

April 2019

QuantiFERON[®]-TB Gold Plus (QFT[®]-Plus) ELISA Packungsbeilage



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Version 1



In-vitro-Diagnostikum

Interferon-Gamma-Test (IFN- γ) für Vollblut zur Messung der Immunantwort auf die Peptidantigene ESAT-6 und CFP-10



622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Straße 1, 40724 Hilden,
Deutschland



R7 1083163DE

Inhaltsverzeichnis

Verwendungszweck	5
Zusammenfassung und Erklärung des Tests	5
Assayprinzip	7
Assaydauer	10
Komponenten und Lagerung	11
Zusätzlich benötigtes Material	13
Lagerung und Handhabung der Spezimina	14
Blutentnahmeröhrchen	14
Kit-Reagenzien	14
Rekonstituierte und nicht verbrauchte Reagenzien	14
Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen	15
Warnhinweise	15
Vorsichtsmaßnahmen	16
Entnahme und Handhabung der Spezimina	19
Gebrauchsanleitung	25
Stufe 1 – Inkubation der Blutprobe und Entnahme des Plasmas	25
Stufe 2 – IFN- γ -ELISA	26
Berechnungen und Auswertung des Tests	31
Erstellung der Standardkurve	31
Qualitätskontrolle des Tests	32
Interpretation der Ergebnisse	32
Anwendungseinschränkungen	35

Leistungsmerkmale	36
Klinische Studien	36
Assay-Leistungsmerkmale	42
Technische Informationen	47
Unbestimmte Ergebnisse	47
Geronnene Plasmaproben	47
Hilfe zur Fehlerbehebung	48
Literatur	50
Symbole	59
Kontakt	60
Kurzanleitung zum Test	61
Stufe 1 – Inkubation der Blutproben	61
Stufe 2 – IFN- γ -ELISA	61
Erhebliche Änderungen	63
Revisionsverlauf des Handbuchs	63

Verwendungszweck

Der QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Assay ist ein In-vitro-Diagnostikum zur Stimulation von Zellen in heparinisiertem Vollblut. Hierzu wird ein Peptid-Cocktail verwendet, der die Proteine ESAT-6 und CFP-10 simuliert. Die In-vitro-Reaktion auf diese Peptidantigene, die in Zusammenhang mit einer Infektion durch *Mycobacterium tuberculosis* stehen, wird durch Nachweis von Interferon- γ (IFN- γ) mittels ELISA-Assay (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay) festgestellt.

QFT-Plus ist ein indirekter Test auf Infektionen mit *M. tuberculosis* (einschließlich der aktiven Erkrankung) und ist zur Verwendung in Zusammenhang mit Risikoabschätzung, Röntgenuntersuchungen und anderen medizinischen und diagnostischen Verfahren vorgesehen.

Zusammenfassung und Erklärung des Tests

Tuberkulose ist eine Infektionskrankheit, die durch Infektion mit Organismen aus dem *M. tuberculosis*-Komplex (MTB-Komplex; *M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*) entsteht. Die Übertragung auf neue Wirte erfolgt üblicherweise aerogen über Tröpfchen, die von Patienten mit respiratorischer Tuberkulose ausgestoßen werden. Neu infizierte Personen können binnen Wochen oder Monaten an Tuberkulose erkranken; die meisten Infizierten bleiben jedoch gesund. In einigen Fällen bleibt eine latente Tuberkuloseinfektion (LTBI) bestehen, welche nicht ansteckend ist und asymptomatisch verläuft, aber noch Monate oder Jahre später zum Ausbruch der Tuberkulose führen kann. Der Hauptnutzen der Diagnose einer LTBI liegt darin, eine medizinische Behandlung erwägen zu können, um einen möglichen Ausbruch der Tuberkulose zu verhindern. Bis vor kurzem war die einzige verfügbare Methode zur Diagnose einer LTBI der Tuberkulin-Hauttest (THT). Die kutane Sensitivität gegenüber Tuberkulin entwickelt sich zwischen der 2. und 10. Woche nach Infektion. Einige Infizierte, etwa Personen mit Erkrankungen, die die Immunfunktionen beeinträchtigen, aber auch Personen ohne solche Erkrankungen, zeigen jedoch keine Reaktion auf Tuberkulin. Im Gegenzug weisen

andere Personen, bei denen eine Infektion mit *M. tuberculosis* unwahrscheinlich ist, nach Impfung mit Bacille Calmette-Guérin (BCG) oder Infektion mit Mykobakterien, die nicht zum *M. tuberculosis*-Komplex gehören, oder aufgrund unbekannter anderer Faktoren eine Sensitivität gegenüber Tuberkulin und entsprechend positive THT-Testergebnisse auf.

Eine Unterscheidung zwischen LTBI und der Krankheit Tuberkulose, einer meldepflichtigen Erkrankung, die üblicherweise die Lungen und die unteren Atemwege befällt, aber auch andere Organsysteme beeinträchtigen kann, ist erforderlich. Die Diagnose der Tuberkulose kann auf der Grundlage der Anamnese und von körperlichen, radiologischen, histologischen und mykobakteriellen Befunden beruhen.

QFT-Plus ist ein Test, der die zellvermittelte Immunantwort auf Peptidantigene, welche mykobakterielle Proteine simulieren, misst. Diese Proteine, ESAT-6 und CFP-10, sind in sämtlichen BCG-Stämmen und den meisten nichttuberkulösen Mykobakterien (mit Ausnahme von *M. kansasii*, *M. szulgai* und *M. marinum*) nicht vorhanden (1). Im Blut von Personen, die mit einem Organismus aus dem MTB-Komplex infiziert sind, befinden sich normalerweise Lymphozyten, die diese und andere mykobakterielle Antigene erkennen. Im Rahmen dieses Erkennungsprozesses wird das Zytokin IFN- γ von den Zellen produziert und sezerniert. Der Nachweis und die anschließende Quantifizierung von IFN- γ bilden die Grundlage dieses Tests.

Bei den im QFT-Plus-Test eingesetzten Antigenen handelt es sich um einen Peptid-Cocktail, welcher die Proteine ESAT-6 und CFP-10 simuliert. Zahlreiche Studien haben gezeigt, dass diese Peptidantigene in T-Zellen von mit *M. tuberculosis* infizierten Personen IFN- γ -Antworten stimulieren, im Allgemeinen aber nicht in T-Zellen von nicht infizierten oder mit BCG geimpften Personen, die weder erkrankt sind noch ein Risiko für LTBI aufweisen (1–32). Allerdings können medizinische Behandlungen oder Erkrankungen, die die Immunfunktionen beeinträchtigen, IFN- γ -Antworten möglicherweise reduzieren. Patienten, die mit bestimmten anderen Mykobakterien infiziert sind, können ebenfalls auf ESAT-6 und CFP-10 ansprechen, da die diese Proteine kodierenden Gene auch in *M. kansasii*, *M. szulgai* und *M. marinum* vorhanden sind (1, 23). QFT-Plus ist nicht nur ein Test auf LTBI, sondern auch eine nützliche Hilfe zur Diagnose einer Infektion mit Bakterien aus dem *M. tuberculosis*-Komplex bei kranken Patienten.

Ein positives Ergebnis bekräftigt die Diagnose einer Tuberkuloseerkrankung, aber auch Infektionen mit anderen Mykobakterien (z. B. *M. kansasii*) können zu positiven Ergebnissen führen. Um die Diagnose einer Tuberkulose bestätigen oder ausschließen zu können, sind weitere medizinische und diagnostische Beurteilungen erforderlich.

QFT-Plus umfasst zwei separate TB Antigen Tubes: TB Antigen Tube 1 (TB1) und TB Antigen Tube 2 (TB2). Beide Röhrchen enthalten Peptidantigene aus den mit dem MTB-Komplex assoziierten Antigenen ESAT-6 und CFP-10. Das TB1-Röhrchen enthält Peptide aus ESAT-6 und CFP-10, welche die zellvermittelte Immunantwort durch CD4⁺ T-Helferlymphozyten auslösen sollen, während die Peptide im TB2-Röhrchen zur Stimulation der zellvermittelten Immunantwort durch CD8⁺ zytotoxische T-Lymphozyten dienen. Im natürlichen Verlauf einer MTB-Infektion spielen CD4⁺ T-Zellen durch ihre Sekretion des Zytokins IFN- γ eine wesentliche Rolle in der immunologischen Kontrolle. Inzwischen liegen Anhaltspunkte vor, dass CD8⁺ T-Zellen ebenfalls an der Wirtsabwehr gegen MTB beteiligt sind, indem sie IFN- γ und andere lösliche Faktoren produzieren. Diese aktivieren Makrophagen, welche wiederum die Ausbreitung von MTB unterdrücken, infizierte Zellen abtöten oder intrazelluläre MTB direkt lysieren (33–35). MTB-spezifische CD8⁺ Zellen wurden in Probanden mit LTBI und mit aktiver TB identifiziert, in welchen IFN- γ -produzierende CD8⁺ Zellen häufig gefunden werden (36–38). Darüber hinaus wurden ESAT-6- und CFP-10-spezifische CD8⁺ T-Lymphozyten häufiger in Probanden mit aktiver TB gefunden als in solchen mit LTBI. Sie könnten mit einer kürzlich erfolgten MTB-Exposition in Verbindung stehen (39–41). MTB-spezifische, IFN- γ produzierende CD8⁺ T-Zellen wurden außerdem bei Patienten mit aktiver TB, die mit HIV koinfiziert waren (42, 43), und bei an Tuberkulose erkrankten Kleinkindern identifiziert (44).

Assayprinzip

Für den QFT-Plus-Assay werden spezielle Blutentnahmeröhrchen zur Entnahme von Vollblut verwendet. Nach einer Inkubation der Blutproben in den Röhrchen für 16 bis 24 Stunden wird das Plasma entnommen und auf das Vorhandensein von in Reaktion auf die Peptidantigene produziertem IFN- γ getestet.

Der QFT-Plus-Test wird in zwei Stufen durchgeführt. Zunächst wird Vollblut in jedes der vier QFT-Plus Blood Collection Tubes abgenommen. Dabei handelt es sich um ein Nil-Röhrchen, TB1- und TB2-Röhrchen sowie ein Mitogen-Röhrchen. Zur Blutentnahme kann alternativ auch ein Blutentnahmeröhrchen mit Lithiumheparin oder Natriumheparin als Antikoagulans verwendet werden, aus dem das Blut anschließend in die QFT-Plus-Röhrchen überführt wird.

Das Mitogen-Röhrchen dient im Rahmen des QFT-Plus-Tests als Positivkontrolle. Dies kann wichtig sein, wenn der Immunstatus eines Patienten zweifelhaft ist. Das Mitogen-Röhrchen dient auch als Kontrolle, um zu bestimmen, ob die Handhabung und die Inkubation des Blutes korrekt durchgeführt wurden.

Die QFT-Plus-Röhrchen werden geschüttelt, um Antigene und Blut zu vermischen, und sollten so bald wie möglich, spätestens jedoch 16 Stunden nach Blutentnahme, bei 37 °C inkubiert werden. Nach einer Inkubationszeit von 16 bis 24 Stunden werden die Röhrchen dann zentrifugiert, das Plasma wird abgenommen und die Menge an IFN- γ (IU/ml) mittels ELISA gemessen. Der QFT-Plus ELISA verwendet einen rekombinanten Human-IFN- γ -Standard, der gegen ein IFN- γ -Referenzpräparat geprüft wurde (NIH-Ref.: Gxg01-902-535). Die Ergebnisse der Testprobe werden in internationalen Einheiten pro ml (IU/ml) angegeben und anhand einer Standardkurve bestimmt, die durch Tests von Verdünnungen des im Kit vorhandenen Standards erstellt wurde.

Es ist bekannt, dass im Serum oder Plasma vorliegende heterophile (z. B. humane Anti-Maus-) Antikörper bestimmter Personen Immunassays stören. Der Effekt heterophiler Antikörper wurde im QFT-Plus ELISA dadurch minimiert, dass der grünen Verdünnungslösung Normalserum von Mäusen zugegeben und die Mikrotiterplatte mit monoklonalen F(ab')₂-Antikörperfragmenten als IFN- γ -Fängerantikörper beschichtet wurde.

Der QFT-Plus-Assay gilt für ein TB-Antigenröhrchen als positiv für die IFN- γ -Reaktion, wenn der Messwert des jeweiligen Röhrchens (IFN- γ in IU/ml) signifikant über dem Nil-Wert liegt. Die Plasmaprobe aus dem Mitogen-Röhrchen dient für jedes getestete Spezimen als IFN- γ -Positivkontrolle. Wenn eine Blutprobe eine negative Reaktion auf die TB-Antigene zeigt, steht

eine schwache Reaktion auf das Mitogen ($< 0,5$ IU/ml) für ein unbestimmtes Ergebnis. Ein solches Muster kann auftreten bei ungenügender Lymphozytenzahl, herabgesetzter Lymphozytenaktivität infolge unsachgemäßer Spezimenbehandlung, unsachgemäßem Befüllen oder Mischen des Mitogen-Röhrchens oder in Fällen, in denen die Lymphozyten des Patienten nicht in der Lage sind, IFN- γ zu bilden. Erhöhte Messwerte für IFN- γ in der Nil-Probe können in Gegenwart heterophiler Antikörper oder bei intrinsischer IFN- γ -Sekretion auftreten. Das Nil-Röhrchen dient zur Korrektur des Hintergrunds (z. B. erhöhter Gehalt an zirkulierendem IFN- γ oder Vorhandensein heterophiler Antikörper). Der IFN- γ -Wert des Nil-Röhrchens wird von den für die TB-Antigenröhrchen und das Mitogen-Röhrchen erhaltenen IFN- γ -Werten abgezogen.

