



April 2019

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

 2 x 96 (622120)  
 20 x 96 (622822)

Versie 1

**IVD**

Voor in-vitrodiagnostisch gebruik

De interferon-gammatest (IFN- $\gamma$ ) voor volbloed die reacties meet op peptide-antigenen ESAT-6 en CFP-10

**CE**

**REF**

622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,  
Duitsland

R7 **MAT**

1083163NL

# Inhoudsopgave

Beoogd gebruik.....	5
Samenvatting en uitleg van de test.....	5
Uitgangspunten van de assay .....	7
Benodigde tijd voor het uitvoeren van de assay .....	9
Onderdelen en opslag .....	10
Benodigde maar niet meegeleverde materialen .....	12
Bewaren en hanteren van specimens .....	13
Bloedafnamebuisjes.....	13
Reagentia van kit .....	13
Gereconstitueerde en niet-gebruikte reagentia.....	13
Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen .....	14
Waarschuwingen.....	14
Vorzorgsmaatregelen.....	15
Specimenafname en -verwerking .....	18
Richtlijnen voor gebruik .....	24
Fase 1 – incubatie van bloed en verzamelen van plasma .....	24
Fase 2 – ELISA $\gamma$ van IFN.....	25
Berekeningen en interpretatie van de test.....	30
Genereren van de standaardcurve .....	30
Kwaliteitscontrole van de test .....	31
Interpretatie van de resultaten .....	31
Beperkingen.....	34



---

Prestatiekenmerken .....	35
Klinische onderzoeken .....	35
Kwaliteitskenmerken assay .....	41
Technische informatie .....	46
Onbepaalde resultaten.....	46
Gestolde plasmamonsters .....	46
Problemen oplossen .....	47
Referenties .....	49
Symbolen .....	58
Contactgegevens .....	59
Verkorte testprocedure.....	60
Fase 1 – Incubatie van bloed .....	60
Fase 2 – ELISA $\gamma$ van IFN.....	60
Belangrijke wijzigingen .....	62
Revisiegeschiedenis handleiding.....	62



---

# Beoogd gebruik

De QuantiFERON-TB Gold Plus-assay (QFT-Plus) is een diagnostische in-vitrotest waarbij gebruik wordt gemaakt van een peptidecocktail die de proteïnen ESAT-6 en CFP-10 simuleert en cellen in gehepariniseerd volbloed stimuleert. Detectie van interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) met ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) wordt gebruikt ter herkenning van in-vitro reacties op deze peptide-antigenen, die worden geassocieerd met een *Mycobacterium tuberculosis*-infectie.

QFT-Plus is een indirecte test voor het aantonen van een *M. tuberculosis*-infectie (inclusief de actieve aandoening). De testresultaten dienen te worden gebruikt in combinatie met risicobeoordeling, röntgenonderzoeken en overige medische en diagnostische onderzoeken.

## Samenvatting en uitleg van de test

Tuberculose is een besmettelijke ziekte die wordt veroorzaakt door een infectie met organismen van het *M. tuberculosis*-complex (MTB) (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*), die doorgaans naar nieuwe gastheren worden overgebracht via druppelinfectie door personen die lijden aan tuberculose van de luchtwegen. Bij nieuw besmette patiënten kan tuberculose binnen weken of maanden optreden, maar bij de meeste geïnficeerden treden geen klachten op. Bij sommigen is sprake van een latente tuberculose-infectie (LTBI), een niet-besmettelijke, asymptomatische aandoening die pas na maanden of jaren kan uitbreken. Het hoofddoel van het diagnosticeren van LTBI is het overwegen van medische behandeling ter voorkoming van tuberculose. Tot voor kort was de tuberculine-huidtest (Tuberculin Skin Test, TST) de enige beschikbare methode voor het diagnosticeren van LTBI. De gevoeligheid van de huid voor tuberculine ontstaat 2 tot 10 weken na de infectie. Sommige geïnficeerde personen reageren echter niet op tuberculine, waaronder bijvoorbeeld patiënten met een onregelde immunreactie als gevolg van een breed scala van andere aandoeningen, maar ook patiënten zonder zulke aandoeningen. Omgekeerd zijn er personen die met grote waarschijnlijkheid niet aan een *M. tuberculosis*-infectie lijden, maar gevoelig zijn voor tuberculine en positieve

---

TST-resultaten vertonen na vaccinatie met de Bacille Calmette-Guérin (BCG), na infectie met andere mycobacteriën dan *M. tuberculosis*-complex of andere onbekende factoren.

LTBI moet worden onderscheiden van tuberculose, waarvoor een meldplicht bestaat en die doorgaans de longen en de onderste luchtwegen aantast, maar ook andere orgaansystemen kan aantasten. Tuberculose wordt gediagnosticeerd op grond van historische, fysieke, radiologische, histologische en mycobacteriologische bevindingen.

QFT-Plus is een test voor celgedieerde immuunreacties (cell-mediated immune, CMI) op peptide-antigenen die mycobacteriële proteïnen simuleren. Deze proteïnen, ESAT-6 en CFP-10, ontbreken in alle BCG-stammen en de meeste niet-tuberculeuze mycobacteriën met uitzondering van *M. kansasii*, *M. szulgai* en *M. marinum* (1). In het bloed van personen die besmet zijn met organismen van het MTB-complex bevinden zich in het algemeen lymfocyten die deze en andere mycobacteriële antigenen signaleren. Bij dit herkenningproces wordt het cytokine IFN- $\gamma$  geproduceerd en afgescheiden. De detectie en de erop volgende kwantificering van IFN- $\gamma$  vormen de grondslag voor deze test.

De in de QFT-Plus-test gebruikte antigenen zijn een peptidecocktail die de proteïnen ESAT-6 en CFP-10. Talrijke onderzoeken hebben aangetoond dat deze peptide-antigenen de IFN- $\gamma$ -reactie in de T-cellen stimuleren van personen die met *M. tuberculosis* zijn geïnfecteerd, maar niet de T-cellen van niet-geïnfecteerde of met BCG gevaccineerde personen zonder het risico van tuberculose of LTBI (1–32). Wel kan de IFN- $\gamma$ -reactie potentieel worden beperkt door medische behandelingen of aandoeningen die een nadelige invloed op de immuunfunctie hebben. Patiënten met bepaalde andere mycobacteriële infecties kunnen eveneens reageren op ESAT-6 en CFP-10, omdat de genen die deze proteïnen coderen ook aanwezig zijn in *M. kansasii*, *M. szulgai* en *M. marinum* (1, 23). De QFT-Plus-test is zowel een test voor LTBI als een handig hulpmiddel voor het diagnosticeren van infectie met *M. tuberculosis*-complex bij zieke patiënten. Een positief testresultaat ondersteunt de diagnose van tuberculose, maar kan ook het resultaat zijn van infecties met andere mycobacteriën (bijv. *M. kansasii*). Andere medische en diagnostische onderzoeken zijn vereist om tuberculose te kunnen bevestigen of uitsluiten.

---

QFT-Plus bevat twee afzonderlijke TB-antigeenbuisjes: TB Antigen Tube 1 (TB1) en TB Antigen Tube 2 (TB2). Beide buisjes bevatten peptide-antigenen van de antigenen die worden geassocieerd met het MTB-complex, ESAT-6 en CFP-10. Het TB1-buisje bevat peptiden van ESAT-6 en CFP-10 die zijn ontworpen om CMI-reacties te veroorzaken bij CD4<sup>+</sup> T-helper lymfocyten. Het TB2-buisje bevat een aanvullende set peptiden die zijn gericht op de inductie van CMI-reacties van CD8<sup>+</sup> cytotoxische T-lymfocyten. In de natuurlijke evolutie van MTB-infectie spelen CD4<sup>+</sup> T-cellen spelen een kritieke rol bij immunologische controle via het afscheiden van het cytokine IFN $\gamma$ . Uit bewijsmateriaal blijkt nu dat CD8<sup>+</sup> T-cellen deelnemen aan de afweer tegen MTB door IFN $\gamma$  en andere oplosbare factoren te produceren, waardoor macrofagen worden geactiveerd om de groei van MTB te onderdrukken, geïnfecteerde cellen te doden of intracellulair MTB direct te lyseren (33–35). Er zijn MTB-specifieke CD8<sup>+</sup>-cellen gedetecteerd bij proefpersonen met LTBI en met actieve TB waarbij IFN $\gamma$  producerende CD8<sup>+</sup>-cellen frequent kunnen worden aangetroffen (36–38). Bovendien wordt beschreven dat ESAT-6- en CFP-10 specifieke CD8<sup>+</sup> T-lymfocyten vaker worden gedetecteerd in proefpersonen met actieve TB versus LTBI en kunnen worden geassocieerd met een recente blootstelling aan MTB (39–41). Ook werden MTB-specifieke CD8<sup>+</sup> T-cellen die IFN $\gamma$  produceren gedetecteerd bij proefpersonen met actieve TB in co-infectie met hiv (42, 43) en bij jonge kinderen met TB (44).

## Uitgangspunten van de assay

Voor de QFT-Plus-assay worden speciale bloedafnamebuisjes gebruikt, waarin volbloed wordt verzameld. De aansluitende incubatie van het bloed in het buisje duurt 16 tot 24 uur. Daarna wordt het plasma geëxtraheerd en getest op de aanwezigheid van IFN $\gamma$  dat is gevormd in reactie op de peptide-antigenen.

De QFT-Plus-test bestaat uit twee stappen. Eerst wordt volbloed verzameld in de QFT-Plus Blood Collection Tubes, bestaande uit een Nil-buisje, een TB1-buisje, een TB2-buisje en een Mitogen-buisje. U kunt ook bloed afnemen in één generiek bloedafnamebuisje dat lithiumheparine of natriumheparine als antistollingsmiddel bevat en dit vervolgens overbrengen naar QFT-Plus-buisjes.

---

Het Mitogen-buisje wordt in de QFT-Plus-test gebruikt als een positieve controle. Dit kan belangrijk zijn als er twijfel bestaat ten aanzien van de immuunstatus van de patiënt. Het Mitogen-buisje dient ook ter controle van de juiste verwerking en incubatie van het bloedmonster.

De QFT-Plus-buisjes worden geschud om antigenen te mengen met het bloed en dienen zo snel mogelijk bij 37 °C te worden geïncubeerd, maar uiterlijk binnen 16 uur na de bloedafname. Na een incubatieperiode van 16 tot 24 uur worden de busjes gecentrifugeerd, wordt het plasma verwijderd en wordt de hoeveelheid IFN- $\gamma$  (IE/ml) gemeten met behulp van de ELISA-methode. De QFT-Plus ELISA maakt gebruik van recombinante menselijke IFN- $\gamma$ -standaard, waarvan een assay is uitgevoerd tegen een IFN- $\gamma$ -referentiebereiding (NIH-ref: Gxg01-902-535). Resultaten voor de testmonsters worden gerapporteerd in internationale eenheden per ml (IE/ml) ten opzichte van de standaardcurve die is voorbereid door verdunning van de standaard uit de kit te testen.

Van heterofiele antilichamen (bijvoorbeeld human-anti-mouse) in het serum of plasma van bepaalde personen is bekend dat deze immunoassays verstoren. Het effect van heterofiele antilichamen in de QFT-Plus ELISA wordt geminimaliseerd door toevoeging van normaal muisserum aan de groene verdunningsoplossing en het gebruik van fragmenten van monokonaal F(ab')<sub>2</sub>-antilichaam als het IFN- $\gamma$ -bindingsantilichaam waarvan de microtiterplaten zijn voorzien.

