



April 2019

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

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

Versjon 1

IVD

Til in vitro-diagnostisk bruk

Fullblodstest med IFN- γ som måler respons til peptidantigenene
ESAT-6 og CFP-10 peptidantigener



REF

622120, 622822



QIAGEN GmbH, QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden,
Tyskland

R6 **MAT**

1083163NO

Sample to Insight



Innhold

Tiltent bruk	5
Sammendrag og forklaring av testen.....	5
Analyseprinsipp	7
Tiden som er nødvendig for utføre analysen	9
Komponenter og oppbevaring.....	10
Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med	12
Oppbevaring og håndtering av prøver.....	13
Blodprøvetakingsrør.....	13
Reagenser i settet	13
Rekonstituerte og ubrukte reagenser.....	13
Advarsler og forholdsregler.....	14
Advarsler	14
Forholdsregler.....	15
Prøvetaking og -klargjøring	18
Bruksanvisning	24
Trinn 1 – inkubasjon av blod og innhenting av plasma	24
Trinn 2 – IFN- γ ELISA.....	25
Beregninger og tolkning av tester	30
Fremstilling av standardkurve.....	30
Kvalitetskontroll av testen.....	31
Tolkning av resultater	31
Begrensninger	34

Ytelseegenskaper	35
Kliniske studier	35
Analysens ytelseegenskaper	41
Teknisk informasjon.....	46
Ubestemte resultater.....	46
Koagulerte plasmaprøver	46
Feilsøkningsveiledning	47
Referanser	49
Symboler	59
Kontaktinformasjon	60
Forkortet testprosedyre	61
Trinn 1 – inkubasjon av blod	61
Trinn 2 – IFN- γ ELISA.....	61
Signifikante endringer	63
Endringshistorikk for håndbok	63

Tiltenkt bruk

Analysen QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) er en in vitro-diagnostisk test som bruker en peptidblanding som simulerer ESAT-6- og CFP-10-proteiner for å stimulere celler i heparinisert fullblod. Påvisning av interferon- γ (IFN- γ) med enzymkoblet immunsorbent analyse (ELISA) brukes til å identifisere in vitro-reaksjoner på disse peptidantigenene som forbindes med *Mycobacterium tuberculosis*-infeksjon.

QFT-Plus er en indirekte test for *M. tuberculosis*-infeksjon (inkludert sykdom) og skal brukes sammen med risikovurdering, røntgenavbildning og andre medisinske og diagnostiske vurderinger.

Sammendrag og forklaring av testen

Tuberkulose er en smittsom sykdom som forårsakes av infeksjon med *M. tuberculosis*-kompleksorganismer (MTB) (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*), som normalt spres til nye smittebærere via dråpesmitte i luften fra pasienter med tuberkuløs sykdom i lungene. En person som nettopp er blitt smittet, kan bli syk av tuberkulose i løpet av uker eller måneder, men de fleste som smittes, blir ikke syke. Latent tuberkuloseinfeksjon (LTBI), en ikke-smittsom asymptomatisk tilstand, vedvarer hos noen, og disse kan utvikle tuberkuløs sykdom etter noen måneder eller år. Det viktigste med diagnostisering av LTBI er å vurdere hvilken medisinsk behandling som må til for å hindre tuberkuløs sykdom. Helt til nylig var tuberkulintesten (TST) den eneste metoden for å diagnostisere LTBI. Hudreaksjoner overfor tuberkulin utvikler seg 2 til 10 uker etter infeksjon. Enkelte infiserte personer, også de som har andre sykdommer som hindrer immunforsvaret i å fungere, men også andre uten slike sykdommer, reagerer imidlertid ikke på tuberkulin. Og motsatt vil enkelte personer som mest sannsynlig ikke har en *M. tuberculosis*-infeksjon, være sensitive overfor tuberkulin og dermed få positive TST-resultater etter vaksinerings med Bacille Calmette-Guérin (BCG), infeksjon med andre mykobakterier enn *M. tuberculosis*-kompleks eller andre uavklarte faktorer.

Det må skilles mellom LTBI og tuberkuløs sykdom, en rapporterbar tilstand som normalt omfatter lungene og nedre luftveier, selv om andre organsystemer også kan bli berørt. Tuberkuløs sykdom diagnostiseres på bakgrunn av historiske, fysiske, radiologiske, histologiske og mykobakteriologiske funn.

QFT-Plus er en test for cellemediert immunitet (CMI-respons) på peptidantigener som simulerer mykobakterielle proteiner. Proteinene ESAT-6 og CFP-10 er fraværende i alle BCG-stammer og de fleste ikke-tuberkuløse mykobakterier, med unntak av *M. kansasii*, *M. szulgai* og *M. marinum* (1). Personer smittet med MTB-kompleksorganismer har vanligvis lymfocytter i blodet som gjenkjenner disse antigenene og andre mykobakterieantigener. Denne gjenkjenningssprosessen omfatter generering og utskillelse av cytokinet IFN- γ . Påvisning og etterfølgende kvantifisering av IFN- γ danner grunnlaget for denne testen.

Antigenene som brukes i QFT-Plus, er en blanding av peptider som simulerer proteinene ESAT-6 og CFP-10. Flere studier har vist at disse peptidantigenene stimulerer IFN- γ -respons i T-cellene fra personer infisert med *M. tuberculosis*, men generelt ikke fra usmittede eller BCG-vaksinerte personer som ikke er syke eller har risiko for LTBI (1–32). Medisinsk behandling eller tilstander som kan svekke immunforsvaret, kan imidlertid redusere IFN- γ -responsene. Pasienter med bestemte andre mykobakterieinfeksjoner kan også vise respons på ESAT-6 og CFP-10, ettersom genene som koder disse proteinene, er til stede i *M. kansasii*, *M. szulgai* og *M. marinum* (1, 23). QFT-Plus er både en test for LTBI og et hjelpemiddel til diagnostisering av *M. tuberculosis*-kompleksinfeksjoner hos syke pasienter. Et positivt resultat støtter diagnostisering av tuberkuløs sykdom, men infeksjoner av andre mykobakterier (f.eks. *M. kansasii*) kan også gi positive resultater. Andre medisinske og diagnostiske vurderinger må også tas for å bekrefte eller utelukke tuberkuløs sykdom.

QFT-Plus har to distinkte TB-antigenrør: TB Antigen Tube 1 (TB1) og TB Antigen Tube 2 (TB2). Begge rørene inneholder peptidantigener fra de MTB-kompleksassosierte antigenene ESAT-6 og CFP-10. TB1-rør inneholder peptider fra ESAT-6 og CFP-10, som er utformet for å fremkalle CMI-respons fra CD4⁺ T-hjelpelymfocytter, mens TB2-rør inneholder et ekstra sett med peptider målrettet mot fremkalling av CMI-respons fra CD8⁺ cytotoksiske T-lymfocytter.

I den naturlige utviklingen av MTB-infeksjon spiller CD4⁺ T-celler en avgjørende rolle for immunologisk kontroll, fordi de utskiller cytokinet IFN- γ . Det finnes nå dokumentasjon som viser at CD8⁺ T-celler spiller en rolle som en del av smittebærerens forsvar mot MTB, ved å produsere IFN- γ og andre oppløselige faktorer, som aktiverer makrofager for å undertrykke veksten av MTB, drepe infiserte celler eller direkte lysere intracellulær MTB (33–35). MTB-spesifikke CD8⁺-celler er påvist hos personer med LTBI og med aktiv TB-sykdom der man ofte kan finne IFN- γ -produserende CD8⁺-celler (36–38). Videre beskrives ESAT-6- og CFP-10-spesifikke CD8⁺ T-lymfocytter som hyppigere påvist hos personer med aktiv TB-sykdom sammenlignet med LTBI, og det kan være forbundet med nylig MTB-eksponering (39–41). I tillegg er det også påvist MTB-spesifikk CD8⁺ T-celleproduserende IFN- γ hos personer med aktiv TB og samtidig HIV-infeksjon (42, 43) og hos små barn med TB-sykdom (44).

Analyseprinsipp

QFT-Plus-analysen benytter spesialiserte blodprøvetakingsrør, som brukes til å ta fullblodsprøver. Blodet inkuberes i rørene i 16 til 24 timer. Deretter høstes plasma, som testes for forekomst av IFN- γ produsert som respons på peptidantigenene.

QFT-Plus-testen utføres i to trinn. Først blir fullblod samlet inn i de ulike QFT-Plus Blood Collection Tubes, som består av et Nil-rør, et TB1-rør, et TB2-rør og et Mitogen-rør. Alternativt kan blodprøver tas i et enkelt generelt blodprøvetakingsrør med litiumheparin eller natriumheparin som antikoagulant og deretter overføres til QFT-Plus-rør.

Mitogen-røret brukes med QFT-Plus-testen som positiv kontroll. Dette kan være viktig i tilfeller der det er tvil om pasientens immunstatus. Mitogen-røret brukes også som en kontroll for riktig blodhåndtering og -inkubasjon.

QFT-Plus-rørene ristes for å blande antigen med blodet og må inkuberes ved 37 °C så snart som mulig, innen 16 timer etter prøvetaking. Etter en 16 til 24 timer lang inkubasjonsperiode blir rørene sentrifugert, plasma fjernet og mengden IFN- γ (IE/ml) målt ved ELISA. QFT-Plus ELISA bruker rekombinant human IFN- γ -standard, som har blitt analysert mot et IFN- γ -

referansepreparat (NIH-ref.: Gxg01-902-535). Resultater for testprøvene rapporteres i internasjonale enheter per ml (IE/ml) i forhold til en standardkurve utarbeidet ved å teste fortyninger av standarden som følger med settet.

Heterofile (f.eks. humane anti-murine) antistoffer i serum eller plasma hos visse personer er kjent for å forårsake interferens med immunanalyser. Effekten av heterofile antistoffer i QFT-Plus ELISA minimeres ved tilsetning av normalt murint serum i grønn fortyningsløsning og bruk av monoklonale F(ab')₂-antistoffragmenter som IFN- γ -innfangingsantistoffet belagt på mikropalten.

En QFT-Plus-analyse anses som positiv dersom en IFN- γ -respons for et av TB-antigenrørene ligger langt høyere enn Nil IFN- γ IE/ml-verdien. Plasmaprøven fra Mitogen-røret fungerer som en positiv kontroll for IFN- γ for hver prøve som testes. En lav reaksjon på Mitogen (< 0,5 IE/ml) indikerer et ubestemt resultat når en blodprøve også har negative reaksjon på TB-antigenene. Dette mønsteret kan oppstå ved utilstrekkelig mengde lymfocytter, redusert lymfocytaktivitet grunnet feil prøvebehandling, feil påfylling/blanding av Mitogen-røret eller hvis pasientens lymfocytter ikke klarer å fremstille IFN- γ . Forhøyede nivåer av IFN- γ i Nil-prøven kan forekomme med forekomst av heterofile antistoffer, eller iboende IFN- γ -utskilning. Nil-røret justerer for bakgrunn (f.eks. svært høye nivåer av sirkulerende IFN- γ eller forekomst av heterofile antistoffer). IFN- γ -nivået i Nil-røret trekkes fra IFN- γ -nivået for TB-antigenrøret og Mitogen-røret.