Assaydauer

Nachstehend finden Sie Angaben zur geschätzten Dauer des QFT-Plus ELISA sowie zur erforderlichen Zeit beim gleichzeitigen Testen mehrerer Proben:

Inkubation der Blutröhrchen bei 37 °C: 16 bis 24 Stunden

ELISA: Etwa 3 Stunden für eine ELISA-Platte
(22 Tests)
< 1 Stunde Arbeitszeit
Plus 10 bis 15 Minuten für jede zusätzliche Platte

Komponenten und Lagerung

Blutentnahmeröhrchen*	200 Röhrchen	Packung für einen Patienten	Spenderbox	HA 200 Tubes	HA Single Patient Pack	HA Dispenser Pack
Katalog-Nr.	622526	622222	622423	623526	623222	623423
Anzahl Tests pro Packung	50	10	25	50	10	25
QuantIFERON Nil Tube (grauer Deckel, weißer Ring)	Nil	50 Röhrchen	10 Röhrchen	25 Röhrchen		
QuantIFERON TB1 Tube (grüner Deckel, weißer Ring)	TB1	50 Röhrchen	10 Röhrchen	25 Röhrchen		
QuantIFERON TB2 Tube (gelber Deckel, weißer Ring)	TB2	50 Röhrchen	10 Röhrchen	25 Röhrchen		
QuantIFERON Mitogen Tube (lila Deckel, weißer Ring)	Mitogen	50 Röhrchen	10 Röhrchen	25 Röhrchen		
QuantIFERON Nil HA Tube (grauer Deckel, gelber Ring)	Nil HA			50 Röhrchen	10 Röhrchen	25 Röhrchen
QuantIFERON TB1 HA Tube (grüner Deckel, gelber Ring)	TB1 HA			50 Röhrchen	10 Röhrchen	25 Röhrchen
QuantIFERON TB2 HA Tube (gelber Deckel, gelber Ring)	TB2 HA			50 Röhrchen	10 Röhrchen	25 Röhrchen
QuantIFERON Mitogen HA Tube (lila Deckel, gelber Ring)	Mitogen HA			50 Röhrchen	10 Röhrchen	25 Röhrchen
Packungsbeilage QFT-Plus Blood Collection Tubes (QFT- Plus Blutentnahmeröhrchen)	1	1	1	1	1	1

* Einige Produktkonfigurationen sind möglicherweise nicht in jedem Land verfügbar. Wenden Sie sich an den QIAGEN Kundenservice (Einzelheiten unter www.qiagen.com), wenn Sie weitere Informationen zu den für Sie zur Bestellung verfügbaren Konfigurationen wünschen.

ELISA-Komponenten [†] Katalog-Nr.	ELISA-Kit mit 2 Platten 622120	Laborpackung zu Referenzzwecken 622822
Microplate Strips (Mikrotiterplattenstreifen, 12 x 8 Wells, beschichtet mit monoklonalen Mausantikörpern gegen Human-IFN- γ)	2 Mikrotiterplattenstreifen mit 96 Wells	20 Mikrotiterplattenstreifen mit 96 Wells
IFN- γ Standard, lyophilisiert (IFN- γ -Standard, enthält rekombinantes Human-IFN- γ , Rinder-casein, 0,01 % m/v Thimerosal)	1 Fläschchen (8 IU/ml nach der Rekonstitution)	10 Fläschchen (8 IU/ml nach der Rekonstitution)
Green Diluent (Grüne Verdünnungslösung, enthält Rinder-casein, Normalserum von Mäusen, 0,01 % m/v Thimerosal)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate, lyophilisiert (100x Konjugatkonzentrat, Meerrettichperoxidase (Maus) gegen Human-IFN- γ mit 0,01 % m/v Thimerosal)	1 x 0,3 ml (nach der Rekonstitution)	10 x 0,3 ml (nach der Rekonstitution)
Wash Buffer 20x Concentrate (20x Waschpufferkonzentrat, pH 7,2 mit 0,05 % v/v ProClin® 300)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Enzymsubstratlösung, mit H ₂ O ₂ , 3,3',5,5'-Tetramethylbenzidin)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Enzymstopplösung, mit 0,5 M H ₂ SO ₄)	1 x 15 ml	10 x 15 ml
QFT-Plus ELISA Package Insert (QFT-Plus ELISA Packungsbeilage)	1	1

[†] Vorsichtsmaßnahmen und Gefahrenhinweise siehe Seite 16.

Zusätzlich benötigtes Material

- Inkubator für $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}^*$. CO₂ nicht erforderlich
- Kalibrierte Pipetten mit variablem Volumen* für Volumina von 10 bis 1000 µl mit Einwegspitzen
- Kalibrierte Mehrkanalpipette* zur Abgabe von 50 und 100 µl mit Einwegspitzen
- Plattendeckel
- Schüttler für Mikrotiterplatten*
- Entionisiertes oder destilliertes Wasser (2 Liter)
- Waschgerät für Mikrotiterplatten (vorzugsweise automatisiert)
- Mikrotiterplatten-Reader* mit 450-nm-Filter und Referenzfilter bei 620 bis 650 nm

* Stellen Sie sicher, dass die Geräte gemäß den Herstellerempfehlungen geprüft und kalibriert wurden.

Lagerung und Handhabung der Spezimina

Blutentnahmeröhrchen

- Blutentnahmeröhrchen sind bei 4 bis 25 °C zu lagern.

Kit-Reagenzien

- Die Kit-Reagenzien sind bei 2 bis 8 °C zu lagern.
- Die Enzymsubstratlösung ist stets vor direkter Sonneneinstrahlung zu schützen.

Rekonstituierte und nicht verbrauchte Reagenzien

Anweisungen zur Rekonstitution der Reagenzien finden Sie auf Seite 27.

- Der rekonstituierte Kit-Standard ist bei Lagerung bei 2 °C bis 8 °C bis zu 3 Monate lang haltbar.

Notieren Sie das Datum der Rekonstitution des Kit-Standards.

- Das 100x Konjugatkonzentrat muss nach der Rekonstitution bei 2 bis 8 °C gelagert und innerhalb von 3 Monaten aufgebraucht werden.

Notieren Sie das Datum der Rekonstitution des Konjugats.

- Gebrauchsfertig verdünntes Konjugat muss innerhalb von 6 Stunden nach Zubereitung verwendet werden.
- Gebrauchsfertig verdünnter Waschpuffer ist bei Raumtemperatur bis zu 2 Wochen lang haltbar.

Warnungen und Vorsichtsmaßnahmen

Für in-vitro-diagnostische Anwendungen.

Warnhinweise

- Ein negatives QFT-Plus-Ergebnis schließt die Möglichkeit einer Infektion mit *M. tuberculosis* oder einer Tuberkuloseerkrankung nicht aus: Falsch negative Ergebnisse können durch das Stadium der Infektion (z. B. Spezimen vor der Entwicklung der zellulären Immunantwort entnommen), Komorbiditäten, welche sich auf die Immunfunktionen auswirken, eine fehlerhafte Handhabung der Blutentnahmeröhrchen im Anschluss an die Venenpunktion, eine fehlerhafte Durchführung des Assays oder andere immunologische Variablen bedingt sein.
- Umgekehrt sollte ein positives QFT-Plus-Ergebnis nicht als einzige oder endgültige Grundlage für die Diagnose einer Infektion mit *M. tuberculosis* dienen. Eine fehlerhafte Durchführung des Assays kann zu falsch positiven Reaktionen führen.
- Einem positiven QFT-Plus-Ergebnis sollten weitere medizinische und diagnostische Untersuchungen auf eine aktive Tuberkulose folgen (z. B. AFB-Abstrich (AFB = säurefeste Bazillen) und -Kultur, Thorax-Röntgen).
- In BCG-Stämmen und den meisten bekannten nichttuberkulösen Mykobakterien kommen ESAT-6 und CFP-10 nicht vor; eine Infektion durch *M. kansasii*, *M. szulgai* oder *M. marinum* könnte jedoch zu einem positiven QFT-Plus-Ergebnis führen. Bei Verdacht auf eine dieser Infektionen sollten alternative Tests gewählt werden.

Vorsichtsmaßnahmen

Tragen Sie beim Umgang mit Chemikalien stets einen geeigneten Laborkittel, Einmal-Laborhandschuhe und eine Schutzbrille. Weitere Informationen finden Sie in den jeweiligen Sicherheitsdatenblättern (Safety Data Sheets, SDS). In unserer Online-Sammlung der Sicherheitsdatenblätter unter www.qiagen.com/safety finden Sie zu jedem QIAGEN-Kit und zu jeder Kit-Komponente das jeweilige SDS als praktische und kompakte PDF-Datei, die Sie einsehen und ausdrucken können.



VORSICHT: Behandeln Sie Humanblut- und -plasmaproben stets als potenziell infektiös. Beachten Sie die einschlägigen Richtlinien zum Umgang mit Blut und Blutprodukten. Proben und Materialien, die mit Blut oder Blutprodukten in Kontakt gekommen sind, müssen gemäß den auf Bundes-, Landes- und kommunaler Ebene geltenden Sicherheitsbestimmungen entsorgt werden.

Für die Komponenten des QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA gelten die folgenden Gefahren- und Sicherheitshinweise.

Gefahrenhinweise



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

Enthält: Schwefelsäure. Warnung! Kann gegenüber Metallen korrosiv sein. Verursacht Hautreizungen. Verursacht starke Augenreizung. Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Warnung! Bewirkt leichte Hautreizung. Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen.



QuantiFERON Green Diluent

Enthält: Trinitium-5-hydroxy-1-(4-sulfophenyl)-4-(4-sulfophenylazo)pyrazol-3-carboxylat. Enthält: Tartrazin. Warnung! Kann allergische Hautreaktionen verursachen. Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Enthält: Gemisch aus 5-Chloro-2-methyl-4-isothiazolin-3-on und 2-Methyl-2H-isothiazol-3-on (3:1). Schädlich für Wasserorganismen mit langfristigen Auswirkungen. Freisetzung in die Umwelt vermeiden.

Sicherheitshinweise

Vor Gebrauch besondere Anweisungen einholen. Schutzhandschuhe / Schutzkleidung / Augenschutz / Gesichtsschutz tragen. BEI BERÜHRUNG MIT DER HAUT (oder dem Haar): Alle kontaminierten Kleidungsstücke sofort ausziehen/entfernen. Haut mit Wasser abwaschen/duschen. BEI KONTAKT MIT DEN AUGEN: Einige Minuten lang behutsam mit Wasser ausspülen. Eventuell vorhandene Kontaktlinsen nach Möglichkeit entfernen. Weiter ausspülen. Bei Exposition oder falls betroffen: Ärztlichen Rat einholen bzw. ärztliche Hilfe hinzuziehen. Sofort GIFTNOTRUF anrufen oder Arzt hinzuziehen. Bei Hautreizung oder -ausschlag: Ärztlichen Rat einholen bzw. ärztliche Hilfe hinzuziehen. Kontaminierte Kleidung ausziehen und vor erneutem Tragen waschen. Unter Verschluss aufbewahren. Inhalt/Behälter bei zugelassenem Abfallentsorgungsdienst entsorgen.

Weitere Informationen

Sicherheitsdatenblätter: www.qiagen.com/safety

- Abweichungen von der *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Packungsbeilage* können zu fehlerhaften Ergebnissen führen. Bitte lesen Sie die Anweisungen vor Gebrauch sorgfältig durch.

-
- Verwenden Sie das Kit nicht, wenn Reagenzflaschen vor Gebrauch beschädigt oder undicht erscheinen.
 - Wichtig: Fläschchen vor der Verwendung prüfen. Keine Konjugat- oder IFN- γ -Standard-Fläschchen verwenden, bei denen Zeichen einer Beschädigung sichtbar sind oder deren Gummidichtung beeinträchtigt ist. Defekte Fläschchen nicht anfassen. Fläschchen unter Beachtung geeigneter Sicherheitsmaßnahmen sicher entsorgen. Empfehlung: Das Konjugat- bzw. IFN- γ -Standard-Fläschchen mit einer Entbördelzange öffnen, um die Verletzungsgefahr durch die metallene Bördelkappe zu minimieren.
 - Komponenten wie Mikrotiterplattenstreifen, IFN- γ -Standard, grüne Verdünnungslösung oder 100x Konjugatkonzentrat von unterschiedlichen QFT-Plus-Kit-Chargen dürfen nicht zusammen verwendet oder vermischt werden. Andere Reagenzien (20x Waschpufferkonzentrat, Enzymsubstratlösung und Enzymstopplösung) können zwischen den Kits ausgetauscht werden, vorausgesetzt, das Verfallsdatum der Reagenzien ist noch nicht abgelaufen und die Chargendaten werden notiert.
 - Nicht benötigte Reagenzien und biologische Proben müssen gemäß den auf Bundes-, Landes- und kommunaler Ebene geltenden Sicherheitsbestimmungen entsorgt werden.
 - Nach Ablauf des Verfallsdatums dürfen die QFT-Plus Blood Collection Tubes und das ELISA-Kit nicht mehr verwendet werden.
 - Zu jedem Zeitpunkt sind korrekte Laborverfahren anzuwenden.
 - Stellen Sie sicher, dass alle Laborgeräte vor Gebrauch kalibriert/validiert wurden.