Een QFT-Plus-assay wordt als positief beschouwd voor de IFN $\gamma$ -reactie op een van beide TB-antigeenbuisjes als deze waarde aanmerkelijk boven de Nil-waarde (IFN- $\gamma$  in IE/ml) ligt. Het plasmamonster uit het Mitogen-buisje dient als IFN- $\gamma$  positieve controle voor elk getest specimen. Een lage reactie op Mitogen (<0,5 IE/ml) duidt op een gemiddeld resultaat wanneer een bloedmonster tevens een negatieve reactie te zien geeft op de TB-antigenen. Dit beeld kan optreden bij onvoldoende lymfocyten, een verminderde lymfocytenactiviteit vanwege een onjuiste verwerking van de specimens, onjuist vullen of mengen van het Mitogen-buisje of het feit dat de lymfocyten geen IFN- $\gamma$  kunnen produceren. Bij de aanwezigheid van heterofiele antilichamen of bij intrinsieke IFN- $\gamma$  afscheiding kan er sprake zijn van verhoogde niveaus van IFN- $\gamma$  in het Nil-monster. Het Nil-buisje dient als ijkingswaarde voor achtergrondreacties (zoals zeer hoge concentraties circulerend IFN- $\gamma$  of aanwezigheid van heterofiele antilichamen). De IFN- $\gamma$  waarde in het Nil-buisje wordt afgetrokken van de IFN- $\gamma$ -waarde voor de TB-antigeenbuisjes en het Mitogen-buisje.



---

## Benodigde tijd voor het uitvoeren van de assay

De geschatte benodigde tijd voor het uitvoeren van de QFT-Plus ELISA wordt hieronder gegeven. Tevens wordt de tijd aangegeven voor het testen van meerdere gegroepeerde monsters:

Incubatie bij 37 °C van buisjes

met bloed: 16 tot 24 uur

ELISA: Circa 3 uur per ELISA-plaat

(22 individuen)

<1 uur arbeidstijd

10 tot 15 minuten toevoegen voor elke extra plaat

# Onderdelen en opslag

Bloedafnamebuisjes*		200 buisjes	Pakket voor één patiënt	Dispenserpakket	HA 200 buisjes	HA pakket voor één patiënt	HA dispenserpakket
Catalogusnr.		622526	622222	622423	623526	623222	623423
Aantal tests/pakket		50	10	25	50	10	25
QuantIFERON Nil Tube (grijze dop, witte ring)	Nil	50 buisjes	10 buisjes	25 buisjes			
QuantIFERON TB1 Tube (groene dop, witte ring)	TB1	50 buisjes	10 buisjes	25 buisjes			
QuantIFERON TB2 Tube (gele dop, witte ring)	TB2	50 buisjes	10 buisjes	25 buisjes			
QuantIFERON Mitogen Tube (paarse dop, witte ring)	Mitogen	50 buisjes	10 buisjes	25 buisjes			
QuantIFERON Nil HA Tube (grijze dop, gele ring)	Nil HA				50 buisjes	10 buisjes	25 buisjes
QuantIFERON TB1 HA Tube (groene dop, gele ring)	TB1 HA				50 buisjes	10 buisjes	25 buisjes
QuantIFERON TB2 HA Tube (gele dop, gele ring)	TB2 HA				50 buisjes	10 buisjes	25 buisjes
QuantIFERON Mitogen HA Tube (paarse dop, gele ring)	Mitogen HA				50 buisjes	10 buisjes	25 buisjes
Bijsluiters QFT-Plus Blood Collection Tubes		1	1	1	1	1	1

\* Niet alle productconfiguraties zijn in alle landen verkrijgbaar. Raadpleeg de klantendienst van QIAGEN (details op [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)) voor meer informatie over de configuraties die kunnen worden besteld.

ELISA-onderdelen <sup>†</sup> Catalogusnr.	ELISA-kit met 2 platen 622120	Referentiepakket voor laboratoria 622822
Microplate Strips (strips voor microtiterplaten) (12 × 8 putjes) voorzien van een laagje murine anti-menselijk IFN- $\gamma$ monoklonaal antilichaam	2 × strips voor microtiterplaten met 96 putjes	20 × strips voor microtiterplaten met 96 putjes
IFN- $\gamma$ Standard, lyophilized (IFN- $\gamma$ standaard, gelyofiliseerd) (bevat recombinant menselijk IFN- $\gamma$ , bovine caseïne, 0,01% vol. Thimerosal)	1 × flacon (8 IE/ml indien gereconstitueerd)	10 × flacon (8 IE/ml indien gereconstitueerd)
Green Diluent (groene verdunningsoplossing) (bevat bovine caseïne, normaal muizenserum, 0,01% vol. Thimerosal)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Conjugate 100x Concentrate, lyophilized (conjugaatconcentraat 100x, gelyofiliseerd) (murine anti-menselijk IFN- $\gamma$ HRP, bevat 0,01% vol. Thimerosal)	1 × 0,3 ml (indien gereconstitueerd)	10 × 0,3 ml (indien gereconstitueerd)
Wash Buffer 20x Concentrate (spoelbuffer 20x geconcentreerd) (pH 7,2 bevat 0,05% vol. ProClin® 300)	1 × 100 ml	10 × 100 ml
Enzyme Substrate Solution (enzymsubstraatoplossing) (bevat H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3', 5,5' Tetramethylbenzidine)	1 × 30 ml	10 × 30 ml
Enzyme Stopping Solution (enzymremmingsoplossing) (bevat 0,5 M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	1 × 15 ml	10 × 15 ml
Bijsluiter QFT-Plus ELISA	1	1

<sup>†</sup> Zie pagina 15 voor waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen.

---

## Benodigde maar niet meegeleverde materialen

- Incubator van  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}^*$ . Geen CO<sub>2</sub> vereist
- Gekalibreerde pipetten\* met variabel volume voor toediening van 10 µl tot 1000 µl, met wegwerptips.
- Gekalibreerde meerkanaalspipetten\* voor toediening van 50 µl tot 100 µl, met wegwerptips
- Plaatdeksel
- Schudapparaat voor microtiterplaten\*
- Gedeïoniseerd of gedestilleerd water, 2 liter
- Spoelinstallatie voor microtiterplaten (automatische spoeler aanbevolen).
- Microtiterplaatlezer\* met 450 nm-filter en referentiefilter van 620 tot 650 nm

\* Verzeker u ervan dat de apparaten zijn gecontroleerd en gekalibreerd volgens de aanbevelingen van de fabrikant.

---

# Bewaren en hanteren van specimens

## Bloedafnamebuisjes

- Bloedafnamebuisjes bewaren bij 4 °C tot 25 °C.

## Reagentia van kit

- Reagentia van kit bewaren bij 2 °C tot 8 °C.
- Sla de enzymsubstraatoplossing nooit in direct zonlicht op.

## Gereconstitueerde en niet-gebruikte reagentia

Zie pagina 26 voor instructies voor het reconstitueren van de reagentia.

- De gereconstitueerde kitstandaard kan tot 3 maanden bewaard blijven indien opgeslagen bij 2 °C tot 8 °C.

Let op de datum waarop de kitstandaard is gereconstitueerd.

- Zodra het niet-gebruikte conjugaatconcentraat 100x is gereconstitueerd, moet het opnieuw worden opgeslagen bij 2 °C tot 8 °C en binnen 3 maanden worden gebruikt.

Let op de datum waarop het conjugaat is gereconstitueerd.

- Gebruiksklaar conjugaat moet binnen 6 uur na bereiding worden gebruikt.
- Gebruiksklare spoelbuffer kan gedurende 2 weken bij kamertemperatuur worden bewaard.

---

# Waarschuwingen en voorzorgsmaatregelen

Uitsluitend voor in-vitro diagnostisch gebruik.

## Waarschuwingen

- Een negatief resultaat van de QFT-Plus-test sluit de mogelijkheid van een *M. tuberculosis*-infectie of van tuberculose niet uit; fout-negatieve resultaten kunnen worden veroorzaakt door de infectiefase (bijvoorbeeld als de bloedspecimen is genomen vóór de ontwikkeling van een cellulaire immuunreactie), storingen van de immuunfunctie door comorbide aandoeningen, een onjuiste verwerking van de bloedafnamebuisjes na venapunctie, een onjuiste uitvoering van de assay of overige immunologische variabelen.
- Een positief resultaat van de QFT-Plus-test mag niet de enige of definitieve basis voor het vaststellen van infectie met *M. tuberculosis* zijn. Door een onjuiste uitvoering van de assay is er een kans op een fout-positief resultaat.
- Een positief QFT-Plus-testresultaat dient te worden gevolgd door nader medisch en diagnostisch onderzoek. Alleen zo kan worden vastgesteld of er sprake is van actieve tuberculose (bijv. door een AFB-uitstrijkje en -cultuur alsmede een thorax-röntgenonderzoek).
- Weliswaar bevatten BCG-stammen en de meeste bekende niet-tuberculeuze mycobacteriën geen ESAT-6 en CFP-10, maar een positief resultaat in de QFT-Plus-test kan ook worden toegeschreven aan een infectie met *M. kansasii*, *M. szulgai* of *M. marinum*. Bij het vermoeden van dergelijke infecties moeten alternatieve testmethoden worden gebruikt.

## Voorzorgsmaatregelen

Draag bij het werken met chemicaliën altijd een geschikte laboratoriumjas, wegwerphandschoenen en een veiligheidsbril. Raadpleeg voor meer informatie de desbetreffende veiligheidsinformatiebladen (VIB). Deze zijn als handige en compacte PDF online beschikbaar op [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety). Hier kunt u ook de VIB voor elke QIAGEN-kit en elk onderdeel van de kit vinden, bekijken en afdrukken.



LET OP: Behandel menselijk bloed en plasma alsof het besmettelijk zou kunnen zijn. Houd u aan de relevante richtlijnen voor de verwerking van bloed en bloedproducten. Werp monsters en materialen die in contact zijn gekomen met bloed of bloedproducten weg volgens de plaatselijke of nationale regelgeving.

De volgende gevarenaanduidingen en voorzorgsmaatregelen zijn van toepassing op de onderdelen van de QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA.

### Opmerkingen over gevaren



#### QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

Bevat: zwavelzuur. Waarschuwing! Kan bijtend zijn voor metalen. Veroorzaakt huidirritatie. Veroorzaakt ernstige oogirritatie. Beschermende handschoenen/ beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen.

#### QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Waarschuwing! Licht irriterend voor de huid. Beschermende handschoenen/ beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen.



#### QuantiFERON Green Diluent

Bevat: trinitrium-5-hydroxy-1-(4-sulfofenyl)-4-(4-sulphophenylazo)pyrazool-3-carboxylaat. Bevat: tartrazine. Waarschuwing! Kan een allergische huidreactie veroorzaken. Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen.

#### QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Bevat: Mengsel van 5-chloor-2-methyl-4-isothiazolin-3-on en 2-methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Schadelijk voor het waterleven, met effecten op de lange termijn. Voorkom vrijkomen in het milieu.

### Voorzorgsmaatregelen

Alvorens te gebruiken de speciale aanwijzingen raadplegen. Beschermende handschoenen/beschermende kleding/oogbescherming/gelaatsbescherming dragen. BIJ CONTACT MET DE HUID (of het haar): Verontreinigde kleding onmiddellijk uittrekken. Huid met water afspoelen/afdouchen. BIJ CONTACT MET DE OGEN: Voorzichtig spoelen met water gedurende een aantal minuten. Contactlenzen verwijderen, indien mogelijk. Blijven spoelen. Bij blootstelling of zorgen: een arts raadplegen. Neem onmiddellijk contact op met een GIFCENTRUM of arts. Bij huidirritatie of uitslag: een arts raadplegen. Trek verontreinigde kleding uit en was deze voordat u ze opnieuw aantrekt. Achter slot bewaren. Inhoud/verpakking afvoeren naar een erkend afvalverwerkingsbedrijf.

### Overige informatie

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

- Afwijkingen van de *bijsluiter QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA* kunnen tot onjuiste resultaten leiden. Lees voor gebruik zorgvuldig de instructies.
- Gebruik de kit niet als een flesje met reagens vóór gebruik tekenen van schade of lekkage vertoont.