Tiden som er nødvendig for utføre analysen

Tiden som kreves for å få utført QFT-Plus ELISA, er beregnet nedenfor. Tiden som kreves for testserier av flere prøver, er også angitt:

37 °C-inkubasjon av blodrør: 16 til 24 timer

ELISA: Cirka 3 timer for én ELISA-plate

(22 personer)

< 1 times arbeid

Legg til 10 til 15 minutter for hver ekstra plate

Komponenter og oppbevaring

Blodprøvetakingsrør*		200 rør	Pakke til enkeltpasient- bruk	Dispenserpakke	200 HA rør	HA-pakke til enkeltpasient- bruk	HA- dispenser- pakke
Katalognr.		622526	622222	622423	623526	623222	623423
Antall tester/pakke		50	10	25	50	10	25
QuantiFERON Nil Tube (grå hette, hvit ring)	Nil	50 rør	10 rør	25 rør			
QuantiFERON TB1 Tube (grønn hette, hvit ring)	TB1	50 rør	10 rør	25 rør			
QuantiFERON TB2 Tube (gul hette, hvit ring)	TB2	50 rør	10 rør	25 rør			
QuantiFERON Mitogen Tube (lilla hette, hvit ring)	Mitogen	50 rør	10 rør	25 rør			
QuantiFERON Nil HA Tube (grå hette, gul ring)	Nil HA				50 rør	10 rør	25 rør
QuantiFERON TB1 HA Tube (grønn hette, gul ring)	TB1 HA				50 rør	10 rør	25 rør
QuantiFERON TB2 HA Tube (gul hette, gul ring)	TB2 HA				50 rør	10 rør	25 rør
QuantiFERON Mitogen HA Tube (lilla hette, gul ring)	Mitogen HA				50 rør	10 rør	25 rør
Pakningsvedlegg for QFT-Plus Blood Collection Tubes Package Insert		1	1	1	1	1	1

* Ikke alle produktkonfigurasjoner er tilgjengelig i alle land. Ta kontakt med QIAGEN-kundesenteret (mer informasjon på www.qiagen.com) for å få mer informasjon om hvilke konfigurasjoner som kan bestilles.

ELISA-komponenter [†] Katalognr.	Sett med 2 ELISA-plater 622120	Pakke til referanselaboratium 622822
Mikroplate Strips (mikroplateremser) (12 x 8 brønner) belagt med murint anti- humant IFN- γ -monoklonalt antistoff	2 mikroplateremser med 96 brønner	20 mikroplateremser med 96 brønner
IFN- γ Standard, lyofilisert (inneholder rekombinant humant IFN- γ , bovint kasein, 0,01 % vekt/volum timerosal)	1 flaske (8 IE/ml rekonstituert)	10 flasker (8 IE/ml rekonstituert)
Green Diluent (grønn fortynner, inneholder bovint kasein, normalt museserum, 0,01 % vekt/volum timerosal)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (100x- konjugatkonsentrat), lyofilisert (murint anti- humant IFN- γ HRP, inneholder 0,01 % vekt/volum timerosal)	1x0,3 ml (rekonstituert)	10x0,3 ml (rekonstituert)
Wash Buffer 20x Concentrate (vaskebufferkonsentrat 20x, pH 7,2, inneholder 0,05 % vekt/volum ProClin® 300)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzym Substrate Solution (enzymsubstratløsning) (inneholder H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetramethylbenzidin)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (enzymstoppende løsning) (inneholder 0,5M H ₂ SO ₄)	1 x 15 ml	10 x 15 ml
Pakningsvedlegg for QFT-Plus ELISA	1	1

[†] Se side 15 for fare- og sikkerhetssetninger.

Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med

- 37 °C ± 1 °C inkubator*. CO₂ kreves ikke
- Kalibrerte pipetter med variabelt volum* og spisser til engangsbruk for levering av 10 µl til 1000 µl
- Kalibrerte flerkanalspipetter* og spisser til engangsbruk for levering av 50 µl til 100 µl
- Platelokk
- Mikroplaterister*
- Deionisert eller destillert vann, 2 liter
- Oppvaskmaskin for mikroplater (automatisert oppvaskmaskin anbefales)
- Mikroplateleser* utstyrt med 450 nm filter og 620 nm til 650 nm referansefilter

* Se til at instrumentene er kontrollert og kalibrert i henhold til produsentens anbefalinger.

Oppbevaring og håndtering av prøver

Blodprøvetakingsrør

- Blodprøvetakingsrør skal oppbevares ved 4 °C til 25 °C.

Reagenser i settet

- Reagenser i settet skal oppbevares ved 2–8 °C.
- Enzymsubstratløsning må alltid beskyttes mot direkte sollys.

Rekonstituerte og ubrukte reagenser

Du finner instruksjoner om hvordan du kan rekonstituere reagensene, på side 26.

- Det rekonstituerte standardsettet kan oppbevares i opptil 3 måneder dersom det lagres ved 2–8 °C.

Skriv ned datoen for rekonstituering av standardsettet.

- Etter rekonstituering må 100x-konjugatkonsentrat returneres til oppbevaring ved 2–8 °C og må brukes innen 3 måneder.

Skriv ned datoen for rekonstituering av konjugatet.

- Konjugat med arbeidsstyrke må brukes innen 6 timer etter klargjøring.
- Vaskebuffer med arbeidsstyrke kan oppbevares ved romtemperatur i opptil 2 uker.

Advarsler og forholdsregler

Kun til in vitro-diagnostisk bruk.

Advarsler

- Et negativt QFT-Plus-resultat utelukker ikke muligheten for *M. tuberculosis*-infeksjon eller tuberkuløs sykdom: et falskt negativt resultat kan avhenge av infeksjonens stadium (f.eks. prøven ble tatt før utvikling av celleformet immunreaksjon), komorbide tilstander som påvirker immunforsvaret, feil håndtering av blodprøverør etter venepunksjon, feil utført analyse eller andre immunologiske variabler.
- Et positivt QFT-Plus-resultat bør ikke danne det eneste eller endelige grunnlaget for bestemmelse av *M. tuberculosis*-infeksjon. Feil utført analyse kan føre til falsk positiv reaksjon.
- Et positivt QFT-Plus-resultat bør følges opp med ytterligere medisinsk vurdering og diagnostisk vurdering av eventuell aktiv tuberkuløs sykdom (f.eks. AFB-utstryk og -dyrking samt røntgen av thorax).
- Selv om ESAT-6 og CFP-10 er fraværende i alle BCG-stammer og de mest kjente ikke-tuberkuløse mykobakteriene, er det mulig at et positivt QFT-Plus-resultat er forårsaket av infeksjon med *M. kansasii*, *M. szulgai* eller *M. marinum*. Hvis det er mistanke om slike infeksjoner, bør alternative tester utføres.

Forholdsregler

Bruk alltid egnet laboratoriefrakk, engangshansker og vernebriller ved arbeid med kjemikalier. Se gjeldende sikkerhetsdatablader (safety data sheets, SDS) hvis du ønsker mer informasjon. Disse er tilgjengelige i praktisk og kompakt PDF-format på www.qiagen.com/safety, der du kan søke etter, vise og skrive ut sikkerhetsdatabladet for hvert QIAGEN-sett og hver settkomponent.



FORSIKTIG: Håndter humant blod og plasma som potensielt smittefarlig. Overhold relevante retningslinjer for håndtering av blod og blodprodukter. Prøver og materialer som har vært i kontakt med blod eller blodprodukter, skal kasseres i henhold til nasjonale, regionale og lokale bestemmelser.

Følgende risiko- og sikkerhetssetninger gjelder for komponenter i QuantiFERON-TB Gold Plus ELISA.

Faresetninger



QuantiFERON Enzyme Stopping Solution

Inneholder: svovelsyre. Advarsel! Kan være etsende for metaller. Irriterer huden. Forårsaker alvorlig øyeirritasjon. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

Advarsel! Forårsaker mild hudirritasjon. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm.



QuantiFERON Green Diluent

Inneholder: trinitrium-5-hydroksy-1-(4-sulfofenyl)-4-(4-sulfofenylazo)-pyrazol-3-karboksyilat. Inneholder: tartrazin. Advarsel! Kan utløse en allergisk hudreaksjon. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm.

QuantiFERON Wash Buffer 20x Concentrate

Inneholder: Blanding av 5-klor-2-metyl-4-isotiazolin-3-on og 2-metyl-2H-isotiazol-3-on (3:1). Skadelig, med langtidsvirkning, for vannlevende organismer. Unngå utslipp til miljøet.

Sikkerhetssetninger

Innhent særskilt instruks før bruk. Benytt vernehansker/verneklær/vernebriller/ansiktsskjerm. VED HUDKONTAKT (eller håret): Tilsølte klær må fjernes straks. Skyll/dusj huden med vann. VED KONTAKT MED ØYNENE: Skyll forsiktig med vann i flere minutter. Fjern eventuelle kontaktlinser dersom dette enkelt lar seg gjøre. Fortsett skyllingen. Ved eksponering eller mistanke om eksponering: Søk legehjelp. Kontakt umiddelbart et GIFTINFORMASJONSSENTER eller lege. Ved hudirritasjon eller utslett: Søk legehjelp. Tilsølte klær må fjernes og vaskes før de brukes på nytt. Oppbevares innelåst. Innhold/beholder leveres til et godkjent avfallsbehandlingssted.

Ytterligere informasjon

Sikkerhetsdatablad: www.qiagen.com/safety

- Avvik fra *pakningsvedlegg for QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA* kan føre til feilaktige resultater. Anvisningene må leses nøye før bruk.
- Ikke bruk settet hvis noen av reagensflaskene viser tegn til skade eller lekkasje før bruk.
- Viktig: Inspiser flasker før bruk. Konjugat- eller IFN- γ Standard-flasker skal ikke brukes dersom flaskene har tegn til skader eller gummiforseglingen er åpnet. Knuste flasker skal

ikke håndteres. Kast flaskene i tråd med egnede sikkerhetsforholdsregler. Anbefaling: Bruk en flaskedekrimper til å åpne konjugat- eller IFN- γ Standard-flaskene for å begrense risiko for skade fra metallkrypelokket.

- Mikroplateremser, IFN- γ Standard, grønn fortynningsløsning eller 100x-konjugantkonsentrat fra ulike QFT-Plus-sett må ikke blandes eller brukes. Andre reagenser (vaskebufferkonsentrat 20x, enzymsubstratløsning og enzymstoppende løsning) kan byttes mellom sett, forutsatt at partiinformasjon er registrert og reagensene ikke er utløpt på dato.
- Kast ubrukte reagenser og biologiske prøver i samsvar med lokale, regionale og statlige bestemmelser.
- QFT-Plus Blood Collection Tubes og ELISA-settet må ikke brukes etter utløpsdatoen.
- Korrekte laboratorieprosedyrer bør følges til enhver tid.
- Sørg for at laboratoriestyr er kalibrert/validert for bruk.

