

Aprile 2019

# Foglietto illustrativo

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



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Versione 1

**IVD**

Per uso diagnostico in vitro

Test dell'interferone gamma (IFN- $\gamma$ ) nel sangue intero per la  
misurazione delle risposte agli antigeni peptidici ESAT-6 e CFP-10



**REF**

622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,  
Germania

R6 **MAT**

1083163IT

Sample to Insight



# Sommario

Uso previsto .....	5
Riassunto e spiegazione del test .....	5
Principi dell'esame .....	7
Tempo necessario per l'esecuzione dell'esame .....	9
Componenti e conservazione .....	10
Materiale necessario ma non in dotazione .....	12
Conservazione e manipolazione dei campioni .....	13
Provette per prelievo ematico .....	13
Reagenti del kit .....	13
Reagenti ricostituiti e inutilizzati .....	13
Avvertenze e precauzioni .....	14
Avvertenze .....	14
Precauzioni .....	15
Prelievo e manipolazione dei campioni .....	18
Istruzioni per l'uso .....	25
Fase 1: incubazione del sangue e raccolta del plasma .....	25
Fase 2: Test ELISA per IFN- $\gamma$ .....	26
Calcoli e interpretazione del test .....	31
Generazione della curva standard .....	31
Controllo della qualità del test .....	32
Interpretazione dei risultati .....	32
Limitazioni .....	36



---

Caratteristiche di prestazione.....	37
Studi clinici.....	37
Caratteristiche prestazionali dell'esame .....	43
Informazioni tecniche.....	48
Risultati indeterminati.....	48
Coaguli nei campioni di plasma .....	48
Guida alla risoluzione dei problemi.....	49
Bibliografia.....	51
Simboli.....	61
Informazioni di contatto.....	62
Procedura sintetica del test.....	63
Fase 1: incubazione del sangue.....	63
Fase 2: Test ELISA per IFN- $\gamma$ .....	63
Modifiche rilevanti.....	65
Cronologia delle revisioni del manuale .....	65



---

## Uso previsto

L'esame QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) è un test diagnostico in vitro che utilizza un cocktail peptidico che simula le proteine ESAT-6 e CFP-10 per stimolare le cellule nel sangue intero eparinizzato. La rilevazione dell'interferone- $\gamma$  (IFN $\gamma$ ) mediante ELISA (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay, esame immuno-assorbente legato agli enzimi) consente di identificare le risposte in vitro agli antigeni peptidici associati all'infezione da *Mycobacterium tuberculosis*.

QFT-Plus è un test indiretto per la rilevazione dell'infezione da *M. tuberculosis* (patologia compresa) ed è destinato all'uso in associazione con la valutazione del rischio, le radiografie e altre indagini medico-diagnostiche.

## Riassunto e spiegazione del test

La tubercolosi è una malattia infettiva contagiosa causata dagli organismi del complesso *M. tuberculosis* (MTB) (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*) la cui trasmissione ai nuovi ospiti avviene generalmente per inalazione da nuclei di goccioline di pazienti infetti. Un soggetto contagiato può ammalarsi settimane o mesi dopo aver contratto l'infezione, anche se la maggior parte dei soggetti contagiati non manifesta alcuna sintomatologia. L'infezione tubercolare latente (Latent tuberculosis infection, LTBI) è una patologia asintomatica non trasmissibile che in alcuni soggetti può persistere anche per mesi o anni prima che la malattia diventi conclamata. La diagnosi di LTBI ha come scopo principale la valutazione di una terapia medica idonea, atta a prevenire la malattia. Fino a poco tempo fa l'unico metodo esistente per diagnosticare la LTBI era il test cutaneo tubercolinico (Tuberculin Skin Test, TST). La sensibilità cutanea alla tubercolina si sviluppa quando sono trascorse da 2 a 10 settimane dall'infezione. Tuttavia alcuni soggetti contagiati non manifestano reazioni alla tubercolina (tra questi, sia soggetti affetti da una serie di patologie che compromettono le funzioni immunitarie, sia altri soggetti non affetti da queste patologie). Viceversa alcuni soggetti con scarse probabilità di aver contratto un'infezione da *M. tuberculosis* sono sensibili alla tubercolina e risultano positivi al test TST dopo una

---

vaccinazione antitubercolare con bacillo di Calmette-Guérin (BCG), in seguito ad un'infezione da micobatteri diversi dal complesso *M. tuberculosis* o per altri fattori imprecisati.

È necessario distinguere tra tubercolosi latente e tubercolosi conclamata, una patologia con interessamento dei polmoni e delle basse vie respiratorie che può però interessare anche altri sistemi di organi. La diagnosi della tubercolosi in atto si basa su riscontri anamnestici, fisici, radiologici, istologici e micobatteriologici.

Il test QFT-Plus rileva le risposte immuni cellulo-mediate (CMI) agli antigeni peptidici che simulano le proteine micobatteriche. Queste proteine ESAT-6 e CFP-10 sono assenti in tutti i ceppi di BCG e nella maggior parte dei micobatteri non tubercolari, fatta eccezione per *M. kansasii*, *M. szulgai* e *M. marinum* (1). Il sangue dei soggetti infettati da organismi del complesso MTB contiene in genere linfociti che sono in grado di riconoscere questi e altri antigeni micobatterici. Il processo di riconoscimento comporta la generazione e la secrezione della citochina IFN- $\gamma$ . La rilevazione e la successiva quantificazione dell'IFN- $\gamma$  costituiscono il principio di questo test.

Gli antigeni utilizzati nel test QFT Plus sono un cocktail peptidico che simula le proteine ESAT-6 e CFP-10. Numerosi studi hanno dimostrato che questi antigeni peptidici stimolano la risposta all'IFN $\gamma$  nelle cellule T dei soggetti contagiati da *M. tuberculosis* ma non in quelle di soggetti non infetti o vaccinati con BCG in assenza della malattia o del rischio di LTBI (1-32). Vi sono tuttavia terapie mediche e malattie con effetto immunosoppressivo che potenzialmente possono ridurre le risposte all'IFN- $\gamma$ . Anche pazienti con altre infezioni micobatteriche potrebbero avere una reazione alle proteine ESAT-6 e CFP-10, dal momento che i geni che codificano queste proteine sono presenti nei micobatteri *M. kansasii*, *M. szulgai* e *M. marinum* (1, 23). Il test QFT-Plus è sia un test per la LTBI, sia uno strumento utile per la diagnosi dell'infezione da complesso *M. tuberculosis* in pazienti malati. Un risultato positivo corrobora il sospetto di tubercolosi, tuttavia anche infezioni causate da altri micobatteri (ad esempio *M. kansasii*) possono generare risultati positivi. Sono dunque necessari ulteriori accertamenti medici e diagnostici per confermare o escludere una diagnosi di tubercolosi.

Il test QFT-Plus utilizza due provette di antigene TB distinte: TB Antigen Tube 1 (TB1) e TB Antigen Tube 2 (TB2). Entrambe contengono gli antigeni peptidici ottenuti dagli antigeni associati al complesso MTB: ESAT-6 e CFP-10. Tuttavia, mentre la provetta TB1 contiene

---

i peptidi ottenuti da ESAT-6 e CFP-10 formulati in modo tale da indurre le risposte CMI dai linfociti T helper CD4<sup>+</sup>, la provetta TB2 contiene un ulteriore gruppo di peptidi il cui scopo è indurre le risposte CMI dai linfociti T citotossici CD8<sup>+</sup>. Nella storia naturale dell'infezione da micobatteri tubercolari, i linfociti T CD4<sup>+</sup> svolgono un ruolo centrale ai fini del controllo immunologico, attraverso la secrezione della citochina IFN- $\gamma$ . Le prove fin qui raccolte dimostrano che i linfociti T CD8<sup>+</sup> svolgono un ruolo nella difesa dell'ospite contro i micobatteri tubercolari, attraverso la produzione dell'IFN- $\gamma$  e di altri fattori solubili che attivano i macrofagi per sopprimere la crescita dei micobatteri tubercolari, uccidere le cellule infettate o lisare direttamente i micobatteri intracellulari (33-35). La presenza dei linfociti T CD8<sup>+</sup> specifici per MTB è stata riscontrata nei soggetti con tubercolosi latente e con tubercolosi attiva, condizioni in cui i linfociti T CD8<sup>+</sup> che producono IFN- $\gamma$  possono essere trovati spesso (36-38). Inoltre i linfociti T CD8<sup>+</sup> specifici per ESAT-6 e CFP-10 sono stati riscontrati con maggiore frequenza nei soggetti con tubercolosi attiva rispetto ai soggetti con tubercolosi latente e ciò suggerisce una possibile associazione con un'esposizione recente a MTB (39-41). In più i linfociti T CD8<sup>+</sup>specifici per MTB che producono IFN- $\gamma$  sono stati rilevati anche nei soggetti con tubercolosi attiva e co-infezione da HIV (42, 43) e nei bambini affetti da tubercolosi (44).

## Principi dell'esame

L'esame QFT-Plus prevede l'uso di speciali provette per il prelievo del sangue intero. Il sangue viene lasciato incubare all'interno delle provette tra 16 e 24 ore, dopodiché viene raccolto il plasma e viene eseguito il test per rilevare la presenza dell'IFN- $\gamma$  prodotto in risposta agli antigeni peptidici.

Il test QFT-Plus prevede due fasi. Nella prima fase il sangue intero viene raccolto in ciascuna delle QFT-Plus Blood Collection Tubes che includono una provetta Nil, una provetta TB1, una provetta TB2 e una provetta Mitogen. In alternativa è possibile prelevare il sangue in un'unica provetta generica contenente eparina di litio o eparina di sodio come anticoagulante e quindi trasferire il campione nelle provette QFT-Plus.

La provetta Mitogen può essere utilizzata come controllo positivo per il test QFT-Plus. Il controllo può essere importante se vi sono dubbi circa lo stato immunitario del soggetto. La

---

provetta Mitogen serve anche a controllare che la manipolazione e l'incubazione del sangue siano avvenute correttamente.

Le provette QFT-Plus vengono agitate per mescolare l'antigene e il sangue e devono essere incubate a 37°C il prima possibile e comunque entro 16 ore dal prelievo. Dopo un periodo di incubazione compreso tra 16 e 24 ore, le provette vengono centrifugate, il plasma viene rimosso e la quantità di IFN $\gamma$  (UI/ml) viene misurata con il dosaggio ELISA. QFT-Plus ELISA utilizza uno standard IFN- $\gamma$  umano ricombinante che è stato analizzato rispetto a un preparato IFN- $\gamma$  di riferimento (Rif. NIH: Gxg01-902-535). I risultati dei campioni analizzati sono espressi in Unità Internazionali (International Units, UI) relative a una curva standard preparata analizzando le diluizioni dello standard incluso nel kit.

È noto che gli anticorpi eterofili (ad esempio, gli anticorpi umani anti-murini, HAMA) presenti nel siero o nel plasma di alcuni individui possono interferire con gli immunodosaggi. L'effetto degli anticorpi eterofili sul test QFT-Plus ELISA è ridotto al minimo grazie all'aggiunta di siero murino normale nel diluente GD e all'uso di frammenti di anticorpo monoclonale F(ab') $_2$  come anticorpo di cattura dell'IFN- $\gamma$  nel rivestimento della micropiastrella.

Il risultato dell'esame QFT-Plus è considerato positivo per la risposta all'IFN $\gamma$  se una delle due provette con antigene TB è significativamente al di sopra del valore Nil per l'IFN $\gamma$  (UI/ml). Il campione di plasma nella provetta Mitogen agisce da controllo positivo per l'IFN $\gamma$  per ogni campione analizzato. Una bassa risposta al controllo Mitogen (<0,5 UI/ml) è indicativa di un risultato indeterminato se il campione di sangue ha anche generato una risposta negativa agli antigeni TB. Tale quadro potrebbe verificarsi in caso di linfociti insufficienti, ridotta attività dei linfociti per manipolazione impropria del campione, errata procedura di riempimento/miscelazione della provetta Mitogen o incapacità dei linfociti del paziente di generare IFN $\gamma$ . Livelli elevati di IFN- $\gamma$  nel campione Nil possono verificarsi con la presenza di anticorpi eterofili o la secrezione intrinseca di IFN- $\gamma$ . La provetta Nil compensa il livello di fondo (ad esempio, livelli eccessivi di IFN- $\gamma$  in circolo o presenza di anticorpi eterofili). Il livello di IFN- $\gamma$  della provetta Nil viene sottratto dal livello di IFN- $\gamma$  delle provette con antigene TB e della provetta Mitogen.