- 
- **Belangrijk:** Controleer de flacons vóór gebruik. Gebruik flacons met conjugaat of IFN- $\gamma$ -standaard niet als deze tekenen van schade vertonen of als de rubberen afsluiting is beschadigd. Pak gebroken flacons niet vast. Neem geschikte veiligheidsmaatregelen om de flacons veilig af te voeren. Advies: Gebruik de flacon-ontdopper om de flacons met conjugaat of IFN- $\gamma$ -standaard te openen om het risico op letsel door de metalen dop te minimaliseren.
  - Strips voor microtiterplaten, IFN- $\gamma$  standaard, groene verdunningsoplossing of conjugaatconcentraat 100x uit verschillende QFT-Plus-kitpartijen mogen niet worden gemengd of door elkaar gebruikt. Andere reagentia (spoelbuffer 20x geconcentreerd, enzymsubstraatoplossing en enzymremmingsoplossing) kunnen worden uitgewisseld tussen kits op voorwaarde dat de vervaldatum van de reagentia nog niet is verstreken en dat de partijgegevens worden geregistreerd.
  - Werp niet-gebruikte reagentia en biologische monsters weg volgens de plaatselijke of nationale regelgeving.
  - Gebruik geen QFT-Plus Blood Collection Tubes of ELISA-kits waarvan de vervaldatum is verstreken.
  - Volg altijd de juiste laboratoriumprocedures.
  - Zorg ervoor dat laboratoriumapparatuur is gekalibreerd en gevalideerd voor gebruik.

# Specimenafname en -verwerking

QFT-Plus maakt gebruik van de volgende bloedafnamebuisjes:

1. QuantiFERON Nil-buisjes (grijze dop met witte ring)
2. QuantiFERON TB1-buisjes (groene dop met witte ring)
3. QuantiFERON TB2-buisjes (gele dop met witte ring)
4. QuantiFERON Mitogen-buisjes (paarse dop met witte ring)
5. QuantiFERON HA Nil-buisjes (grijze dop, gele ring)
6. QuantiFERON HA TB1-buisjes (groene dop, gele ring)
7. QuantiFERON HA TB2-buisjes (gele dop, gele ring)
8. QuantiFERON HA Mitogen-buisjes(paarse dop, gele ring)

De binnenzijde van de bloedafnamebuisjes is bedekt met gedroogd antigeen. Het is dus van belang dat de inhoud van de buisjes goed met bloed wordt gemengd. Voor bloed dat rechtstreeks in de QFT-Plus-buisjes wordt gezogen moeten de QFT-Plus-buisjes bewaard en vervoerd worden op kamertemperatuur ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) en zo snel mogelijk, maar uiterlijk 16 uur na bloedafname, overgedragen worden naar een incubator van  $37\text{ °C}$ . Bloed kan ook worden verzameld in één lithiumheparine- of natriumheparinebuisje voor opslag voorafgaand aan overdracht naar QFT-Plus en incubatie. Bloedspecimens die worden verzameld in lithiumheparine of natriumheparine kunnen maximaal 16 uur worden bewaard op kamertemperatuur ( $17\text{-}25\text{ °C}$ ) en vervolgens worden overdragen naar QFT-Plus-buisjes. Bloedspecimens in lithiumheparine- of natriumheparinebuisjes kunnen ook worden bewaard bij een temperatuur van  $2\text{-}8\text{ °C}$  gedurende 48 uur voorafgaand aan overdracht naar de QFT-Plus-buisjes. Raadpleeg het hoofdstuk 'Bloedafname in één lithiumheparine of natriumheparinebuisje en overdracht naar QFT-Plus Blood Collection Tubes'.

---

## Directe bloedafname in QFT-Plus Blood Collection Tubes

### 1. Voorzie de buisjes van passende etiketten.

Zorg ervoor dat elk buisje (Nil, TB1, TB2 en Mitogen) herkenbaar is aan het etiket of andere middelen zodra de dop is verwijderd.

U wordt geadviseerd om het buisje van de tijd en datum van de bloedafname te voorzien.

### 2. Verzamel door middel van venapunctie van elke patiënt 1 ml bloed rechtstreeks in elk van de QFT-Plus Blood Collection Tubes. Deze procedure moet worden uitgevoerd door een daartoe opgeleid personeel.

Belangrijke opmerking: Tijdens het vullen met bloed moeten de buisjes op een temperatuur van 17 °C tot 25 °C worden gehouden.

Standaard QFT-Plus Blood Collection Tubes kunnen worden gebruikt tot een hoogte van 810 meter boven zeeniveau. High Altitude QFT-Plus Blood Collection Tubes kunnen worden gebruikt tussen een hoogte van 1020 en 1875 meter boven zeeniveau.

Het verzamelen van 1 ml bloed gaat relatief langzaam. Houd het buisje daarom gedurende 2–3 seconden op de naald als het buisje helemaal vol lijkt te zijn. Dit zorgt ervoor dat het juiste volume wordt bereikt.

- De zwarte markering op de zijkant van de buisjes geeft het gevalideerde bereik van 0,8–1,2 ml aan. Als het bloedniveau in een buisje buiten het bereik van de indicatiemarkering valt, moet u een nieuw bloedmonster afnemen. Als de buisjes met minder dan 0,8 ml of meer dan 1,2 ml worden gevuld, kan dit leiden tot onjuiste resultaten.
- Als voor het verzamelen van het bloed een vlindernaald wordt gebruikt, moet een afnamebuisje worden gebruikt om ervoor te zorgen dat het slangetje met bloed is gevuld voordat de QFT-Plus Blood Collection Tubes worden gebruikt.
- Als de QFT-Plus Blood Collection Tubes op een hoogte van meer dan 810 meter of bij lage testvolumes worden gebruikt, kan de gebruiker bloed afnemen met een spuit en onmiddellijk 1 ml bloed naar de 4 buisjes overbrengen. Uit veiligheidsoverwegingen kan men hiervoor het best de naald van de spuit verwijderen. Neem hierbij de gebruikelijke voorzorgsmaatregelen in acht.

---

Verwijder de doppen van de 4 QFT-Plus-buisjes en voeg aan elk buisje 1 ml bloed toe (tot aan het midden van de zwarte markering aan de zijkant van het etiket). Breng vervolgens de doppen weer aan en meng zoals hieronder beschreven. Zorg ervoor dat elk buisje (Nil, TB1, TB2 en Mitogen) herkenbaar is aan het etiket of andere middelen zodra de dop is verwijderd.

3. Zodra de buisjes zijn gevuld, moeten deze minstens tien (10) maal net krachtig genoeg worden geschud om ervoor te zorgen dat de gehele binnenwand van de buisjes met bloed wordt bedekt. Zo wordt het antigeen op de binnenwand opgelost.

Belangrijke opmerking: Tijdens het schudden moeten de buisjes op een temperatuur van 17–25 °C worden gehouden. Te krachtig schudden kan tot afbraak van de gel en derhalve afwijkende resultaten leiden.

4. Na het etiketteren, vullen en schudden moeten de buisjes zo snel mogelijk, maar uiterlijk binnen 16 uur na de bloedafname, in een incubator van 37 °C ± 1 °C worden geplaatst. Bewaar en vervoer de buisjes vóór de incubatie op kamertemperatuur (22 ± 5 °C). Indien QFT-Plus-buisjes niet direct na bloedafname en schudden bij 37 °C worden geïncubeerd, draait u de buisjes om zodat ze 10 maal worden gemengd voorafgaand aan incubatie bij 37 °C.
5. Incubeer de QFT-Plus buisjes **RECHTOPSTAAND** gedurende 16 tot 24 uur bij 37 °C ± 1 °C. CO<sub>2</sub> of bevochtiging is hierbij niet vereist.

#### Bloedafname in één lithiumheparine of natriumheparinebuisje en overdracht naar QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. U kunt bloed afnemen in één generiek bloedafnamebuisje dat lithiumheparine of natriumheparine als antistollingsmiddel bevat en dit vervolgens overbrengen naar QFT-Plus Blood Collection Tubes. Gebruik alleen lithium- of natriumheparine als antistollingsmiddel voor het bloed aangezien andere antistollingsmiddelen de assay kunnen verstoren. Voorzie de buisjes van passende etiketten.

U wordt geadviseerd om het buisje van de tijd en datum van de bloedafname te voorzien.

Belangrijk: Bloedafnamebuisjes moeten tijdens de bloedafname op kamertemperatuur (17 °C tot 25 °C) worden gehouden.

2. Vul een lithiumheparine of natriumheparine-bloedafnamebuisje (minimaal volume 5 ml) en meng dit voorzichtig door het buisje meerdere keren om te draaien zodat de heparine oplost. Deze procedure moet worden uitgevoerd door een daartoe opgeleid personeel.
3. Opties voor de vasthoudtijd en temperatuur voor lithium of natriumheparinebuisjes voorafgaand aan overdracht en incubatie in QFT-Plus Blood Collection Tubes (zie afbeelding 1-3 Bloedafnameopties).

Optie 1 – Gekoelde opslag en gebruik van lithium of natriumheparinebuisjes Bloed in een lithium- of natriumheparinebuisje mag niet langer dan 16 uur op kamertemperatuur (22 °C ± 5 °C) worden bewaard vanaf het moment van afname voordat het wordt overgedragen naar QFT-Plus Blood Collection Tubes en daaropvolgende incubatie.

Optie 2 – Gekoelde opslag en gebruik van lithium of natriumheparinebuisjes

Belangrijk: Stap a-d van de procedure moet in de aangegeven volgorde worden opgevolgd.

- a. Bloed dat in lithium of natriumheparinebuisjes is verzameld, kan maximaal 3 uur na de bloedafname op kamertemperatuur (17 °C tot 25 °C) worden bewaard.
- b. Bloed dat in lithium of natriumheparinebuisjes is verzameld, kan maximaal 48 uur na de bloedafname gekoeld (2 °C tot 8 °C) worden bewaard.
- c. Nadat ze gekoeld zijn geweest, moeten lithium of natriumheparinebuisjes weer op kamertemperatuur (17 °C tot 25 °C) worden gebracht, voordat specimen wordt overgedragen naar QFT-Plus Blood Collection Tubes.
- d. Aliquots van QFT-Plus Blood Collection Tubes moeten binnen 2 uur na de bloedoverdracht in de incubator van 37 °C worden geplaatst.

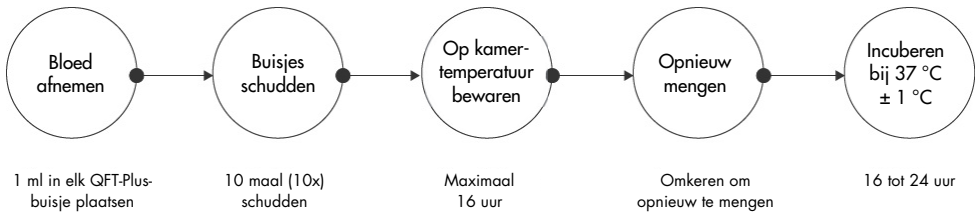
Indien QFT-Plus Blood Collection Tubes niet direct na overdracht naar QFT-Plus Blood Collection Tubes en schudden op 37 °C worden geïncubeerd, moeten de buisjes voorafgaand aan incubatie 10 maal worden gemengd bij 37 °C. De totale tijd vanaf bloedafname tot incubatie in QFT-Plus Blood Collection Tubes mag niet langer zijn dan 53 uur.

4. Overdracht van bloedspecimen vanuit een lithium of natriumheparinebuisje naar QFT-Plus Blood Collection Tubes:
  - a. Etiketteer elke QFT-Plus Blood Collection Tube op gepaste wijze.

Zorg ervoor dat elk buisje (Nil, TB1, TB2 en Mitogen) herkenbaar is aan het etiket of andere middelen zodra de dop is verwijderd. U wordt geadviseerd om de tijd en datum van bloedafname over te dragen van de lithium of natriumheparinebuisjes naar de QFT-Plus Blood Collection Tubes.
  - b. Monsters moeten evenredig gemengd worden door ze voorzichtig om te keren voordat ze worden overgedragen naar QFT-Plus Blood Collection Tubes.
  - c. De overdracht moet aseptisch uitgevoerd worden door, met inachtneming van de juiste veiligheidsprocedures, de doppen van de 4 QFT-Plus Blood Collection Tubes te verwijderen en 1 ml bloed aan elk buisje toe te voegen. Bevestig de doppen weer stevig op de buisjes en meng zoals hieronder beschreven. Zorg ervoor dat elk buisje (Nil, TB1, TB2 en Mitogen) herkenbaar is aan het etiket of andere middelen zodra de dop is verwijderd.
5. Meng de buisjes. Zodra de QFT-Plus Blood Collection Tubes zijn gevuld, moeten deze minstens tien (10) maal net krachtig genoeg worden geschud om ervoor te zorgen dat de gehele binnenwand van de buisjes met bloed wordt bedekt. Zo wordt het antigeen op de binnenwand opgelost.