Entnahme und Handhabung der Spezimina

Im QFT Plus Assay werden die folgenden Entnahmeröhrchen verwendet:

1. QuantiFERON Nil Tubes (grauer Deckel mit weißem Ring)
2. QuantiFERON TB1 Tubes (grüner Deckel mit weißem Ring)
3. QuantiFERON TB2 Tubes (gelber Deckel mit weißem Ring)
4. QuantiFERON Mitogen Tubes (lila Deckel mit weißem Ring)
5. QuantiFERON HA Nil Tubes (grauer Deckel mit gelbem Ring)
6. QuantiFERON HA TB1 Tubes (grüner Deckel mit gelbem Ring)
7. QuantiFERON HA TB2 Tubes (gelber Deckel mit gelbem Ring)
8. QuantiFERON HA Mitogen Tubes (lila Deckel mit gelbem Ring)

Die Innenwand der Blutentnahmeröhrchen ist mit Antigenen beschichtet; es ist daher wichtig, dass der Röhrcheninhalt gründlich mit dem Blut gemischt wird. Wenn das Blut direkt in die QFT-Plus-Röhrchen abgenommen wurde, so müssen diese bei Raumtemperatur ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) aufbewahrt und transportiert und so bald wie möglich, spätestens jedoch 16 Stunden nach der Blutentnahme, in einen 37 °C -Inkubator gestellt werden. Zur Blutentnahme kann alternativ auch ein Lithiumheparin- oder Natriumheparin-Röhrchen verwendet werden, in welchem das Blut vor der Überführung in QFT-Plus-Röhrchen und Inkubation aufbewahrt wird. Blutspezimina in Lithiumheparin oder Natriumheparin können für bis zu 16 Stunden bei Raumtemperatur ($17\text{--}25\text{ °C}$) aufbewahrt werden, bevor die Überführung in QFT-Plus-Röhrchen erfolgt. Blutspezimina in Lithiumheparin- oder Natriumheparin-Röhrchen können alternativ auch für bis zu 48 Stunden bei $2\text{--}8\text{ °C}$ aufbewahrt werden, bevor die Überführung in QFT-Plus-Röhrchen erfolgt. Details hierzu entnehmen Sie bitte dem Abschnitt „Blutentnahme in einzelnes Lithium- oder Natriumheparin-Röhrchen und anschließende Überführung in QFT-Plus Blood Collection Tubes“.

Blutabnahme direkt in QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Röhrchen korrekt beschriften.

Jedes Röhrchen (Nil, TB1, TB2 und Mitogen) muss anhand des Etiketts oder einer anderen Kennzeichnung auch ohne Deckel eindeutig zu identifizieren sein.

Es wird empfohlen, Zeit und Datum der Blutentnahme zu dokumentieren.

2. Entnehmen Sie jedem Patienten mittels Venenpunktion je 1 ml Blut direkt in jedes der QFT-Plus Blood Collection Tubes. Die Blutentnahme sollte von geschulten Phlebologen durchgeführt werden.

Wichtiger Hinweis: Zum Zeitpunkt des Füllens sollten die Röhrchen eine Temperatur zwischen 17 und 25 °C haben.

Die normalen QFT-Plus Blood Collection Tubes können bis zu einer Höhe von 810 Metern über dem Meeresspiegel verwendet werden. Die High Altitude (HA) QFT-Plus Blood Collection Tubes können in Höhen zwischen 1020 Metern und 1875 Metern über dem Meeresspiegel verwendet werden.

Da die Blutentnahme mit den 1-ml-Röhrchen relativ langsam erfolgt, lassen Sie das Röhrchen noch 2–3 Sekunden an der Nadel, nachdem der Füllvorgang abgeschlossen zu sein scheint. So wird sichergestellt, dass das korrekte Volumen entnommen wird.

- Die schwarze Markierung an der Seite kennzeichnet den zulässigen Bereich von 0,8 bis 1,2 ml. Liegt das Blutvolumen eines Röhrchens außerhalb des markierten Bereichs, ist eine neue Blutprobe zu entnehmen. Eine Unter- oder Überbefüllung der Röhrchen außerhalb des Bereichs von 0,8 bis 1,2 ml kann zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
- Erfolgt die Blutentnahme mit einer Flügelkanüle, sollte ein Absaugröhrchen verwendet werden, um sicherzustellen, dass die Schläuche mit Blut gefüllt sind, bevor die QFT-Plus Röhrchen zum Einsatz kommen.
- Werden die QFT-Plus Blood Collection Tubes in Höhenlagen über 810 Metern verwendet oder ist das entnommene Blutvolumen zu gering, kann auch mit einer Spritze Blut abgenommen und je 1 ml davon sofort in jedes der 4 Röhrchen gegeben werden. Nehmen Sie aus Sicherheitsgründen die Spritzenadel ab, beachten Sie

die entsprechenden Vorsichtsmaßnahmen, nehmen Sie die Deckel der 4 QFT-Plus Rörchen ab und geben Sie 1 ml Blut in jedes Rörchen (bis zur Mitte der schwarzen Markierung an der Seite des Rörchenetiketts). Verschließen Sie die Rörchen sicher mit den Deckeln und mischen Sie den Inhalt wie nachstehend beschrieben. Jedes Rörchen (Nil, TB1, TB2 und Mitogen) muss anhand des Etiketts oder einer anderen Kennzeichnung auch ohne Deckel eindeutig zu identifizieren sein.

3. Die Rörchen sofort nach der Befüllung zehnmal (10x) gerade so stark schütteln, dass die gesamte Innenfläche des Rörchens mit Blut bedeckt ist. Dadurch werden die Antigene an der Rörchenwand aufgelöst.

Wichtiger Hinweis: Zum Zeitpunkt des Schüttelns sollten die Rörchen eine Temperatur zwischen 17 und 25 °C haben. Zu heftiges Schütteln kann das Gel zerstören und somit zu fehlerhaften Ergebnissen führen.

4. Nachdem die Rörchen etikettiert, befüllt und geschüttelt wurden, müssen sie so schnell wie möglich – spätestens jedoch 16 Stunden nach der Blutentnahme – in einen Inkubator (37 ± 1 °C) überführt werden. Vor der Inkubation sind die Rörchen bei Raumtemperatur (22 °C ± 5 °C) aufzubewahren und zu transportieren. Wenn die QFT-Plus-Rörchen nicht direkt nach der Blutentnahme und Schütteln bei 37 °C inkubiert werden, müssen sie vor der Inkubation bei 37 °C durch 10-maliges Umschwenken gemischt werden.
5. QFT-Plus-Rörchen SENKRECHT stellen und 16 bis 24 Stunden bei 37 °C ± 1 °C inkubieren. Bei der Inkubation muss weder CO₂ zugeführt noch die Luftfeuchtigkeit erhöht werden.

Blutentnahme in ein einzelnes Lithium- oder Natriumheparin-Rörchen und anschließende Überführung in QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Zur Blutentnahme kann auch ein Blutentnahmerörchen mit Lithium- oder Natriumheparin als Antikoagulans verwendet werden, aus dem das Blut anschließend in die QFT-Plus Blood Collection Tubes überführt wird. Es darf nur Lithiumheparin oder Natriumheparin als Antikoagulans verwendet werden, da andere Antikoagulanzen die Leistung des Assays beeinträchtigen. Rörchen korrekt beschriften.

Es empfiehlt sich, jedes Rörchen mit Zeit und Datum der Blutentnahme zu beschriften.

Wichtig: Zum Zeitpunkt der Blutentnahme sollten die Blutentnahmeröhrchen Raumtemperatur (17–25 °C) haben.

2. Füllen Sie ein Lithium- oder Natriumheparin-Blutentnahmeröhrchen (Mindestvolumen: 5 ml) und lösen Sie das Heparin durch vorsichtiges, mehrmaliges Umschwenken auf. Die Blutentnahme sollte von geschulten Phlebologen durchgeführt werden.
3. Aufbewahrungsdauer und Temperaturoptionen für Lithium- oder Natriumheparin-Röhrchen vor Überführung und Inkubation in QFT-Plus Blood Collection Tubes (siehe Abbildungen 1–3, Optionen zur Blutentnahme).

Option 1 – Lithium- oder Natriumheparin-Röhrchen, Aufbewahrung bei Raumtemperatur und Verarbeitung

Blut, das in Lithium- oder Natriumheparin-Röhrchen entnommen wurde, darf ab dem Zeitpunkt der Blutentnahme nicht länger als 16 Stunden bei Raumtemperatur (22 °C ± 5 °C) aufbewahrt werden, bevor es in QFT-Plus Blood Collection Tubes überführt und anschließend inkubiert wird.

Option 2 – Lithium- oder Natriumheparin-Röhrchen, Aufbewahrung im Kühlschrank und Verarbeitung

Wichtig: Die Verfahrensschritte a–d müssen in dieser Reihenfolge ausgeführt werden.

- a. Blut, das in Lithium- oder Natriumheparin-Röhrchen abgenommen wurde, kann nach der Blutentnahme für bis zu 3 Stunden bei Raumtemperatur (17–25 °C) aufbewahrt werden.
- b. In Lithium- oder Natriumheparin-Röhrchen abgenommenes Blut kann für bis zu 48 Stunden im Kühlschrank (2–8 °C) aufbewahrt werden.
- c. Die gekühlten Lithium- oder Natriumheparin-Röhrchen müssen vor der Überführung des Bluts in QFT-Plus Blood Collection Tubes auf Raumtemperatur (17–25 °C) äquilibriert werden.
- d. Die Aliquote in den QFT-Plus Blood Collection Tubes sollten nach der Überführung innerhalb von 2 Stunden in den auf 37 °C vorgewärmten Inkubator gestellt werden.

Wenn die QFT-Plus Blood Collection Tubes nicht direkt nach der Überführung des Bluts und Schütteln bei 37 °C inkubiert werden, müssen sie vor der Inkubation bei 37 °C durch

10-maliges Umschwenken vermischt werden. Die Gesamtzeit zwischen Blutabnahme und Inkubation in QFT-Plus Blood Collection Tubes sollte 53 Stunden nicht überschreiten.

4. Überführung eines Blutspezimens aus Lithium- oder Natriumheparin-Röhrchen in QFT-Plus Blood Collection Tubes:
 - a. Die QFT-Plus Blood Collection Tubes sind angemessen zu beschriften.
Jedes Röhrchen (Nil, TB1, TB2 und Mitogen) muss anhand des Etiketts oder einer anderen Kennzeichnung auch ohne Deckel eindeutig zu identifizieren sein. Es empfiehlt sich, die auf den Lithium- oder Natriumheparin-Röhrchen vermerkten Zeit- und Datumsangaben zur Blutentnahme auf die QFT-Plus Blood Collection Tubes zu übertragen.
 - b. Die Proben müssen durch vorsichtiges Umschwenken gemischt werden, bevor sie in die QFT-Plus Blood Collection Tubes dispensiert werden.
 - c. Die Dispensierung sollte unter Beachtung der einschlägigen Vorsichtsmaßnahmen in aseptischer Arbeitsweise durchgeführt werden. Nehmen Sie dazu die Deckel von den 4 QFT-Plus Blood Collection Tubes ab und geben Sie in jedes Röhrchen 1 ml Blut. Verschließen Sie die Röhrchen sicher mit den Deckeln und mischen Sie den Inhalt wie nachstehend beschrieben. Jedes Röhrchen (Nil, TB1, TB2 und Mitogen) muss anhand des Etiketts oder einer anderen Kennzeichnung auch ohne Deckel eindeutig zu identifizieren sein.
5. Mischen Sie den Inhalt der Röhrchen. Die QFT-Plus Blood Collection Tubes sofort nach der Befüllung zehnmal (10x) gerade so stark schütteln, dass die gesamte Innenfläche des Röhrchens mit Blut bedeckt ist. Dadurch werden die Antigene an der Röhrchenwand aufgelöst. Zu heftiges Schütteln kann das Gel zerstören und somit zu fehlerhaften Ergebnissen führen.
6. Nachdem die Röhrchen etikettiert, befüllt und geschüttelt wurden, müssen sie innerhalb von 2 Stunden in einen Inkubator ($37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$) überführt werden. Wenn die QFT-Plus Blood Collection Tubes nicht direkt nach der Blutentnahme und Schütteln bei 37 °C inkubiert werden, müssen sie vor der Inkubation bei 37 °C durch 10-maliges (10x) Umschwenken vermischt werden (für Blutentnahme-Optionen siehe Abbildungen 1–3 auf der nächsten Seite).
7. Die QFT-Plus Blood Collection Tubes SENKRECHT stellen und 16 bis 24 Stunden bei $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ inkubieren. Bei der Inkubation muss weder CO_2 zugeführt noch die Luftfeuchtigkeit erhöht werden.