---

## Tempo necessario per l'esecuzione dell'esame

Il tempo necessario per effettuare l'esame QFT-Plus ELISA è indicato di seguito, così come il tempo necessario per eseguire il test di più campioni in batch.

Incubazione a 37°C delle provette di sangue: da 16 a 24 ore

ELISA: circa 3 ore per una piastra ELISA

(22 soggetti)

<1 ora di lavoro

Aggiungere 10-15 minuti per ogni piastra in più

# Componenti e conservazione

Provette per prelievo ematico*		200 provette	Confezione singola paziente	Confezione dispenser	200 provette HA	Confezione singola paziente HA	Confezione dispenser HA
N. catalogo		622526	622222	622423	623526	623222	623423
Numero di test/confezione		50	10	25	50	10	25
QuantiFERON Nil Tube (tappo grigio, anello bianco)	Nil	50 provette	10 provette	25 provette			
QuantiFERON TB1 Tube (tappo verde, anello bianco)	TB1	50 provette	10 provette	25 provette			
QuantiFERON TB2 Tube (tappo giallo, anello bianco)	TB2	50 provette	10 provette	25 provette			
QuantiFERON Mitogen Tube (tappo viola, anello bianco)	Mitogen	50 provette	10 provette	25 provette			
QuantiFERON Nil HA Tube (tappo grigio, anello giallo)	Nil HA				50 provette	10 provette	25 provette
QuantiFERON TB1 HA Tube (tappo verde, anello giallo)	HA TB1				50 provette	10 provette	25 provette
QuantiFERON TB2 HA Tube (tappo giallo, anello giallo)	HA TB2				50 provette	10 provette	25 provette
QuantiFERON Mitogen HA Tube (tappo viola, anello giallo)	Mitogen HA				50 provette	10 provette	25 provette
Foglietto illustrativo per QFT-Plus Blood Collection Tubes		1	1	1	1	1	1

\* Non tutte le configurazioni del prodotto sono disponibili in tutti i Paesi. Per ulteriori informazioni su quali configurazioni è possibile ordinare, rivolgersi ad un rappresentante locale del Servizio Clienti QIAGEN (dettagli forniti su [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

Componenti ELISA <sup>†</sup> N. catalogo	Kit ELISA per 2 piastre 622120	Pacchetto laboratorio di riferimento 622822
Microplate Strips (Strisce per micropiastre) (12 x 8 pozzetti) rivestite con anticorpo monoclonale murino anti-IFN- $\gamma$ umano	2 x strisce per micropiastre da 96 pozzetti	20 x strisce per micropiastre da 96 pozzetti
IFN- $\gamma$ Standard (Standard IFN), liofilizzato (contiene IFN- $\gamma$ umano ricombinante, caseina bovina, Thimerosal 0,01% p/v)	1 x fiala (8 UI/ml dopo la ricostituzione)	10 x fiala (8 UI/ml dopo la ricostituzione)
Green Diluent (Diluente verde) (contiene caseina bovina, siero murino normale, Thimerosal 0,01% p/v)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Coniugato concentrato 100x), liofilizzato (contiene anticorpi murini anti-IFN- $\gamma$ umani coniugati con perossidasi di rafano (HRP) e Thimerosal 0,01% p/v)	1 x 0,3 ml (dopo la ricostituzione)	10 x 0,3 ml (dopo la ricostituzione)
Wash Buffer 20x Concentrate (Tampone di lavaggio concentrato 20x) (con pH 7,2 contiene ProClin <sup>®</sup> 300 0,05% v/v)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Soluzione di substrato enzimatico) (contiene H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , 3,3', 5,5'-tetrametilbenzidina)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Soluzione di arresto enzimatico) (contiene 0,5M H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )	1 x 15 ml	10 x 15 ml
Foglietto illustrativo QFT-Plus ELISA	1	1

<sup>†</sup> Per le frasi precauzionali e di rischio, vedere pagina 15.

---

## Materiale necessario ma non in dotazione

- Incubatore  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  \*. CO<sub>2</sub> non richiesta
- Pipette calibrate a volume variabile\* per l'erogazione da 10 a 1000  $\mu\text{l}$  con puntali monouso
- Pipetta multicanale calibrata\* per l'erogazione da 50 a 100  $\mu\text{l}$  con puntali monouso
- Coperchio per piastra
- Agitatore per micropiastre\*
- Acqua deionizzata o distillata, 2 litri
- Sistema di lavaggio per micropiastre (si consigliano dispositivi di lavaggio automatici)
- Lettore per micropiastre\* dotato di filtro da 450 nm e di filtro di riferimento da 620 a 650 nm

\* Assicurarsi che gli strumenti siano stati revisionati e calibrati secondo le raccomandazioni del produttore.

---

# Conservazione e manipolazione dei campioni

## Provette per prelievo ematico

- Conservare le provette per prelievo ematico a una temperatura compresa tra 4°C e 25°C.

## Reagenti del kit

- Conservare i reagenti del kit a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C.
- Tenere sempre la soluzione di substrato enzimatico lontano dalla luce diretta.

## Reagenti ricostituiti e inutilizzati

Per istruzioni sulla modalità di ricostituzione dei reagenti, vedere pagina 27.

- Se conservato a una temperatura compresa tra 2 e 8°C, lo standard ricostituito del kit si mantiene fino a 3 mesi.

Prendere nota della data in cui è stato ricostituito lo standard del kit.

- Dopo la ricostituzione, la parte inutilizzata del coniugato concentrato 100x deve essere conservata in frigorifero a una temperatura compresa tra 2°C e 8°C e deve essere utilizzata entro 3 mesi.

Prendere nota della data in cui è stato ricostituito il coniugato.

- Il coniugato pronto per l'uso deve essere utilizzato entro 6 ore dalla preparazione.
- Il tampone di lavaggio pronto per l'uso può essere conservato a temperatura ambiente fino a 2 settimane.

# Avvertenze e precauzioni

Solo per uso diagnostico in vitro.

## Avvertenze

- Un risultato negativo al test QFT-Plus non esclude la possibilità di un'infezione da *M. tuberculosis* o di una malattia in atto. Infatti, risultati falsi negativi possono essere dovuti allo stadio dell'infezione (ad esempio il campione è stato prelevato prima dello sviluppo della risposta immuno-cellulare), all'esistenza di patologie concomitanti che alterano le funzioni immunitarie, a una manipolazione impropria delle provette dopo il prelievo di sangue per venopuntura, a errori nell'esecuzione dell'esame o ad altre variabili immunologiche.
- Un risultato positivo al test QFT-Plus non può di per sé confermare in modo definitivo la diagnosi di infezione da *M. tuberculosis*. Eventuali errori nell'esecuzione dell'esame possono determinare risposte false-positive.
- In seguito a un risultato positivo al test QFT-Plus sono necessari ulteriori accertamenti medico-diagnostici per confermare la presenza di tubercolosi attiva (ad esempio, striscio e coltura di AFB, raggi X toracici).
- Anche se le proteine ESAT-6 e CFP-10 sono assenti in tutti i ceppi BCG e nella maggior parte dei micobatteri non tubercolari conosciuti, è possibile che un risultato positivo al test QFT-Plus sia causato da un'infezione da *M. kansasii*, *M. szulgai* o *M. marinum*. Se si sospettano infezioni di questo tipo, è necessario eseguire test alternativi.

## Precauzioni

Durante la manipolazione di sostanze chimiche, è opportuno indossare sempre un camice da laboratorio, guanti monouso e occhiali protettivi. Per maggiori informazioni, consultare le corrispondenti schede tecniche di sicurezza (Safety Data Sheet, SDS). Le schede sono disponibili online nel pratico formato PDF sul sito [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety), dove è possibile cercare, visualizzare e stampare la scheda SDS di ogni kit e di ogni componente del kit QIAGEN.



**ATTENZIONE:** manipolare il sangue e il plasma umano come se fosse potenzialmente infettivo. Attenersi alle linee guida sulla manipolazione di sangue ed emoderivati. Smaltire i campioni e i materiali entrati in contatto con sangue o emoderivati nel rispetto dei regolamenti locali, nazionali e internazionali.

Le seguenti frasi precauzionali e di rischio sono valide per i componenti del saggio QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA.

### Frasi di rischio



#### QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

Contiene: acido solforico. Avvertenza! Può essere corrosivo per i metalli. Causa irritazione cutanea. Causa grave irritazione agli occhi. Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso.

#### QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Avvertenza! Causa lieve irritazione cutanea. Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso.



#### QuantiFERON Green Diluent

Contiene: trisodio 5-idrossi-1-(4-sulfonatofenil)-4-(4-sulfonatofenilazo)pirazol-3-carbossilato. Contiene: tartrazina. Avvertenza! Può provocare una reazione allergica cutanea. Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso.

#### QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Contiene: miscela di 5-cloro-2-metil-4-isotiazolin-3-one e 2-metil-2H-isotiazol-3-one (3:1). Nocivo per gli organismi acquatici con effetti di lunga durata. Evitare l'immissione nell'ambiente.

### Frasi precauzionali

Procurarsi istruzioni specifiche prima dell'uso. Indossare guanti/indumenti protettivi/proteggere gli occhi/proteggere il viso. IN CASO DI CONTATTO CON LA PELLE (o con i capelli): Rimuovere/togliere immediatamente tutti gli indumenti contaminati. Sciacquare la pelle/fare una doccia. IN CASO DI CONTATTO CON GLI OCCHI: sciacquare accuratamente per parecchi minuti. Togliere le eventuali lenti a contatto se è agevole farlo. Continuare a sciacquare. IN CASO di esposizione o di possibile esposizione: consultare un medico. Contattare immediatamente un CENTRO ANTIVELENI o un medico. In caso di irritazione o eruzione della pelle: consultare un medico. Togliersi di dosso gli indumenti contaminati e lavarli prima di indossarli nuovamente. Conservare sotto chiave. Smaltire il prodotto/recipiente in un impianto ufficialmente approvato per lo smaltimento dei rifiuti.

### Ulteriori informazioni

Schede tecniche di sicurezza: [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)

- La mancata osservanza delle istruzioni presenti nel *Foglietto illustrativo QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA* può determinare risultati erranei. Prima dell'uso, leggere attentamente le istruzioni.



- Se un flacone di reagente è danneggiato o presenta perdite prima dell'uso, non utilizzare il kit.
- **Importante:** ispezionare le fiale prima dell'uso. Non utilizzare il coniugato o le fiale di standard IFN- $\gamma$  se appaiono danneggiate o se il sigillo di gomma è rovinato. Non manipolare le fiale rotte. Adottare le precauzioni di sicurezza opportune per smaltire le fiale correttamente. Raccomandazione: per ridurre al minimo il rischio di lesioni causate dal tappo di metallo, per aprire le fiale di coniugato o standard IFN- $\gamma$  usare una decapsulatrice per fiale.
- Non miscelare o utilizzare strisce per micropiastre, standard IFN $\gamma$ , diluenti verdi o coniugati concentrati 100x appartenenti ad altri lotti di kit QFT-Plus. Per gli altri reagenti (tampone di lavaggio concentrato 20x, soluzione di substrato enzimatico e soluzione di arresto enzimatico) è possibile effettuare uno scambio con altri kit a condizione che la data di scadenza non sia trascorsa e solo dopo aver annotato i dettagli relativi al lotto.
- Smaltire i reagenti non utilizzati e i campioni biologici nel rispetto delle normative locali, statali e federali.
- Non utilizzare le QFT-Plus Blood Collection Tubes o il kit ELISA oltre la data di scadenza.
- È necessario rispettare sempre delle corrette procedure di laboratorio.
- Assicurarsi che le apparecchiature del laboratorio siano state calibrate e validate per l'uso.