Te krachtig schudden kan tot afbraak van de gel en derhalve afwijkende resultaten leiden.
6. Na het etiketteren, vullen en schudden moeten de buisjes binnen 2 uur na de bloedafname in een incubator van  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  worden geplaatst. Indien QFT-Plus Blood Collection Tubes niet direct na bloedafname en schudden bij  $37\text{ °C}$  worden geïncubeerd, draait u de buisjes om zodat ze 10 maal (10x) worden gemengd voorafgaand aan incubatie bij  $37\text{ °C}$ . (Zie afbeelding 1 tot 3 op de volgende pagina voor opties voor bloedafname).
7. Incubeer de QFT-Plus Blood Collection Tubes **RECHTOPSTAAND** gedurende 16 tot 24 uur bij  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ .  $\text{CO}_2$  of bevochtiging is hierbij niet vereist.

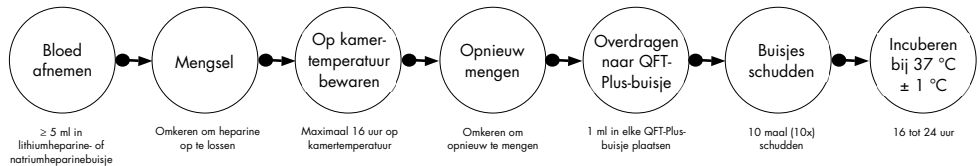
Neem bloed af in QFT-Plus Blood Collection Tubes en bewaar deze op kamertemperatuur.



Afbeelding 1. Optie voor bloedafname: Neem bloed af, plaats dit direct in QFT-Plus Blood Collection Tubes en bewaar deze op kamertemperatuur.

De totale duur tussen bloedafname in QFT-Plus Blood Collection Tubes tot incubatie bij 37 °C mag niet langer zijn dan 16 uur.

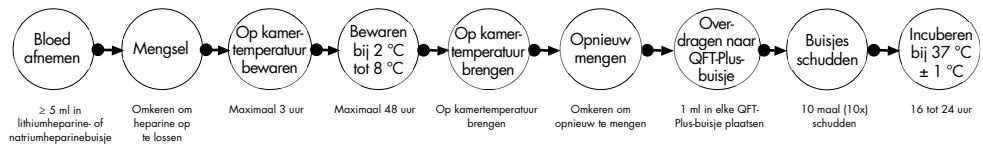
Neem bloed af in een lithium of natriumheparinebuisje en bewaar deze op kamertemperatuur.



Afbeelding 2. Optie voor bloedafname: Neem bloed af in een lithium of natriumheparinebuisje en bewaar deze op kamertemperatuur.

De totale duur tussen bloedafname in een lithium of natriumheparinebuisje tot incubatie bij 37 °C mag niet langer zijn dan 16 uur.

Neem bloed af in lithium- of natriumheparinebuisjes en bewaar deze bij 2 °C tot 8 °C.



Afbeelding 3. Optie voor bloedafname: Neem bloed af in een lithium- of natriumheparinebuisje en bewaar deze bij 2 °C tot 8 °C.

De totale duur tussen bloedafname in een lithium of natriumheparinebuisje tot incubatie bij 37 °C mag niet langer zijn dan 53 uur.

# Richtlijnen voor gebruik

## Fase 1 — incubatie van bloed en verzamelen van plasma

### Meegeleverde materialen

- QFT-Plus Blood Collection Tubes (raadpleeg hoofdstuk 3)

### Benodigde maar niet meegeleverde materialen

- Raadpleeg hoofdstuk 3.

### Procedure

1. Als de bloedmonsters niet onmiddellijk na de bloedafname worden geïncubeerd, moeten de buisjes vlak voor de incubatie opnieuw worden gemengd door ze 10 maal om te keren.
2. Incubeer de buisjes RECHTOPSTAAND gedurende 16 tot 24 uur bij  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ .  $\text{CO}_2$  of bevochtiging is hierbij niet vereist.
3. Na de incubatie bij  $37\text{ °C}$  kunnen de bloedafnamebuisjes maximaal 3 dagen bij  $4\text{ °C}$  tot  $27\text{ °C}$  worden bewaard voorafgaand aan de centrifugering.
4. Na de incubatie van de buisjes bij  $37\text{ °C}$  worden deze voor het eenvoudiger extraheren van het plasma gedurende 15 minuten bij 2000 tot 3000 x RCF (*g*) gecentrifugeerd. De cellen worden door een gelprop van het plasma gescheiden. Als de gelprop niet verschijnt, moeten de buisjes opnieuw worden gecentrifugeerd.

Het is mogelijk het plasma zonder centrifugeren te verzamelen, maar extra zorg is geboden om het plasma te scheiden zonder de cellen te verstoren.

5. Plasmamonsters mogen alleen met een pipet worden verzameld.

Belangrijke opmerking: Na het centrifugeren en voorafgaand aan het verzamelen moet op en neer bewegen van de pipet of mengen van het plasma te allen tijde worden vermeden. Zorg er altijd voor dat het materiaal aan het oppervlak van de gel niet wordt verstoord.



Plasmamonsters kunnen rechtstreeks vanuit de gecentrifugeerde bloedafnamebuisjes worden overgebracht op de QFT-Plus ELISA-plaat, ook als geautomatiseerde ELISA-werkstations worden gebruikt.

Plasmamonsters kunnen maximaal 28 dagen bij 2 °C tot 8 °C worden bewaard. Na extractie van het plasma kunnen ze bij -20 °C of lager nog langer worden bewaard.

Extraheer ten minste 150 µl plasma om zeker te zijn van voldoende testmonsters.

## Fase 2 — ELISA $\gamma$ van IFN

### Meegeleverde materialen

- QFT-Plus ELISA-kit (raadpleeg hoofdstuk 3).

### Benodigde maar niet meegeleverde materialen

- Raadpleeg hoofdstuk 3.

### Procedure

1. Alle plasmamonsters en reagentia, behalve conjugaatconcentraat 100x, dienen vóór gebruik op kamertemperatuur ( $22 \pm 5$  °C) te worden gebracht. Laat minimaal 60 minuten staan om de monsters op kamertemperatuur te laten komen.
2. Verwijder strips die niet nodig zijn van het frame, verzegel ze opnieuw in de folieverpakking en zet deze terug in de koelkast voor later gebruik.

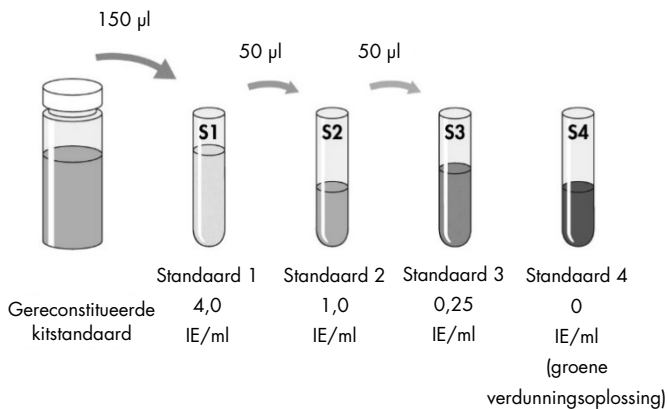
Neem minstens 1 strip voor de QFT-Plus-standaarden en voldoende strips voor het aantal proefpersonen dat wordt getest (zie Afbeelding 5). Bewaar na gebruik het frame om later met de resterende strips te gebruiken.

3. Reconstitueer de IFN $\gamma$ -standaard met de hoeveelheid gedeïoniseerd of gedestilleerd water zoals aangegeven op het etiket van de flacon. Meng voorzichtig om schuimvorming zoveel mogelijk tegen te gaan en zorg dat volledige oplossing plaatsvindt. Reconstitutie van de standaard naar het betreffende volume geeft een oplossing met een concentratie van 8,0 IE/ml.

Belangrijke opmerking: Het reconstitutievolume van de kitstandaard verschilt van partij tot partij.

Gebruik de gereconstitueerde kitstandaard om een 1 op 2 verdunning te produceren, gevolgd door een 1 op 4 verdunningsreeks van IFN- $\gamma$  in groene verdunningsoplossing (GD) (zie Afbeelding 4). S1 (standaard 1) bevat 4,0 IE/ml, S2 (standaard 2) bevat 1,0 IE/ml, S3 (standaard 3) bevat 0,25 IE/ml en S4 (standaard 4) bevat 0 IE/ml (alleen GD). De standaarden moeten minstens dubbel worden getest. Maak voor elke ELISA-bewerking nieuwe verdunningen van de kitstandaard.

Aanbevolen procedure voor dubbele standaarden	
Geef 4 buisjes de etiketten "S1", "S2", "S3" en "S4".	
Voeg 150 $\mu$ l GD toe aan S1, S2, S3 en S4.	
Voeg 150 $\mu$ l kitstandaard toe aan S1 en meng goed.	
Breng 50 $\mu$ l uit S1 over in S2 en meng goed.	
Breng 50 $\mu$ l uit S2 over in S3 en meng goed.	
GD alleen dient als de nulstandaard (S4).	



Afbeelding 4. Maken van de standaardcurve.

4. Reconstitueer gelyofiliseerd conjugaatconcentraat 100x met 0,3 ml gedeïoniseerd of gedestilleerd water. Meng voorzichtig om schuimvorming zoveel mogelijk tegen te gaan en zorg dat volledige oplossing van het conjugaat plaatsvindt.

Gebruiksklaar conjugaat wordt bereid door de vereiste hoeveelheid gereconstitueerd conjugaatconcentraat 100x te verdunnen met groene verdunningsoplossing (Tabel 1. Bereiding conjugaat). Sla onmiddellijk na gebruik eventueel niet-gebruikt conjugaatconcentraat 100x weer op bij een temperatuur van 2 °C tot 8 °C. Gebruik alleen groene verdunningsoplossing.

Tabel 1. Bereiding conjugaat

Aantal strips	Hoeveelheid conjugaatconcentraat 100x	Hoeveelheid groene verdunningsoplossing
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. Plasmamonsters die zijn verkregen uit bloedafnamebuisjes en vervolgens zijn opgeslagen (gekoeld of bevroren), moeten worden gemengd alvorens te worden toegevoegd aan het ELISA-putje.

Belangrijke opmerking: Als plasmamonsters rechtstreeks vanuit de gecentrifugeerde QFT-Plus-buisjes moeten worden toegevoegd, dient vermenging van het plasma te worden vermeden. Zorg er altijd voor dat het materiaal aan het oppervlak van de gel niet wordt verstoord.

6. Voeg met behulp van een meerkanaalspipet 50 µl vers bereid, gebruiksklaar conjugaat toe aan de betreffende ELISA-putjes.
7. Voeg 50 µl testplasmamonsters toe aan de betreffende putjes met behulp van een meerkanaalspipet (zie aanbevolen plaatindeling op Afbeelding 5). Voeg ten slotte 50 µl toe van elk van de standaarden 1 t/m 4.

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

Afbeelding 5. Aanbevolen monsterindeling (22 tests per plaat).

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

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

8. Dek elke plaat af en meng het conjugaat met de plasmamonsters/standaarden gedurende 1 minuut goed met behulp van een schudapparaat voor microtiterplaten. Vermijd spatten.
9. Dek elke plaat af en incubeer gedurende  $120 \pm 5$  minuten op kamertemperatuur ( $22 \pm 5$  °C).  
Tijdens het incuberen mogen de platen niet aan direct zonlicht worden blootgesteld.
10. Verdun tijdens het incuberen één deel spoelbuffer, concentraat 20x, met 19 delen gedeïoniseerd of gedestilleerd water en meng goed. Er is voldoende spoelbuffer, concentraat 20x, aanwezig om 2 liter gebruiksklare spoelbuffer te maken.  
Spoel de putjes gedurende minstens 6 cycli met 400 µl gebruiksklare spoelbuffer. Er wordt een geautomatiseerde plaatspoeler aanbevolen.

---

Zorgvuldig spoelen is erg belangrijk voor het uitvoeren van de assay. Zorg dat elk putje voor elke spoelcyclus tot aan de rand volledig is gevuld met spoelbuffer. Er wordt een inweektijd van minstens 5 seconden tussen de cycli aanbevolen.

