

Janvier 2023

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



2 x 96 (n° de réf. 622130)



20 x 96 (n° de réf. 622832)

Test d'IFN- $\gamma$  dans le sang total qui mesure les réponses aux antigènes peptidiques ESAT-6 et CFP-10

RX ONLY

**IVD**

Utilisation prévue pour le diagnostic in vitro



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

**REF**

622130, 622832



QIAGEN, 19300 Germantown Road, Germantown, MD 20874, États-Unis. Tél. : +1-800-426-8157

1095849FRCA rév. 09



# Table des matières

Usage prévu .....	5
Résumé et explication du test.....	5
Principes du test.....	8
Composants et conservation.....	10
Contenu de la trousse .....	10
Composants ELISA.....	11
Matériel nécessaire mais non fourni .....	11
Conservation et manipulation.....	12
Avertissements et précautions .....	13
Avertissements.....	13
Précautions .....	14
Prélèvement et manipulation des échantillons .....	17
Protocole : Prélèvement des échantillons .....	17
Consignes pour la méthode ELISA.....	24
Temps nécessaire à la réalisation du test.....	24
Étape 1 : Post-incubation des tubes à prélèvement sanguin et prélèvement du plasma ...	24
Étape 2 : IFN- $\gamma$ avec la méthode ELISA .....	25
Calculs et interprétation du test.....	31
Génération de la courbe étalon et des valeurs des échantillons.....	31
Contrôle qualité du test .....	33
Interprétation des résultats .....	34
Limitations.....	37

---

Caractéristiques de performances.....	39
Études cliniques.....	39
Spécificité.....	39
Sensibilité.....	42
Valeurs attendues.....	48
Répartition des réponses observées — Classement des risques.....	48
Caractéristiques des performances du test.....	54
Renseignements techniques.....	57
Résultats indéterminés.....	57
Échantillons de plasma coagulé.....	57
Échantillons de plasma lipémique.....	57
Guide de dépannage.....	58
Directives des Centres américains de contrôle et de prévention des maladies (CDC).....	60
Références.....	61
Symboles.....	71
Coordonnées.....	72
Résumé de la procédure de test ELISA.....	72
Modifications importantes.....	74

## Usage prévu

Le QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) est un test de diagnostic in vitro qui utilise un cocktail de peptides simulant les protéines ESAT-6 et CFP-10 pour stimuler les cellules dans le sang total hépariné. La détection de l'interféron- $\gamma$  (IFN- $\gamma$ ) par la méthode immunoenzymatique (enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) permet d'identifier les réponses in vitro aux antigènes peptidiques associés à l'infection à *Mycobacterium tuberculosis* (MTB).

Le QFT-Plus est un test indirect permettant de détecter l'infection à *M. tuberculosis* (et la maladie) ; il doit être complété par une évaluation des risques, des radiographies ainsi que d'autres évaluations médicales et diagnostiques.

## Résumé et explication du test

La tuberculose (TB) est une maladie contagieuse causée par une infection par des organismes du complexe *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* et *M. caprae*), qui contaminent généralement de nouveaux hôtes grâce à de fines particules aérogènes provenant de patients souffrant d'une tuberculose pulmonaire. Un individu nouvellement infecté peut développer une tuberculose en quelques semaines ou quelques mois mais la plupart des individus infectés restent en bonne santé. L'infection tuberculeuse latente (ITL), une maladie asymptomatique non contagieuse, persiste chez certains individus susceptibles de développer la tuberculose plusieurs mois ou années plus tard. L'objectif premier du diagnostic de l'ITL est d'envisager le traitement médical afin de prévenir la tuberculose. Pendant plus de 100 ans, l'intradermoréaction à la tuberculine (IDR) s'est avérée être l'unique méthode possible pour diagnostiquer l'ITL. La sensibilité cutanée à la tuberculine apparaît en 2 à 10 semaines après l'infection. Néanmoins, certains individus infectés, y compris ceux présentant de nombreuses affections qui perturbent les fonctions immunitaires, mais aussi d'autres qui ne présentent aucune de ces affections, ne répondent pas à la tuberculine. À l'inverse, certains individus apparemment non porteurs d'une infection à *M. tuberculosis* montrent une sensibilité à la tuberculine et affichent des résultats positifs à l'IDR après une vaccination au Bacille Calmette-Guérin (BCG) ou une infection à mycobactéries autres que le complexe *M. tuberculosis*, ou à cause d'autres facteurs indéterminés.

---

Il convient de distinguer l'ITL de la tuberculose, une maladie à déclaration obligatoire qui touche généralement les poumons et les voies respiratoires inférieures, mais qui peut aussi toucher d'autres organes. La tuberculose peut être diagnostiquée grâce à l'examen des antécédents, l'auscultation, un bilan radiologique et des analyses mycobactériologiques.

