

April 2019

# Bipacksedel för QuantiFERON<sup>®</sup>- TB Gold Plus (QFT<sup>®</sup>-Plus) ELISA



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Version 1



För in vitro-diagnostisk användning

IFN- $\gamma$ -testet för helblod mäter respons på ESAT-6- och CFP-10-peptidantigener



22120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,  
Tyskland



R6 1083163SV

# Innehåll

Avsedd användning .....	5
Sammanfattning och förklaring av testet .....	5
Användningsprinciper för analysen .....	7
Tid som krävs för att utföra analysen .....	9
Komponenter och förvaring .....	10
Material som behövs men inte medföljer .....	12
Förvaring och hantering av prover .....	13
Blodprovtagningsrör .....	13
Reagenser i kitet .....	13
Rekonstituerade och oanvända reagenser .....	13
Varningar och försiktighet .....	14
Varningar .....	14
Försiktighetsåtgärder .....	15
Provtagning och -hantering .....	18
Anvisningar för användning .....	24
Steg 1 – inkubering av blod och insamling av plasma .....	24
Steg 2 – IFN- $\gamma$ ELISA .....	25
Beräkningar och tolkningar av testet .....	30
Generering av standardkurva .....	30
Kvalitetskontroll av testet .....	31

---

Tolkning av resultat.....	31
Begränsningar.....	34
Prestandaegenskaper.....	35
Kliniska studier.....	35
Analyseffektens egenskaper.....	41
Teknisk information.....	46
Indeterminanta resultat.....	46
Koagulerade plasmaprover.....	46
Felsökningsguide.....	47
Referenser.....	49
Symboler.....	59
Kontaktinformation.....	60
Förkortad testprocedur.....	61
Steg 1 – blodinkubering.....	61
Steg 2 – IFN- $\gamma$ ELISA.....	61
Betydande ändringar.....	63
Revideringshistorik för handboken.....	63



# Avsedd användning

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

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

## Sammanfattning och förklaring av testet

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

---

vaccination med Bacille Calmette-Guérin (BCG) eller infektion med andra mykobakterier än *M. tuberculosis*-komplexet eller andra obestämda faktorer.

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

QFT-Plus är ett test för cellmedierad immunitet (CMI-respons) på peptidantigener som simulerar mykobakteriella proteiner. Dessa proteiner, ESAT-6 och CFP-10, saknas i alla BCG-stammar och i de flesta icke-tuberkulösa mykobakterier, med undantag för *M. kansasii*, *M. szulgai* och *M. marinum* (1). Personer som är infekterade med organismer ur MTB-komplexet har vanligtvis lymfocyter i blodet som känner igen de här och andra mykobakteriella antigener. Den här igenkänningsprocessen innefattar generering och sekretion av cytokinets IFN- $\gamma$ . Detektionen och den efterföljande kvantifieringen av IFN- $\gamma$  utgör grunden för det här testet.

De antigener som används i QFT-Plus är en peptidblandning som simulerar proteinerna ESAT-6 och CFP-10. Flera studier har visat att dessa peptidantigener stimulerar IFN- $\gamma$ -responser i T-celler från personer som har infekterats med *M. tuberculosis*, men i allmänhet inte från ej infekterade eller BCG-vaccinerade personer utan sjukdom eller risk för LTBI (1–32). Emellertid kan medicinsk behandling eller sjukdomstillstånd som skadar immunsystemets funktioner potentiellt minska IFN- $\gamma$ -responserna. Patienter med vissa andra mykobakteriella infektioner kan också svara på ESAT-6 och CFP-10, eftersom de gener som avkodar de här proteinerna förekommer i *M. kansasii*, *M. szulgai* och *M. marinum* (1, 23). QFT-Plus är både ett test för LTBI och ett hjälpmedel för att diagnostisera infektioner orsakade av *M. tuberculosis*-komplexet hos sjuka patienter. Ett positivt resultat ger stöd för diagnosen tuberkulos, men infektioner orsakade av andra mykobakterier (t.ex. *M. kansasii*) kan också ge positiva resultat. Andra medicinska och diagnostiska bedömningar krävs för att tuberkulos ska kunna bekräftas eller uteslutas.

QFT-Plus har två distinkta TB-antigenrör: TB Antigen Tube 1 (TB1) och TB Antigen Tube 2 (TB2). Båda rören innehåller peptidantigener från antigener som är associerade med MTB-komplexet,

ESAT-6 och CFP-10. Medan TB1-röret innehåller peptider från ESAT-6 och CFP-10 som är avsedda att framkalla CMI-respons från CD4<sup>+</sup> T-hjälparlymfocyter så innehåller TB2-röret en ytterligare uppsättning peptider med avsikt att framkalla CMI-responser från cytotoxiska CD8<sup>+</sup> T-lymfocyter. I MTB-infektionens naturalhistoria spelar CD4<sup>+</sup> T-celler en viktig roll inom immunologisk kontroll genom deras sekretion av cytokinets IFN- $\gamma$ . Evidensen stöder nu att CD8<sup>+</sup> T-celler deltar i värdförsvaret mot MTB genom att de producerar IFN- $\gamma$  och andra lättlösliga faktorer, vilka aktiverar makrofager som bromsar tillväxt av MTB, dödar infekterade celler eller lyserar intracellulär MTB (33–35) direkt. MTB-specifika CD8<sup>+</sup>-celler har detekterats hos individer med LTBI och med aktiv TB-sjukdom där IFN- $\gamma$ -producerande CD8<sup>+</sup>-celler ofta är vanligt förekommande (36–38). Vidare beskrivs ESAT-6- och CFP-10-specifika CD8<sup>+</sup> T-lymfocyter vara mer vanligt förekommande hos individer med aktiv TB-sjukdom jämfört med LTBI, och kan associeras med en nylig MTB-exponering (39–41). Därtill har även MTB-specifika CD8<sup>+</sup> T-celler som producerar IFN- $\gamma$  detekterats hos individer med saminfektion mellan aktiv TB och HIV (42, 43) samt hos barn med TB-sjukdom (44).

## Användningsprinciper för analysen

QFT-Plus-analysen använder specifika blodprovtagningsrör för insamling av helblod. Blodet inkuberas i rören i mellan 16 och 24 timmar, och därefter samlas plasma in och provet testas om det innehåller IFN- $\gamma$  som skapats som en respons på peptidantigenerna.

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

Mitogenröret används med QFT-Plus-testet som en positiv kontroll. Detta kan vara viktigt om det finns tveksamheter om personens immunstatus. Mitogenröret fungerar också som en kontroll för att blodet har hanterats och inkuberats på ett korrekt sätt.

---

QFT-Plus-rören skakas för att blanda antigenen med blodet och ska inkuberas i 37 °C så fort som möjligt, och inom 16 timmar efter insamlingen. Efter en inkuberingstid på 16 till 24 timmar centrifugeras rören, plasman tas bort och mängden IFN- $\gamma$  (IU/ml) mäts med ELISA. QFT-Plus ELISA använder en rekombinant human IFN- $\gamma$ -standard, som har analyserats mot en referens-IFN- $\gamma$ -beredning (NIH Ref: Gxg01-902-535). Resultaten för testprovet rapporteras i internationella enheter (International Units, IU) per ml (Iu/ml) relaterat till standardkurvan som beretts med hjälp av testspädningar av standarden som medföljer kitet.

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

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



---

## Tid som krävs för att utföra analysen

En uppskattning av den tid som krävs för att utföra QFT-Plus ELISA anges nedan. Tiden för att utföra testserier av flera prover visas också:

Inkubering av blodrör i 37 °C: 16 till 24 timmar

ELISA: Ca 3 timmar för en ELISA-platta

(22 personer)

< 1 timmes arbete

Lägg till 10 till 15 minuter för varje extra platta

# Komponenter och förvaring

Blodprovtagningsrör*		200 rör	Förpackning för en patient	Dispenseringsförpackning	HA, 200 rör	HA, förpackning för en patient	HA, dispenseringsförpackning
Katalognr.		622526	622222	622423	623526	623222	623423
Antal tester/förpackning		50	10	25	50	10	25
QuantiFERON Nil Tube (grå kork, vit ring)	Nil	50 rör	10 rör	25 rör			
QuantiFERON TB1 Tube (grön kork, vit ring)	TB1	50 rör	10 rör	25 rör			
QuantiFERON TB2 Tube (gul kork, vit ring)	TB2	50 rör	10 rör	25 rör			
QuantiFERON Mitogen Tube (lila kork, vit ring)	Mitogen	50 rör	10 rör	25 rör			
QuantiFERON Nil HA Tube (grå kork, gul ring)	Nil HA				50 rör	10 rör	25 rör
QuantiFERON TB1 HA Tube (grön kork, gul ring)	TB1 HA				50 rör	10 rör	25 rör
QuantiFERON TB2 HA Tube (gul kork, gul ring)	TB2 HA				50 rör	10 rör	25 rör
QuantiFERON Mitogen HA Tube (lila kork, gul ring)	Mitogen HA				50 rör	10 rör	25 rör
Bipacksedel för QFT-Plus Blood Collection Tubes		1	1	1	1	1	1

\* Alla produktkonfigurationer är inte tillgängliga i alla länder. Hos QIAGENs kundtjänst ([www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)) finns mer information om vilka konfigurationer som går att beställa.