Abnahme in QFT-Plus Blood Collection Tubes und Aufbewahrung bei Raumtemperatur.

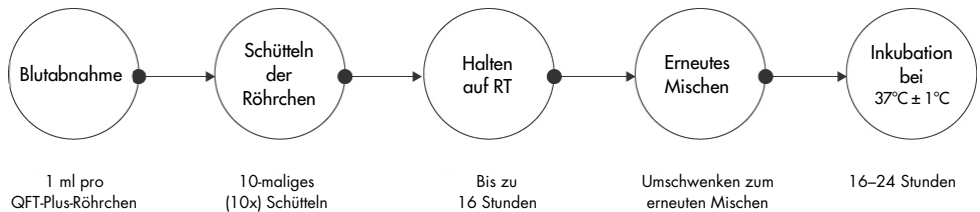


Abbildung 1. Blutentnahme-Option: Direkte Abnahme in QFT-Plus Blood Collection Tubes und Aufbewahrung bei Raumtemperatur. Zwischen der Blutabnahme in die QFT-Plus Blood Collection Tubes und der Inkubation bei 37 °C dürfen nicht mehr als 16 Stunden liegen.

Blutabnahme in Lithium- oder Natriumheparin-Röhrchen und Aufbewahrung bei Raumtemperatur.

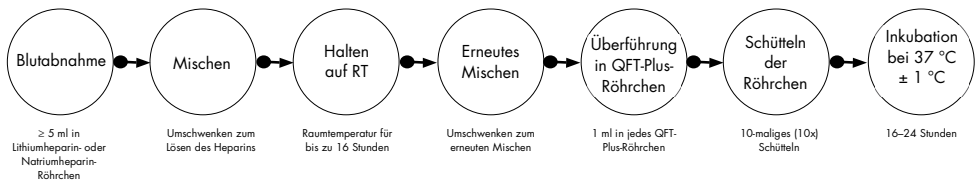


Abbildung 2. Blutentnahme-Option: Blutabnahme in Lithium- oder Natriumheparin-Röhrchen und Aufbewahrung bei Raumtemperatur. Zwischen der Blutabnahme in Lithium- oder Natriumheparin-Röhrchen und der Inkubation bei 37 °C dürfen nicht mehr als 16 Stunden liegen.

Blutabnahme in Lithium- oder Natriumheparin-Röhrchen und Aufbewahrung bei 2–8 °C.

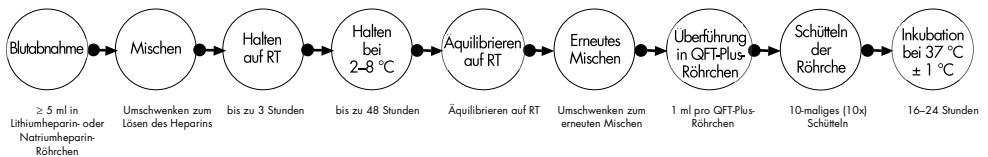


Abbildung 3. Blutentnahme-Option: Blutabnahme in Lithium- oder Natriumheparin-Röhrchen und Aufbewahrung bei 2–8 °C. Zwischen der Blutabnahme in Lithium- oder Natriumheparin-Röhrchen und der Inkubation bei 37 °C dürfen nicht mehr als 53 Stunden liegen.

Gebrauchsanleitung

Stufe 1 – Inkubation der Blutprobe und Entnahme des Plasmas

Lieferumfang

- QFT-Plus Blood Collection Tubes (siehe Abschnitt 3)

Zusätzlich benötigtes Material

- Siehe Abschnitt 3

Verfahren

1. Wird das Blut nicht direkt nach der Entnahme inkubiert, müssen die Röhrchen unmittelbar vor der Inkubation durch 10-maliges Umschwenken erneut gemischt werden.
2. Röhrchen SENKRECHT stellen und 16 bis 24 Stunden bei $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ inkubieren. Bei der Inkubation muss weder CO_2 zugeführt noch die Luftfeuchtigkeit erhöht werden.
3. Nach der Inkubation bei 37 °C können die Blutentnahmeröhrchen vor der Zentrifugation maximal 3 Tage zwischen 4 °C und 27 °C gelagert werden.
4. Nach der Inkubation der Röhrchen bei 37 °C werden diese 15 Minuten lang bei 2000 bis 3000 x RZB (*g*) zentrifugiert. Die Gelbarriere trennt dabei die Zellen vom Plasma. Ist diese Trennung nicht erfolgreich, zentrifugieren Sie die Röhrchen erneut.

Das Plasma kann auch ohne Zentrifugation gewonnen werden, dabei ist jedoch Vorsicht geboten, damit bei der Entnahme des Plasmas die Zellen nicht aufgewirbelt werden.

5. Plasmaproben sollten nur mit einer Pipette entnommen werden.

Wichtiger Hinweis: Vermeiden Sie nach der Zentrifugation unbedingt ein Auf- und Abpipettieren oder Mischen des Plasmas vor der Entnahme. Achten Sie stets darauf, das Material an der Geloberfläche nicht zu verwirbeln.

Plasmaproben können direkt aus den zentrifugierten Blutentnahmeröhrchen in die QFT-Plus ELISA-Platte überführt werden – auch bei Verfahren mit automatisierten ELISA-Arbeitsstationen. Plasmaproben können maximal 28 Tage bei 2 °C bis 8 °C oder, in abgetrennter Form, bei unter -20 °C über einen längeren Zeitraum aufbewahrt werden.

Es müssen mindestens 150 µl Plasma gewonnen werden, um eine ausreichende Menge an Probenmaterial für den Test zu erhalten.

Stufe 2 – IFN- γ -ELISA

Lieferumfang

- QFT-Plus ELISA Kit (siehe Abschnitt 3)

Zusätzlich benötigtes Material

- Siehe Abschnitt 3.

Verfahren

1. Mit Ausnahme des 100x Konjugatkonzentrats müssen alle Plasmaproben und Reagenzien vor dem Gebrauch auf Raumtemperatur (22 ± 5 °C) gebracht werden. Planen Sie für die Temperaturäquibrierung mindestens 60 Minuten ein.
2. Nehmen Sie nicht benötigte Streifen aus dem Rahmen, geben Sie sie in die Folienverpackung zurück und lagern Sie sie bis zum Gebrauch im Kühlschrank.

Sehen Sie mindestens 1 Streifen für die QFT-Plus-Standards und eine ausreichende Anzahl von Streifen für die zu testenden Probanden vor (siehe Abbildung 5). Bewahren Sie den Rahmen nach Gebrauch für die verbleibenden Streifen auf.

3. Rekonstituieren Sie den IFN- γ -Standard mit der auf dem Etikett des Fläschchens angegebenen Menge an entionisiertem oder destilliertem Wasser. Mischen Sie vorsichtig, um die Schaumbildung zu minimieren, und vergewissern Sie sich, dass der Inhalt vollständig aufgelöst wurde. Durch Rekonstitution des Standards auf das angegebene Volumen wird eine Lösung mit einer Konzentration von 8,0 IU/ml erhalten.

Wichtiger Hinweis: Das Rekonstitutionsvolumen für Kit-Standard variiert von Charge zu Charge.

Stellen Sie von dem rekonstituierten Kit-Standard zunächst eine Verdünnung von 1:2 her; gefolgt von einer 1:4-Verdünnungsreihe von IFN- γ in grüner Verdünnungslösung (GV; siehe Abbildung 4). S1 (Standard 1) enthält 4,0 IU/ml, S2 (Standard 2) enthält 1,0 IU/ml, S3 (Standard 3) enthält 0,25 IU/ml und S4 (Standard 4) enthält 0 IU/ml (nur GV). Die Standards sind mindestens in Doppelbestimmungen zu prüfen. Stellen Sie die Verdünnungen des Kit-Standards für jeden ELISA-Durchgang frisch her.

Empfohlene Vorgehensweise zum Testen der Standards in Doppelbestimmungen
4 Röhrchen mit „S1“, „S2“, „S3“ bzw. „S4“ beschriften.
150 μ l GV zu S1, S2, S3 und S4 zugeben.
150 μ l Kit-Standard zu S1 zugeben und gründlich mischen.
50 μ l von S1 nach S2 überführen und gründlich mischen.
50 μ l von S2 nach S3 überführen und gründlich mischen.
Nur GV dient als Nullstandard (S4).

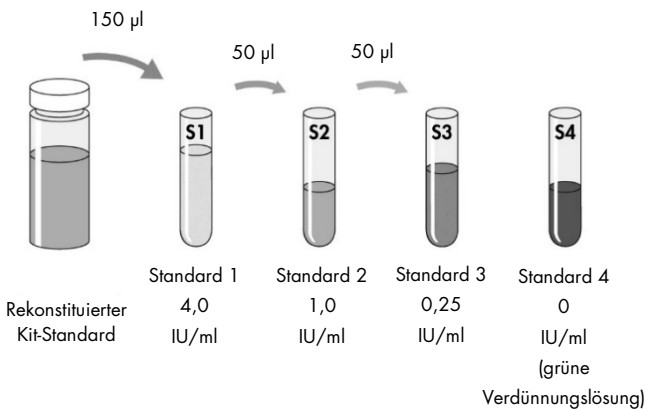


Abbildung 4. Erstellung der Standardkurve.

4. Rekonstituieren Sie das lyophilisierte 100x Konjugatkonzentrat in 0,3 ml entionisiertem oder destilliertem Wasser. Mischen Sie vorsichtig, um die Schaumbildung zu minimieren, und vergewissern Sie sich, dass das Konjugat vollständig aufgelöst wurde.

Das gebrauchsfertig verdünnte Konjugat wird hergestellt, indem Sie die erforderliche Menge des 100x Konjugatkonzentrats in grüner Verdünnungslösung verdünnen (Tabelle 1. Vorbereitung des Konjugats). Nicht verbrauchtes 100x Konjugatkonzentrat muss sofort nach Gebrauch wieder bei 2 bis 8 °C gelagert werden. Es darf nur grüne Verdünnungslösung verwendet werden.

Tabelle 1. Vorbereitung des Konjugats

Anzahl Streifen	Volumen 100x Konjugatkonzentrat	Volumen grüne Verdünnungslösung
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. Plasmaproben, die aus Blutentnahmeröhrchen gewonnen und anschließend (im Kühlschrank oder gefroren) gelagert wurden, müssen vor der Zugabe zum ELISA-Well gründlich gemischt werden.

Wichtiger Hinweis: Wenn die Plasmaproben direkt aus den zentrifugierten QFT-Plus-Röhrchen zugegeben werden sollen, ist von einem Mischen des Plasmas abzusehen. Achten Sie stets darauf, das Material an der Geloberfläche nicht zu verwirbeln.

6. Geben Sie mit Hilfe einer Mehrkanalpipette je 50 µl des frisch angesetzten gebrauchsfertig verdünnten Konjugats in alle benötigten ELISA-Wells.

7. Geben Sie mit Hilfe einer Mehrkanalpipette je 50 µl der zu testenden Plasmaproben in die entsprechenden Wells (siehe empfohlenes Plattenlayout in Abbildung 5). Geben Sie schließlich je 50 µl der Standards 1 bis 4 zu.

	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 TB2	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

Abbildung 5. Empfohlenes Probenlayout (22 Tests pro Platte)

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

1 N (Probe 1. Nil-Plasma), 1 TB1 (Probe 1. TB1-Plasma), 1 TB2 (Probe 1. TB2-Plasma), 1 M (Probe 1. Mitogen-Plasma)

8. Decken Sie die Platten einzeln ab und mischen Sie Konjugat und Plasmaproben/Standards 1 Minute lang gründlich auf einem Schüttler für Mikrotiterplatten. Ein Verspritzen muss vermieden werden.
9. Decken Sie die Platten einzeln ab und inkubieren Sie sie 120 ± 5 Minuten lang bei Raumtemperatur (22 ± 5 °C).
- Die Platten dürfen während der Inkubation keinem direkten Sonnenlicht ausgesetzt werden.
10. Verdünnen Sie während der Inkubationszeit einen Teil 20x Waschpufferkonzentrat mit 19 Teilen entionisiertem oder destilliertem Wasser und mischen Sie gründlich. Im Lieferumfang ist ausreichend 20x Waschpufferkonzentrat zur Herstellung von 2 Litern gebrauchsfertig verdünntem Waschpuffer vorhanden.
- Waschen Sie die Wells mindestens 6-mal mit je 400 µl gebrauchsfertig verdünntem Waschpuffer. Wir empfehlen die Verwendung eines Waschautomaten für Mikrotiterplatten.

Sorgfältiges Waschen ist für die Leistung des Assays sehr wichtig. Achten Sie bei jedem Waschzyklus darauf, dass alle Wells vollständig bis oben mit Waschpuffer gefüllt sind. Es empfiehlt sich, den Waschpuffer bei jedem Zyklus mindestens 5 Sekunden einwirken zu lassen.