# Prelievo e manipolazione dei campioni

Il test QFT Plus comporta l'uso delle provette di raccolta seguenti:

1. Provette QuantiFERON Nil (tappo grigio con anello bianco)
2. Provette QuantiFERON TB1 (tappo verde con anello bianco)
3. Provette QuantiFERON TB2 (tappo giallo con anello bianco)
4. Provette QuantiFERON Mitogen (tappo viola con anello bianco)
5. Provette QuantiFERON Nil HA (tappo grigio con anello giallo)
6. Provette QuantiFERON HA TB 1 (tappo verde con anello giallo)
7. Provette QuantiFERON TB2 HA (tappo giallo con anello giallo)
8. Provette QuantiFERON Mitogen HA (tappo viola con anello giallo)

Gli antigeni essiccati aderiscono alle pareti interne delle provette per il prelievo ematico, pertanto è fondamentale miscelare con cura il contenuto delle provette con il sangue. Per il sangue aspirato direttamente nelle provette QFT-Plus, tali provette devono essere mantenute e trasportate a temperatura ambiente ( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) e trasferite in un incubatore a  $37^{\circ}\text{C}$  il prima possibile e comunque entro 16 dal prelievo del sangue. In alternativa, il sangue può essere raccolto in un'unica provetta con eparina di litio o eparina di sodio per essere conservato prima del trasferimento a QFT-Plus e dell'incubazione. I campioni di sangue raccolti in eparina di litio o eparina di sodio possono essere conservati per un massimo di 16 ore a temperatura ambiente ( $17\text{-}25^{\circ}\text{C}$ ) per essere poi trasferiti alle provette QFT-Plus. I campioni di sangue in eparina di litio o eparina di sodio possono inoltre essere conservati a  $2\text{-}8^{\circ}\text{C}$  per un massimo di 48 ore prima del trasferimento alle provette QFT-Plus. Fare riferimento alla sezione "Prelievo ematico in un'unica provetta con eparina di litio o di sodio e successivo trasferimento nelle QFT-Plus Blood Collection Tubes".

## Prelievo diretto nelle QFT-Plus Blood Collection Tubes

### 1. Etichettare correttamente le provette.

Assicurarsi che ogni provetta (Nil, TB1, TB2 e Mitogen) sia identificabile attraverso l'etichetta o altri indizi quando il tappo viene rimosso.

È consigliabile registrare la data e l'ora del prelievo ematico.

### 2. Per ciascun paziente raccogliere 1 ml di sangue per venopuntura direttamente in ognuna delle QFT-Plus Blood Collection Tubes. Questa procedura deve essere eseguita da personale qualificato e addetto al prelievo ematico per analisi.

Nota importante: la temperatura delle provette deve essere compresa tra 17 e 25°C quando vengono riempite di sangue.

Le QFT-Plus Blood Collection Tubes standard possono essere utilizzate fino a un'altitudine massima di 810 metri sul livello del mare. Le QFT-Plus Blood Collection Tubes High Altitude (HA) possono essere utilizzate tra 1020 metri e 1875 metri sul livello del mare.

Dato che il sangue fluisce in modo relativamente lento nelle provette da 1 ml, mantenere la provetta sull'ago per 2-3 secondi dopo che appare completamente piena. In questo modo si potrà prelevare il volume corretto.

- Il segno nero sul lato delle provette indica i limiti validati di 0,8-1,2 ml. Se il livello del sangue in una provetta non rientra nell'intervallo delimitato dal segno nero, è necessario prelevare un nuovo campione di sangue. Il riempimento delle provette con volumi di sangue non compresi tra 0,8 e 1,2 ml potrebbe generare risultati erranei.
- Se per il prelievo del sangue viene impiegato un ago a farfalla, prima delle provette per prelievo ematico QFT-Plus è opportuno utilizzare una provetta "vuota" per verificare che il tubicino si sia riempito di sangue.
- Se si utilizzano le QFT-Plus Blood Collection Tubes a un'altitudine superiore agli 810 metri, o se il volume del sangue prelevato è scarso, è possibile effettuare il prelievo di sangue con una siringa e trasferire immediatamente 1 ml di sangue in ognuna delle 4 provette. Per motivi di sicurezza, è opportuno eseguire questa procedura togliendo l'ago dalla siringa, osservando le procedure di sicurezza

appropriate, rimuovendo i tappi dalle 4 provette QFT-Plus e aggiungendo 1 ml di sangue in ognuna di esse (fino al segno nero sul lato dell'etichetta della provetta). Tappare saldamente le provette e miscelare seguendo le istruzioni riportate di seguito. Assicurarsi che ogni provetta (Nil, TB1, TB2 e Mitogen) sia identificabile attraverso l'etichetta o altri indizi quando il tappo viene rimosso.

3. Subito dopo aver riempito le provette, agitarle energicamente per dieci (10) volte in modo da assicurare che l'intera superficie interna della provetta sia ricoperta di sangue. In questo modo, gli antigeni sulle pareti delle provette si scioglieranno.

Nota importante: le provette devono essere a una temperatura di 17-25°C quando vengono agitate. Non agitare in modo troppo energico per evitare la disgregazione del gel e il conseguente rischio di generare risultati anomali.

4. Dopo avere etichettato, riempito e agitato le provette, trasferirle in un incubatore a 37°C ± 1°C il prima possibile e comunque entro 16 ore dal prelievo del sangue. Prima dell'incubazione, le provette devono essere conservate e trasportate a temperatura ambiente (22°C ± 5°C). Se le provette QFT-Plus non vengono incubate a 37°C subito dopo il prelievo ematico, capovolgerle per miscelarle 10 volte prima dell'incubazione a 37°C.
5. Incubare le provette QFT-Plus IN POSIZIONE VERTICALE a 37°C ± 1°C per 16-24 ore. L'incubatore non richiede né CO<sub>2</sub> né umidificazione.

Prelievo ematico in una singola provetta con eparina di litio o eparina di sodio e successivo trasferimento nelle QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. È possibile prelevare il sangue in un'unica provetta generica contenente eparina di litio o eparina di sodio come anticoagulante e quindi trasferire il campione nelle QFT-Plus Blood Collection Tubes. Utilizzare esclusivamente eparina di litio o eparina di sodio come anticoagulante, poiché altri tipi di anticoagulanti interferiscono con l'esame. Etichettare correttamente le provette.

È consigliabile etichettare la provetta indicando l'ora e la data del prelievo ematico.

---

Importante: la temperatura delle provette per prelievo ematico deve essere compresa tra 17 e 25°C al momento del prelievo.

2. Riempire una provetta per prelievo ematico con eparina di litio o eparina di sodio (volume minimo 5 ml) e miscelare delicatamente il contenuto capovolgendo la provetta più volte in modo che l'eparina si dissolva. Questa procedura deve essere eseguita da personale qualificato e addetto al prelievo ematico per analisi.
3. Applicare le opzioni di tempo di sospensione e temperatura prima del trasferimento e dell'incubazione nelle QFT-Plus Blood Collection Tubes (vedere le figure 1-3 relative alle opzioni di prelievo ematico).

Opzione 1: conservazione a temperatura ambiente e manipolazione delle provette con eparina di litio o eparina di sodio. Il sangue prelevato nella provetta con eparina di litio o eparina di sodio deve essere mantenuto a temperatura ambiente ( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) per un massimo di 16 ore dal momento del prelievo prima del trasferimento alle QFT Plus Blood Collection Tubes e la successiva incubazione.

Opzione 2: conservazione refrigerata e manipolazione della provetta con eparina di litio o eparina di sodio

Importante: i passaggi a-d della procedura devono essere seguiti in sequenza.

- a. Il sangue prelevato nella provetta con eparina di litio o di sodio deve essere conservato a temperatura ambiente ( $17\text{-}25^{\circ}\text{C}$ ) fino a 3 ore dopo il prelievo ematico.
- b. Il sangue prelevato nella provetta con eparina di litio o di sodio deve essere refrigerato ( $2\text{-}8^{\circ}\text{C}$ ) per un massimo di 48 ore.
- c. Dopo la refrigerazione, la provetta con eparina di litio o di sodio deve essere equilibrata a temperatura ambiente ( $17\text{-}25^{\circ}\text{C}$ ) prima del trasferimento alle QFT-Plus Blood Collection Tubes.
- d. Le QFT-Plus Blood Collection Tubes aliquotate devono essere collocate nell'incubatore a  $37^{\circ}\text{C}$  entro 2 ore dal trasferimento del sangue.

Se le QFT-Plus Blood Collection Tubes non vengono incubate a  $37^{\circ}\text{C}$  direttamente dopo il trasferimento alle QFT-Plus Blood Collection Tubes e dopo essere state agitate,

---

capovolgerle 10 volte per miscelarle prima dell'incubazione a 37°C. Il tempo totale dal prelievo ematico all'incubazione nelle QFT-Plus Blood Collection Tubes non deve superare le 53 ore.

4. Trasferimento del campione ematico da una provetta con eparina di litio o sodio alle QFT-Plus Blood Collection Tubes:
  - a. Etichettare ognuna delle QFT-Plus Blood Collection Tubes in modo appropriato.

Assicurarsi che ogni provetta (Nil, TB1, TB2 e Mitogen) sia identificabile attraverso l'etichetta o altri indizi quando il tappo viene rimosso. È consigliabile trasferire l'ora e la data del prelievo ematico registrati dalle provette con eparina di litio o di sodio alle QFT-Plus Blood Collection Tubes.
  - b. I campioni devono essere mescolati in modo uniforme capovolgendo delicatamente le provette prima del trasferimento nelle QFT-Plus Blood Collection Tubes.
  - c. La procedura deve essere eseguita in condizioni asettiche, osservando le procedure di sicurezza opportune, rimuovendo i tappi dalle 4 QFT-Plus Blood Collection Tubes e aggiungendo 1 ml di sangue in ognuna. Tappare attentamente le provette e miscelare seguendo le istruzioni riportate di seguito. Assicurarsi che ogni provetta (Nil, TB1, TB2 e Mitogen) sia identificabile attraverso l'etichetta o altri indizi quando il tappo viene rimosso.
5. Mescolare le provette. Subito dopo aver riempito le QFT-Plus Blood Collection Tubes agitarle energicamente per dieci (10) volte in modo da assicurare che l'intera superficie interna della provetta sia ricoperta di sangue. In questo modo, gli antigeni sulle pareti delle provette si scioglieranno.

Non agitare in modo troppo energico per evitare la disgregazione del gel e il conseguente rischio di generare risultati anomali.
6. Dopo avere etichettato, riempito e agitato le provette, trasferirle in un incubatore a 37 °C ± 1 °C entro 2 ore dal prelievo del sangue. Se le QFT-Plus Blood Collection Tubes non vengono incubate a 37°C direttamente dopo il prelievo e dopo essere state agitate, capovolgerle dieci volte (10) per mescolarle prima dell'incubazione a 37°C (per le opzioni relative al prelievo ematico, vedere le figure 1–3, pagina successiva).

7. Incubare le QFT-Plus Blood Collection Tubes IN POSIZIONE VERTICALE a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  per 16-24 ore. L'incubatore non richiede né  $\text{CO}_2$  né umidificazione.

Prelevare nelle QFT-Plus Blood Collection Tubes e mantenere a temperatura ambiente.

