

April 2019

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



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Versi 1



Untuk penggunaan diagnostik in vitro

Pengujian IFN- $\gamma$  darah lengkap yang mengukur respons terhadap antigen peptida ESAT-6 dan CFP-10



622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,  
Jerman



R1 1083163ID

# Daftar Isi

Tujuan Penggunaan .....	5
Ringkasan dan Penjelasan Pengujian .....	5
Prinsip uji kadar .....	7
Waktu yang diperlukan untuk melakukan uji kadar .....	9
Komponen dan Penyimpanan .....	10
Materi Diperlukan tetapi Tidak Tersedia .....	12
Penyimpanan dan Penanganan Spesimen .....	13
Tabung penampung darah .....	13
Reagen kit .....	13
Reagen yang disusun kembali dan tidak digunakan .....	13
Peringatan dan Pencegahan .....	14
Peringatan .....	14
Tindakan pencegahan .....	15
Pengambilan dan Penanganan Spesimen .....	18
Petunjuk Penggunaan .....	24
Tahap 1 – Inkubasi darah dan panen plasma .....	24
Tahap 2 – IFN- $\gamma$ ELISA .....	25
Perhitungan dan Interpretasi Pengujian .....	30
Pembuatan kurva standar .....	30
Kontrol kualitas pengujian .....	31
Interpretasi hasil .....	31
Batasan .....	34

---

Karakteristik Kinerja .....	35
Studi klinis .....	35
Karakteristik kinerja uji kadar .....	41
Informasi Teknis.....	46
Hasil yang tidak tentu .....	46
Sampel plasma membeku.....	46
Panduan Pemecahan Masalah .....	47
Referensi.....	49
Simbol.....	59
Informasi Kontak.....	60
Ringkasan Prosedur Pengujian.....	61
Tahap 1 – inkubasi darah .....	61
Tahap 2 – IFN- $\gamma$ ELISA.....	61
Perubahan Signifikan .....	63
Riwayat Revisi Buku Pegangan .....	63



---

## Tujuan Penggunaan

Uji kadar QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) adalah suatu pengujian diagnostik *in vitro* menggunakan koktail peptida yang meniru protein ESAT-6 dan CFP-10 untuk menstimulasi sel dalam darah lengkap berheparin. Deteksi interferon- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) melalui uji kadar imunosorben taut enzim (ELISA) digunakan untuk mengidentifikasi respons *in vitro* terhadap antigen peptida tersebut yang berhubungan dengan infeksi *Mycobacterium tuberculosis*.

QFT-Plus adalah pengujian tidak langsung untuk infeksi *M. tuberculosis* (termasuk penyakit) dan ditujukan untuk digunakan bersama dengan penilaian risiko, radiografi, serta evaluasi medis dan diagnostik lainnya.

## Ringkasan dan Penjelasan Pengujian

Tuberkulosis adalah penyakit menular yang disebabkan infeksi dengan organisme kompleks *M. tuberculosis* (MTB) (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*), yang biasanya menyebar ke inang baru melalui inti butir halus yang dibawa udara dari pasien dengan penyakit tuberkulosis. Individu yang baru terinfeksi dapat merasa sakit akibat tuberkulosis selama beberapa minggu hingga bulan, tapi individu yang sudah terinfeksi parah tetap baik-baik saja. Infeksi tuberkulosis laten (Latent tuberculosis infection, LTBI), kondisi tanpa gejala yang tidak menular, bertahan dalam beberapa orang yang dapat terjangkit penyakit tuberkulosis beberapa bulan atau tahun kemudian. Tujuan utama mendiagnosis LTBI adalah untuk mempertimbangkan perawatan medis guna mencegah penyakit tuberkulosis. Hingga saat ini, pengujian kulit tuberkulin (tuberculin skin test, TST) adalah satu-satunya metode yang tersedia untuk mendiagnosis LTBI. Kepekaan kulit terhadap tuberkulin berkembang sejak 2 sampai 10 minggu setelah infeksi. Namun, beberapa individu yang terinfeksi termasuk mereka dengan beragam kondisi yang menghalangi fungsi kekebalan, juga mereka tanpa kondisi ini, tidak merespons tuberkulin. Sebaliknya, beberapa individu yang cenderung tidak terinfeksi *M. tuberculosis* menunjukkan kepekaan terhadap tuberkolin dan memiliki hasil TST yang positif setelah vaskinasi menggunakan Bacille Calmette-Guérin (BCG) atau infeksi dengan mikobakteria selain kompleks *M. tuberculosis*, atau mengabaikan faktor lain.

---

LTBI harus dibedakan dari penyakit tuberkulosis, suatu kondisi yang dapat dilaporkan dan biasanya mencakup paru-paru dan sistem pernapasan, tapi dapat juga memengaruhi sistem organ lain. Penyakit tuberkulosis didiagnosis dari temuan historis, fisik, radiologis, histologis, dan mikrobateriologis.

QFT-Plus adalah pengujian respons imunitas berperantara sel (Cell-Mediated Immune, CMI) terhadap antigen peptida yang mensimulasi protein mikrobakteria. Protein ini, yaitu ESAT-6 dan CFP-10, tidak ditemukan di semua strain BCG dan di sebagian besar mikobakterium non-tuberkulosis, terkecuali *M. kansasii*, *M. szulgai*, dan *M. marinum* (1). Individu yang terinfeksi organisme kompleks MTB biasanya memiliki limfosit dalam darahnya yang mengenali organisme ini dan antigen mikobakterium lainnya. Proses pengenalan ini mencakup pembuatan dan sekresi sitokin IFN- $\gamma$ . Deteksi dan kuantifikasi lanjutan IFN- $\gamma$  menjadi dasar pengujian ini.

Antigen yang digunakan dalam QFT-Plus adalah koktail peptida yang meniru protein ESAT-6 dan CFP-10. Sejumlah penelitian telah menunjukkan bahwa antigen ini menstimulasi respons IFN- $\gamma$  dalam sel T dari individu yang terinfeksi *M. tuberculosis*, namun secara umum bukan dari orang yang tidak terinfeksi atau yang sudah divaksin BCG tanpa penyakit atau risiko LTBI (1–32). Namun, perawatan medis atau kondisi yang mengganggu fungsi imunitas dapat berpotensi menurunkan respons IFN- $\gamma$ . Pasien dengan infeksi mikobakteria tertentu lainnya mungkin juga akan responsif terhadap ESAT-6 dan CFP-10, karena gen yang mengkode protein ini ada dalam *M. kansasii*, *M. szulgai*, dan *M. marinum* (1, 23). QFT-Plus adalah pengujian LTBI sekaligus alat bantu yang berguna untuk mendiagnosis infeksi kompleks *M. tuberculosis* pada pasien. Hasil yang positif mendukung diagnosis penyakit tuberkulosis, namun infeksi oleh mikobakteria lain (misalnya, *M. kansasii*) juga dapat memberikan hasil positif. Evaluasi medis dan diagnostik lainnya diperlukan untuk mengonfirmasi atau mengecualikan penyakit tuberkulosis.

QFT-Plus memiliki dua tabung antigen TB: TB Antigen Tube 1 (TB1) dan TB Antigen Tube 2 (TB2). Kedua tabung berisi antigen peptida dari antigen terkait kompleks MTB, ESAT-6 dan CFP-10. Tabung TB1 berisi peptida dari ESAT-6 dan CFP-10 yang didesain untuk

mendapatkan respons CMI dari limfosit T pembantu CD4<sup>+</sup>, sedangkan tabung TB2 berisi kumpulan tambahan peptida yang ditargetkan untuk menginduksi respons CMI dari limfosit T sitotoksik CD8<sup>+</sup>. Dalam sejarah alami infeksi MTB, sel T CD4<sup>+</sup> berperan penting dalam kontrol imunologis melalui sekresi sitokin IFN- $\gamma$ . Saat ini terdapat bukti yang mendukung peran sel T CD8<sup>+</sup> yang berpartisipasi dalam pertahanan inang terhadap MTB dengan memproduksi IFN- $\gamma$  dan faktor larut lainnya, yang mengaktifkan makrofag untuk menekan pertumbuhan MTB, membunuh sel yang terinfeksi, atau secara langsung melisis intrasel MTB (33–35). Sel CD8<sup>+</sup> khusus MTB telah terdeteksi dalam subjek dengan LTBI dan penyakit TB aktif di mana sel CD8<sup>+</sup> yang memproduksi IFN- $\gamma$  banyak ditemukan (36–38). Bahkan limfosit T CD8<sup>+</sup> khusus ESAT-6 dan CFP-10 dijelaskan lebih sering terdeteksi dalam subjek dengan penyakit TB aktif daripada LTBI, dan mungkin berkaitan dengan paparan MTB terakhir (39–41). Selain itu, sel T CD8<sup>+</sup> khusus MTB yang memproduksi IFN- $\gamma$  juga terdeteksi pada subjek TB aktif dengan koinfeksi HIV (42, 43) dan pada anak-anak dengan penyakit TB (44).

## Prinsip uji kadar

Uji kadar QFT-Plus menggunakan tabung penampung darah khusus, yang digunakan untuk mengambil darah lengkap. Inkubasi darah terjadi di dalam tabung selama 16 sampai 24 jam, kemudian plasma dipanen dan diuji untuk keberadaan IFN- $\gamma$  yang dihasilkan untuk merespons antigen peptida.

Pengujian QFT-Plus dilakukan dalam dua tahap. Pertama, darah lengkap ditampung ke dalam setiap QFT-Plus Blood Collection Tubes, yang mencakup tabung Nil, TB1, TB2, dan Mitogen. Atau, darah dapat ditampung dalam tabung penampung darah tunggal generik yang mengandung litium heparin atau natrium heparin sebagai antikoagulan, lalu dipindahkan ke tabung QFT-Plus.

Tabung Mitogen digunakan dengan pengujian QFT-Plus sebagai kontrol positif. Ini penting jika status imunitas individu diragukan. Tabung Mitogen juga berfungsi sebagai kontrol untuk penanganan dan inkubasi darah yang benar.

---

Tabung QFT-Plus diguncang untuk mencampur antigen dengan darah dan harus diinkubasi pada suhu 37 °C sesegera mungkin, dan dalam waktu 16 jam setelah pengambilan. Setelah periode inkubasi selama 16 sampai 24 jam, tabung disentrifugasi, plasma dikeluarkan dan jumlah IFN- $\gamma$  (IU/ml) diukur dengan ELISA. QFT-Plus ELISA menggunakan standar IFN- $\gamma$  manusia rekombinan, yang telah diuji kadarnya terhadap sediaan IFN- $\gamma$  (Ref NIH: Gxg01-902-535). Hasil sampel pengujian dilaporkan dalam satuan Unit Internasional per ml (IU/ml) terhadap kurva standar yang disiapkan dengan menguji dilusi standar yang disertakan bersama kit.

Antibodi heterofil (misalnya, anti-mencit manusia) dalam serum atau plasma individu tertentu dikenal sebagai penyebab gangguan pada imunoasai. Pengaruh antibodi heterofil dalam QFT-Plus ELISA diperkecil dengan penambahan serum mencit normal ke Green Diluent dan penggunaan fragment antibodi monoklonal F(ab')<sub>2</sub> karena IFN- $\gamma$  menangkap antibodi yang dilampirkan ke mikroplat.

Uji kadar QFT-Plus dianggap positif untuk respons IFN- $\gamma$  terhadap tabung antigen TB yang jauh di atas nilai Nil IFN- $\gamma$  IU/ml. Sampel plasma dari tabung Mitogen berfungsi sebagai kontrol positif IFN- $\gamma$  untuk setiap spesimen yang diuji. Respons rendah terhadap Mitogen (<0,5 IU/ml) menunjukkan hasil yang tidak tentu saat suatu sampel darah juga memiliki respons negatif terhadap antigen TB. Pola ini dapat terjadi dengan limfosit yang tidak memadai, aktivitas limfosit yang berkurang karena penanganan spesimen yang tidak tepat, pengisian/pencampuran tabung Mitogen yang tidak benar, atau ketidakmampuan limfosit pasien untuk menghasilkan IFN- $\gamma$ . Kadar IFN- $\gamma$  yang meningkat dalam sampel Nil dapat terjadi dengan adanya antibodi heterofil, atau untuk sekresi IFN- $\gamma$  intrinsik. Tabung Nil menyesuaikan dengan latar belakang (misalnya, peningkatan kadar IFN- $\gamma$  yang bersirkulasi atau keberadaan antibodi heterofil). Kadar IFN- $\gamma$  pada tabung Nil dikurangi dari kadar IFN- $\gamma$  untuk tabung antigen TB dan tabung Mitogen.



