

Huhtikuu 2019

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



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Versio 1



In vitro -diagnostiikkaan

Kokoveren IFN- γ -testi ESAT-6- ja CFP-10-peptidiantigeenivasteiden mittaamiseen



622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
Saksa



R6 1083163FI

Sample to Insight



Sisältö

Käyttötarkoitus.....	5
Tiivistelmä ja testin kuvaus	5
Testin periaatteet	7
Testin suorittamiseen vaadittava aika	9
Komponentit ja säilytys.....	10
Tarvittavat materiaalit (jotka eivät kuulu toimitukseen).....	12
Näytteiden säilytys ja käsittely.....	13
Verinäyteputket	13
Reagenssisarjat	13
Käyttövalmiit ja käytetyt reagenssit	13
Varoitukset ja varoimet	14
Varoitukset	14
Varoimet.....	15
Näytteen ottaminen ja käsittely.....	18
Käyttöohjeet.....	24
Vaihe 1– veren inkubointi ja plasman kerääminen	24
Vaihe 2 – IFN- γ ELISA	25
Laskennat ja testien tulkinta	30
Standardikäyrän laatiminen.....	30
Testin laadunvarmistus	31
Tulosten tulkitseminen	31
Rajoitukset	34



Suorituskykyominaisuudet	35
Kliiniset tutkimukset	35
Testin suoritusarvot	41
Teknisiä tietoja	46
Määrittämättömät tulokset	46
Hyytyneet plasmanäytteet	46
Ongelmien ratkaisu	47
Lähdeviitteet	49
Merkinnät	58
Yhteystiedot	59
Testimenetelmä lyhyesti	60
Vaihe 1 – veren inkubointi	60
Vaihe 2 – IFN- γ ELISA	60
Merkittävät muutokset	62
Käsikirjan muutoshistoria	62

Käyttötarkoitus

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) on in vitro -diagnostinen testi, jossa käytetään ESAT-6- ja CFP-10-proteiineja simuloivaa peptidiseosta solujen stimuloimiseen heparinisoidussa kokoveressä. γ -interferonin (IFN- γ) havaitsemista entsyymivälitteisellä immunosorbenttimäärityksellä (ELISA) käytetään tunnistamaan *Mycobacterium tuberculosis* -tartunnalle ominaisten peptidiantigeenien in vitro -vasteet.

QFT-Plus on epäsuora *M. tuberculosis* -infektion (mukaan lukien itse sairaus) testi, ja sitä käytetään yhdessä riskiarvioinnin, kuvaustutkimusten ja muiden lääketieteellisten ja diagnostisten arvioiden kanssa.

Tiivistelmä ja testin kuvaus

Tuberkuloosi on tarttuva sairaus, jonka aiheuttavat *M. tuberculosis* (MTB) -ryhmän organismit (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*). Ne leviävät tyypillisesti uusiin isäntiin hengitysteiden tuberkuloosia sairastavien potilaiden uloshengittämien pisaroiden välityksellä. Äskettäin tartunnan saanut henkilö saattaa sairastua tuberkuloosiin useiden viikkojen tai kuukausien kuluessa, mutta useimmat tartunnan saaneet henkilöt pysyvät terveinä. Joillekin jää latentti tuberkuloosi-infektio (LTBI), tarttumaton ja oireeton tila, ja he saattavat sairastua tuberkuloosiin useita kuukausia tai vuosia myöhemmin. LTBI:n diagnosoinnin päätarkoituksena on lääkinnällisen hoidon tarpeen harkinta tuberkuloosin ehkäisemistä varten. Viime aikoihin saakka latentin tuberkuloosi-infektion (LTBI) diagnosoimiseen oli käytettävissä vain ihon tuberkuliinitestejä (Tuberculin Skin Test, TST). Ihoherkkyys tuberkuliinille kehittyy 2–10 viikon kuluessa infektiosta. Jotkut infektoituneet henkilöt, muun muassa henkilöt, joilla on laaja-alaisia immuunivaimentia estäviä sairauksia, sekä myös muut henkilöt, joilla ei ole näitä sairauksia, eivät kuitenkaan kehitä vastetta tuberkuliinille. Sitä vastoin, jotkut henkilöt, joilla *M. tuberculosis* -infektio on epätodennäköinen, osoittavat herkkyyttä tuberkuliinille, ja heillä esiintyy muita positiivisia TST-tuloksia Calmette-Guérin (Bacille Calmette-Guérin BCG) -

bakteerirokotteen jälkeen, muiden mykobakteerien kuin *M. tuberculosis* -ryhmän lajien aiheuttama infektio tai muita määrittämättömiä tekijöitä.

LTBI on erotettava tuberkuloosista, joka on ilmoitusta vaativa, yleensä keuhkojen ja alempien hengitysteiden sairaus, mutta joka voi vaikuttaa myös muihin elinjärjestelmiin. Tuberkuloosi diagnosoidaan historiallisista, fyysisistä, radiologisista, histologisista ja mykobakteriologisista löydöksistä.

QFT-Plus-testillä testataan soluvälitteistä immuunivastetta (Cell-Mediated Immune, CMI) mykobakteeriproteiineja jäljitteleville peptidiantigeeneille. ESAT-6- ja CFP-10 -proteiinit puuttuvat BCG-kannoista ja useimmista ei-tuberkuliittisista mykobakteereista, joista poikkeuksena ovat *M. kansasii*, *M. szulgai* ja *M. marinum* (1). MTB-ryhmän organismin aiheuttaman tartunnan saaneilla on yleensä veressään lymfosyyttejä, jotka tunnistavat nämä ja muut mykobakteeriantigeenit. Tämä tunnistusprosessi koostuu sytokiinin IFN- γ :n muodostumisesta ja erittämisestä. IFN- γ :n havaitseminen ja sitä seuraava kvantifiointi muodostaa testin perustan.

QFT-Plus-testissä käytetyt antigeenit muodostavat peptidiseoksen, joka jäljittelee ESAT-6- ja CFP-10 -proteiineja. Lukuisat tutkimukset ovat osoittaneet, että nämä peptidiantigeenit stimuloivat IFN- γ -vastetta *M. tuberculosis* -infektion saaneiden henkilöiden T-soluissa, mutta näin ei yleensä tapahdu tartuntaa saamattomilla tai BCG-rokotuksen saaneilla henkilöillä, joilla ei ole sairautta tai LTBI:n riskiä (1–32). Immunitoimintaa heikentävät lääkinälliset hoidot tai sairaudet saattavat kuitenkin heikentää IFN- γ -vastetta. Potilaat, joilla on muita mykobakteeritartuntoja, saattavat kehittää vasteen myös ESAT-6- ja CFP-10-proteiineille, sillä näitä proteiineja koodaavat geenit ovat läsnä myös *M. kansasii*-, *M. szulgai*- ja *M. marinum* -bakteereissa (1, 23). QFT-Plus-testiä käytetään sekä LTBI:n testaukseen että edistämään sairaiden potilaiden *M. tuberculosis* -ryhmän aiheuttamien infektioiden diagnosointia. Positiivinen tulos tukee tuberkuloosin diagnosointia. Myös muiden mykobakteerien (esim. *M. kansasii*) aiheuttamat infektiot saattavat kuitenkin johtaa positiivisiin tuloksiin. Tällöin tuberkuloosin vahvistamiseen tai poissulkemiseen tarvitaan muita lääketieteellisiä ja diagnostisia arviointeja.

QFT-Plus-testiin kuuluu kaksi eri TB-antigeeniputkea: TB Antigen Tube 1 (TB1) ja TB Antigen Tube 2 (TB2). Molemmat putket sisältävät peptidiantigeneja MTB-kompleksiin liittyvistä ESAT-6- ja CFP-10-antigeneista. TB1-putki sisältää peptidejä ESAT-6:sta ja CFP-10:stä, jotka on suunniteltu tuottamaan CMI-vasteita CD4⁺-auttaja-T-lymfosyyteistä; TB2-putki sisältää lisäpeptidiryhmän, jonka tarkoitus on saada aikaan CMI-vasteita sytotoksisista CD8⁺-T-lymfosyyteistä. MTB-infektion luonnonhistoriassa CD4⁺-T-soluilla on ratkaiseva rooli immuunihallinnassa niiden sytokiinin IFN- γ :n erittymisen takia. Tutkimustulokset ovat nyt osoittaneet, että CD8⁺-T-solut osallistuvat elimistön omaan puolustukseen MTB:tä vastaan tuottamalla IFN- γ :a ja muita liukoisia tekijöitä, joiden aktivoimat makrofagit tukahduttavat MTB-bakteerien kasvua, tappavat infektoituneita soluja tai lyysaavat solunsisäisiä MTB-organismeja suoraan (33–35). MTB-spesifisiä CD8⁺-soluja on havaittu henkilöillä, joilla on LTBI, sekä aktiivista tuberkuloosia sairastavilla, joilta löydetään usein IFN- γ -tuottoisia CD8⁺-soluja (36–38). Lisäksi ESAT-6- ja CFP-10-spesifisiä CD8⁺-T-lymfosyyttejä pidetään useammin aktiivista kuin latenttia tuberkuloosia sairastavilla esiintyvänä, ja ne voivat liittyä äskettäin tapahtuneeseen MTB-altistukseen (39–41). Lisäksi MTB-spesifisiä IFN- γ :aa tuottavia CD8⁺-T-soluja on havaittu aktiivista tuberkuloosia sairastavilla potilailla, joilla on HIV-koinfektio (42, 43), sekä tuberkuloosia sairastavilla pienillä lapsilla (44).

Testin periaatteet

QFT-Plus assay -testissä käytetään erityisiä verinäyteputkia, joihin otetaan kokoverinäyte. Verta inkuboidaan putkissa 16–24 tunnin ajan, minkä jälkeen plasma kerätään ja siitä testataan peptidiantigeenien aiheuttama IFN- γ -vaste.

QFT-Plus-testi suoritetaan kahdessa vaiheessa. Ensin kokoverta kerätään kuhunkin QFT-Plus-verinäyteputkeen: Nil-putkeen, TB1-putkeen, TB2-putkeen ja Mitogen-putkeen. Verinäyte voidaan ottaa vaihtoehtoisesti myös yksittäiseen yleiskäyttöiseen verinäyteputkeen, joka sisältää antikoagulanttina litiumhepariinia, ja siirtää se sitten QFT-Plus-putkiin.

Mitogen-putkea voidaan käyttää QFT-Plus-testissä positiivisena kontrollina. Se voi olla tärkeää, jos potilaan immuunistatuksesta ei ole varmuutta. Mitogen-putken avulla voidaan myös valvoa veren asianmukaista käsittelyä ja inkubointia.

QFT-Plus-putket on ravistettava, jotta antigeeni sekoittuu vereen, sekä inkuboitava 37 °C:n lämpötilassa mahdollisimman pian, viimeistään 16 tunnin sisällä verinäytteen ottamisesta. 16–24 tunnin inkubointijakson jälkeen putket sentrifugoidaan, plasma poistetaan ja IFN- γ -määrä (IU/ml) mitataan ELISA-menetelmällä. QFT-Plus ELISA -testissä käytetään ihmisen rekombinanttia IFN- γ -standardia, jonka määrittäminen on tehty IFN- γ -viitevalmistukseen vertaamalla (NIH Ref: Gxg01-902-535). Testinäytteitä koskevat tulokset on raportoitu kansainvälisinä yksiköinä (International Units, IU/ml) suhteessa standardikäyrään, joka on valmistettu testaamalla sarjan mukana tulevan standardin laimennuksia.

Heterofiilisten vasta-aineiden (esim. ihmisen anti-hiiri-vasta-aineiden) esiintymisen seerumissa tai plasmassa tiedetään tietyillä yksilöillä aiheuttavan häiriöitä immunomäärityksessä. Heterofiilisten vasta-aineiden vaikutus QFT-Plus ELISA -testissä voidaan minimoida lisäämällä vihreään -laimennusluokseen normaalia hiiriseerumia ja käyttämällä F(ab')₂-monoklonaalisen vasta-aineen fragmentteja sitovana IFN- γ -vasta-aineena mikrolevyissä.

QFT-Plus assay katsotaan positiiviseksi, jos jommassakummassa TB-antigeeniputkessa saadaan IFN- γ -vaste, joka on huomattavasti Nil IFN- γ :n IU/ml -Nil-arvoa korkeampi. Mitogen-putken plasmanäyte toimii kunkin testatun näytteen IFN- γ -positiivisena kontrollina. Heikko Mitogen (< 0,5 IU/ml) viittaa epäselvään tulokseen, jos verinäytteessä on lisäksi negatiivinen vaste TB-antigeeneille. Tämä malli saattaa ilmetä riittämättömien lymfosyyttien, näytteen epäasianmukaisen käsittelyn aiheuttaman vähentyneen lymfosyyttiaktiivisuuden, Mitogen-putken virheellisen täytön tai sekoittamisen tai potilaan IFN- γ :n tuotantoon kykenemättömien lymfosyyttien vuoksi. Nollanäytteen kohonneita IFN- γ -tasoja voi esiintyä heterofiilisten vasta-aineiden tai sisäisen IFN- γ -erityksen yhteydessä. Nil-putki sopeutuu taustaan (esim. liiallisiin verenkierron IFN- γ -tasoihin ja heterofiilisten vasta-aineiden läsnäoloon). Nil-putken IFN- γ -taso vähennetään TB-antigeeniputkien ja Mitogen-putken IFN- γ -tasosta.