Le test QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) est la quatrième génération de tests QuantiFERON-TB qui évalue la réponse à médiation cellulaire par une mesure quantitative de l'IFN- $\gamma$  dans un échantillon de sang total. Le test QFT-Plus mesure la réponse immunitaire à médiation cellulaire (cell-mediated immune, CMI) aux antigènes peptidiques qui simulent les protéines mycobactériennes. Ces protéines, ESAT-6 et CFP-10, sont absentes des souches du BCG et de la plupart des mycobactéries non tuberculeuses, à l'exception de *M. kansasii*, *M. szulgai* et *M. marinum* (1). Les individus infectés par des organismes du complexe *M. tuberculosis* ont généralement des lymphocytes dans le sang qui reconnaissent, entre autres, ces antigènes mycobactériens. Ce processus de reconnaissance implique la production et la sécrétion de la cytokine IFN- $\gamma$ . La détection puis la quantification de l'IFN- $\gamma$  constituent la base de ce test.

L'intradermoréaction à la tuberculine et les tests de détection de la production d'interférons gamma (Interferon-Gamma Release Assay, IGRAs) sont utiles mais insuffisants pour diagnostiquer une infection à complexe *M. tuberculosis* chez les patients malades. Un résultat positif peut faciliter le diagnostic de tuberculose, mais des infections par d'autres mycobactéries (e.g. *M. kansasii*) peuvent également entraîner des résultats positifs. D'autres évaluations médicales et diagnostiques sont nécessaires pour confirmer ou exclure la tuberculose.

Les antigènes utilisés dans le QFT-Plus sont un cocktail de peptides simulant les protéines ESAT-6 et CFP-10. De nombreuses études ont prouvé que ces antigènes peptidiques stimulent les réponses de l'IFN- $\gamma$  dans les lymphocytes T chez les individus infectés par *M. tuberculosis*, mais généralement pas chez les individus non infectés ou vaccinés par le BCG sans maladie ni risque d'ITL (1–32). Toutefois, les médicaments ou maladies qui affaiblissent les fonctions immunitaires peuvent réduire les réponses de l'IFN- $\gamma$ . Les patients souffrant de certaines autres infections mycobactériennes peuvent également répondre à ESAT-6 et CFP-10, car les gènes qui codent ces protéines sont présents dans *M. kansasii*, *M. szulgai* et *M. marinum* (1, 23).

Dans l'infection à MTB, les lymphocytes T CD4<sup>+</sup> jouent un rôle primordial dans le contrôle immunologique, ce par la sécrétion de cytokine IFN- $\gamma$ . Nous savons aujourd'hui que les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> participent à la défense de l'hôte à MTB en produisant de l'IFN- $\gamma$  et d'autres facteurs solubles qui activent des macrophages afin de supprimer la croissance de MTB, tuer les cellules infectées ou lyser directement le MTB intracellulaire (33–35). L'IFN- $\gamma$  entraînant la production de cellules CD8<sup>+</sup> spécifiques à MTB a été détecté chez des sujets présentant une ITL et une TB active (36–39). En outre, les lymphocytes T CD8<sup>+</sup> spécifiques à ESAT-6 et à CFP-10 sont décrits comme plus fréquemment détectés chez les sujets présentant une TB active par rapport à une ITL, et peuvent être associés à une exposition récente à MTB (40–42). De plus, des lymphocytes T CD8<sup>+</sup> spécifiques à MTB produisant de l'IFN- $\gamma$  ont aussi été détectés chez des sujets présentant une TB active avec co-infection au VIH (43, 44) et chez les jeunes enfants souffrant d'une TB (45).

Le QFT-Plus présente deux tubes antigènes TB distincts : le TB Antigen Tube 1 (TB1) et le TB Antigen Tube 2 (TB2). Les deux tubes contiennent des antigènes peptidiques issus des antigènes associés au complexe MTB, ESAT-6 et CFP-10. Les tubes TB1 et TB2 contiennent des peptides issus d'ESAT-6 et de CFP-10 qui doivent obtenir des réponses CMI des lymphocytes T auxiliaires CD4<sup>+</sup>. Le tube TB2 contient un ensemble supplémentaire de peptides axés sur l'induction des réponses CMI des lymphocytes T cytotoxiques CD8<sup>+</sup>.

*Les tests de diagnostic de Mycobacterium tuberculosis utilisant les dosages de dépistage de la production d'interféron gamma doivent se conformer aux directives publiées applicables. Le QFT a été étudié chez les adultes et les enfants identifiés comme présentant un risque élevé d'infection par la tuberculose, notamment les personnes récemment exposées à des personnes atteintes de tuberculose active, les personnes vivant avec le VIH ou autrement immunodéprimées, les immigrants provenant de pays à forte charge de morbidité et les résidents ou employés de lieux de rassemblement à haut risque. (Voir AVERTISSEMENTS et PRÉCAUTIONS ci-dessous concernant l'utilisation en cas de comorbidité pouvant affecter la fonction immunitaire.) (46–84)*

*Liens vers la version la plus récente du document American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America/Centers for Disease Control and Prevention Clinical Practice Guidelines: Diagnosis of Tuberculosis in Adults and Children, ainsi que vers d'autres informations concernant les tests de diagnostic de la tuberculose, sont disponibles à l'adresse <https://www.cdc.gov/tb/publications/guidelines/testing.htm>.*

# Principes du test

Le test QFT-Plus utilise des tubes à prélèvement sanguin spécifiques contenant des antigènes peptidiques qui simulent les protéines de *M. tuberculosis*, lesquels sont utilisés pour prélever le sang total. L'incubation du sang dans les tubes dure de 16 à 24 heures, après quoi le plasma est prélevé puis analysé pour détecter la présence d'IFN- $\gamma$  produit en réponse aux antigènes peptidiques.