In den Auffangbehälter für Abfallflüssigkeit sollte ein laborübliches Desinfektionsmittel gegeben werden. Befolgen Sie zudem die in Ihrem Labor geltenden Anweisungen zur Dekontamination potenziell infektiösen Materials.

11. Klopfen Sie die Platten umgekehrt auf einem saugfähigen, fusselfreien Papierhandtuch aus, um noch vorhandenen Waschpuffer zu entfernen. Geben Sie 100 µl der Enzymsubstratlösung in jedes Well, decken Sie die Platten ab und mischen Sie gründlich auf einem Schüttler für Mikrotiterplatten.

12. Decken Sie die Platten einzeln ab und inkubieren Sie sie 30 Minuten lang bei Raumtemperatur (22 ± 5 °C).

Die Platten dürfen während der Inkubation keinem direkten Sonnenlicht ausgesetzt werden.

13. Geben Sie nach der 30-minütigen Inkubation 50 µl Enzymstopplösung in jedes Well und mischen Sie anschließend.

Die Enzymstopplösung sollte in der gleichen Reihenfolge und etwa im gleichen Tempo in die Wells gegeben werden wie das Substrat in Schritt 11.

14. Messen Sie innerhalb von 5 Minuten nach Stoppen der Reaktion die optische Dichte (OD) jedes Wells mit einem Mikrotiterplatten-Reader unter Verwendung eines 450-nm-Filters und eines Referenzfilters zwischen 620 und 650 nm. Die OD-Werte werden für die Berechnung der Ergebnisse benötigt.

Berechnungen und Auswertung des Tests

Zur Analyse der Rohdaten und der Berechnung von Ergebnissen kann die QFT-Plus Analysis Software verwendet werden. Sie ist verfügbar unter www.QuantiFERON.com. Bitte achten Sie darauf, die aktuellste Version der QFT-Plus Analysis Software zu verwenden.

Die Software führt eine Qualitätskontrolle des Assays durch, erstellt eine Standardkurve und liefert für jeden Patienten ein Testergebnis nach der im Abschnitt „Interpretation der Ergebnisse“ beschriebenen Methode.

Alternativ zur Verwendung der QFT-Plus Analysis Software können die Ergebnisse auch wie folgt bestimmt werden.

Erstellung der Standardkurve

(ohne QFT-Plus Analysis Software)

Ermitteln Sie für jede Platte die OD-Mittelwerte der Bestimmungen des Kit-Standards.

Erstellen Sie eine $\log_{(e)}$ - $\log_{(e)}$ -Standardkurve durch Auftragen des $\log_{(e)}$ des OD-Mittelwerts (y-Achse) gegen den $\log_{(e)}$ der IFN- γ -Konzentration der Standards in IU/ml (x-Achse). Der Nullstandard wird bei diesen Berechnungen nicht berücksichtigt. Berechnen Sie dann die Regressionsgerade für diese Punkte.

Ermitteln Sie anhand der Standardkurve die IFN- γ -Konzentration (IU/ml) der getesteten Plasmaproben. Legen Sie dabei den OD-Wert jeder Probe zugrunde.

Für diese Berechnungen können Softwarepakete für Mikrotiterplatten-Reader verwendet werden oder gängige Tabellenkalkulations- und Statistikprogramme (wie beispielsweise Microsoft® Excel®). Wir empfehlen die Verwendung solcher Softwarepakete zur Durchführung der Regressionsanalyse und zur Berechnung des Variationskoeffizienten (% VK) der Standards sowie des Korrelationskoeffizienten (r) der Standardkurve.

Qualitätskontrolle des Tests

Die Genauigkeit der Testergebnisse hängt von der Erstellung einer korrekten Standardkurve ab. Daher müssen die Ergebnisse der Standards vor Auswertung der Testergebnisse geprüft werden.

Der ELISA liefert gültige Ergebnisse, wenn alle nachstehenden Kriterien erfüllt sind:

- Der OD-Mittelwert von Standard 1 muss $\geq 0,600$ betragen.
- Der prozentuale Variationskoeffizient (% VK) der OD-Werte muss für die Bestimmungen von Standard 1 und Standard 2 $\leq 15 \%$ sein.
- Die OD-Werte für die Bestimmungen von Standard 3 und Standard 4 dürfen höchstens um 0,040 OD-Einheiten vom jeweiligen Mittelwert abweichen.
- Der aus den mittleren Absorptionswerten der Standards berechnete Korrelationskoeffizient (r) muss $\geq 0,98$ sein.

Die Berechnung und Angabe dieser Qualitätskontrollparameter wird mit der QFT-Plus Analysis Software durchgeführt.

Werden diese Kriterien nicht erfüllt, ist der Test ungültig und muss wiederholt werden.

Der OD-Mittelwert des Nullstandards (grüne Verdünnungslösung) sollte $\leq 0,150$ sein. Ist der OD-Mittelwert $> 0,150$, sollte das Verfahren zum Waschen der Platten überprüft werden.

Interpretation der Ergebnisse

Die Ergebnisse des QFT-Plus-Tests werden gemäß den folgenden Kriterien interpretiert (Tabelle 2):

Wichtiger Hinweis: Um eine Tuberkulose diagnostizieren oder ausschließen und die Wahrscheinlichkeit einer LTBI einschätzen zu können, ist eine Kombination aus epidemiologischen, anamnesebezogenen, medizinischen und diagnostischen Ergebnissen erforderlich. Diese sollten bei der Interpretation der QFT-Plus-Ergebnisse berücksichtigt werden.

Tabelle 2. Interpretation der QFT-Plus Ergebnisse

Nil (IU/ml)	TB1 minus Nil (IU/ml)	TB2 minus Nil (IU/ml)	Mitogen minus Nil (IU/ml)*	QFT-Plus Testergebnis	Bericht/Interpretation
≤ 8,0	≥ 0,35 und ≥ 25 % des Nil-Werts	Beliebig	Beliebig	Positiv†	Infektion mit <i>M. tuberculosis</i> wahrscheinlich
	Beliebig	≥ 0,35 und ≥ 25 % des Nil-Werts	Beliebig	Negativ	Infektion mit <i>M. tuberculosis</i> NICHT wahrscheinlich
	< 0,35 oder ≥ 0,35 und < 25 % des Nil-Werts	< 0,35 oder ≥ 0,35 und < 25 % des Nil-Werts	≥ 0,5	Unbestimmt‡	Wahrscheinlichkeit einer Infektion mit <i>M. tuberculosis</i> kann nicht ermittelt werden
< 0,35 oder ≥ 0,35 und < 25 % des Nil-Werts	< 0,35 oder ≥ 0,35 und < 25 % des Nil-Werts	< 0,5			
> 8,0§		Beliebig		Unbestimmt‡	Wahrscheinlichkeit einer Infektion mit <i>M. tuberculosis</i> kann nicht ermittelt werden

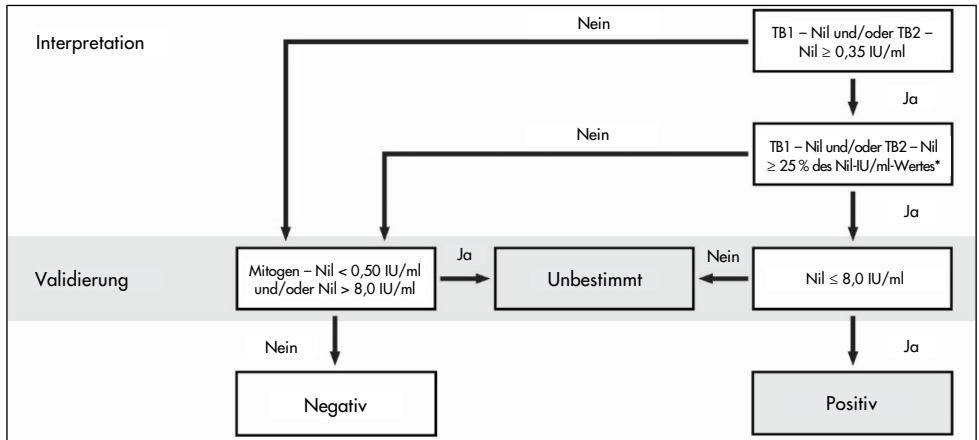
* Die Ergebnisse der Mitogen-Positivkontrolle (und gelegentlich auch die der TB-Antigene) können außerhalb des Messbereichs des Mikrotiterplatten-Readers liegen. Die Testergebnisse werden dadurch nicht beeinträchtigt. Werte > 10 ml werden von der QFT-Plus Software als > 10 IU/ml ausgegeben.

† Wenn eine Infektion mit *M. tuberculosis* nicht vermutet wird, können anfänglich positive Ergebnisse durch eine Testwiederholung der ursprünglichen Plasmaproben in Doppelbestimmung mit dem QFT-Plus ELISA bestätigt werden. Ergibt auch die Testwiederholung für eines oder beide Replikate ein positives Ergebnis, so ist der Test für den Probanden als positiv einzustufen.

‡ Mögliche Ursachen finden Sie im Abschnitt „Fehlerbehebung“.

§ In klinischen Studien ergab sich bei weniger als 0,25 % der Probanden ein IFN- γ -Spiegel > 8,0 IU/ml für den Nil-Wert.

Von der Größenordnung des gemessenen IFN- γ -Spiegels kann nicht auf Stadium oder Schweregrad der Infektion, Intensität der Immunreaktion oder die Wahrscheinlichkeit der Progredienz zur aktiven Erkrankung geschlossen werden. Eine positive TB-Reaktion bei Personen, die eine negative Mitogen-Reaktion zeigen, ist selten, bei Tuberkulosepatienten aber bereits aufgetreten. Ein solches Verhalten deutet darauf hin, dass die IFN- γ -Antwort auf das TB-Antigen stärker ausfällt als die auf Mitogen, was durchaus möglich ist, da Mitogen die IFN- γ -Produktion durch Lymphozyten nicht maximal stimuliert.



* Damit die Werte für TB1 minus Nil oder TB2 minus Nil gültig sind, muss der Wert $\geq 25\%$ des Nil-IU/ml-Wertes mit dem gleichen Röhrchen ermittelt worden sein wie das ursprüngliche Ergebnis von $\geq 0,35$ IU/ml.

Abbildung 6. Flussdiagramm zur Interpretation der QFT-Plus Ergebnisse

Anwendungseinschränkungen

Die Ergebnisse des QFT-Plus-Tests müssen im Zusammenhang mit der epidemiologischen Anamnese jeder einzelnen Person, ihrem derzeitigen Gesundheitszustand und sonstigen diagnostischen Untersuchungen bewertet werden.

Personen mit Nil-Werten über 8,0 IU/ml werden als „unbestimmt“ eingestuft, da eine um 25 % erhöhte Reaktion auf die TB-Antigene sich außerhalb des Messbereichs des Assays befinden könnte.

Unzuverlässige oder unbestimmte Ergebnisse können folgende Ursachen haben:

- Abweichungen von den in der Packungsbeilage beschriebenen Verfahren
- Überhöhte Spiegel von zirkulierendem IFN- γ oder Gegenwart heterophiler Antikörper
- Mehr als 16 Stunden zwischen Abnahme des Blutspezimens und Inkubation bei 37 °C. Diese Ursache entfällt bei dem Workflow mit Lithiumheparin- oder Natriumheparin-Röhrchen und 2–8 °C.

Leistungsmerkmale

Klinische Studien

Da kein definitiver Standardtest für LTBI existiert, ist eine Bestimmung der Sensitivität und Spezifität des QFT-Plus-Tests nicht möglich. Die Spezifität des QFT-Plus-Tests wurde näherungsweise durch Auswertung der Falsch-positiv-Rate bei Personen mit geringem Risiko (oder keinen bekannten Risikofaktoren) für eine Tuberkuloseinfektion ermittelt. Die Sensitivität wurde angenähert durch Auswertung von Patientengruppen mit durch Kultur bestätigter aktiver TB.

Spezifität

Zur Bewertung der QFT-Plus-Spezifität wurde eine Studie mit 409 Probanden durchgeführt. Demographische Daten und Risikofaktoren für eine TB-Exposition wurden zum Testzeitpunkt anhand eines standardisierten Fragebogens erhoben.

In einer Zusammenfassung der Ergebnisse aus den 2 Patientengruppen mit geringem Risiko (keine bekannten Risikofaktoren) für eine Tuberkuloseinfektion ergab sich eine Gesamtspezifität des QFT-Plus-Tests von 97,6 % (399/409) (Tabelle 3 und Tabelle 4).