Testin suorittamiseen vaadittava aika

QFT-Plus ELISA -testin suorittamiseen tarvittava aika arvioidaan jäljempänä. Lisäksi kuvataan useiden näytteiden testaus erissä:

Verinäyteputkien inkubaatio 37 °C:ssa: 16–24 tuntia

ELISA: noin kolme tuntia per ELISA-levy

(22 henkilöä)

< 1 työtunti

Kutakin ylimääräistä levyä kohti lisätään

10–15 minuuttia

Komponentit ja säilytys

Verinäyteputket*		200 putkea	Yhden potilaan pakkaus	Tukkupakkaus	200 HA-putkea	HA yhden potilaan pakkaus	HA tukkupakkau s
Tuotenumero		622526	622222	622423	623526	623222	623423
Testien lukumäärä/pakkaus		50	10	25	50	10	25
QuantiFERON Nil Tube (harmaa korkki, valkoinen rengas)	Nil	50 putkea	10 putkea	25 putkea			
QuantiFERON TB1 Tube (vihreä korkki, valkoinen rengas)	TB1	50 putkea	10 putkea	25 putkea			
QuantiFERON TB2 Tube (keltainen korkki, valkoinen rengas)	TB2	50 putkea	10 putkea	25 putkea			
QuantiFERON Mitogen Tube (violetti korkki, valkoinen rengas)	Mitogen	50 putkea	10 putkea	25 putkea			
QuantiFERON Nil HA Tube (harmaa korkki, valkoinen rengas)	Nil HA				50 putkea	10 putkea	25 putkea
QuantiFERON TB1 HA Tube (vihreä korkki, keltainen rengas)	TB1 HA				50 putkea	10 putkea	25 putkea
QuantiFERON TB2 HA Tube (keltainen korkki, keltainen rengas)	TB2 HA				50 putkea	10 putkea	25 putkea
QuantiFERON Mitogen HA Tube (violetti korkki, keltainen rengas)	Mitogen HA				50 putkea	10 putkea	25 putkea
QFT-Plus Blood Collection Tubes - tuoteseloste		1	1	1	1	1	1

* Kaikki tuotekokoonpanot eivät ole saatavilla kaikissa maissa. Lisätietoja tilattavista kokoonpanoista saa ottamalla yhteyttä QIAGENin asiakaspalveluun (tiedot ovat osoitteessa www.qiagen.com).

ELISA-komponentit†	2 ELISA-levyn sarja	Referenssilaboratoriopakkaus
Tuotenumero	622120	622822
Microplate strips (Mikrolevyliuskat) (12 x 8 kuoppaa), päällystetty monoklonalisella hiiren anti-ihmis-IFN- γ -vasta-aineella	2 x 96 kuopan mikrolevyliuskat)	20 x 96 kuopan mikrolevyliuskat)
IFN- γ Standard (IFN- γ -standardi), kylmäkuivattu (sisältää ihmisen rekombinantti-IFN- γ :ä, lehmän kaseiinia, 0,01 % w/v timerosaalia)	1 x pullo (8 IU/ml käyttövalmiiksi saatettuna)	10 x pullo (8 IU/ml käyttövalmiiksi saatettuna)
Green Diluent (Vihreä laimennusliuos) (sisältää naudan kaseiinia, normaalia hiiriseerumia, 0,01 % w/v timerosaalia)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (konjugaatin 100x-konsentraatti), kylmäkuivattu (hiiren anti-ihmis-IFN- γ HRP, sisältää 0,01 % w/v timerosaalia)	1 x 0,3 ml (käyttövalmiiksi saatettuna)	10 x 0,3 ml (käyttövalmiiksi saatettuna)
Wash Buffer 20x Concentrate (pesupuskurin 20x-konsentraatti) (pH 7,2; sisältää 0,05 % v/v ProClin® 300:a)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (entsyymisubstraattiliuos) (sisältää H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5'-tetrametylibentsidiiniä)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (entsyymin pysäytysliuos) (sisältää 0,5 M H ₂ SO ₄ :ä)	1 x 15 ml	10 x 15 ml
QFT-Plus ELISA -tuoteseloste	1	1

† Ks. varoitimet ja tiedot riskeistä sivulta 15.

Tarvittavat materiaalit (jotka eivät kuulu toimitukseen)

- 37 °C ± 1 °C -inkubaattori*. Hiilidioksidia (CO₂) ei tarvita.
- Kalibroidut, muuttuvan tilaisuuden pipetit* 10–1000 µl, kertakäyttökärjet
- Kalibroituja monikanavaisia pipettejä*, joilla voidaan annostella 50 µl ja 100 µl, kertakäyttöiset kärjet
- Levyn kansi
- Mikrolevyravistelija*
- Deionisoitu tai tislattu vesi, 2 litraa
- Mikrolevyn pesin (suosittelemme automaattista pesintä)
- Mikrolevyn lukulaite*, johon on kiinnitetty 450 nm:n suodatin ja 620–650 nm:n referenssisuodatin.

* Varmista, että välineet on tarkastettu ja kalibroitu valmistajan suositusten mukaan.

Näytteiden säilytys ja käsittely

Verinäyteputket

- Säilytä verinäyteputkia 4–25 °C:n lämpötilassa.

Reagenssarjat

- Reagenssarjoja on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa.
- Suojaa entsyymisubstraattiliuos suoralta auringonvalolta.

Käyttövalmiit ja käytetyt reagenssit

Katso reagenssien käyttökuntoon saattamista koskevat ohjeet sivulta 26.

- Käyttövalmiiksi saatettua sarjan standardia voidaan säilyttää enintään kolme kuukautta, jos säilytys tapahtuu 2–8 °C:n lämpötilassa.

Merkitse sarjan standardin käyttövalmiiksi saattamispäivämäärä muistiin.

- Käyttövalmiiksi saattamisen jälkeen käyttämätön konjugaatin 100x-konsentraatti on säilytettävä 2–8 °C:n lämpötilassa ja käytettävä kolmen kuukauden kuluessa.

Merkitse konjugaatin käyttövalmiiksi saattamispäivä muistiin.

- Käyttövahvuinen konjugaatti on käytettävä 6 tunnin kuluessa valmistamisesta.
- Käyttövahvuista pesupuskuria voidaan säilyttää huoneenlämpötilassa enintään kaksi viikkoa.

Varoitukset ja varotoimet

Vain in vitro -diagnostiikkaan.

Varoitukset

- Negatiivinen QFT-Plus-tulos ei sulje pois *M. tuberculosis* -infektion tai tuberkuloosin mahdollisuutta. Virheelliset negatiiviset tulokset voivat johtua infektiovaiheesta (esim. näyte on otettu ennen solutason immuunivasteen kehittymistä), immuunitoimintoihin vaikuttavista samanaikaisista sairauksista, verinäyteputkien virheellisestä käsittelystä laskimopunktion jälkeen, testin virheellisestä suorittamisesta tai muista immunologisista muuttujista.
- Positiivinen QFT-Plus-tulos ei saa olla ainoa tai ratkaiseva perusta *M. tuberculosis* -infektion toteamiselle. Testin virheellinen suorittaminen saattaa aiheuttaa vääriä positiivisia tuloksia.
- Positiivisen QFT-Plus-tuloksen jälkeen on jatkettava lääketieteellistä ja diagnostista mahdollisen aktiivisen tuberkuloosin arviointia (esim. AFB-näyte ja viljely, rintakehän röntgenkuva).
- Koska ESAT-6- ja CFP-10 -proteiineja ei esiinny BCG-kannoissa eikä useimmissa ei-tuberkuloottisissa mykobakteereissa, on mahdollista, että positiivinen QFT-Plus-tulos johtuu *M. kansasii*-, *M. szulgai*- tai *M. marinum* -bakteerin aiheuttamasta infektiosta. Jos epäillään tällaisia infektioita, on tehtävä vaihtoehtoisia testejä.

Varotoimet

Kemikaalien kanssa työskennellessä on aina käytettävä laboratoriotakkia, kertakäyttökäsineitä ja suojalaseja. Lisätietoa saa tuotekohtaisista käyttöturvallisuustiedotteista (safety data sheets, SDS). Ne ovat saatavana PDF-tiedostoina osoitteessa www.qiagen.com/safety. Voit hakea, lukea ja tulostaa kaikkien QIAGEN-sarjojen ja niiden osien käyttöturvallisuustiedotteet.



HUOMIO: Käsittele ihmisverta ja -plasmaa mahdollisesti infektoituneena. Noudata asianmukaisia verta ja verituotteita koskevia käsittelyohjeita. Hävitä veren tai verituotteiden kanssa kosketuksissa olleet näytteet ja materiaalit kansallisten, alueellisten ja paikallisten säädösten mukaisesti.

Seuraavat varoitukset ja varotoimet koskevat QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA -komponentteja.

Varoitus



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

Sisältää rikkihappoa. Varoitus! Voi syövyttää metalleja. Aiheuttaa ihoärsytystä. Aiheuttaa vakavaa silmien ärsytystä. Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmäsuojainta/kasvosuojainta.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Varoitus! Aiheuttaa vähäistä ihoärsytystä. Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvosuojainta.



QuantiFERON Green Diluent

Sisältää trinitrium-5-hydroksi-1-(4-sulfofenyyli)-4-(4-sulfofenyyliatso)pyratsoli-3-karbolyksaattia. Sisältää tartratsiinia. Varoitus! Voi aiheuttaa allergisen ihoreaktion. Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmiensuojainta/kasvosuojainta.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Sisältää: Seos: 5-kloro-2-metyyli-4-isotiatsoliini-3-oni ja 2-metyyli-2H-isotiatsoliini-3-oni (3:1). Haitallista vesieliöille, pitkäaikaisia vaikutuksia. Vältettävä päästämistä ympäristöön.

Varotoimet

Lue erityisohjeet ennen käyttöä. Käytä suojakäsineitä/suojavaatetusta/silmäsuojainta/kasvosuojainta. JOS LIUOSTA JOUTUU IHOLLE (tai hiuksiin), toimi seuraavasti: Riisu kaikki altistuneet vaatteet välittömästi. Huuhtele ihoa vedellä/suihkulla. JOS LIUOSTA JOUTUU SILMIIN, toimi seuraavasti: Huuhtele huolellisesti vedellä useiden minuuttien ajan. Poista mahdolliset piilolinssit, jos ne ovat helposti poistettavissa. Jatka huuhtelua. Altistumistapauksessa tai epävarmoissa tilanteissa: kysy neuvoa lääkäriltä tai hakeudu lääkärin hoitoon. Soita heti MYRKYTYSTIETOKESKUKSEEN tai lääkärille. Jos ihoärsytystä tai ihottumaa ilmenee, kysy neuvoa lääkäriltä tai hakeudu lääkärin hoitoon. Riisu altistuneet vaatteet, ja pese ne ennen seuraavaa käyttöä. Säilytä lukitussa tilassa. Hävitä sisältö tai säiliö toimittamalla se hyväksytyyn jätelaitokseen.

Lisätietoja

Käyttöturvallisuustiedotteet (Safety Data Sheets, SDS): www.qiagen.com/safety

- *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA -tuoteselösten* ohjeista poikkeaminen saattaa tuottaa virheellisiä tuloksia. Lue ohjeet huolellisesti ennen käyttöä.

- Älä käytä sarjaa, jos yhdessäkään reagenssipullossa on merkkejä vaurioista tai vuodosta ennen käyttöä.
- Tärkeää: Tarkista pullo ennen käyttöä. Älä käytä konjugaattia tai IFN- γ -standardin pulloja, joissa on havaittavissa vaurioita tai joiden kumitiiviste näyttää vaurioituneelta. Älä käsittele rikkoutuneita pulloja. Hävitä pullo turvallisesti asianmukaisia varotoimia noudattaen. Suositus: Vähennä metallikorkin avaamiseen liittyviä loukkaantumisriskejä käyttämällä konjugaatin tai IFN- γ -standardin pullojen avaamiseen pullonavauspihtejä.
- Älä sekoita tai käytä eri QFT-Plus-sarjaeristä peräisin olevia mikrolevyliuskoja, IFN- γ -standardeja, vihreää -laimennusliuosta tai konjugaatin 100x-konsentraattia. Muita eri sarjaeristä peräisin olevia reagensseja (pesupuskurin 20x-konsentraatti, entsyymi-substraattiliuos ja entsyymien pysäytysliuos) voidaan käyttää yhdessä edellyttäen, että reagenssien viimeinen käyttöpäivämäärä ei ole umpeutunut ja että erän tiedot on merkitty muistiin.
- Hävitä käyttämättömät reagenssit ja biologiset näytteet paikallisten viranomaismääräysten mukaisesti.
- QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkia tai ELISA-sarjaa ei saa käyttää viimeisen käyttöpäivämäärän jälkeen.
- Asianmukaisia laboratoriokäytäntöjä on noudatettava kaikkina aikoina.
- Varmista, että laboratoriolaitteisto on kalibroitu/tarkastettu käyttöä varten.

Näytteen ottaminen ja käsittely

QFT Plus -testissä käytetään seuraavia näytteenottoputkia:

1. Quantiferon Nil-Putket (harmaa korkki, valkoinen rengas)
2. QuantiFERON TB1-Putket (vihreä korkki, valkoinen rengas)
3. QuantiFERON TB2-Putket (keltainen korkki, valkoinen rengas)
4. QuantiFERON Mitogen-Putket (violetti korkki, valkoinen rengas)
5. QuantiFERON HA Nil-Putket (harmaa korkki, keltainen rengas)
6. QuantiFERON HA TB1-Putket (vihreä korkki, keltainen rengas)
7. QuantiFERON HA TB2-Putket (keltainen korkki, keltainen rengas)
8. QuantiFERON HA Mitogen-Putket (violetti korkki, keltainen rengas)

Antigeenit on kuivattu verinäyteputkien sisäseinälle, joten on ehdottoman tärkeää, että putkien sisältö sekoitetaan vereen huolellisesti. Kun verinäyte otetaan suoraan QFT-Plus-putkiin, QFT-Plus-putket on säilytettävä ja kuljetettava huoneenlämmössä ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) ja siirrettävä 37 °C :seen inkubaattoriin mahdollisimman pian, viimeistään 16 tunnin sisällä näytteenotosta. Vaihtoehtoisesti verinäyte voidaan ottaa yhteen litiumhepariini- tai natriumhepariiniiputkeen säilytettäväksi ennen siirtämistä QFT-Plus-putkeen ja inkubaattoriin. Litiumhepariiniin tai natriumhepariiniin otettuja verinäytteitä voi säilyttää enintään 16 tuntia huoneenlämmössä ($17\text{--}25\text{ °C}$) ja sen jälkeen ne on siirrettävä QFT-Plus-putkiin suoraan näytteenoton jälkeen. Litiumhepariini- tai natriumhepariiniiputkiin otettuja verinäytteitä voidaan säilyttää myös $2\text{--}8\text{ °C}$:n lämpötilassa enintään 48 tuntia ennen niiden siirtämistä QFT-Plus-putkiin. Katso kohta "Verinäytteen ottaminen yhteen litiumhepariini- tai natriumhepariiniiputkeen ja siirtäminen QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkiin".