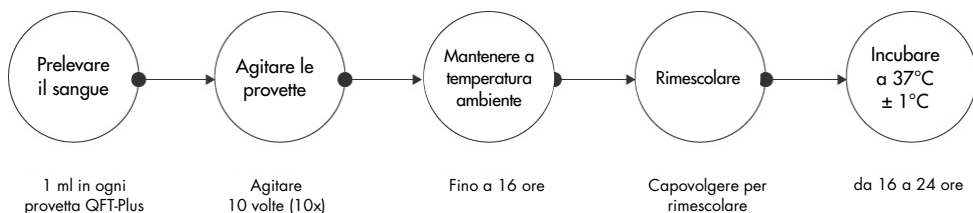


Figura 1. Opzioni per il prelievo ematico: direttamente nelle QFT-Plus Blood Collection Tubes e mantenimento a temperatura ambiente. Il tempo totale dal prelievo ematico nelle QFT-Plus Blood Collection Tubes all'incubazione a  $37^{\circ}\text{C}$  non deve superare le 16 ore.

Prelevare nella provetta con eparina di litio o di sodio e mantenere a temperatura ambiente.

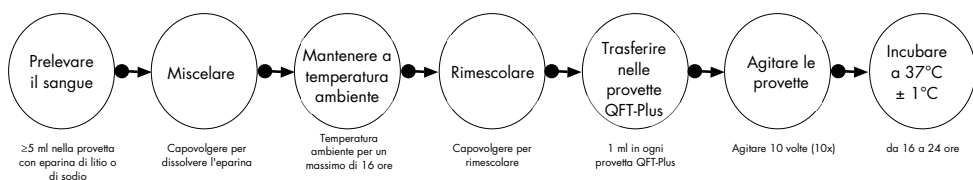


Figura 2. Opzioni per il prelievo ematico: Prelevare nella provetta con eparina di litio o di sodio e mantenere a temperatura ambiente. Il tempo totale dal prelievo ematico nella provetta con eparina di litio o di sodio all'incubazione a  $37^{\circ}\text{C}$  non deve superare le 16 ore.

Prelevare nelle provette con eparina di litio o di sodio e mantenere a  $2-8^{\circ}\text{C}$ .

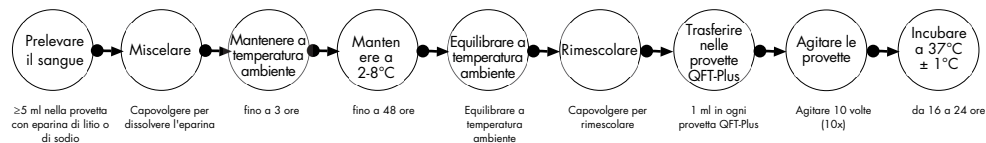


Figura 3. Opzioni per il prelievo ematico: prelevare nella provetta con eparina di litio o sodio e mantenere a  $2-8^{\circ}\text{C}$ .

---

Il tempo totale dal prelievo ematico nella provetta con eparina di litio o di sodio all'incubazione a 37°C non deve superare le 53 ore.



# Istruzioni per l'uso

## Fase 1: incubazione del sangue e raccolta del plasma

### Materiale fornito

- QFT-Plus Blood Collection Tubes (vedere la sezione 3)

### Materiale necessario (ma non in dotazione)

- Vedere la sezione 3

### Procedura

1. Se il sangue non viene messo in incubazione subito dopo il prelievo, è necessario miscelare nuovamente le provette capovolgendole per 10 volte appena prima di metterle nell'incubatore.
2. Incubare le provette IN POSIZIONE VERTICALE a  $37^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$  per 16-24 ore. L'incubatore non richiede né  $\text{CO}_2$  né umidificazione.
3. Dopo l'incubazione a  $37^{\circ}\text{C}$ , le provette per prelievo ematico possono essere conservate a una temperatura compresa tra  $4^{\circ}\text{C}$  e  $27^{\circ}\text{C}$  per un massimo di 3 giorni prima della centrifugazione.
4. Dopo l'incubazione a  $37^{\circ}\text{C}$ , la raccolta del plasma viene facilitata grazie alla centrifugazione delle provette per 15 minuti a 2000 - 3000 x RCF (g). Il tampone in gel consente di separare le cellule dal plasma. Se ciò non dovesse accadere, le provette dovranno essere centrifugate nuovamente.

È possibile raccogliere il plasma senza centrifugazione, ma è necessario prestare maggior attenzione durante la rimozione del plasma senza alterare le cellule.

5. I campioni di plasma dovrebbero essere raccolti soltanto con una pipetta.

Nota importante: dopo la centrifugazione, evitare di pipettare su e giù o di miscelare il plasma in qualsiasi modo prima di effettuare la raccolta. Fare sempre attenzione a non alterare il materiale presente sulla superficie del gel.

---

I campioni di plasma possono essere caricati direttamente dalle provette per il prelievo ematico centrifugate sulla piastra QFT-Plus ELISA, anche quando si utilizzano stazioni di lavoro ELISA automatizzate.

I campioni di plasma possono essere conservati per un massimo di 28 giorni tra 2°C e 8°C o, dopo la raccolta, a una temperatura inferiore a -20°C per periodi prolungati.

Per ottenere campioni di test sufficienti, raccogliere almeno 150 µl di plasma.

## Fase 2: Test ELISA per IFN- $\gamma$

### Materiale fornito

- Kit QFT-Plus ELISA (vedere la sezione 3)

### Materiale necessario ma non in dotazione

- Vedere la sezione 3.

### Procedura

1. Tutti i campioni di plasma e i reagenti, tranne il coniugato concentrato 100x, devono essere portati a temperatura ambiente ( $22 \pm 5$  °C) prima dell'uso. Calcolare almeno 60 minuti per equilibrare.
2. Rimuovere le strisce non necessarie dal supporto, risigillare il sacchetto di alluminio e conservare di nuovo in frigorifero fino all'occorrenza.

Calcolare almeno 1 striscia per gli standard QFT-Plus e altre strisce sufficienti per il numero di soggetti da analizzare (fare riferimento alla Figura 5). Dopo l'uso, conservare il supporto in modo da utilizzarlo con le strisce rimanenti.

3. Ricostituire lo standard IFN- $\gamma$  con il volume di acqua deionizzata o distillata indicato sull'etichetta del flacone. Miscelare delicatamente per ridurre al minimo la formazione di schiuma e assicurare la completa solubilizzazione. Ricostituendo lo standard al volume indicato si otterrà una soluzione con una concentrazione pari a 8,0 UI/ml.

Nota importante: il volume per la ricostituzione dello standard del kit varia in base al lotto. Utilizzare lo standard ricostituito del kit per ottenere una diluizione 1:2 seguita da una serie di diluizioni 1:4 dell'IFN- $\gamma$  nel diluente verde (vedere la Figura 4). Lo Standard 1 (S1) contiene 4,0 IU/ml, lo Standard 2 (S2) contiene 1,0 IU/ml, lo Standard 3 (S3) contiene 0,25 IU/ml e lo Standard 4 (S4) contiene 0 IU/ml (solo GD). Gli standard devono essere esaminati almeno in duplicato. Preparare nuove diluizioni dello standard del kit per ogni sessione ELISA.

Procedura consigliata per gli standard in duplicato

Etichettare 4 provette "S1", "S2", "S3", "S4".

Aggiungere 150  $\mu$ l di GD a S1, S2, S3, S4.

Aggiungere 150  $\mu$ l di standard del kit a S1 e miscelare con cura.

Trasferire 50  $\mu$ l da S1 a S2 e miscelare con cura.

Trasferire 50  $\mu$ l da S2 a S3 e miscelare con cura.

Solo GD funge da standard zero (S4).

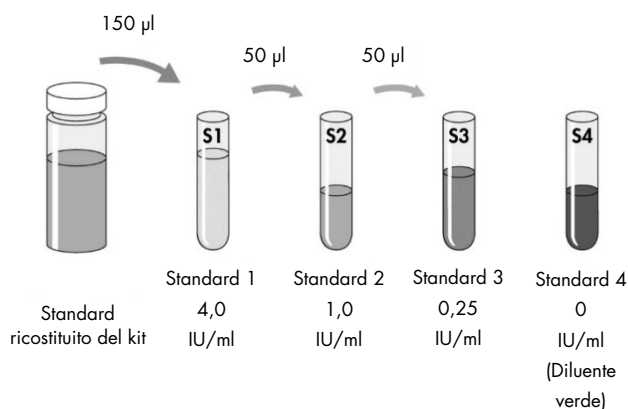


Figura 4. Preparazione della curva standard.

- Ricostituire il coniugato concentrato 100x liofilizzato con 0,3 ml di acqua deionizzata o distillata. Miscelare delicatamente per ridurre al minimo la formazione di schiuma e assicurare la completa solubilizzazione del coniugato.

Il coniugato pronto per l'uso viene preparato diluendo la quantità necessaria di coniugato concentrato 100x ricostituito nel diluente verde (Tabella 1. Preparazione del coniugato). Riportare il coniugato con 100x non utilizzato a una temperatura compresa tra 2 e 8°C subito dopo l'uso. Utilizzare esclusivamente diluente verde.

Tabella 1. Preparazione del coniugato

Numero di strisce	Volume del coniugato concentrato 100x	Volume del diluente verde
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

- Per i campioni di plasma raccolti dalle provette per prelievo ematico e successivamente conservati (refrigerati o congelati), miscelare i campioni prima di aggiungerli al pozzetto ELISA.

Nota importante: se i campioni di plasma devono essere aggiunti direttamente dalle provette QFT-Plus centrifugate, la miscelazione del plasma deve essere evitata. Fare sempre attenzione a non alterare il materiale presente sulla superficie del gel.

- Aggiungere 50 µl di coniugato pronto per l'uso appena preparato nei pozzetti ELISA necessari mediante una pipetta multicanale.

7. Aggiungere 50 µl di campioni di plasma da analizzare nei pozzetti opportuni, utilizzando una pipetta multicanale (fare riferimento alla configurazione consigliata per la piastra nella Figura 5). Aggiungere infine 50 µl di ognuno degli standard da 1 a 4.

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

Figura 5. Configurazione dei campioni consigliata (22 test per piastra)

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

1 N (Campione 1. plasma Nil), 1 TB1 (Campione 1. plasma TB1), 1 TB2 (Campione 1. plasma TB2),

1 M (Campione 1. Plasma Mitogen)

8. Coprire ogni piastra e miscelare con cura il coniugato e i campioni di plasma/gli standard su un agitatore per micropiastre per 1 minuto. Evitare spruzzi.
9. Coprire ogni piastra e incubare a temperatura ambiente ( $22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$ ) per  $120 \pm 5$  minuti.  
Non esporre le piastre alla luce solare diretta durante l'incubazione.
10. Durante l'incubazione, diluire una parte di tampone di lavaggio concentrato 20x con 19 parti di acqua deionizzata o distillata e miscelare con cura. Il tampone di lavaggio 20x fornito è sufficiente per preparare 2 litri di tampone di lavaggio pronto per l'uso.

---

Lavare i pozzetti con 400 µl di tampone di lavaggio pronto per l'uso per almeno 6 cicli. Si consiglia di utilizzare un sistema di lavaggio automatico.

Per ottenere prestazioni ottimali dell'esame, è molto importante risciacquare abbondantemente. Verificare che tutti i pozzetti siano riempiti completamente di tampone di lavaggio fino al bordo ad ogni ciclo di lavaggio. Si consiglia di effettuare un ciclo di ammollo di almeno 5 secondi tra un ciclo e l'altro.

È necessario aggiungere un disinfettante standard da laboratorio al serbatoio di scarico e seguire le procedure previste per la decontaminazione del materiale potenzialmente infettivo.