Prøvetaking og -klargjøring

QFT Plus bruker følgende prøvetakingsrør:

1. QuantiFERON Nil-rør (grå hette, hvit ring)
2. QuantiFERON TB1-rør (grønn hette, hvit ring)
3. QuantiFERON TB2-rør (gul hette, hvit ring)
4. QuantiFERON Mitogen-rør (lilla hette, hvit ring)
5. QuantiFERON HA Nil-rør (grå hette med gul ring)
6. QuantiFERON HA TB1-rør (grønn hette med gul ring)
7. QuantiFERON HA TB2-rør (gul hette med gul ring)
8. QuantiFERON HA Mitogen-rør (lilla hette med gul ring)

Antigen er tørket på innsiden av blodprøvetakingsrørene, så det er viktig at innholdet i rørene blandes godt med blodet. For blod som tappes direkte i QFT-Plus-rørene, må QFT-Plus-rørene holdes og transporteres ved romtemperatur ($22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$) og overføres til en 37 °C -inkubator så snart som mulig og innen 16 timer etter prøvetaking. Alternativt kan blod tappes i et enkelt litiumheparin- eller natriumheparinrør for lagring før overføring til QFT-Plus og inkubering. Blodprøver i litiumheparin- eller natriumheparin kan oppbevares i opptil 16 timer ved romtemperatur ($17\text{--}25\text{ °C}$) før overføring til QFT-Plus-rør. Blodprøver i litiumheparin- eller natriumheparinrør kan også oppbevares ved $2\text{--}8\text{ °C}$ i opptil 48 timer før overføring til QFT-Plus-rørene. Se avsnittet «Blodprøvetaking i et enkelt litium- eller natriumheparinrør som antikoagulant og deretter overføring til QFT-Plus Blood Collection Tubes».

Tapp direkte i QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Rørene må merkes riktig.

Kontroller at alle rørene (Nil, TB1, TB2 og Mitogen) har identifiserbar etikett eller kan identifiseres på annen måte så snart hetten er tatt av.

Det anbefales å registrere klokkeslett og dato for blodprøvetaking.

2. For hver pasient samler du inn 1 ml blod ved venepunksjon direkte oppi hvert QFT-Plus Blood Collection Tubes. Denne prosedyren bør utføres av en fagperson som har opplæring i blodprøvetaking.

Viktig merknad: Rørene skal holde 17–25 °C når de fylles med blod.

Standard QFT-Plus Blood Collection Tubes kan brukes i en høyde på opptil 810 moh. QFT-Plus Blood Collection Tubes for høy stedshøyde kan brukes mellom 1020 og 1875 moh.

Da 1 ml-rør trekker blod forholdsvis langsomt, må du holde røret på nålen i 2–3 sekunder etter at røret ser ut til å være fylt. Dette sikrer at korrekt volum trekkes.

- Det svarte merket på siden av rørene angir det validerte området 0,8 til 1,2 ml. Hvis blodnivået i et rør er utenfor det angitte området, skal det tas en ny blodprøve. Hvis rørene fylles for lite eller for mye i forhold til prøveområdet fra 0,8 til 1,2 ml, kan dette gi feilaktige resultater.
- Hvis en «butterfly-nål» brukes for å ta blodprøven, må man ved hjelp av et tomt rør sikre at forbindelsen fylles med blod før QFT-Plus-rørene tas i bruk.
- Hvis QFT-Plus Blood Collection Tubes brukes over 810 meter over havet, eller ved mindre prøvevolum, kan en sprøyte benyttes til blodprøvetaking, og 1 ml overføres deretter umiddelbart til hvert av de 4 rørene. Av sikkerhetsmessige årsaker er det best å fjerne sprøytenålen i tråd med egnede sikkerhetsprosedyrer. Ta av hettene på de 4 QFT-Plus-rørene, og tilsett 1 ml blod til hvert rør (til midten av det svarte merket på siden av etiketten). Sett hettene godt på igjen, og bland slik det er beskrevet nedenfor. Kontroller at alle rørene (Nil, TB1, TB2 og Mitogen) har identifiserbar etikett eller kan identifiseres på annen måte så snart hetten er tatt av.

3. Rett etter at rørene er fylt, skal de ristes ti (10) ganger, så pass kraftig at hele innsiden av røret dekkes av blod. Dette vil oppløse antigener på veggene i røret.

Viktig merknad: Rørene skal holde 17–25 °C når de ristes. For kraftig risting kan føre til gelforstyrrelse og feil resultater.

4. Etter merking, påfylling og risting må rørene overføres til en inkubator som holder 37 °C ±1 °C, så snart som mulig og innen 16 timer etter prøvetaking. Før inkubasjon må rørene holdes og transporteres ved romtemperatur (22 °C ±5 °C). Hvis QFT-Plus-rør ikke inkuberes ved 37 °C direkte etter blodprøvetaking og risting, må røret vendes og blandes 10 ganger før inkubering ved 37 °C.

5. Inkuber QFT-Plus-rørene STÅENDE ved 37 °C ±1 °C i 16–24 timer. Inkubatoren krever ikke CO₂ eller fukting.

Blodprøvetaking i et enkelt litium- eller natriumheparinrør og deretter overføring til QFT-Plus Blood Collection Tubes

1. Blodprøver tas i et enkelt blodprøvetakingsrør med litium- eller natriumheparin som antikoagulant og overføres deretter til QFT-Plus Blood Collection Tubes. Bare litium- eller natriumheparin skal brukes som blodantikoagulant, siden andre antikoagulanter vil påvirke analysen. Rørene må merkes riktig.

Det anbefales å merke røret med klokkeslett og dato for blodprøvetakingen.

Viktig: Blodprøvetakingsrørene bør være ved romtemperatur (17–25 °C) under blodprøvetakingen.

2. Fyll et litium- eller natriumheparinblodprøvetakingsrør (minstevolum på 5 ml), og bland forsiktig ved å vende røret flere ganger for å løse opp heparinet. Denne prosedyren bør utføres av en fagperson som har opplæring i blodprøvetaking.

3. Hold tids- og temperaturalternativer for litium- eller natriumheparinrør før overføring og inkubering i QFT-Plus Blood Collection Tubes (se figur 1-3 Blodprøvetakingsalternativer).

Alternativ 1 – Oppbevaring av litium- eller natriumheparinrør ved romtemperatur og håndtering av blod i litium- eller natriumheparinrør må holdes ved romtemperatur

(22 °C ±5 °C) i høyst 16 timer fra prøvetakingstidspunktet før overføring til QFT Plus Blood Collection Tubes og senere inkubering.

Alternativ 2 – Oppbevaring og håndtering av litium- eller natriumheparinrør i kjøleskap

Viktig: Prosedyretrinn a–d må følges i rekkefølge.

- a. Blod tappet i litium- eller natriumheparinrør kan holdes ved romtemperatur (17–25 °C) i opptil 3 timer etter blodprøvetaking.
- b. Blod som tappes i litium- eller natriumheparinrør, kan settes i kjøleskap (2–8 °C) i opptil 48 timer.
- c. Etter plassering i kjøleskap må litium- eller natriumheparinrør ekvilibres til romtemperatur (17–25 °C) før overføring til QFT-Plus Blood Collection Tubes.
- d. Alikvoterte QFT-Plus Blood Collection Tubes bør plasseres i 37 °C-inkubatoren innen 2 timer etter blodoverføring.

Hvis QFT-Plus Blood Collection Tubes ikke inkuberes ved 37 °C direkte etter overføring til QFT-Plus Blood Collection Tubes og risting, må røret vendes og blandes 10 ganger før inkubering ved 37 °C. Samlet tid fra blodprøvetaking til inkubering i QFT-Plus Blood Collection Tubes bør ikke overskride 53 timer.

4. Overføring av blodprøve fra et litium- eller natriumheparinrør til QFT-Plus Blood Collection Tubes:

- a. Merk hvert QFT-Plus Blood Collection Tube på riktig måte.
Kontroller at alle rørene (Nil, TB1, TB2 og Mitogen) har identifiserbar etikett eller kan identifiseres på annen måte så snart hetten er tatt av. Det anbefales å overføre registrert klokkeslett og dato for blodprøvetaking fra litium- eller natriumheparinrør til QFT-Plus Blood Collection Tubes.
- b. Prøvene må blandes jevnt ved å vendes forsiktig før de dispensereres over i QFT-Plus Blood Collection Tubes.
- c. Dispensering bør gjøres med aseptisk teknikk i tråd med egnede sikkerhetsprosedyrer. Ta av hettene på de 4 QFT-Plus Blood Collection Tubes, og tilsett 1 ml blod i hvert rør. Bytt ut rørhettene på en sikker måte og bland som

beskrevet nedenfor. Kontroller at alle rørene (Nil, TB1, TB2 og Mitogen) har identifiserbar etikett eller kan identifiseres på annen måte så snart hetten er tatt av.

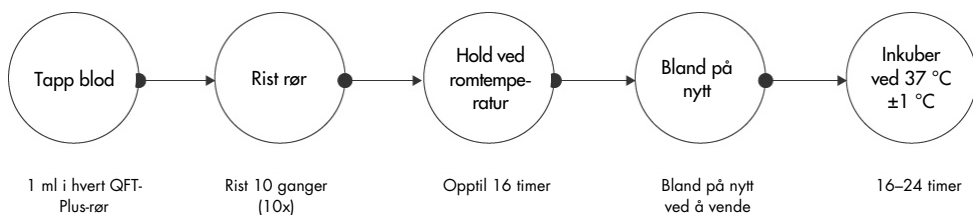
5. Bland rør. Rett etter at QFT-Plus Blood Collection Tubes er fylt, skal de ristes ti (10) ganger, så pass kraftig at hele innsiden av røret dekkes av blod. Dette vil oppløse antigener på veggene i røret.

For kraftig risting kan føre til gelforstyrrelse og feil resultater.

6. Etter merking, påfylling og risting må rørene overføres til en inkubator som holder $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$, innen 2 timer. Hvis QFT-Plus Blood Collection Tubes ikke inkuberes ved 37 °C direkte etter blodprøvetaking og risting, må røret vendes og blandes 10 ganger (10x) før inkubering ved 37 °C (se figur 1–3, neste side, for blodprøvetakingsalternativer).

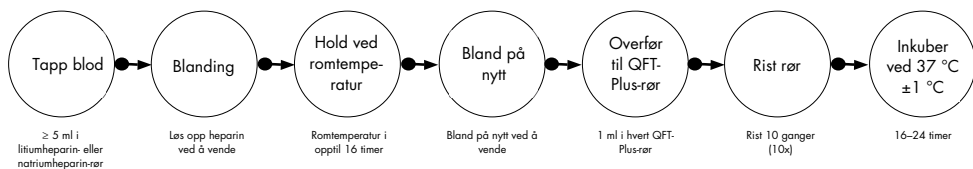
7. Inkuber QFT-Plus Blood Collection Tubes STÅENDE ved $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ i 16–24 timer. Inkubatoren krever ikke CO_2 eller fukting.