Ottaminen suoraan QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkiin

1. Putket on merkittävä asianmukaisesti.

Varmista, että jokainen putki (Nil, TB1, TB2 ja Mitogen) on tunnistettavissa etiketistä tai muulla tavoin korkin poistamisen jälkeen.

On suositeltavaa kirjata verinäytteen ottamisajankohdan kellonaika ja päivämäärä muistiin.

2. Ota jokaiselta potilaalta 1 ml verta laskimopunktiolla suoraan kuhunkin QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkeen. Tämä toimenpide on annettava flebotomiaan erikoistuneen pätevän henkilön suoritettavaksi.

Tärkeä ilmoitus: putkien lämpötilan pitäisi olla täytön aikana 17–25 °C.

Standardeja QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkia voidaan käyttää korkeintaan 810 metrin korkeudella merenpinnasta. Suuria korkeuksia varten tarkoitettuja High Altitude (HA) QFT-Plus-verinäyteputkia voidaan käyttää 1020–1875 metrin korkeudella merenpinnasta.

Koska veren ottaminen 1 ml:n putkella käy suhteellisen hitaasti, pidä putkea neulalla 2–3 sekuntia, kun putki näyttää olevan täynnä. Näin varmistat, että putkeen saadaan oikea määrä verta.

- Putken sivulla oleva musta merkki osoittaa sallitun 0,8–1,2 ml:n täyttömäärän. Jos verimäärä missä tahansa putkessa ei ole sallitun alueen sisäpuolella, on otettava uusi verinäyte. Liian suuri (yli 1,2 ml) tai pieni (alle 0,8 ml) verimäärä putkissa saattaa johtaa virheellisiin tuloksiin.
- Jos verinäytteen ottamiseen käytetään ns. perhosneulaa, on käytettävä puristusputkea, jotta varmistetaan, että putki on täyttynyt verellä ennen QFT-Plus-putkien käyttöä.
- Jos QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkia käytetään yli 810 metrin korkeudessa tai jos otettu verinäyte on liian pieni, käyttäjä voi ottaa verta ruiskulla ja siirtää sitä välittömästi 1 ml kuhunkin neljään 4 putkeen. Turvallisuussyistä tämä on paras tehdä irrottamalla ruiskun neula noudattaen asianmukaisia varotoimia, irrottamalla kunkin neljän QFT-Plus-verinäyteputken

korkit ja lisäämällä 1 ml verta kuhunkin näyteputkeen (putken sivussa olevan etiketin mustan merkin tasolle). Laita korkit tiukasti takaisin paikoilleen ja sekoita alla kuvatulla tavalla. Varmista, että jokainen putki (Nil, TB1, TB2 ja Mitogen) on tunnistettavissa etiketistä tai muulla tavoin korkin poistamisen jälkeen.

3. Ravista putkia välittömästi niiden täytön jälkeen kymmenen (10) kertaa riittävän voimakkaasti, jotta putken koko sisäpinta peittyy verellä. Siten putken seinämällä olevat antiigenit pääsevät liukenemaan vereen.

Tärkeä ilmoitus: putkien lämpötilan pitäisi olla sekoittamisen aikana 17–25 °C. Liian voimakas sekoittaminen saattaa aiheuttaa geelin vaurioitumisen ja johtaa poikkeaviin tuloksiin.

4. Merkitsemisen, täytön ja sekoittamisen jälkeen putket on siirrettävä inkubaattoriin 37 °C ± 1 °C:n lämpötilaan mahdollisimman pian ja 16 tunnin sisällä näytteen ottamisesta. Säilytä ja kuljeta putkia huoneenlämpötilassa ennen inkubointia (22 ± 5 °C). Jos QFT-Plus-putkia ei inkuboida 37 °C:n lämpötilassa välittömästi näytteen ottamisen ja ravistamisen jälkeen, sekoita näyte kääntelemällä putkia kymmenen (10) kertaa ennen 37 °C:ssa inkuboimista.
5. Inkuboi QFT-Plus-putkia PYSTYASENNOSSA 37 °C ± 1 °C:n lämpötilassa 16–24 tuntia. Inkubaattorissa ei tarvita hiilidioksidia (CO₂) tai kostutusta.

Verinäytteen ottaminen yhteen litiumhepariini- tai natriumhepariiniputkeen ja siirtäminen QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkiin

1. Verinäyte voidaan ottaa yksittäiseen verinäyteputkeen, joka sisältää antikoagulanttina litiumhepariinia tai natriumhepariinia, ja siirtää se sitten QFT-Plus-verinäyteputkiin. Veren hyytymisen estoaineena on käytettävä ainoastaan litiumhepariinia tai natriumhepariinia, sillä muut antikoagulantit aiheuttavat testissä häiriöitä. Putket on merkittävä asianmukaisesti.

On suositeltavaa kirjata verinäytteen ottamisajankohdan kellonaika ja päivämäärä putkeen.

Tärkeää: verinäyteputkien on oltava huoneenlämpöisiä (17–25 °C) näytteenottohetkellä.

2. Täytä litiumhepariini- tai natriumhepariini-verinäyteputki (vähimmäistilavuus 5 ml) ja sekoita varovasti kääntelemällä putkea useita kertoja, jotta hepariini liukenee. Tämä toimenpide on annettava flebotomiaan erikoistuneen pätevän henkilön suoritettavaksi.
3. Litiumhepariini- ja natriumhepariini-putkien pitoaika- ja pitolämpötilavaihtoehdot ennen siirtoa ja inkubointia QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkiin (katso kuvat 1–3, verinäytteenottovaihtoehdot):

Vaihtoehto 1 – Litiumhepariini- tai natriumhepariini-putken säilytys ja käsittely huoneenlämmössä: litiumhepariini- tai natriumhepariini-putkeen otettua verinäytettä tulee säilyttää huoneenlämmössä (22 °C ±5 °C) korkeintaan 16 tunnin ajan näytteenoton jälkeen ennen QFT-Plus-verinäyteputkiin siirtämistä ja sen jälkeistä inkubointia.

Vaihtoehto 2 – Litiumhepariini- tai natriumhepariini-putken säilytys ja käsittely jäähdytettynä

Tärkeää: toimenpiteen vaiheet a–d on suoritettava järjestyksessä.

- a. Litiumhepariini- tai natriumhepariini-putken otettua verinäytettä voidaan pitää huoneenlämmössä (17–25 °C) korkeintaan 3 tuntia verinäytteen oton jälkeen.
- b. Litiumhepariini- tai natriumhepariini-putken otettua verinäytettä voidaan pitää jääkaapissa (2–8 °C) korkeintaan 48 tuntia.
- c. Jääkaapissa säilyttämisen jälkeen litiumhepariini- tai natriumhepariini-putken tulee tasaantua huoneenlämpöön (17–25 °C) ennen QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkiin siirtämistä.
- d. Alikvoidut QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputket tulee asettaa 37 °C:n inkubaattoriin 2 tunnin sisällä veren siirtämisestä.

Jos QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkia ei inkuboida 37 °C:n lämpötilassa välittömästi QFT-Plus-verinäyteputkiin siirtämisen ja ravistamisen jälkeen, sekoita näytettä kääntämällä putkia 10 kertaa ylösalaisin ennen inkubointia 37 °C:ssa. Kokonaisaika näytteenoton ja QFT-Plus Blood Collection Tube-verinäyteputkissa inkuboinnin välillä ei saa olla yli 53 tuntia.

4. Verinäytteen siirtäminen litiumhepariini- tai natriumhepariini-putkesta QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkiin:

- a. Merkitse kaikki QFT-Plus-verinäyteputket asianmukaisesti.

Varmista, että jokainen putki (Nil, TB1, TB2 ja Mitogen) tunnistetaan etiketistä tai muulla tavoin korkin poistamisen jälkeen. Verinäytteen ottamisen päivämäärä ja aika suositellaan siirtämään litiumhepariini- tai natriumhepariiniiputkista QFT-Plus-verinäyteputkiin.

- b. Näytteitä on sekoitettava tasaisesti kääntämällä ne kevyesti ylösalaisin ennen QFT-Plus-verinäyteputkiin siirtämistä.

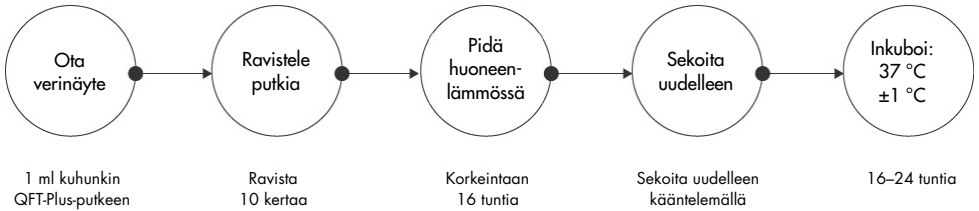
- c. Siirto on parasta suorittaa aseptisesti varmistaen, että noudatetaan asianmukaisia turvatoimenpiteitä. Poista korkit neljästä QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkesta ja lisää 1 ml verta jokaiseen putkeen. Kiinnitä putkien korkit kunnolla ja sekoita alla annettujen ohjeiden mukaan. Varmista, että jokainen putki (Nil, TB1, TB2 ja Mitogen) on tunnistettavissa etiketistä tai muulla tavoin korkin poistamisen jälkeen.

5. Sekoita putket. Ravista QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkia välittömästi täytön jälkeen kymmenen (10) kertaa riittävän voimakkaasti, jotta putken koko sisäpinta peittyi verellä. Siten putken seinämällä olevat antigenit pääsevät liukenemaan vereen.

Liian voimakas sekoittaminen saattaa aiheuttaa geelin vaurioitumisen ja johtaa poikkeaviin tuloksiin.

6. Merkitsemisen, täytön ja ravistamisen jälkeen putket on siirrettävä inkubaattoriin $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$:n lämpötilaan 2 tunnin sisällä. Jos QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkia ei inkuboida 37 °C :n lämpötilassa välittömästi näytteen ottamisen ja ravistamisen jälkeen, sekoita näyte kääntelemällä putkia kymmenen (10) kertaa ennen 37 °C :ssa inkuboimista. (Katso verinäytteenottovaihtoehdot seuraavalta sivulta kuvista 1–3.)
7. Inkuboi QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkia PYSTYASENNOSSA $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$:n lämpötilassa 16–24 tuntia. Inkubaattorissa ei tarvita hiilidioksidia (CO_2) tai kostutusta.

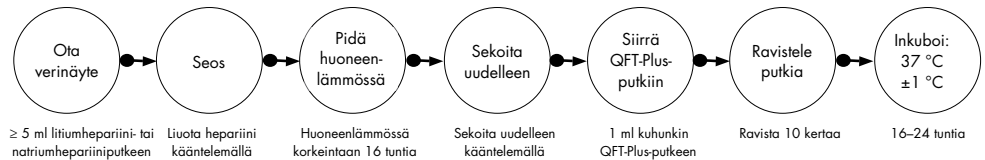
Näytteenotto QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkiin ja pito huoneenlämmössä.



Kuva 1. Verinäytteenottovaihtoehto: Näytteenotto suoraan QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkiin ja pito huoneenlämmössä.

Kokonaisaika näytteen QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputkiin ottamisen ja niiden 37 °C:ssa inkuboinnin välillä ei saa olla yli 16 tuntia.

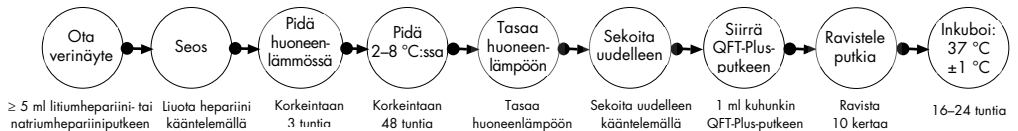
Näytteenotto litiumhepariini- tai natriumhepariiniputkeen ja pito huoneenlämmössä.



Kuva 2. Verinäytteenottovaihtoehto: Näytteenotto litiumhepariini- tai natriumhepariiniputkeen ja pito huoneenlämmössä.

Kokonaisaika näytteen litiumhepariini- tai natriumhepariiniputkeen ottamisen ja 37 °C:ssa inkuboinnin välillä ei saa olla yli 16 tuntia.

Näytteenotto litiumhepariini- tai natriumhepariiniputkiin ja pito 2–8 °C:n lämpötilassa.



Kuva 3. Verinäytteenottovaihtoehto: Näytteenotto litiumhepariini- tai natriumhepariiniputkeen ja pito 2–8 °C:n lämpötilassa.

Kokonaisaika näytteen litiumhepariini- tai natriumhepariiniputkeen ottamisen ja 37 °C:ssa inkuboinnin välillä ei saa olla yli 53 tuntia.

Käyttöohjeet

Vaihe 1 – veren inkubointi ja plasman kerääminen

Toimitetut materiaalit

- QFT-Plus Blood Collection Tube -verinäyteputket (katso luku 3)

Tarvittavat materiaalit (jotka eivät kuulu toimitukseen)

- Katso luku 3

Menetelmä

1. Jos verta ei inkuboida välittömästi näyttöönoton jälkeen, putket on sekoitettava uudelleen kääntämällä ne kymmenen kertaa ylösalaisin juuri ennen inkubointia.
2. Inkuboi putkia **PYSTYASENNOSSA** $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$:n lämpötilassa 16–24 tuntia. Inkubaattorissa ei tarvita hiilidioksidia (CO_2) tai kostutusta.
3. Kun inkubointi on suoritettu 37 °C :n lämpötilassa, verinäyteputkia voidaan säilyttää enintään kolme vuorokautta $4\text{--}27\text{ °C}$:n lämpötilassa ennen sentrifugointia.
4. Kun putkia on inkuboitu 37 °C :n lämpötilassa, plasman keräämistä edistetään sentrifugoimalla putkia 15 minuutin ajan $2000\text{--}3000 \times g$ RCF:n (*g*) voimalla. Geelitulppa erottelee solut plasmasta. Jos niin ei tapahdu, putket on sentrifugoitava uudelleen.