11. Per rimuovere i residui del tampone di lavaggio, dare dei colpetti alle piastre capovolte su un panno assorbente senza pelucchi. Aggiungere 100 µl di soluzione di substrato enzimatico in ogni pozzetto, coprire ogni piastra e miscelare con cura su un agitatore per micropiastre.
12. Coprire ogni piastra e incubare a temperatura ambiente ( $22 \pm 5$  °C) per 30 minuti.  
Non esporre le piastre alla luce solare diretta durante l'incubazione.
13. Trascorsi i 30 minuti di incubazione, aggiungere 50 µl di soluzione di arresto enzimatico in ogni pozzetto e miscelare.  
È necessario aggiungere la soluzione di arresto enzimatico nei pozzetti seguendo lo stesso ordine e circa alla stessa velocità del substrato nel passaggio 11.
14. Misurare la densità ottica (Optical Density, OD) di ogni pozzetto entro 5 minuti dall'arresto della reazione utilizzando un lettore per micropiastre dotato di filtro da 450 nm e di filtro di riferimento da 620 nm a 650 nm. I valori OD vengono utilizzati per calcolare i risultati.

# Calcoli e interpretazione del test

Il software di analisi QFT Plus può essere utilizzato per analizzare i dati grezzi e calcolare i risultati. È disponibile per il download dal sito [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Assicurarsi di utilizzare la versione più aggiornata del software di analisi QFT-Plus.

Il software effettua un controllo della qualità dell'esame, genera una curva standard e fornisce un risultato del test per ogni paziente, come illustrato nella sezione Interpretazione dei risultati.

In alternativa all'uso del software di analisi QFT-Plus, per determinare i risultati è possibile adottare il metodo descritto di seguito.

## Generazione della curva standard

(Se non viene utilizzato il software di analisi QFT-Plus)

Determinare i valori medi di OD dei replicati dello standard del kit su ogni piastra.

Costruire una curva standard  $\log_{(e)}\text{-}\log_{(e)}$  tracciando il  $\log_{(e)}$  dell'OD media (asse y) rispetto al  $\log_{(e)}$  della concentrazione IFN- $\gamma$  in IU/ml (asse x), omettendo da questi calcoli lo standard zero. Calcolare la bontà di adattamento della curva standard mediante l'analisi della regressione.

Utilizzare la curva standard per determinare la concentrazione dell'IFN- $\gamma$  (UI/ml) per ognuno dei campioni di plasma da analizzare, utilizzando il valore dell'OD di ogni campione.

Questi calcoli possono essere eseguiti utilizzando i pacchetti software forniti con i lettori per micropiastre e i normali fogli di calcolo o programmi software statistici (ad esempio Microsoft® Excel®). Si consiglia di utilizzare questi pacchetti per calcolare l'analisi della regressione, il coefficiente di variazione (%CV) degli standard e il coefficiente di correlazione ( $r$ ) della curva standard.

## Controllo della qualità del test

La precisione dei risultati analitici dipende dalla generazione di una curva standard accurata. Pertanto, i risultati ottenuti dagli standard devono essere esaminati prima di poter interpretare i risultati dei campioni in esame.

Perché il test ELISA possa considerarsi valido:

- Il valore OD medio dello Standard 1 deve essere  $\geq 0,600$ .
- Il %CV dei valori di OD dei replicati per Standard 1 e Standard 2 deve essere  $\leq 15\%$ .
- I valori di OD dei replicati per Standard 3 e Standard 4 non devono discostarsi di oltre 0,040 unità OD dalla loro media.
- Il coefficiente di correlazione ( $r$ ) calcolato a partire dai valori medi di assorbanza degli standard deve essere  $\geq 0,98$ .

Il software di analisi QFT-Plus calcola e documenta questi parametri di controllo della qualità.

Se i criteri summenzionati non vengono soddisfatti, il test non è valido e va ripetuto.

Il valore OD medio dello Standard Zero (diluente verde) deve essere  $\leq 0,150$ . Se il valore OD medio è  $> 0,150$ , è opportuno verificare la procedura di lavaggio delle piastre.

## Interpretazione dei risultati

I risultati del test QFT-Plus devono essere interpretati rispettando i criteri descritti di seguito (Tabella 2).

**Nota importante:** per confermare o escludere la diagnosi di tubercolosi e per valutare la probabilità di LTBI occorre basarsi su una serie di riscontri epidemiologici, anamnestici, medici e diagnostici che devono essere tenuti nella giusta considerazione in fase di interpretazione dei risultati del test QFT-Plus.





Tabella 2. Interpretazione dei risultati QFT-Plus

Nil (UI/ml)	TB1 meno Nil (UI/ml)	TB2 meno Nil (UI/ml)	Mitogen meno Nil (UI/ml)*	Risultato QFT-Plus	Report/Interpretazione
≤ 8,0	≥ 0,35 e ≥ 25% del valore Nil	Qualsiasi	Qualsiasi	Positivo <sup>†</sup>	Infezione da <i>M. tuberculosis</i> probabile
	Qualsiasi	≥ 0,35 e ≥ 25% del valore Nil		Negativo	Infezione da <i>M. tuberculosis</i> NON probabile
	< 0,35 o ≥ 0,35 e < 25% del valore Nil	< 0,35 o ≥ 0,35 e < 25% del valore Nil	≥ 0,5	Indeterminato <sup>‡</sup>	Non è possibile determinare la probabilità di infezione da <i>M. tuberculosis</i>
> 8,0 <sup>§</sup>	< 0,35 o ≥ 0,35 e < 25% del valore Nil	< 0,35 o ≥ 0,35 e < 25% del valore Nil	< 0,5	Indeterminato <sup>‡</sup>	Non è possibile determinare la probabilità di infezione da <i>M. tuberculosis</i>

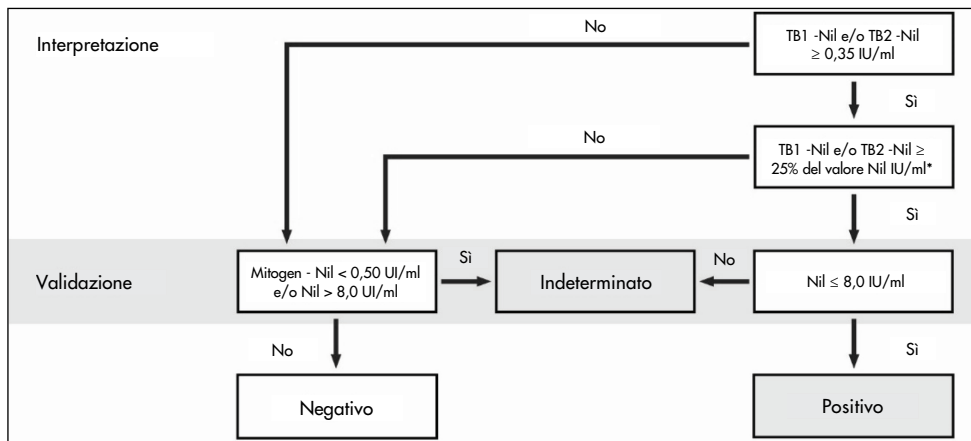
\* Le risposte al controllo positivo Mitogen (e occasionalmente agli antigeni TB) possono essere al di fuori dell'intervallo del lettore per micropiastre. Ciò non influenza i risultati del test. Il software QFT-Plus segnala i valori > 10 ml come > 10 UI/ml.

<sup>†</sup>Ove non vi sia il sospetto di infezione da *M. tuberculosis*, è possibile confermare risultati inizialmente positivi ripetendo il test sui campioni di plasma originali in duplicato con il metodo QFT-Plus ELISA. Se i test ripetuti su uno o entrambi i replicati generano un risultato positivo, il paziente deve essere considerato positivo al test.

<sup>‡</sup>Per le possibili cause consultare la sezione "Risoluzione dei problemi".

<sup>§</sup>Negli studi clinici, meno dello 0,25% dei pazienti presentava livelli di IFN- $\gamma$  > 8,0 UI/ml per il valore Nil.

L'ampiezza del livello di IFN- $\gamma$  misurato non può essere correlata allo stadio o al grado dell'infezione, al livello della risposta immunitaria o alle probabilità di progressione della malattia attiva. Una risposta positiva per TB nei soggetti negativi per il controllo Mitogen è rara, ma è stata riscontrata in alcuni pazienti affetti da tubercolosi. Ciò indica che la risposta dell'IFN- $\gamma$  all'antigene TB è più forte della risposta al controllo Mitogen, il che è possibile in quanto il livello del Mitogen non simula al massimo la produzione dell'IFN- $\gamma$  da parte dei linfociti.



\* La validità di TB1 meno Nil o di TB2 meno Nil dipende dalla quantità  $\geq 25\%$  del valore Nil IU/ml che proviene dalla stessa provetta del risultato originale  $\geq 0,35$  IU/ml.

Figura 6. Grafico interpretativo del test QFT-Plus

---

## Limitazioni

I risultati del test QFT-Plus devono essere utilizzati tenendo conto dell'epidemiologia, dello stato clinico attuale e di altre valutazioni diagnostiche relative a ogni paziente.

I pazienti con valori Nil maggiori di 8,0 UI/ml sono classificati come "indeterminati" in quanto una risposta più alta del 25% agli antigeni TB potrebbe non rientrare nell'intervallo di misurazione dell'esame.

È possibile che i risultati inaffidabili o indeterminati siano dovuti a:

- Deviazioni dalla procedura descritta nel foglietto illustrativo
- Livelli eccessivi di IFN- $\gamma$  in circolo o presenza di anticorpi eterofili
- Attesa di più di 16 ore tra il prelievo del campione ematico e l'incubazione a 37 °C.  
Non applicabile se si utilizza un flusso di lavoro a 2-8°C con provetta con eparina di litio o di sodio.

# Caratteristiche di prestazione

## Studi clinici

Poiché non esiste un test standard definito per l'infezione tubercolare latente (LTBI), in termini pratici non è possibile effettuare una stima della sensibilità e della specificità del test QFT-Plus. La specificità del test QFT-Plus è stata stimata per approssimazione, valutando le percentuali di falsi positivi nei soggetti considerati a basso rischio (nessun fattore di rischio noto) relativamente all'infezione tubercolare. La sensibilità è stata stimata per approssimazione, valutando gruppi di pazienti con TB attiva confermata tramite coltura.

### Specificità

È stato svolto uno studio di valutazione della specificità del test QFT-Plus che ha coinvolto 409 soggetti. I dati anagrafici e i fattori di rischio per l'esposizione alla TB sono stati determinati utilizzando un sondaggio standardizzato al momento dell'esecuzione dei test.

Sulla base dei dati rilevati per i 2 gruppi di pazienti considerati a basso rischio (nessun fattore di rischio noto) di contrarre un'infezione tubercolare, la specificità complessiva del test QFT-Plus è stata del 97,6% (399 su 409) (Tabella 3 e Tabella 4).

Tabella 3. Risultati dello studio di specificità del test QFT-Plus suddivisi per sito

Studio	Positivo	Negativo	Indeterminato	Specificità (IC 95%)
Giappone	4	203	0	98% (95–100%)
Australia	6	196	0	97% (94–99%)

Tabella 4. Risultati dello studio di specificità del test QFT-Plus suddivisi per provetta di antigene TB

Studio	TB1	TB2	QFT-Plus
Positivo	5	10	10
Negativo	404	399	399
Indeterminato	0	0	0
Specificità (IC 95%)	98,8% (97,2–99,6)	97,6% (95,6–98,8)	97,6% (95,6–98,8)

## Sensibilità alla TB attiva

Sebbene non esista un test standard definitivo per l'infezione tubercolare latente (LTBI), la coltura microbiologica del batterio *M. tuberculosis* rappresenta un valido surrogato, in quanto i pazienti ammalati sono, per definizione, infetti. Per valutare la sensibilità del test QFT-Plus sono stati esaminati i casi sospetti di TB provenienti dai 4 siti di studio in Australia e Giappone, per i quali è stata successivamente confermata l'infezione da *M. tuberculosis* mediante coltura (Tabella 5 e Tabella 6). I pazienti erano in cura da meno di 14 giorni quando sono stati sottoposti al prelievo ematico per il test QFT-Plus.