Le test QFT-Plus se déroule en deux étapes. Tout d'abord, le sang total est prélevé dans chacun des QFT-Plus Blood Collection Tubes, à savoir un tube Nil, un tube TB1, un tube TB2 et un tube Mitogen. Vous pouvez aussi prélever le sang dans un tube de prélèvement unique contenant du lithium ou de l'héparine sodique comme anticoagulant, puis le transférer dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes.

Les QFT-Plus Blood Collection Tubes sont ensuite agités pour mélanger l'antigène au sang. Ils doivent être incubés à  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  dès que possible, dans les 16 heures suivant le prélèvement. Après 16 à 24 heures d'incubation, les tubes sont centrifugés, le plasma est prélevé et le taux d'IFN- $\gamma$  (UI/ml) est mesuré par la méthode ELISA. Le QFT-Plus ELISA utilise un étalon d'IFN- $\gamma$  humain recombiné testé par rapport à une préparation d'IFN- $\gamma$  de référence (Réf. NIH : Gxg01-902-535). Les résultats du test sont indiqués en unités internationales par ml (UI/ml) par rapport à une courbe étalon préparée en testant les dilutions de l'étalon fourni dans la trousse.

Des anticorps hétérophiles (p. ex. humains anti-souris) dans le sérum ou le plasma de certains individus sont connus pour provoquer une interférence avec les dosages immunologiques. L'effet des anticorps hétérophiles dans le QFT-Plus ELISA est limité par l'ajout de sérum normal de souris au diluant vert (Green Diluent, GD) et par l'utilisation de fragments d'anticorps monoclonaux F(ab')<sub>2</sub> comme anticorps de capture d'IFN- $\gamma$  présents dans les puits des microplaques.

---

Un test QFT-Plus est considéré comme positif pour une réponse d'IFN- $\gamma$  dans un tube antigène TB qui est nettement au-dessus de la valeur UI/ml d'IFN- $\gamma$  du tube Nil. L'échantillon de plasma du tube Mitogen sert de contrôle positif d'IFN- $\gamma$  pour chaque prélèvement testé. Une faible réponse au Mitogen (< 0,5 UI/ml) indique un résultat indéterminé lorsqu'un échantillon de sang présente aussi une réponse négative aux antigènes TB. Ce schéma peut se produire en cas de lymphocytes insuffisants, d'activité réduite des lymphocytes due à une mauvaise manipulation du prélèvement, au remplissage/mélange du tube Mitogen ou à l'incapacité des lymphocytes du patient de générer de l'IFN- $\gamma$ . Il peut y avoir des taux élevés d'IFN- $\gamma$  dans l'échantillon de valeur Nil en présence d'anticorps hétérophiles ou en cas de sécrétion d'IFN- $\gamma$  intrinsèque. Le tube Nil corrige le fond (p. ex. taux élevés d'IFN- $\gamma$  en circulation ou présence d'anticorps hétérophiles). Le taux d'IFN- $\gamma$  du tube Nil est soustrait du taux d'IFN- $\gamma$  des tubes antigènes TB et du tube Mitogen.

# Composants et conservation

## Contenu de la trousse

<b>Tubes à prélèvement sanguin</b>		<b>200/4 800 tubes</b>	<b>Paquet distributeur</b>	<b>200/4 800 tubes haute altitude (HA)<sup>†</sup></b>	<b>Paquet distributeur haute altitude (HA)<sup>*</sup></b>
<b>N° de réf.</b>		<b>622536/622529</b>	<b>622433</b>	<b>623536/623529</b>	<b>623433</b>
<b>Nombre de tests/paquet</b>		<b>50/1 200</b>	<b>25</b>	<b>50/1 200</b>	<b>25</b>
QuantiFERON Nil Tube (bouchon gris, anneau blanc)	Valeur Nil	50/1 200 tubes	25 tubes	–	–
QuantiFERON TB1 Tube (bouchon vert, anneau blanc)	TB1	50/1 200 tubes	25 tubes	–	–
QuantiFERON TB2 Tube (bouchon jaune, anneau blanc)	TB2	50/1 200 tubes	25 tubes	–	–
QuantiFERON Mitogen Tube (bouchon violet, anneau blanc)	Mitogen	50/1 200 tubes	25 tubes	–	–
QuantiFERON Nil HA Tube (bouchon gris, anneau jaune)	Valeur Nil	–	–	50/1 200 tubes	25 tubes
QuantiFERON TB1 HA Tube (bouchon vert, anneau jaune)	TB1	–	–	50/1 200 tubes	25 tubes
QuantiFERON TB2 HA Tube (bouchon jaune, anneau jaune)	TB2	–	–	50/1 200 tubes	25 tubes
QuantiFERON Mitogen HA Tube (bouchon violet, anneau jaune)	Mitogen	–	–	50/1 200 tubes	25 tubes

\* Voir page 14 pour les précautions.