Plasman talteenotto on mahdollista ilman sentrifugointia, mutta tällöin plasman keräämisessä on oltava erityisen huolellinen, etteivät solut rikkoudu.

5. Plasmanäytteitä voi kerätä ainoastaan pipetin avulla.

Tärkeä ilmoitus: Kun sentrifugointi on tehty, varo pipetin ylös ja alas suuntautuvaa liikettä tai plasman sekoittumista millään tavoin ennen sen talteenottoa. Varo aina rikkomasta geelin pinnalla olevaa materiaalia.

Plasmanäytteet voidaan ladata suoraan sentrifugoiduista näyteputkista QFT-Plus ELISA -levylle, myös silloin, kun käytössä on automaattinen ELISA-työasema.

Plasmanäytteitä voidaan säilyttää enintään 28 vuorokautta 2–8 °C:n lämpötilassa, tai keräämisen jälkeen pitkiä aikoja alle –20 °C:n lämpötilassa.

Jotta testinäytteet ovat riittävät, kerää vähintään 150 µl plasmaa.

Vaihe 2 – IFN- γ ELISA

Toimitetut materiaalit

- QFT-Plus ELISA -sarja (katso luku 3)

Tarvittavat materiaalit (jotka eivät kuulu toimitukseen)

- Katso luku 3.

Menetelmä

1. Kaikki plasmanäytteet ja reagenssit, paitsi konjugaatin 100x konsentraatti, on tuotava huoneenlämpötilaan (22 ± 5 °C) ennen käyttöä. Tasaantumiselle on jätettävä aikaa vähintään 60 minuuttia.
2. Irrota ylimääräiset liuskat kehuksestä, sulje ne takaisin foliopussiin ja vie jääkaappiin myöhempää tarvetta varten.

Varaa vähintään yksi liuska QFT-Plus-standardeille ja riittävä määrä liuskoja kutakin testattavaa potilasta kohti (katso Kuva 5). Säilytä kehys jäljellä olevien liuskojen kanssa käytettäväksi.

3. Saata IFN- γ -standardi käyttökuntoon lisäämällä pulloon merkitty määrä deionisoitua tai tislattua vettä. Vähennä vaahtoaminen minimiin ja varmista täydellinen liukeneminen sekoittamalla varovasti. Standardin sekoittaminen merkittyyntilavuuteen aikaan saa liuoksen, jonka pitoisuus on 8,0 IU/ml.

Tärkeä ilmoitus: standardin sekoitustilavuus vaihtelee erän mukaan.

Käytä käyttövalmiiksi saatettua sarjan standardia tuottamaan 1/2-laimennus ja sen jälkeen 1/4-laimennussarja IFN- γ vihreään -laimennusaineeseen (katso Kuva 4). S1 (standardi 1) sisältää 4,0 IU/ml, S2 (standardi 2) sisältää 1,0 IU/ml, S3 (standardi 3) sisältää 0,25 IU/ml ja S4 (standardi 4) sisältää 0 IU/ml (vain vihreää laimennusainetta). Standardit on testattava vähintään kahtena otoksena. Valmistele kutakin ELISA-testiä varten sarjan standardista vastalaimennetut laimennukset.

Toistotestisarjan suositeltu toimintatapa

Merkitse 4 putkea merkinnöin "S1", "S2", "S3", "S4".

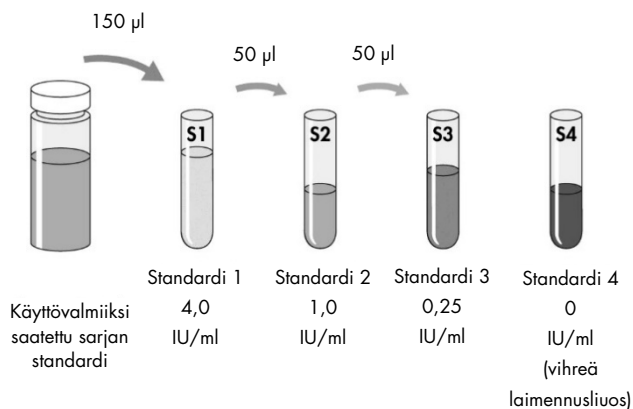
Lisää 150 μ l vihreää laimennusainetta putkeen S1, S2, S3 ja S4.

Lisää 150 μ l sarjan standardia putkeen S1 ja sekoita huolellisesti.

Siirrä 50 μ l putkesta S1 putkeen S2 ja sekoita huolellisesti.

Siirrä 50 μ l putkesta S2 putkeen S3 ja sekoita huolellisesti.

Pelkkä GD toimii nollastandardina (S4).



Kuva 4. Standardikäyrän valmistelu.

4. Sekoita kylmäkuivattua konjugaatin 100x konsentraattia -konsentraattia 0,3 millilitraan deionisoitua tai tislattua vettä. Voit minimoida vaarallisuuden ja varmistaa konjugaatin täydellisen liukenemisen sekoittamalla varovasti.

Konjugaatin työskentelyvahvuus valmistetaan laimentamalla riittävä määrä käyttövalmiiksi saatettua konjugaatin 100x -konsentraattia vihreään -laimennusliuokseen (Taulukko 1. Konjugaatin valmistaminen). Palauta käyttämätön konjugaatin 100x -konsentraatti välittömästi käytön jälkeen 2–8 °C:n lämpötilaan. Käytä vain vihreää -laimennusliuosta.

Taulukko 1. Konjugaatin valmistaminen

Liuskojen määrä	Konjugaatin 100x -konsentraatin määrä	Vihreän -laimennusliuoksen määrä
2	10 µl	1,0 ml
3	15 µl	1,5 ml
4	20 µl	2,0 ml
5	25 µl	2,5 ml
6	30 µl	3,0 ml
7	35 µl	3,5 ml
8	40 µl	4,0 ml
9	45 µl	4,5 ml
10	50 µl	5,0 ml
11	55 µl	5,5 ml
12	60 µl	6,0 ml

5. Verinäyteputkista kootut plasmanäytteet, jotka on kokoamisen jälkeen varastoitu tai pakastettu, on sekoitettava ennen kuin ne lisätään ELISA-kuoppaan.

Tärkeä ilmoitus: jos plasmanäytteet lisätään suoraan sentrifugoiduista QFT-Plus-putkista, plasman sekoittamista on vältettävä. Varo aina rikkomasta geelin pinnalla olevaa materiaalia.

6. Lisää 50 µl juuri valmistettua, työskentelyvahvuista konjugaattia ELISA-kuoppiin käyttämällä monikanavapipettiä.

7. Lisää 50 µl testiplasmanäytettä asianmukaisesti kuoppiin monikanavapipeteillä (katso suositeltu levyasettelu: Kuva 5). Lisää lopuksi 50 µl standardeista 1–4.

	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

Kuva 5. Suositeltu näyteasettelu (22 testiä levyä kohden)

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

1 N (näyte 1. Nil-plasma), 1 TB1 (näyte 1. TB1-plasma), 1 TB2 (näyte 1. TB2-plasma), 1 M (näyte 1. Mitogeeniplasma)

8. Peitä kukin levy kannella ja sekoita konjugaattia sekä plasmanäytteitä/standardeja huolellisesti 1 minuutin ajan käyttämällä mikrolevyn ravistelijaa. Vältä läikyttämistä.
9. Peitä jokainen levy ja inkuboi huoneenlämpötilassa (22 ± 5 °C) 120 ± 5 minuutin ajan. Levyt eivät saa olla suorassa auringonvalossa inkuboinnin aikana.
10. Laimenna inkuboinnin aikana yksi osa pesupuskurin 20x-konsentraattia 19 osaan deionisoitua tai tislattua vettä ja sekoita huolellisesti. Pesupuskurin 20x-konsentraattia on toimitettu riittävä määrä, jotta voidaan valmistaa kaksi litraa työskentelyvahvuista pesupuskuria.
- Pese kuoppia 400 µl:lla työskentelyvahvuista pesupuskuria vähintään kuuden jakson ajan. Suosittelemme automaattista levyn pesintä.
- Huolellinen peseminen on erittäin tärkeää testin onnistumisen kannalta. Varmista, että jokainen kuoppa täytetään kokonaan pesupuskurilla kuopan yläreunaan saakka kunkin pesujakson aikana. Suosittelemme vähintään 5 sekunnin liotusta jaksojen välissä.

Jätevesisäiliöön on lisättävä laboratoriodesinfointiainetta, ja vakiintuneita käytäntöjä on noudatettava mahdollisesti infektoivan materiaalin dekontaminaatiossa.

11. Taputa levyjä alaspäin käännettyinä imukykyisen, vähänukaisen liinan päällä pesupuskurijäämien poistamiseksi. Lisää 100 µl entsyymisubstraattiliuosta kuhunkin kuoppaan, peitä jokainen levy kannella ja sekoita huolellisesti mikrolevyn ravistelijalla.
12. Peitä jokainen levy ja inkuboi huoneenlämpötilassa (22 ± 5 °C) 30 minuutin ajan.
Levyt eivät saa olla suorassa auringonvalossa inkuboinnin aikana.
13. Lisää 30 minuutin inkuboinnin jälkeen 50 µl entsyyminpysäytysliuosta jokaiseen kuoppaan ja sekoita.
Entsyyminpysäytysliuosta pitää lisätä kuoppiin samassa järjestyksessä ja suunnilleen samalla nopeudella, kun substraattia vaiheessa 11.
14. Mittaa kunkin kuopan optinen tiheys (Optical Density, OD) 5 minuutin kuluessa reaktion pysäytyksestä mikrolevyn lukulaitteella, johon on asennettu 450 nm:n suodatin ja 620–650 nm:n referenssisuodatin. Optisen tiheyden arvoja käytetään tulosten laskennassa.

Laskennat ja testien tulkinta

QFT Plus -analyysiohjelmistoa voidaan käyttää raakadatan analysointiin ja tulosten laskentaan. Se on saatavilla osoitteesta www.QuantiFERON.com. Varmista, että käytössä on QFT-Plus-analyysiohjelmiston uusin versio.

Ohjelmisto suorittaa testin laadunvarmistusarvion, luo standardikäyrän ja antaa kunkin potilaan testituloksen Tulosten tulkinta -luvussa kuvatulla tavalla.

Vaihtoehtona QFT-Plus-analyysiohjelmistolla tehtävälle analyysille tulokset voidaan määrittää seuraavan menetelmän mukaisesti.

Standardikäyrän laatiminen

(Jos QFT-Plus-analyysiohjelmistoa ei käytetä)

Määritetään sarjan standardin toisintojen optisen tiheyden arvot kussakin levyssä.

Laaditaan $\log_{(e)}$ - $\log_{(e)}$ -standardikäyrä muodostamalla keskiarvoisen optisen tiheyden (y-akseli) $\log_{(e)}$ suhteessa standardien IFN- γ -konsentraatioon IU/ml:ina (x-akseli) $\log_{(e)}$ jättäen nollastandardi pois näistä laskelmista. Laske standardikäyrä regressioanalyysillä.

Standardikäyrää käytetään määrittettäessä IFN- γ -pitoisuus (IU/ml) kussakin testiplasmanäytteessä käyttämällä apuna kunkin näytteen optisen tiheyden arvoa.

Nämä laskelmat voidaan tehdä mikrolevyn lukulaitteiden mukana toimitettavilla ohjelmistoilla tai esimerkiksi standarditaulukkolaskennalla tai tilastointiohjelmistolla (esim. Microsoft® Excel®). Suosituksena on, että näitä ohjelmistoja käytetään regressioanalyysin, standardien variaatiokerrointen (coefficient of variation, %CV) ja standardikäyrän korrelaatiokertoimen (r) laskentaan.

Testin laadunvarmistus

Testin tarkkuus riippuu standardikäyrän tarkkuudesta. Tästä syystä standardeista saadut tulokset on tarkastettava, ennen kuin testituloksia voidaan tulkita.

ELISAa koskee seuraava:

- Standardin 1 keskimääräisen optisen tiheyden on oltava $\geq 0,600$.
- Standardin 1 ja 2 toistettujen optisten tiheyksien arvojen %CV-arvon on oltava $\leq 15 \%$.
- Standardien 3 ja 4 rinnakkaisotosten optisten tiheyksien arvo ei saa poiketa yli 0,040 optisen tiheyden yksikköä niiden keskiarvosta.
- Keskimääräisistä imeytymisarvoista laskettujen korrelaatiokerrointen (r) on oltava $\geq 0,98$.

QFT-Plus-analyysiohjelmisto laskee ja raportoi nämä laadunvalvontaparametrit.

Jos yllä mainitut kriteerit eivät täyty, ajo on virheellinen ja testi on tehtävä uudelleen.

Nollastandardin (vihreä laimennusliuos) keskimääräisen optisen tiheyden on oltava $\leq 0,150$.

Jos keskimääräinen optisen tiheyden arvo on $> 0,150$, levyjen pesuprosessi on tarkastettava.

Tulosten tulkitseminen

QFT-Plus-tulokset tulkitaan seuraavien kriteerien mukaisesti (Taulukko 2):

Tärkeä ilmoitus: tuberkuloosin diagnosoiminen tai poissulkeminen ja latentin tuberkuloosin todennäköisyyden arviointi vaatii epidemiologisia, historiallisia, lääketieteellisiä ja diagnostisia löydöksiä, jotka on otettava huomioon QFT-Plus-testin tuloksia tulkittaessa.

