gruppe 2), ble det utført en univariat logistisk regresjonsanalyse. Assosiasjonen mellom hver faktor og ikke-reaktive resultater ble beregnet i form av odds ratio (OR), og resultatene vises i tabell 19.

Tabell 19. Assosiasjon mellom faktorer og ikke-reaktive resultater hos vaksinerte personer

Faktor		OR (95 % CI)	p-verdi
Alder (år)		1,08 (1,05–1,12)	< 0,001
Tid fra vaksinasjon til QFN SARS-blodprøvetaking (dager)		1,02 (1,01–1,03)	< 0,001
Vaksine	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
Kjønn	Kvinne	1	–
	Mann	1,25 (0,59–2,65)	0,565

De eneste faktorene som var signifikant assosiert med ikke-reaktive resultater hos vaksinerte personer, var alder og tid fra vaksinasjon.

Fordi studien ble utført i land der COVID-19-vaksinene ble tilgjengelige for eldre personer først, kan alder ha påvirket assosiasjonen mellom tid fra vaksinasjon og ikke-reaktive resultater. Tabell 20 viser regresjonsanalyse med alder som en kovariat.

Tabell 20. Assosiasjon mellom faktorer og ikke-reaktive resultater kontrollert for alder

Faktor	OR (95 % CI)	p-verdi
Alder (år)	1,07 (1,03–1,11)	< 0,001
Tid fra vaksinasjon til QFN SARS-blodprøvetaking (dager)	1,01 (1,00–1,02)	0,214

Når det kontrolleres for alder, er ikke lenger assosiasjonen mellom tid fra vaksinasjon og ikke-reaktive resultater signifikant, men alder var fortsatt signifikant assosiert.

Referanser

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. *Sci Immunol* [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

Feilsøkingeveiledning

Denne feilsøkingeveiledningen kan være nyttig for å løse problemer som kan oppstå. Hvis du ønsker mer informasjon, kan du også se siden med ofte stilte spørsmål på vårt tekniske supportsenters: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx. Forskerne ved QIAGENs tekniske serviceavdeling er alltid klare til å besvare eventuelle spørsmål du måtte ha enten om informasjonen og/eller protokollene i denne håndboken eller prøve- og analyseteknologi (for kontaktinformasjon, besøk www.qiagen.com).

Kommentarer og forslag

ELISA-feilsøking

Ikke-spesifikk fargeutvikling

- | | |
|---|---|
| a) Ufullstendig vasking av platen | Vask platen minst 6 ganger med 400 µl vaskebuffer per brønn. Mer enn 6 vaskesykluser kan være nødvendig, avhengig av oppvaskmaskinen som brukes. En bløtleggingsperiode på minst 5 sekunder mellom syklusene må benyttes. |
| b) Krysskontaminering av ELISA-brønner | Vær forsiktig ved pipettering og blanding av prøver for å redusere risikoen. |
| c) Settet/komponentene har gått ut på dato | Se til at settet brukes før utløpsdatoen. Kontroller at rekonstituert standard og 100x-konjugatkonsentrat brukes innen tre måneder etter rekonstitueringsdatoen. |
| d) Enzymsubstratløsning er kontaminert | Kast substratet dersom det forekommer blåfarging. Forsikre deg om at rene reagensbeholdere brukes. |
| e) Blanding av plasma i QFN SARS Blood Collection Tubes før høsting | Etter sentrifugering må du unngå å pipettere opp og ned eller blande plasma på noen måte før høsting. Du må til enhver tid passe på ikke å forstyrre materialet på geloverflaten. |

Kommentarer og forslag

Avlesninger av lav optisk tetthet for standarder

- a) Standardfortynningsfeil Påse at fortynninger av settstandarden er klargjort på riktig måte i henhold til denne bruksanvisningen.
- b) Pipetteringsfeil Sørg for at pipettene er kalibrert og brukes i henhold til produsentens instruksjoner.
- c) For lav inkubasjonstemperatur Inkubasjon av ELISA skal utføres ved romtemperatur ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$).
- d) For kort inkubasjonstid Plate med konjugat, standarder og prøver skal inkuberes i 120 ± 5 minutter. Enzymsubstratløsningen skal inkuberes på platen i 30 minutter.
- e) Feil plateleserfilter brukt Platen skal leses ved 450 nm med et referansefilter på mellom 620 og 650 nm.
- f) For kalde reagenser Alle reagenser, med unntak av 100x-konjugatkonsentratet, må bringes til romtemperatur før du begynner analysen. Dette tar ca. 1 time.
- g) Settet/komponentene har gått ut på dato Se til at settet brukes før utløpsdatoen. Sørg for at rekonstituert standard og 100x-konjugatkonsentrat brukes innen 3 måneder etter rekonstitueringsdatoen.