Tapp i QFT Plus Blood Collection Tubes, og hold ved romtemperatur.



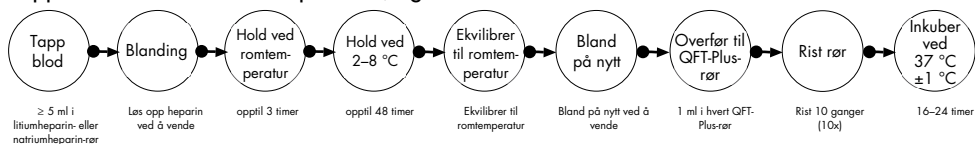
Figur 1. Blodprøvetakingsalternativ: Tapp direkte i QFT-Plus Blood Collection Tubes, og hold ved romtemperatur. Den samlede tiden fra blodtapping i QFT-Plus Blood Collection Tubes til 37 °C inkubering må ikke overskride 16 timer.

Tapp i litium- eller natriumheparinrør, og hold ved romtemperatur.



Figur 2. Blodprøvetakingsalternativ: Tapp i litium- eller natriumheparinrør, og hold ved romtemperatur. Den samlede tiden fra blodprøvetaking i litium- eller natriumheparinrør til 37 °C inkubering må ikke overskride 16 timer.

Tapp i litium- eller natriumheparinrør, og hold ved 2–8 °C.



Figur 3. Blodprøvetakingsalternativ: Tapp i litium- eller natriumheparinrør, og hold ved 2–8 °C. Den samlede tiden fra blodprøvetaking i litium- eller natriumheparinrør til 37 °C inkubering må ikke overskride 53 timer.

Bruksanvisning

Trinn 1 – inkubasjon av blod og innhenting av plasma

Materialer som følger med

- QFT-Plus Blood Collection Tubes (se avsnitt 3)

Materialer som er nødvendige (men som ikke følger med)

- Se avsnitt 3.

Prosedyre

1. Hvis blodet ikke inkuberes umiddelbart etter prøvetaking, må rørene blandes igjen ved å vendes 10 ganger umiddelbart før inkubering.
2. Inkuber rørene STÅENDE ved $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ i 16–24 timer. Inkubatoren krever ikke CO_2 eller fukting.
3. Etter inkubering ved 37 °C må blodprøvetakingsrørene oppbevares mellom 4 og 27 °C i opptil 3 dager før sentrifugering.
4. Etter at rørene er inkubert ved 37 °C , kan plasma innhentes ved å sentrifugere rørene i 15 minutter ved 2000 til 3000 x RCF (*g*). Gelpluggen vil skille cellene fra plasmaet. Hvis dette ikke skjer, bør rørene sentrifugeres på nytt.

Det er mulig å samle inn plasma uten sentrifugering, men man må være ekstra forsiktig for å fjerne plasma uten å forstyrre cellene.

5. Plasmaprøver må bare samles inn ved hjelp av en pipette.

Viktig merknad: Etter sentrifugering må du unngå å pipettere opp og ned eller blande plasma på noen måte før innsamling. Du må til enhver tid passe på ikke å forstyrre materialet på geloverflaten.

Plasmaprøver kan lastes direkte fra sentrifugerte blodprøvetakingsrør og inn i QFT-Plus ELISA-platen, også ved bruk av automatiske ELISA-arbeidsstasjoner.

Plasmaprøver kan oppbevares i opptil 28 dager ved 2–8 °C eller, ved innsamling, under –20 °C i lengre perioder.

Minst 150 µl plasma bør innhentes for å ha nok til en testprøve.

Trinn 2 – IFN- γ ELISA

Materialer som følger med

- QFT-Plus ELISA-sett (se avsnitt 3)

Materialer som er nødvendige, men som ikke følger med

- Se avsnitt 3.

Prosedyre

1. Alle plasmaprøver og reagenser, unntatt 100x-konjugatkonsentrat, må oppnå romtemperatur (22 \pm 5 °C) før bruk. La det gå minst 60 minutter for å oppnå likevekt.
2. Fjern remser som ikke er nødvendige fra rammen, forsegl i folieposen og sett tilbake i kjøleskapet for oppbevaring frem til de blir nødvendige.

Sett av minst 1 remse til QFT-Plus-standardene og tilstrekkelig med remser til det antallet pasienter som testes (se Figur 5). Etter bruk beholder du rammen for bruk med gjenværende remser.

3. Rekonstituer IFN- γ Standard med volumet med deionisert eller destillert vann angitt på etiketten til flasken. Bland forsiktig for å hindre skumming, og sørg for at det løser seg fullstendig opp. Rekonstitusjon av standarden til angitt volum vil gi en løsning med en konsentrasjon på 8,0 IE/ml.

Viktig merknad: Standardsettets rekonstitusjonsvolum vil variere fra parti til parti.

Bruk den rekonstituerte settstandarden til å lage en fortynning i forholdet 1:2 etterfulgt av en fortynningsserie i forholdet 1:4 med IFN- γ i grønn fortynningsløsning (GD) (se Figur 4). S1 (Standard 1) inneholder 4,0 IE/ml, S2 (Standard 2) inneholder 1,0 IE/ml, S3 (Standard 3) inneholder 0,25 IE/ml og S4 (Standard 4) inneholder 0 IE/ml (kun GD). Standardene må analyseres minst to ganger. Klargjør ferske fortynninger av settstandarden for hver ELISA-økt.

Anbefalt prosedyre for doble standarder

Merk 4 rør «S1», «S2», «S3», «S4».

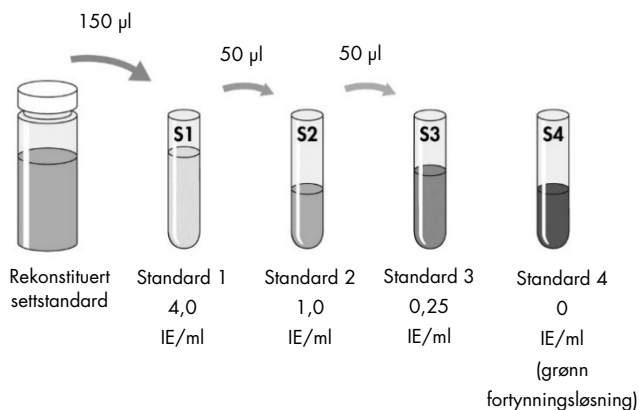
Tilsett 150 μ l GD i S1, S2, S3, S4.

Tilsett 150 μ l av settstandarden i S1, og bland godt.

Overfør 50 μ l fra S1 til S2, og bland godt.

Overfør 50 μ l fra S2 til S3, og bland godt.

GD alene fungerer som nullstandard (S4).



Figur 4. Klargjøring av standardkurve.

4. Rekonstituer lyofilisert 100x-konjugatkonsentrat med 0,3 ml deionisert eller destillert vann. Bland forsiktig for å hindre skumming, og sørg for at det løser seg fullstendig opp.

Konjugat med arbeidsstyrke klargjøres ved å fortynne den nødvendige mengden av rekonstituert 100x-konjugatkonsentrat i grønn fortynningsløsning (Tabell 1. Konjugatklargjøring). Ubrukt 100x-konjugatkonsentrat skal umiddelbart etter bruk settes tilbake i en temperatur på 2 til 8 °C. Bruk kun grønn fortynningsløsning.

Tabell 1. Konjugatklargjøring

Antall remser	Volum 100x-konjugatkonsentrat	Volum grønn fortynningsløsning
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. Plasmaprøver som hentes inn fra blodprøvetakingsrør, og som deretter blir oppbevart (i kjøleskap eller fryser), må blandes før de tilsettes i ELISA-brønnen.

Viktig merknad: Hvis plasmaprøver skal tilsettes direkte fra de sentrifugerte QFT-Plus-rørene, må enhver form for blanding av plasma unngås. Du må til enhver tid passe på ikke å forstyrre materialet på geloverflaten.

6. Tilsett 50 µl nylig klargjort konjugat med arbeidsstyrke i de påkrevde ELISA-brønnene ved hjelp av en flerkanalspipette.
7. Tilsett 50 µl testplasmaprøver i riktige brønner med en flerkanalspipette (anbefalt plateoppsett finner du i Figur 5). Tilsett til slutt 50 µl hver i standard 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

Figur 5. Anbefalt prøveoppsett (22 tester per plate)

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

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

8. Dekk hver plate, og bland konjugatet og plasmaprøvene/-standardene grundig ved hjelp av en mikroplaterister i 1 minutt. Unngå sprut.
9. Dekk hver plate, og inkuber ved romtemperatur (22 °C ±5 °C) i 120 ±5 minutter. Platene må ikke utsettes for direkte sollys under inkubasjon.
10. Ved inkubasjon skal én del Wash Buffer 20x Concentrate fortynnes med 19 deler deionisert eller destillert vann og blandes grundig. Tilstrekkelig mengde Wash Buffer 20x Concentrate følger med for klargjøring av 2 liter vaskebuffer med arbeidsstyrke. Vask brønner med 400 µl vaskebuffer med arbeidsstyrke i minst 6 sykluser. En automatisert oppvaskmaskin for plater anbefales.

Grundig vask er svært viktig for analyseytelsen. Se til at hver brønn er helt fylt med vaskebuffer øverst i brønnen for hver vaskesyklus. En bløtleggingsperiode på minst 5 sekunder mellom hver syklus anbefales.

Standard laboratoriedesinfeksjonsmiddel må tilsettes til avløpsvannreservoaret, og etablerte prosedyrer for dekontaminering av potensielt smittefarlig materiale må følges.

11. Vend platene med oversiden ned på et absorberende, lofritt håndkle for å fjerne overflødig vaskebuffer. Tilsett 100 µl enzymsubstratløsning i hver brønn, dekk hver plate, og bland grundig ved hjelp av en mikroplaterister.
12. Dekk til hver plate, og inkuber ved romtemperatur (22 ± 5 °C) i 30 minutter.
Platene må ikke utsettes for direkte sollys under inkubasjon.
13. Etter 30 minutters inkubasjon tilsettes 50 µl enzymstoppløsning i hver brønn og blander materialet.
Enzymstoppløsning må tilsettes i brønnene i samme rekkefølge og med omtrent samme hastighet som substratet i trinn 11.
14. Mål den optiske tettheten (Optical Density, OD) for hver brønn innen 5 minutter etter at reaksjonen er stoppet ved å bruke en mikroplateleser montert med et 450 nm-filter og et 620 nm- til 650 nm-referansefilter. OD-verdier brukes til å beregne resultatene.

Beregninger og tolkning av tester

QFT Plus-analyseprogramvare brukes til å analysere rådata og beregne resultater. Dette er tilgjengelig fra www.QuantiFERON.com. Sørg for at den nyeste versjonen av QFT-Plus-analyseprogramvaren benyttes.

Programvaren utfører en kvalitetskontrollvurdering av analysen, genererer en standardkurve og avgir et testresultat for hver person, slik det er gitt nærmere informasjon om i avsnittet *Tolkning av resultater*.