---

## Waktu yang diperlukan untuk melakukan uji kadar

Di bawah ini adalah perkiraan waktu yang diperlukan untuk melakukan QFT-Plus ELISA; waktu untuk menguji beberapa sampel jika batch juga diindikasikan:

Inkubasi 37°C untuk tabung darah: 16 sampai 24 jam

ELISA:	Sekitar 3 jam untuk satu pelat ELISA (22 individu) Pekerjaan <1 jam Tambahkan 10 sampai 15 menit untuk setiap pelat tambahan
--------	---

# Komponen dan Penyimpanan

Tabung Penampung Darah*	200 tabung	Kemasan Pasien Tunggal	Kemasan Dispenser	Tabung 200 HA	Kemasan Pasien Tunggal HA	Kemasan Dispenser HA
No. katalog	622526	622222	622423	623526	623222	623423
Jumlah pengujian/kemasan	50	10	25	50	10	25
QuantiFERON Nil Tube (tutup abu-abu, cincin putih)	Nil	50 tabung	10 tabung	25 tabung		
QuantiFERON TB1 Tube (tutup hijau, cincin putih)	TB1	50 tabung	10 tabung	25 tabung		
QuantiFERON TB2 Tube (tutup kuning, cincin putih)	TB2	50 tabung	10 tabung	25 tabung		
QuantiFERON Mitogen Tube (tutup ungu, cincin putih)	Mitogen	50 tabung	10 tabung	25 tabung		
QuantiFERON Nil HA Tube (tutup abu-abu, cincin kuning)	Nil HA			50 tabung	10 tabung	25 tabung
QuantiFERON TB1 HA Tube (tutup hijau, cincin kuning)	TB1 HA			50 tabung	10 tabung	25 tabung
QuantiFERON TB2 HA Tube (tutup kuning, cincin kuning)	TB2 HA			50 tabung	10 tabung	25 tabung
QuantiFERON Mitogen HA Tube (tutup ungu, cincin kuning)	Mitogen HA			50 tabung	10 tabung	25 tabung
Brosur Kemasan QFT-Plus Blood Collection Tubes	1	1	1	1	1	1

\* Tidak semua konfigurasi produk tersedia di setiap negara. Harap lihat Layanan Pelanggan QIAGEN (perincian di [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)) untuk informasi lebih lanjut tentang konfigurasi apa yang tersedia untuk dipesan.

Komponen ELISA <sup>†</sup> No. katalog	2 Kit Pelat ELISA 622120	Paket Laboratorium Referensi 622822
Microplate Strips (Strip Pelat Mikro) (12 x 8 sumuran) yang dilapisi antibodi monoklonal murin antimanusia IFN- $\gamma$	Strip Pelat Mikro 2 x 96 sumuran	Strip Pelat Mikro 20 x 96 sumuran
IFN- $\gamma$ Standard (Standar IFN- $\gamma$ ) yang diliofilisasi (mengandung rekombinan manusia IFN- $\gamma$ , kasein sapi, 0,01% w/v Thimerosal)	1 x vial (8 IU/ml saat disusun kembali)	10 x vial (8 IU/ml saat disusun kembali)
Green Diluent (Pengencer Hijau) (berisi kasein sapi, serum mencit normal, 0,01% w/v Thimerosal)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Konjugat Konsentrat 100x), diliofilisasi (HRP murin antimanusia IFN- $\gamma$ , mengandung 0,01% w/v Thimerosal)	1 x 0,3 ml (saat disusun kembali)	10 x 0,3 ml (saat disusun kembali)
Wash Buffer 20x Concentrate (Buffer Cuci Konsentrat 20x) (pH 7,2, mengandung 0,05% v/v ProClin <sup>®</sup> 300)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Larutan Enzim Substrat) (mengandung H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3', 5,5' Tetrametilbenzidin)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Larutan Penghenti Enzim) (mengandung 0,5M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	1 x 15 ml	10 x 15 ml
Brosur Kemasan QFT-Plus ELISA	1	1

<sup>†</sup> Lihat halaman 15 untuk tindakan pencegahan dan pernyataan bahaya.

---

# Materi Diperlukan tetapi Tidak Tersedia

- Inkubator  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}^*$ .  $\text{CO}_2$  tidak diperlukan
- Pipet volume variabel yang dikalibrasi\* untuk memasok 10  $\mu\text{l}$  hingga 1000  $\mu\text{l}$  dengan ujung sekali pakai
- Pipet multisaluran yang dikalibrasi\* dapat memasok 50  $\mu\text{l}$  hingga 100  $\mu\text{l}$  dengan ujung sekali pakai
- Tutup pelat
- Alat kocok pelat mikro\*
- Air deionisasi atau distilasi, 2 liter
- Pencuci pelat mikro (pencuci otomatis disarankan)
- Pembaca pelat mikro\* yang dipasang filter 450 nm dan filter referensi 620 nm hingga 650 nm

\* Pastikan instrumen telah diperiksa dan dikalibrasi sesuai dengan rekomendasi produsen.

---

# Penyimpanan dan Penanganan Spesimen

## Tabung penampung darah

- Simpan tabung penampung darah pada suhu 4 °C sampai 25 °C.

## Reagen kit

- Simpan reagen kit pada suhu 2 °C sampai 8 °C.
- Lindungi selalu Larutan Enzim Substrat dari cahaya matahari langsung.

## Reagen yang disusun kembali dan tidak digunakan

Untuk petunjuk tentang cara menyusun kembali reagen, lihat halaman 26.

- Kit standar yang disusun kembali dapat bertahan hingga 3 bulan jika disimpan pada suhu 2 °C sampai 8 °C.  
Catat tanggal saat kit standar disusun kembali.
- Saat disusun kembali, Konjugat Konsentrat 100x yang tidak digunakan harus kembali disimpan pada suhu 2 °C sampai 8 °C dan harus digunakan dalam waktu 3 bulan.  
Catat tanggal saat konjugat disusun kembali.
- Konjugat dengan daya kerja harus digunakan dalam waktu 6 jam setelah disiapkan.
- Penyangga cuci dengan working strength dapat disimpan pada suhu ruang hingga 2 minggu.

---

# Peringatan dan Pencegahan

Hanya untuk penggunaan diagnostik in vitro.

## Peringatan

- Hasil QFT-Plus yang negatif tidak menajuhkan kemungkinan terinfeksi *M. tuberculosis* atau penyakit tuberkulosis: hasil yang negatif palsu dapat disebabkan oleh tahapan infeksi (misalnya, spesimen yang diperoleh sebelum terbentuknya respons imunitas sel), kondisi komorbid yang memengaruhi fungsi imunitas, kesalahan penanganan tabung penampung darah setelah tusuk vena, kesalahan pelaksanaan uji kadar atau variabel imunologis lainnya.
- Hasil QFT-Plus yang positif tidak dapat menjadi dasar tunggal atau pasti untuk menentukan infeksi dengan *M. tuberculosis*. Ketidaktepatan pelaksanaan uji kadar dapat mengakibatkan respons positif palsu.
- Hasil QFT-Plus yang positif harus diikuti dengan evaluasi medis dan diagnostik lebih lanjut untuk penyakit tuberkulosis aktif (misalnya, olesan dan kultur AFB, sinar-X dada).
- Meskipun ESAT-6 dan CFP-10 tidak ada pada semua strain BCG dan sebagian besar mikobakteria nontuberkulosis, hasil QFT-Plus yang positif dapat dihasilkan karena infeksi oleh *M. kansasii*, *M. szulgai*, atau *M. marinum*. Jika infeksi tersebut dicurigai, pengujian alternatif harus dilakukan.

## Tindakan pencegahan

Saat bekerja dengan bahan kimia, selalu kenakan jas lab yang sesuai, sarung tangan sekali pakai, dan kacamata pelindung. Untuk informasi lebih lanjut, silakan lihat lembar data keselamatan yang sesuai (Safety Data Sheet, SDS). Panduan tersedia online dalam format PDF yang mudah dan praktis di [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety). Di sana Anda dapat menemukan, melihat, dan mencetak SDS untuk setiap kit dan komponen kit QIAGEN.



**PERHATIAN:** Tangani darah dan plasma manusia seolah-olah keduanya bisa menular. Patuhi panduan penanganan darah dan produk darah yang relevan. Buang sampel dan materi yang terkena darah atau produk darah sesuai peraturan federal, negara bagian, dan lokal.

Pernyataan bahaya dan pencegahan berikut ini berlaku untuk komponen-komponen QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA.

### Pernyataan Bahaya



#### QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

Mengandung: asam sulfat. Peringatan! Dapat mengkorosi logam. Menyebabkan iritasi kulit. Menyebabkan iritasi mata serius. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.

#### QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Peringatan! Menyebabkan iritasi kulit ringan. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.



#### QuantiFERON Green Diluent

Mengandung: trisodium 5-hidroksi-1-(4-sulfofenil)-4-(4-sulfofenil azo)pirazol-3-karboksilat. Mengandung: tartrazin. Peringatan! Dapat menyebabkan reaksi alergi terhadap kulit. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah.

#### QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Mengandung: Campuran 5-Kloro-2-metil-4-isotiazolin-3-on dan 2-Metil-2H-isotiazol-3-on (3:1). Berbahaya bagi kehidupan air dengan efek jangka panjang. Hindari terlepas ke lingkungan.

### Pernyataan Pencegahan

Patuhi instruksi khusus sebelum menggunakan. Kenakan sarung tangan pelindung/pakaian pelindung/pelindung mata/pelindung wajah. **JIKA TERKENA KULIT** (atau rambut): Segera lepaskan/tanggalkan semua pakaian yang terkontaminasi. Basuh kulit dengan air/mandi. **JIKA TERKENA MATA**:: Bilas secara hati-hati dengan air selama beberapa menit. Lepaskan lensa kontak, jika ada dan mudah dilakukan. Lanjutkan membilas. Jika terpapar atau terkena: Dapatkan saran/perawatan medis. Segera hubungi PUSAT BANTUAN KERACUNAN atau dokter. Jika terjadi iritasi kulit atau ruam: Dapatkan saran/perawatan medis. Lepaskan pakaian yang terkontaminasi dan cuci sebelum dikenakan kembali. Kunci penyimpanan. Buang isi/wadah ke tempat pembuangan limbah yang disetujui.

### Informasi lebih lanjut

Lembar Data Keselamatan: [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)

- Penyimpangan dari *Brosur Kemasan QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA* dapat memunculkan hasil yang salah. Bacalah petunjuk dengan saksama sebelum digunakan.
- Jangan gunakan jika botol reagen yang mana pun menunjukkan tanda kerusakan atau kebocoran sebelum digunakan.



- 
- **Penting:** Periksa vial sebelum digunakan. Jangan gunakan Konjugat atau vial Standar IFN- $\gamma$  yang menunjukkan tanda-tanda kerusakan atau jika segel karetinya sudah tidak wajar. Jangan gunakan vial yang rusak. Lakukan tindakan pencegahan untuk keselamatan yang tepat guna membuang vial dengan aman. Rekomendasi: Gunakan penjepit vial untuk membuka Konjugat atau vial Standar IFN- $\gamma$  guna mengurangi risiko cedera dari gerigi logam pada tutup.
  - Jangan mencampur atau menggunakan Strip Pelat Mikro, Standar IFN- $\gamma$ , Pengencer Hijau, atau Konjugat Konsentrat 100x dari batch kit QFT-Plus yang berbeda. Reagen lain (Buffer Cuci Konsentrat 20x, Larutan Enzim Substrat, dan Larutan Penghenti Enzim) dapat dipertukarkan antar kit dengan ketentuan bahwa reagen-reagen tersebut belum kedaluwarsa dan detail lot dicatat.
  - Buang reagen dan sampel biologis yang tidak terpakai sesuai peraturan Lokal, Negara Bagian, dan Federal.
  - Jangan gunakan QFT-Plus Blood Collection Tubes atau kit ELISA setelah tanggal kedaluwarsa.
  - Prosedur laboratorium yang benar harus selalu dipatuhi.
  - Pastikan peralatan laboratorium sudah dikalibrasi/divalidasi untuk digunakan.