Er dient een standaard desinfecterend middel voor laboratoria te worden toegevoegd aan het uitstroomreservoir en er moeten algemeen aanvaarde procedures worden gevolgd voor het ontsmetten van potentieel besmettelijk materiaal.

11. Houd de platen omgekeerd boven een absorberende, niet-pluizende doek en tik erop om resterende spoelbuffer te verwijderen. Voeg 100 µl enzymsubstraatoplossing toe aan elk putje, dek elke plaat af en meng goed met behulp van een schudapparaat voor microtiterplaten.
12. Dek elke plaat af en incubeer gedurende 30 minuten op kamertemperatuur ( $22 \pm 5$  °C). Tijdens het incuberen mogen de platen niet aan direct zonlicht worden blootgesteld.
13. Voeg na een incubatie van 30 minuten 50 µl enzymremmingsoplossing toe aan elk putje en meng goed.

De enzymremmingsoplossing dient in dezelfde volgorde en in het ongeveer hetzelfde tempo aan de putjes te worden toegevoegd als het substraat in stap 11.
14. Meet binnen 5 minuten na het stoppen van de reactie de absorptie of optische dichtheid (Optical Density, OD) van elk putje met een microtiterplaatlezer die is voorzien van een 450 nm-filter en een referentiefilter van 620 tot 650 nm. OD-waarden worden gebruikt om de resultaten te berekenen.

---

# Berekeningen en interpretatie van de test

QFT-Plus-analysesoftware kan worden gebruikt voor het analyseren van de onbewerkte gegevens en het berekenen van de resultaten. Deze is verkrijgbaar op [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Zorg ervoor dat de meest recente versie van de QFT-Plus-analysesoftware wordt gebruikt.

De software voert een kwaliteitscontrole voor de assay uit, genereert een standaardcurve en geeft voor elke proefpersoon een testresultaat, zoals verder is uitgewerkt in het hoofdstuk "Interpretatie van de resultaten".

In plaats van met de QFT-Plus-analysesoftware kunnen de resultaten ook worden bepaald met de volgende methode.

## Genereren van de standaardcurve

(Als QFT-Plus-analysesoftware niet wordt gebruikt)

Bepaal de gemiddelde OD-waarden van de kitstandaardrePLICATEN op elke plaat.

Construeer een dubbellogaritmische standaardcurve door de  $\log_{10}$  van de gemiddelde OD (y-as) af te zetten tegen de  $\log_{10}$  van de IFN- $\gamma$ -concentratie van de standaarden in IE/ml (x-as), waarbij de nulstandaard niet bij deze berekeningen moet worden betrokken. Bereken de best passende lijn voor de standaardcurve met behulp van regressieanalyse.

Gebruik de standaardcurve om de IFN- $\gamma$ -concentratie (IE/ml) vast te stellen voor elk testplasmamonster met behulp van de OD-waarde van elk monster.

Deze berekeningen kunnen worden uitgevoerd met softwarepakketten die bij microtiterplaatlezers worden geleverd en een standaardspreadsheet of statistische software (zoals Microsoft® Excel®). Het wordt aanbevolen deze pakketten te gebruiken voor het berekenen van de regressieanalyse, de variatiecoëfficiënt (coefficient of variation, %CV) van de standaarden en de correlatiecoëfficiënt ( $r$ ) van de standaardcurve.

---

## Kwaliteitscontrole van de test

De nauwkeurigheid van de testresultaten hangt af van het genereren van een accurate standaardcurve. Resultaten die van de standaarden worden afgeleid, dienen dus nader te worden bekeken voordat de resultaten van de testmonsters kunnen worden geïnterpreteerd.

De ELISA is geldig als aan het volgende is voldaan:

- De gemiddelde OD-waarde voor standaard 1 moet  $\geq 0,600$  zijn.
- De %CV voor de OD-waarden van de replicaten van standaard 1 en standaard 2 dienen  $\leq 15\%$  te zijn.
- De OD-waarden van de replicaten van standaard 3 en standaard 4 mogen niet meer dan 0,040 eenheden optische dichtheid van het gemiddelde afwijken.
- De correlatiecoëfficiënt ( $r$ ) van de gemiddelde absorptiewaarden van de standaarden dient  $\geq 0,98$  te zijn.

De QFT-Plus-analysesoftware berekent deze parameters voor kwaliteitscontrole en rapporteert deze.

Als niet aan bovenstaande criteria wordt voldaan, is de run ongeldig en moet deze worden herhaald.

De gemiddelde OD-waarde van de nulstandaard (groene verdunningsoplossing) dient  $\leq 0,150$  te zijn. Als de gemiddelde OD-waarde  $> 0,150$  is, dient de plaatspoelprocedure te worden gecontroleerd.

## Interpretatie van de resultaten

QFT-Plus-resultaten worden geïnterpreteerd aan de hand van de volgende criteria (Tabel 2):

**Belangrijke opmerking:** Het diagnosticeren of uitsluiten van tuberculose en het beoordelen van de waarschijnlijkheid van een LTBI vereist een combinatie van epidemiologische, historische, medische en diagnostische bevindingen waarmee bij de interpretatie van de QFT-Plus-testresultaten rekening moet worden gehouden.

Tabel 2. Interpretatie van QFT-Plus-resultaten

Nil (IE/ml)	TB1 minus Nil (IE/ml)	TB2 minus Nil (IE/ml)	Mitogen minus Nil (IE/ml)*	QFT-Plus-resultaat	Rapport/interpretatie
≤ 8,0	≥ 0,35 en ≥ 25% van waarde van Nil	Elke waarde	Elke waarde	Positief†	<i>M. tuberculosis</i> -infectie waarschijnlijk
	Elke waarde	≥ 0,35 en ≥ 25% van waarde van Nil			
	< 0,35 of ≥ 0,35 en < 25% van waarde van Nil	< 0,35 of ≥ 0,35 en < 25% van waarde van Nil	≥ 0,5	Negatief	<i>M. tuberculosis</i> -infectie NIET waarschijnlijk
	< 0,35 of ≥ 0,35 en < 25% van waarde van Nil	< 0,35 of ≥ 0,35 en < 25% van waarde van Nil	< 0,5	Onbepaald‡	Waarschijnlijkheid van een <i>M. tuberculosis</i> -infectie kan niet worden bepaald
> 8,0§		Elke waarde		Onbepaald‡	Waarschijnlijkheid van een <i>M. tuberculosis</i> -infectie kan niet worden bepaald

\* Reacties op de Mitogen-positieve controle (en soms TB-antigenen) kunnen zich buiten het bereik van de microtiterplaatlezer bevinden. Dit is niet van invloed op de testresultaten. Waarden > 10 ml worden door de QFT-Plus-software gerapporteerd als > 10 IE/ml.

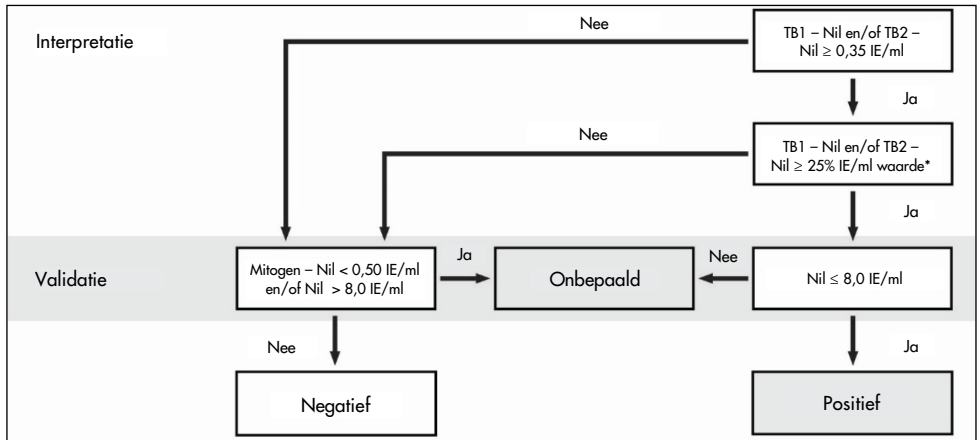
† Als er geen vermoeden van een *M. tuberculosis*-infectie bestaat, kunnen aanvankelijk positieve resultaten worden bevestigd door de originele plasmamonsters in de QFT-Plus ELISA opnieuw dubbel te testen. Als de herhaalde test bij een of beide replicaten een positief resultaat oplevert, moet het testresultaat als positief worden beoordeeld.

‡ Raadpleeg het hoofdstuk "Problemen oplossen" voor mogelijke oorzaken.

§ In klinische onderzoeken had minder dan 0,25% van de proefpersonen IFN $\gamma$ -waarden van > 8,0 IE/ml bij de Nil-waarde.

De hoogte van de gemeten IFN $\gamma$ -concentratie kan niet worden gecorreleerd aan het stadium of de mate van infectie, de omvang van de immunoreactiviteit of de waarschijnlijkheid van progressie naar actieve tuberculose. Een positieve TB-reactie bij proefpersonen die een negatieve reactie op Mitogen hebben, is zeldzaam, maar is waargenomen bij patiënten met TB. Dit geeft aan dat de IFN $\gamma$ -reactie op het TB-antigeen groter is dan de reactie op Mitogen, wat mogelijk is omdat Mitogenniveau de IFN $\gamma$ -productie door lymfocyten niet maximaal stimuleert.





\* De TB1 minus Nil of TB2 minus Nil is geldig als aan het volgende is voldaan: hoeveelheid  $\geq 25\%$  van IE/ml-waarde voor Nil moet uit hetzelfde buisje komen als het oorspronkelijke resultaat  $\geq 0,35$  IE/ml.

Afbeelding 6. QFT-Plus-stroomdiagram

---

# Beperkingen

De resultaten van de QFT-Plus-test dienen te worden gebruikt in combinatie met de epidemiologische voorgeschiedenis, de huidige medische status en andere diagnostische onderzoeken van elke patiënt.

Individueen met Nil-waarden groter dan 8,0 IE/ml worden geclassificeerd als 'onbepaald' omdat een 25% hogere reactie op de TB-antigenen buiten het meetbereik van de assay kan liggen.

Onbetrouwbare of onbepaalde resultaten kunnen het gevolg zijn van:

- Afwijkingen van de in deze bijsluiters beschreven procedure
- Zeer hoge concentraties circulerend IFN- $\gamma$  of aanwezigheid van heterofiele antilichamen.
- Overschrijding van de termijn van 16 uur tussen bloedspecimenafname en incubatie bij 37 °C. Dit is niet van toepassing bij gebruik van de methode met lithium of natriumheparinebuisjes bij 2-8 °C.

# Prestatiekenmerken

## Klinische onderzoeken

Aangezien er geen definitieve standaardtest bestaat voor LTBI, kan een schatting van de gevoeligheid en specificiteit van de QFT-Plus niet praktisch worden geëvalueerd. De specificiteit van de QFT-Plus-test is bij benadering vastgesteld door evaluatie van het percentage fout-positieve resultaten bij personen met gering risico van (d.w.z. zonder bekende risicofactoren voor) een tuberculose-infectie. De gevoeligheid is bij benadering vastgesteld door evaluatie van patiëntengroepen met door middel van cultuur bevestigde actieve tuberculose.

### Specificiteit

Er is een onderzoek uitgevoerd onder 409 proefpersonen om de specificiteit van QFT-Plus te evalueren. De demografische gegevens en risicofactoren voor blootstelling aan TB werden vastgesteld met behulp van een gestandaardiseerde enquête die tijdens de test werd afgenomen.

In een samenvatting met bevindingen van de 2 groepen patiënten met gering risico van (d.w.z. zonder bekende risicofactoren voor) een tuberculose-infectie was de algehele specificiteit van QFT-Plus 97,6% (399/409) (Tabel 3 en Tabel 4).