Som et alternativ til å bruke QFT-Plus-analyseprogramvaren kan resultater bestemmes i henhold til følgende metode.

Fremstilling av standardkurve

(hvis QFT-Plus-analyseprogramvare ikke brukes)

Bestem gjennomsnittlige OD-verdier for settstandardreplikatene på hver plate.

Lag en $\log_{(e)}\text{-}\log_{(e)}$ -standardkurve ved å legge inn $\log_{(e)}$ for gjennomsnittlig OD (y-akse) mot $\log_{(e)}$ for IFN- γ -konsentrasjonen av standardene i IE/ml (x-akse). Nullstandarden tas ikke med i disse beregningene. Beregn den best tilpassede linjen for standardkurven ved regresjonsanalyse.

Bruk standardkurven for å bestemme IFN- γ -konsentrasjonen (IE/ml) til hver av testplasmaprøvene ved å bruke OD-verdien for hver prøve.

Disse beregningene kan utføres ved hjelp av programvarepakker som er tilgjengelige med mikroplateleserne, samt standard regneark eller statistisk programvare (f.eks. Microsoft® Excel®). Det anbefales at disse pakkene brukes til å beregne regresjonsanalysen, variasjonskoeffisienten (%CV) for standardene og korrelasjonskoeffisienten (r) til standardkurven.

Kvalitetskontroll av testen

Nøyaktigheten til testresultatene er avhengig av at standardkurven som genereres, er nøyaktig. Derfor må resultatene som utledes fra standardene, undersøkes før testprøveresultatene kan tolkes.

For at ELISA skal være gyldig må:

- Gjennomsnittlig OD-verdi for standard 1 må være $\geq 0,600$.
- %CV for replikat-OD-verdier for standard 1 og standard 2 må være $\leq 15 \%$.
- Replikat-OD-verdier for standard 3 og standard 4 må ikke variere med mer enn 0,040 OD-enheter fra gjennomsnittsverdien.
- Korrelasjonskoeffisienten (r) beregnet fra gjennomsnittlige absorpsjonsverdier for standardene må være $\geq 0,98$.

QFT-Plus-analyseprogramvaren beregner og rapporterer disse kvalitetskontrollparameterne.

Hvis de ovennevnte kriteriene ikke oppfylles, er kjøringen ugyldig og må gjentas.

Gjennomsnittlig OD-verdi for nullstandard (grønn fortynningsløsning) skal være $\leq 0,150$. Hvis gjennomsnittlig OD-verdi er $> 0,150$, bør vaskeprosedyren for plater undersøkes nærmere.

Tolkning av resultater

QFT-Plus-resultater tolkes ved hjelp av følgende kriterier (Tabell 2):

Viktig merknad: Diagnostisering eller ekskludering av tuberkuløs sykdom, samt vurdering av sannsynligheten for LTBI, krever en kombinasjon av epidemiologiske, historiske, medisinske og diagnostiske funn som må vurderes ved tolking av QFT-Plus-resultater.

Tabell 2. Tolkning av QFT-Plus-resultater

Nil (IE/ml)	TB1 minus Nil (IE/ml)	TB2 minus Nil (IE/ml)	Mitogen minus Nil (IE/ml)*	QFT-Plus-resultat	Rapport/tolkning
	≥ 0,35 og ≥ 25 % av Nil-verdi	Hvilket som helst resultat			
	Hvilket som helst resultat	≥ 0,35 og ≥ 25 % av Nil-verdi	Hvilket som helst resultat	Positiv†	<i>M. tuberculosis</i> -infeksjon er sannsynlig
≤ 8,0	< 0,35 eller ≥ 0,35 og < 25 % av Nil-verdi	< 0,35 eller ≥ 0,35 og < 25 % av Nil-verdi	≥ 0,5	Negativ	<i>M. tuberculosis</i> -infeksjon er IKKE sannsynlig
	< 0,35 eller ≥ 0,35 og < 25 % av Nil-verdi	< 0,35 eller ≥ 0,35 og < 25 % av Nil-verdi	< 0,5	Ubestemt‡	Sannsynligheten for <i>M. tuberculosis</i> -infeksjon kan ikke bestemmes
> 8,0§		Hvilket som helst resultat		Ubestemt‡	Sannsynligheten for <i>M. tuberculosis</i> -infeksjon kan ikke bestemmes

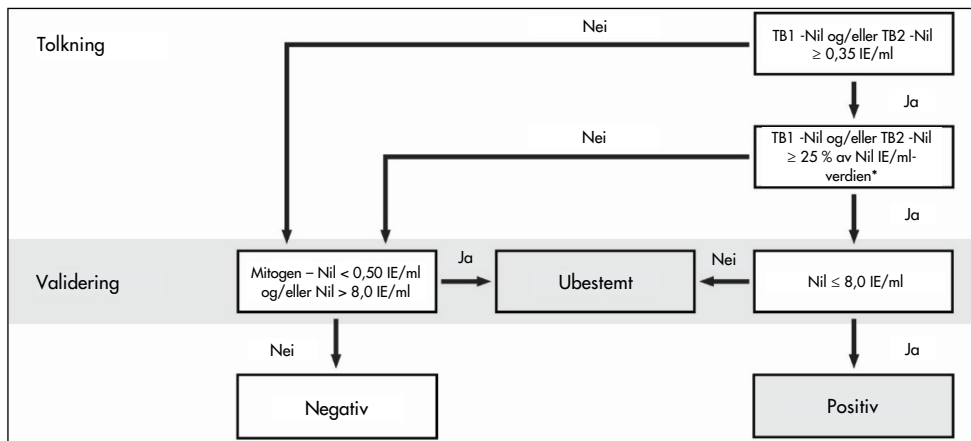
* Reaksjoner på Mitogen-positiv kontroll (og tidvis TB-antigener) kan være vanlig utenfor området til mikroplateleseren. Dette har ingen påvirkning på testresultatene. Verdier > 10 ml rapporteres av QFT-Plus-programvaren som > 10 IE/ml.

† Hvis det ikke er mistanke om *M. tuberculosis*-infeksjon, kan initielt positive resultater bekrefte ved å teste de originale plasmaprøvene på nytt to ganger i QFT-Plus ELISA. Hvis gjentatt testing av en eller begge replikatene gir et positivt resultat, bør testen betraktes som positiv.

‡ Les avsnittet «Feilsøking» for eventuelle årsaker.

§ I kliniske studier hadde mindre enn 0,25 % av forsøkspersonene IFN- γ -nivåer på > 8,0 IE/ml for Nil-verdien.

Hvor høyt det målte IFN- γ -nivået er, har ingen sammenheng med infeksjonsstadiet eller hvor omfattende infeksjonen er, hvordan immunforsvaret er, eller sannsynligheten for progresjon til aktiv sykdom. En positiv TB-respons hos personer som er negative for Mitogen, er sjelden, men det har forekommet hos pasienter med TB-sykdom. Dette indikerer at IFN- γ -responsen på TB-antigen er større enn samme respons på Mitogen, som er mulig fordi Mitogen-nivået ikke stimulerer lymfocyttenes IFN- γ -produksjon maksimalt.



*For at TB1 minus Nil eller TB2 minus Nil skal være gyldig, må $\geq 25\%$ Nil IE/ml-verdien være fra samme rør som det opprinnelige $\geq 0,35$ IE/ml-resultatet.

Figur 6. Flytdiagram for QFT-Plus-tolkning

Begrensninger

Resultater fra QFT-Plus-testing må brukes i sammenheng med hver enkelt persons epidemiologi, aktuelle medisinske status og andre diagnostiske vurderinger.

Personer med Nil-verdier som er høyere enn 8,0 IE/ml, klassifiseres som «ubestemte» fordi en 25 % høyere respons på TB-antigener kan være utenfor analysens måleområde.

Upålitelige eller ubestemte resultater kan oppstå på grunn av:

- Avvik fra prosedyren beskrevet i pakningsvedlegget
- Høye nivåer av sirkulerende IFN- γ eller forekomst av heterofile antistoffer
- Mer enn 16 timer fra blodprøvetaking til inkubering ved 37 °C. Dette gjelder ikke hvis arbeidsflyten med litiumheparin- eller natriumheparinrør 2–8 °C brukes.

Ytelseegenskaper

Kliniske studier

Siden det ikke finnes noen definitiv standardtest for LTBI, kan ikke et estimat av sensitivitet og spesifisitet for QFT-Plus vurderes i praksis. Spesifisiteten for QFT-Plus ble anslått ved å vurdere andelen falskt positive hos personene med lav risiko (ingen kjente risikofaktorer) for tuberkuløs infeksjon. Sensitiviteten ble anslått ved å vurdere pasientgrupper med aktiv TB-sykdom bekreftet ved dyrking.

Spesifisitet

Det ble utført en studie av spesifisitet for QFT-Plus med 409 forsøkspersoner. Demografisk informasjon og risikofaktorer for TB-eksponering ble bestemt ved hjelp av en standardisert spørreundersøkelse som ble utfylt på testtidspunktet.

I en oppsummering av funnene for de 2 pasientgruppene med lav risiko (ingen kjente risikofaktorer) for tuberkuløs infeksjon var den totale spesifisiteten for QFT-Plus 97,6 % (399/409) (Tabell 3 og Tabell 4).

Tabell 3. Studieresultater for spesifisitet for QFT-Plus etter studiested

Studie	Positiv	Negativ	Ubestemt	Spesifisitet (95 % CI)
Japan	4	203	0	98 % (95–100 %)
Australia	6	196	0	97 % (94–99 %)

Tabell 4. Studieresultater for spesifisitet for QFT-Plus etter TB-antigenrør

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

Sensitivitet for aktiv TB

Siden det ikke finnes noen definitiv standardtest for LTBI, vil et egnet alternativ være mikrobiologisk dyrking av *M. tuberculosis*, siden pasienter med sykdommen per definisjon er smittet. Personer med mistanke om TB fra 4 studiesteder i Australia og Japan som ved hjelp av dyrking senere ble bekreftet å ha *M. tuberculosis*-infeksjon, ble testet for å evaluere sensitiviteten til QFT-Plus (Tabell 5 og Tabell 6). Pasientene hadde fått mindre enn 14 dager med behandling før blodprøvetakingen for QFT-Plus-testing.

I en oppsummering av funnene fra de 4 pasientgruppene med positiv *M. tuberculosis*-kultur var den totale sensitiviteten for QFT-Plus for aktiv TB-sykdom 95,3 % (164/172). I de 4 gruppene var 159 pasienter positive ved både TB1- og TB2-rør, 1 pasient var bare positiv ved TB1, og 4 var bare positive ved TB2. Totalt 1,1 % (2/174) av resultatene var ubestemt. TB2-resultatet identifiserte riktig 1 pasient bekreftet ved dyrking som ville ha hatt resultatet ubestemt (lavt for Mitogen) med bare TB1-resultatet (se Tabell 5 og Tabell 6).