† HA = haute altitude à utiliser entre 1 020 et 1 875 mètres. Voir page 17 pour plus de renseignements.

## Composants ELISA

Composants ELISA	Trousse de 2 plaques	Trousse de laboratoire de référence
N° de réf.	622130	622832
Microplate strips (Bandes de microplaques) (12 x 8 puits) enduites d'anticorps monoclonal d'IFN- $\gamma$ anti-humain de souris	2 lots de bandes de microplaques 12 x 8 puits	20 lots de bandes de microplaques 12 x 8 puits
IFN- $\gamma$ Standard (Étalon d'IFN- $\gamma$ ), lyophilisé (contient de l'IFN- $\gamma$ humain recombiné, de la caséine bovine, 0,01 % M/V de thimérosal)	1 flacon (8 UI/ml après reconstitution)	10 flacons (8 UI/ml après reconstitution)
Green Diluent (Diluant vert) (contient de la caséine bovine, du sérum normal de souris, 0,01 % M/V de thimérosal)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate (Concentré de conjugué 100x), lyophilisé (peroxydase de raifort [PR] d'IFN- $\gamma$ anti-humain de souris, contient 0,01 % de thimérosal)	1 x 0,3 ml (après reconstitution)	10 x 0,3 ml (après reconstitution)
Wash Buffer 20x Concentrate (Concentré de tampon de lavage 20x) (pH 7,2, contient 0,05 % V/V de ProClin® 300)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Solution de substrat enzymatique) (contient du H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> , du 3,3',5,5' tétraméthylbenzidine)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Solution de blocage enzymatique) (contient 0,5 M de H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> )*	1 x 15 ml	10 x 15 ml

\* Voir page 14 pour les précautions.

## Matériel nécessaire mais non fourni

Important : Assurez-vous que tous les instruments utilisés dans cette procédure ont bien été vérifiés et étalonnés conformément aux recommandations du fabricant.

- Incubateur à 37 °C  $\pm$  1 °C (avec ou sans CO<sub>2</sub>)
- Pipettes à volume variable étalonnée pour une distribution de 10  $\mu$ l à 1 000  $\mu$ l avec des pointes jetables
- Pipettes multicanaux étalonnées capables de distribuer de 50  $\mu$ l à 100  $\mu$ l avec des pointes jetables
- Eau déminéralisée ou distillée, 2 litres

- Facultatif : Microtubes de 1 ml avec bouchons dans des portoirs 96 puits ou microplaques non enduites avec opercules en plastique pour conservation du plasma (22 patients/portoir ou plaque)
- Centrifugeuse capable de centrifuger les tubes de sang à au moins 3 000 RCF (g)
- Agitateur de microplaques pouvant aller entre 500 et 1 000 tr/min
- Laveur de microplaques (pour une manipulation sûre des échantillons de plasma, l'utilisation d'un laveur automatique est recommandée)
- Lecteur de microplaques contenant un filtre de 450 nm et un filtre de référence de 620 nm à 650 nm
- Vortex à vitesse variable
- Minuteur
- Éprouvette graduée, 1 litre ou 2 litres
- Réservoirs à réactif
- Couvercle de la plaque

## Conservation et manipulation

### Tubes à prélèvement sanguin

- Conservez les tubes à prélèvement sanguin à une température entre 4 °C et 25 °C.

### Réactifs de la trousse ELISA

- Conservez la trousse entre 2 °C et 8 °C.
- Protégez toujours la solution de substrat enzymatique de la lumière directe du soleil.

### Réactifs reconstitués et inutilisés

- Pour savoir comment reconstituer les réactifs, consultez la section Étape 2 : IFN- $\gamma$  avec la méthode ELISA (page 25).
- L'étalon de la trousse, une fois reconstitué, peut être conservé jusqu'à 3 mois entre 2 °C et 8 °C.

Notez la date de la reconstitution de l'étalon de la trousse.

- Le conjugué concentré 100x reconstitué doit être conservé entre 2 °C et 8 °C et être également utilisé dans les 3 mois.  
Notez la date de la reconstitution du conjugué.
- Le conjugué prêt à l'emploi doit être utilisé dans les 6 heures suivant la préparation.
- Le tampon de lavage prêt à l'emploi peut être conservé à température ambiante jusqu'à 2 semaines.

## Avertissements et précautions

Utilisation prévue pour le diagnostic *in vitro*

### Avertissements

- Un résultat de test QFT-Plus négatif n'écarte pas la possibilité d'une infection à *M. tuberculosis* ou d'une tuberculose : des faux négatifs peuvent être dus au stade de l'infection (p. ex. prélèvement obtenu avant le développement de la réponse immunitaire à médiation cellulaire), à des facteurs de comorbidité touchant les fonctions immunitaires, à une manipulation incorrecte des tubes à prélèvement sanguin après la ponction veineuse, à la réalisation incorrecte du test ou à d'autres variables d'ordre immunologique. Des anticorps hétérophiles ou une production d'IFN- $\gamma$  non spécifique d'origine non inflammatoire peuvent masquer les réponses spécifiques aux peptides ESAT-6 ou CFP-10.
- Un résultat de test QFT-Plus positif ne doit pas être le critère unique ou irréfutable de détermination d'une infection à *M. tuberculosis*. La réalisation incorrecte du test peut entraîner un résultat de test QFT-Plus faux positif.
- Un résultat de test QFT-Plus positif doit être suivi d'un examen médical supplémentaire afin de déterminer une tuberculose active (p. ex. frottis et culture de bacilles acido-alcoolo-résistants, radiographie des poumons).
- ESAT-6 et CFP-10 étant absents de toutes les souches de BCG et de la plupart des mycobactéries non tuberculeuses connues, il est possible qu'un résultat de test QFT-Plus positif soit dû à une infection à *M. kansasii*, *M. szulgai* ou *M. marinum*. Si vous suspectez de telles infections, vous devez procéder à d'autres tests.