---

# Pengambilan dan Penanganan Spesimen

QFT-Plus menggunakan tabung pengambilan berikut:

1. QuantiFERON Nil Tubes (tutup abu-abu dengan cincin putih)
2. QuantiFERON TB1 Tubes (tutup hijau dengan cincin putih)
3. QuantiFERON TB2 Tubes (tutup kuning dengan cincin putih)
4. QuantiFERON Mitogen Tubes (tutup ungu dengan cincin putih)
5. QuantiFERON HA Nil Tubes (tutup abu-abu dengan cincin kuning)
6. QuantiFERON HA TB 1 Tubes (tutup hijau dengan cincin kuning)
7. QuantiFERON HA TB2 Tubes (tutup kuning dengan cincin kuning)
8. QuantiFERON HA Mitogen Tubes (tutup ungu dengan cincin kuning)

Antigen telah dikeringkan ke dinding dalam tabung penampung darah, maka penting untuk mencampur rata isi tabung dengan darah. Untuk darah yang diambil langsung ke tabung QFT-Plus, tabung tersebut harus dipertahankan dan diangkat pada suhu ruang ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) dan sesegera mungkin dipindahkan ke inkubator  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  dalam waktu 16 jam setelah pengambilan. Atau, darah dapat ditampung dalam tabung litium heparin atau natrium heparin tunggal untuk disimpan sebelum dipindahkan ke QFT-Plus dan inkubasi. Spesimen darah yang ditampung di tabung litium heparin atau natrium heparin dapat disimpan hingga 16 jam pada suhu ruang ( $17\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) yang dilanjutkan dengan pemindahan ke tabung QFT-Plus segera setelah penampungan. Spesimen darah dalam tabung litium heparin atau natrium heparin juga dapat disimpan pada suhu  $2\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$  hingga 48 jam sebelum dipindahkan ke tabung QFT-Plus. Lihat bab "Penampungan darah ke tabung litium atau natrium heparin tunggal lalu dipindahkan ke QFT-Plus Blood Collection Tubes."

## Pengambilan langsung ke QFT-Plus Blood Collection Tubes

### 1. Pasang label yang sesuai dengan tabung.

Pastikan setiap tabung (Nil, TB1, TB2, dan Mitogen) dapat diidentifikasi dari labelnya atau cara lain jika tutupnya dilepas.

Disarankan untuk mencatat waktu dan tanggal pengambilan darah.

### 2. Untuk setiap pasien, ambil 1 ml darah dengan tusuk vena langsung ke setiap QFT-Plus Blood Collection Tubes. Prosedur ini harus dilakukan oleh ahli flebotomi terlatih.

Catatan penting: Tabung harus berada pada suhu antara 17 °C sampai 25 °C pada saat pengisian darah.

QFT-Plus Blood Collection Tubes Standar dapat digunakan hingga ketinggian 810 meter di atas permukaan laut. QFT-Plus Blood Collection Tubes Tinggi dapat digunakan antara ketinggian 1020 meter di atas permukaan laut hingga 1875 meter di atas permukaan laut.

Karena tabung 1 ml mengambil darah relatif lambat, pertahankan tabung pada jarum selama 2–3 detik saat tabung terlihat selesai terisi. Hal ini akan memastikan bahwa darah terambil dalam volume yang tepat.

- Tanda hitam pada sisi tabung menunjukkan rentang 0,8 sampai 1,2 ml yang divalidasi. Jika tingkat darah dalam tabung mana pun berada di luar rentang indikator, sampel darah baru harus diambil. Pengisian tabung yang terlalu sedikit atau terlalu banyak di luar rentang 0,8 sampai 1,2 ml dapat mengakibatkan kesalahan pada hasil.
- Jika “butterfly needle” (jarum kupu-kupu) digunakan untuk mengambil darah, tabung “pembersihan” harus digunakan untuk memastikan bahwa tabung diisi dengan darah sebelum tabung QFT-Plus digunakan.
- Jika QFT-Plus Blood Collection Tubes digunakan pada ketinggian lebih dari 810 meter, atau jika terjadi pengambilan darah dalam volume rendah, pengguna dapat mengambil darah dengan jarum, lalu segera memindahkan 1 ml ke masing-masing dari ke-4 tabung. Untuk alasan keselamatan, hal ini lebih baik dilakukan dengan melepas jarum suntik guna memastikan prosedur keselamatan yang tepat, dengan melepas tutup dari 4 tabung QFT-Plus dan

---

menambahkan 1 ml darah ke setiap tabung (ke pusat tanda hitam pada sisi label tabung). Lepas penutup dengan aman lalu campur seperti dijelaskan di bawah ini. Pastikan setiap tabung (Nil, TB1, TB2, dan Mitogen) dapat diidentifikasi dari labelnya atau cara lain jika tutupnya dilepas.

3. Isi tabung pengambilan darah dengan darah pasien dan campurkan dengan mengguncang tabung sepuluh (10) kali secara cukup kuat guna memastikan keseluruhan permukaan sisi dalam tabung telah terlapisi darah. Ini akan melarutkan antigen pada dinding tabung.

Catatan penting: Tabung harus berada pada suhu antara 17 °C–25 °C pada saat pengguncangan. Pengguncangan yang terlalu kencang akan menyebabkan disrupsi gel dan dapat memicu hasil yang menyimpang.

4. Tabung harus sesegera mungkin dipindahkan ke inkubator 37 °C ± 1 °C dalam waktu 16 jam setelah pelabelan, pengisian, dan pengguncangan. Sebelum inkubasi, jaga dan pindahkan tabung pada suhu ruang (22 °C ± 5 °C). Jika tabung QFT-Plus tidak langsung diinkubasi pada suhu 37 °C setelah pengambilan darah dan pengguncangan, balik tabung 10 kali untuk mencampur sebelum inkubasi tersebut pada suhu 37 °C.
5. Inkubasi tabung QFT-Plus secara TEGAK LURUS pada suhu 37 °C ± 1 °C selama 16 sampai 24 jam. Inkubator tidak memerlukan CO<sub>2</sub> atau humidifikasi.

#### Penampungan Darah ke tabung litium atau natrium heparin tunggal lalu pemindahan ke QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Darah dapat ditampung ke tabung penampung darah tunggal yang mengandung litium heparin atau natrium heparin sebagai antikoagulan, lalu dipindahkan ke QFT-Plus Blood Collection Tubes. Gunakan hanya litium atau natrium heparin sebagai antikoagulan darah karena antikoagulan lainnya mengganggu uji kadar. Pasang label yang sesuai dengan tabung.

Disarankan untuk memberikan label pada tabung dengan waktu dan tanggal pengambilan darah.

Penting: Tabung penampung darah harus berada pada suhu ruang (17–25 °C) pada saat pengambilan darah.

2. Isi tabung penampung darah litium atau natrium heparin (volume minimum 5 ml) dan campur perlahan dengan membalik tabung beberapa kali untuk melarutkan heparin. Prosedur ini harus dilakukan oleh ahli flebotomi terlatih.
3. Opsi suhu dan waktu penyimpanan untuk tabung litium atau natrium heparin sebelum pemindahan dan inkubasi dalam QFT-Plus Blood Collection Tubes (Lihat Gambar 1-3 Opsi Pengambilan Darah).

Opsi 1 – Penyimpanan dan Penanganan Tabung Litium atau Natrium Heparin di Suhu Ruang Darah yang ditampung dalam tabung litium atau natrium heparin harus dipertahankan pada suhu ruang ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) selama maksimum 16 jam sejak waktu penampungan sebelum dipindahkan ke QFT-Plus Blood Collection Tubes dan inkubasi berikutnya.

Opsi 2 – Penyimpanan dan Penanganan Tabung Litium atau Natrium Heparin di Lemari Pendingin

Penting: Langkah prosedur a–d harus diikuti secara bertahap.

- a. Darah yang ditampung dalam tabung litium atau natrium heparin dapat disimpan di suhu ruang ( $17\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) hingga 3 jam setelah diambil.
- b. Darah yang ditampung dalam tabung litium atau natrium heparin dapat disimpan di lemari pendingin ( $2\text{--}8\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) hingga 48 jam.
- c. Setelah pendinginan, tabung litium atau natrium heparin harus diekuilibrasikan ke suhu ruang ( $17\text{--}25\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) sebelum dipindahkan ke QFT-Plus Blood Collection Tubes.
- d. QFT-Plus Blood Collection Tubes yang di-alikot harus diletakkan dalam inkubator bersuhu  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  dalam waktu 2 jam setelah pemindahan darah.

Jika QFT-Plus Blood Collection Tubes tidak langsung diinkubasi pada suhu  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  setelah dipindahkan ke tabung tersebut dan diguncangkan, balik tabung sebanyak 10 kali untuk mencampur sebelum inkubasi pada  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Waktu total sejak pengambilan darah hingga inkubasi dalam QFT-Plus Blood Collection Tubes tidak boleh melebihi 53 jam.

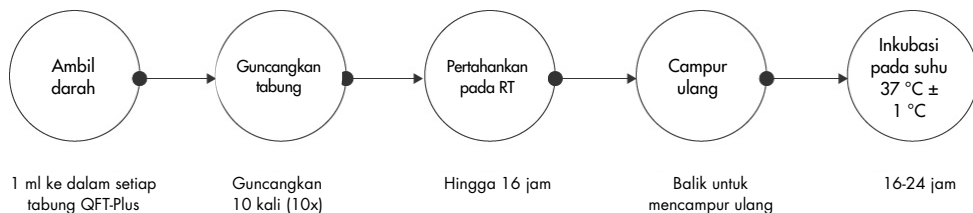
4. Pemindahan spesimen darah dari tabung litium atau natrium heparin ke QFT-Plus Blood Collection Tubes:
  - a. Beri label setiap QFT-Plus Blood Collection Tube dengan sesuai.

---

Pastikan setiap tabung (Nil, TB1, TB2, dan Mitogen) dapat diidentifikasi dari labelnya atau cara lain jika tutupnya dilepas. Disarankan untuk memindahkan waktu dan tanggal pengambilan darah yang telah dicatat dari tabung litium atau natrium heparin ke QFT-Plus Blood Collection Tubes.

- b. Sampel harus dicampur secara merata dengan pembalikan perlahan sebelum disalurkan ke QFT-Plus Blood Collection Tubes.
  - c. Penyaluran harus dilakukan secara aseptik guna memastikan prosedur keselamatan yang tepat, dengan melepas tutup dari 4 QFT-Plus Blood Collection Tubes dan menambahkan 1 ml darah ke setiap tabung. Lepas tutup tabung dengan aman lalu campur seperti dijelaskan di bawah ini. Pastikan setiap tabung (Nil, TB1, TB2, dan Mitogen) dapat diidentifikasi dari labelnya atau cara lain jika tutupnya dilepas.
5. Campur tabung. Segera setelah mengisi QFT-Plus Blood Collection Tubes, guncang tabung sepuluh (10) kali secara cukup kuat guna memastikan keseluruhan permukaan sisi dalam tabung telah terlapisi darah. Ini akan melarutkan antigen pada dinding tabung. Pengguncangan yang terlalu kencang akan menyebabkan disrupsi gel dan dapat memicu hasil yang menyimpang.
6. Tabung harus dipindahkan ke inkubator  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  dalam waktu 2 jam setelah pelabelan, pengisian, dan pengguncangan. Jika QFT-Plus Blood Collection Tubes tidak langsung diinkubasi pada suhu  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$  setelah pengambilan darah dan pengguncangan, balik tabung 10 kali (10x) untuk mencampur sebelum inkubasi tersebut pada suhu  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ . (Lihat Gambar 1–3, halaman selanjutnya, untuk opsi pengambilan darah).
7. Inkubasi QFT-Plus Blood Collection Tubes secara TEGAK LURUS pada suhu  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 16 sampai 24 jam. Inkubator tidak memerlukan  $\text{CO}_2$  atau humidifikasi.