Riepilogando i risultati dei 4 gruppi di pazienti con coltura positiva per *M. tuberculosis*, la sensibilità complessiva del test QFT-Plus per quanto riguarda la patologia TB è stata del 95,3% (164 su 172). Nei 4 gruppi, 159 pazienti sono risultati positivi per TB1 e TB2, 1 paziente è risultato positivo solo per TB1 e 4 solo per TB2. In totale i risultati indeterminati sono stati soltanto l'1,1% dei campioni (2 su 174). Il risultato dell'antigene TB2 ha identificato in modo corretto 1 paziente (con positività confermata anche mediante coltura) per il quale la sola ricerca dell'antigene TB1 avrebbe altrimenti prodotto un risultato indeterminato (Mitogen basso) (vedere Tabella 5 e Tabella 6).

Tabella 5. Risultati dello studio di sensibilità del test QFT-Plus suddivisi per sito

Siti di studio	Positivo	Negativo	Indeterminato	Sensibilità QFT-Plus* (IC 95%)
Sito 1 Giappone	36	7	0	84% (69–93)
Sito 2 Giappone	53	1	2	98% (90–100)
Sito 3 Giappone	54	0	0	100% (93-100)
Sito Australia	21	0	0	100% (84-100)

\* La sensibilità è basata sul numero totale di test validi, esclusi i risultati indeterminati.

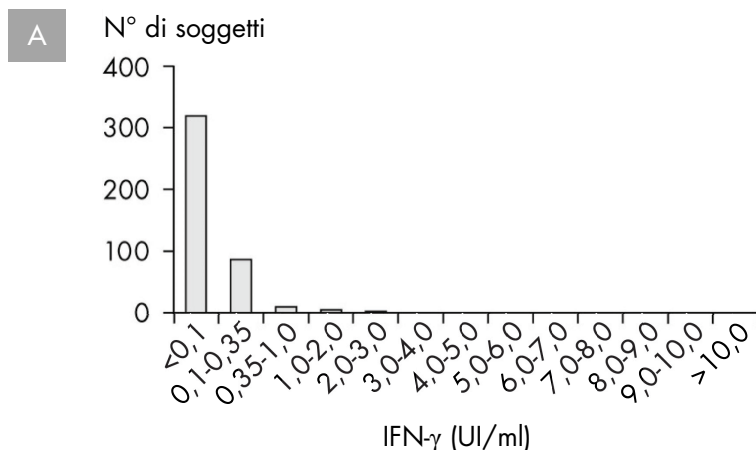
Tabella 6. Risultati dello studio di sensibilità del test QFT-Plus suddivisi per provetta di antigene TB

	TB1	TB2	QFT-Plus
Positivo	160	163	164
Negativo	11	9	8
Indeterminato	3	2	2
Sensibilità† (95% CI)	93,6% (88,8-96,7)	94,8% (90,3-97,6)	95,3% (90,9-97,9)

\*La sensibilità è basata sul numero totale di test validi, esclusi i risultati indeterminati.

### Distribuzioni della risposta osservata (stratificazione del rischio)

Le diverse risposte dell'IFN- $\gamma$  agli antigeni TB1, TB2 e al controllo che sono state osservate nei trial clinici, sono state stratificate in base al rischio di infezione da *M. tuberculosis* (Figure 7-9). Il gruppo a rischio misto comprende soggetti che sono rappresentativi di una popolazione generale di screening, che include soggetti con e senza fattori di rischio relativamente all'esposizione alla TB e con basse probabilità di TB attiva (cioè LTBI).



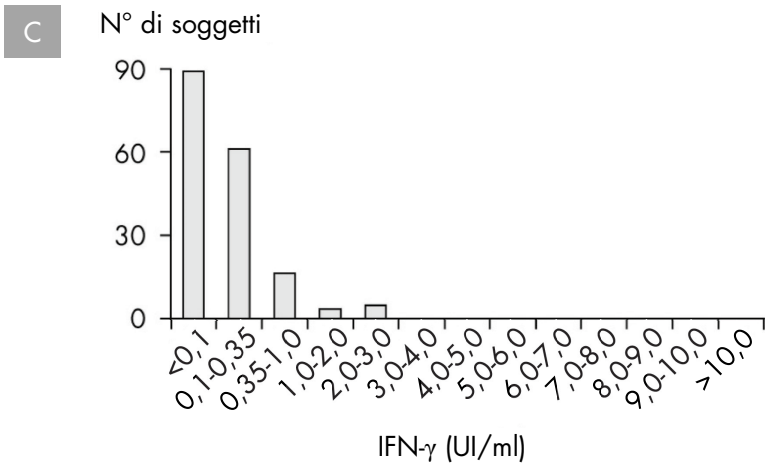
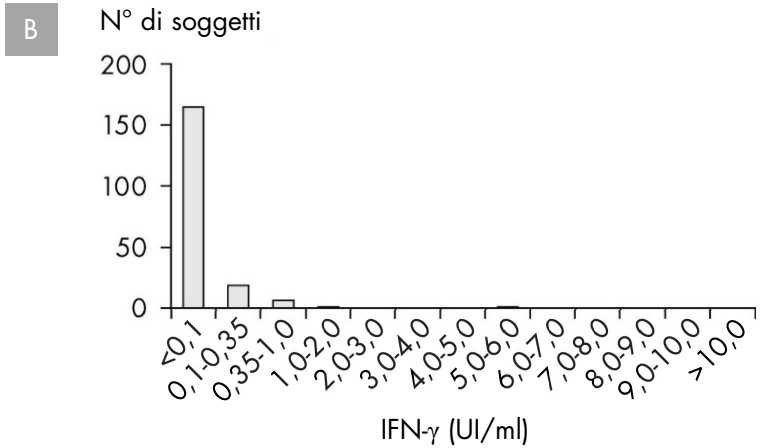


Figura 7. Distribuzione di risultati Nil. **A.**Distribuzione dei risultati Nil in una popolazione a basso rischio (n=409). **B.**Distribuzione dei risultati Nil in una popolazione a rischio misto (n=194). **C.**Distribuzione dei risultati Nil in una popolazione con infezione da *M. tuberculosis* confermata tramite coltura (n=174).



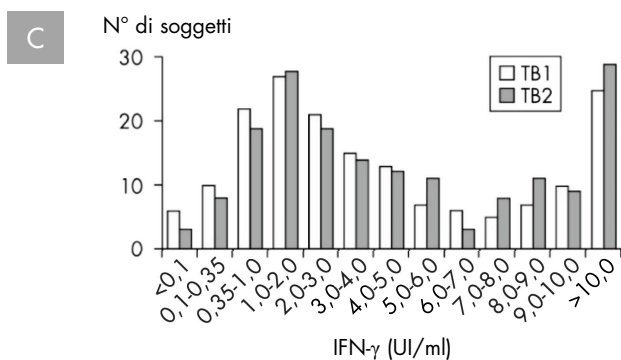
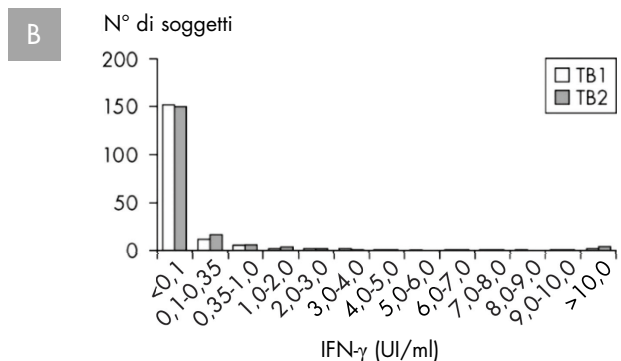
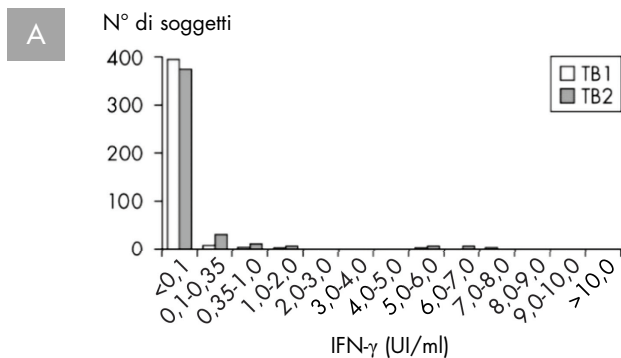


Figura 8. Distribuzione di TB1 e TB2 (meno Nil). **A.** Distribuzione dei risultati TB1 e TB2 (meno Nil) in una popolazione a basso rischio (n=409). **B.** Distribuzione dei risultati TB1 e TB2 (meno Nil) in una popolazione a rischio misto (n=194). **C.** Distribuzione dei risultati TB1 e TB2 (meno Nil) in una popolazione con infezione da *M. tuberculosis* confermata tramite coltura (n=174).

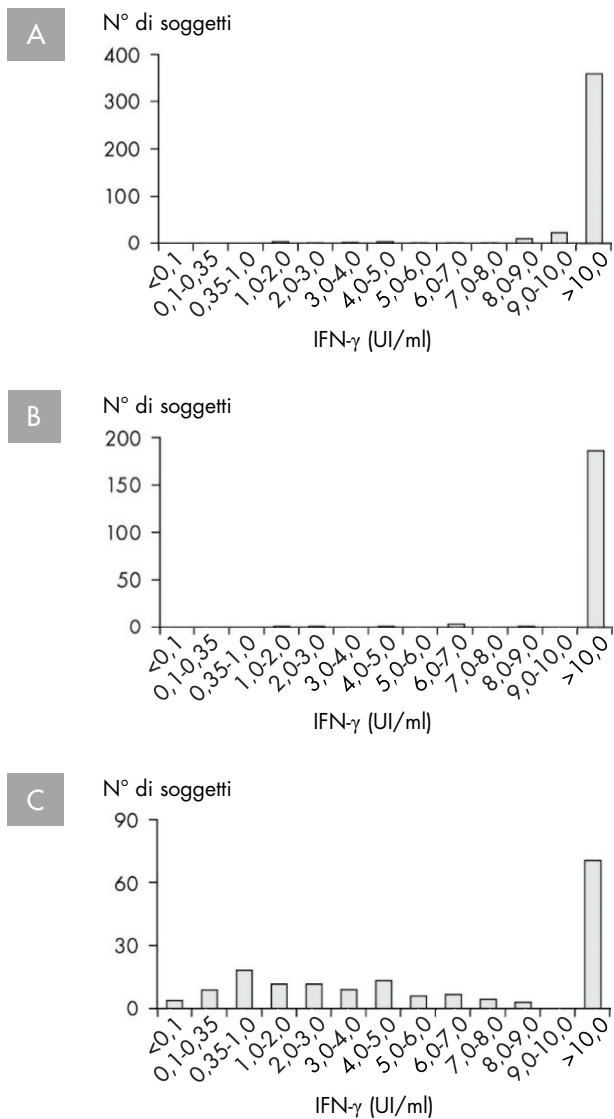


Figura 9. Distribuzione dei risultati per Mitogen (meno Nil). **A.** Distribuzione dei risultati per Mitogen (meno Nil) in una popolazione a basso rischio (n=409). **B.** Distribuzione dei risultati per Mitogen (meno Nil) in una popolazione a rischio misto (n=194). **C.** Distribuzione dei risultati per Mitogen (meno Nil) in una popolazione con infezione da *M. tuberculosis* confermata (n=169).

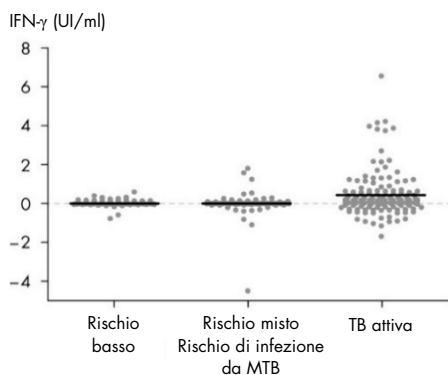


Figura 10. Differenza osservata tra i valori TB1 e TB2 (meno Nil), stratificati in base al rischio. Popolazione a basso rischio (n=409), popolazione a rischio misto (n=189) e popolazione con infezione da *M. tuberculosis* confermata tramite coltura (n=141). I valori TB1 sono stati sottratti dai valori TB2. I soggetti con valori per TB1 o TB2 >10,0 UI/ml sono stati esclusi perché non rientravano nell'intervallo lineare dell'esame.