Taulukko 2. QFT-Plus-tulosten tulkinta

Nil (IU/ml)	TB1 miinus Nil (IU/ml)	TB2 miinus Nil (IU/ml)	Mitogeeni miinus Nil (IU/ml)*	QFT-Plus-tulos	Raportti/tulkinta
	≥ 0,35 ja ≥ 25 % Nil-arvosta	Mikä tahansa	Mikä tahansa	Positiivinen [†]	<i>M. tuberculosis</i> -infektio on todennäköinen
≤ 8,0	Mikä tahansa	≥ 0,35 ja ≥ 25 % Nil-arvosta	≥ 0,5	Negatiivinen	<i>M. tuberculosis</i> -infektio EI ole todennäköinen
	< 0,35 tai ≥ 0,35 ja < 25 % Nil-arvosta	< 0,35 tai ≥ 0,35 ja < 25 % Nil-arvosta	≥ 0,5	Määrittämätön [‡]	<i>M. tuberculosis</i> -infektion todennäköisyyttä ei voida määrittää
> 8,0 [§]		Mikä tahansa	< 0,5	Määrittämätön [‡]	<i>M. tuberculosis</i> -infektion todennäköisyyttä ei voida määrittää

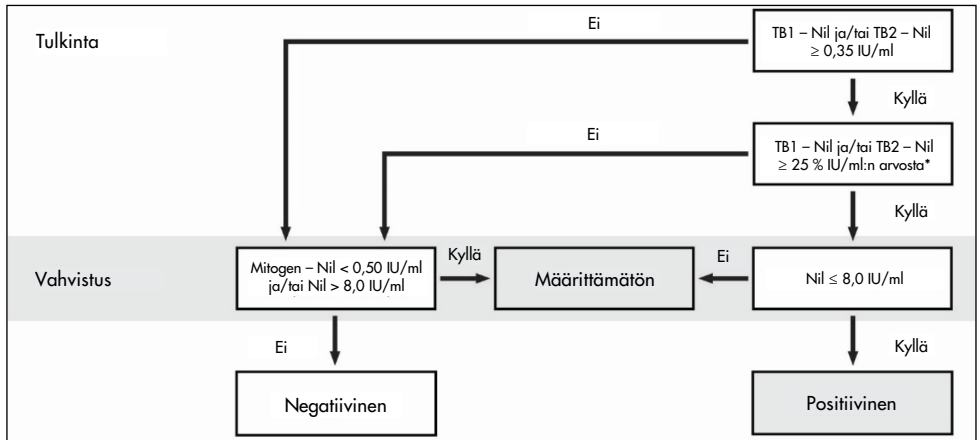
* Vasteet Mitogen-positiiviseen kontrolliin (ja toisinaan myös CMV-antigeneihin) ovat usein mikrolevyn lukulaitteen alueen ulkopuolella. Tällä ei ole vaikutusta testituloksiin. Kun arvot ovat > 10 ml, QFT-Plus-ohjelmisto raportoi tulokseksi > 10 IU/ml.

[†]Silloin, kun *M. tuberculosis* -infektiota ei epäillä, alustavat positiiviset tulokset voidaan vahvistaa testaamalla alkuperäiset plasmanäytteet uudelleen toisintoina QFT-Plus ELISA -menetelmällä. Jos toistetun testin yksi tai molemmat toisinnot ovat positiivisia, henkilön testitulos on katsottava positiiviseksi.

[‡]Mahdollisia syitä on Vianmääritys-luvussa.

[§]Kliinisissä tutkimuksissa alle 0,25 prosentilla potilaista oli > 8,0 IU/ml IFN- γ -tasoja Nil-kontrollissa.

Mitatulla IFN- γ -tason suuruudella ei voida korreloida infektion vaihetta tai astetta, immuunivasteen tasoa tai aktiivisen sairauden etenemisen mahdollisuutta. Positiivinen TB-vaste Mitogen-negatiivisilla henkilöillä on harvinainen, mutta sitä on tavattu tuberkuloosia sairastavilla potilailla. Se tarkoittaa, että IFN- γ -vaste TB-antigeeniin on suurempi kuin vaste Mitogen-mitogeeniin, mikä on mahdollista, koska Mitogen-taso ei stimuloi lymfosyyttien IFN- γ -tuotantoa maksimaalisesti.



* Jotta TB1 miinus Nil -tulos ja TB2 miinus Nil -tulos ovat päteviä, määrän ≥ 25 prosenttia Nil:n IU/ml-arvosta on oltava samasta putkesta kuin alkuperäinen $\geq 0,35$ IU/ml -tulos.

Kuva 6. QFT- Plus-tulkintakaavio

Rajoitukset

QFT-Plus-testissä saatuja tuloksia on käytettävä yhdessä kunkin henkilön epidemiologian, nykyisen terveydentilan ja muiden diagnostisten arviointien kanssa.

Henkilöt, joiden Nil-arvot ovat suuremmat kuin 8,0 IU/ml, luokitellaan "määrittämättömiksi", koska 25 % korkeampi vaste TB-antigeeneihin saattaa olla testin mittausalueen ulkopuolella.

Epäluotettavat tai määrittelemättömät tulokset voivat johtua seuraavasta:

- prosessi poikkeaa tämän tuoteselosteen ohjeista
- Verenkierrossa on liian suuria IFN- γ -määriä tai kehossa on heterofiilisiä vasta-aineita
- Yli 16 tuntia verinäytteen oton ja 37 °C:ssa inkuboimisen välillä. Tämä ei koske tilanteita, joissa on käytetty litiumhepariini- tai natriumhepariiniiputkea 2–8 °C:n lämpötilassa.

Suorituskykyominaisuudet

Kliiniset tutkimukset

Koska LTBI:lle ei ole ehdotonta standarditestä, QFT-Plus-testin herkkyyttä ja spesifisyyttä ei voida käytännössä arvioida. QFT-Plus-testin spesifisyys approksimoitiin arvioimalla virheellisiä positiivisia lukemia henkilöiltä, joilla on pieni tuberkuloosi-infektion riski (ei tunnettuja riskitekijöitä). Herkkyys keskiarvoistettiin arvioimalla potilasryhmiä, joilla oli viljelyllä vahvistettu aktiivinen tuberkuloosi.

Spesifisyys

QFT-Plus-testin spesifisyyttä tutkittiin tutkimuksessa, johon osallistui 409 tutkimushenkilöä. Demografiset tiedot ja tuberkuloosialtistuksen riskikertoimet määritettiin standarditutkimuksella testiajankohtana.

Löydösten yhteenvedossa QFT-Plus-testin kokonaisspesifisyys oli 97,6 prosenttia (399/409) (Taulukko 3 ja Taulukko 4) kahdessa vähäisen tuberkuloosi-infektorisikin potilasryhmässä (ei tunnettuja riskitekijöitä).

Taulukko 3. QFT-Plus-spesifisyystutkimuksen tulokset tutkimuspaikan mukaan

Tutkimus	Positiivinen	Negatiivinen	Määrittämätön	Spesifisyys (95 %-n CI)
Japani	4	203	0	98 % (95–100 %)
Australia	6	196	0	97% (94–99%)

Taulukko 4. QFT-Plus-spesifisyystutkimuksen tulokset TB-antigeeniputken mukaan

Tutkimus	TB1	TB2	QFT-Plus
Positiivinen	5	10	10
Negatiivinen	404	399	399
Määrittämätön	0	0	0
Spesifisyys (95 %-n CI)	98,8 % (97,2–99,6)	97,6 % (95,6–98,8)	97,6 % (95,6–98,8)

Herkkyys aktiiviselle tuberkuloosille

Koska LTBI:lle ei ole ehdotonta standarditestiä, sopivana korvaavana testinä voidaan käyttää *M. tuberculosis* -bakteerin mikrobiologista viljelyä, koska sairastuneet potilaat ovat aina infektoituneita. Neljän Australiassa ja Japanissa sijaitsevan tutkimuspaikan henkilöt, joiden epäiltiin sairastavan tuberkuloosia ja joiden *M. tuberculosis* -infektio myöhemmin vahvistettiin viljelyllä, testattiin QFT-Plus-testin herkkyyden arvioimiseksi (Taulukko 5 ja Taulukko 6). Potilaille oli annettu hoitoa alle 14 päivän ajan, ennen kuin heiltä otettiin verinäyte QFT-Plus-testiä varten.

M. tuberculosis -viljelyssä positiivisiksi todettujen potilaiden neljän ryhmän tulosten yhteenvedossa QFT-Plus-testin herkkyys tuberkuloosin havaitsemisessa oli 95,3 prosenttia (164/172). Kaikkiaan neljässä ryhmässä 159 potilasta sai positiivisen tuloksen sekä TB1- että TB2-putkitestissä, yksi potilas oli positiivinen vain TB1-putken mukaan ja neljä oli positiivisia vain TB2:n mukaan. Kokonaisuudessaan 1,1 prosenttia (2/174) tuloksista oli määrittämättömiä. TB2-testi tunnisti oikein yhden viljelyssä vahvistetun potilaan, jonka tulos olisi pelkän TB1-testin perusteella ollut määrittämätön (alhainen Mitogen-taso) (katso Taulukko 5 ja Taulukko 6).

Taulukko 5. QFT-Plus-herkkyystutkimuksen tulokset tutkimuspaikan mukaan

Tutkimuspaikat	Positiivinen	Negatiivinen	Määrittämätön	QFT-Plus-herkkyys* (95 %-n CI)
Japanin tutkimuspaikka 1	36	7	0	84 % (69–93)
Japanin tutkimuspaikka 2	53	1	2	98 % (90–100)
Japanin tutkimuspaikka 3	54	0	0	100 % (93–100)
Australian tutkimuspaikka	21	0	0	100 % (84–100)

* Herkkyys perustuu kelvollisten testien kokonaismäärään lukuun ottamatta määrittämättömiä tuloksia.

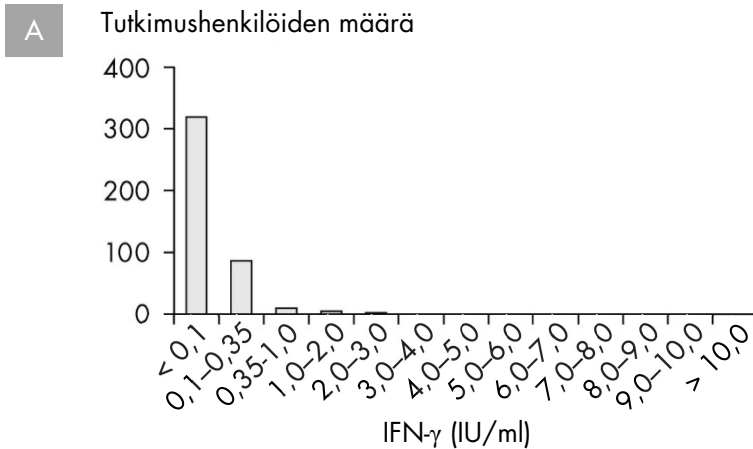
Taulukko 6. QFT-Plus-herkkyystutkimuksen tulokset TB-antigeeniputken mukaan

	TB1	TB2	QFT-Plus
Positiivinen	160	163	164
Negatiivinen	11	9	8
Määrittämätön	3	2	2
Herkkyysh (95 %:n CI)	93,6 % (88,8–96,7)	94,8 % (90,3–97,6)	95,3 % (90,9–97,9)

* Herkkyysh perustuu kellovlisten testien kokonaismäärään lukuun ottamatta määrittämättömiä tuloksia.

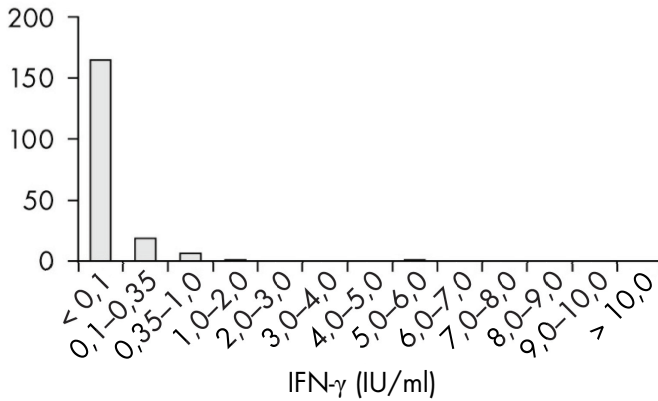
Havaittujen vasteiden jakaumat – ryhmittely riskien mukaan

Kliinisissä tutkimuksissa havaittiin erilaisia TB1:n, TB2:n ja kontrolliputkien IFN- γ -vasteita, ja ne ryhmiteltiin *M. tuberculosis* -infektoriskin mukaan (kuvat 7–9). Sekariskiryhmä koostuu yleistä testipopulaatiota edustavista tutkimushenkilöistä. Ryhmään kuuluu sekä henkilöitä, joilla on tuberkuloosialtistuksen riskitekijöitä, että henkilöitä, joilla riskitekijöitä ei ole ja jolloin aktiivinen tuberkuloosi on epätodennäköinen (eli LTBI).