Høy bakgrunn

- a) Ufullstendig vasking av platen Vask platen minst 6 ganger med 400 μ l vaskebuffer per brønn. Det kan være nødvendig med mer enn 6 vaskesykluser. En bløtleggingsperiode på minst 5 sekunder mellom syklusene må benyttes.
- b) For høy inkubasjonstemperatur Inkubasjon av ELISA skal utføres ved romtemperatur ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$).
- c) Settet/komponentene har gått ut på dato Se til at settet brukes før utløpsdatoen. Kontroller at rekonstituert standard og 100x-konjugatkonsentrat brukes innen tre måneder etter rekonstitueringsdatoen.

Kommentarer og forslag















- d) Enzymsubstratløsning er kontaminert Kast substratet dersom det forekommer blåfarging. Forsikre deg om at rene reagensbeholdere brukes.




Ikke-lineær standardkurve og variabilitet mellom duplikat

- a) Ufullstendig vasking av platen Vask platen minst 6 ganger med 400 µl vaskebuffer per brønn. Det kan være nødvendig med mer enn 6 vaskesykluser. En bløtleggingsperiode på minst 5 sekunder mellom syklusene må benyttes.
- b) Standard fortynningsfeil Påse at fortynninger av standarden er klargjort på riktig måte i henhold til denne bruksanvisningen.
- c) Dårlig blanding Bland reagensene grundig ved å snu dem opp og ned eller ved å vortekse dem før de settes på platen.
- d) Inkonsekvent pipetteringsteknikk eller avbrudd under oppsett av analysen Prøve- og standardtillegg skal utføres på kontinuerlig måte. Alle reagenser skal klargjøres før analysen starter.

Symboler

Følgende symboler kan vises i bruksanvisningen eller på emballasjen og merkingen:

Symbol	Symboldefinisjon
 Σ <N>	Inneholder reagenser som er tilstrekkelig til <N> reaksjoner
	Siste forbruksdato
	In vitro-diagnostisk medisinsk utstyr
	Katalognummer
	Partinummer
	Materialnummer (dvs. komponentmerking)
	Komponenter
	Innhold
	Nummer
	Globalt artikkelnummer
	Autorisert representant
	R står for revisjon av bruksanvisningen, og n står for revisjonsnummeret
	Temperaturbegrensning
	Produsent

Symbol	Symboldefinisjon
	Se bruksanvisningen
	Må beskyttes mot sollys
	Advarsel/forsiktig

Kontaktinformasjon

Hvis du trenger teknisk hjelp eller mer informasjon, kan du gå til vårt tekniske supportsenter på www.qiagen.com/Support, ringe 00800-22-44-6000 eller kontakte en av QIAGENS tekniske serviceavdelinger eller lokale distributører (se bak på omslaget eller gå til www.qiagen.com).

Vedlegg A: Teknisk informasjon

Ubestemte resultater

Ubestemte resultater er sjeldne og kan knyttes til testpersonens immunstatus, men det kan også være relatert til en rekke tekniske faktorer (f.eks. feil håndtering/oppbevaring av blodprøvetakingsrør, utilstrekkelig vasking av ELISA-plate) hvis ovenstående bruksanvisning ikke følges.

Hvis det er mistanke om tekniske problemer ved reagensoppbevaring, blodprøvetaking eller håndtering av blodprøver, må hele QFN SARS-testen gjentas med nye blodprøver. Gjentatt ELISA-testing på stimulert plasma kan utføres hvis det er mistanke om utilstrekkelig vasking eller andre prosedyreavvik i forbindelse med ELISA-testen. Legen kan velge å ta en ny prøve eller utføre andre egnede prosedyrer.

Koagulerte plasmaprøver

Hvis det dannes fibrin i forbindelse med langvarig oppbevaring av plasmaprøver, kan prøvene sentrifugeres for å sedimentere det koagulerte materialet og forenkle pipetteringen av plasma.

Lipemiske plasmaprøver

Vær forsiktig når du pipetterer lipemiske prøver, ettersom fettavleiringer kan blokkere pipettespisser.

Vedlegg B: Forkortet ELISA-testprosedyre

1. Ekvilibrer ELISA-komponenter, med unntak av 100x-konjugatkonsentratet, til romtemperatur i minst 60 minutter.



2. Rekonstituer settstandarden til 8,0 IE/ml med destillert eller deionisert vann. Klargjør fire (4) standardfortynninger.