Tabel 3. Resultaten QFT-Plus-specificiteitsonderzoek per onderzoekslocatie

Onderzoek	Positief	Negatief	Onbepaald	Specificiteit (95% CI)
Japan	4	203	0	98% (95–100%)
Australië	6	196	0	97% (94–99%)

Tabel 4. Resultaten QFT-Plus-specificiteitsonderzoek per TB-antigenbuisje

Onderzoek	TB1	TB2	QFT-Plus
Positief	5	10	10
Negatief	404	399	399
Onbepaald	0	0	0
Specificiteit (95% CI)	98,8% (97,2–99,6)	97,6% (95,6–98,8)	97,6% (95,6–98,8)

## Gevoeligheid voor actieve TB

Hoewel er nog geen definitieve standaardtest voor LTBI bestaat, vormt de microbiologische cultuur van *M. tuberculosis* een geschikt vervangingsmiddel omdat patiënten met tuberculose per definitie zijn geïnfecteerd. Proefpersonen met TB-verdenking in 4 onderzoekslocaties in Australië en Japan bij wie later *M. tuberculosis*-infectie werd bevestigd door middel van cultuur werden getest om de gevoeligheid van de QFT-Plus te beoordelen (Tabel 5 en Tabel 6). De patiënten hadden minder dan 14 dagen behandeling ontvangen voorafgaand aan de bloedafname voor de QFT-Plus-test.

In een samenvatting met bevindingen van de 4 groepen positieve patiënten op basis van *M. tuberculosis*-cultuur bedroeg de algehele gevoeligheid van QFT-Plus voor actieve TB 95,3% (164/172). In de 4 groepen waren 159 patiënten volgens zowel TB1- als TB2-buisjes positief, 1 patiënt was alleen volgens TB1 positief en 4 patiënten waren alleen volgens TB2 positief. 1,1% (2/174) van de resultaten was onbepaald. Het TB2-resultaat identificeerde correct 1 door middel van cultuur bevestigde patiënt die alleen volgens TB1-resultaat onbepaald zou zijn geweest (laag Mitogen) (zie Tabel 5 en Tabel 6).

Tabel 5. Resultaten QFT-Plus-gevoeligheidsonderzoek per onderzoekslocatie

Onderzoekslocatie	Positief	Negatief	Onbepaald	QFT-Plus-gevoeligheid* (95% CI)
Locatie Japan 1	36	7	0	84% (69–93)
Locatie Japan 2	53	1	2	98% (90–100)
Locatie Japan 3	54	0	0	100% (93–100)
Locatie Australië	21	0	0	100% (84–100)

\* Gevoeligheid is gebaseerd op het totale aantal geldige tests, exclusief onbepaalde resultaten.

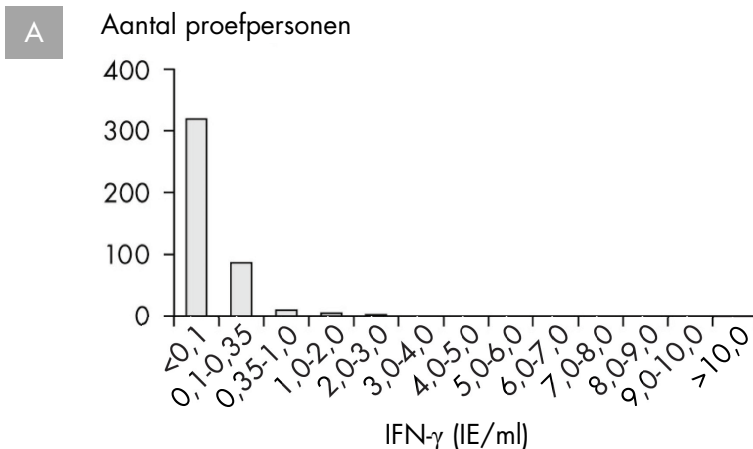
Tabel 6. Resultaten QFT-Plus-gevoeligheidsonderzoek per TB-antigeenbuisje

	TB1	TB2	QFT-Plus
Positief	160	163	164
Negatief	11	9	8
Onbepaald	3	2	2
Gevoeligheid† (95% CI)	93,6% (88,8-96,7)	94,8% (90,3-97,6)	95,3% (90,9-97,9)

\* Gevoeligheid is gebaseerd op het totale aantal geldige tests, exclusief onbepaalde resultaten.

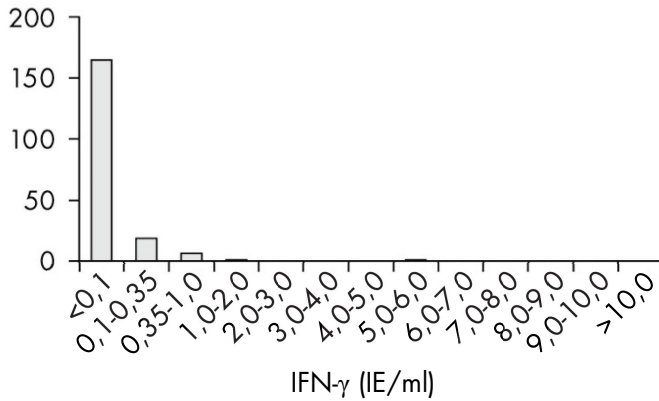
### Geobserveerde verdeling van reacties – gestratificeerd per risico

Er werd een bereik aan IFN $\gamma$ -reacties op TB1-, TB2- en controlebuisjes geobserveerd in klinische onderzoeken en gestratificeerd per risico van *M. tuberculosis*-infectie (afbeeldingen 7-9). De groep met gemengde risico's bestaat uit proefpersonen die representatief zijn voor een algehele testpopulatie, inclusief proefpersonen met en zonder risicofactoren voor blootstelling aan TB en waarbij actieve TB onwaarschijnlijk is (zoals LTBI).

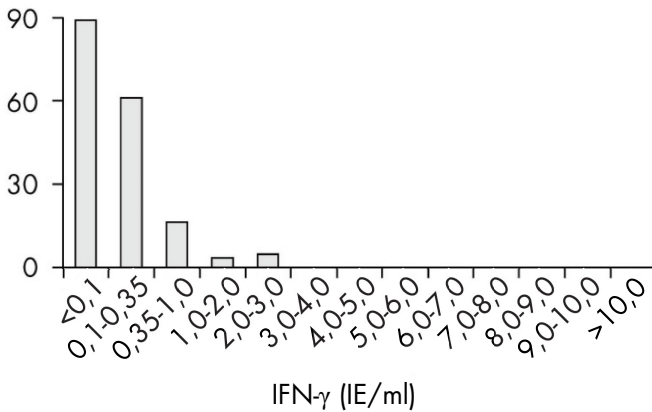


**B**

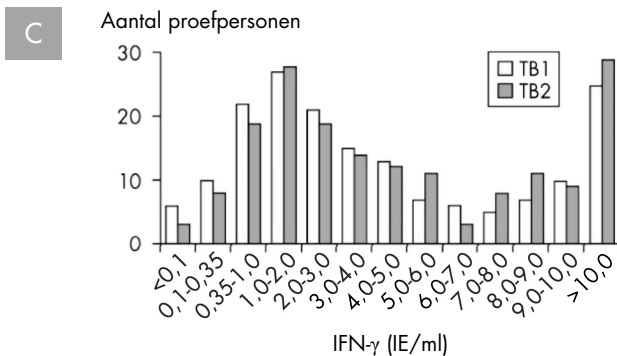
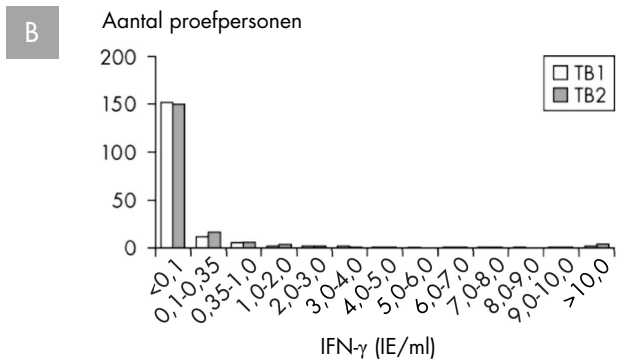
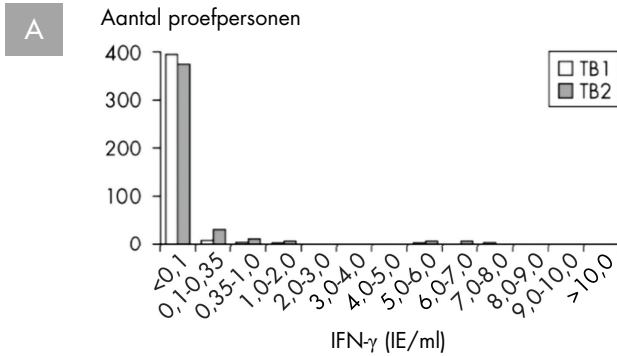
Aantal proefpersonen

**C**

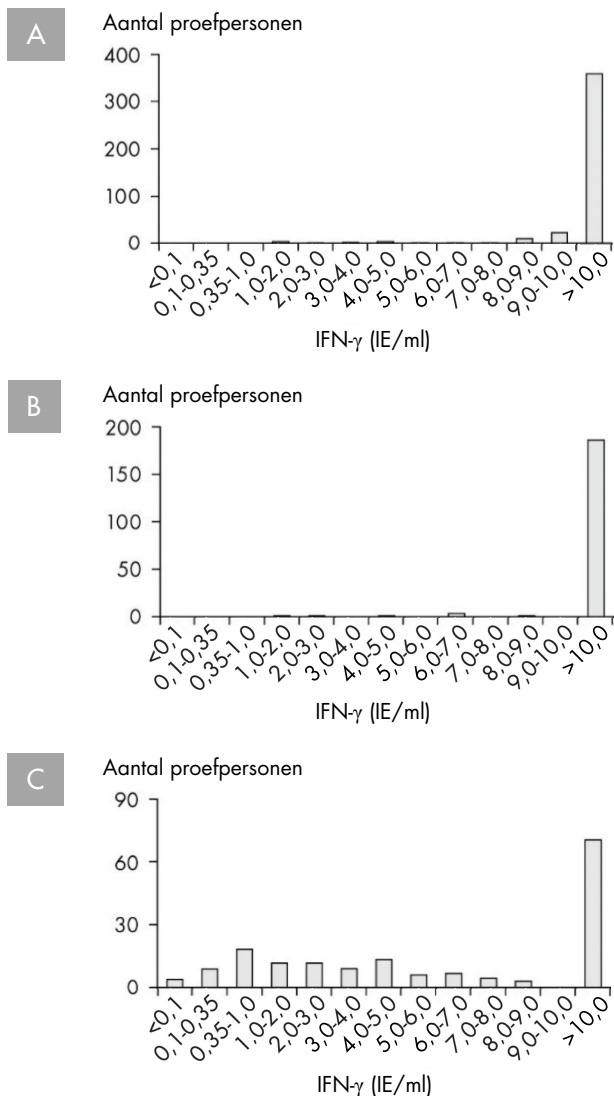
Aantal proefpersonen



Afbeelding 7. Verdeling van Nil. A. Verdeling van Nil-waarden in een populatie met gering risico (n=409). B. Verdeling van Nil-waarden in een populatie met gemengd risico (n=194). C. Verdeling van Nil-waarden in een populatie met door middel van cultuur bevestigd *M. tuberculosis* infection (n=174).

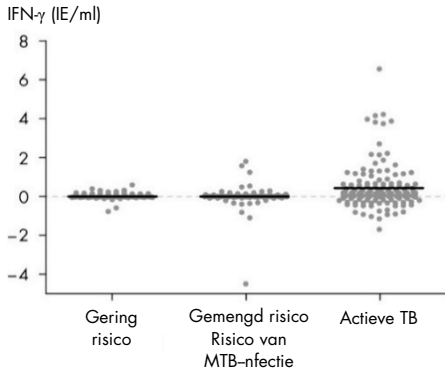


Afbeelding 8. Verdeling van TB1 en TB2 (na aftrek van Nil). **A.** Verdeling van TB1 en TB2 (na aftrek van Nil) in een populatie met gering risico (n=409). **B.** Verdeling van TB1 en TB2 (na aftrek van Nil) in een populatie met gemengd risico (n=194). **C.** Verdeling van TB1 en TB2 (na aftrek van Nil) in een populatie met door middel van cultuur bevestigde *M. tuberculosis*-infectie (n=174).