Tabell 5. Studieresultater for sensitivitet for QFT-Plus etter studiested

Studiesteder	Positiv	Negativ	Ubestemt	QFT-Plus-sensitivitet* (95 % KI)
Japan, sted 1	36	7	0	84 % (69–93)
Japan, sted 2	53	1	2	98 % (90–100)
Japan, sted 3	54	0	0	100 % (93–100)
Australia, sted	21	0	0	100 % (84–100)

*Sensitivitet er basert på det totale antallet gyldige tester. Ubestemte resultater utelukkes.

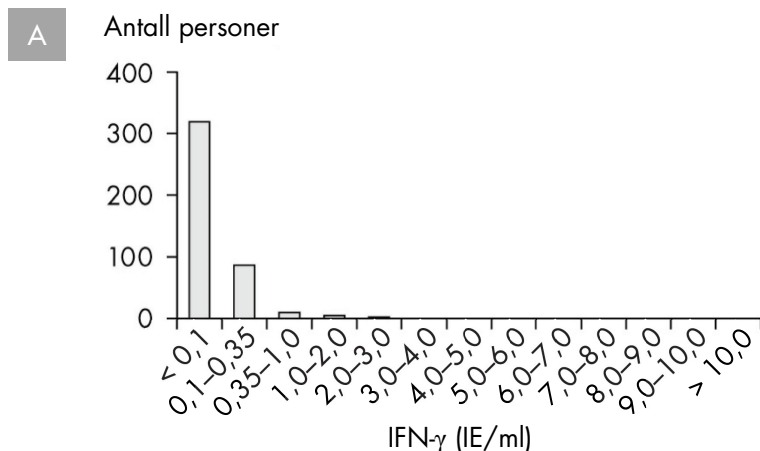
Tabell 6. Studieresultater for sensitivitet for QFT-Plus etter TB-antigenrør

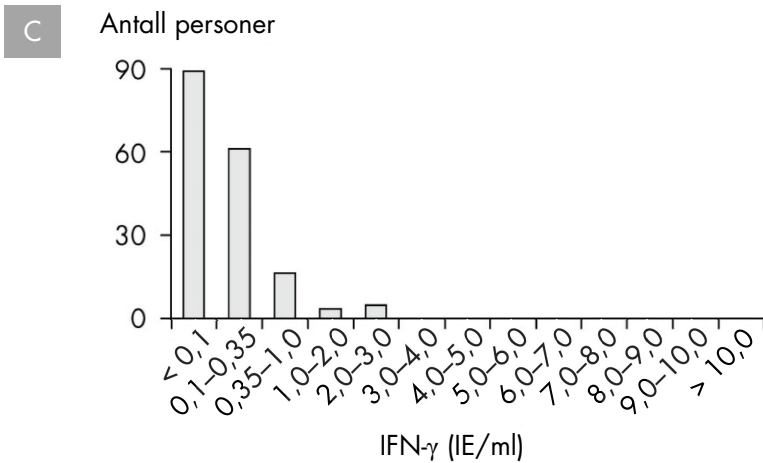
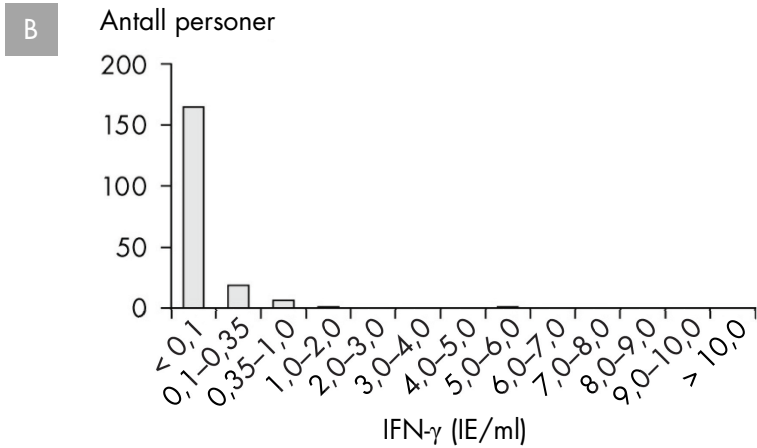
	TB1	TB2	QFT-Plus
Positiv	160	163	164
Negativ	11	9	8
Ubestemt	3	2	2
Sensitivitet† (95 % KI)	93,6 % (88,8–96,7)	94,8 % (90,3–97,6)	95,3 % (90,9–97,9)

* Sensitivitet er basert på det totale antallet gyldige tester. Ubestemte resultater utelukkes.

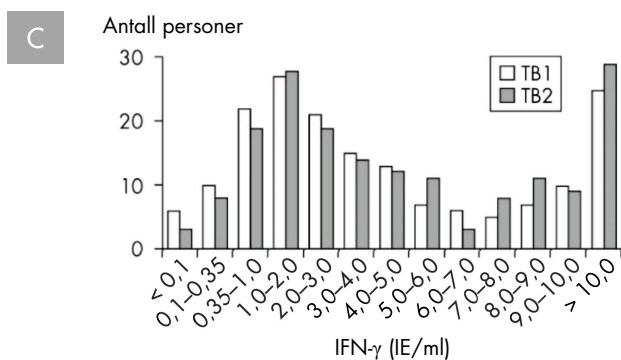
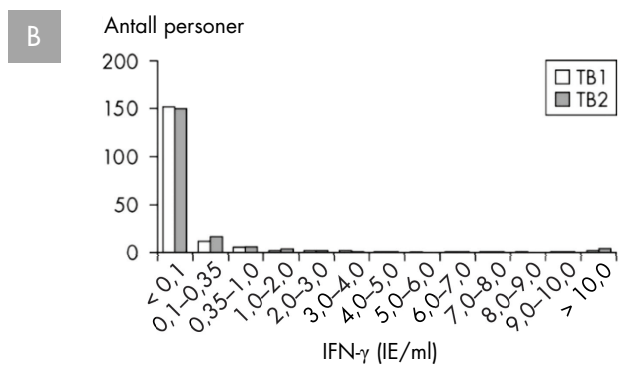
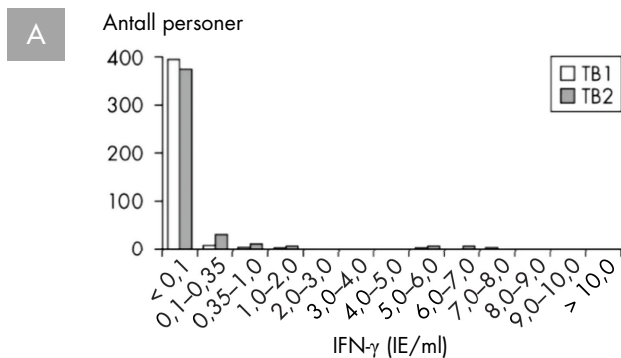
Observerte responsdistribusjoner – stratifisert risiko

Et utvalg av IFN- γ -responser på TB1, TB2 og kontrollrør ble observert i kliniske utprøvinger og stratifisert etter risiko for *M. tuberculosis*-infeksjon (figur 7–9). Gruppen med blandet risiko består av personer som er representative for en generell testpopulasjon, inkludert personer med og uten risikofaktorer for TB-eksponering og hvor aktiv TB er usansynlig (f.eks. LTBI).

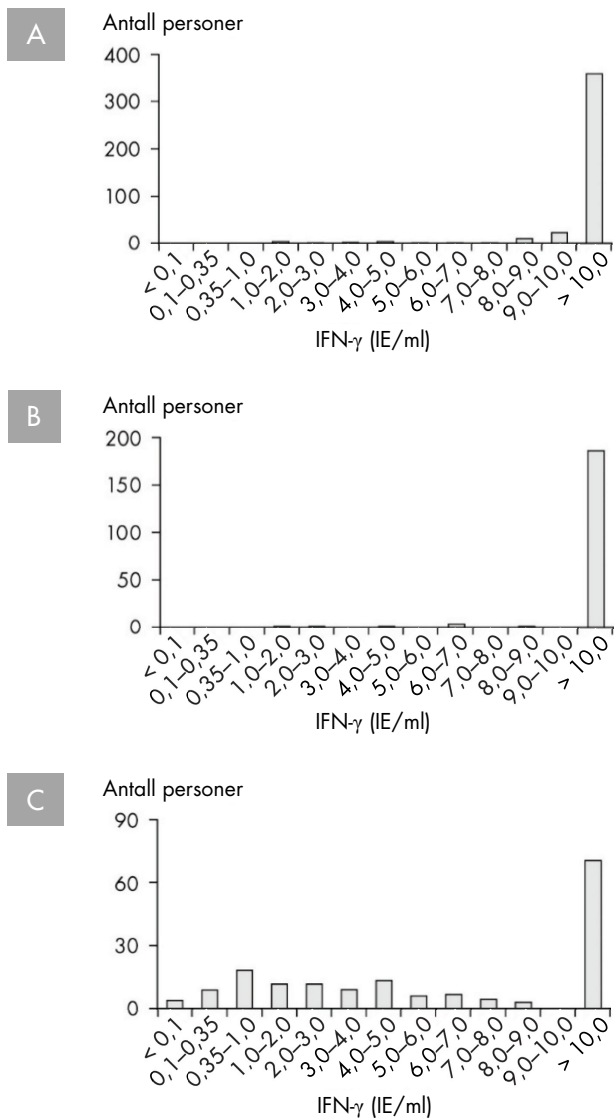




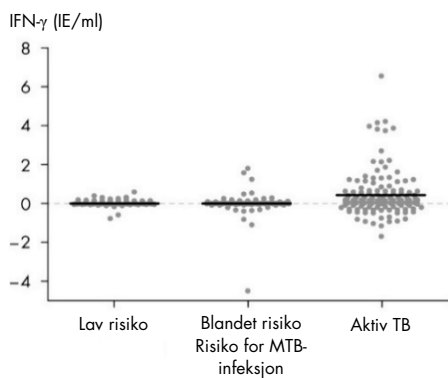
Figur 7. Distribusjon for Nil. **A.** Distribusjon av Nil-verdier i en populasjon med lav risiko (n=409). **B.** Distribusjon av Nil-verdier i en populasjon med blandet risiko (n=194). **C.** Distribusjon av Nil-verdier i en populasjon med *M. tuberculosis*-infeksjon bekreftet ved dyrking (n=174).



Figur 8. Distribusjon for TB1 og TB2 (nil subtrahert). **A.** Distribusjon av TB1- og TB2-verdier (nil subtrahert) i en populasjon med lav risiko (n=409). **B.** Distribusjon av TB1- og TB2-verdier (nil subtrahert) i en populasjon med blandet risiko (n=194). **C.** Distribusjon av TB1- og TB2-verdier (nil subtrahert) i en populasjon med *M. tuberculosis*-infeksjon bekreftet ved dyrking (n=174).



Figur 9. Distribusjon for Mitogen (nil subtrahert). **A.** Distribusjon av Mitogen-verdier (nil subtrahert) i en populasjon med lav risiko (n=409). **B.** Distribusjon av Mitogen-verdier (nil subtrahert) i en populasjon med blandet risiko (n=194). **C.** Distribusjon av Mitogen-verdier (nil subtrahert) i en populasjon med *M. tuberculosis*-infeksjon bekreftet ved dyrking (n=169).