ELISA-komponenter†	Kit med 2 plattor, ELISA	Referenslaboratorieförpackning
Katalognr.	622120	622822
Microplate Strips (Mikroplattresor, 12 x 8 brunnar, belagda med murin anti-human IFN- $\gamma$ monoklonal antikropp)	2 mikroplattresor med 96 brunnar	20 mikroplattresor med 96 brunnar
IFN- $\gamma$ Standard, lyophilized (IFN- $\gamma$ -standard, lyofiliserad; innehåller rekombinant human IFN- $\gamma$ , bovint kasein, 0,01 % w/v timerosal)	1 x flaska (8 IU/ml rekonstituerad)	10 x flaska (8 IU/ml rekonstituerad)
Green Diluent (Grön diluent; innehåller bovint kasein, normalt musserum, 0,01 % w/v timerosal)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate, lyophilized (Konjugat 100x koncentrat, lyofiliserat) (murin anti-human IFN- $\gamma$ HRP, innehåller 0,01 % w/v timerosal)	1 x 0,3 ml (rekonstituerad)	10 x 0,3 ml (rekonstituerad)
Wash Buffer 20x Concentrate (Tvättbuffert 20x koncentrat; pH 7,2, innehåller 0,05 % v/v ProClin® 300)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Enzymsubstratlösning) (innehåller H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3', 5,5' tetrametylbenzidin)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Enzymstopplösning) (innehåller 0,5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	1 x 15 ml	10 x 15 ml
Bipacksedel för QFT-Plus ELISA	1	1

† På sidan 15 finns information om försiktighetsåtgärder och risker.

---

## Material som behövs men inte medföljer

- 37 °C ± 1 °C-inkubator\*. CO<sub>2</sub> behövs inte
- Kalibrerade pipetter med variabel volym\* för tillförsel av 10 till 1 000 µl med engångsspetsar
- Kalibrerad flerkanalspipett\* med kapacitet för tillförsel av 50 µl och 100 µl med engångsspetsar
- Plattlock
- Skakapparat för mikroplattor\*
- Avjoniserat eller destillerat vatten, 2 liter
- Tvätt för mikroplattor (automatisk tvätt rekommenderas)
- Läsare för mikroplattor\* utrustad med 450 nm-filter och referensfilter för 620 nm till 650 nm

\* Kontrollera att instrumenten har kontrollerats och kalibrerats enligt tillverkarens instruktioner.

---

# Förvaring och hantering av prover

## Blodprovtagningsrör

- Förvara blodprovtagningsrör i 4 °C till 25 °C.

## Reagenser i kitet

- Förvara kitreagenserna i 2 °C till 8 °C.
- Skydda alltid enzymsubstratlösning mot direkt solljus.

## Rekonstituerade och oanvända reagenser

Instruktioner om hur reagenserna ska rekonstitueras finns på sidan 26.

- Den rekonstituerade kit-standarden kan förvaras i upp till 3 månader om den förvaras i 2 °C till 8 °C.

Notera datumet då kit-standarden rekonstituerades.

- Efter rekonstituering måste oanvänt konjugatkoncentrat (100x) återföras till förvaring i 2 °C till 8 °C och det måste 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.

# Varningar och försiktighet

Endast för in vitro-diagnostisk användning.

## Varningar

- Ett negativt QFT-Plus-resultat utesluter inte möjligheten av *M. tuberculosis*-infektion eller tuberkulossjukdom. Ett felaktigt negativt resultat kan bero på infektionens stadium (t.ex. om prover tas innan cellerna har hunnit utveckla immunresponsen), komorbida tillstånd som påverkar immunfunktionerna, felaktig hantering av blodprovtagningsrören efter venpunktur, felaktigt utförd analys eller andra immunologiska variabler.
- Ett positivt QFT-Plus-resultat ska inte vara det enda eller det definitiva underlaget för att diagnostisera *M. tuberculosis*. En felaktigt utförd analys kan leda till felaktigt positiva responser.
- Ett positivt QFT-Plus-resultat ska följas av ytterligare medicinsk bedömning och diagnostik för aktiv tuberkulossjukdom (t.ex. AFB-utstrykningsprov och -odling, bröstkorgsröntgen).
- Även om ESAT-6 och CFP-10 inte förekommer i någon BCG-stam eller i de flesta kända icke-tuberkulösa mykobakterier, är det möjligt att ett positivt QFT-Plus-resultat orsakas av en infektion av *M. kansasii*, *M. szulgai* eller *M. marinum*. Om det finns misstanke om sådana infektioner ska alternativa tester utföras.

## Försiktighetsåtgärder

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



**FÖRSIKTIGHET:** Hantera humant blod och plasma som potentiellt smittsamt. Observera relevanta riktlinjer om hantering av blod och blodprodukter. Kassera prover och material som kommit i kontakt med blod eller blodprodukter enligt gällande nationella och lokala föreskrifter.

Följande information om risker och försiktighetsåtgärder gäller komponenter till QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA.

### Information om risker



#### 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 trisodium 5-hydroxi-1-(4-sulfofenyl)-4-(4-sulfofenylazo)pyrazol-3-karboxylat. Innehåller: tartrazin. Varning! Kan orsaka allergisk hudreaktion. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd.

### QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Innehåller: Blandning av 5-klor-2-metyl-4-isotiazolin-3-on och 2-metyl-2H-isotiazol-3-on (3:1). Skadliga långtidseffekter för vattenlevande organismer. Undvik miljöutsläpp.

## Information om försiktighetsåtgärder

Inhämta särskilda instruktioner före användning. Använd skyddshandskar/skyddskläder/ögonskydd/ansiktsskydd. VID HUDKONTAKT (eller kontakt med håret): Ta omedelbart av alla nedstänkta kläder. Skölj huden med vatten/duscha. VID KONTAKT MED ÖGONEN: Skölj försiktigt med vatten i flera minuter. Ta ur eventuella kontaktlinser om det går lätt. Fortsätt att skölja. Vid exponering eller misstanke om exponering: Sök läkarhjälp. Kontakta genast GIFTINFORMATIONSCENTRAL eller läkare. Vid hudirritation eller utslag: Sök läkarhjälp. Nedstänkta kläder tas av och tvättas innan de används igen. Förvaras inlåst. Innehållet/behållaren lämnas till en godkänd avfallsanläggning.

## Mer information

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

- Avvikelse från anvisningarna på bipacksedeln för *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA* kan leda till felaktiga resultat. Läs anvisningarna noga före användning.
- Använd inte kitet om någon reagensflaska uppvisar tecken på skador eller läckage.
- Viktigt: Kontrollera flaskorna innan användning. Använd inte konjugat eller IFN- $\gamma$  standardflaskor som uppvisar tecken på skada eller om gummiförslutningen är överkad.



---

Hantera inte trasiga flaskor. Vidta lämpliga säkerhetsåtgärder för säker kassering av flaskor. Rekommendation: Använd en krymplocksöppnare för att öppna konjugat eller IFN- $\gamma$  standardflaskorna för att minimera risken för skador från krymplocket i metall.

- Blanda eller använd inte remsor för mikroplattor, IFN- $\gamma$ -standard, grön diluent eller konjugatkoncentrat 100x från olika QFT-Plus-kitbatchar. Andra reagenser (tvättbuffertkoncentrat (20x), enzymsubstratlösning och enzymstopplösning) kan bytas ut mellan kiten förutsatt att reagenserna inte har passerat utgångsdatum och att lotuppgifterna är sparade.
- Kassera oanvända reagenser och biologiska prover i enlighet med lokala och nationella föreskrifter.
- Använd inte QFT-Plus Blood Collection Tubes eller ELISA-kitet efter utgångsdatumet.
- Korrekta laboratorieprocedurer bör alltid följas.
- Säkerställ att laboratorieutrustning har kalibrerats/validerats för användning.

# Provtagning och -hantering

QFT-Plus använder följande provtagningsrör:

1. QuantiFERON Nil -rör (grå kork med vit ring)
2. QuantiFERON TB1 -rör (grön kork med vit ring)
3. QuantiFERON TB2 -rör (gul kork med vit ring)
4. QuantiFERON Mitogen -rör (lila kork med vit ring)
5. QuantiFERON HA Nil -rör (grå kork med gul ring)
6. QuantiFERON HA TB 1 -rör (grön kork med gul ring)
7. QuantiFERON HA TB2 -rör (gul kork med gul ring)
8. QuantiFERON HA Mitogen -rör (lila kork med gul ring)

Antigener har torkats på innerväggarna i blodprovtagningsrören, så det är därför viktigt att innehållet i rören blandas omsorgsfullt med blodet. Om blod samlas in direkt i QFT-Plus-rören måste rören förvaras och transporteras i rumstemperatur ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) och överföras till en  $37\text{ °C}$ -inkubator så snart som möjligt och inom 16 timmar efter insamlingen. Alternativt kan blod samlas in i ett rör innehållande litium- eller natriumheparin för förvaring innan överföring till QFT-Plus och inkubering. Blodprover som samlas in i rör innehållande litium- eller natriumheparin kan förvaras i upp till 16 timmar i rumstemperatur ( $17\text{--}25\text{ °C}$ ) följt av överföring till QFT-Plus-rör. Blodprover i rör innehållande litium- eller natriumheparin kan även förvaras i  $2\text{--}8\text{ °C}$  i upp till 48 timmar innan överföring till QFT-Plus-rören. Se avsnittet "Blod kan samlas in med ett enda rör som innehåller litium- eller natriumheparin och sedan överföras till QFT-Plus Blood Collection Tubes".

## Direktinsamling i QFT-Plus Blood Collection Tubes

### 1. Märk rören ordentligt.

Kontrollera att alla rören (Nil, TB1, TB2 och Mitogen) kan identifieras med hjälp av sin etikett eller på något annat sätt när korken tas bort.

Det rekommenderas att tid och datum för provtagning registreras.

### 2. Använd venpunktur och samla upp 1 ml blod från varje patient direkt i vardera QFT-Plus Blood Collection Tubes. Denna procedur bör utföras av utbildad provtagningspersonal.