Tabelle 3. Spezifitätsergebnisse für QFT-Plus nach Studienzentrum

Studie	Positiv	Negativ	Unbestimmt	Spezifität (95%-KI)
Japan	4	203	0	98 % (95–100 %)
Australien	6	196	0	97 % (94–99 %)

Tabelle 4. Spezifitätsergebnisse für QFT-Plus nach TB-Antigen-Röhrchen

Studie	TB1	TB2	QFT-Plus
Positiv	5	10	10
Negativ	404	399	399
Unbestimmt	0	0	0
Spezifität (95%-KI)	98,8 % (97,2–99,6)	97,6 % (95,6–98,8)	97,6 % (95,6–98,8)

Sensitivität für aktive TB

Ein definitiver Standardtest auf LTBI existiert zwar nicht, jedoch stellt die mikrobiologische Kultur von *M. tuberculosis* einen geeigneten Ersatz dar, da an der Krankheit leidende Patienten per definitionem infiziert sind. Probanden mit Verdacht auf TB aus 4 Studienzentren in Australien und Japan, bei welchen später durch Kultur eine Infektion mit *M. tuberculosis* bestätigt wurde, wurden getestet, um die Sensitivität des QFT-Plus zu bewerten (Tabelle 5 und Tabelle 6). Die Patienten waren vor der Blutentnahme für den QFT-Plus-Test weniger als 14 Tage medikamentös behandelt worden.

Zusammenfassend ergab sich für die 4 Gruppen von gemäß Kultur *M. tuberculosis*-positiven Patienten eine Sensitivität des QFT-Plus für aktive TB von 95,3 % (164/172). In den 4 Gruppen wurden bei 159 Patienten positive Ergebnisse für TB1- und TB2-Röhrchen ermittelt, bei 1 Patienten war nur TB1 positiv und bei 4 Patienten nur TB2. Insgesamt 1,1 % (2/174) der Ergebnisse waren unbestimmt. Durch das TB2-Ergebnis wurde 1 durch Kultur bestätigter Patient korrekt identifiziert, der anhand des TB1-Ergebnisses allein als unbestimmt (niedriger Mitogen-Wert) eingestuft worden wäre (siehe Tabelle 5 und Tabelle 6).

Tabelle 5. Sensitivitätsergebnisse für QFT-Plus nach Studienzentrum

Studienzentren	Positiv	Negativ	Unbestimmt	QFT-Plus Sensitivität* (95%-KI)
Standort Japan 1	36	7	0	84 % (69–93)
Standort Japan 2	53	1	2	98% (90–100)
Standort Japan 3	54	0	0	100 % (93–100)
Standort Australien	21	0	0	100 % (84–100)

* Die Sensitivität basiert auf der Gesamtzahl gültiger Tests, ausgenommen unbestimmte Ergebnisse.

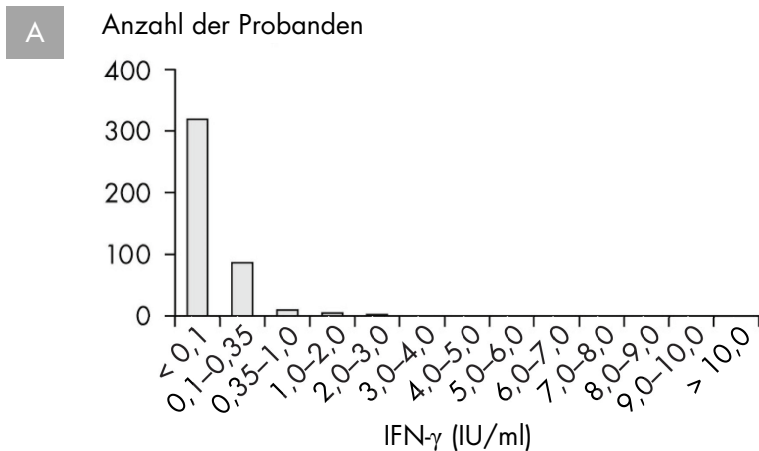
Tabelle 6. Sensitivitätsergebnisse für QFT-Plus nach TB-Antigen-Röhrchen

	TB1	TB2	QFT-Plus
Positiv	160	163	164
Negativ	11	9	8
Unbestimmt	3	2	2
Sensitivität† (95%-KI)	93,6 % (88,8–96,7)	94,8% (90,3-97,6)	95,3% (90,9-97,9)

* Die Sensitivität basiert auf der Gesamtzahl gültiger Tests, ausgenommen unbestimmte Ergebnisse.

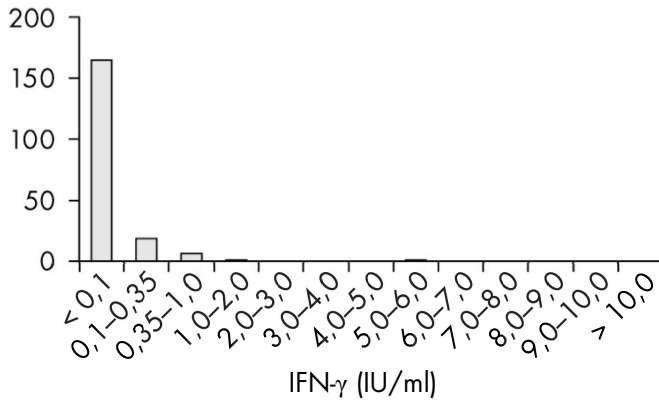
Beobachtete Reaktionsverteilungen – risikostatifiziert

In klinischen Studien wurden verschiedene IFN- γ -Reaktionen auf TB1-, TB2- und Kontrollröhrchen beobachtet und nach Risiko einer *M. tuberculosis*-Infektion stratifiziert (Abbildungen 7–9). Die Gruppe mit uneinheitlichem Risiko setzt sich aus Probanden zusammen, die eine allgemeine Testpopulation repräsentieren, einschließlich Probanden mit und ohne Risikofaktoren für eine TB-Exposition und solcher, bei denen eine aktive TB unwahrscheinlich ist (d. h. LTBI).



B

Anzahl der Probanden

**C**

Anzahl der Probanden

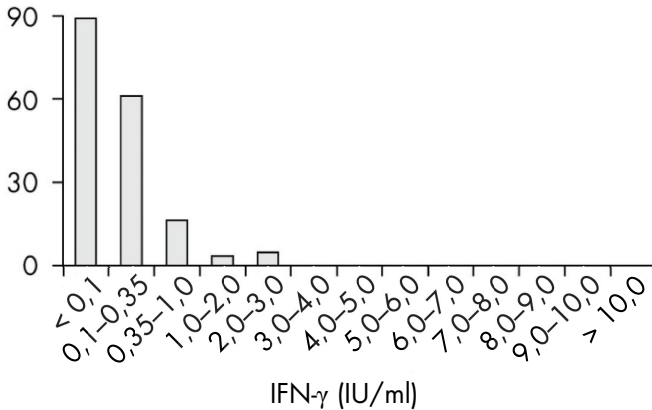


Abbildung 7. Verteilung der Nil-Kontrolle. **A.** Verteilung der Nil-Werte in einer Population mit geringem Risiko (n = 409). **B.** Verteilung der Nil-Werte in einer Population mit uneinheitlichem Risiko (n = 194). **C.** Verteilung der Nil-Werte in einer Population mit durch Kultur bestätigter *M. tuberculosis*-Infektion (n = 174).

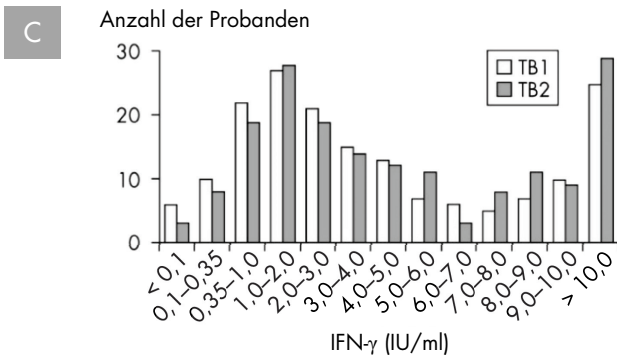
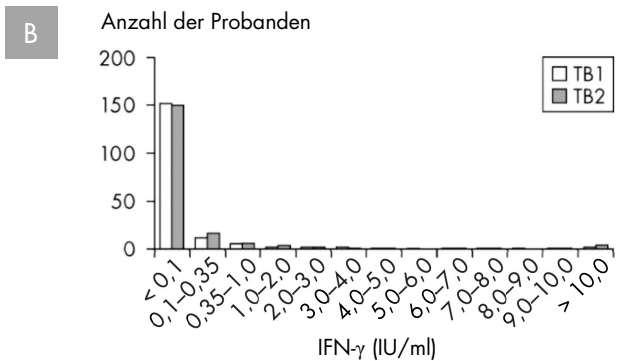
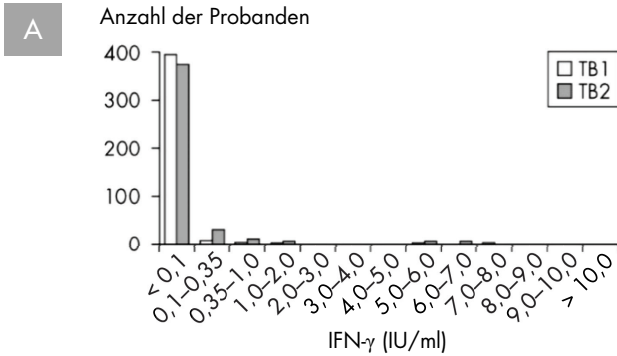


Abbildung 8. Verteilung von TB1 und TB2 (Nil subtrahiert). **A.** Verteilung der TB1- und TB2-Werte (Nil subtrahiert) in einer Population mit geringem Risiko (n = 409). **B.** Verteilung der TB1- und TB2-Werte (Nil subtrahiert) in einer Population mit uneinheitlichem Risiko (n = 194). **C.** Verteilung der TB1- und TB2-Werte (Nil subtrahiert) in einer Population mit durch Kultur bestätigter *M. tuberculosis*-Infektion (n = 174).

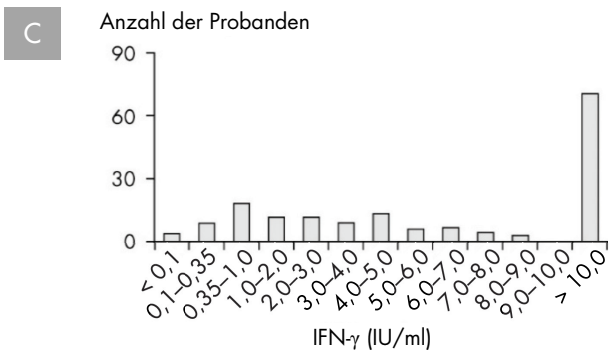
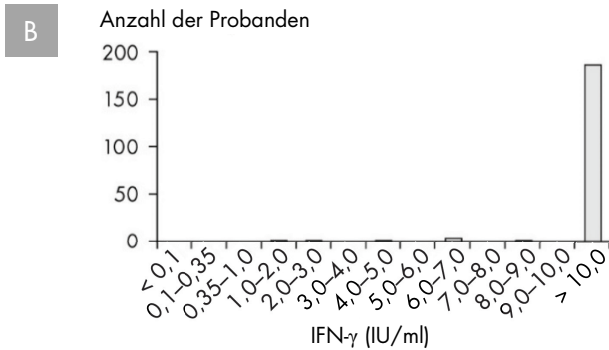
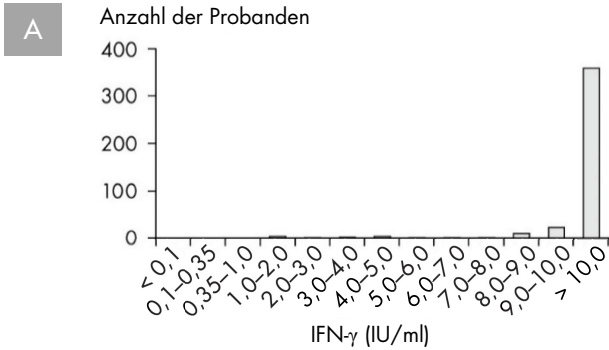


Abbildung 9. Verteilung von Mitogen (Nil subtrahiert). **A.** Verteilung der Mitogen-Werte (Nil subtrahiert) in einer Population mit geringem Risiko (n = 409). **B.** Verteilung der Mitogen-Werte (Nil subtrahiert) in einer Population mit uneinheitlichem Risiko (n = 194). **C.** Verteilung der Mitogen-Werte (Nil subtrahiert) in einer Population mit durch Kultur bestätigter *M. tuberculosis*-Infektion (n = 169).

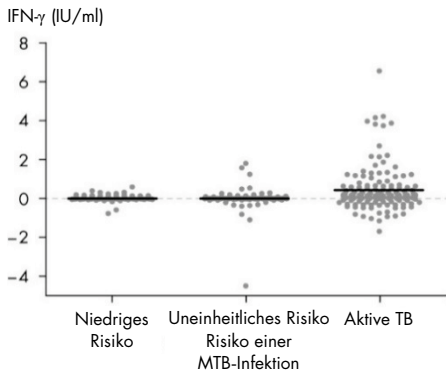


Abbildung 10. Unterschied, der bei Risikostratifizierung zwischen TB1- und TB2-Werten (Nil subtrahiert) festgestellt wurde. Population mit geringem Risiko (n = 409), Population mit uneinheitlichem Risiko (n = 189) und Population mit durch Kultur bestätigter *M. tuberculosis*-Infektion (n = 141). Die TB1-Werte wurden von den TB2-Werten subtrahiert. Probanden mit Werten für TB1 oder TB2 > 10,0 IU/ml wurden ausgeschlossen, da diese Werte außerhalb des linearen Assaybereichs liegen.