## Caratteristiche prestazionali dell'esame

La linearità del QFT-Plus ELISA è stata dimostrata distribuendo in modo casuale, sulla piastra ELISA, 5 repliche di 11 pool di plasma con concentrazioni note di IFN- $\gamma$ . La retta di regressione lineare ha una pendenza di  $1,002 \pm 0,011$  e un coefficiente di correlazione di 0,99 (Figura 11).

Il limite di sensibilità del QFT-Plus ELISA è di 0,065 UI/ml e non vi sono prove di un effetto gancio (prozona) a dosi elevate con concentrazioni di IFN- $\gamma$  fino a 10.000 UI/ml.

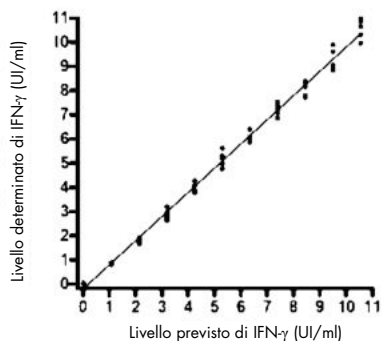


Figura 11. Profilo di linearità del QFT-Plus ELISA.

L'imprecisione nell'ambito dello stesso esame o tra esami diversi (%CV) QFT-Plus ELISA è stata stimata analizzando 20 campioni di plasma con concentrazioni variabili di IFN- $\gamma$  in repliche di 3 campioni, presso 3 laboratori diversi, per 3 giorni non consecutivi e con 3 operatori diversi. Pertanto, ogni campione è stato analizzato 27 volte, in 9 sedute di esame indipendenti. Un campione era un controllo Nil e aveva una concentrazione calcolata di IFN- $\gamma$  pari a 0,08 UI/ml (IC 95%: 0,07-0,09). Per i restanti 19 campioni di plasma, la concentrazione era compresa tra 0,33 (IC 95%: 0,31-0,34) e 7,7 UI/ml (IC 95%: 7,48-7,92).

L'imprecisione nell'ambito della stessa seduta o tra esami diversi è stata calcolata stimando una media dei %CV per ciascun campione di plasma analizzato, contenente l'IFN- $\gamma$ , da ciascuna seduta della piastra ( $n = 9$ ). L'imprecisione è compresa tra 4,1 e 9,1 %CV. La covarianza media nell'ambito della stessa seduta (IC  $\pm$ 95%) è stata del 6,6%  $\pm$  0,6%. La media del plasma a zero IFN- $\gamma$  è stata del 14,1 %CV.

L'imprecisione totale o tra esami è stata determinata confrontando 27 concentrazioni calcolate di IFN- $\gamma$  per ogni campione di plasma analizzato. L'imprecisione tra esami è compresa tra 6,6 e 12,3 %CV. La media complessiva di %CV (IC  $\pm$ 95%) era di 8,7%  $\pm$  0,7%. Il plasma con IFN- $\gamma$  zero ha prodotto un risultato di 26,1 %CV. Questo livello di variazione è prevedibile perché la concentrazione calcolata di IFN- $\gamma$  è bassa e la variazione di una stima bassa di concentrazione sarà superiore rispetto a quella delle concentrazioni più alte.

La riproducibilità del test QFT-Plus è stata determinata utilizzando i campioni di sangue di 102 soggetti con fattori di rischio misti per l'infezione da *M. tuberculosis*. Sono stati valutati tre differenti operatori e condizioni di laboratorio.

Sono state eseguite 3 determinazioni diagnostiche per ciascun soggetto, in totale 306 per tutti i soggetti. Complessivamente, la riproducibilità diagnostica è stata del 99% (IC 95%: 97,2-99,7), dove il risultato diagnostico è stato concordante per 303 determinazioni su 306. I risultati dei 3 soggetti che erano prossimi al limite di cut-off spiegano tutta la variazione.

## Diagnosi di tubercolosi latente

Sono stati pubblicati svariati studi che dimostrano il livello di prestazioni del test QFT, precursore del test QFT-Plus, in varie popolazioni considerate ad alto rischio di infezione da MTB. Le principali conclusioni alle quali sono giunti alcuni studi selezionati sono illustrate nella Tabella 7.

Tabella 7. Selezione di studi pubblicati sul test QFT

Popolazione/condizione	Risultati e conclusioni	Numero totale di studi pubblicati
Età pediatrica	Le prestazioni sui pazienti pediatrici, inclusi bambini di età inferiore ai 5 anni di età (45-46), offrono una maggiore accuratezza rispetto al test a rilascio di interferone gamma (Interferon Gamma Release Assay, IGRA) basato su ELISpot (8). Lo studio più ampio finora pubblicato sulle prestazioni del test QFT rispetto alle prestazioni del test TST ha coinvolto bambini in Vietnam, Filippine e Messico e avvalorava l'uso preferenziale del test QFT rispetto al test TST per lo screening per LTBI tra i bambini immigrati (46). Uno studio sui contatti limitati mostra un migliore valore predittivo rispetto al test TST nei bambini (47) e un rischio di progressione verso la patologia TB entro due anni ben 8 volte superiore tra coloro che si convertono a QFT rispetto a coloro che non si convertono (48). La discordanza QFT-negativi/TST-positivi è elevata nei bambini sottoposti alla vaccinazione antitubercolare (BCG) (46, 49), ma non sono stati riscontrati effetti sulla risposta al controllo Mitogen nei bambini di età inferiore ai 5 anni (49) e sono state osservate percentuali basse di risultati indeterminati negli screening di routine dei bambini immigrati (46).	152
Gravidanza	In un ambiente a bassa incidenza, il test QFT assicura prestazioni uniformi e coerenti in ciascun trimestre di gestazione, offre risultati equivalenti a quelli delle pazienti non in stato di gravidanza, è molto più specifico e almeno tanto sensibile quanto il test TST, ma offre migliori capacità predittive della progressione della malattia (50). In un ambiente ad alta incidenza, il test QFT assicura prestazioni più stabili per l'intera durata della gestazione e fornisce risultati più prossimi alla prevalenza di LTBI di fondo rispetto al test TST. Gli autori dello studio hanno tuttavia concluso che la gravidanza influenza sia il test QFT che il test TST (51).	6

La tabella continua alla pagina seguente

Tabella 7. Selezione di studi pubblicati sul test QFT (Continua)

Popolazione/condizione	Risultati e conclusioni	Numero totale di studi pubblicati
HIV/AIDS	Sia i test IGRA che i test TST sono suscettibili all'influenza di un'infezione da HIV. Le prove raccolte suggeriscono di adoperare cautela nell'interpretazione dei risultati in presenza di conteggi di CD4+ <200 (52). Il test QFT è meno suscettibile rispetto ai test IGRA basati su ELISpot e ai test TST (53-55). Con una sola visita in laboratorio per i test IGRA, viene superato il problema della popolazione che non si ripresenta ai richiami, tipico dei test TST (53).	101
Terapie con immunosoppressori	Il test QFT subisce di meno l'influenza delle terapie con immunosoppressori rispetto al test TST e ha una migliore correlazione con i fattori di rischio per TB (23, 27). Rispetto al test TST, il test QFT ha un'elevata sensibilità nei pazienti con malattia reumatica (23, 56, 57) e una maggiore specificità perché riduce al minimo i falsi positivi e la somministrazione di terapie non necessarie che si verificherebbe con il test TST (23, 57, 58).	112
Operatori sanitari	Ha una maggiore specificità, con un numero minore di falsi positivi rispetto al test TST e un costo economico inferiore rispetto al test TST (59-62). La variabilità in prossimità della soglia è un dato atteso nei test seriali, a causa del cut-point dicotomico e della variabilità inerente di un test biologico (63). Alcuni studi dimostrano percentuali più alte di conversione/regressione rispetto ai test TST nei test seriali di operatori sanitari a basso rischio (64, 65). Negli USA, il CDC riconosce che il criterio leniente per definire la conversione IGRA può produrre più conversione di quanta non sia osservata con i criteri quantitativi più restrittivi del test TST, tanto che le strategie che prevedono la ripetizione dei test sono risultate più efficaci nella gestione del fenomeno di conversione/regressione (65-68).	111
Contatti TB	Ha un valore predittivo positivo (PPV) e un valore predittivo negativo (NPV) maggiore del test TST (47); richiede un'unica visita in ambulatorio per i pazienti che probabilmente non tornerebbero (63); ha una migliore correlazione con l'esposizione (69), osservata in particolare nei soggetti vaccinati con BCG e nelle popolazioni dei Paesi dove viene praticata la vaccinazione con BCG (70, 71).	89
Trapianti	Ha quanto meno la stessa efficacia del test TST, ma è meno influenzato dalla malattia d'organo allo stadio terminale rispetto al test TST (22).	23

La tabella continua alla pagina seguente

Tabella 7. Selezione di studi pubblicati sul test QFT (Continua)

Popolazione/condizione	Risultati e conclusioni	Numero totale di studi pubblicati
Diabete	Le prove raccolte da un numero esiguo di pubblicazioni riguardanti un numero limitato di soggetti sono contraddittorie. Uno studio svolto in una zona a bassa incidenza ha evidenziato che la sensibilità del test QFT non sembrerebbe compromessa dalla presenza di diabete nei pazienti con TB (72). Uno studio svolto in un'area ad alta incidenza, come la Tanzania, mirava a dimostrare un impatto negativo del diabete sulla produzione dell'IFN- $\gamma$ , ma non teneva tuttavia conto delle infezioni concomitanti come l'HIV e gli elminti (73). In alcuni studi svolti in Vietnam su 838 diabetici autodichiarati, con sospetta TB a causa di radiografie toraciche anomale, o con TB confermata tramite coltura (n=128), la positività al test QFT è risultata essere uguale o maggiore dei cut-point del test TST rispettivamente di 10 e 15 mm (74).	9
Insufficienza renale terminale	La correlazione tra i risultati positivi al test QFT e i fattori di rischio per TB è migliore rispetto al test TST e meno associata con BCG (75).	45
Migranti	Alcuni studi dimostrano che, a differenza del test TST, il test QFT non è influenzato dalla vaccinazione BCG e dall'età (74). Il test QFT è risultato il metodo più vantaggioso dal punto di vista economico (76). In ambienti a bassa incidenza, la maggioranza dei casi di TB riguarda soggetti nati all'estero e riattivazioni di LTBI dopo l'arrivo nel Paese di destinazione (77). Lo studio più ampio finora pubblicato sulle prestazioni del test QFT rispetto alle prestazioni del test TST, ha coinvolto bambini immigrati e avvalorato l'uso preferenziale del test QFT rispetto al test TST per lo screening per LTBI tra i bambini immigrati (46).	29

---

# Informazioni tecniche

## Risultati indeterminati

I risultati indeterminati non sono frequenti e possono essere correlati allo stato immunitario del soggetto sottoposto al test, ma anche ad una serie di fattori tecnici qualora le istruzioni fin qui fornite non dovessero essere rispettate.

Se si sospettano problemi tecnici riguardanti la conservazione dei reagenti, il prelievo ematico o la manipolazione dei campioni, ripetere l'intero test QFT-Plus con un nuovo campione di sangue. Se si sospettano scostamenti rispetto alle istruzioni di lavaggio o alle procedure di esecuzione del test ELISA approvate, ripetere il test ELISA dei plasma stimolati. I risultati indeterminati che sono dovuti a valori Mitogen bassi o a valori Nil alti non dovrebbero cambiare ripetendo il test, a meno che non si sia verificato un errore nel test ELISA. I risultati indeterminati devono essere segnalati con questa definizione nel referto. Il medico dovrà decidere se prelevare un nuovo campione o adottare le procedure che riterrà più opportune.