Viktig anmärkning: Rören ska ha en temperatur på 17–25 °C när de fylls med blod.

QFT-Plus Blood Collection Tubes för standardbruk kan användas på en höjd upp till 810 meter över havet. QFT-Plus Blood Collection Tubes för höghöjdsbruk kan användas på höjder mellan 1020 meter och 1875 meter över havet.

Eftersom 1 ml-rör samlar in blod relativt långsamt ska röret hållas kvar mot nålen i 2–3 sekunder när röret verkar vara helt fyllt. På så sätt säkerställer du att rätt volym blod har samlats in.

- Det svarta märket på sidan av rören indikerar det godkända intervallet på 0,8–1,2 ml. Om blodnivån i ett rör ligger utanför intervallmärket ska ett nytt blodprov tas. Under- eller överfyllning av rören utanför intervallet på 0,8 till 1,2 ml kan orsaka felaktiga resultat.
- Om en fjärilsnål används för blodprovet bör ett s.k. spolrör användas för att säkerställa att slangen fylls med blod innan QFT-Plus-rören används.
- Om QFT-Plus Blood Collection Tubes används på högre höjd än 810 meter eller om mindre blodvolym erhålls kan användaren samla in blod med en spruta och sedan omedelbart överföra 1 ml blod till vart och ett av de 4 rören. Av säkerhetsskäl utförs detta lämpligast genom att ta bort sprutnålen (följ de vanliga säkerhetsprocedurerna) och sedan ta bort korkarna från de 4 QFT-Plus-rören och fylla varje rör med 1 ml blod (upp till mitten av det svarta märket på sidan). Sätt tillbaka korkarna ordentligt och blanda enligt beskrivningen nedan. Kontrollera att alla rören (Nil, TB1, TB2 och Mitogen) kan identifieras med hjälp av sin etikett eller på annat sätt när korken tas bort.

3. Omedelbart efter att du har fyllt rören skakar du dem tio (10) gånger så att hela den invändiga ytan är täckt med blod. Detta görs för att lösa upp antigenerna som finns på väggarna inuti röret.

Viktig anmärkning: Rören ska ha en temperatur på 17 °C–25 °C när de skakas. För kraftig skakning av rören kan orsaka att gelen löses upp, vilket kan leda till avvikande resultat.

4. Efter märkning, fyllning och skakning ska rören flyttas till en 37 °C ± 1 °C-inkubator så fort som möjligt och senast 16 timmar efter blodprovstagningen. Förvara och transportera rören i rumstemperatur (22 °C ± 5 °C) innan inkuberingen. Om QFT-Plus-rör inte inkuberas i 37 °C direkt efter blodprovstagning och skakning, vänd på rören 10 gånger för att blanda dem innan inkubering i 37 °C.
5. Inkubera QFT-Plus-rören STÅENDE i 37 °C ± 1 °C i 16 till 24 timmar. Inkubatorn behöver inte CO<sub>2</sub> och behöver inte fuktas.

Blod kan samlas in med ett enda rör som innehåller litium- eller natriumheparin och sedan överförs till QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Blod kan samlas in med ett enda blodprovtagingsrör som innehåller litium- eller natriumheparin som antikoagulant och sedan överförs till QFT-Plus Blood Collection Tubes. Använd endast litium- eller natriumheparin som blodantikoagulant, eftersom andra antikoagulanter kan interferera med analysen. Märk rören ordentligt.

Det rekommenderas att röret märks med tid och datum för provtagningen.

Viktigt: Blodprovtagingsrören ska ha rumstemperatur (17 till – 25 °C) när de fylls med blod.

2. Fyll ett blodprovtagingsrör med litium- eller natriumheparin (minimivolyt 5 ml) och blanda försiktigt genom att vända röret flera gånger för att lösa upp heparinet. Denna procedur bör utföras av utbildad provtagningspersonal.
3. Bibehållen tid och temperaturalternativ för rör innehållande litium- eller natriumheparin innan överföring och inkubering i QFT-Plus Blood Collection Tubes (se figur 1-3 Blodprovtagningalternativ).

Alternativ 1 – Förvaring och hantering i rumstemperatur av rör innehållande litium- eller natriumheparin Blod som samlas in i rör innehållande litium- eller natriumheparin får inte förvaras i rumstemperatur (22 °C ± 5 °C) i mer än 16 timmar från tiden för insamlingen innan överföring till QFT-Plus Blood Collection Tubes och efterföljande inkubering.

Alternativ 2 – Förvaring och hantering i kylskåpstemperatur av rör innehållande litium- eller natriumheparin

Viktigt: Procedurstegen a-d måste utföras i följd.

- a. Blod som samlas in i rör innehållande litium- eller natriumheparin kan förvaras i rumstemperatur (17–25 °C) i upp till 3 timmar efter blodprovstagning.
- b. Blod som samlas in i rör innehållande litium- eller natriumheparin kan förvaras i kylskåpstemperatur (2-8 °C) i upp till 48 timmar.
- c. Efter nedkylning måste rör innehållande litium- eller natriumheparin ekvibreras till rumstemperatur (17–25 °C) innan överföring till QFT-Plus Blood Collection Tubes.
- d. Alikvoterade QFT-Plus Blood Collection Tubes bör placeras i 37 °C-inkubatorn inom 2 timmar efter blodöverföring.

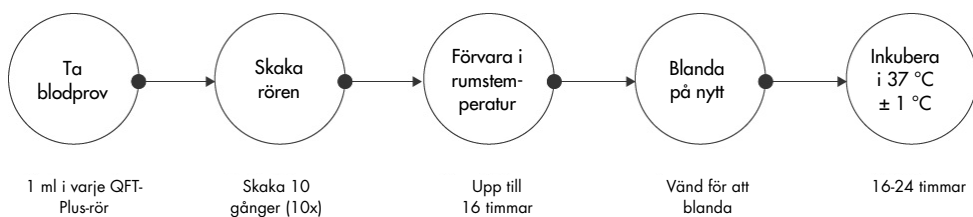
Om QFT-Plus Blood Collection Tubes inte inkuberas i 37 °C direkt efter överföring till QFT-Plus Blood Collection Tubes och skakning, vänd på rören 10 gånger för att blanda dem innan inkubering i 37 °C. Den totala tiden från blodprovstagning till inkubering i QFT-Plus Blood Collection Tubes bör inte överstiga 53 timmar.

4. Överföring av blodprov från ett rör innehållande litium- eller natriumheparin till QFT-Plus Blood Collection Tubes:
  - a. Märk varje QFT-Plus Blood Collection Tube på lämpligt sätt.

Kontrollera att alla rören (Nil, TB1, TB2 och Mitogen) kan identifieras med hjälp av sin etikett eller på annat sätt när korken tas bort. Det rekommenderas att registrerad tid och datum för blodprovstagning överförs från rören innehållande litium- eller natriumheparin till QFT-Plus Blood Collection Tubes.
  - b. Prover måste blandas ordentligt genom att vända rören försiktigt innan de fördelas i QFT-Plus Blood Collection Tubes.

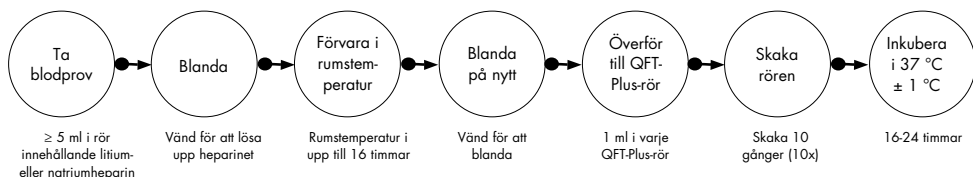
- c. Fördelning utförs lämpligast aseptiskt (relevanta säkerhetsprocedurer måste följas) genom att ta bort locken från de 4 QFT-Plus Blood Collection Tubes och tillsätta 1 ml blod i varje rör. Sätt tillbaka korkarna ordentligt och blanda enligt beskrivningen nedan. Kontrollera att alla rören (Nil, TB1, TB2 och Mitogen) kan identifieras med hjälp av sin etikett eller på annat sätt när korken tas bort.
5. Blanda rören. Omedelbart efter att du har fyllt QFT-Plus Blood Collection Tubes skakar du dem tio (10) gånger så att hela den invändiga ytan är täckt med blod. Detta görs för att lösa upp antigenerna som finns på väggarna inuti röret.
- För kraftig skakning av rören kan orsaka att gelen löses upp, vilket kan leda till avvikande resultat.
6. Efter märkning, fyllning och skakning ska rören flyttas till en  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ -inkubator inom 2 timmar. Om QFT-Plus Blood Collection Tubes inte inkuberas i  $37\text{ °C}$  direkt efter blodprovstagning och skakning, vänd på rören 10 gånger (10x) för att blanda dem innan inkubering i  $37\text{ °C}$  (se figur 1-3 på nästa sida för blodprovtagningalternativ).
7. Inkubera QFT-Plus Blood Collection Tubes STÅENDE i  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  i 16 till 24 timmar. Inkubatorn behöver inte  $\text{CO}_2$  och behöver inte fuktas.

#### Insamling i QFT-Plus Blood Collection Tubes och förvaring i rumstemperatur.



Figur 1. Blodprovtagningalternativ: Insamling direkt i QFT-Plus Blood Collection Tubes och förvaring i rumstemperatur. Den totala tiden från blodprovstagning i QFT-Plus Blood Collection Tubes till  $37\text{ °C}$ -inkubering får inte överskrida 16 timmar.