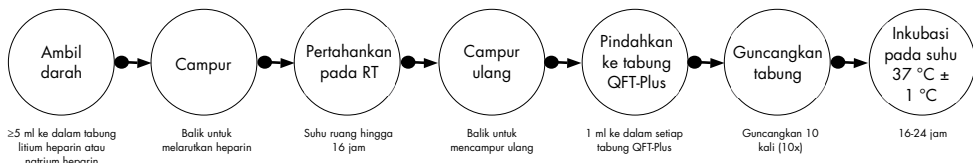
Ambil dan masukkan ke QFT-Plus Blood Collection Tubes dan jaga pada suhu ruang.



Gambar 1. Opsi pengambilan darah: Ambil langsung dan masukkan ke QFT-Plus Blood Collection Tubes dan jaga pada suhu ruang.

Waktu total untuk pengambilan darah dalam QFT-Plus Blood Collection Tubes hingga inkubasi 37 °C tidak boleh melebihi 16 jam.

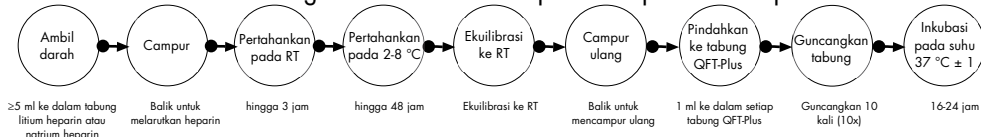
Ambil lalu masukkan ke tabung litium atau natrium heparin dan pertahankan pada suhu ruang.



Gambar 2. Opsi pengambilan darah: Ambil lalu masukkan ke tabung litium atau natrium heparin dan pertahankan pada suhu ruang.

Waktu total untuk pengambilan darah dalam tabung litium atau natrium heparin hingga inkubasi 37 °C tidak boleh melebihi 16 jam.

Ambil lalu masukkan ke tabung litium atau natrium heparin dan pertahankan pada suhu 2–8 °C.



Gambar 3. Opsi pengambilan darah: Ambil lalu masukkan ke tabung litium atau natrium heparin dan pertahankan pada suhu 2–8 °C.

Waktu total untuk pengambilan darah dalam tabung litium atau natrium heparin hingga inkubasi 37 °C tidak boleh melebihi 53 jam.

# Petunjuk Penggunaan

## Tahap 1 – Inkubasi darah dan panen plasma

### Materi yang disediakan

- QFT-Plus Blood Collection Tubes (Lihat Bab 3)

### Materi diperlukan (tetapi tidak tersedia)

- Lihat Bab 3

### Prosedur

1. Jika darah tidak segera diinkubasi setelah diambil, pencampuran kembali tabung dengan membalik sebanyak 10 kali harus dilakukan segera sebelum inkubasi.
2. Inkubasi tabung secara TEGAK LURUS pada suhu  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 16 sampai 24 jam. Inkubator tidak memerlukan CO<sub>2</sub> atau humidifikasi.
3. Setelah inkubasi pada  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , tabung penampung darah dapat disimpan pada suhu antara  $4\text{ }^{\circ}\text{C}$  sampai  $27\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama maksimal 3 hari sebelum sentrifugasi.
4. Setelah inkubasi tabung pada suhu  $37\text{ }^{\circ}\text{C}$ , pemanenan plasma difasilitasi dengan mensentrifugasi tabung selama 15 menit pada 2000 hingga 3000 x RCF (*g*). Penyumbat gel akan memisahkan sel dari plasma. Jika ini tidak terjadi, tabung harus disentrifugasi ulang.

Plasma dapat dipanen tanpa sentrifugasi; tetapi, perhatian ekstra diperlukan untuk memindahkan plasma tanpa mengganggu sel.

5. Sampel plasma hanya dapat dipanen menggunakan pipet.

Catatan penting: Setelah sentrifugasi, hindari menambah atau mengurangi penggunaan pipet atau mencampur plasma dengan cara apa pun sebelum memanen. Selalu berhati-hatilah agar tidak mengacaukan material pada permukaan gel.



Sampel plasma dapat dimuat langsung dari tabung penampung darah yang disentrifugasi ke pelat QFT-Plus ELISA, termasuk jika stasiun kerja ELISA otomatis digunakan.

Sampel plasma dapat disimpan hingga 28 hari pada suhu 2 °C hingga 8 °C atau, jika dipanen, di bawah -20 °C untuk periode yang diperpanjang.

Untuk sampel pengujian yang memadai, panen plasma sekurangnya 150 µl.

## Tahap 2 – IFN- $\gamma$ ELISA

### Materi yang disediakan

- Kit QFT-Plus ELISA (Lihat Bab 3)

### Materi diperlukan tetapi tidak tersedia

- Lihat Bab 3.

### Prosedur

1. Semua sampel dan reagen plasma, kecuali Konjugat Konsentrat 100x, harus dibiarkan dalam suhu ruang ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) sebelum digunakan. Biarkan ekuilibrisasi selama sekurangnya 60 menit.
2. Lepas strip yang tidak diperlukan dari kerangka, segel lagi dalam kantong foil, dan kembalikan ke lemari pendingin untuk disimpan hingga dibutuhkan.

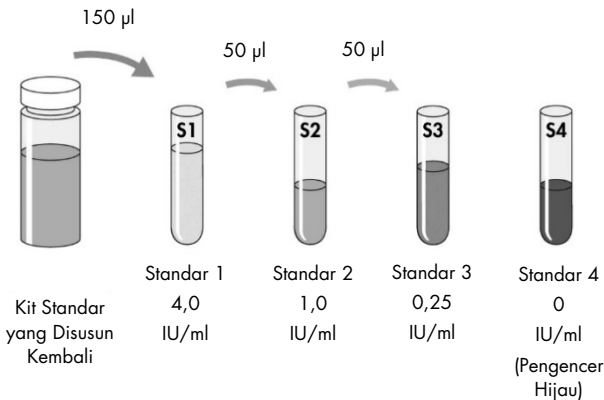
Biarkan setidaknya 1 strip untuk standar QFT-Plus dan strip yang memadai untuk sejumlah subjek yang akan diuji (lihat Gambar 5). Setelah digunakan, jaga kerangka untuk digunakan dengan strip yang tersisa.

3. Susun kembali Standar IFN- $\gamma$  dengan volume air deionisasi atau distilasi yang ditunjukkan pada label vial. Campur perlahan untuk mengurangi pembuihan dan memastikan pelarutan sepenuhnya. Penyusunan kembali standar ke volume yang ditetapkan akan menghasilkan larutan dengan konsentrasi 8,0 IU/ml.

Catatan penting: Penyusunan kembali volume kit standar akan berbeda-beda antar batch.

Gunakan kit standar yang sudah disusun ulang untuk menghasilkan 1 dalam 2 pengenceran yang diikuti dengan 1 dalam 4 pengenceran rangkaian IFN- $\gamma$  dalam Pengencer Hijau (Green Diluent, GD) (lihat Gambar 4). S1 (Standar 1) mengandung 4,0 IU/ml, S2 (Standar 2) mengandung 1,0 IU/ml, S3 (Standar 3) mengandung 0,25 IU/ml, dan S4 (Standar 4) mengandung 0 IU/ml (GD saja). Semua standar tersebut harus diuji kadarnya setidaknya dalam duplikat. Siapkan pengencer segar dari kit standar untuk setiap sesi ELISA.

Rekomendasi prosedur untuk standar duplikat	
Pasang label ke-4 tabung "S1", "S2", "S3", "S4."	
Tambahkan GD sebanyak 150 $\mu$ l ke S1, S2, S3, S4.	
Tambahkan kit standar sebanyak 150 $\mu$ l ke S1 dan campur rata.	
Pindahkan 50 $\mu$ l dari S1 ke S2 dan campur rata.	
Pindahkan 50 $\mu$ l dari S2 ke S3 dan campur rata.	
GD saja berfungsi sebagai standar nol (S4).	



Gambar 4. Penyiapan kurva standar.

- Susun kembali Konjugat Konsentrat 100x yang diliofilisasi dengan air deionisasi atau distilasi sebanyak 0,3 ml. Campur perlahan untuk mengurangi pembuihan dan memastikan pelarutan konjugat sepenuhnya.

Konjugat berdaya kerja disiapkan dengan mengencerkan Konjugat Konsentrat 100x yang tersusun kembali dalam jumlah yang diperlukan dalam Pengencer Hijau (Tabel 1. Penyiapan Konjugat). Segera kembalikan setiap Konjugat Konsentrat 100x yang tidak terpakai ke suhu 2 °C hingga 8 °C. Gunakan hanya Pengencer Hijau.

Tabel 1. Penyiapan Konjugat

Jumlah strip	Volume Konjugat Konsentrat 100x	Volume Pengencer Hijau
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

- Untuk sampel plasma yang dipanen dari tabung penampung darah lalu disimpan (didinginkan atau dibekukan), campur sampel sebelum ditambahkan ke sumuran ELISA.  
Catatan penting: Jika sampel akan ditambahkan langsung dari tabung QFT-Plus yang disentrifugasi, setiap pencampuran plasma harus dihindari. Selalu berhati-hatilah agar tidak mengacaukan material pada permukaan gel.
- Tambahkan 50 µl konjugat berdaya kerja yang baru disiapkan ke sumuran ELISA yang diperlukan menggunakan pipet multisaluran.

7. Tambahkan sampel plasma pengujian sebanyak 50 µl ke sumuran yang sesuai menggunakan pipet multialiran (lihat tata letak pelat yang disarankan di Gambar 5). Terakhir, tambahkan masing-masing dari standar 1-4 sebanyak 50 µl.

	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

Gambar 5. Rekomendasi tata letak sampel (22 pengujian per pelat)

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

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

8. Tutup setiap pelat lalu campur konjugat dan sampel/standar plasma secara menyeluruh menggunakan alat kocok pelat mikro selama 1 menit. Jangan sampai memercik.
9. Tutup setiap pelat dan inkubasi pada suhu ruang ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) selama  $120 \pm 5$  menit. Pelat tidak boleh terpapar sinar matahari langsung selama inkubasi.
10. Selama inkubasi, encerkan satu bagian Buffer Cuci Konsentrat 20x dengan 19 bagian air deionisasi atau distilasi lalu campur secara menyeluruh. Buffer Cuci Konsentrat 20x yang memadai telah disertakan untuk membuat buffer cuci berdaya kerja sebanyak 2 liter.

---

Cuci sumuran dengan buffer cuci berdaya kerja 400 µl selama sekurangnya 6 siklus. Disarankan menggunakan pencuci pelat otomatis.

Pencucian menyeluruh sangat penting untuk kinerja uji kadar. Pastikan setiap sumuran terisi penuh dengan buffer cuci hingga bagian atas sumuran untuk setiap siklus pencucian. Disarankan ada waktu rendam sekurangnya 5 detik antar siklus.

Disinfektan standar laboratorium harus ditambahkan ke penampung limbah dan prosedur yang sudah ditetapkan harus dipatuhi untuk dekontaminasi material yang berpotensi menular.

11. Ketuk pelat secara terbalik pada handuk serat rendah yang mudah menyerap guna menghilangkan residu buffer cuci. Tambahkan Larutan Enzim Substrat sebanyak 100 µl ke setiap sumuran, tutup setiap pelat, dan campur rata menggunakan alat kocok pelat mikro.
12. Tutup setiap pelat dan inkubasi pada suhu ruang ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) selama 30 menit.  
Pelat tidak boleh terpapar sinar matahari langsung selama inkubasi.
13. Setelah inkubasi 30 menit, tambahkan Larutan Penghenti Enzim sebanyak 50 µl ke setiap sumuran lalu campurkan.  
Larutan Penghenti Enzim harus ditambahkan ke sumuran dalam urutan yang sama dan kecepatan yang kurang lebih sama seperti substrat pada langkah 11.
14. Ukur Densitas Optik (OD) setiap sumuran dalam waktu 5 menit setelah reaksi berhenti menggunakan pembaca pelat mikro yang dipasang pada filter 450 nm dan pada filter referensi 620 nm sampai 650 nm. Nilai OD digunakan untuk menghitung hasil.