- Un résultat de test QFT-Plus faux négatif peut être dû à un prélèvement incorrect du prélèvement de sang ou à une manipulation incorrecte de l'échantillon ayant une incidence sur la fonction des lymphocytes. Consultez la section « Prélèvement et manipulation des échantillons » à la page 17 pour voir la manipulation correcte des prélèvements de sang. Une incubation retardée peut entraîner un résultat faux négatif ou indéterminé, et d'autres paramètres techniques peuvent affecter la capacité de détection d'une réponse d'IFN- $\gamma$  pertinente.
- L'effet de la numération lymphocytaire sur la fiabilité des résultats de test QFT-Plus est inconnu. La numération lymphocytaire peut varier avec le temps pour une raison quelconque et d'une personne à l'autre. Le nombre minimal de lymphocytes nécessaires à un résultat de test fiable n'a pas été défini et peut également être variable.
- Un résultat de test QFT-Plus positif peut suggérer et confirmer le diagnostic de tuberculose. ESAT-6 et CFP-10 sont présents dans *M. tuberculosis* mais des infections à d'autres mycobactéries, notamment *M. kansasii*, *M. szulgai* et *M. marinum*, peuvent aussi entraîner des résultats positifs. D'autres évaluations diagnostiques (p. ex. frottis et culture de bacilles acido-alcoolo-résistants, radiographie des poumons) sont nécessaires en plus du test QFT-Plus pour confirmer la tuberculose.
- La valeur prédictive d'un résultat de test QFT-Plus négatif chez les individus immunodéprimés n'a pas été déterminée.

## Précautions

Utilisation réservée au diagnostic in vitro.

Lorsque vous manipulez des produits chimiques, vous devez toujours porter un sarrau de laboratoire adapté, des gants jetables et des lunettes de protection. Pour plus de renseignements, consultez les fiches de données de sécurité (FDS) correspondantes disponibles en ligne en format PDF pratique et compact, que vous pouvez visualiser et imprimer sur [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety).



**ATTENTION : Manipulez le sang humain comme s'il était potentiellement infectieux.**

Respectez les consignes de manipulation du sang applicables. Éliminez les échantillons et tout matériel en contact avec du sang ou des produits sanguins dans le respect des réglementations locales, régionales et nationales.

#### **QuantifERON Enzyme Stopping Solution**



Contient de l'acide sulfurique. Avertissement ! Peut être corrosif pour les métaux. Provoque une irritation cutanée. Provoque une grave irritation oculaire. Portez des gants/des vêtements/des lunettes/un masque de protection.

#### **QuantifERON Enzyme Substrate Solution**

Avertissement ! Provoque une légère irritation cutanée. Portez des gants/des vêtements/des lunettes/un masque de protection.

#### **QuantifERON Green Diluent**



Contient de la tartrazine. Avertissement ! Peut provoquer une réaction allergique cutanée. Portez des gants/des vêtements/des lunettes/un masque de protection.

#### **QuantifERON Wash Buffer 20x Concentrate**

Toxique pour la vie aquatique avec effets à long terme. Ne pas déverser dans l'environnement.

## Renseignements supplémentaires

Fiches de données de sécurité : [www.qiagen.com/safety](http://www.qiagen.com/safety)

- Le thimérosal est utilisé comme conservateur dans certains réactifs QFT-Plus. Il peut être toxique s'il est ingéré, inhalé ou en contact avec la peau.
- Le non-respect de la notice QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) peut entraîner des résultats incorrects. Veuillez lire attentivement les consignes avant utilisation.
- N'utilisez pas la trousse si l'un des flacons de réactif présente des signes de dommages ou de fuite avant utilisation.
- **Important :** Inspectez les flacons avant utilisation. N'utilisez pas les flacons de conjugué ou d'étalon d'IFN- $\gamma$  qui présentent des signes de dommages ou dont le joint d'étanchéité en caoutchouc est rompu. Ne manipulez pas de flacons cassés. Prenez les mesures de sécurité qui s'imposent pour la mise au rebut des flacons. Recommandation : Utilisez une décapsuleuse de flacon pour ouvrir les flacons de conjugué ou d'étalon d'IFN- $\gamma$  afin de limiter le risque de blessures dues au bouchon métallique à rebord.
- Ne mélangez et n'utilisez pas les bandes de microplaques, l'étalon d'IFN- $\gamma$ , le diluant vert ou le conjugué concentré 100x provenant de différentes troussees QFT-Plus. Vous pouvez intervertir les autres réactifs (tampon de lavage concentré 20x, solution de substrat enzymatique et solution de blocage enzymatique) entre les troussees si leur date d'expiration n'est pas dépassée et si vous consignez les informations du lot.
- Éliminez les réactifs et échantillons biologiques non utilisés dans le respect des réglementations locales, régionales et nationales.
- N'utilisez pas les QFT-Plus Blood Collection Tubes ou la trousse ELISA au-delà de leur date d'expiration.
- Respectez à tout moment les procédures de laboratoire applicables.
- Veillez à ce que l'équipement de laboratoire, tel que les laveurs de plaques et les lecteurs, soit étalonné/validé pour utilisation.