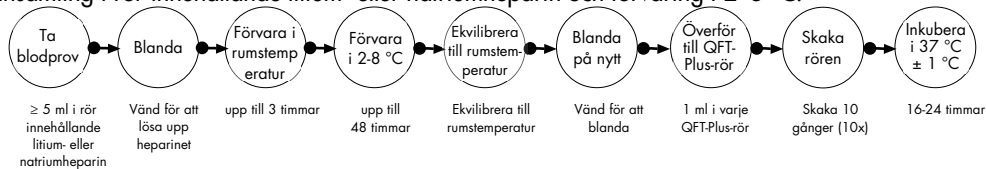
## Insamling i rör innehållande litium- eller natriumheparin och förvaring i rumstemperatur.



Figur 2. Blodprovtagningalternativ: Insamling i rör innehållande litium- eller natriumheparin och förvaring i rumstemperatur.

Den totala tiden från blodprovstagning i rör innehållande litium- eller natriumheparin till 37 °C-inkubering får inte överskrida 16 timmar.

## Insamling i rör innehållande litium- eller natriumheparin och förvaring i 2–8 °C.



Figur 3. Blodprovtagningalternativ: Insamling i rör innehållande litium- eller natriumheparin och förvaring i 2–8 °C. Den totala tiden från blodprovstagning i rör innehållande litium- eller natriumheparin till 37 °C-inkubering får inte överskrida 53 timmar.

# Anvisningar för användning

## Steg 1 – inkubering av blod och insamling av plasma

### Material som medföljer

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

### Material som behövs men inte medföljer

- Se avsnitt 3

### Procedur

1. Om blodet inte inkuberas direkt efter provtagningen måste innehållet i rören blandas på nytt genom att vända rören 10 gånger omedelbart innan inkuberingen.
2. Inkubera rören STÅENDE i  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  i 16 till 24 timmar. Inkubatorn behöver inte  $\text{CO}_2$  och behöver inte fuktas.
3. Efter inkubering i  $37\text{ °C}$  kan blodprovtagningsrören förvaras i mellan  $4\text{ °C}$  och  $27\text{ °C}$  i upp till 3 dagar innan centrifugering.
4. Efter inkubering av rören i  $37\text{ °C}$  centrifugeras rören i 15 minuter med 2 000 till 3 000 x RCF (g) för att underlätta insamling av plasma. Gelpluggen separerar cellerna från plasman. Om separering uteblir ska rören centrifugeras igen.

Plasma kan också samlas in utan centrifugering, men du måste då vara extra försiktig för att inte cellerna ska skadas när plasman avlägsnas.

5. Plasmaprover ska endast samlas in med pipett.

Viktig anmärkning: 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.



Plasmaprover kan laddas direkt från centrifugerade provtagningsrör till QFT-Plus ELISA-plattan, även när automatiska ELISA-terminaler används.

Plasmaprover kan förvaras i upp till 28 dagar i 2 °C till 8 °C eller, om plasman har extraherats, även under längre tid vid förvaring i -20 °C.

Samla in minst 150 µl plasma för att få användbara testprover.

## Steg 2 – IFN- $\gamma$ ELISA

### Material som medföljer

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

### Material som behövs men inte medföljer

- Se avsnitt 3.

### Procedur

1. Alla plasmaprover och reagenser utom konjugatkoncentrat (100 $\times$ ) måste ha rumstemperatur ( $22 \pm 5$  °C) innan de används. Ekvilibrera i minst 60 minuter.
2. Ta bort remsor som inte används från ramen. Lägg tillbaka i foliebehållaren, återförslut och förvara dem i kylskåp tills de behövs.

Se till att det finns minst 1 remsa för QFT-Plus-standarderna och tillräckligt många remsor för de individer som ska testas (se Figur 5). Ramen ska sparas efter användning och användas tillsammans med de oanvända remsorna.

3. Rekonstituera IFN- $\gamma$ -standarderna med den volym avjoniserat eller destillerat vatten som anges på etiketten till flaskan. Blanda försiktigt för att minimera skumbildning och få en fullständig solubilisering. Rekonstituering av standarderna till den angivna volymen ger en lösning med en koncentration på 8,0 IU/ml.

Viktig anmärkning: Rekonstitutionsvolymen för kitstandarderna varierar mellan olika batchar.

Använd den rekonstituerade kitstandarden för att skapa en 1 till 2-spädningsserie följt av en 1 till 4-spädningsserie med IFN- $\gamma$  i grön diluent (Green Diluent, GD) (se Figur 4). S1 (standard 1) innehåller 4,0 IU/ml, S2 (standard 2) innehåller 1,0 IU/ml, S3 (standard 3) innehåller 0,25 IU/ml och S4 (standard 4) innehåller 0 IU/ml (enbart GD). Standarderna måste minst analyseras som duplikat. Bered nya spädningar av kitstandarden för varje ELISA-procedur.

#### Rekommenderad procedur för duplikata standarder

Märk 4 rör med "S1", "S2", "S3", "S4".

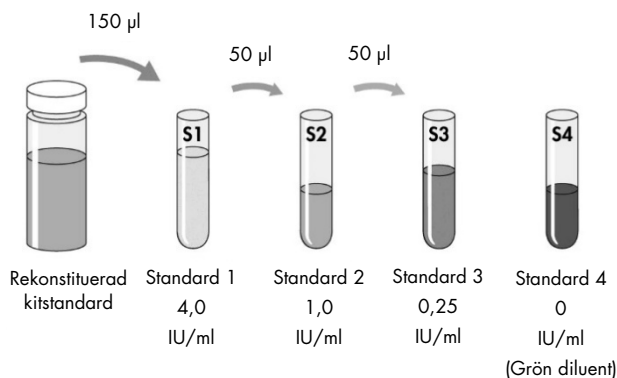
Tillsätt 150  $\mu$ l GD i S1, S2, S3, S4.

Tillsätt 150  $\mu$ l kitstandard i S1 och blanda väl.

Överför 50  $\mu$ l från S1 till S2 och blanda väl.

Överför 50  $\mu$ l från S2 till S3 och blanda väl.

Enbart GD används som nollstandard (S4).



Figur 4. Beredning av standardkurva.

4. Rekonstituera lyofiliserat konjugatkoncentrat (100x) med 0,3 ml avjoniserat eller destillerat vatten. Blanda försiktigt för att minimera skumbildning och ge konjugatet en fullständig solubilisering.

Arbetsutspädning av konjugat bereds genom att erforderad mängd rekonstituerat konjugatkoncentrat (100x) späds i grön diluent (Tabell 1. Beredning av konjugat). Oanvänt konjugatkoncentrat (100x) ska återföras till förvaring i 2 °C till 8 °C omedelbart efter användning. Använd endast grön diluent.

Tabell 1. Beredning av konjugat

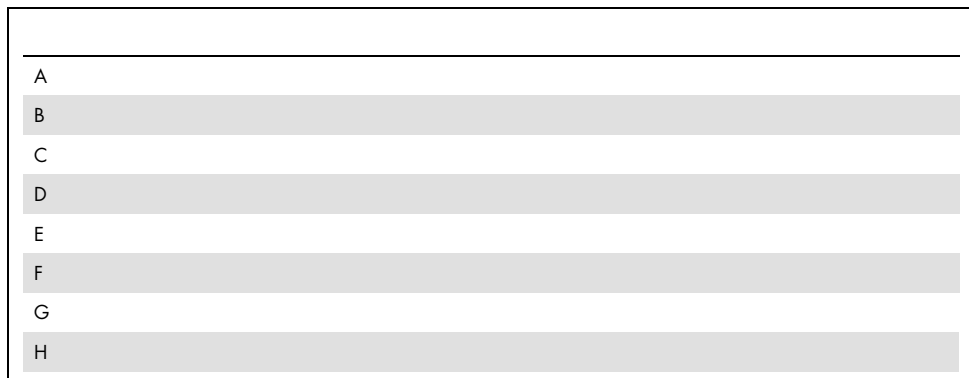
Antal remsor	Volym konjugatkoncentrat (100x)	Volym grön diluent
2	10 µl	1,0 ml
3	15 µl	1,5 ml
4	20 µl	2,0 ml
5	25 µl	2,5 ml
6	30 µl	3,0 ml
7	35 µl	3,5 ml
8	40 µl	4,0 ml
9	45 µl	4,5 ml
10	50 µl	5,0 ml
11	55 µl	5,5 ml
12	60 µl	6,0 ml

5. Plasmaprover som har samlats in från blodprovtagningsrör och som sedan har förvarats (kylda eller frusna) ska blandas noggrant innan de tillsätts i ELISA-brunnen.

Viktig anmärkning: Om plasmaprover ska tillsättas direkt från de centrifugerade QFT-Plus-rören 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 rätt ELISA-brunnar med hjälp av en flerkanalpipett.

7. Tillsätt 50 µl av testplasmaprover i rätt brunnar med hjälp av en flerkanalspipett (se rekommenderad plattlayout i Figur 5). Tillsätt slutligen 50 µl vardera av standarderna 1 till 4.



Figur 5. Rekommenderad provlayout (22 tester per platta)

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

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

8. Täck varje platta och blanda konjugat- och plasmaprover/standarder nogga med en skakapparat för mikropettor i 1 minut. Undvik stänk.
9. Täck varje platta och inkubera i rumstemperatur ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) i  $120 \pm 5$  minuter. Plattorna ska inte utsättas för direkt solljus under inkubering.
10. Under inkuberingen ska en del tvättbuffertkoncentrat (20x) spädas med 19 delar avjoniserat eller destillerat vatten och blandas väl. Tillräckligt med tvättbuffertkoncentrat (20x) medföljer för att bereda 2 liter arbetsutspädning av tvättbuffert.
- Tvätta brunnarna med 400 µl arbetsutspädning av tvättbuffert i minst 6 cykler. En automatisk platttvättmaskin bör användas.
- För att analysen ska bli korrekt måste 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.