---

# Perhitungan dan Interpretasi Pengujian

Perangkat lunak QFT-Plus Analysis dapat digunakan untuk menganalisis data mentah dan menghitung hasil. Perangkat lunak ini tersedia di [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Pastikan yang digunakan adalah versi terbaru dari Perangkat lunak QFT-Plus Analysis.

Perangkat lunak ini melakukan penilaian kontrol kualitas pada uji kadar, membuat kurva standar, dan memberikan hasil pengujian untuk setiap subjek, yang diperinci di bab Interpretasi Hasil.

Sebagai alternatif dari Perangkat lunak QFT-Plus Analysis, hasil dapat ditentukan dengan metode berikut ini.

## Pembuatan kurva standar

(Jika tidak menggunakan Perangkat lunak QFT-Plus Analysis)

Tentukan nilai mean OD pada pengulangan standar kit di setiap pelat.

Buat kurva standar  $\log_{(e)}\text{-}\log_{(e)}$  dengan memplot  $\log_{(e)}$  pada mean OD (sumbu y) terhadap  $\log_{(e)}$  pada konsentrasi IFN- $\gamma$  pada standar dalam IU/ml (sumbu x), dengan menghilangkan standar nol dari perhitungan ini. Hitung garis posisi terbaik untuk kurva standar dengan analisis regresi.

Gunakan kurva standar untuk menentukan konsentrasi IFN- $\gamma$  (IU/ml) untuk setiap sampel plasma pengujian, menggunakan nilai OD pada setiap sampel.

Perhitungan ini dapat dilakukan menggunakan paket perangkat lunak yang tersedia dengan pembaca pelat mikro, dan perangkat lunak statistik atau spreadsheet standar (seperti Microsoft® Excel®). Disarankan agar paket ini digunakan untuk menghitung analisis regresi, koefisien variasi (%CV) untuk standar, dan koefisien korelasi ( $r$ ) kurva standar.

---

## Kontrol kualitas pengujian

Keakuratan hasil pengujian bergantung pada pembuatan kurva standar yang akurat. Maka, hasil yang diturunkan dari standar harus diperiksa sebelum hasil sampel pengujian dapat diinterpretasi.

Agar ELISA bisa menjadi valid:

- Nilai OD rata-rata untuk Standar 1 harus sebesar  $\geq 0,600$ .
- %CV untuk pengulangan nilai OD Standar 1 dan Standar 2 harus  $\leq 15\%$ .
- Pengulangan nilai OD untuk Standar 3 dan Standar 4 tidak boleh berbeda melebihi 0,040 unit densitas optik dari rata-ratanya.
- Koefisien korelasi ( $r$ ) yang dihitung dari mean nilai daya serap standar harus sebesar  $\geq 0,98$ .

Perangkat lunak QFT-Plus Analysis menghitung dan melaporkan parameter kontrol kualitas ini.

Jika kriteria di atas tidak terpenuhi, giliran tidak valid dan harus diulangi.

Nilai OD rata-rata untuk Standar Nol (Pengencer Hijau) harus sebesar  $\leq 0,150$ . Jika nilai OD rata-rata  $> 0,150$ , prosedur pencucian pelat harus diinvestigasi.

## Interpretasi hasil

Hasil QFT-Plus diinterpretasi menggunakan kriteria berikut (Tabel 2):

**Catatan penting:** Mendiagnosis atau mengecualikan penyakit tuberkulosis, dan menilai kemungkinan LTBI, memerlukan kombinasi temuan epidemiologis, historis, medis, dan diagnostik yang harus dipertimbangkan saat menginterpretasi hasil QFT-Plus.

Tabel 2. Interpretasi hasil QFT-Plus

Nil (IU/ml)	TB1 dikurangi Nil (IU/ml)	TB2 dikurangi Nil (IU/ml)	Mitogen dikurangi Nil (IU/ml)	Hasil QFT-Plus	Hasil/Interpretasi
≤8,0	≥0,35 dan ≥ 25% dari nilai Nil	Bebas	Bebas	Positif	Infeksi <i>M. tuberculosis</i> mungkin terjadi
	Bebas	≥0,35 dan ≥ 25% dari nilai Nil	≥0,5	Negatif	Infeksi <i>M. tuberculosis</i> TIDAK mungkin terjadi
	<0,35 atau ≥0,35 dan <25% dari nilai Nil	<0,35 atau ≥0,35 dan <25% dari nilai Nil	<0,5	Tidak tentu <sup>†</sup>	Kemungkinan infeksi <i>M. tuberculosis</i> tidak dapat ditentukan
>8,0 <sup>§</sup>		Bebas		Tidak tentu <sup>†</sup>	Kemungkinan infeksi <i>M. tuberculosis</i> tidak dapat ditentukan

\* Respons terhadap kontrol positif Mitogen (dan kadang kala Antigen TB) dapat berada di luar rentang pembaca pelat mikro. Ini tidak berpengaruh pada hasil pengujian. Nilai >10 ml dilaporkan oleh perangkat lunak QFT-Plus sebagai >10 IU/ml.

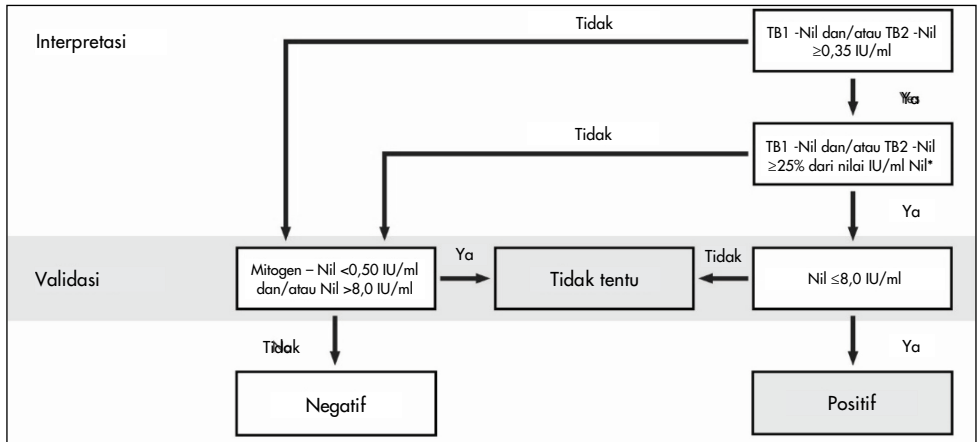
† Jika infeksi *M. tuberculosis* tidak dicurigai, hasil awal yang positif dapat dikonfirmasi dengan menguji kembali sampel plasma asli dalam duplikat di QFT-Plus ELISA. Jika pengujian yang diulang pada satu atau kedua replika di atas positif, individu harus dianggap sebagai pengujian positif.

‡ Lihat bab "Pemecahan masalah" untuk kemungkinan penyebab.

§ Dalam studi klinis, kurang dari 0,25% subjek memiliki kadar FN- $\gamma$  sebesar >8,0 IU/ml untuk nilai Nil.

Magnitudo dari tingkat IFN- $\gamma$  yang dihitung tidak dapat dikaitkan dengan tahap, atau derajat infeksi, tingkat ketanggapan imunitas, atau kecenderungan untuk progresi penyakit aktif. Respons TB yang positif pada individu yang juga negatif terhadap Mitogen itu jarang, namun telah ditemukan pada pasien penyakit DB. Ini menunjukkan respons IFN- $\gamma$  terhadap Antigen TB lebih besar dari respons terhadap Mitogen, yang dapat terjadi karena tingkat Mitogen tidak secara maksimal menstimulasi produksi IFN- $\gamma$  melalui limfosit.





\* Agar TB1 yang dikurangi Nil atau TB2 dikurangi Nil menjadi valid, jumlah  $\geq 25\%$  dari nilai Nil IU/ml harus berasal dari tabung yang sama dengan hasil asli  $\geq 0,35$  IU/ml.

Gambar 6. Bagan alir interpretasi QFT-Plus

---

# Batasan

Hasil dari pengujian QFT-Plus harus digunakan bersama dengan setiap epidemiologi individu, status kesehatan terkini, dan evaluasi diagnostik lainnya.

Individu dengan nilai NIL yang lebih besar dari 8,0 IU/ml diklasifikasikan sebagai “tidak tentu” karena respons yang 25% lebih tinggi terhadap antigen TB yang dapat berada di luar rentang pengukuran uji kadar.

Hasil yang tidak andal atau tidak tentu dapat disebabkan oleh:

- Penyimpangan dari prosedur yang dijelaskan dalam brosur kemasan ini
- Kadar berlebihan IFN- $\gamma$  yang bersirkulasi atau keberadaan antibodi heterofil
- Lebih dari 16 jam antara pengambilan spesimen darah dan inkubasi pada 37 °C. Ini tidak berlaku jika menggunakan alur kerja 2-8 °C tabung litium heparin atau natrium heparin.

# Karakteristik Kinerja

## Studi klinis

Karena tidak ada pengujian standar yang pasti untuk LTBI, perkiraan sensitivitas dan spesifisitas untuk QFT-Plus tidak dapat dievaluasi secara praktis. Spesifisitas QFT-Plus didekati dengan mengevaluasi tingkat positif palsu pada orang dengan risiko infeksi tuberkulosis yang rendah (tidak ada faktor risiko yang diketahui). Sensitivitas didekati dengan mengevaluasi kelompok pasien dengan penyakit TB aktif yang dikonfirmasi kultur.

### Spesifisitas

Sebuah studi yang mengevaluasi spesifisitas QFT-Plus dalam 409 subjek telah diselesaikan. Informasi demografis dan faktor risiko untuk keterpaparan TB ditentukan menggunakan survei yang distandarisasi pada saat pengujian.

Dalam ringkasan temuan dari 2 kelompok pasien dengan risiko infeksi tuberkulosis yang rendah (tidak ada faktor risiko yang diketahui), keseluruhan spesifisitas QFT-Plus adalah sebesar 97,6% (399/409) (Tabel 3 dan Tabel 4).

Tabel 3. Hasil studi spesifisitas QFT-Plus berdasarkan lokasi studi

Studi	Positif	Negatif	Tidak tentu	Spesifisitas (95% CI)
Jepang	4	203	0	98% (95–100%)
Australia	6	196	0	97% (94–99%)

Tabel 4. Hasil studi spesifisitas QFT-Plus berdasarkan tabung antigen TB

Studi	TB1	TB2	QFT-Plus
Positif	5	10	10
Negatif	404	399	399
Tidak tentu	0	0	0
Spesifisitas (95% CI)	98,8% (97,2–99,6)	97,6% (95,6–98,8)	97,6% (95,6–98,8)

## Sensitivitas untuk TB aktif

Meskipun tidak ada pengujian standar yang pasti untuk LTBI, pengganti yang cocok adalah kultur mikrobiologis *M. tuberculosis* karena pasien dengan penyakit pada dasarnya telah terinfeksi. Dugaan TB dari 4 lokasi studi di Australia dan Jepang yang selanjutnya dikonfirmasi memiliki infeksi *M. tuberculosis* karena kultur diuji untuk mengevaluasi sensitivitas QFT-Plus (Tabel 5 dan Tabel 6). Pasien mendapatkan perawatan selama kurang dari 14 hari sebelum pengambilan darah untuk pengujian QFT-Plus.