## Coaguli nei campioni di plasma

In caso di formazione di coaguli di fibrina durante la conservazione a lungo termine del plasma, è necessario centrifugare i campioni per favorire la sedimentazione del materiale coagulato e il pipettamento del plasma.



# Guida alla risoluzione dei problemi

Questa guida alla risoluzione dei problemi può essere utile per risolvere eventuali situazioni problematiche. Per ulteriori informazioni, consultare anche le informazioni tecniche disponibili su: [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com). Per informazioni sui contatti, consultare il retro di copertina.

## Risoluzione dei problemi ELISA

### Sviluppo di colorazione aspecifica

Possibile causa	Soluzione
a) Lavaggio incompleto della piastra	Lavare la piastra almeno 6 volte con 400 µl di tampone di lavaggio per pozzetto. È possibile che siano necessari più di 6 cicli di lavaggio a seconda del sistema di lavaggio utilizzato. È opportuno effettuare un ciclo di ammollo di almeno 5 secondi tra un ciclo e l'altro.
b) Contaminazione crociata dei pozzetti ELISA	Pipettare e miscelare il campione con la massima cura per contenere i rischi.
c) Kit/componenti scaduti	Assicurarsi di utilizzare il kit prima della data di scadenza. Assicurarsi di utilizzare lo standard ricostituito e il coniugato concentrato 100x entro tre mesi dalla data di ricostituzione.
d) Soluzione di substrato enzimatico contaminata	Se si osserva una colorazione blu, gettare via il substrato. Assicurarsi di utilizzare serbatoi puliti per i reagenti.
e) Miscelazione del plasma nelle provette QFT-Plus prima della raccolta	Dopo la centrifugazione, evitare di pipettare su e giù o di miscelare il plasma in qualsiasi modo prima di effettuare la raccolta. Fare sempre attenzione a non alterare il materiale presente sulla superficie del gel.

### Valori bassi delle letture della densità ottica per gli standard

Possibile causa	Soluzione
a) Errore di diluizione dello standard	Assicurarsi che le diluizioni dello standard del kit siano preparate correttamente, secondo le istruzioni fornite in questo foglietto informativo.
b) Errore di pipettamento	Assicurarsi che le pipette siano calibrate e utilizzate in conformità alle istruzioni del produttore.
c) Temperatura di incubazione troppo bassa	L'incubazione del test ELISA dovrebbe avvenire a temperatura ambiente ( $22 \pm 5^\circ\text{C}$ ).
d) Periodo di incubazione troppo breve	L'incubazione della piastra con il coniugato, gli standard e i campioni deve durare $120 \pm 5$ minuti. La soluzione di substrato enzimatico viene incubata sulla piastra per 30 minuti.

## Risoluzione dei problemi ELISA

- |  |   |
|--|---|
| e) Filtro utilizzato per il lettore della piastra non valido | La lettura della piastra deve avvenire a 450 nm con un filtro di riferimento da 620 a 650 nm.   |
| f) Reagenti troppo freddi                                    | Tutti i reagenti, tranne il coniugato concentrato 100x, devono essere portati a temperatura ambiente prima di avviare l'esame. Ciò richiede circa un'ora.   |
| g) Kit/componenti scaduti                                    | Assicurarsi di utilizzare il kit prima della data di scadenza. Assicurarsi che lo standard ricostituito e il coniugato concentrato 100x vengano utilizzati entro 3 mesi dalla data di ricostituzione. |

### Elevato rumore di fondo

#### Possibile causa

#### Soluzione

- |  |  |
|--|--|
| a) Lavaggio incompleto della piastra             | Lavare la piastra almeno 6 volte con 400 µl di tampone di lavaggio per pozzetto. È possibile che siano necessari più di 6 cicli di lavaggio a seconda del sistema di lavaggio utilizzato. È opportuno effettuare un ciclo di ammollo di almeno 5 secondi tra un ciclo e l'altro. |
| b) Temperatura di incubazione troppo elevata     | L'incubazione del test ELISA dovrebbe avvenire a temperatura ambiente (22°C ± 5°C).  |
| c) Kit/componenti scaduti                        | Assicurarsi di utilizzare il kit prima della data di scadenza. Assicurarsi che lo standard ricostituito e il coniugato concentrato 100x vengano utilizzati entro 3 mesi dalla data di ricostituzione.  |
| d) Soluzione di substrato enzimatico contaminata | Se si osserva una colorazione blu, gettare via il substrato. Assicurarsi di utilizzare serbatoi puliti per i reagenti.   |

### Curva standard non lineare e variabilità dei duplicati

#### Possibile causa

#### Soluzione

- |   |  |
|---|--|
| a) Lavaggio incompleto della piastra  | Lavare la piastra almeno 6 volte con 400 µl di tampone di lavaggio per pozzetto. È possibile che siano necessari più di 6 cicli di lavaggio a seconda del sistema di lavaggio utilizzato. È opportuno effettuare un ciclo di ammollo di almeno 5 secondi tra un ciclo e l'altro. |
| b) Errore di diluizione dello standard  | Assicurarsi che le diluizioni dello standard siano preparate correttamente, secondo le istruzioni fornite in questo foglietto illustrativo.  |
| c) Miscelazione inadeguata  | Miscelare perfettamente i reagenti capovolgendo i flaconi o agitandoli in vortex prima di aggiungerli alla piastra.  |
| d) Tecnica di pipettamento incostante o interruzione durante la preparazione dell'esame | L'aggiunta del campione e dello standard deve avvenire in modo ininterrotto. Tutti i reagenti devono essere preparati prima di iniziare l'esame.   |

QIAGEN mette a disposizione gratuitamente informazioni sui prodotti e guide tecniche. È possibile richiederle direttamente al distributore o visitare il sito [www.QuantiFERON.com](http://www.QuantiFERON.com).

---

# Bibliografia

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

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

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

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

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

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



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














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

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

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

# Simboli

I seguenti simboli potrebbero comparire sulle confezioni e sulle etichette:

Simbolo	Definizione del simbolo
 2 x 96	Sufficiente per 2 x 96 preparazioni di campioni
	Produttore legale
	Simbolo del marchio CE-IVD
	Per uso diagnostico in vitro
	Codice del lotto
	Numero di catalogo
	Codice GTIN
	Utilizzare entro la data indicata
	Limite di temperatura
	Consultare le istruzioni per l'uso
	Non riutilizzare
	Tenere al riparo dalla luce
	Numero del materiale
Rn	"R" indica la revisione delle Istruzioni per l'uso (manuale) e "n" indica il numero della revisione

---

## Informazioni di contatto

Per l'assistenza tecnica e per ulteriori informazioni, è possibile chiamare il numero 00800-22-44-6000, visitare il sito del servizio di assistenza tecnica [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) o contattare uno dei reparti del servizio tecnico QIAGEN (vedere il retro di copertina o il sito [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

# Procedura sintetica del test

## Fase 1: incubazione del sangue

1. Raccogliere il sangue dei pazienti nelle provette per prelievo ematico e miscelare scuotendo le provette energicamente per dieci (10) volte in modo da assicurare che l'intera superficie interna della provetta sia ricoperta di sangue. In questo modo, gli antigeni sulle pareti delle provette si scioglieranno.
2. Incubare le provette in posizione verticale a  $37 \pm 1$  °C per 16-24 ore.
3. Dopo l'incubazione, centrifugare le provette per 15 minuti tra 2000 e  $3000 \times g$  RCF (g) per separare il plasma dai globuli rossi.
4. Dopo la centrifugazione, evitare di pipettare su e giù o di miscelare il plasma in qualsiasi modo prima di effettuare la raccolta. Fare sempre attenzione a non alterare il materiale presente sulla superficie del gel.



## Fase 2: Test ELISA per IFN- $\gamma$

1. Equilibrare i componenti ELISA, tranne il coniugato concentrato 100x, a temperatura ambiente ( $22^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$ ) per almeno 60 minuti.
2. Ricostituire lo standard del kit a 8,0 UI/ml con acqua distillata o deionizzata. Preparare quattro (4) diluizioni dello standard.
3. Ricostituire il coniugato concentrato 100x liofilizzato con acqua distillata o deionizzata.

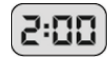


4. Preparare il coniugato pronto per l'uso con il Diluente verde e aggiungerne 50 µl in tutti i pozzetti.



5. Aggiungere 50 µl di campioni di plasma di test e 50 µl di standard nei pozzetti opportuni. Miscelare con l'agitatore.

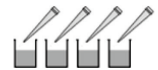
6. Incubare per  $120 \pm 5$  minuti a temperatura ambiente.



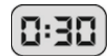
7. Lavare i pozzetti almeno 6 volte con 400 µl di tampone di lavaggio per pozzetto.



8. Aggiungere 100 µl di soluzione di substrato enzimatico nei pozzetti. Miscelare con l'agitatore.



9. Incubare per 30 minuti a temperatura ambiente.



10. Aggiungere 50 µl di soluzione di arresto enzimatico a tutti i pozzetti. Miscelare con l'agitatore.



11. Leggere i risultati a 450 nm con un filtro di riferimento da 620 a 650 nm.



12. Analizzare i risultati.





## Modifiche rilevanti

Sezione	Pagina	Modifiche
Varie	Varie	Aggiunte le istruzioni correlate all'uso della provetta con eparina di litio o di sodio
Varie	Varie	Aggiunte le istruzioni correlate al flusso di lavoro del prelievo ematico a 2–8°C
Varie	Varie	Il coperchio della piastra ora è un materiale necessario ma non fornito

## Cronologia delle revisioni del manuale

Documento	Modifiche
R6 04/2019	Modifiche nell'eparina di litio/eparina di sodio Nuove istruzioni di lavoro per il flusso di lavoro del prelievo ematico a 2–8°C Coperchi delle piastre rimossi dalle piastre QF

Marchi commerciali: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (Gruppo QIAGEN); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProClin® (Rohm and Haas Co.).

Contratto di licenza limitata per il test QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA

L'utilizzo di questo prodotto comporta per l'acquirente o l'utente del prodotto l'accettazione dei seguenti termini:

1. Il prodotto può essere utilizzato esclusivamente in conformità ai protocolli forniti insieme al prodotto e a questo foglietto illustrativo e soltanto con i componenti contenuti nel rispettivo kit. QIAGEN non concede alcuna licenza, nell'ambito della sua proprietà intellettuale, per l'utilizzo o l'integrazione dei componenti di questo kit con qualsiasi componente non incluso in questo kit, fatta eccezione per i protocolli forniti con il prodotto e questo foglietto illustrativo.
2. Se non espressamente dichiarato nelle licenze, QIAGEN non garantisce in alcun modo che questo pannello e/o il relativo impiego non violino i diritti di terze parti.
3. Questo kit e i relativi componenti sono concessi in licenza per un unico uso e non possono essere riutilizzati, rinnovati o rivenduti, salvo indicazioni contrarie di QIAGEN.
4. QIAGEN esclude specificamente qualunque altra licenza, espressa o implicita, che non rientri tra quelle espressamente dichiarate.
5. L'acquirente e l'utente del kit acconsentono a non intraprendere e a non permettere a nessun altro di intraprendere qualsiasi iniziativa che possa determinare o agevolare qualunque azione di cui si fa divieto sopra. QIAGEN farà valere i divieti di questo Contratto di licenza limitata presso qualsiasi foro e otterrà il risarcimento di tutte le spese sostenute a scopo di indagine e consulenza legale, ivi comprese le parcelle degli avvocati, con riferimento a qualsiasi causa legale intentata per fare rispettare questo Contratto di licenza limitata o qualsiasi altro diritto di proprietà intellettuale correlato a questo kit e/o ai relativi componenti.

Per i termini di licenza aggiornati, visitare il sito [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2019, QIAGEN, tutti i diritti riservati.

---

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

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

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

Medio Oriente/Africa | [techserviceQFT-eu@qiagen.com](mailto:techserviceQFT-eu@qiagen.com)

America latina (esclusi Brasile e Messico) | [techservice-latam@qiagen.com](mailto:techservice-latam@qiagen.com)

---

Note

---

Note