Afbeelding 9. Verdeling van Mitogen (na aftrek van Nil). **A.** Verdeling van Mitogen (na aftrek van Nil) in een populatie met gering risico (n=409). **B.** Verdeling van Mitogen (na aftrek van Nil) in een populatie met gemengd risico (n=194). **C.** Verdeling van Mitogen (na aftrek van Nil) in een populatie met door middel van cultuur bevestigde *M. tuberculosis* infectie (n=169).



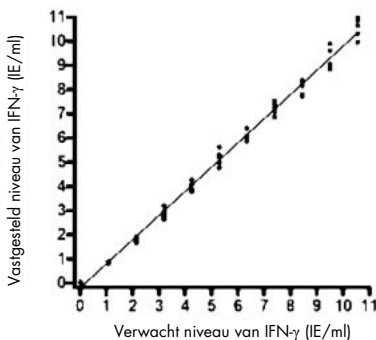


Afbeelding 10. Geobserveerd verschil tussen TB1 en TB2-waarden (na aftrek van Nil), gestratificeerd per risico. Een populatie met gering risico (n=409), een populatie met gemengd risico (n=189) en een populatie met door middel van cultuur bevestigde *M. tuberculosis*-infectie (n=141). TB1-waarden zijn afgetrokken van TB2-waarden. Proefpersonen met waarden voor TB1 of TB2 van > 10,0 IE/ml waren uitgesloten omdat zij buiten het lineaire bereik van de assay lagen.

## Kwaliteitskenmerken assay

Er is aangetoond dat de QFT-Plus ELISA lineair is door 5 replicaten uit 11 plasmagroepen van bekende IFN $\gamma$ -concentraties willekeurig over de ELISA-plaat te verdelen. De lineaire regressielijn heeft een helling van  $1,002 \pm 0,011$  en een correlatiecoëfficiënt van 0,99 (Afbeelding 11).

De detectielimiet van de QFT-Plus ELISA is 0,065 IE/ml en er wordt geen “high-dose hook” (prozone)-effect met IFN $\gamma$ -concentraties van maximaal 10.000 IE/ml vertoond.



Afbeelding 11. Lineariteitsprofiel van QFT-Plus ELISA.

---

De intra-assay en inter-assay-variatie (%CV) van QFT-Plus ELISA werd geschat door 20 plasmamonsters te testen met variërende IFN $\gamma$ -concentraties in replicaten van 3, in 3 verschillende laboratoria, op 3 niet opeenvolgende dagen en door 3 verschillende operators. Elk monster werd zodoende 27 maal getest in 9 onafhankelijke uitvoeringen van de assay. Eén monster was een Nil-controle waarvoor een IFN $\gamma$ -concentratie van 0,08 IE/ml (95% CI: 0,07-0,09) werd bepaald. Het bereik van concentraties van de overige 19 plasmamonsters was 0,33 (95% CI: 0,31–0,34) tot 7,7 IE/ml (95% CI: 7,48-7,92).

De intra-assay-variatie werd geschat door het gemiddelde te nemen van de %CV's voor elk testplasma met IFN $\gamma$  voor elke plaat (n = 9). Deze variatie liep uiteen van 4,1 tot 9,1% CV. De gemiddelde covariantie binnen een run ( $\pm 95\%$  CI) bedroeg  $6,6\% \pm 0,6\%$ . Het gemiddelde van de nulwaarde voor IFN $\gamma$ -plasma was 14,1% CV.

De totale variatie of inter-assay-variatie werd bepaald door de 27 berekende IFN $\gamma$ -concentraties voor elk testplasma te vergelijken. De inter-assay-variatie liep uiteen van 6,6 tot 12,3% CV. De totale gemiddelde %CV ( $\pm 95\%$  CI) was  $8,7\% \pm 0,7\%$ . De nulwaarde voor IFN $\gamma$ -plasma liet een %CV zien van 26,1. Deze mate van variatie is te verwachten omdat de berekende concentratie van IFN $\gamma$  laag is en de variatie rond een lage schatting van de concentratie groter zal zijn dan die bij hogere concentraties.

De reproduceerbaarheid van de QFT-Plus-test werd vastgesteld aan de hand van bloedmonsters van 102 proefpersonen met gemengde risicofactoren voor *M. tuberculosis*-infectie. Er werden drie verschillende operators en laboratoriumomstandigheden onderzocht.

Er werden totaal 3 diagnostische bepalingen voor elke proefpersoon gemaakt en 306 in totaal voor alle proefpersonen. In het algemeen was de diagnostische reproduceerbaarheid 99% (95% CI: 97,2–99,7), waarbij het diagnostische resultaat identiek was voor 303 van 306 bepalingen. De resultaten van 3 proefpersonen die nabij het afkappunt lagen, waren alle variaties.

## Diagnose van LTBI

Er zijn verschillende onderzoeken gepubliceerd die de prestaties aantonen van de QFT-test, de voorganger van QFT-Plus-test, onder diverse populaties die risico lopen op infectie met MTB. De belangrijkste bevindingen van enkele specifieke onderzoeken zijn weergegeven in Tabel 7.

Tabel 7. Geselecteerde onderzoeken gepubliceerd over de QFT-test

Populatie/aandoening	Resultaten en bevindingen	Totaal aantal gepubliceerde onderzoeken
Pediatrie	Bewezen prestaties bij kinderen, waaronder kinderen jonger dan 5 jaar (45–46), met hogere nauwkeurigheid dan de ELISPOT-gebaseerde IGRA (8). Het grootste onderzoek tot op heden waarbij QFT en TST worden vergeleken bij kinderen uit Vietnam, de Filipijnen en Mexico ondersteunt het voorkeursgebruik van QFT boven TST voor het testen op LTBI bij in het buitenland geboren kinderen (46). Een onderzoek met beperkt contact toont betere voorspellende waarden bij kinderen dan TST (47) en een 8 maal hoger risico van progressie naar TB binnen twee jaar onder QFT-converters in vergelijking met niet-converters (48). Het QFT-negatieve/TST-positieve verschil is hoog bij kinderen die zijn gevaccineerd met BCG (46, 49), maar er was geen invloed op reacties op Mitogen in kinderen jonger dan 5 jaar (49) en er waren lage onbepaalde waarden tijdens routinematige screening van kinderen van immigranten (46).	152
Zwangerschap	In een omgeving met lage incidentie presteert QFT net zo goed in elk trimester van zwangerschap met vergelijkbare resultaten met niet-zwangere vrouwen, is QFT veel specifiek, minstens net zo gevoelig en mogelijk een betere voorspeller van ziekteprogressie dan de TST (50). In een omgeving met hoge incidentie was QFT stabiel gedurende de zwangerschap en benaderde de QFT de achtergrond-LTBI-prevalentie beter vergeleken met de TST, hoewel de auteurs concludeerden dat zwangerschap invloed heeft op zowel QFT als de TST (51).	6

Vervolg tabel op de volgende pagina

Tabel 8. Geselecteerde onderzoeken gepubliceerd over de QFT-test (vervolg)

Populatie/aandoening	Resultaten en bevindingen	Totaal aantal gepubliceerde onderzoeken
Hiv/aids	Zowel IGRA's als TST worden beïnvloed door hiv-infectie en uit bewijsmateriaal blijkt dat resultaten bij personen met CD4+-aantallen < 200 voorzichtig moeten worden geïnterpreteerd (52). Er is aangetoond dat de QFT minder wordt beïnvloed dan de ELISPOT-gebaseerde IGRA en TST (53–55). Doordat maar één bezoek nodig is voor IGRA's wordt het probleem bij TST van slecht rendement onder deze populatie overwonnen (53).	101
Immunosuppressietherapieën	QFT wordt minder beïnvloed door immunosuppressietherapieën dan TST en correleert beter met risicofactoren voor TB (23, 27). QFT heeft hoge gevoeligheid bij patiënten met reumatische aandoeningen (23, 56, 57) en hogere specificiteit dan TST. Zo worden fout-positieven geminimaliseerd en onnodige behandelingen die met de TST zouden plaatsvinden, verminderd (23, 57, 58).	112
Medisch personeel	Aangetoond specifiek met minder fout-positieven dan de TST en kosteneffectiever dan de TST (59–62). Variatie rond de drempel is een verwachte bevinding in seriële tests vanwege het dichotome afkappunt en de inherente variatie van een biologische test (63). Onderzoeken hebben hogere conversie-/reversiewaarden aangetoond dan bij TST in seriële tests met medisch personeel met gering risico (64, 65). Het Amerikaanse CDC erkent dat het soepele criterium om IGRA-conversie te definiëren meer conversie kan produceren dan wordt geobserveerd met de strengere kwantitatieve criteria van de TST en er is aangetoond dat herhaaltteststrategieën effectief zijn bij het beheren van het conversie-/inversiefenomeen (65–68).	111
TB-contact	Hogere PPV en NPV dan de TST (47); gemak van één bezoek voor degenen die waarschijnlijk niet terugkomen (63), betere correlatie met blootstelling (69), wat met name wordt opgemerkt in met BCG gevaccineerde personen en populaties uit landen waar met BCG wordt gevaccineerd (70, 71).	89
Transplantatie	Is aangetoond minstens zo effectief als TST, maar wordt minder beïnvloed door orgaanziekte in terminale fase dan de TST (22).	23

Vervolg tabel op de volgende pagina

Tabel 9. Geselecteerde onderzoeken gepubliceerd over de QFT-test (vervolg)

Populatie/aandoening	Resultaten en bevindingen	Totaal aantal gepubliceerde onderzoeken
Diabetes	Tegenstrijdig bewijs uit een klein aantal publicaties met een beperkt aantal proefpersonen. In een onderzoek in een omgeving met lage incidentie werd ontdekt dat QFT-gevoeligheid niet wordt aangetast door diabetes bij TB-patiënten (72). In een onderzoek uit Tanzania, een omgeving met hoge incidentie, waarin een negatief effect van diabetes op de productie van IFN $\gamma$ werd gesuggereerd, werd geen rekening gehouden met versturende variabelen zoals hiv en worminfecties (73). In Vietnamese onderzoeken – 838 zelfgerapporteerde diabetici met verdenking van TB wegens abnormale CXR's of bij wie actieve TB door middel van cultuur werd bevestigd (n=128) – was QFT-positiviteit gelijk aan of groter dan de TST-afkappunten van 10 en 15 mm (74).	9
Nieraandoening in terminale fase	QFT-positieve resultaten correleren beter dan TST met risicofactoren voor TB en worden minder geassocieerd met BCG (75).	45
Migranten	In onderzoeken is aangetoond dat QFT niet door BCG en leeftijd wordt beïnvloed, in tegenstelling tot TST (74). Er is aangetoond dat QFT de meest kosteneffectieve methode is (76). In omgevingen met lage incidentie komt het merendeel van de TB-gevallen van in het buitenland geboren personen en van reactivering van latente TB na aankomst (77). Het grootste onderzoek tot op heden waarbij QFT en TST worden vergeleken bij kinderen van immigranten ondersteunt het voorkeursgebruik van QFT boven TST voor het testen op latente TB-infectie bij in het buitenland geboren kinderen (46).	29

---

# Technische informatie

## Onbepaalde resultaten

Onbepaalde resultaten komen slechts zelden voor en kunnen verband houden met de immuniteitsstatus van de geteste proefpersoon, maar kunnen ook met enkele technische factoren als de bovenstaande instructies voor gebruik niet worden gevolgd.

Indien technische problemen worden vermoed bij het bewaren van reagentia of het afnemen of verwerken van de bloedmonsters, dient de gehele QFT-Plus-test te worden herhaald met een nieuwe bloedspecimen. Herhaling van de ELISA-test van gestimuleerde plasma's kan worden uitgevoerd als onvoldoende spoeling of andere procedurele afwijkingen van de ELISA-test worden vermoed. Onbepaalde resultaten ten gevolge van lage Mitogen-waarden of hoge Nil-waarden zullen naar verwachting bij herhaling niet wijzigen, tenzij er een fout met de ELISA-test is opgetreden. Onbepaald resultaten dienen als zodanig te worden gerapporteerd. Artsen kunnen ervoor kiezen opnieuw een bloedspecimen af te nemen of, indien nodig, andere procedures toe te passen.