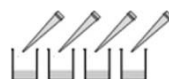


3. Rekonstituer frysetørret 100x konjugatkonsentrat med destillert eller deionisert vann.

4. Klargjør konjugat med arbeidsstyrke i grønn fortynningsløsning, og tilsett 50 µl i alle brønner.



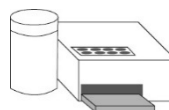
5. Tilsett 50 µl testplasmaprøver og 50 µl standarder i de aktuelle brønnene. Bland med en rister.



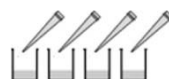
6. Inkuber i 120 minutter ved romtemperatur.



7. Vask brønnene minst 6 ganger med 400 µl vaskebuffer per brønn.



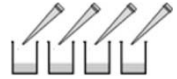
8. Tilsett 100 µl enzymsubstratløsning til brønnene. Bland med en rister.



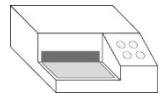
9. Inkuber i 30 minutter ved romtemperatur.



10. Tilsett 50 μ l enzymstoppløsning til alle brønnene. Bland med en rister.



11. Les av resultatene ved 450 nm med 620 til 650 nm referansefilter.



12. Analyser resultatene.



Bestillingsinformasjon

Produkt	Innhold	Kat.nr.
QuantiFERON SARS-CoV-2 (QFN SARS) ELISA Kit	ELISA-sett med 2 plater	626420
Relaterte produkter		
QuantiFERON SARS-CoV-2 Blood Collection Tubes	200 rør (50 hver av Nil, Ag1, Ag2 og Mitogen)	626725

Du finner oppdatert lisensinformasjon og produktspesifikke ansvarsfraskrivelser i håndboken eller bruksanvisningen for det aktuelle QIAGEN-settet. Håndbøker og brukerhåndbøker for QIAGEN-sett er tilgjengelige på www.qiagen.com eller kan fås på forespørsel fra QIAGENs tekniske serviceavdeling eller den lokale distributøren.

Endringshistorikk for dokument

Dato	Beskrivelse
R1, oktober 2021	Første versjon
R2, november 2021	Oppdaterte delene om ytelseegenskaper og klinisk ytelse
R3, april 2022	Oppdaterte delen om analytiske ytelseegenskaper for interfererende stoffer

Denne siden skal være tom.

Denne siden skal være tom.

Denne siden skal være tom.

Begrenset lisensavtale for QuantiFERON® SARS-CoV-2 (QFN SARS) ELISA Kit

Bruk av dette produktet innebærer at enhver kjøper eller bruker av produktet samtykker i følgende vilkår:

1. Produktet kan bare brukes i samsvar med protokollene som leveres med produktet og denne håndboken, og skal bare brukes med komponenter som er inkludert i panelet. QIAGEN gir ingen lisens for noen av sine åndsprodukter til å bruke eller innlemme komponenter i dette panelet med andre komponenter som ikke er inkludert i dette panelet, med unntak av det som er beskrevet i protokollene som leveres med produktet, denne håndboken og andre protokoller som er tilgjengelige på www.qiagen.com. Noen av disse andre protokollene er utarbeidet av QIAGEN-brukere for QIAGEN-brukere. Disse protokollene er ikke blitt grundig testet eller optimalisert av QIAGEN. QIAGEN garanterer ikke for dem og gir heller ingen garanti for at de ikke krenker rettighetene til tredjeparter.
2. QIAGEN gir ingen garanti for at dette panelet og/eller dets bruk ikke krenker rettighetene til tredjeparter, bortsett fra uttrykkelig oppgitte lisenser.
3. Dette panelet og tilhørende komponenter er lisensiert til engangsbruk og kan ikke brukes flere ganger, modifiseres eller selges på nytt.
4. QIAGEN frasier seg spesifikt andre lisenser, uttrykt eller underforstått, bortsett fra de som er uttrykkelig oppgitt.
5. Kjøperen og brukeren av panelet samtykker i at de ikke skal gjøre eller la noen andre gjøre noe som kan resultere i eller fremme handlinger som er forbudt ovenfor. QIAGEN kan håndheve forbud i denne begrensede lisensavtalen i en hvilken som helst domstol, og skal få tilbake alle sine etterforsknings- og domstolskostnader, inkludert advokathonorarer, knyttet til enhver handling som iverksettes for å håndheve denne begrensede lisensavtalen eller eventuelle immaterielle rettigheter forbundet med panelet og/eller komponentene.

Oppdaterte lisensvilkår er tilgjengelige på www.qiagen.com.

Varemerker: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (QIAGEN-gruppen) Proclin®, Registrerte navn, varemerker osv. som brukes i dette dokumentet, skal ikke anses som ubeskyttet ved lov, selv når de ikke er spesiell merket som sådan.

04-22 1124420 © 2022 QIAGEN. Med enerett.