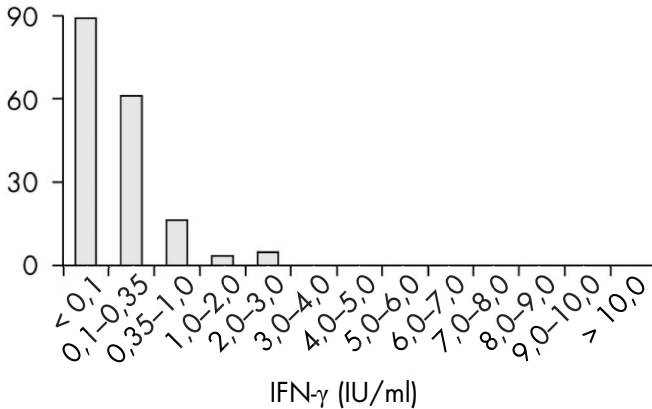
B

Tutkimushenkilöiden määrä

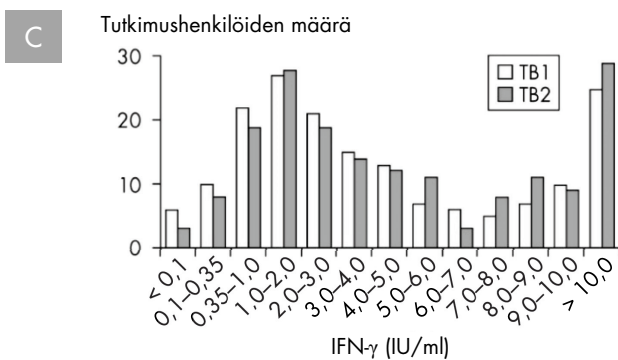
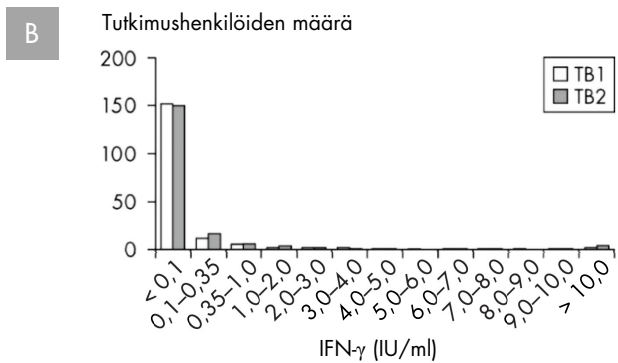
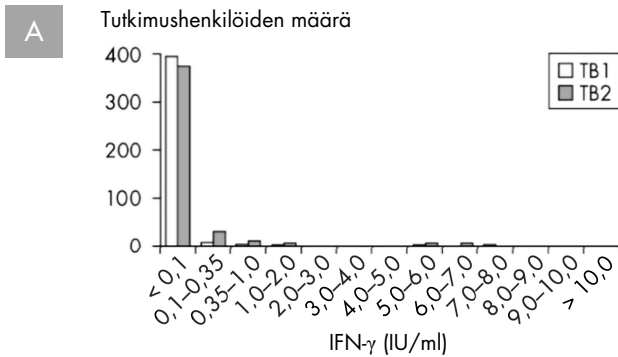


C

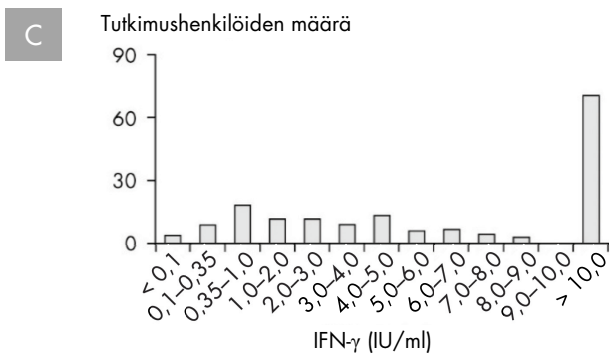
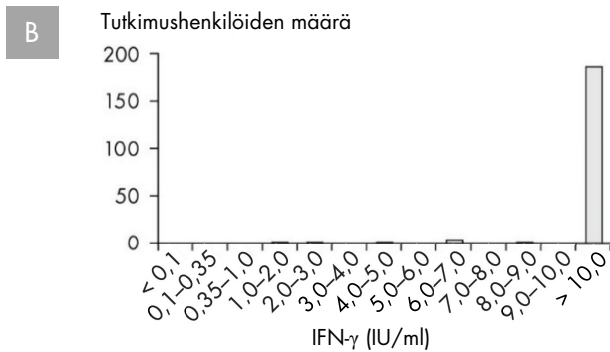
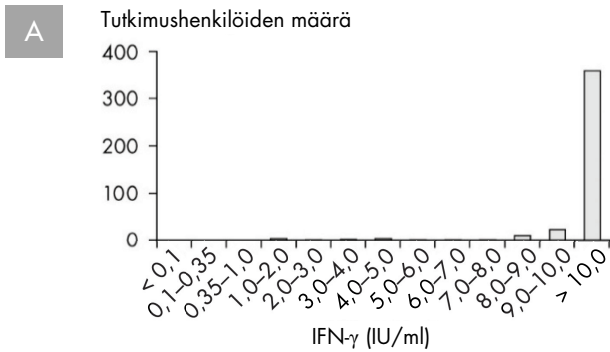
Tutkimushenkilöiden määrä



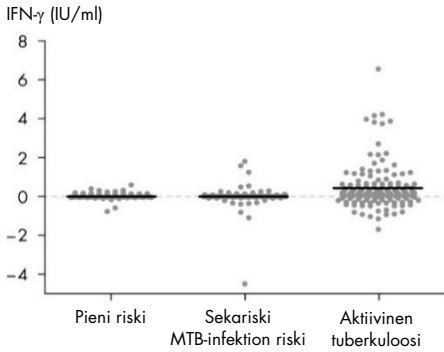
Kuva 7. Nil jakauma. A. Nil-arvojen jakauma pienen riskin potilasryhmässä (n = 409). B. Nil-arvojen jakauma sekarisin potilasryhmässä (n = 194). C. Nil-arvojen jakauma potilasryhmässä, jonka henkilöiden *M. tuberculosis* -infektio varmistettiin viljelyllä (n = 174).



Kuva 8. TB1:n ja TB2:n jakauma (nolla-arvo vähennettynä). **A.** TB1:n ja TB2:n jakauma (nolla-arvo vähennettynä) pienen riskin potilasryhmässä (n = 409). **B.** TB1:n ja TB2:n jakauma (nolla-arvo vähennettynä) sekariskin potilasryhmässä (n = 194). **C.** TB1:n ja TB2:n jakauma (nolla-arvo vähennettynä) potilasryhmässä, jonka henkilöiden *M. tuberculosis* -infektio varmistettiin viljelyllä (n = 174).



Kuva 9. Mitogen jakauma (nolla-arvo vähennettynä). **A.** Mitogen-jakauma (nolla-arvo vähennettynä) pienen riskin potilasryhmässä (n = 409). **B.** Mitogen-jakauma (nolla-arvo vähennettynä) sekariskin potilasryhmässä (n = 194). **C.** Mitogen-jakauma (nolla-arvo vähennettynä) potilasryhmässä, jonka henkilöiden *M. tuberculosis* -infektio varmistettiin viljelyllä (n = 169).

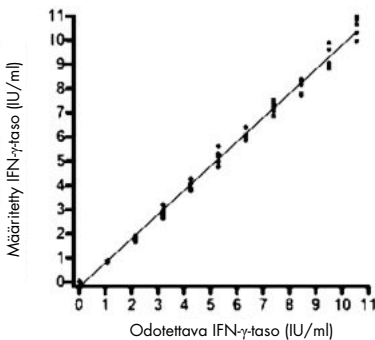


Kuva 10. Havaittu TB1- ja TB2-arvojen välinen ero (nolla-arvo vähennettynä) – ryhmittely riskin mukaan. Pienen riskin potilasryhmä (n = 409), sekariskin potilasryhmä (n = 189) ja potilasryhmä, jonka henkilöillä viljelyllä vahvistettu *M. tuberculosis* -infektio (n = 141). TB1-arvot vähennettiin TB2-arvoista. Tutkimuksesta suljettiin pois henkilöt, joiden TB1- tai TB2-arvot olivat > 10,0 IU/ml, koska he olivat määrittymisen lineaarisen käyttöalueen ulkopuolella.

Testin suoritusarvot

QFT-Plus ELISA -testin lineaarisuus on todistettu asettamalla ELISA-levylle sattumanvaraisesti viisi replikaattia 11 plasmapoolista, joiden IFN- γ -pitoisuus tunnetaan. Linearisessa regressioviivassa on $1,002 \pm 0,011$:n kulmakerroin, ja korrelaatiokerroin on 0,99 (Kuva 11).

QFT-Plus ELISA-testin tunnistusraja on 0,065 IU/ml, eikä testi ole osoittanut merkkejä suurten annosten (protsooni) vaikutuksesta IFN- γ -pitoisuuteen 10 000 IU/millilitraan asti.



Kuva 11. QFT-Plus ELISA -testin lineaarisuusprofiili

QFT-Plus ELISA -testin sisäinen ja määritysten välinen toistettavuus (%CV) arvioitiin testaamalla 20 plasmanäytettä, joiden IFN- γ -pitoisuus vaihteli (kolme näytettä, kolme laboratoriota, kolme ei-peräkkäistä päivää ja kolme tekijää). Jokainen näyte testattiin 27 kertaa 9 riippumattomassa testiajossa. Yksi näytteistä oli nollakontrolli, ja sen laskennallinen IFN- γ -pitoisuus oli 0,08 IU/ml (95 %:n CI 0,07–0,09). Muiden 19 plasmanäytteen pitoisuudet olivat välillä 0,33 (95 %:n CI: 0,31–0,34) – 7,7 IU/ml (95 %:n CI: 7,48–7,92).

Eräkohtainen tai testinsisäinen epätarkkuus arvioitiin määrittämällä jokaisen IFN- γ :a sisältävän testiplasman %CV-keskiarvo kultakin levyerältä (n = 9). Tulokseksi saatu epätarkkuus vaihteli välillä 4,1–9,1 %CV. Keskimääräinen eräkohtainen kovarianssi (\pm 95 %:n CI) oli 6,6 % \pm 0,6 %. Nil-IFN- γ -plasman keskiarvo oli 14,1 %CV.

Kokonais- tai testienvälinen epätarkkuus määritettiin vertaamalla 27:ää laskettua IFN- γ -pitoisuutta jokaisesta plasmanäytteestä. Testienvälinen epätarkkuus oli 6,6–12,3 %CV. Kokonaiskeskiarvo %CV (\pm 95 %:n CI) oli 8,7 % \pm 0,7 %. Nil-IFN- γ -plasman keskiarvo oli 26,1 %CV. Tätä vaihtelutasoa voidaan odottaa, koska laskettu IFN- γ -pitoisuus on pieni ja vaihtelu pienen pitoisuusarvion ympärillä on suurempi kuin suuremmissa pitoisuuksissa.

QFT-Plus-testin toistettavuus määritettiin 102 tutkimushenkilöltä saatujen verinäytteiden avulla. Tutkimushenkilöiden *M. tuberculosis* -infektion riskitekijät olivat sekalaiset. Kolme eri testiajaa ja laboratoriota arvioitiin.

Jokaista tutkimushenkilöä kohden tehtiin yhteensä kolme diagnostista määritystä. Määrityksiä tehtiin yhteensä 306 kaikkia tutkimushenkilöitä kohden. Diagnostinen toistettavuus oli kaikkiaan 99 prosenttia (95 %:n CI: 97,2–99,7). Diagnostinen tulos oli yhdenmukainen 303:ssa 306:sta määrityksestä. Kolmen tutkimushenkilön tulokset, jotka olivat lähellä raja-arvoa, saivat aikaan kaiken vaihtelun.

LTBI-diagnosointi

Useat julkaistut tutkimukset osoittavat QFT-Plus-testiä edeltäneen QFT:n suorituskyvyn eri väestöryhmillä, joilla on MTB-tartunnan riski. Katso joidenkin valittujen tutkimusten pääasialliset löydökset: Taulukko 7.

Taulukko 7. Julkaistuja QFT-tutkimuksia

Potilasryhmä/ sairaus tai tila	Tulokset ja löydökset	Julkaistujen tutkimusten kokonaismäärä
Pediatría	Todistettu toimintakyky lapsilla alle 5-vuotiaat mukaan lukien (45–46) – ELISpot-pohjaista IGRA-testiä (8) suurempi tarkkuus. Toistaiseksi suurin toteutettu tutkimus, jossa vertailtiin QFT:tä ja TST:tä vietnamilaisilla, filippiiniläisillä ja meksikolaisilla lapsilla; tukee QFT:n käyttöä TST:n sijaan ulkomailla syntyneiden lasten LTBI-testauksessa (46). Rajoitetun kosketuksen tutkimuksessa osoitettiin TST:tä parempi ennustearvo lapsilla (47) ja 8-kertainen riski tuberkuloosin puhkeamiseen kahden vuoden sisällä QFT-konvertoijien joukossa ei-konvertoijiin verrattuna (48). QFT-negatiivisuuden/TST-positiivisuuden eroavaisuus on korkea BCG-rokotetuilla lapsilla (46, 49), mutta alle 5-vuotiailla lapsilla ei havaittu vaikutusta mitogeenivasteeseen (49). Maahanmuuttajalasten rutiiniselonnassa määrittämättömien tulosten määrä oli vähäinen (46).	152
Raskaus	Vähäisen taakan ympäristössä QFT toimii yhtä hyvin raskauden kussakin kolmanneksessa, ja tulokset ovat verrattavissa ei-raskaana olevien naisten tuloksiin. Lisäksi QFT on selvästi spesifisempi, vähintään yhtä herkkä ja mahdollisesti parempi taudinkulun ennustaja kuin TST (50). Korkean taakan ympäristössä QFT oli TST:hen verrattuna vakaampi koko raskauden ajan ja vastasi lähemmin LTBI-taustalevinneisyyttä, vaikka tekijöiden loppupäätelmänä olikin, että raskaus vaikuttaa sekä QFT- että TST-tuloksiin (51).	6

Taulukko jatkuu seuraavalla sivulla

Taulukko 7. Julkaistuja QFT-tutkimuksia (jatkoa)

Potilasryhmä/ sairaus tai tila	Tulokset ja löydökset	Julkaistujen tutkimusten kokonaismäärä
HIV/AIDS	HIV-infektio vaikuttaa sekä IGRA- että TST-testiin, ja tutkimustulokset osoittavat, että erityistä varovaisuutta on noudatettava tulosten tulkinnassa sellaisten potilaiden kohdalla, joiden CD4+-määrät ovat < 200 (52). QFT:n on osoitettu olevan vähemmän vaikutusaltis kuin ELSpot-pohjaiset IGRA ja TST (53–55). Yhden käyntikerran IGRA:lla voidaan ratkaista TST-testiin liittyvä alhainen paluutaso tässä potilasryhmässä (53).	101
Immunosuppressiohoidot	QFT on vähemmän altis immunosuppressiohoitojen vaikutukselle kuin TST ja korreloi paremmin TB-riskitekijöiden kanssa (23, 27). QFT:n herkkyys reumapotilailla on korkea (23, 56, 57) ja spesifisyys TST:tä korkeampi, mikä minimoi vääriä positiivisia tuloksia ja vähentää turhaa hoitoa, johon TST:n myötä päädyttäisiin (23, 57, 58).	112
Terveydenhoitoalan työntekijät	Todistetusti TST:tä spesifisempi ja vähemmän vääriä positiivisia tuloksia tuottava sekä kustannustehokkaampi kuin TST (59–62). Vaihtelu kynnsarvojen paikkeilla on odotusten mukainen löydös sarjatestatuksessa ja seurausta dikotomisesta raja-arvosta sekä biologisen testin luontaisesta vaihtelusta (63). Tutkimukset ovat osoittaneet TST:tä korkeammat konversio/reversio-arvot pienen riskin terveydenhoitoalan työntekijöiden sarjatestatuksessa (64, 65). Yhdysvaltojen CDC (Centers for Disease Control and Prevention, tartuntatautien valvonta- ja ehkäisykeskukset) tunnustaa, että IGRA-konversio määrityskriteeri saattaa tuottaa enemmän konversiota kuin TST:n tiukemmilla kvantitatiivisilla kriteereillä havaitaan. Lisäksi uudelleentestausstrategiat on osoitettu tehokkaiksi konversio/reversio-ilmion hallintakeinoiksi (65–68).	111
TB-kosketukset	Korkeammat PPV- ja NPV-arvot kuin TST:illä (47); yhden käyntikerran mukavuus niiden kohdalla, jotka eivät luultavasti palaisi (63); parempi korrelointi altistuksen kanssa (69), mikä näkyy erityisesti BCG-rokotetuilla ihmisillä ja BCG-rokotemaista tulevissa potilasryhmissä (70, 71).	89
Transplantaatio	Osoitettu vähintään yhtä tehokkaaksi kuin TST, mutta vähemmän alttiiksi loppuvaiheen elinsairauksien vaikutuksille kuin TST (22).	23