## Gestolde plasmamonsters

Indien bij een langduriger opslag van de plasmamonsters fibrinestolsels optreden, moeten de monsters worden gecentrifugeerd totdat sedimentatie heeft plaatsgevonden. Dit vereenvoudigt het pipetteren van plasma.

# Problemen oplossen

Dit gedeelte kan nuttig zijn bij het oplossen van eventuele problemen. Raadpleeg voor meer informatie tevens de technische informatie op [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Zie de achterzijde voor contactgegevens.

## Problemen met ELISA oplossen

### Niet-specifieke kleurreactie

Mogelijke oorzaak	Oplossing
a) Onvolledige spoeling van de plaat	Spoel de plaat minstens 6 maal met 400 µl spoelbuffer per putje. Er kunnen meer dan 6 spoelcycli nodig zijn, afhankelijk van de gebruikte spoeler. Er dient een inweektijd van minstens 5 seconden tussen de cycli te worden aangehouden.
b) Kruisbesmetting van ELISA-putjes	Wees voorzichtig bij pipetteren en mengen van het monster om risico's te minimaliseren.
c) Kit/onderdelen over de vervaldatum	Zorg dat de kit vóór de vervaldatum wordt gebruikt. Zorg dat gereconstitueerde standaard en conjugaatconcentraat 100x binnen drie maanden na de reconstitutedatum worden gebruikt.
d) Enzysubstraatoplossing is verontreinigd	Gooi het substraat weg indien blauwkleuring optreedt. Zorg voor schone reservoirs voor de reagentia.
e) Plasma in QFT-Plus-buisjes is gemengd voordat het is verzameld	Na het centrifugeren en voorafgaand aan het verzamelen moet op en neer bewegen van de pipet of mengen van het plasma te allen tijde worden vermeden. Zorg er altijd voor dat het materiaal aan het oppervlak van de gel niet wordt verstoord.

### Aflezingen van lage optische dichtheden voor standaarden

Mogelijke oorzaak	Oplossing
a) Fout met standaardverdunding	Zorg dat de verdundingen van de kitstandaard volgens deze bijsluiters worden gemaakt.
b) Pipetteerfout	Zorg dat pipetten worden gekalibreerd conform de instructies van de fabrikant.
c) Te lage incubatietemperatuur	Incubatie van de ELISA moet worden uitgevoerd bij kamertemperatuur ( $22 \pm 5$ °C).
d) Te korte incubatietijd	De incubatietijd van de plaat met het conjugaat, de standaarden en monsters bedraagt $120 \pm 5$ minuten. De enzymsubstraatoplossing wordt gedurende 30 minuten op de plaat geïncubeerd.

## Problemen met ELISA oplossen

- |   |   |
|---|---|
| e) Verkeerd filter voor plaatlezer gebruikt | De plaat moet bij 450 nm worden afgelezen met een referentiefilter tussen 620 en 650 nm.  |
| f) Reagentia zijn te koud                   | Alle reagentia, met uitzondering van het conjugaatconcentraat 100x moeten voor het begin van de assay op kamertemperatuur worden gebracht. Dit duurt ongeveer één uur.          |
| g) Kit/onderdelen over de vervaldatum       | Zorg dat de kit vóór de vervaldatum wordt gebruikt. Zorg dat gereconstitueerde standaard en conjugaatconcentraat 100x binnen 3 maanden na de reconstitutedatum worden gebruikt. |

### Sterke achtergrondkleuring

#### Mogelijke oorzaak

#### Oplossing

- |  |   |
|--|---|
| a) Onvolledige spoeling van de plaat       | Spoel de plaat minstens 6 maal met 400 µl spoelbuffer per putje. Er kunnen meer dan 6 spoelcycli nodig zijn, afhankelijk van de gebruikte spoeler. Er dient een inweektijd van minstens 5 seconden tussen de cycli te worden aangehouden. |
| b) Te hoge incubatietemperatuur            | Incubatie van de ELISA moet worden uitgevoerd bij kamertemperatuur ( $22 \pm 5$ °C).  |
| c) Kit/onderdelen over de vervaldatum      | Zorg dat de kit vóór de vervaldatum wordt gebruikt. Zorg dat gereconstitueerde standaard en conjugaatconcentraat 100x binnen 3 maanden na de reconstitutedatum worden gebruikt.   |
| d) Enzysubstraatoplossing is verontreinigd | Gooi het substraat weg indien blauwkleuring optreedt. Zorg voor schone reservoirs voor de reagentia.  |

### Niet-lineaire standaardcurve en dubbele variabiliteit

#### Mogelijke oorzaak

#### Oplossing

- |  |   |
|--|---|
| a) Onvolledige spoeling van de plaat   | Spoel de plaat minstens 6 maal met 400 µl spoelbuffer per putje. Er kunnen meer dan 6 spoelcycli nodig zijn, afhankelijk van de gebruikte spoeler. Er dient een inweektijd van minstens 5 seconden tussen de cycli te worden aangehouden. |
| b) Fout met standaardverduunning   | Zorg dat de verduunningen van de standaard volgens deze bijsluiters worden gemaakt.   |
| c) Slecht mengen   | Meng de reagentia grondig door ze meermaals om te keren of licht te schudden voordat ze op de plaat worden aangebracht.   |
| d) Inconsistente pipetteertechniek of onderbreking tijdens het opzetten van de assay | Het toevoegen van monsters en standaarden moet op constante wijze gebeuren. Alle reagentia moeten worden voorbereid voorafgaand aan het begin van de assay.   |

Productinformatie en technische gidsen zijn gratis verkrijgbaar bij QIAGEN of uw leverancier, of via [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com).



---

# Referenties

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-g 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. Laniconi, 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.

# Symbolen

De volgende symbolen kunnen op de verpakking en etiketten zijn weergegeven:

Symbool	Symboldefinitie
 $2 \times 96$	Voldoende voor $2 \times 96$ monstervoorbereidingen
	Wettelijke fabrikant
	CE-IVD-markering
	Voor in-vitrodiagnostisch gebruik
	Partijcode
	Catalogusnummer
	Global Trade Item Number
	Uiterste gebruiksdatum
	Temperatuurbepering
	Raadpleeg de gebruiksaanwijzing
	Niet opnieuw gebruiken
	Verwijderd houden van zonlicht
	Materiaalnummer
Rn	'R' staat voor de revisie van de gebruiksaanwijzing; 'n' is het revisienummer

---

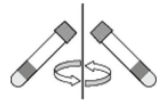
## Contactgegevens

Bel voor technische ondersteuning en aanvullende informatie gratis naar 00800-22-44-6000 of neem contact op met ons centrum voor technische ondersteuning via [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) of een van de afdelingen voor technische services van QIAGEN (zie achterzijde of ga naar [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

# Verkorte testprocedure

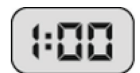
## Fase 1 — Incubatie van bloed

1. Verzamel bloed van patiënt in bloedafnamebuisjes en meng door ze minstens tien (10) maal net krachtig genoeg te schudden om te zorgen dat de gehele binnenwand van de buisjes met bloed wordt bedekt. Zo wordt het antigeen op de binnenwand opgelost.
2. Incubeer de buisjes rechtop gedurende 16 tot 24 uur bij  $37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ .
3. Centrifugeer de buisjes na incubatie gedurende 15 minuten bij een RCF (g) van 2000 tot 3000 x g om het plasma en de rode bloedcellen te scheiden.
4. Na het centrifugeren en voorafgaand aan het verzamelen moet op en neer bewegen van de pipet of mengen van het plasma te allen tijde worden vermeden. Zorg er altijd voor dat het materiaal aan het oppervlak van de gel niet wordt verstoord.



## Fase 2 — ELISA $\gamma$ van IFN

1. Equilibreer de ELISA-onderdelen, met uitzondering van het conjugaatconcentraat 100x, minstens 60 minuten bij kamertemperatuur ( $22 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ ).
2. Reconstitueer de kitstandaard naar 8,0 IE/ml met gedestilleerd of gedeïoniseerd water. Bereid vier (4) standaardverduningen voor.



3. Reconstitueer gevriesdroogd conjugaatconcentraat 100x met gedestilleerd of gedeïoniseerd water.

4. Bereid gebruiksklare conjugaat in groene verdunningsoplossing voor en voeg 50 µl aan alle putjes toe.



5. Voeg 50 µl testplasmamonsters en 50 µl standaard aan de betreffende putjes toe. Meng met behulp van het schudapparaat.

6. Incubeer gedurende  $120 \pm 5$  minuten bij kamertemperatuur.



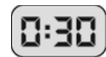
7. Spoel de putjes minstens 6 maal met 400 µl spoelbuffer per putje.



8. Voeg 100 µl enzymsubstraatoplossing aan alle putjes toe. Meng met behulp van het schudapparaat.



9. Incubeer gedurende 30 minuten op kamertemperatuur.



10. Voeg 50 µl enzymremmingsoplossing aan alle putjes toe. Meng met behulp van het schudapparaat.



11. Lees de resultaten af bij 450 nm met een referentiefilter van 620 tot 650 nm.



Analyseer de resultaten.



## Belangrijke wijzigingen

Hoofdstuk	Pagina	Wijziging(en)
Diverse	Diverse	Instructies met betrekking tot het gebruik van lithium- of natriumheparinebuisjes toegevoegd
Diverse	Diverse	Instructies met betrekking tot de methode van bloedafname bij 2–8 °C toegevoegd
Diverse	Diverse	Het plaatdeksel is nu verplicht maar niet meegeleverd

## Revisiegeschiedenis handleiding

Document	Wijzigingen
R6 04/2019	Wijzigingen m.b.t. lithiumheparine/natriumheparine Nieuwe werkprocedures voor bloedafnameworkflow bij 2 °C tot 8 °C Plaatdeksels verwijderd van QF-platen

Handelsmerken: QIAGEN®, QFT®, QuantIFERON® (QIAGEN Groep); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.).

#### Overeenkomst voor beperkte licentie voor QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA

Door dit product te gebruiken, verklaart de koper of gebruiker van het product zich akkoord met de volgende voorwaarden:

1. Het product mag uitsluitend worden gebruikt in overeenstemming met de protocollen die bij het product en deze bijsluiter zijn meegeleverd en mag alleen worden gebruikt met onderdelen die zich in de kit bevinden. QIAGEN geeft onder haar intellectuele eigendom geen licentie om de bijgesloten onderdelen van deze kit te gebruiken of samen te stellen met onderdelen die niet bij het paneel zijn meegeleverd, behalve zoals beschreven in de protocollen die bij het product en deze bijsluiter zijn meegeleverd.
2. Anders dan uitdrukkelijk gesteld in licenties, garandeert QIAGEN niet dat dit paneel en/of het gebruik ervan geen rechten van derden schenden.
3. Deze kit en de onderdelen ervan worden in licentie gegeven voor eenmalig gebruik en mogen niet worden hergebruikt, gerenoveerd of doorverkocht, tenzij anders gedefinieerd door QIAGEN.
4. QIAGEN doet in het bijzonder afstand van enige andere licenties die worden genoemd of geïmpliceerd, anders dan de uitdrukkelijk gestelde.
5. De koper en gebruiker van de kit gaan ermee akkoord dat zij geen stappen ondernemen, en niemand anders toestaan stappen te ondernemen, die kunnen leiden tot enige handeling die hierboven als verboden is vermeld, of die dergelijke handelingen mogelijk maken. QIAGEN mag de verbodsbepalingen in deze Beperkte licentieovereenkomst afdwingen bij de rechter en zal alle onderzoekskosten en gerechtelijke kosten verhalen, inclusief advocaatkosten, bij elke handeling om deze Beperkte licentieovereenkomst of een intellectueel eigendomsrecht in verband met de kit en/of de onderdelen ervan af te dwingen.

Zie [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com) voor de meest actuele licentievoorwaarden.

© 2019 QIAGEN, alle rechten voorbehouden.

---

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

Azië-Stille Oceaan | [techservice-ap@qiagen.com](mailto:techservice-ap@qiagen.com)

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

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

Latijns-America (m.u.v. Brazilië en Mexico) | [techservice-latam@qiagen.com](mailto:techservice-latam@qiagen.com)



---

## Opmerkingen

---

## Opmerkingen