Assay-Leistungsmerkmale

Die Linearität des QFT-Plus wurde nachgewiesen. Hierzu wurden 11 Plasmapools mit bekannten IFN- γ -Konzentrationen jeweils in Fünffachbestimmungen in zufälliger Anordnung auf der ELISA-Platte untersucht. Die Regressionsgerade hat eine Steigung von $1,002 \pm 0,011$ und einen Korrelationskoeffizienten von 0,99 (Abbildung 11).

Die Nachweisgrenze des QFT-Plus ELISA beträgt 0,065 IU/ml und es liegen keine Hinweise auf einen High-Dose-Hook-Effekt (Prozoneneffekt) bei IFN- γ -Konzentrationen bis zu 10.000 IU/ml vor.

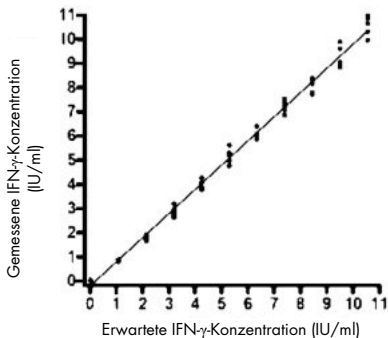


Abbildung 11. Linearitätsprofil des QFT-Plus ELISA

Intra- und Inter-Assay-Unpräzision (% VK) für den QFT-Plus ELISA wurden bestimmt, indem 20 Plasmaproben mit verschiedenen IFN- γ -Konzentrationen in Dreifachbestimmungen, in 3 verschiedenen Laboren, an 3 nicht aufeinander folgenden Tagen und durch 3 verschiedene Bediener getestet wurden. Jede Probe wurde also 27-mal in 9 unabhängigen Assayläufen getestet. Eine Probe war die Nil-Kontrolle; ihre IFN- γ -Konzentration wurde mit 0,08 IU/ml (95%-KI: 0,07–0,09) bestimmt. Die übrigen 19 Plasmaproben bewegten sich in einem Konzentrationsbereich von 0,33 (95%-KI: 0,31–0,34) bis 7,7 IU/ml (95%-KI: 7,48–7,92).

Die Unpräzision innerhalb der Serie bzw. Intraassay-Unpräzision wurde bestimmt, indem die prozentualen Variationskoeffizienten (% VK) der IFN- γ -haltigen Plasmaproben von den einzelnen Plattenläufen ($n = 9$) gemittelt wurden. Die Unpräzision rangierte zwischen 4,1 und 9,1 % VK. Im Mittel betrug die Kovarianz (\pm 95%-KI) innerhalb der Serie $6,6 \pm 0,6$ %. Der Durchschnitt für Plasma ohne IFN- γ betrug 14,1 % VK.

Die Gesamtunpräzision bzw. Interassay-Unpräzision wurde bestimmt, indem die 27 berechneten IFN- γ -Konzentrationen für jede Plasmaprobe miteinander verglichen wurden. Die Interassay-Unpräzision lag zwischen 6,6 und 12,3 % VK. Der prozentuale Variationskoeffizient % VK (\pm 95%-KI) betrug im Mittel $8,7 \pm 0,7$ %. Für die Plasmaprobe ohne IFN- γ ergab sich ein Wert von 26,1 % VK. Diese Größenordnung ist zu erwarten, da die berechnete IFN- γ -Konzentration niedrig ist und die Variation um einen niedrigen Konzentrationswert stärker ist als bei höheren Konzentrationen.

Um die Reproduzierbarkeit des QFT-Plus Tests zu bestimmen, wurden Blutproben von 102 Probanden mit uneinheitlichen Risikofaktoren für eine *M. tuberculosis*-Infektion untersucht. Drei verschiedene Anwender und Laborbedingungen wurden geprüft.

Für jeden Probanden wurden 3 diagnostische Bestimmungen durchgeführt, für alle Probanden insgesamt 306. Die diagnostische Reproduzierbarkeit betrug insgesamt 99 % (95%-KI: 97,2–99,7) mit einem übereinstimmenden Diagnoseergebnis in 303 von 306 Bestimmungen. Die gesamte Variation ist auf die Ergebnisse von 3 Probanden zurückzuführen, die nahe des Cut-off-Werts lagen.

Diagnose einer LTBI

Die Leistungsfähigkeit des QFT-Tests, des Vorläufers von QFT-Plus, in verschiedenen Populationen mit einem MTB-Infektionsrisiko wird in mehreren publizierten Studien demonstriert. Die wesentlichen Erkenntnisse einiger ausgewählter Studien sind in Tabelle 7 zusammengefasst.

Tabelle 7. Ausgewählte publizierte Studien zu QFT

Population/Zustand	Resultate und Erkenntnisse	Gesamtzahl publizierter Studien
Pädiatrie	Erwiesene Leistung bei Kindern, einschließlich Kindern unter 5 Jahren (45–46), mit höherer Genauigkeit als der ELISpot-basierte IGRA (8). Die bisher größte Vergleichsstudie für QFT und THT an Kindern aus Vietnam, den Philippinen und Mexiko stützt die bevorzugte Verwendung des QFT gegenüber dem THT für das Testen im Ausland geborener Kinder auf LTBI (46). Eine limitierte Kontaktstudie ergab bei Kindern einen besseren Vorhersagewert für QFT im Vergleich zum THT (47) und ein 8-mal höheres Risiko der Progression zur TB innerhalb von zwei Jahren unter den Probanden, bei denen der QFT-Test eine Konversion ergab, verglichen mit jenen, bei denen dies nicht geschah (48). In mit BCG geimpften Kindern wurde eine hohe Nichtübereinstimmung mit negativem QFT- aber positivem THT-Test gefunden (46, 49), aber es ergab sich kein Einfluss auf die Mitogen-Antwort bei Kindern unter 5 Jahren (49) und nur ein geringer Anteil unbestimmter Ergebnisse bei Routine-Screenings unter Immigrantenkindern (46).	152
Schwangerschaft	In einem Umfeld mit geringer Belastung ist die Leistung des QFT in allen Trimestern einer Schwangerschaft gleich gut und die Ergebnisse sind vergleichbar mit denen nichtschwangerer Frauen. Außerdem ist der Test wesentlich spezifischer, mindestens genauso empfindlich und möglicherweise ein besserer Indikator für die Krankheitsprogression als der THT (50). In einem Umfeld mit hoher Belastung zeigte sich der QFT in allen Phasen einer Schwangerschaft stabil und konnte die Hintergrundprävalenz für LTBI genauer annähern als der THT, obgleich die Autoren zu dem Ergebnis kamen, dass eine Schwangerschaft sowohl QFT als auch THT beeinflusst (51).	6

Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite

Tabelle 7. Ausgewählte publizierte Studien zu QFT (Fortsetzung)

Population/Zustand	Resultate und Erkenntnisse	Gesamtzahl publizierter Studien
HIV/AIDS	Sowohl IGRAs (Interferon-Gamma-Release-Assays) als auch THT werden durch eine HIV-Infektion beeinflusst und die Beweislage legt nahe, dass Ergebnisse bei CD4+ Zahlen < 200 mit Vorsicht zu interpretieren sind (52). Für QFT wurde gezeigt, dass dieser Test weniger stark beeinflusst wird als der ELISpot-basierte IGRA und der THT (53–55). Dass für die Durchführung von IGRAs nur ein einziger Besuch erforderlich ist, stellt einen Vorteil gegenüber dem THT dar, da bei diesem nur wenige Probanden für den erforderlichen Zweitermin erschienen waren (53).	101
Immunsuppressive Therapien	QFT wird weniger stark durch immunsuppressive Therapien beeinflusst als der THT und korreliert besser mit TB-Risikofaktoren (23, 27). Der QFT weist in Patienten mit rheumatischen Erkrankungen eine höhere Sensitivität (23, 56, 57) und eine höhere Spezifität auf als der THT, wodurch falsch positive Ergebnisse minimiert und die Anzahl unnötiger Behandlungen, die auf der Grundlage von THT-Ergebnissen erfolgt wären, reduziert werden (23, 57, 58).	112
Medizinische Fachkräfte	Verglichen mit dem THT erwiesenermaßen spezifischer mit weniger falsch positiven Ergebnissen und höherer Kosteneffizienz (59–62). Die Variabilität im Bereich des Schwellenwerts ist in seriellen Untersuchungen aufgrund des zwiespältigen Cut-off-Werts und der inhärenten Variabilität biologischer Tests ein zu erwartendes Ergebnis (63). Studien haben verglichen mit dem THT in seriellen Untersuchungen höhere Konversions-/Reversionsraten bei medizinischen Fachkräften mit geringem Risiko ergeben (64, 65). Das US-amerikanische CDC erkennt an, dass das milde Kriterium, das eine IGRA-Konversion definiert, zu höheren Konversionsraten führen kann, als sie bei den strengeren quantitativen Kriterien des THT auftreten. Mithilfe von strategisch angelegten Wiederholungstests kann das Phänomen der Konversion/Reversion aber effektiv bewältigt werden (65–68).	111
TB-Kontaktpersonen	Höherer PPV und NPV als der THT (47); Komfort eines einzigen Besuchs für jene, deren erneutes Erscheinen unwahrscheinlich ist (63), bessere Korrelation mit der Exposition (69), besonders auffällig bei mit BCG geimpften Personen und Populationen aus Ländern, in denen die BCG-Impfung praktiziert wird (70, 71).	89
Transplantation	Ist erwiesenermaßen mindestens genauso effektiv wie der THT, wird aber im Vergleich mit diesem weniger stark durch Organerkrankungen im Endstadium beeinflusst (22).	23

Fortsetzung der Tabelle auf der nächsten Seite

Tabelle 7. Ausgewählte publizierte Studien zu QFT (Fortsetzung)

Population/Zustand	Resultate und Erkenntnisse	Gesamtzahl publizierter Studien
Diabetes	Widersprüchliche Ergebnisse aus einer geringen Anzahl Publikationen mit begrenzter Probandenzahl. Eine Studie aus einem Gebiet mit geringer Belastung ergab, dass die Sensitivität des QFT-Tests bei TB-Patienten nicht durch Diabetes beeinflusst wird (72). Eine Studie aus Tansania, einer Umgebung mit hoher Belastung, lieferte zwar Hinweise auf einen negativen Einfluss von Diabetes auf die Produktion von IFN- γ , berücksichtigte aber nicht Störfaktoren wie HIV und Helmintheninfektionen (73). In vietnamesischen Studien mit 838 Diabetikern (nach eigenen Angaben), bei denen aufgrund anormaler Thorax-Röntgenaufnahmen eine TB vermutet oder durch Kultur eine aktive TB bestätigt wurde (n = 128), war die QFT-Positivitätsrate vergleichbar mit den oder größer als die THT-Cutpoints von 10 und 15 mm (74).	9
Nierenerkrankung im Endstadium	Positive QFT-Ergebnisse korrelieren besser mit Risikofaktoren für TB als beim THT, und sie sind weniger stark mit BCG assoziiert (75).	45
Immigranten	Studien demonstrieren, dass der QFT-Test anders als der THT nicht durch BCG und Alter beeinflusst wird (74). Es wurde auch gezeigt, dass QFT die kostengünstigste Methode darstellt (76). In Umgebungen mit geringem Risiko treten die meisten TB-Erkrankungen bei im Ausland Geborenen oder in Form der Reaktivierung einer latenten TB nach Ankunft auf (77). Die bisher größte Vergleichsstudie für QFT und THT an Immigrantenkindern gibt QFT den Vorzug gegenüber THT beim Testen im Ausland geborener Kinder auf latente TB-Infektionen (46).	29

Technische Informationen

Unbestimmte Ergebnisse

Unbestimmte Ergebnisse sind selten und können auf den Immunstatus des untersuchten Probanden zurückzuführen sein; sie können aber auch mit verschiedenen technischen Faktoren zusammenhängen, wenn die oben angegebenen Gebrauchsanweisungen nicht befolgt werden.

Falls technische Probleme bei der Lagerung der Reagenzien, der Blutentnahme oder der Handhabung der Blutproben vermutet werden, muss der gesamte QFT-Plus-Test mit neuen Blutspezimina wiederholt werden. Falls ein unzureichendes Waschen oder andere Verfahrensabweichungen bei der Durchführung des ELISA-Tests vermutet werden, kann der ELISA-Test mit den stimulierten Plasmaproben wiederholt werden. Bei unbestimmten Testergebnissen aufgrund niedriger Mitogen- oder hoher Nil-Werte wird auch bei einer Wiederholung kein anderes Ergebnis erwartet, es sei denn, bei der Durchführung des ELISA-Tests trat ein Fehler auf. Unbestimmte Ergebnisse sind als solche anzugeben. Es steht dem untersuchenden Arzt frei, ein neues Blutspezimen abzunehmen oder andere als geeignet erachtete Verfahren anzuwenden.

Geronnene Plasmaproben

Wenn bei der Langzeitlegerung von Plasmaproben Fibringerinnsel auftreten, zentrifugieren Sie die Proben, damit sich das geronnene Material absetzt und das Plasma abpipettiert werden kann.