# Prélèvement et manipulation des échantillons

## Protocole : Prélèvement des échantillons

Le QFT-Plus utilise les tubes à prélèvement suivants :

### Tubes à prélèvement

- QuantiFERON Nil Tubes (bouchon gris avec anneau blanc ; à utiliser entre le niveau de la mer et 810 mètres)
- QuantiFERON TB1 Tubes (bouchon vert avec anneau blanc ; à utiliser entre le niveau de la mer et 810 mètres)
- QuantiFERON TB2 Tubes (bouchon jaune avec anneau blanc ; à utiliser entre le niveau de la mer et 810 mètres)
- QuantiFERON Mitogen Tubes (bouchon violet avec anneau blanc ; à utiliser entre le niveau de la mer et 810 mètres)

### Tubes haute altitude (HA)

- QuantiFERON HA Nil Tubes (bouchon gris avec anneau jaune ; à utiliser entre 1 020 et 1 875 mètres)
- QuantiFERON HA TB1 Tubes (bouchon vert avec anneau jaune ; à utiliser entre 1 020 et 1 875 mètres)
- QuantiFERON HA TB2 Tubes (bouchon jaune avec anneau jaune ; à utiliser entre 1 020 et 1 875 mètres)
- QuantiFERON HA Mitogen Tubes (bouchon violet avec anneau jaune ; à utiliser entre 1 020 et 1 875 mètres)

Les antigènes sèchent sur la paroi intérieure des tubes à prélèvement sanguin, il est donc primordial que le contenu des tubes soit bien mélangé avec le sang. Si le sang est prélevé directement dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes, ces derniers doivent être transférés dès que possible dans l'incubateur à 37 °C, dans les 16 heures suivant le prélèvement. Vous pouvez aussi prélever le sang dans un tube de prélèvement unique contenant du lithium ou de l'héparine sodique pour le conserver avant le transfert dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes et l'incubation. Les prélèvements de sang prélevés dans des tubes contenant du lithium ou de l'héparine sodique peuvent être conservés jusqu'à 12 heures à température ambiante (17–25 °C), puis transférés dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes, ou les prélèvements de sang prélevés dans des tubes contenant du lithium ou de l'héparine sodique peuvent être transférés aux QFT-Plus Blood Collection Tubes directement après le prélèvement. Les prélèvements de sang dans les tubes contenant du lithium ou de l'héparine sodique peuvent aussi être conservés à une température entre 2–8 °C jusqu'à 48 heures avant le transfert dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes. Consultez la section « Prélèvement sanguin dans un tube de prélèvement unique contenant du lithium ou de l'héparine sodique puis transfert dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes », à la page 20.

**Important :** Les tubes de prélèvement sanguin (QFT-Plus Blood Collection Tubes pour un prélèvement direct ou tubes contenant du lithium ou de l'héparine sodique pour un prélèvement préalable conservé dans le lithium ou l'héparine sodique) doivent être à température ambiante (17–25 °C) au moment du prélèvement sanguin.

## Options de prélèvement sanguin et de durée de conservation

Voir les Options de prélèvement sanguin ci-après (Figure 1 à 3).

### **Prélèvement direct dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes**

1. Étiquetez correctement les tubes.

Assurez-vous que chaque tube (Nil, TB1, TB2 et Mitogen) est identifiable par son étiquette ou par d'autres moyens une fois le bouchon retiré.

Il est recommandé de consigner l'heure et la date du prélèvement.

**Important :** Les tubes à prélèvement sanguin doivent être à température ambiante (17 à 25 °C) au moment du prélèvement.