11. Vänd plattorna med ovasidan nedåt på en absorberande lågluddande handduk för att avlägsna rester av tvättbuffert. Tillsätt 100 µl enzymsubstratlösning i varje brunn, täck varje platta och blanda noga med en skakapparat för mikropettor.
12. Täck varje platta och inkubera i rumstemperatur ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) i 30 minuter.  
Plattorna ska inte utsättas för direkt solljus under inkubering.
13. Efter en inkubering på 30 minuter ska 50 µl enzymstopplösning tillsättas i varje brunn och blandas ut.  
Enzymstopplösning ska tillsättas i brunnarna i samma ordning och vid ungefär samma hastighet som substratet tillsattes i steg 11.
14. Mät den optiska densiteten (Optical Density, OD) för varje brunn i en läsare för mikropettor 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.

# Beräkningar och tolkningar av testet

QFT-Plus-analysprogram kan användas till att analysera rådata och beräkna resultat. Det kan beställas från [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Kontrollera att den senaste versionen av QFT-Plus-analysprogrammet används.

Programmet gör en kvalitetsbedömning av analysen, genererar en standardkurva och ger ett testresultat för varje individ (läs mer i avsnittet *Tolkning av resultat*).

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

## Generering av standardkurva

(Om QFT-Plus-analysprogrammet inte används)

Beräkna OD-medelvärdet för kitstandardreplikaten på varje platta.

Skapa en  $\log_{(e)}\text{-}\log_{(e)}$  standardkurva genom att rita ut  $\log_{(e)}$  för OD-medelvärdet (y-axeln) mot  $\log_{(e)}$  för IFN- $\gamma$ -koncentrationen hos standarderna i IU/ml (x-axeln). Nollstandard tas ej med i beräkningen. Beräkna standardkurvas trendlinje med regressionsanalys.

Använd standardkurvan för att bestämma IFN- $\gamma$ -koncentrationen (IU/ml) för vart och ett av plasmaproverna i testet genom att använda OD-värdet för dem.

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 ( $r$ ).

## 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 OD-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 OD-enheter från medelvärdet.
- Korrelationskoefficienten ( $r$ ) som beräknas utifrån de genomsnittliga absorptionsvärdena för standarderna måste vara  $\geq 0,98$ .

QFT-Plus-analysprogrammet beräknar och rapporterar dessa parametrar från kvalitetskontrollen.

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.

## Tolkning av resultat

QFT-Plus-resultat ska tolkas med hjälp av följande kriterier (Tabell 2):

Viktig anmärkning: Att diagnostisera eller utesluta tuberkulossjukdom och bedöma sannolikheten för LTBI kräver att en kombination av epidemiologiska, historiska, medicinska och diagnostiska resultat tas med i bedömningen när QFT-Plus-resultaten tolkas.

Tabell 2. Tolkning av QFT-Plus-resultat

Nil (IU/ml)	TB1 minus Nil (IU/ml)	TB2 minus Nil (IU/ml)	Mitogen minus Nil (IU/ml)*	QFT-Plus-resultat	Rapport/tolkning
	≥ 0,35 och ≥ 25 % av Nil-värdet	Alla			
	Alla	≥ 0,35 och ≥ 25 % av Nil-värdet	Alla	Positiv†	<i>M. tuberculosis</i> -infektion sannolik
≤ 8,0	< 0,35 eller ≥ 0,35 och < 25 % av Nil-värdet	< 0,35 eller ≥ 0,35 och < 25 % av Nil-värdet	≥ 0,5	Negativ	<i>M. tuberculosis</i> -infektion INTE sannolik
	< 0,35 eller ≥ 0,35 och < 25 % av Nil-värdet	< 0,35 eller ≥ 0,35 och < 25 % av Nil-värdet	< 0,5	Indeterminant‡	Sannolikhet för <i>M. tuberculosis</i> -infektion kan inte bestämmas
> 8,0§		Alla		Indeterminant‡	Sannolikhet för <i>M. tuberculosis</i> -infektion kan inte bestämmas

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

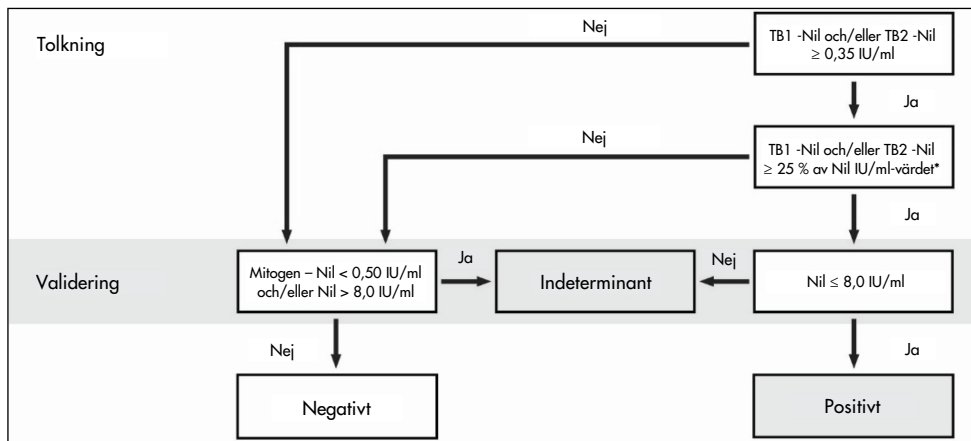
† Om *M. tuberculosis*-infektion inte misstänks kan initialt positiva resultat bekräftas genom att ett nytt test utförs med de ursprungliga duplikata plasmaproverna med QFT-Plus ELISA. Om det nya testet av ett eller båda replikaten är positivt ska individen bedömas som positiv i testet.

‡ Se avsnittet "Felsökning" för sannolika orsaker.

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

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





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

Figur 6. Flödesschema för QFT-Plus-tolkning

---

# Begränsningar

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

Individer med högre Nil-värden än 8,0 IU/ml klassificeras som "indeterminanta", eftersom en 25 % högre respons på TB-antigenerna kan ligga utanför analysens mätområde.

Ej tillförlitliga eller indeterminanta resultat kan bero på:

- Avvikelse från proceduren som beskrivs i denna bipacksedel
- Onormalt höga nivåer cirkulerande IFN- $\gamma$  eller förekomst av heterofila antikroppar
- Det tog mer än 16 timmar från det att blodprovet togs tills det inkuberades vid 37 °C. Detta gäller inte om 2-8 °C-arbetsflödet används för rör innehållande litiumheparin eller natriumheparin.

# Prestandaegenskaper

## Kliniska studier

Eftersom det inte finns ett bestämt standardtest för LTBI kan uppskattningar av sensitivitet och specificitet för QFT-Plus inte utvärderas praktiskt. Specificiteten för QFT-Plus har uppskattats genom att utvärdera felaktigt positiva svar för personer med låg risk (inga kända riskfaktorer) för tuberkulosinfektion. Sensitiviteten har uppskattats genom att utvärdera patientgrupper med odlingsverifierad aktiv TB-sjukdom.

### Specificitet

En studie som utvärderade QFT-Plus-specificitet för 409 individer utfördes. Demografisk information och riskfaktorer för TB-exponering bestämdes med hjälp av en standardiserad enkät som genomfördes vid testningen.

I en sammanfattning av resultaten från de 2 patientgrupperna med låg risk (inga kända riskfaktorer) för tuberkulosinfektion var den allmänna specificiteten för QFT-Plus 97,6 % (399/409) (Tabell 3 och Tabell 4).

Tabell 3. Resultat från QFT-Plus-specificitetsstudie per studieplats

Studie	Positivt	Negativt	Indeterminant	Specificitet (95 % CI)
Japan	4	203	0	98 % (95–100 %)
Australien	6	196	0	97% (94–99%)

Tabell 4. Resultat från QFT-Plus-specificitetsstudie per TB-antigenrör

Studie	TB1	TB2	QFT-Plus
Positivt	5	10	10
Negativt	404	399	399
Indeterminant	0	0	0
Specificitet (95 % CI)	98,8 % (97,2–99,6)	97,6% (95,6–98,8)	97,6% (95,6–98,8)

### Sensitivitet för aktiv TB

Då det inte finns ett definitivt standardtest för LTBI är en mikrobiologisk odling av *M. tuberculosis* ett lämpligt substitut, eftersom patienter med denna sjukdom är infekterade per definition. Misstänkta TB-fall från 4 studieplatser i Australien och Japan som även visade sig ha odlingsbekräftad *M. tuberculosis*-infektion testades för att bedöma sensitiviteten för QFT-Plus (Tabell 5 och Tabell 6). Patienterna hade fått mindre än 14 dagars behandling innan blodproverna togs för QFT-Plus-testet.

I en sammanfattning av resultaten från de 4 grupperna med patienter som uppvisade positiv *M. tuberculosis*-odling var den allmänna sensitiviteten hos QFT-Plus för aktiv TB-sjukdom 95,3 % (164/172). I de 4 grupperna var 159 patienter positiva med både TB1- och TB2-rör, 1 patient var positiv med endast TB1 och 4 var positiva med endast TB2. Totalt 1,1 % (2/174) av resultaten var indeterminanta. TB2-resultatet identifierade korrekt 1 odlingsbekräftad patient som skulle ha blivit indeterminant (lågt Mitogen) med endast TB1-resultat (se Tabell 5 och Tabell 6).