Hilfe zur Fehlerbehebung

In diesem Abschnitt zur Fehlerbehebung finden Sie hilfreiche Informationen zur Behebung möglicher Probleme. Weitere Informationen finden Sie auch in den technischen Informationen unter www.QuantiFERON.com. Kontaktinformationen finden Sie auf der Rückseite.

Fehlerbehebung beim ELISA

Nicht-spezifische Farbentwicklung

Mögliche Ursache	Lösung
a) Platte unzureichend gewaschen	Waschen Sie die Platte mindestens 6-mal mit 400 µl Waschpuffer pro Well. Je nach verwendetem Waschgerät können mehr als 6 Waschzyklen erforderlich sein. Der Waschpuffer muss in jedem Zyklus mindestens 5 Sekunden einwirken können.
b) Kreuzkontamination der ELISA-Well	Gehen Sie beim Pipettieren und Mischen von Proben mit Vorsicht vor, um das Risiko von Kreuzkontaminationen möglichst gering zu halten.
c) Kit/Komponenten abgelaufen	Vergewissern Sie sich, dass das Verfallsdatum des Kits nicht abgelaufen ist. Achten Sie darauf, dass Standard und 100x Konjugatkonzentrat nur innerhalb von drei Monaten nach der Rekonstitution verwendet werden.
d) Enzymsubstratlösung verunreinigt	Verwerfen Sie die Substratlösung, wenn sie blau gefärbt ist. Stellen Sie sicher, dass die verwendeten Reagenzbehälter sauber sind.
e) Mischen des Plasmas in den QFT-Plus-Röhrchen vor Abnahme des Plasmas	Vermeiden Sie nach der Zentrifugation unbedingt ein Auf- und Abpipettieren oder Mischen des Plasmas vor der Entnahme. Achten Sie stets darauf, das Material an der Geloberfläche nicht zu verwirbeln.

Niedrige OD-Messwerte für die Standards

Mögliche Ursache	Lösung
a) Fehler beim Verdünnen der Standards	Stellen Sie sicher, dass die Verdünnungen des Kit-Standards wie in dieser Packungsbeilage angegeben hergestellt werden.
b) Pipettierfehler	Stellen Sie sicher, dass die Pipetten gemäß den Herstellerempfehlungen kalibriert und verwendet werden.
c) Inkubationstemperatur zu niedrig	Die Inkubation des ELISA muss bei Raumtemperatur ($22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$) durchgeführt werden.
d) Inkubationszeit zu kurz	Die Inkubation der Platte mit Konjugat, Standards und Proben muss für 120 ± 5 Minuten erfolgen. Die Enzymsubstratlösung wird 30 Minuten lang auf der Platte inkubiert.

Fehlerbehebung beim ELISA

- | | |
|--|---|
| e) Falscher Filter im Platten-Reader verwendet | Die Platte muss bei 450 nm gemessen werden, mit einem Referenzfilter zwischen 620 und 650 nm. |
| f) Reagenzien zu kalt | Alle Reagenzien, mit Ausnahme des 100x Konjugatkonzentrats, müssen vor Durchführung des Assays auf Raumtemperatur gebracht werden. Dies dauert etwa eine Stunde. |
| g) Kit/Komponenten abgelaufen | Vergewissern Sie sich, dass das Verfallsdatum des Kits nicht abgelaufen ist. Achten Sie darauf, dass Standard und 100x Konjugatkonzentrat nur innerhalb von 3 Monaten nach der Rekonstitution verwendet werden. |

Hoher Hintergrund

- | Mögliche Ursache | Lösung |
|-------------------------------------|---|
| a) Platte unzureichend gewaschen | Waschen Sie die Platte mindestens 6-mal mit 400 µl Waschpuffer pro Well. Je nach verwendetem Waschgerät können mehr als 6 Waschzyklen erforderlich sein. Der Waschpuffer muss in jedem Zyklus mindestens 5 Sekunden einwirken können. |
| b) Inkubationstemperatur zu hoch | Die Inkubation des ELISA muss bei Raumtemperatur ($22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$) durchgeführt werden. |
| c) Kit/Komponenten abgelaufen | Vergewissern Sie sich, dass das Verfallsdatum des Kits nicht abgelaufen ist. Achten Sie darauf, dass Standard und 100x Konjugatkonzentrat nur innerhalb von 3 Monaten nach der Rekonstitution verwendet werden. |
| d) Enzymsubstratlösung kontaminiert | Verwerfen Sie die Substratlösung, wenn sie blau gefärbt ist. Stellen Sie sicher, dass die verwendeten Reagenzbehälter sauber sind. |

Nicht lineare Standardkurve und Variabilität bei Doppelbestimmungen

- | Mögliche Ursache | Lösung |
|---|---|
| a) Platte unzureichend gewaschen | Waschen Sie die Platte mindestens 6-mal mit 400 µl Waschpuffer pro Well. Je nach verwendetem Waschgerät können mehr als 6 Waschzyklen erforderlich sein. Der Waschpuffer muss in jedem Zyklus mindestens 5 Sekunden einwirken können. |
| b) Fehler beim Verdünnen der Standards | Stellen Sie sicher, dass die Verdünnungen des Standards wie in dieser Packungsbeilage angegeben hergestellt werden. |
| c) Unzureichendes Mischen | Mischen Sie die Reagenzien gründlich durch Überkopfdrehen oder vorsichtiges Mischen mit dem Vortex-Mischer, bevor sie zur Platte zugegeben werden. |
| d) Nicht einheitliche Pipettierung oder Unterbrechung bei der Assay-Konfiguration | Die Zugabe von Proben und Standards muss in einem kontinuierlichen Prozess erfolgen. Alle Reagenzien sollten vor Beginn des Assays vorbereitet werden. |

Produktinformationen und technische Anleitungen können kostenlos von QIAGEN oder Ihrem Händler angefordert oder unter www.QuantiFERON.com eingesehen werden.

Literatur

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- γ 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. 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- γ 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- γ 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- γ releasing assays is affected by BCG vaccination in HIV patients. *J. Infect.* 66, 376.
 56. Hsia, E.C. et al. (2012) Interferon- γ 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 α 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- γ 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- γ 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- γ 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- γ 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 γ 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
Accessed 22 March 2019.

Symbole

Verpackung und Etikettierung können die folgenden Symbole enthalten:

Symbol	Bedeutung des Symbols
 2×96	Ausreichend für 2×96 Proben
	Hersteller i. S. d. Gesetzes
	CE-Zeichen für IVD-Produkte
	In-vitro-Diagnostikum
	Chargennummer
	Katalognummer
	Global Trade Item Number
	Verfallsdatum
	Zulässiger Temperaturbereich
	Beachten Sie die Gebrauchsanweisung
	Nicht wiederverwenden
	Vor Sonneneinstrahlung schützen
	Materialnummer
Rn	R steht für Revision der Gebrauchsanweisung, n ist die Revisionsnummer

Kontakt

Um technische Hinweise und zusätzliche nützliche Informationen zu erhalten, haben Sie folgende Möglichkeiten: Telefonisch erreichen Sie uns unter 00800-22-44-6000, unser Technisches Support-Center ist unter www.qiagen.com/contact abrufbar, oder Sie wenden sich an das QIAGEN Team vom Technischen Service (Kontaktinformationen siehe hintere Umschlagseite oder unter www.qiagen.com).

Kurzanleitung zum Test

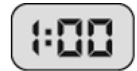
Stufe 1 – Inkubation der Blutproben

1. Blut des Patienten in Blutentnahmeröhrchen abnehmen und die Röhrchen dann zehnmal (10x) gerade so stark schütteln, dass die gesamte Innenwand des Röhrchens mit Blut bedeckt ist. Dadurch werden die Antigene an der Röhrchenwand aufgelöst.
2. Röhrchen senkrecht stellen und 16–24 Stunden lang bei $37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ inkubieren.
3. Die Röhrchen nach der Inkubation 15 Minuten lang bei 2000 bis $3000 \times \text{RZB (g)}$ zentrifugieren, um das Plasma von den Erythrozyten zu trennen.
4. Vermeiden Sie nach der Zentrifugation unbedingt ein Auf- und Abpipettieren oder Mischen des Plasmas vor der Entnahme. Achten Sie stets darauf, das Material an der Geloberfläche nicht zu verwirbeln.



Stufe 2 – IFN- γ -ELISA

1. Alle Komponenten des ELISA, mit Ausnahme des 100x Konjugatkonzentrats, mindestens 60 Minuten lang auf Raumtemperatur ($22 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$) äquilibrieren lassen.
2. Den Kit-Standard mit destilliertem oder deionisiertem Wasser auf 8,0 IU/ml rekonstituieren. Vier (4) Standardverdünnungen herstellen.
3. Das gefriergetrocknete 100x Konjugatkonzentrat mit entionisiertem oder destilliertem Wasser rekonstituieren.

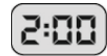


4. Gebrauchsfertig verdünntes Konjugat in grüner Verdünnungslösung herstellen und 50 µl in jedes Well geben.



5. 50 µl der zu testenden Plasmaproben und 50 µl der Standards in die entsprechenden Wells geben. Auf dem Schüttler mischen.

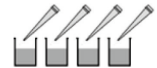
6. 120 ± 5 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.



7. Die Wells mindestens 6-mal mit 400 µl Waschpuffer pro Well waschen.



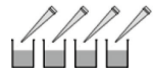
8. Je 100 µl Enzymsubstratlösung in die Wells geben. Auf dem Schüttler mischen.



9. 30 Minuten lang bei Raumtemperatur inkubieren.



10. 50 µl Enzymstopplösung in jedes Well geben. Auf dem Schüttler mischen.



11. Ergebnisse bei 450 nm mit einem Referenzfilter zwischen 620 und 650 nm ablesen.



12. Ergebnisse auswerten.



Erhebliche Änderungen

Abschnitt	Seite	Änderung(en)
Divers	Divers	Anweisungen hinsichtlich der Verwendung von Lithiumheparin oder Natriumheparin hinzugefügt
Divers	Divers	Anweisungen in Bezug auf den Blutentnahme-Workflow bei 2–8 °C hinzugefügt
Divers	Divers	Plattendeckel gehört nun zu den zusätzlich benötigten Materialien

Revisionsverlauf des Handbuchs

Dokument	Änderungen
R6 04/2019	Änderungen bezüglich Lithiumheparin/Natriumheparin Neue Anweisungen für den Blutentnahme-Workflow bei 2–8 °C QF-Platten nun ohne Plattendeckel

Marken: QIAGEN®, QFT®, QuantIFERON® (QIAGEN-Gruppe); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.).

Eingeschränkte Nutzungsvereinbarung für den QuantIFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA

Mit der Verwendung dieses Produkts erkennen Käufer oder Anwender des Produkts die folgenden Bedingungen an:

1. Das Produkt darf nur gemäß den mit dem Produkt und dieser Packungsbeilage bereitgestellten Protokollen und nur mit den im Kit enthaltenen Komponenten verwendet werden. QIAGEN gewährt im Rahmen ihrer Eigentumsrechte keinerlei Lizenz, die zum Panel gehörenden Komponenten mit anderen Komponenten, die nicht zum Kit gehören, zu verwenden oder zu kombinieren, mit Ausnahme der in den Protokollen, die mit dem Produkt und dieser Packungsbeilage bereitgestellt werden, beschriebenen Anwendungen.
2. Über die ausdrücklich erwähnten Lizenzanwendungen hinaus übernimmt QIAGEN keinerlei Garantie dafür, dass dieses Panel und/oder die mit diesem Panel durchgeführte(n) Anwendung(en) die Rechte Dritter nicht verletzen.
3. Dieses Kit und seine Komponenten sind für den einmaligen Gebrauch lizenziert und dürfen, sofern nicht anders durch QIAGEN festgelegt, nicht wiederverwendet, aufgearbeitet oder weiterverkauft werden.
4. QIAGEN lehnt außer der ausdrücklich gewährten Lizenzgewährung jede weitere Lizenzgewährung ab, sowohl ausdrücklich als auch konkludent.
5. Käufer und Nutzer des Kits stimmen zu, keinerlei Schritte zu unternehmen oder anderen die Einleitung von Schritten zu gestatten, die zu unerlaubten Handlungen im obigen Sinne führen oder solche erleichtern könnten. QIAGEN kann die Verbote dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung an jedem Ort gerichtlich geltend machen und wird sämtliche Ermittlungs- und Gerichtskosten, inklusive Anwaltsgebühren, zurückfordern, die ihr bei der Geltendmachung dieser eingeschränkten Nutzungsvereinbarung oder irgendeines ihrer geistigen Eigentumsrechte im Zusammenhang mit dem Kit und/oder seinen Komponenten entstehen.

Aktualisierte Nutzungs- und Lizenzbedingungen finden Sie unter www.qiagen.com.

© 2019 QIAGEN, alle Rechte vorbehalten.

www.QuantiFERON.com

Asien-Pazifik-Raum | techservice-ap@qiagen.com

Europa | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Naher Osten/Afrika | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Lateinamerika (außer Brasilien oder Mexiko) | techservice-latam@qiagen.com

Hinweise

Hinweise