Dalam ringkasan temua dari ke-4 kelompok pasien dengan kultur positif *M. tuberculosis*, keseluruhan sensitivitas QFT-Plus untuk penyakit TB aktif adalah sebesar 95,3% (164/172). Di ke-4 kelompok, 159 pasien berstatus positif berdasarkan tabung TB1 dan TB2, 1 pasien berstatus positif hanya berdasarkan tabung TB1, dan 4 pasien berstatus positif hanya berdasarkan tabung TB2. Total sebanyak 1,1% (2/174) dari hasilnya adalah tidak tentu. Hasil TB2 mengidentifikasi dengan tepat 1 pasien yang dikonfirmasi kultur yang sebelumnya tidak tentu (Mitogen rendah) hanya berdasarkan hasil TB1 saja (lihat Tabel 5 dan Tabel 6).

Tabel 5. Hasil studi sensitivitas QFT-Plus berdasarkan lokasi studi

Lokasi studi	Positif	Negatif	Tidak tentu	Sensitivitas QFT-Plus* (95% CI)
Lokasi Jepang 1	36	7	0	84% (69–93)
Lokasi Jepang 2	53	1	2	98% (90–100)
Lokasi Jepang 3	54	0	0	100% (93–100)
Lokasi Australia	21	0	0	100% (84–100)

\* Sensitivitas didasarkan pada jumlah total pengujian yang valid, kecuali hasil yang tidak tentu.

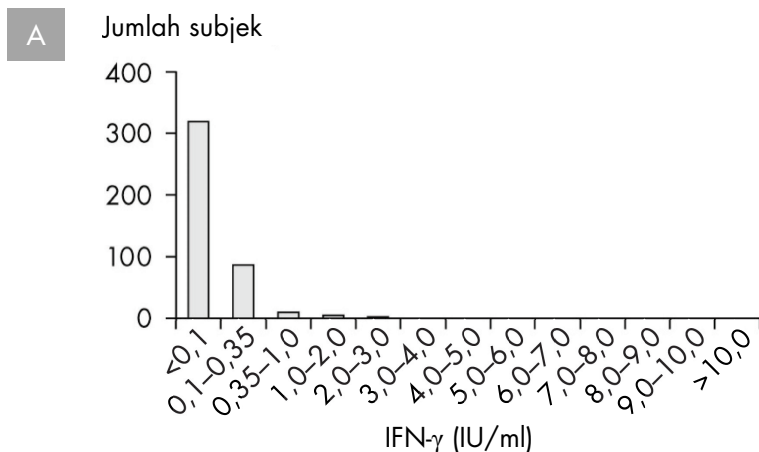
Tabel 6. Hasil studi sensitivitas QFT-Plus berdasarkan tabung antigen TB

	TB1	TB2	QFT-Plus
Positif	160	163	164
Negatif	11	9	8
Tidak tentu	3	2	2
Sensitivitas <sup>1</sup> (95% CI)	93,6% (88,8–96,7)	94,8% (90,3–97,6)	95,3% (90,9–97,9)

\* Sensitivitas didasarkan pada jumlah total pengujian yang valid, kecuali hasil yang tidak tentu.

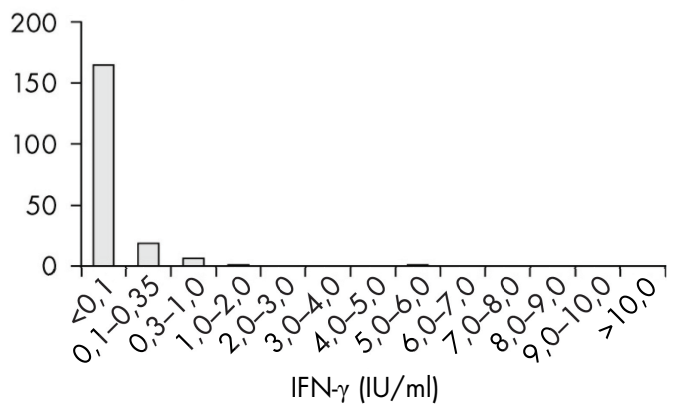
### Distribusi respons yang teramati – diperingkat berdasarkan risiko

Rentang respons IFN- $\gamma$  terhadap TB1, TB2, dan tabung kontrol diamati dalam percobaan klinis dan diperingkat berdasarkan risiko infeksi *M. tuberculosis* (Gambar 7–9). Kelompok risiko campuran berisi perwakilan subjek dari populasi pengujian umum, termasuk subjek dengan dan tanpa faktor risiko keterpaparan TB, dan di mana tidak ada kemungkinan TB aktif (yaitu, LTBI).



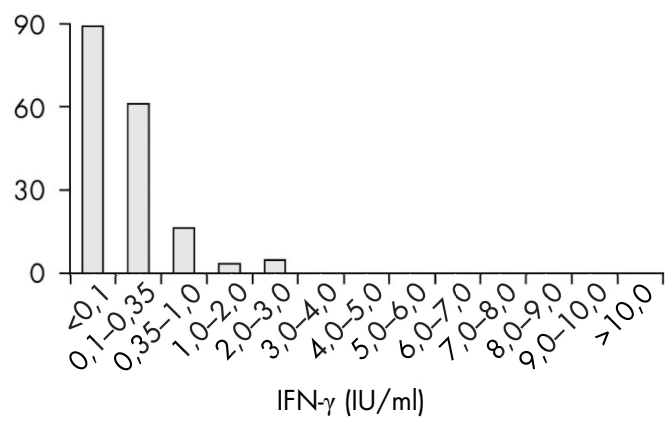
**B**

Jumlah subjek

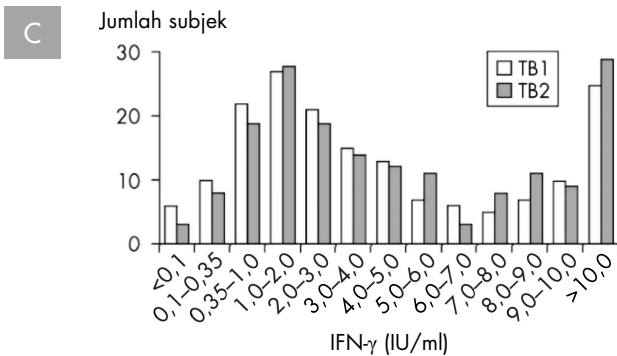
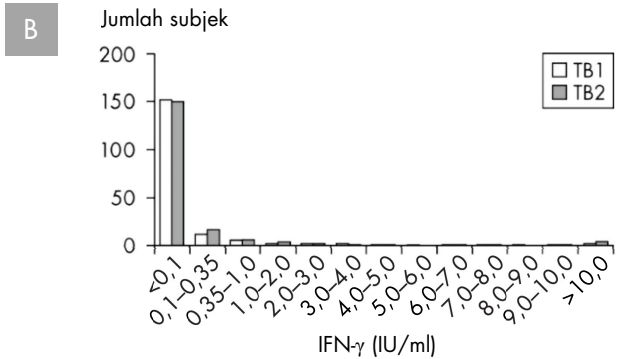
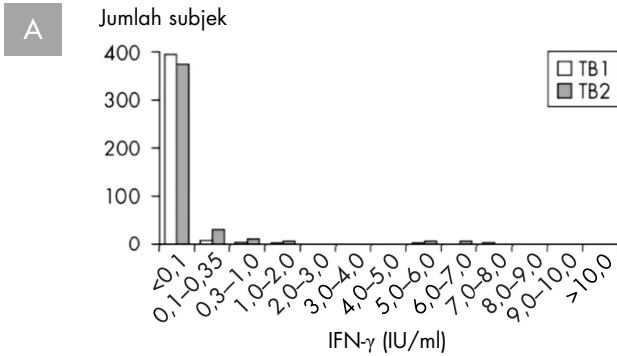


**C**

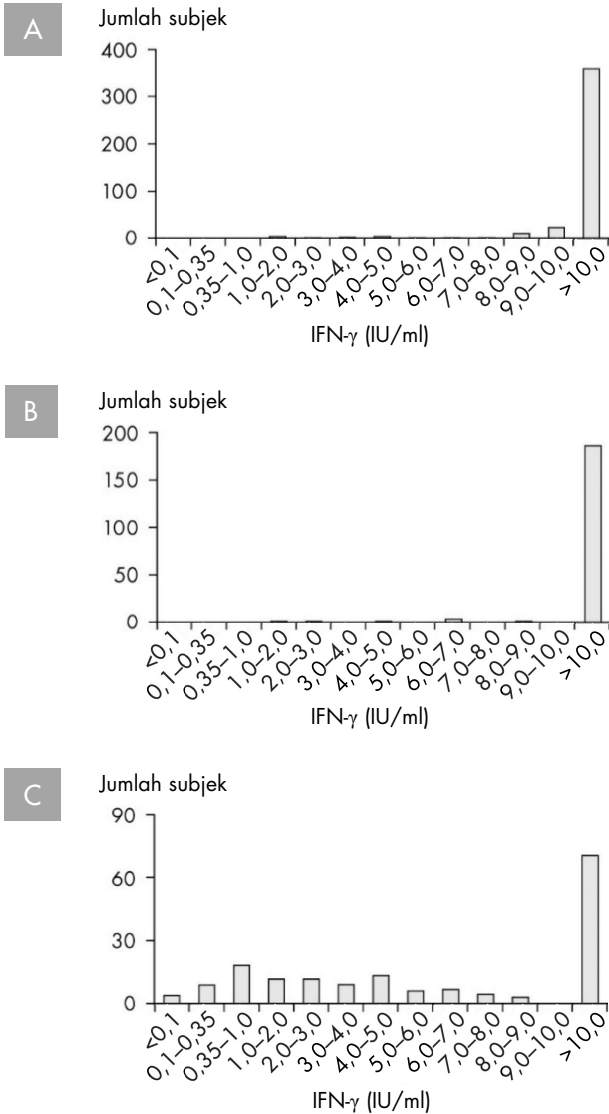
Jumlah subjek



Gambar 7. Distribusi Nilai. **A.** Distribusi nilai Nil dalam populasi berisiko rendah (n=409). **B.** Distribusi nilai Nil dalam populasi berisiko campuran (n=194). **C.** Distribusi nilai Nil dalam populasi dengan infeksi *M. tuberculosis* yang dikonfirmasi kultur (n=174).

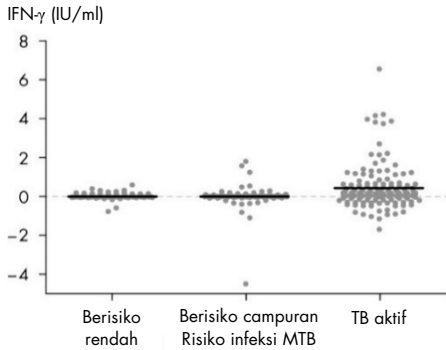


Gambar 8. Distribusi TB1 dan TB2 (dikurangi Nil). A. Distribusi nilai TB1 dan TB2 (dikurangi Nil) dalam populasi berisiko rendah (n=409). B. Distribusi nilai TB1 dan TB2 (dikurangi Nil) dalam populasi berisiko campuran (n=194). C. Distribusi nilai TB1 dan TB2 (dikurangi Nil) dalam populasi dengan infeksi *M. tuberculosis* yang dikonfirmasi kultur (n=174).



Gambar 9. Distribusi Mitogen (dikurangi Nil). A. Distribusi nilai Mitogen (dikurangi Nil) dalam populasi besisiko rendah (n=409). B. Distribusi nilai Mitogen (dikurangi Nil) dalam populasi besisiko campuran (n=194). C. Distribusi nilai Mitogen (dikurangi Nil) dalam populasi dengan infeksi *M. tuberculosis* yang dikonfirmasi kultur (n=169).



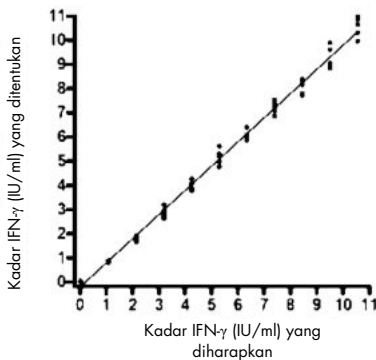


Gambar 10. Perbedaan yang teramati antara nilai TB1 dan TB2 (dikurangi Nil), diperingkat berdasarkan risiko. Populasi berisiko rendah (n=409), populasi berisiko campuran (n=189), dan populasi dengan infeksi *M. tuberculosis* yang dikonfirmasi kultur (n=141). Nilai TB1 dikurangi dari nilai TB2. Subjek dengan nilai untuk TB1 atau TB2 sebesar >10,0 IU/ml tidak disertakan karena berada di luar rentang linear uji kadar.