Tabell 5. Resultat från QFT-Plus-sensitivitetsstudie per studieplats

Studieplatser	Positivt	Negativt	Indeterminant	QFT-Plus-sensitivitet* (95 % CI)
Japan, plats 1	36	7	0	84 % (69-93)
Japan, plats 2	53	1	2	98% (90–100)
Japan, plats 3	54	0	0	100% (93–100)
Australien, plats	21	0	0	100% (84–100)

\* Sensitivitet baseras på totalt antal giltiga tester, indeterminanta resultat exkluderade.

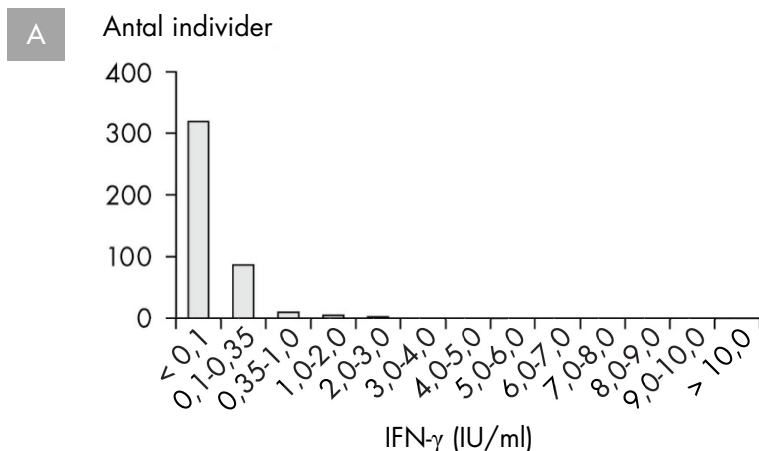
Tabell 6. Resultat från QFT-Plus-sensitivitetsstudie per TB-antigenrör

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

\* Sensitivitet baseras på totalt antal giltiga tester, indeterminanta resultat exkluderade.

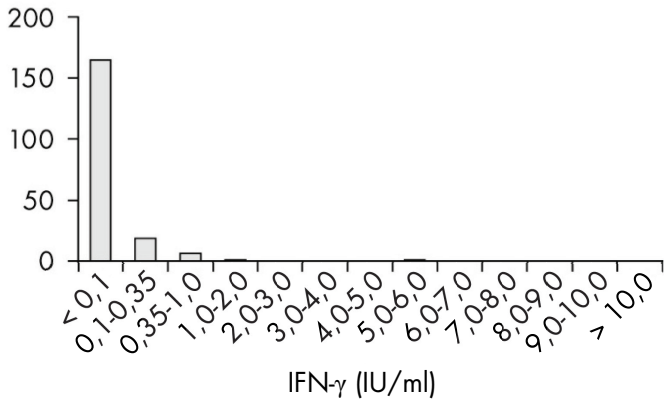
### Observerade responsdistributioner – riskstratifierade

En uppsättning IFN- $\gamma$ -responser på TB1-, TB2- och kontrollrör observerades i kliniska prövningar och stratifierades enligt risken för *M. tuberculosis*-infektion (bild 7-9). Den blandade riskgruppen består av representanter ur en allmän testpopulation bestående av individer med och utan riskfaktorer för TB-exponering och där aktiv TB är osannolik (dvs. LTBI).



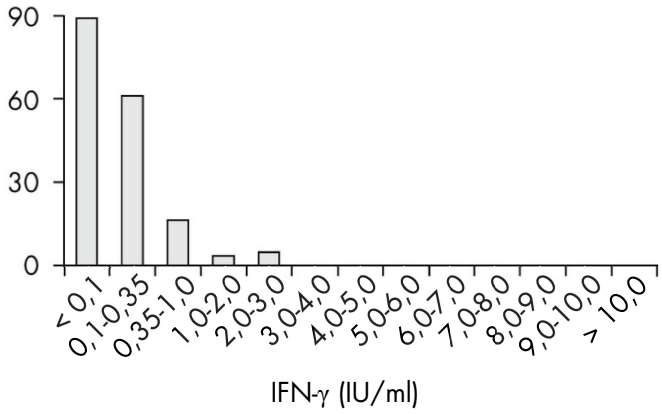
**B**

Antal individer

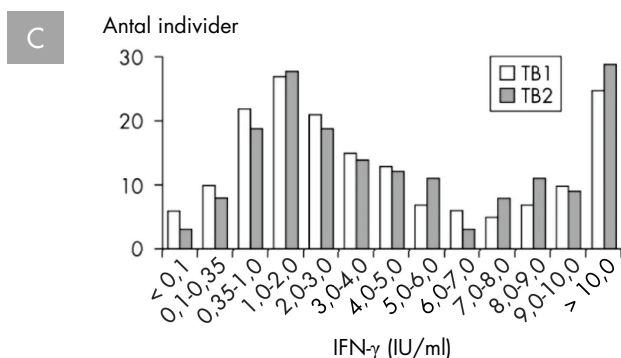
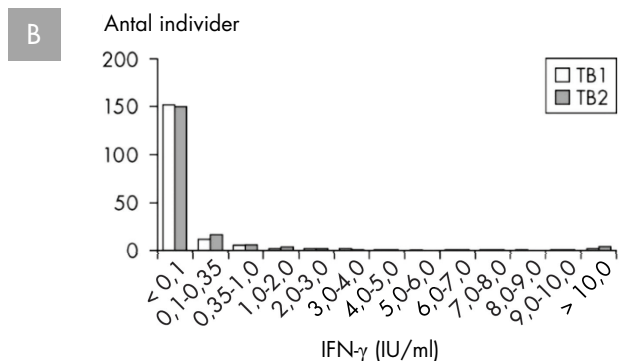
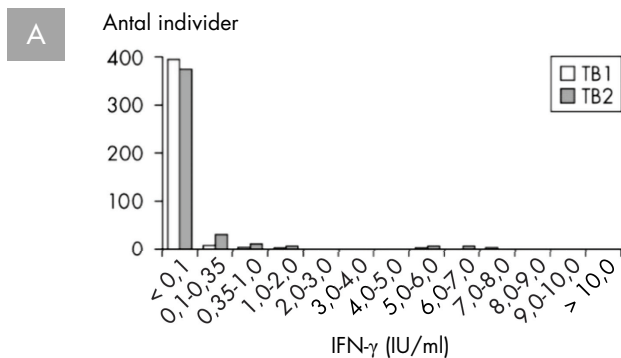


**C**

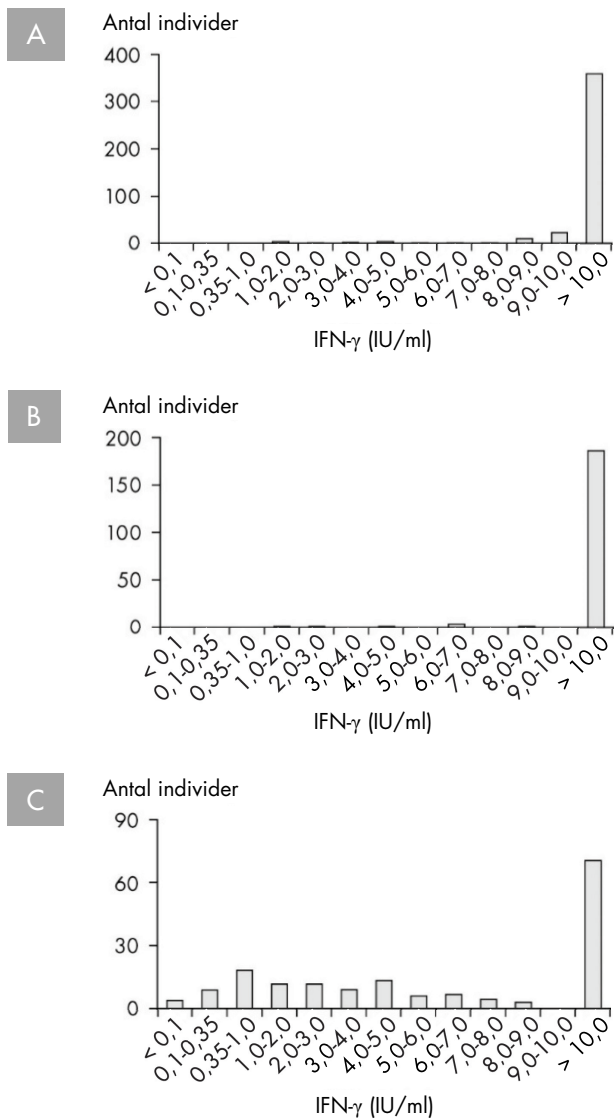
Antal individer



Figur 7. Distribution av Nil. **A.** Distribution av Nil-värden i en population med låg risk (n = 409). **B.** Distribution av Nil-värden i en population med blandad risk (n = 194). **C.** Distribution av Nil-värden i en population population med odlingsbekräftad *M. tuberculosis*-infektion (n = 174).

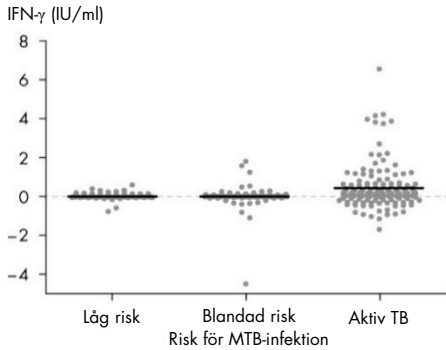


Figur 8. Distribution av TB1 och TB2 (Nil subtraherat). **A.** Värden för distribution av TB1 och TB2 (Nil subtraherat) i en population med låg risk (n = 409). **B.** Värden för distribution av TB1 och TB2 (Nil subtraherat) i en population med blandad risk (n = 194). **C.** Värden för distribution av TB1 och TB2 (Nil subtraherat) i en population med odlingsbekräftad *M. tuberculosis*-infektion (n = 174).