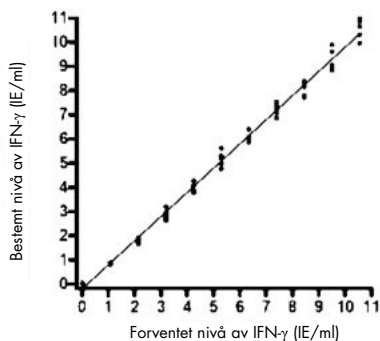


Figur 10. Observert differanse mellom TB1- og TB2-verdier (nil subtrahert), stratifisert etter risiko. Populasjon med lav risiko (n=409), populasjon med blandet risiko (n=189) og populasjon med *M. tuberculosis*-infeksjon bekreftet ved dyrking (n=141). TB1-verdiene ble subtrahert fra TB2-verdiene. Personer med verdier for TB1 eller TB2 på > 10,0 IE/ml ble utelukket fordi de var utenfor det lineære området for denne analysen.

Analysens ytelsesegenskaper

QFT-Plus ELISA er vist å være lineær ved vilkårlig plassering av 5 replikater av 11 plasmapooler med kjente IFN- γ -konsentrasjoner på ELISA-platen. Den lineære regresjonslinjen har en helling på $1,002 \pm 0,011$ og en korrelasjonskoeffisient på 0,99 (Figur 11).

Påvisningsgrensen for QFT-Plus ELISA er 0,065 IE/ml, og det er ingen tegn på høydose-hook-effekt (prozoneeffekt) ved konsentrasjoner av IFN- γ opptil 10 000 IE/ml.



Figur 11. Linearitetsprofil for QFT-Plus ELISA

QFT-Plus ELISAs unøyaktighet innenfor og mellom analysene (%CV) ble anslått ved å teste 20 plasmaprøver med ulike IFN- γ -konsentrasjoner i replikater på 3, i 3 laboratorier, på 3 ikke-sammenhengende dager, av 3 operatører. Hver prøve ble dermed testet 27 ganger, i 9 uavhengige analysekjøringer. Én prøve var en nil-kontroll og hadde en beregnet IFN- γ -konsentrasjon på 0,08 IE/ml (95 % KI: 0,07–0,09). De resterende 19 prøveplasmaprøvene hadde konsentrasjoner fra 0,33 (95 % KI: 0,31–0,34) til 7,7 IE/ml (95 % KI: 7,48–7,92).

Unøyaktighet innenfor kjøringen eller innenfor analysen ble anslått ved å beregne gjennomsnittet for %CV-verdiene for hvert testplasma som inneholdt IFN- γ , fra hver platekjøring ($n=9$), og unøyaktigheten varierte fra 4,1 til 9,1 %CV. Gjennomsnittlig kovarians innenfor kjøringen (± 95 % KI) var $6,6 \pm 0,6$ %. Gjennomsnittet for null-IFN- γ -plasma var 14,1 %CV.

Total unøyaktighet eller unøyaktighet mellom analyser ble bestemt ved å sammenligne de 27 beregnede konsentrasjonene av IFN- γ for hvert testplasma. Unøyaktigheten mellom analyser varierte fra 6,6 til 12,3 %CV. Total gjennomsnittlig %CV (± 95 % KI) var $8,7 \pm 0,7$ %. Null-IFN- γ -plasma viste 26,1 %CV. Denne graden av variasjon er som forventet, fordi den beregnede konsentrasjonen av IFN- γ er lav, og fordi variasjonen rundt et lavt konsentrasjonsestimat er større enn for høyere konsentrasjoner.

Reproduserbarheten for QFT-Plus-testen ble bestemt ved hjelp av blodprøver fra 102 personer med blandede risikofaktorer for *M. tuberculosis*-infeksjon. Tre ulike operatører og laboratorieforhold ble vurdert.

Totalt 3 diagnostiske bestemmelser ble tatt for hver person, og det ble tatt totalt 306 for alle personene. Den overordnede diagnostiske reproduserbarheten var 99 % (95 % KI: 97,2–99,7), der det var samsvar for de diagnostiske resultatene for 303 av 306 bestemmelser. Resultatet for 3 personer som var nær cutoff, forklarte all variasjonen.

LTBI-diagnose

Det er offentliggjort flere studier som viser ytelsen til QFT, forløperen for QFT-Plus, for ulike populasjoner med risiko for MTB-infeksjon. Hovedfunnene til noen av de valgte studiene er angitt i Tabell 7.

Tabell 7. Utvalgte offentliggjorte studier for QFT

Populasjon/betingelser	Resultater og funn	Totalt antall offentliggjorte studier
Pediatrisk	Dokumentert ytelse hos barn, inkludert barn under 5 år (45–46), med høyere nøyaktighet enn ELISpot-baserte IGRA (8). Den største studien til dags dato som har sammenlignet QFT og TST hos barn fra Vietnam, Filippinene og Mexico, støtter at QFT foretrekkes fremfor TST til testing for LTBI på barn født utenlands (46). En studie av begrenset kontakt viser større prediktiv verdi enn TST hos barn (47) og 8 ganger større risiko for progresjon til TB-sykdom innen to år blant QFT-konverterte sammenlignet med ikke-konverterte (48). QFT-negativ/TST-positiv uoverensstemmelse er høy for BCG-vaksinerte barn (46, 49), men det var ingen påvirkning på Mitogen-responsen hos barn under 5 år (49) og lav forekomst av ubestemmelighet under rutinemessig screening av innvandrerbarn (46).	152
Graviditet	I et miljø med lav belastning gjør QFT det like bra for hvert trimester av graviditeten med resultater som er sammenlignbare med resultatene for kvinner som ikke er gravide. Testen er mye mer spesifikk, minst like sensitiv og kan være en bedre prediktor for sykdomsprogresjon enn TST (50). I et miljø med høy belastning var QFT mer stabil gjennom hele graviditeten og hadde verdier nærmere bakgrunns-LTBI-prevalensen sammenlignet med TST, selv om forfatterne konkluderte med at graviditet påvirker både QFT og TST (51).	6

Tabellen fortsetter på neste side

Tabell 7. Utvalgte offentliggjorte studier for QFT (forts.)

Populasjon/betingelser	Resultater og funn	Totalt antall offentliggjorte studier
HIV/AIDS	Både IGRA og TST påvirkes av HIV-infeksjon, og dokumentasjonen tyder på at man bør være forsiktig ved tolkning av resultater for personer som har CD4+-telling på < 200 (52). QFT har blitt vist å være mindre påvirket enn ELISpot-basert IGRA og TST (53–55). IGRA ved enkeltbesøk løser TST-problemet med at få pasienter i denne populasjonen kommer tilbake til nytt besøk (53).	101
Immunsuppressive behandlinger	QFT er mindre påvirket av immunsuppressive behandlinger enn TST og har bedre korrelasjon med TB-risikofaktorer (23, 27). QFT har høy sensitivitet for pasienter med revmatisk sykdom (23, 56, 57) og høyere spesifisitet enn TST, reduserer antallet falskt positive til et minimum og reduserer unødvendig behandling som ville ha blitt gjennomført med TST (23, 57, 58).	112
Helsepersonell	Påvist å være mer spesifikk med færre falskt positive resultater enn TST og mer kostnadseffektiv enn TST (59–62). Det forventes å finne variabilitet rundt terskelverdien for serietesting, på grunn av det todelte avskjæringspunktet og den inherente variabiliteten for en biologisk test (63). Studier har vist høyere konversjons-/reversjonsrater enn TST for serietesting av helsepersonell med lav risiko (64, 65). Amerikanske CDC erkjenner at det svake kriteriet for å definere IGRA-konversjon kan gi mer konversjon enn det som observeres med det strengere kvantitative kriteriet for TST, og strategier for gjentatt testing har blitt vist å være effektive for å kunne håndtere fenomenet med konversjon/reversjon (65–68).	111
TB-kontakter	Høyere PPV og NPV enn TST (47). Praktisk med ett besøk for personer som sannsynligvis ikke vil komme tilbake (63), bedre korrelasjon med eksponering (69), som er spesielt merkbart for BCG-vaksinerte personer og populasjoner fra land som gjennomfører BCG-vaksinering (70, 71).	89
Transplantasjon	Har blitt påvist å være minst like effektiv som TST, men mindre påvirket av organsykdom i sluttstadiet enn TST (22).	23

Tabellen fortsetter på neste side

Tabell 7. Utvalgte offentliggjorte studier for QFT (forts.)

Populasjon/betingelser	Resultater og funn	Totalt antall offentliggjorte studier
Diabetes	Motstridende dokumentasjon fra et lite antall publikasjoner med begrensete antall forsøkspersoner. En studie fra et område med lav belastning viste at QFT-sensitiviteten ikke reduseres av diabetes hos TB-pasienter (72). En studie fra Tanzania, et område med høy belastning, som antydte en negativ påvirkning av diabetes på produksjonen av IFN- γ , tok ikke i betraktning forvekslingsfaktorer slik som HIV og infeksjoner med innvollsormer (73). I studier fra Vietnam med 838 selvrapporterte diabetikere med mistanke om TB grunnet avvikende CXR-verdier eller bekreftet ved dyrking å ha aktiv TB (n=128), var QFT-positiviteten lik eller større enn TST-avskjæringspunktene på 10 og 15 mm (74).	9
Nyresykdom i sluttstadiet	QFT-positiv resultater viser bedre korrelasjon med risikofaktorer for TB enn TST og er mindre forbundet med BCG (75).	45
Migranter	Studier viser at QFT ikke påvirkes av BCG og alder slik TST gjør (74). QFT er vist å være den mest kostnadseffektive metoden (76). I et område med lav belastning kom mesteparten av TB fra personer født utenlands og fra reaktivering av latent TB etter ankomst (77). Den største studien til dags dato som har sammenlignet QFT og TST hos barn født utenlands, støtter at QFT foretrekkes fremfor TST til testing for LTBI på barn født i utlandet (46).	29

Teknisk informasjon

Ubestemte resultater

Ubestemte resultater er sjeldne og kan knyttes til testpersonens immunstatus, men det kan også være relatert til en rekke tekniske faktorer hvis ovenstående bruksanvisning ikke følges.

Hvis det er mistanke om tekniske problemer ved reagensoppbevaring, blodprøvetaking eller behandling av blodprøver, må hele QFT-Plus-testen gjentas med en ny blodprøve. Det er mulig å utføre ELISA-testing på stimulert plasma på nytt dersom det er mistanke om utilstrekkelig vasking eller andre prosedyreavvik i forbindelse med ELISA-testen. Ubestemte tester som oppstår ved lave Mitogen- eller høye Nil-verdier, er ikke forventet å endre seg ved gjentakelse, med mindre det var en feil med ELISA-testingen. Ubestemte resultater skal rapporteres som ubestemmelige. Legen kan velge å ta en ny prøve eller utføre andre egnede prosedyrer.