2. Pour chaque patient, prélevez 1 ml de sang par ponction veineuse directement dans chacun des QFT-Plus Blood Collection Tubes. Cette procédure doit être réalisée par un phlébotomiste qualifié.
  - a) Les tubes de 1 ml aspirent le sang de façon relativement lente, maintenez donc le tube sur l'aiguille pendant 2 à 3 secondes supplémentaires une fois que le tube semble rempli. Vous obtiendrez ainsi le volume correct.
  - b) Le repère noir sur le côté des tubes indique la plage validée de 0,8 à 1,2 ml. Si le niveau de sang dans un tube se trouve avant ou après le repère, vous devez recommencer le prélèvement. Le remplissage insuffisant ou excessif des tubes, hors de la plage de 0,8 à 1,2 ml, peut donner des résultats incorrects.
  - c) Si vous utilisez une aiguille à ailettes pour prélever le sang, utilisez un tube de purge pour vous assurer que la tubulure se remplit de sang avant d'utiliser les QFT-Plus Blood Collection Tubes.
  - d) Vous pouvez utiliser les QFT-Plus Blood Collection Tubes jusqu'à une altitude de 810 mètres au-dessus du niveau de la mer. Les HA QFT-Plus Blood Collection Tubes doivent être utilisés à une altitude comprise entre 1 020 et 1 875 mètres.
  - e) Si vous utilisez les QFT-Plus Blood Collection Tubes hors des plages d'altitude de 810 à 1 020 mètres ou au-dessus de 1 875 mètres, ou si le volume de sang prélevé est faible, vous pouvez prélever le sang avec une seringue puis en transférer immédiatement 1 ml dans chacun des 4 tubes. Pour des raisons de sécurité, le mieux est de retirer de façon sûre l'aiguille de la seringue, de retirer les bouchons des 4 QFT-Plus Blood Collection Tubes et d'ajouter 1 ml de sang dans chacun d'eux (jusqu'au repère noir sur le côté de l'étiquette du tube, qui indique la plage validée de 0,8 à 1,2 ml). Remettez les bouchons en place puis mélangez comme décrit ci-après. Assurez-vous que chaque tube (Nil, TB1, TB2 et Mitogen) est identifiable par son étiquette ou par d'autres moyens une fois le bouchon retiré.
3. Immédiatement après le remplissage des tubes, agitez-les dix (10) fois avec suffisamment de fermeté pour que le sang recouvre toute la surface intérieure du tube. Cela permet de dissoudre les antigènes sur les parois du tube.

N'agitez pas les tubes trop vigoureusement, cela pourrait entraîner une désintégration du gel et donner des résultats aberrants.

- Après l'étiquetage, le remplissage et l'agitation, les tubes doivent être transférés dès que possible dans l'incubateur à  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ , ce dans les 16 heures suivant le prélèvement. Avant l'incubation, conservez les tubes à température ambiante [17 à 25 °C]. Si les QFT-Plus Blood Collection Tubes ne sont pas incubés à 37 °C directement après le prélèvement sanguin et l'agitation, retournez les tubes pour les mélanger 10 fois avant l'incubation à 37 °C.
- Incubez les QFT-Plus Blood Collection Tubes VERTICALEMENT à  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  pendant 16 à 24 heures.  
L'incubateur ne nécessite ni CO<sub>2</sub> ni humidification.

### **Prélèvement sanguin dans un tube de prélèvement unique contenant du lithium ou de l'héparine sodique puis transfert dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes**

- Vous pouvez prélever le sang dans un tube de prélèvement unique contenant du lithium ou de l'héparine sodique comme anticoagulant, puis le transférer dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes. Utilisez exclusivement du lithium ou de l'héparine sodique comme anticoagulant, d'autres anticoagulants perturberaient le dosage. Étiquetez correctement les tubes.  
Il est recommandé d'indiquer l'heure et la date du prélèvement sur l'étiquette du tube.  
Important : Les tubes à prélèvement sanguin doivent être à température ambiante (17 à 25 °C) au moment du prélèvement.
- Remplissez un tube de prélèvement contenant du lithium ou de l'héparine sodique (volume minimal 5 ml), puis mélangez-le délicatement en le retournant plusieurs fois afin de dissoudre l'héparine. Cette procédure doit être réalisée par un phlébotomiste qualifié.
- Options de durée de conservation et de température pour les tubes contenant du lithium ou de l'héparine sodique avant le transfert et l'incubation dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes (voir les figures 1–3 Options de prélèvement sanguin).  
Option 1 – Manipulation et conservation à température ambiante des tubes contenant du lithium ou de l'héparine sodique :  
Le sang prélevé dans un tube contenant du lithium ou de l'héparine sodique doit être conservé à température ambiante (17 °C–25 °C) pendant 12 heures maximum après le prélèvement et avant le transfert dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes puis l'incubation.

Option 2 – Manipulation et conservation réfrigérée des tubes contenant du lithium ou de l'héparine sodique :

Important : L'ordre des étapes a à d de la procédure doit être respecté.

- a) Le sang prélevé dans un tube contenant du lithium ou de l'héparine sodique peut être conservé à température ambiante (17–25 °C) jusqu'à 3 heures après le prélèvement.
- b) Le sang prélevé dans un tube contenant du lithium ou de l'héparine sodique peut être réfrigéré (2–8 °C) jusqu'à 48 heures.
- c) Après une réfrigération, laissez le tube contenant du lithium ou de l'héparine sodique revenir à température ambiante (17–25 °C) avant le transfert dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes.
- d) Les QFT-Plus Blood Collection Tubes aliquotés doivent être placés dans l'incubateur à 37 °C dans les 2 heures suivant le transfert du sang.