Figur 9. Distribution av Mitogen (Nil subtraherat). **A.** Värderna för distribution av Mitogen (Nil subtraherat) i en population med låg risk (n = 409). **B.** Värderna för distribution av Mitogen (Nil subtraherat) i en population med blandad risk (n = 194). **C.** Värderna för distribution av Mitogen (Nil subtraherat) i en population med odlingsbekräftad *M. tuberculosis*-infektion (n = 169).



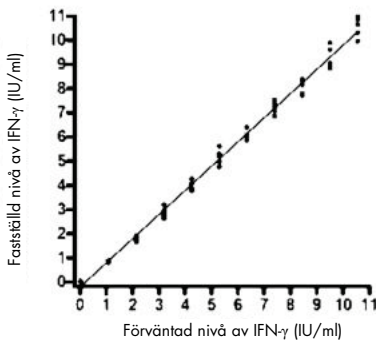


Figur 10. Observerad skillnad mellan TB1- och TB2-värden (Nil subtraherat), stratifierat efter risk. Population med låg risk (n = 409), population med blandad risk (n = 189) och population med odlingsbekräftad *M. tuberculosis*-infektion (n = 141). TB1-värdena subtraherades från TB2-värdena. Individer med värden för TB1 eller TB2 på > 10,0 IU/ml exkluderades eftersom de låg utanför analysens linjära intervall.

## Analyseffektens egenskaper

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

Detektionsgränsen för QFT-Plus ELISA är 0,065 IU/ml och det finns inga tecken på en hög hookeffekt (prozone) med koncentrationer på IFN- $\gamma$  upp till 10 000 IU/ml.



Figur 11. Linjäritetsprofil för QFT-Plus ELISA

Variationer inom och mellan analyser (% CV) för QFT-Plus ELISA uppskattades genom att testa 20 plasmaprover med varierande IFN- $\gamma$ -koncentrationer i 3 exemplar, i 3 olika laboratorier, under 3 dagar (ej i följd) av 3 olika operatörer. Varje prov har således testats 27 gånger i 9 oberoende analyskörningar. Ett prov var en Nil-kontroll och hade en beräknad IFN- $\gamma$ -koncentration på 0,08 IU/ml (95 % CI: 0,07–0,09). Av de återstående 19 plasmaproverna låg koncentrationerna inom intervall från 0,33 (95 % CI: 0,31–0,34) till 7,7 IU/ml (95 % CI: 7,48–7,92).

Variationer inom körning eller inom analys uppskattades genom att ta medelvärdet för % CV för varje testplasma innehållande IFN- $\gamma$  från varje plattkörning (n = 9), och variationen låg mellan 4,1 och 9,1 % CV. Medelvärdet för kovarians inom körning ( $\pm$  95 % CI) var 6,6 %  $\pm$  0,6 %. Medelvärdet för noll IFN- $\gamma$ -plasma var 14,1 % CV.

Variationer totalt eller mellan analyser bestämdes genom att jämföra de 27 beräknade koncentrationerna av IFN- $\gamma$  för varje testplasma. Variationer mellan analyser låg mellan 6,6 och 12,3 % CV. Det generella medelvärdet % CV ( $\pm$  95 % CI) var 8,7  $\pm$  0,7 %. Noll IFN- $\gamma$ -plasma visade 26,1 % CV. Den här variationsnivån är förväntad eftersom den beräknade koncentrationen av IFN- $\gamma$  är låg och variationen vid en låg koncentrationsuppskattning är större än vid högre koncentrationer.

Reproducerbarheten för QFT-Plus-testet bestämdes med blodprov från 102 individer med blandade riskfaktorer för *M. tuberculosis*-infektion. Tre olika operatörer och laboratorieförhållanden analyserades.

Totalt 3 diagnostiska bestämningar utfördes för varje individ och totalt 306 för alla individer. Generellt var den diagnostiska reproducerbarheten 99 % (95 % CI: 97,2–99,7) där diagnosresultatet var överensstämmande för 303 av 306 bestämningar. Resultaten från 3 individer som låg nära Cut Off fanns med i beräkningen för alla variationer.

## Diagnos av LTBI

Ett antal studier har publicerats som demonstrerar egenskaper hos QFT, föregångaren till QFT-Plus, i olika populationer med risk för infektion med MTB. De principiella resultaten för vissa utvalda studier visas i Tabell 7.

Tabell 7. Utvalda publicerade studier om QFT

Population/villkor	Resultat	Totalt antal publicerade studier
Barn	Beprovat effektivt på barn, även barn under 5 år (45–46) med högre noggrannhet än det ELISpot-baserade IGRA-testet (8). I den största studien hittills jämfördes QFT och TST på barn från Vietnam, Filippinerna och Mexiko och den visar att QFT är att föredra framför TST vid test av utlandsfödda barn för LTBI (46). I en studie med begränsade kontakter uppvisar QFT ett bättre prediktivt värde än TST hos barn (47), och en 8-faldigt högre risk för progression till TB-sjukdom inom två år fastställdes hos personer som gick över till QFT jämfört med de som inte gick över (48). Avvikelsen mellan QFT-negativa/TST-positiva resultat är hög hos BCG-vaccinerade barn (46, 49), men det syntes ingen påverkan på Mitogen-respons hos barn under 5 år (49) och ett lågt antal indeterminanta värden erhöles vid rutinundersökning av invandrarbarn (46).	152
Graviditet	I en lågt belastad miljö är resultaten från QFT lika bra i varje trimester av graviditeten med jämförbara resultat som för icke gravida kvinnor. QFT är också mycket mer specifikt, minst lika känsligt och kan vara en bättre prediktor för sjukdomsutveckling än TST (50). I en högt belastad miljö var QFT mer stabilt genom graviditeten och uppskattade prevalensen för bakgrunds-LTBI bättre än TST, trots att författarna av rapporten drog slutsatsen att graviditet påverkar både QFT och TST (51).	6

Tabellen fortsätter på nästa sida

Tabell 7. Utvalda publicerade studier om QFT (forts.)

Population/villkor	Resultat	Totalt antal publicerade studier
HIV/AIDS	Både IGRA och TST påverkas av HIV-infektion, och den samlade kunskapen pekar på att resultaten ska tolkas med försiktighet hos dem med ett CD4+-antal < 200 (52). QFT har visat sig påverkas mindre än de ELISpot-baserade testerna IGRA och TST (53–55). Det räcker med ett besök för IGRA, vilket gör att problemet för TST med stort bortfall vid det andra besöket undviks i denna population (53).	101
Behandlingar mot immunsupprimering	QFT är mindre påverkat av behandlingar mot immunsupprimering än TST och korrelerar bättre med TB-riskfaktorer (23, 27). QFT har hög sensitivitet hos patienter med reumatism (23, 56, 57) och högre specificitet än TST, vilket minimerar falskt positiva värden och minskar onödig behandling, vilket skulle vara fallet med TST (23, 57, 58).	112
Sjukvårdspersonal	Har visat sig vara mer specifik med färre falskt positiva resultat än TST samt mer kostnadseffektivt än TST (59–62). Variation runt tröskelvärdet är ett förväntat resultat vid serietestning som orsakas av en dikotom brytpunkt och den normala variation som finns i ett biologiskt test (63). Studier har visat högre värden för konversion/reversion än TST i serietestning av sjukvårdspersonal med låg risk (64, 65). US CDC bekräftar att det mindre strikta kriteriet för definition av IGRA-konversion kan orsaka mer konversion än vad som observerats med de mer strikta kvantitativa kriterierna för TST. Strategier för omtestning har också visat sig vara effektiva vid hantering av fenomenet konversion/reversion (65–68).	111
TB-kontakter	Högre PPV och NPV än TST (47), praktiskt med engångsbesök för personer som troligen inte återkommer (63), bättre korrelation med exponering (69) vilket speciellt noterats hos BCG-vaccinerade personer och populationer i BCG-vaccinerande länder (70, 71).	89
Transplantation	Har visat sig vara minst lika effektivt som TST, men mindre påverkat av terminal organsvikt än TST (22).	23

Tabellen fortsätter på nästa sida

Tabell 7. Utvalda publicerade studier om QFT (forts.)

Population/villkor	Resultat	Totalt antal publicerade studier
Diabetes	Motsägande resultat från ett litet antal publikationer med begränsat antal individer. En studie från ett lågt belastat område visade att QFT-sensitivitet inte försämras hos TB-patienter med diabetes (72). En studie från Tanzania, en högt belastad miljö, visade att diabetes har en negativ påverkan på produktion av IFN- $\gamma$ , men tog inte med confounders som HIV-infektion och masksjukdomar i beräkningen (73). I vietnamesiska studier av 838 självrapporterade diabetiker som misstänktes ha TB på grund av onormal CXR eller som hade odlingsbekräftad aktiv TB (n = 128) var QFT-positiviteten lika hög eller högre än TST-brytpunkterna på 10 och 15 mm (74).	9
Terminal njursvikt	QFT-positiva resultat korrelerar med riskfaktorer för TB bättre än vad TST gör och är mindre associerade med BCG (75).	45
Invandrare	Studier visar att QFT inte påverkas av BCG och ålder till skillnad från TST (74). QFT har visat sig vara den mest kostnadseffektiva metoden (76). I lågt belastade miljöer kommer majoriteten av TB-fallen från utlandsfödda och från reaktivering av latent TB efter ankomst (77). Den hittills största studien som jämför QFT och TST på invandrarbarn visar att QFT är att föredra framför TST vid test av utlandsfödda barn för latent TB-infektion (46).	29

---

# 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 om bruksanvisningen ovan inte följs.

Om det finns misstanke om tekniska problem med reagenslagringen i samband med provtagning eller hantering av blodprover ska hela QFT-Plus-testet göras om med ett nytt blodprov. ELISA-testet för stimulerad plasma kan göras om ifall det finns misstankar om bristfällig rengöring eller om att proceduren för ELISA-testet inte har följts. Indeterminanta resultat till följd av låga mitogen-värden eller höga Nil-värden förväntas inte ändras om testet görs om, såvida inte ett fel uppstod under ELISA-testet. Indeterminanta resultat ska rapporteras som sådana. Läkaren kan då välja att ta ett nytt prov eller vidta andra åtgärder.