Taulukko jatkuu seuraavalla sivulla

Taulukko 7. Julkaistuja QFT-tutkimuksia (jatkoa)

Potilasryhmä/ sairaus tai tila	Tulokset ja löydökset	Julkaistujen tutkimusten kokonaismäärä
Diabetes	Ristiriitaisia tuloksia pienestä määrästä julkaistuja tutkimuksia, joissa rajallinen määrä tutkimushenkilöitä. Eräs vähäisen taakan alueen tutkimus osoitti, että tuberkuloosipotilaiden diabetes ei heikennä QFT-herkkyyttä (72). Korkean taakan alueella tehty tutkimus Tansaniassa, joka viittasi diabeteksen negatiiviseen vaikutukseen IFN- γ :n tuotannossa, ei ottanut huomioon sekoittavia tekijöitä, kuten HIV:tä ja loisinfektioita (73). Vietnaminissa tehdyissä tutkimuksissa 838 itseilmoitetun diabeetikon, joilla epäiltiin tuberkuloosia epänormaalin CXR:n takia tai joiden aktiivinen tuberkuloosi vahvistettiin viljelyllä (n = 128), QFT-positiivisuus oli sama tai suurempi kuin TST-raja-arvot 10 ja 15 mm (74).	9
Loppuvaiheen munuaisten vajaatoiminta	QFT-positiiviset tulokset korreloivat TB-riskitekijöiden kanssa paremmin kuin TST, ja niillä on vähäisempi yhteys BCG:hen (75).	45
Siirtolaiset	Tutkimukset osoittavat, että toisin kuin TST:llä, QFT:n suorituskykyyn ei vaikuta BCG eikä ikä (74). QFT todistetusti kustannustehokkain menetelmä (76). Vähäisen taakan alueilla suurin osa tuberkuloositapauksista tulee ulkomailla syntyneiltä. Alueilla on myös maahan saapumisen jälkeen tapahtuvia latentin tuberkuloosin uudelleenaktivoitumisia (77). Toistaiseksi suurin toteutettu tutkimus, jossa vertailtiin QFT:tä ja TST:tä maahanmuuttajalapsilla, tukee QFT:n käyttöä TST:n sijaan ulkomailla syntyneiden lasten latentin tuberkuloosi-infektion testauksessa (46).	29

Teknisiä tietoja

Määrittämättömät tulokset

Määrittämättömät tulokset ovat epätavallisia, ja ne saattavat johtua testattavan henkilön immunologisesta tilasta. Ne voivat kuitenkin liittyä myös useisiin teknisiin tekijöihin, jos yllä annettuja käyttöohjeita ei noudateta.

Jos epäillään teknisiä ongelmia reagenssien varastoinnissa, verinäytteiden ottamisessa tai niiden käsittelyssä, koko QFT-Plus-testi on toistettava uudella verinäytteellä. Stimuloidun plasman ELISA-testaus voidaan toistaa, jos epäillään riittämätöntä pesua tai muuta poikkeamaa ELISA-testin toimenpiteistä. Matalista Mitogen-arvoista tai korkeista Nil-arvoista aiheutuvien määrittämättömien tulosten ei voi odottaa muuttuvan testiä toistamalla, jos ELISA-testissä ei ole tapahtunut virhettä. Määrittämättömät tulokset on ilmoitettava määrittämättömiksi. Lääkäri voi ottaa uuden näytteen tai suorittaa muita toimenpiteitä tarpeen mukaan.

Hyytyneet plasmanäytteet

Jos plasmanäytteitä kauan säilytettäessä syntyy fibriinihyytymiä, näytteet on lingottava hyytyneen aineksen saostamiseksi ja plasman pipetoinnin helpottamiseksi.

Ongelmien ratkaisu

Tämä ongelmien ratkaisuopas voi auttaa mahdollisissa esiin tulevissa ongelmissa. Lisätietoja on myös seuraavassa osoitteessa olevissa teknisissä tiedoissa: www.QuantiFERON.com. Katso yhteystiedot takakannesta.

ELISAn ongelmien ratkaisu

Epämääräinen värin kehittyminen

Mahdollinen syy	Ratkaisu
a) Levy ei ole täysin pesty	Pese levy pesupuskurilla 400 µl/kuoppa vähintään 6 kertaa. Käytettävän pesimen mukaan saatetaan tarvita enemmän kuin 6 pesujaksoa. Jokaisen pesujakson välissä on suoritettava vähintään 5 sekunnin liotusjakso.
b) ELISA-kuoppien ristikontaminaatio	Pipetoinnissa ja näytteen sekoituksessa on oltava huolellinen riskin vähentämiseksi minimiin.
c) Sarja/komponentit ovat vanhentuneet	Varmista, että sarja käytetään ennen viimeistä käyttöpäivää. Varmista, että standardi ja konjugaatin 100x konsentraatti käytetään kolmen kuukauden kuluessa käyttövalmiiksi saattamisen päivämäärästä.
d) Entsyymisubstraattiliuos on kontaminoitunut.	Heitä substraatti pois, jos sinistä väriä on havaittavissa. Varmista, että käytössä olevat reagenssisäiliöt ovat puhtaat.
e) Plasma on sekoittunut QFT-Plus-putkissa ennen keräämistä	Kun sentrifugointi on tehty, varo pipetin ylös ja alas suuntautuvaa liikettä tai plasman sekoittumista millään tavoin ennen sen talteenottoa. Varo aina rikkomasta geelin pinnalla olevaa materiaalia.

Standardien lukemien alhainen optinen tiheys

Mahdollinen syy	Ratkaisu
a) Standardin laimennusvirhe	Varmista, että standardisarjan laimennukset on tehty oikein tämän pakkausselosteen ohjeiden mukaan.
b) Pipetointivirhe	Varmista, että pipetit on kalibroitu ja niitä käytetään valmistajan ohjeiden mukaan.
c) Inkubointilämpötila on liian alhainen	ELISA-testin inkubointi on suoritettava huoneenlämpötilassa ($22 \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$).
d) Inkubointiaika on liian lyhyt	Konjugaatin, standardit ja näytteet sisältävän levyn inkubointiajan on oltava 120 ± 5 minuuttia. Entsyymi-substraattiliuosta inkuboidaan levyssä 30 minuutin ajan.

ELISAn ongelmien ratkaisu

- | | |
|--|---|
| e) On käytetty virheellistä levyn lukulaitteen suodatinta | Levy on luettava 450 nm:n suodattimella, ja referenssisuodattimen on oltava 620–650 nm. |
| f) Reagenssit ovat liian kylmiä | Kaikki reagenssit lukuun ottamatta konjugaatin 100x -konsentraattia on tuotava huoneenlämpöön ennen testin aloittamista. Tähän menee aikaa noin yksi tunti. |
| g) Sarjan/komponenttien viimeinen käyttöpäivämäärä on umpeutunut | Varmista, että sarja käytetään ennen viimeistä käyttöpäivää. Varmista, että standardi ja konjugaatin 100x-konsentraatti käytetään 3 kuukauden kuluessa käyttövalmiiksi saattamisen päivämäärästä. |

Paljon taustahäiriöitä

Mahdollinen syy

Ratkaisu

- | | |
|--|--|
| a) Levy ei ole täysin pesty | Pese levy pesupuskurilla 400 µl/kuoppa vähintään 6 kertaa. Käytettävän pesimen mukaan saatetaan tarvita enemmän kuin 6 pesujaksoa. Jokaisen pesujakson välissä on suoritettava vähintään 5 sekunnin liotusjakso. |
| b) Inkubointilämpötila on liian korkea | ELISA-testin inkubointi on suoritettava huoneenlämpötilassa (22 ± 5 °C). |
| c) Sarjan/komponenttien viimeinen käyttöpäivämäärä on umpeutunut | Varmista, että sarja käytetään ennen viimeistä käyttöpäivää. Varmista, että standardi ja konjugaatti 100x -tiiviste käytetään 3 kuukauden kuluessa uudelleenliotuspäivämäärästä. |
| d) Entsyymisubstraattiliuos on kontaminoitunut. | Heitä substraatti pois, jos sinistä väriä on havaittavissa. Varmista, että käytössä olevat reagenssisäiliöt ovat puhtaat. |

Epälineaarinen standardisuora ja rinnakkaisotoksen vaihtelu

Mahdollinen syy

Ratkaisu

- | | |
|---|--|
| a) Levy ei ole täysin pesty | Pese levy pesupuskurilla 400 µl/kuoppa vähintään 6 kertaa. Käytettävän pesimen mukaan saatetaan tarvita enemmän kuin 6 pesujaksoa. Jokaisen pesujakson välissä on suoritettava vähintään 5 sekunnin liotusjakso. |
| b) Standardin laimennusvirhe | Varmista, että standardien laimennukset on tehty oikein tämän tuoteselösten ohjeiden mukaan. |
| c) Huono sekoitus | Sekoita reagenssit huolellisesti kääntelemällä putkia tai pyöryttämällä niitä kevyesti ennen niiden lisäämistä levyille. |
| d) Epäjohdonmukainen pipetointitekniikka tai keskeytys testin suorituksessa | Näytteen ja standardin lisääminen on suoritettava yhtäjaksoisesti. Kaikki reagenssit on valmistettava ennen testin aloittamista. |

Tuotetiedot ja tekniset oppaat ovat saatavilla veloitusetta QIAGEN-yhtiöltä jälleenmyyjän välityksellä tai vierailamalla osoitteessa www.QuantiFERON.com.

Lähdeviitteet

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

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

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

-
27. Ponce de Leon, D. et al. (2008) Comparison of an interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for detection of tuberculosis (TB) infection in patients with rheumatoid arthritis in a TB-endemic population. *J Rheumatol.* 35, 776.
 28. Richeldi, L. et al. (2008) Prior tuberculin skin testing does not boost QuantiFERON-TB results in paediatric contacts. *Eur. Respir. J.* 32, 524.
 29. Rothel, J.S. and Andersen, P. (2005) Diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: is the demise of the Mantoux test imminent? *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 3, 981.
 30. Schoepfer, A.M. et al. (2008) Comparison of interferon-gamma release assay versus tuberculin skin test for tuberculosis screening in inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol.* 103, 2799.
 31. Silverman, M.S. et al. (2007) Use of an interferon-gamma based assay to assess bladder cancer patients treated with intravesical BCG and exposed to tuberculosis. *Clin. Biochem.* 40, 913.
 32. Stebler, A. et al. (2008) Whole-blood interferon-gamma release assay for baseline tuberculosis screening of healthcare workers at a Swiss university hospital. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 29, 681.
 33. Turner, J. et al. (1996) Stimulation of human peripheral blood mononuclear cells with live *Mycobacterium bovis* BCG activates cytolytic CD8+ T cells in vitro. *Immunology* 87, 339.
 34. Brookes, R.H. et al. (2003) CD8+ T cell-mediated suppression of intracellular *Mycobacterium tuberculosis* growth in activated human macrophages. *Eur. J. Immunol.* 33, 3293.
 35. Stenger, S. et al. (1998) An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science* 282, 121.

-
36. Lalvani, A. et al. (1998) Human cytolytic and interferon gamma-secreting CD8+ T lymphocytes specific for *Mycobacterium tuberculosis*. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95, 270.
 37. Lewinsohn, D.M. et al. (2001) Classically restricted human CD8+ T lymphocytes derived from *Mycobacterium tuberculosis*-infected cells: definition of antigenic specificity. J. Immunol. 166, 439.
 38. Lewinsohn, D.A. et al. (2007) Immunodominant tuberculosis CD8 antigens preferentially restricted by HLA-B. PLoS Pathol. 3, 1240.
 39. Day, C.L. et al. (2011) Functional capacity of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cell responses in humans is associated with mycobacterial load. J. Immunol. 187, 2222.
 40. Rozot, V. et al. (2013) *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD8+ T cells are functionally and phenotypically different between latent infection and active disease. Eur. J. Immunol. 43, 1568.
 41. Nikolova, M. et al. (2013) Antigen-specific CD4- and CD8-positive signatures in different phases of *Mycobacterium tuberculosis* infection. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 75, 277.
 42. Chicchio, T. et al. (2014) Polyfunctional T-cells and effector memory phenotype are associated with active TB in HIV-infected patients. J. Infect. doi: 10.1016/j.jinf.2014.06.009. Epub.
 43. Ongaya, A. et al. (2013) *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD8+ T cell recall in convalescing TB subjects with HIV co-infection. Tuberculosis 93, S60.
 44. Lanicioni, C. et al. (2012) CD8+ T cells provide an immunologic signature of tuberculosis in young children. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 185, 206.