## Karakteristik kinerja uji kadar

QFT-Plus ELISA ditunjukkan sebagai linear dengan menempatkan secara acak 5 replika dari 11 kumpulan plasma dengan konsentrasi IFN- $\gamma$  yang diketahui pada pelat ELISA. Garis regresi linear memiliki lereng  $1,002 \pm 0,011$  dan koefisien korelasi 0,99 (Gambar 11).

Batas deteksi QFT-Plus ELISA adalah 0,065 IU/ml, dan tidak ada bukti efek kait dosis-tinggi (prozone) dengan konsentrasi IFN- $\gamma$  hingga 10.000 IU/ml.



Gambar 11. Profil linearitas QFT-Plus ELISA

---

Impresisi intra- dan inter- uji kadar (% CV) dari QFT-Plus ELISA telah diperkirakan dengan menguji 20 sampel plasma dengan konsentrasi IFN- $\gamma$  yang berbeda-beda dalam 3 replika, di 3 laboratorium, 3 hari tidak berurutan, dan 3 operator. Maka, setiap sampel diuji 27 kali dalam 9 giliran uji kadar independen. Satu sampel adalah kontrol nol dan memiliki konsentrasi IFN- $\gamma$  yang dihitung sebesar 0,08 IU/ml (95% CI: 0,07–0,09). Dari 19 sampel plasma yang tersisa, konsentrasi mulai dari 0,33 (95% CI: 0,31–0,34) hingga 7,7 IU/ml (95% CI: 7,48–7,92).

Dalam giliran atau impresisi intra-uji kadar diperkirakan dengan merata-rata %CV untuk setiap plasma pengujian yang mengandung IFN- $\gamma$  dari setiap giliran pelat ( $n=9$ ), dan impresisi dimulai dari 4,1 hingga 9,1%CV. Rata-rata dalam kovarian giliran ( $\pm 95\%$  CI) adalah  $6,6\% \pm 0,6\%$ . Rata-rata plasma IFN- $\gamma$  nol adalah 14,1% CV.

Total atau impresisi inter-uji kadar ditentukan dengan membandingkan 27 konsentrasi IFN- $\gamma$  yang dihitung untuk setiap plasma pengujian. Impresisi inter-uji kadar mulai dari 6,6 hingga 12,3% CV. Rata-rata keseluruhan % CV ( $\pm 95\%$  CI) adalah  $8,7\% \pm 0,7\%$ . Plasma IFN- $\gamma$  nol menunjukkan 26,1% CV. Tingkat variasi ini sudah diperkirakan karena konsentrasi IFN- $\gamma$  yang dihitung rendah dan variasi di sekitar rendahnya perkiraan konsentrasi akan lebih besar dari variasi untuk konsentrasi yang lebih tinggi.

Keterulangan pengujian QFT-Plus ditentukan menggunakan sampel darah dari 102 subjek dengan faktor risiko campuran untuk infeksi *M. tuberculosis*. Tiga operator dan kondisi laboratorium dinilai.

3 penentu diagnostik total dibuat untuk setiap subjek dan secara total ada 306 untuk semua subjek. Secara keseluruhan, keterulangan diagnostik adalah 99% (95% CI: 97,2–99,7), di mana hasil diagnostiknya sesuai untuk 303 dari 306 penentu. Hasil dari 3 subjek yang dekat dengan penggalan diperhitungkan untuk semua variasi.

## Diagnosis LTBI

Sejumlah studi telah dipublikasikan yang menunjukkan kinerja QFT, prekursor untuk QFT-Plus, dalam berbagai populasi yang berisiko terinfeksi MTB. Temuan mendasar sejumlah pilihan studi ditampilkan dalam Tabel 7.

Tabel 7. Publikasi studi pilihan tentang QFT

Populasi/kondisi	Hasil dan temuan	Jumlah total publikasi studi
Pediatri	Kinerja yang terbukti pada anak-anak, termasuk anak yang berusia di bawah 5 tahun (45–46) dengan keakuratan lebih tinggi dari IGRA berbasis ELISpot (8). Studi terbesar hingga saat ini yang membandingkan QFT dan TST pada anak-anak dari Vietnam, Filipina, dan Meksiko mendukung penggunaan preferensial QFT daripada TST untuk menguji LTBI pada anak-anak kelahiran asing (46). Studi kontak terbatas menunjukkan nilai prediktif yang lebih baik daripada TST pada anak-anak (47) dan risiko progresi yang 8 kali lebih besar akan penyakit TB dalam waktu dua tahun di antara konverter QFT daripada non-konverter (48). Selisih QFT-negatif/TST-positif tinggi pada anak-anak yang divaksin BCG (46, 49), namun tidak berpengaruh pada respons Mitogen pada anak-anak di bawah usia 5 tahun (49) dan tingkat ketidakentuan yang rendah selama screening rutin anak-anak imigran (46).	152
Kehamilan	Pada lingkungan dengan beban rendah, QFT berfungsi baik di setiap trimester kelahiran dengan hasil yang sebanding dengan wanita yang tidak hamil. Hasil tersebut jauh lebih spesifik, setidaknya sama sensitifnya, dan dapat menjadi prediktor yang lebih baik akan perkembangan penyakit daripada TST (50). Pada lingkungan dengan beban tinggi, QFT lebih stabil selama kehamilan dan jauh lebih mendekati prevalensi LTBI latar belakang daripada TST, meskipun para penulisnya menyimpulkan bahwa kehamilan memengaruhi QFT dan TST (51).	6

Tabel dilanjutkan di halaman berikutnya

Tabel 7. Publikasi studi pilihan tentang QFT (danjutan)

Populasi/kondisi	Hasil dan temuan	Jumlah total publikasi studi
HIV/AIDS	IGRA dan TST dipengaruhi oleh infeksi HIV, dan kumpulan bukti menunjukkan bahwa harus berhati-hati saat menginterpretasi hasil pada pasien dengan kadar CD4+ <200 (52). QFT terlihat kurang terpengaruh dibandingkan IGRA berbasis ELISpot dan TST (53-55). Kejadian tunggal IGRA mengatasi masalah TST berupa tingkat perulangan yang rendah dalam populasi ini (53).	101
Terapi immunosupresif	Dibandingkan TST, QFT kurang dipengaruhi oleh terapi immunosupresif dan berkaitan lebih baik dengan faktor risiko TB (23, 27). QFT memiliki sensitivitas tinggi pada pasien dengan penyakit rematik (23; 56, 57) dan spesifisitas lebih tinggi daripada TST, dengan meminimalkan hasil positif palsu dan mengurangi perlakuan yang tidak diperlukan yang dapat terjadi dengan TST (23, 57, 58).	112
Pekerja layanan kesehatan	Ditemukan lebih spesifik dengan hasil positif palsu yang lebih sedikit daripada TST, dan berbiaya lebih efektif daripada TST (59-62). Variabilitas di seputar ambang batas adalah perkiraan temuan dalam pengujian berseri karena titik potong dikotomi dan variabilitas melekat pada pengujian biologis (63). Studi menunjukkan tingkat konversi/reversi yang lebih tinggi daripada TST dalam pengujian berseri pada pekerja layanan kesehatan berisiko rendah (64, 65). CDC AS mengakui bahwa kriteria yang tidak pasti untuk menentukan konversi IGRA dapat menghasilkan lebih banyak konversi daripada yang diamati dengan kriteria kuantitatif yang lebih ketat untuk TST, serta strategi pengujian ulang didapati efektif dalam mengelola fenomena konversi/reversi (65-68).	111
Kontak dengan TB	PPV dan NPV yang lebih tinggi daripada TST (47); kemudahan kejadian tunggal untuk mereka yang cenderung tidak akan terulang (63), korelasi yang lebih baik dengan keterpaparan (69), yang terutama ditemukan pada orang yang divaksin BCG dan populasi dari negara yang memvaksin BCG (70, 71).	89
Transplantasi	Ditemukan setidaknya sama efektifnya dengan TST, namun kurang terpengaruh oleh penyakit organ stadium akhir daripada TST (22).	23

Tabel dilanjutkan di halaman berikutnya

Tabel 7. Publikasi studi pilihan tentang QFT (danjutan)

Populasi/kondisi	Hasil dan temuan	Jumlah total publikasi studi
Diabetes	Bukti yang bertentangan dari sejumlah kecil publikasi dengan jumlah subjek yang terbatas. Studi dari wilayah dengan beban rendah menemukan bahwa sensitivitas QFT tidak terganggu oleh diabetes pada pasien TB (72). Studi dari Tanzania pada lingkungan dengan beban tinggi, menunjukkan dampak negatif diabetes pada produksi IFN- $\gamma$ , sehingga gagal mempertimbangkan perancu seperti infeksi HIV dan helminth (73). Dalam studi di Vietnam, 838 penderita diabetes swalapor yang diduga memiliki TB karena CXR yang abnormal atau yang dikonfirmasi melalui kultur bahwa memiliki TB aktif (n=128), kepositifan QFT-nya setara atau lebih besar dari titik potong TST sebesar 10 dan 15 mm (74).	9
Penyakit renal stadium akhir	Hasil positif QFT berhubungan dengan faktor risiko untuk TB itu lebih baik daripada TST dan kurang berhubungan dengan BCG (75).	45
Imigran	Studi menunjukkan bahwa QFT tidak terdampak oleh BCG dan usia, tidak seperti TST (74). QFT dikenal sebagai metode yang berbiaya paling efektif (76). Pada lingkungan dengan beban rendah, mayoritas TB berasal dari mereka yang lahir di luar negeri dan dari pengaktifan ulang TB laten setelah kedatangan (77). Studi terbesar hingga saat ini yang membandingkan QFT dan TST pada anak-anak imigran mendukung penggunaan QFT daripada TST untuk menguji infeksi TB laten pada anak-anak kelahiran asing (46).	29

---

# Informasi Teknis

## Hasil yang tidak tentu

Hasil yang tidak tentu tidak lazim terjadi dan mungkin berhubungan dengan status imunitas individu yang diuji, tapi dapat juga berhubungan dengan sejumlah faktor teknis jika petunjuk penggunaan di atas tidak diikuti.

Jika dicurigai terjadi masalah teknis pada penyimpanan reagen, pengambilan darah, atau penanganan sampel darah, ulangi keseluruhan pengujian QFT-Plus dengan spesimen darah yang baru. Pengulangan pengujian ELISA pada plasma yang disimulasi dapat dilakukan jika dicurigai terjadi pencucian yang tidak memadai atau penyimpangan prosedural lainnya pada pengujian ELISA. Hasil tidak tentu yang dihasilkan dari nilai Mitogen rendah atau Nil tinggi diperkirakan tidak akan berubah pada pengulangan kecuali jika terjadi kesalahan pada pengujian ELISA. Hasil tidak tentu harus dilaporkan sebagaimana adanya. Dokter dapat memilih untuk mengambil kembali spesimen atau melakukan prosedur lain sebagaimana diperlukan.

## Sampel plasma membeku

Apabila bekuan fibrin terjadi pada penyimpanan sampel plasma untuk jangka panjang, sentrifugasi sampel menjadi materi bekuan sedimen dan fasilitasi penggunaan pipet untuk plasma.

# Panduan Pemecahan Masalah

Panduan pemecahan masalah ini dapat berfungsi untuk memecahkan masalah yang mungkin muncul. Untuk informasi lebih lanjut, lihat juga informasi teknis yang terdapat di [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Untuk informasi kontak, lihat sampul belakang.