## Koagulerade plasmaprover

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

# Felsökningsguide

Den här felsökningsguiden kan vara till hjälp för att lösa eventuella problem som kan uppstå. Mer information finns också i den tekniska informationen på [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Kontaktinformation finns på baksidan.

## Felsökning av ELISA

### Icke-specifik färgutveckling

Möjlig orsak	Lösning
a) Bristfällig 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 före utgångsdatumet. Se till att rekonstituerad standard och konjugatkoncentrat (100x) används inom tre månader efter rekonstituering.
d) Enzymsubstratlösningen är kontaminerad	Kassera substratet om det är blåfärgat. Kontrollera att reagenserna endast förvaras i rena behållare.
e) Blandning av plasma i QFT-Plus-rör före insamling	Efter centrifugering ska du undvika att pipettera upp och ned eller blanda plasman på något sätt innan insamling. Var alltid försiktig så att inte materialet på gelytan förstörs.

### Låga avläsningar av optisk densitet i standarder

Möjlig orsak	Lösning
a) Spädningsfel i standard	Kontrollera att spädningsar av kitstandarderna bereds enligt denna bipacksedel.
b) Pipetteringsfel	Kontrollera att pipetterna kalibreras och används i enlighet med tillverkarens instruktioner.
c) För låg inkuberings temperatur	Inkubering av ELISA ska utföras i rumstemperatur ( $22 \pm 5$ °C).
d) För kort inkuberings tid	Inkubering av plattan med konjugat, standarder och prover ska ske i $120 \pm 5$ minuter. Enzymsubstratlösningen inkuberas på plattan i 30 minuter.

## Felsökning av ELISA

- |   |  |
|---|--|
| e) Ett felaktigt filter används i plattläsaren      | Plattan ska läsas vid 450 nm med ett referensfilter på mellan 620 och 650 nm.  |
| f) Reagenserna är för kalla                         | Alla reagenser, med undantag för konjugatkoncentrat (100x), måste ha antagit rumstemperatur innan analysen påbörjas. Detta tar ungefär en timme.                   |
| g) Kitets/komponenternas utgångsdatum har passerats | Kontrollera att kitet används före utgångsdatumet. Se till att rekonstituerad standard och konjugatkoncentrat (100x) används inom 3 månader efter rekonstituering. |

### Högt bakgrundsvärde

#### Möjlig orsak

#### Lösning

- |   |   |
|---|---|
| a) Bristfällig 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) För hög inkuberingsstemperatur                   | Inkubering av ELISA ska utföras i rumstemperatur ( $22 \pm 5$ °C).  |
| c) Kitets/komponenternas utgångsdatum har passerats | Kontrollera att kitet används före utgångsdatumet. Se till att rekonstituerad standard och konjugatkoncentrat (100x) används inom 3 månader efter rekonstituering.  |
| d) Enzymsubstratlösningen är kontaminerad           | Kassera substratet om det är blåfärgat. Kontrollera att reagenserna endast förvaras i rena behållare.   |

### Icke-linjär standardkurva och variabilitet mellan duplikat

#### Möjlig orsak

#### Lösning

- |  |   |
|--|---|
| a) Bristfällig 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) Spädningsfel i standard   | Kontrollera att spädnings av standarden bereds enligt denna bipacksedel.  |
| 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.   |

Produktinformation och tekniska guider kan erhållas kostnadsfritt från QIAGEN, din distributör eller genom att besöka [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com).



---

# Referenser

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

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

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

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

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

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

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

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
















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

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

# Symboler

Följande symboler kan finnas på förpackning och etiketter:

Symbol	Symbolförklaring
 2 x 96	Tillräckligt för 2 x 96 provberedningar
	Laglig tillverkare
	Symbol för CE-IVD-märkning
	För in vitro-diagnostisk användning
	Batchkod
	Katalognummer
	GS1-artikelnummer
	Utgångsdatum
	Temperaturbegränsning
	Läs bruksanvisningen innan användning
	Får ej återanvändas
	Utsätt inte för direkt solljus
	Materialnummer
Rn	R betyder revidering av bruksanvisningen och n är revisionsnumret

---

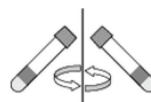
## Kontaktinformation

För teknisk support och ytterligare information, ring oss på 00800-22-44-6000, besök vårt tekniska supportcenter på [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) eller kontakta någon av QIAGENs tekniska serviceavdelningar eller lokala distributörer (se baksidan eller besök [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

# Förkortad testprocedur

## Steg 1 – blodinkubering

1. Samla in blod i blodprovtagningsrör och blanda genom att skaka dem tio (10) gånger så att hela den invändiga ytan är täckt med blod. Detta görs för att lösa upp antigenerna som finns på väggarna inuti röret.
2. Inkubera rören stående i  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  i 16 till 24 timmar.
3. Efter inkubering ska rören centrifugeras i 15 minuter i 2 000 till 3 000  $\times g$  RCF (g) för att plasman och de röda blodkropparna ska separeras.
4. Efter centrifugering ska du undvika att pipettera upp och ned eller blanda plasman på något sätt före insamling. Var alltid försiktig så att materialet i gelens yta inte skadas.



## Steg 2 – IFN- $\gamma$ ELISA

1. Ekvilibrera ELISA-komponenterna, med undantag för konjugatkoncentrat (100 $\times$ ), i rumstemperatur ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) i minst 60 minuter.
2. Rekonstituera kitstandarden till 8,0 IU/ml med destillerat eller avjoniserat vatten. Bered fyra (4) standardspädningar.
3. Rekonstituera frystorkat konjugatkoncentrat (100 $\times$ ) med destillerat eller avjoniserat vatten.

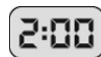


4. Bered arbetsutspädning av konjugat i den gröna diluenten och tillsätt 50 µl i alla brunnar.



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

6. Inkubera i  $120 \pm 5$  minuter i rumstemperatur.



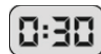
7. Tvätta brunnarna minst 6 gånger med 400 µl tvättbuffert per brunn.



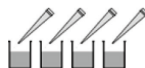
8. Tillsätt 100 µl enzymsubstratlösning i brunnarna. Blanda med en skakapparat.



9. Inkubera i 30 minuter i rumstemperatur.



10. Tillsätt 50 µl enzymstopplösning i brunnarna. Blanda med en skakapparat.



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



12. Analysera resultaten.



# Betydande ändringar

Avsnitt	Sida	Ändring(ar)
Diverse	Diverse	Instruktioner har lagts till rörande användningen av rör innehållande litium- eller natriumheparin
Diverse	Diverse	Instruktioner har lagts till rörande arbetsflödet för 2–8 °C-blodprovstagning
Diverse	Diverse	Plattlocket är nu ett material som behövs men inte medföljer

# Revideringshistorik för handboken

Dokument	Ändringar
R6 04/2019	Ändringar rörande litiumheparin/natriumheparin Nya arbetsinstruktioner för arbetsflödet för 2–8 °C-blodprovstagning Plattlock har tagits bort från QF-plattor

Varumärken: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (QIAGEN-gruppen); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.).

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

Användning av den här produkten 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 bipacksedeln och får endast användas med komponenterna som ingår i kitet. 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 detta kit, förutom vad som beskrivs i de protokoll som medföljer produkten och den här bipacksedeln.
2. Förutom de uttryckligen angivna licenserna kan QIAGEN inte garantera att denna panel och/eller dess användning inte kränker tredje parts rättigheter.
3. Kiten och dess komponenter är licensierade för engångsbruk och får inte återanvändas, förbättras eller säljas vidare om inte QIAGEN har gett sitt tillstånd till detta.
4. QIAGEN avsäger sig specifikt ansvar för alla andra licenser, uttryckliga eller underförstådda, förutom de uttryckligen angivna.
5. Inköparen och användaren av detta kit samtycker till att inte vidta eller tillåta att någon annan vidtar några steg som kan leda till eller underlätta några åtgärder som är förbjudna enligt ovan. QIAGEN kan kräva upphävande av detta begränsade licensavtal i domstol och ska ersättas för alla undersöknings- och rättegångskostnader, inklusive advokatkostnader, vid eventuell åtgärd för att upprätthålla detta begränsade licensavtal eller någon av företagets immateriella rättigheter avseende kitet och/eller någon av dess komponenter.

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

© 2019 QIAGEN, med ensamrätt.



---

[www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com)

Asien/Stillaohavsområdet | [techservice-ap@qiagen.com](mailto:techservice-ap@qiagen.com)

Europa | [techserviceQFT-eu@qiagen.com](mailto:techserviceQFT-eu@qiagen.com)

Mellanöstern/Afrika | [techserviceQFT-eu@qiagen.com](mailto:techserviceQFT-eu@qiagen.com)

Sydamerika (utom Brasilien och Mexiko) | [techservice-latam@qiagen.com](mailto:techservice-latam@qiagen.com)

---

Obs

---

Obs