Koagulerte plasmaprøver

Hvis det dannes fibrinkoagler i forbindelse med langvarig oppbevaring av plasmaprøver, kan prøvene sentrifugeres for å sedimentere det koagulerte materialet og forenkle pipetteringen av plasma.

Feilsøkingsveiledning

Denne feilsøkingsveiledningen kan være nyttig for å løse problemer som kan oppstå. Hvis du ønsker mer informasjon, se også den tekniske informasjonen på www.QuantiFERON.com. Kontaktinformasjon finnes på baksiden.

ELISA-feilsøking

Ikke-spesifikk fargeutvikling

Mulig årsak	Løsning
a) Ufullstendig vasking av platen	Vask platen minst 6 ganger med 400 µl vaskebuffer per brønn. Mer enn 6 vaskesykluser kan være nødvendig, avhengig av oppvaskmaskinen som brukes. En bløtleggingsperiode på minst 5 sekunder mellom syklusene må benyttes.
b) Krysskontaminering av ELISA-brønner	Vær forsiktig ved pipettering og blanding av prøvene for å redusere risikoen for krysskontaminering.
c) Settett/komponentene har gått ut på dato	Se til at settet brukes før utløpsdatoen. Kontroller at rekonstituert standard og 100x-konjugatkonsentrat brukes innen tre måneder etter rekonstitusjonsdatoen.
d) Enzymsubstratløsning er kontaminert	Kast substratet dersom det forekommer blåfarging. Forsikre deg om at rene reagensbeholdere brukes.
e) Blanding av plasma i QFT-Plus-rør før innsamling	Etter sentrifugering må du unngå å pipettere opp og ned eller blande plasma på noen måte før innsamling. Du må til enhver tid passe på ikke å forstyrre materialet på geloverflaten.

Avlesninger av lav optisk tetthet for standarder

Mulig årsak	Løsning
a) Standardfortynningsfeil	Påse at fortynninger av settstandarden er klargjort på riktig måte i henhold til dette pakningsvedlegget.
b) Pipetteringsfeil	Sørg for at pipettene er kalibrert og brukes i henhold til produsentens instruksjoner.
c) For lav inkubasjonstemperatur	Inkubasjon av ELISA skal utføres ved romtemperatur (22 ± 5 °C).
d) For kort inkubasjonstid	Inkubasjon av plate med konjugat, standarder og prøver skal være i 120 ± 5 minutter. Enzymsubstratløsningen inkuberes på platen i 30 minutter.

ELISA-feilsøking

- | | |
|--|---|
| e) Feil plateleserfilter brukt | Platen skal leses ved 450 nm med et referansefilter på mellom 620 og 650 nm. |
| f) For kalde reagenser | Alle reagenser, med unntak av 100x-konjugatkonsentrat, må bringes til romtemperatur før du begynner analysen. Dette tar ca. en time. |
| g) Settet/komponentene har gått ut på dato | Se til at settet brukes før utløpsdatoen. Sørg for at rekonstituert standard og 100x-konjugatkonsentrat brukes innen 3 måneder etter rekonstitusjonsdatoen. |

Høy bakgrunn

- | | |
|--|---|
| Mulig årsak | Løsning |
| a) Ufullstendig vasking av platen | Vask platen minst 6 ganger med 400 µl vaskebuffer per brønn. Mer enn 6 vaskesykluser kan være nødvendig, avhengig av oppvaskmaskinen som brukes. En bløtleggingsperiode på minst 5 sekunder mellom syklusene må benyttes. |
| b) For høy inkubasjonstemperatur | Inkubasjon av ELISA skal utføres ved romtemperatur (22±5 °C). |
| c) Settet/komponentene har gått ut på dato | Se til at settet brukes før utløpsdatoen. Sørg for at rekonstituert standard og 100x-konjugatkonsentrat brukes innen 3 måneder etter rekonstitusjonsdatoen. |
| d) Enzymsubstratløsningen er kontaminert | Kast substratet dersom det forekommer blåfarging. Forsikre deg om at rene reagensbeholdere brukes. |

Ikke-lineær standardkurve og variabilitet mellom duplikat

- | | |
|---|---|
| Mulig årsak | Løsning |
| a) Ufullstendig vasking av platen | Vask platen minst 6 ganger med 400 µl vaskebuffer per brønn. Mer enn 6 vaskesykluser kan være nødvendig, avhengig av oppvaskmaskinen som brukes. En bløtleggingsperiode på minst 5 sekunder mellom syklusene må benyttes. |
| b) Standardfortynningsfeil | Påse at fortynninger av standarden er klargjort på riktig måte i henhold til dette pakningsvedlegget. |
| c) Dårlig blanding | Bland reagensene grundig ved å snu dem opp og ned eller ved å vortekse dem før de settes på platen. |
| d) Inkonsekvent pipetteringsteknikk eller avbrudd under oppsett av analysen | Prøve- og standardtillegg skal utføres på kontinuerlig måte. Alle reagenser skal klargjøres før analysen starter. |

Produktinformasjon og tekniske veiledninger er gratis tilgjengelig fra QIAGEN via distributøren eller på www.QuantiFERON.com.

Referanser

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-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- 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.

Symboler

Følgende symboler kan vises på emballasjen og merkingen:

Symbol	Symboldefinisjon
 2 x 96	Tilstrekkelig til 2 x 96 prøvepreparater
	Lovlig produsent
	CE-IVD-merket symbol
	Til in vitro-diagnostisk bruk
	Partinummer
	Katalognummer
	Globalt artikkelnummer
	Siste forbruksdato
	Temperaturbegrensning
	Se bruksanvisningen
	Ikke til gjenbruk
	Må beskyttes mot sollys
	Materialnummer
Rn	R er for revisjon av bruksanvisningen, og n er revisjonsnummeret

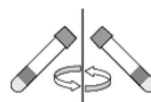
Kontaktinformasjon

Hvis du ønsker teknisk bistand eller mer informasjon, kan du ringe gratis på 00800-22-44-6000, gå inn på sidene til vårt tekniske supportsentre på www.qiagen.com/contact eller kontakte en av QIAGENs tekniske serviceavdelinger (se bak på omslaget eller www.qiagen.com).

Forkortet testprosedyre

Trinn 1 – inkubasjon av blod

1. Ta pasientens blod i blodprøvetakingsrørene, og bland dem ved å riste dem ti (10) ganger, så pass kraftig at hele innsiden av røret dekkes av blod. Dette vil oppløse antigener på veggene i røret.
2. Inkuber rørene stående ved $37 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$ i 16–24 timer.
3. Etter inkubering skal rørene sentrifugeres i 15 minutter ved $2000\text{--}3000 \times g$ RCF (g) for å skille plasma og røde blodlegemer.
4. Etter sentrifugering må du unngå å pipettere opp og ned eller blande plasma på noen som helst måte før innsamling. Du må til enhver tid passe på å ikke å forstyrre materialet på geloverflaten.



Trinn 2 – IFN- γ ELISA

1. La ELISA-komponentene oppnå romtemperatur, ($22 \text{ }^\circ\text{C} \pm 5 \text{ }^\circ\text{C}$), med unntak av 100x-konjugatkonsentrat, i minst 60 minutter.
2. Rekonstituer settstandarden til 8,0 IE/ml med destillert eller deionisert vann. Klargjør fire (4) standardfortynninger.
3. Rekonstituer frysetørket 100x-konjugatkonsentrat med destillert eller deionisert vann.

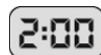


4. Klargjør konjugat med arbeidsstyrke i grønn fortynningsløsning, og tilsett 50 µl i alle brønner.



5. Tilsett 50 µl testplasmaprøver og 50 µl standarder i de aktuelle brønnene. Bland med en rister.

6. Inkuber i 120 ± 5 minutter ved romtemperatur.



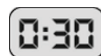
7. Vask brønnene minst 6 ganger med 400 µl vaskebuffer per brønn.



8. Tilsett 100 µl enzymsubstratløsning i brønnene. Bland med en rister.



9. Inkuber i 30 minutter ved romtemperatur.



10. Tilsett 50 µl Enzyme Stopping Solution i alle brønnene. Bland med en rister.



11. Avles resultater ved 450 nm med et 620 til 650 nm referansefilter.



12. Analyser resultatene.



Signifikante endringer

Avsnitt	Side	Endring(er)
Diverse	Diverse	La til anvisninger knyttet til bruken av litiumheparin- eller natriumheparinrør
Diverse	Diverse	La til anvisninger knyttet til arbeidsflyt for blodprøvetaking ved 2–8 °C
Diverse	Diverse	Platelokk er nå et materiale som er nødvendig, men som ikke følger med

Endringshistorikk for håndbok

Dokument	Endringer
R6 04/2019	Endringer for litiumheparin/natriumheparin Nye arbeidsinstrukser for arbeidsflyt for blodprøvetaking ved 2–8 °C Platelokk fjernet fra QF-plater

Varemerker: QIAGEN[®], QFT[®], QuantiFERON[®] (QIAGEN-gruppen); Microsoft[®], Excel[®] (Microsoft); ProClin[®] (Rohm and Haas Co.).

Begrenset lisensavtale for QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA

Bruk av dette produktet innebærer at enhver kjøper eller bruker av produktet samtykker i følgende vilkår:

1. Produktet kan bare brukes i samsvar med protokollene som leveres med produktet og dette pakningsvedlegget, og skal bare brukes med komponenter som er inkludert i settet. QIAGEN gir ingen lisens i forhold til noen av sine åndsprodukter til å bruke eller innlemme komponenter i dette panelet med andre komponenter som ikke er inkludert i dette settet, med unntak av det som er beskrevet i protokollene som leveres med produktet og dette pakningsvedlegget.
2. QIAGEN gir ingen garanti for at dette panelet og/eller dets bruk ikke krenker rettighetene til tredjeparter, bortsett fra uttrykkelig oppgitte lisenser.
3. Dette settet og tilhørende komponenter er lisensiert til engangsbruk og kan ikke brukes flere ganger, modifiseres eller selges på nytt med mindre noe annet er angitt av QIAGEN.
4. QIAGEN frasier seg spesifikt andre lisenser, uttrykt eller antydte, bortsett fra de som er uttrykkelig oppgitt.
5. Kjøperen og brukeren av settet samtykker i at de ikke skal gjøre eller la noen andre gjøre noe som kan resultere i eller fremme handlinger som er forbudt ovenfor. QIAGEN kan håndheve forbud i denne begrensede lisensavtalen i en hvilken som helst domstol, og skal få tilbake alle sine etterforsknings- og domstolskostnader, inkludert advokathonorarer, knyttet til enhver handling som iverksettes for å håndheve denne begrensede lisensavtalen eller eventuell intellektuell eiendomsrett forbundet med settet og/eller komponentene.

Oppdaterte lisensvilkår er tilgjengelige på www.qiagen.com.

© 2019 QIAGEN. Med enerett.

www.QuantiFERON.com

Asia/Stillehavsområdet | techservice-ap@qiagen.com

Europa | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Midtøsten/Afrika | techserviceQFT-eu@qiagen.com

Latin-Amerika (unntatt Brasil og Mexico) | techservice-latam@qiagen.com

Merknader

Merknader