## Pemecahan Masalah ELISA

---

### Pengembangan warna nonspesifik

Kemungkinan penyebab	Solusi
a) Pencucian pelat yang belum selesai	Cuci pelat sekurangnya 6 kali dengan buffer cuci sebanyak 400 µl/sumuran. Mungkin diperlukan lebih dari 6 siklus pencucian, bergantung pada pencuci yang digunakan. Waktu rendam sekurangnya 5 detik antar siklus harus diterapkan.
b) Lintas kontaminasi sumuran ELISA	Berhati-hatilah saat menggunakan pipet dan mencampur sampel untuk mengurangi risiko.
c) Kit/komponen telah kedaluwarsa	Pastikan kit digunakan sebelum tanggal kedaluwarsa. Pastikan standar yang disusun kembali dan Konjugat Konsentrat 100x digunakan dalam waktu tiga bulan setelah tanggal penyusunan kembali.
d) Larutan Enzim Substrat terkontaminasi	Buang substrat jika terdapat perubahan warna biru. Pastikan penampung reagen bersih digunakan.
e) Pencampuran plasma dalam tabung QFT-Plus sebelum panen	Setelah sentrifugasi, hindari menambah atau mengurangi penggunaan pipet atau mencampur plasma dengan cara apa pun sebelum memanen. Selalu berhati-hatilah agar tidak mengacaukan material pada permukaan gel.

### Pembacaan densitas optik rendah untuk standar

Kemungkinan penyebab	Solusi
a) Pengenceran standar mengalami kesalahan	Pastikan pengenceran Standar Kit telah disiapkan dengan benar sesuai brosur kemasan ini.
b) Penggunaan pipet mengalami kesalahan	Pastikan pipet dikalibrasi dan digunakan sesuai petunjuk produsen.
c) Suhu inkubasi terlalu rendah	Inkubasi ELISA harus dilakukan pada suhu ruang ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ).
d) Waktu inkubasi terlalu singkat	Inkubasi pelat dengan konjugat, standar, dan sampel harus selama 120 ± 5 menit. Larutan Enzim Substrate diinkubasi pada pelat selama 30 menit.

## Pemecahan Masalah ELISA

- |  |  |
|--|--|
| e) Filter pembaca pelat yang tidak tepat digunakan | Pelat harus menunjukkan 450 nm dengan filter referensi antara 620 dan 650 nm.  |
| f) Reagen terlalu dingin                           | Semua reagen, kecuali Konjugat Konsentrat 100x, harus dibiarkan dalam suhu ruang sebelum memulai uji kadar. Ini memakan waktu sekitar satu jam.  |
| g) Kit/komponen telah kedaluwarsa                  | Pastikan kit digunakan sebelum tanggal kedaluwarsa. Pastikan standar yang disusun kembali dan Konjugat Konsentrat 100x digunakan dalam waktu 3 bulan setelah tanggal penyusunan kembali. |

### Latar belakang tinggi

#### Kemungkinan penyebab

#### Solusi

- |  |   |
|--|---|
| a) Pencucian pelat yang belum selesai    | Cuci pelat sekurangnya 6 kali dengan buffer cuci sebanyak 400 µl/sumuran. Mungkin diperlukan lebih dari 6 siklus pencucian, bergantung pada pencuci yang digunakan. Waktu rendam sekurangnya 5 detik antar siklus harus diterapkan. |
| b) Suhu inkubasi terlalu tinggi          | Inkubasi ELISA harus dilakukan pada suhu ruang (22 °C ± 5 °C).  |
| c) Kit/komponen telah kedaluwarsa        | Pastikan kit digunakan sebelum tanggal kedaluwarsa. Pastikan standar yang disusun kembali dan Konjugat Konsentrat 100x digunakan dalam waktu 3 bulan setelah tanggal penyusunan kembali.  |
| d) Larutan Enzim Substrat terkontaminasi | Buang substrat jika terdapat perubahan warna biru. Pastikan penampung reagen bersih digunakan.  |

### Kurva standar dan variabilitas duplikat nonlinear

#### Kemungkinan penyebab

#### Solusi

- |  |   |
|--|---|
| a) Pencucian pelat yang belum selesai  | Cuci pelat sekurangnya 6 kali dengan buffer cuci sebanyak 400 µl/sumuran. Mungkin diperlukan lebih dari 6 siklus pencucian, bergantung pada pencuci yang digunakan. Waktu rendam sekurangnya 5 detik antar siklus harus diterapkan. |
| b) Pengenceran standar mengalami kesalahan   | Pastikan pengenceran standar telah disiapkan dengan benar sesuai brosur kemasan ini.  |
| c) Pencampuran yang tidak sempurna   | Campur reagen secara menyeluruh dengan inversi atau vorteks ringan sebelum ditambahkan ke pelat.  |
| d) Teknik penggunaan pipet yang tidak konsisten atau gangguan selama penyiapan uji kadar | Penambahan sampel dan standar harus dilakukan secara terus-menerus. Semua reagen harus disiapkan sebelum memulai uji kadar.   |

Informasi produk dan panduan teknis tersedia secara gratis dari QIAGEN, via distributor Anda, atau dengan mengunjungi [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com).



---

# Referensi

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

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

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

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

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

- 
44. Lanicioni, C. et al. (2012) CD8+ T cells provide an immunologic signature of tuberculosis in young children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 185, 206.
  45. Long, G., Ji-Chun, M., Min, Jin-Long, L., Jin-Hui, T. (2014) Interferon- $\gamma$  release assay for the diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in children younger than 5 years: a meta-analysis. *Clin. Pediatr.* 53, 1255.
  46. Howley, M.M. et al. (2015) Evaluation of QuantiFERON-TB Gold In-Tube and tuberculin skin tests among immigrant children being screened for latent tuberculosis infection. *Ped. Infect. Dis.* 34, 35.
  47. Diel, R., Loddenkember, 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.

# Simbol

Simbol berikut ini mungkin terdapat di kemasan dan label:

Simbol	Definisi simbol
 $2 \times 96$	Memadai untuk penyiapan sampel $2 \times 96$
	Produsen legal
	Simbol yang ditandai CE-IVD
	Untuk penggunaan diagnostik in vitro
	Kode batch
	Nomor katalog
	Nomor Item Perdagangan Global
	Gunakan hingga tanggal
	Batas suhu
	Baca petunjuk penggunaan
	Jangan gunakan kembali
	Jauhkan dari sinar matahari
	Nomor materi
Rn	R adalah untuk revisi Instruksi Penggunaan dan n adalah nomor revisi

---

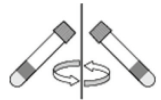
## Informasi Kontak

Untuk bantuan teknis dan informasi lebih lanjut, hubungi nomor bebas pulsa 00800-22-44-6000, lihat Pusat Dukungan Teknis kami di [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) atau hubungi salah satu Departemen Layanan Teknis QIAGEN (lihat sampul belakang atau kunjungi [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

# Ringkasan Prosedur Pengujian

## Tahap 1 – inkubasi darah

1. Isi tabung penampung darah dengan darah pasien dan campurkan dengan mengguncang tabung sepuluh (10) kali secara cukup kuat guna memastikan keseluruhan permukaan sisi dalam tabung telah terlapisi darah. Ini akan melarutkan antigen pada dinding tabung.
2. Inkubasi tabung secara tegak lurus pada suhu  $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$  selama 16 sampai 24 jam.
3. Setelah inkubasi, sentrifugasi tabung selama 15 menit pada 2000 sampai  $3000 \times g$  RCF (g) untuk memisahkan plasma dan sel darah merah.
4. Setelah sentrifugasi, hindari menambah atau mengurangi penggunaan pipet atau mencampur plasma dengan cara apa pun sebelum memanen. Selalu berhati-hatilah agar tidak mengacaukan material pada permukaan gel.



## Tahap 2 – IFN- $\gamma$ ELISA

1. Ekuilibrasi komponen ELISA, terkecuali Konjugat Konsentrat 100x, ke suhu ruang ( $22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) selama sekurangnya 60 menit.
2. Susun kembali standar kit hingga 8,0 IU/ml dengan air distilasi atau deionisasi. Siapkan empat (4) dilusi standar.
3. Susun kembali Konjugat Konsentrat 100x yang dikeringbekukan dengan air distilasi atau deionisasi.



4. Siapkan konjugat berdaya kerja dalam Pengencer Hijau dan tambahkan 50  $\mu$ l ke semua sumuran.



5. Tambahkan sampel plasma pengujian sebanyak 50  $\mu$ l dan standar sebanyak 50  $\mu$ l ke sumuran yang sesuai. Campur menggunakan alat kocok.



6. Inkubasi selama  $120 \pm 5$  menit pada suhu ruang.

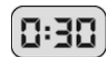


7. Cuci sumuran sekurangnya 6 kali dengan buffer cuci sebanyak 400  $\mu$ l/sumuran.

8. Tambahkan Larutan Enzim Substrat sebanyak 100  $\mu$ l ke sumuran. Campur menggunakan alat kocok.



9. Inkubasi selama 30 menit pada suhu ruang.



10. Tambahkan Larutan Penghenti Enzim sebanyak 50  $\mu$ l ke semua sumuran. Campur menggunakan alat kocok.



11. Hasil pembacaan pada 450 nm dengan filter referensi 620 nm hingga 650 nm.



12. Analisislah hasil tersebut.



# Perubahan Signifikan

Bab	Halaman	Perubahan
Beberapa	Beberapa	Instruksi ditambahkan tentang penggunaan tabung litium heparin atau natrium heparin
Beberapa	Beberapa	Instruksi ditambahkan tentang alur kerja pengambilan darah 2–8 °C
Beberapa	Beberapa	Tutup pelat sekarang adalah material yang diperlukan tapi tidak diberikan

# Riwayat Revisi Buku Pegangan

Dokumen	Perubahan
R6 04/2019	Perubahan litium heparin/natrium heparin Instruksi kerja baru untuk alur kerja pengambilan darah 2–8 °C Tutup pelat dilepaskan dari Pelat QF

Merek Dagang: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (QIAGEN Group); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.).

#### Perjanjian Lisensi Terbatas untuk QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA

Penggunaan produk ini menyatakan perjanjian pembeli atau pengguna produk dengan ketentuan berikut:

1. Produk hanya boleh digunakan sesuai dengan protokol yang disediakan bersama produk dan brosur kemasan ini dan hanya digunakan dengan komponen yang terdapat di dalam kit saja. QIAGEN tidak memberikan lisensi apa pun berdasarkan kekayaan intelektualnya untuk menggunakan atau menggabungkan komponen yang tersedia dengan panel ini dengan komponen apa pun yang tidak termasuk dalam kit ini kecuali sebagaimana dijelaskan dalam protokol yang disediakan dengan produk dan brosur kemasan ini.
2. Selain lisensi yang dinyatakan secara tegas, QIAGEN tidak membuat jaminan bahwa panel ini dan/atau penggunaannya tidak melanggar hak-hak pihak ketiga.
3. Kit ini serta komponennya dilisensikan untuk penggunaan satu kali dan tidak boleh digunakan kembali, diperbarui, atau dijual kembali, kecuali ditentukan lain oleh QIAGEN.
4. QIAGEN secara khusus menyangkal segala lisensi lain, yang dinyatakan secara tegas maupun tersirat selain yang dinyatakan secara tegas di atas.
5. Pembeli dan pengguna kit setuju untuk tidak mengambil atau mengizinkan orang lain mengambil langkah apa pun yang dapat menyebabkan atau mendukung tindakan apa pun yang dilarang di atas. QIAGEN dapat memberlakukan larangan Perjanjian Lisensi Terbatas ini di Pengadilan mana pun, dan akan memulihkan semua biaya investigasi dan Pengadilannya, termasuk biaya pengacara, dalam tindakan apa pun untuk menegakkan Perjanjian Lisensi Terbatas ini atau hak kekayaan intelektualnya yang terkait dengan kit dan/atau komponennya.

Untuk ketentuan lisensi yang diperbarui, lihat [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2019 QIAGEN, hak cipta dilindungi undang-undang.



---

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

Asia-Pasifik | [techservice-ap@qiagen.com](mailto:techservice-ap@qiagen.com)

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

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

Amerika Latin (tidak termasuk Brazil atau Mexico) | [techservice-latam@qiagen.com](mailto:techservice-latam@qiagen.com)

---

Catatan

---

Catatan