-
45. Long, G., Ji-Chun, M., Min, Jin-Long, L., Jin-Hui, T. (2014) Interferon- γ release assay for the diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in children younger than 5 years: a meta-analysis. *Clin. Pediatr.* 53, 1255.
 46. Howley, M.M. et al. (2015) Evaluation of QuantiFERON-TB Gold In-Tube and tuberculin skin tests among immigrant children being screened for latent tuberculosis infection. *Ped. Infect. Dis.* 34, 35.
 47. Diel, R., Loddenkemper, R., Niemann, S., Meywald-Walter, K., and Nienhaus, A. (2011) Negative and positive predictive value of a whole-blood interferon- γ release assay for developing active tuberculosis. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 183, 88.
 48. Machingadaize, S. et al. (2012) Predictive value of recent QuantiFERON conversion for tuberculosis disease in adolescents. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 186, 1051.
 49. Riazi, S. et al. (2012) Rapid diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection in children using interferon-gamma release assays (IGRAs). *Allergy Asthma Proc.* 33, 217.
 50. Lighter-Fisher, J. and Surette, A-M. (2012) Performance of an interferon-gamma release assay to diagnose latent tuberculosis infection during pregnancy. *Obstet. Gynecol.* 119, 1088.
 51. Mathud, J.S. et al. (2014) Pregnancy differentially impacts performance of latent tuberculosis diagnostics in a high-burden setting. *PLoS ONE* 9, e92308.
 52. Hoffman, M. and Ravn, P. (2010) The use of interferon-gamma release assays in HIV-positive individuals. *Eur. Infect. Dis.* 4, 23.
 53. Cheallaigh, C.N. et al. (2013) Interferon gamma release assays for the diagnosis of latent TB infection in HIV-infected individuals in a low TB burden country. *PLoS ONE* 8, e53330.














-
54. Ramos, J. M. et al. (2012) Contribution of interferon gamma release assays testing to the diagnosis of latent tuberculosis infection in HIV-infected patients: A comparison of QuantiFERON-TB gold in tube, T-SPOT.TB and tuberculin skin test. *BMC Infect. Dis.* 12, 169.
 55. Wolf, T. et al. (2013) Tuberculosis skin test, but not interferon- γ releasing assays is affected by BCG vaccination in HIV patients. *J. Infect.* 66, 376.
 56. Hsia, E.C. et al. (2012) Interferon- γ release assay versus tuberculin skin test prior to treatment with golimumab, a human anti-tumor necrosis factor antibody, in patients with rheumatoid arthritis, psoriatic arthritis, or ankylosing spondylitis. *Arthritis Rheum.* 64, 2068.
 57. Garcovich, S. et al. (2012) Clinical applicability of QuantiFERON-TB-Gold testing in psoriasis patients during long-term anti-TNF-alpha treatment: a prospective, observational study. *J. Eur. Acad. Dermatol. Ven.* 26, 1572.
 58. Kwakernaak, A.J. et al. (2011) A comparison of an interferon-gamma release assay and tuberculin skin test in refractory inflammatory disease patients screened for latent tuberculosis prior to the initiation of a first tumor necrosis factor α inhibitor. *Clin. Rheumatol.* 30, 505.
 59. Vinton, P. et al. (2009) Comparison of QuantiFERON-TB Gold In-Tube test and tuberculin skin test for identification of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection in healthcare staff and association between positive test results and known risk factors for infection. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 30, 215.
 60. de Perio, M.A., Tsevat, J., Roselle, G.A., Kralovic, S.M., and Eckman, M.H. (2009) Cost-effectiveness of interferon gamma release assays vs tuberculin skin tests in health care workers. *Arch. Intern. Med.* 169, 179.
 61. Nienhaus, A. et al. (2008) Evaluation of the interferon- γ release assay in healthcare workers. *Int. Arch. Occup. Environ. Health* 81, 295.

-
62. Nienhaus, A. et al. (2011) Systematic review of cost and cost-effectiveness of different TB-screening strategies. *BMC Health Serv. Res.* 11, 247.
 63. Centers for Disease Control and Prevention (2010) Updated guidelines for using interferon-gamma release assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection — United States, 2010. *MMWR Recomm. Rep.* 59 (RR-5), 1.
 64. Dorman, S.E. et al. (2014) Interferon- γ release assays and tuberculin skin testing for diagnosis of latent tuberculosis infection in healthcare workers in the United States. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 189, 77.
 65. Fong, K.S. et al. (2012) Challenges of interferon-gamma release assay conversions in serial testing of health care workers in a tuberculosis control program. *Chest* 142, 55.
 66. Thanassi, W. et al. (2012) Delineating a retesting zone using receiver operating characteristic analysis on serial QuantiFERON tuberculosis test results in US healthcare workers. *Pulm. Med.* doi: 10.1155/2012/291294. Epub.
 67. Behrman, A. et al. (2013) Protecting Health Care Workers from Tuberculosis, 2013: ACOEM Medical Center Occupational Health Section Task Force on Tuberculosis and Health Care Workers. *J. Occup. Environ. Med.* 55, 985.
 68. Nienhaus, A., Ringshausen, F.C., Costa, J.T, Schablon, A., and Tripodi, D. (2013) IFN- γ release assay versus tuberculin skin test for monitoring TB infection in healthcare workers. *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 11, 37.
 69. Arend, S.M. et al. (2007) Comparison of two interferon-gamma assays and tuberculin skin test for tracing TB contact. *Amer. J. Respir. Crit. Care Med.* 175, 618.

-
70. Mandalakas, A.M., Detjen, A.K., Hesselning, A.C., Benedetti, A., and Menzies, D. (2011) Interferon-gamma release assays and childhood tuberculosis: systematic review and meta-analysis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15, 1018.
 71. Grinsdale, J.A., Ho, C.S., Banouvong, H., Kwamura, L.M. (2011) Programmatic impact of using QuantiFERON-TB Gold in routine contact investigation activities. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15, 1614.
 72. Walsh, M.C. et al. (2011) Sensitivity of interferon- γ release assays is not compromised in tuberculosis patients with diabetes. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 15, 179.
 73. Faurholt-Jespersen, D. et al. (2014) Diabetes is associated with lower tuberculosis antigen-specific interferon gamma release in Tanzanian tuberculosis patients and non-tuberculosis controls. *Scand. J. Infect. Dis.* 46, 384.
 74. Painter, J.A. et al. (2013) Tuberculosis screening by tuberculosis skin test or QuantiFERON-TB Gold In-Tube Assay among an immigrant population with a high prevalence of tuberculosis and BCG vaccination. *PLoS ONE* 8, e82727.
 75. Rogerson, T.E. et al. (2012) Tests for latent tuberculosis in people with ESRD: a systematic review. *Amer. J. Kidney Dis.* 61, 33.
 76. Pareek, M. et al. (2013) Community-based evaluation of immigrant tuberculosis screening using interferon γ release assays and tuberculin skin testing: observational study and economic analysis. *Thorax.* 68, 230.
 77. CDC, Tuberculosis – United States, 2018.
https://www.cdc.gov/mmwr/volumes/68/wr/mm6811a2.htm?s_cid=mm6811a2_w
Accessed 22 March 2019.

Merkinnät

Pakkauksessa ja etiketeissä saattaa näkyä seuraavia symboleita:

Merkintä	Symbolin määritelmä
 2 x 96	Riittävä 2 x 96 -näytteen valmisteluihin
	Laillinen valmistaja
	CE-IVD-merkitty symboli
	In vitro -diagnostiikkaan
	Eräkoodi
	Tuotenumero
	GTIN-numero
	Viimeinen käyttöpäivämäärä
	Lämpötilarajoitus
	Katso käyttöohjeet
	Ei saa käyttää uudelleen
	Säilytettävä auringonvalolta suojattuna
	Materiaalinumero
Rn	R tarkoittaa käyttöohjeiden versiota ja n on versionumero

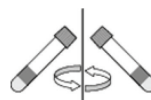
Yhteystiedot

Jos tarvitset teknistä neuvontaa tai lisätietoja, soita ilmaisnumeroomme 00800-22-44-6000, käy teknisen tukemme sivuilla osoitteessa www.qiagen.com/contact tai ota yhteyttä johonkin QIAGENin teknisen palvelun osastoon (ks. takakansi tai käy osoitteessa www.qiagen.com).

Testimenetelmä lyhyesti

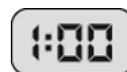
Vaihe 1 – veren inkubointi

1. Ota potilaalta verinäyte ja ravista putkia välittömästi niiden täyten jälkeen kymmenen (10) kertaa riittävän voimakkaasti, jotta putken koko sisäpinta peittyy verellä. Siten putken seinämällä olevat antigeenit pääsevät liukenemaan vereen.
2. Inkuboi putkia pystyasennossa $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$:n lämpötilassa 16–24 tuntia.
3. Inkuboinnin jälkeen putkia sentrifugoidaan 15 minuutin ajan $2000\text{--}3000 \times g$ RCF:n (g) voimalla plasman erottamiseksi punasoluista.
4. Kun sentrifugointi on tehty, varo pipetin ylös ja alas suuntautuvaa liikettä tai plasman sekoittumista millään tavoin ennen sen talteenottoa. Varo aina rikkomasta geelin pinnalla olevaa materiaalia.



Vaihe 2 – IFN- γ ELISA

1. Anna ELISA-komponenttien, konjugaatin 100x -konsentraattia lukuun ottamatta, tasaantua huoneenlämpötilassa ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) vähintään 60 minuutin ajan.
2. Sekoita sarjan standardi 8,0 IU/ml:n vahvuuteen tislattuun tai deionisoituun veteen. Valmista neljä (4) laimennettua standardia.



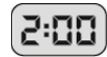
3. Sekoita kylmäkuivattu C konjugaatin 100x -konsentraatti sekä tislattu tai deionisoitu vesi.

4. Valmista työskentelyvahvuinen liuos konjugaattia vihreään -
laimennusliuokseen ja lisää sitä 50 µl kaikkiin kuoppiin.



5. Lisää 50 µl testiplasmanäytettä ja 50 µl standardia asianomaisiin kuoppiin. Sekoita käyttämällä ravistelijaa.

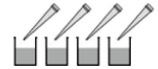
6. Inkuboi huoneenlämpötilassa 120 ± 5 minuuttia.



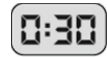
7. Pese kuopat pesupuskurilla 400 µl/kuoppa vähintään kuusi kertaa.



8. Lisää 100 µl entsyymisubstraattiliuosta kuoppiin. Sekoita käyttämällä ravistelijaa.



9. Inkuboi 30 minuuttia huoneenlämpötilassa.



10. Lisää 50 µl entsyyminpysäytysliuosta kuoppiin. Sekoita käyttämällä ravistelijaa.

11. Lue tulokset 450 nm:n suodattimella ja 620–650 nm:n referenssisuodattimella.



12. Analysoi tulokset.



Merkittävät muutokset

Luku	Sivu	Muutos (muutokset)
Useita	Useita	Lisätty ohjeita litiumhepariini- tai natriumhepariiniputkien käytöstä
Useita	Useita	Lisätty ohjeita 2–8 °C:ssa säilytetystä verinäytteestä
Useita	Useita	Levyn kansi on nyt materiaali, joka on pakollinen, mutta ei sisälly toimitukseen

Käsikirjan muutoshistoria

Asiakirja	Muutokset
R6 04/2019	Muutokset litiumhepariinin/natriumhepariinin mainintoihin Uudet toimintaohjeet verinäytteen oton työnkulkuun 2–8 °C:n lämpötilaa käytettäessä Levyn kannet poistettu QF-levyistä

Tavaramerkit: QIAGEN®, QFT®, QuantiFERON® (QIAGEN-ryhmä); Microsoft®, Excel® (Microsoft); ProCline® (Rohm and Haas Co.).

QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA rajoitettu lisenssisopimus

Tämän tuotteen käyttö tarkoittaa ostajan tai käyttäjän suostumusta noudattaa seuraavia ehtoja:

1. Tuotetta voidaan käyttää ainoastaan tuotteen mukana toimitettujen protokollien ja tämän tuoteselösteen mukaisesti ja se on tarkoitettu käytettäväksi ainoastaan yhdessä sarjan sisältämien komponenttien kanssa. QIAGEN ei myönnä immateriaalioikeuksiensa nojalla oikeutta käyttää tämän paneelin sisältämiä oheisia komponentteja muiden kuin tämän sarjan sisältämien komponenttien kanssa tai sisällyttää niitä muihin kuin tämän sarjan sisältämiin komponentteihin tuotteen mukana toimitetuissa protokollissa ja tässä tuoteselösteessä kuvattuja tapauksia lukuun ottamatta.
2. Muutoin kuin selvästi ilmoitettujen lisenssien osalta QIAGEN ei takaa, että tämä paneeli ja/tai sen käyttäjä(t) ei (eivät) loukkaa kolmansien osapuolten oikeuksia.
3. Tämän sarjan ja sen komponenttien käyttöoikeus myönnetään yhtä käyttökertaa varten eikä niitä saa käyttää uudelleen, kunnostaa tai myydä edelleen, ellei QIAGEN ole muuta määrittänyt.
4. QIAGEN kiistää nimenomaisesti kaikki käyttöoikeudet, suorat tai epäsuorat, joita ei ole tässä nimenomaisesti ilmoitettu.
5. Sarjan ostaja ja käyttäjä suostuvat siihen, että he eivät ryhdy tai anna kenellekään toiselle lupaa ryhtyä toimenpiteisiin, jotka saattavat aiheuttaa tai edistää mitään yllä kiellettyä toimintaa. QIAGEN voi kääntyä minkä tahansa tuomioistuimen puoleen pannakseen täytäntöön tämän rajoitetun lisenssisopimuksen kiellot ja saada hyvityksen kaikista valmistelu- ja oikeuskuluista (asianajopalkkiot mukaan lukien), kun tarkoituksena on tämän rajoitetun lisenssisopimuksen tai sarjaan ja/tai sen komponentteihin liittyvien immateriaalioikeuksien täytäntöönpano.

Katso päivitetty käyttöoikeusehdot osoitteesta www.qiagen.com.

© 2019, QIAGEN, kaikki oikeudet pidätetään.

www.QuantiFERON.com

Aasia ja Tyynenmeren alue | techservice-ap@qiagen.com

Eurooppa | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Lähi-itä/Afrikka | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Latinalainen Amerikka (ei Brasilia tai Meksiko) | techservice-latam@qiagen.com

Huomautukset

Huomautukset