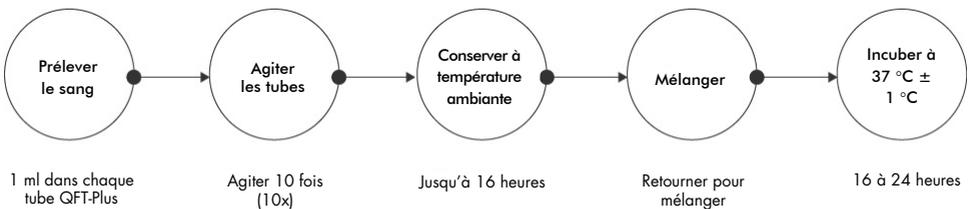
Si vous n'incubez pas les QFT-Plus Blood Collection Tubes à 37 °C directement après le transfert dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes et l'agitation, retournez les tubes 10 fois pour en mélanger le contenu avant l'incubation à 37 °C. Le temps total entre le prélèvement sanguin et l'incubation dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes ne doit pas dépasser 53 heures.

4. Transfert du prélèvement de sang d'un tube contenant du lithium ou de l'héparine sodique vers les QFT-Plus Blood Collection Tubes :

- a) Étiquetez correctement chaque QFT-Plus Blood Collection Tube.  
Assurez-vous que chaque tube (Nil, TB1, TB2 et Mitogen) est identifiable par son étiquette ou par d'autres moyens une fois le bouchon retiré. Il est recommandé de transférer l'heure et la date de prélèvement sanguin consignées des tubes contenant du lithium ou de l'héparine sodique aux QFT-Plus Blood Collection Tubes.
- b) Mélangez les échantillons de façon homogène en retournant délicatement les tubes avant la distribution dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes.
- c) La distribution doit être effectuée en conditions aseptiques et sécurisées, en retirant les bouchons des 4 QFT-Plus Blood Collection Tubes puis en ajoutant 1 ml de sang dans chaque tube. Remettez les bouchons des tubes en place puis mélangez comme décrit ci-après. Assurez-vous que chaque tube (Nil, TB1, TB2 et Mitogen) est identifiable par son étiquette ou par d'autres moyens une fois le bouchon retiré.

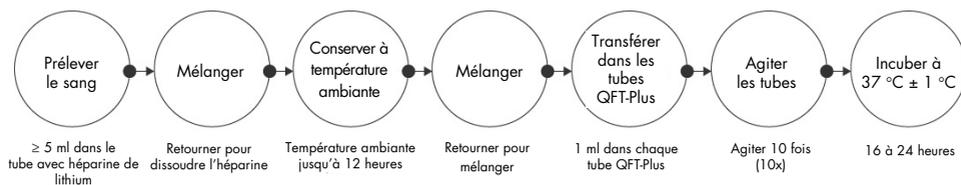
5. Mélangez les tubes. Immédiatement après le remplissage des QFT-Plus Blood Collection Tubes, agitez-les dix (10) fois avec suffisamment de fermeté pour que le sang recouvre toute la surface intérieure du tube. Cela permet de dissoudre les antigènes sur les parois des tubes.  
N'agitez pas les tubes trop vigoureusement, cela pourrait entraîner une désintégration du gel et donner des résultats aberrants.
6. Après l'étiquetage, le remplissage et l'agitation, les tubes doivent être transférés dans les 2 heures dans l'incubateur à  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ . Si les QFT-Plus Blood Collection Tubes ne sont pas incubés à  $37\text{ °C}$  directement après le prélèvement sanguin et l'agitation, retournez les tubes pour les mélanger 10 fois (10x) avant l'incubation à  $37\text{ °C}$  (voir Figure 1 à 3 à la page suivante pour voir les options de prélèvement sanguin).
7. Incubez les QFT-Plus Blood Collection Tubes VERTICALEMENT à  $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$  pendant 16 à 24 heures.  
L'incubateur ne nécessite ni  $\text{CO}_2$  ni humidification.

### Prélèvement dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes et conservation à température ambiante



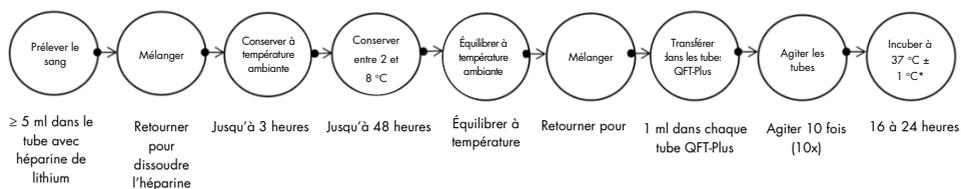
**Figure 1. Option de prélèvement sanguin : Prélèvement dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes et conservation à température ambiante.** Le temps total entre le prélèvement sanguin dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes et l'incubation à  $37\text{ °C}$  ne doit pas dépasser 16 heures.

## Prélèvement dans un tube contenant du lithium ou de l'héparine sodique et conservation à température ambiante



**Figure 2. Option de prélèvement sanguin : Prélèvement dans un tube contenant du lithium ou de l'héparine sodique et conservation à température ambiante.** Le temps total entre le prélèvement sanguin dans le tube contenant du lithium ou de l'héparine sodique et l'incubation à  $37^{\circ}\text{C}$  ne doit pas dépasser 12 heures.

## Prélèvement dans un tube contenant du lithium ou de l'héparine sodique et conservation à une température comprise entre $2$ et $8^{\circ}\text{C}$ .



\* Les QFT-Plus Blood Collection Tubes aliquotés doivent être placés dans l'incubateur à  $37^{\circ}\text{C}$  dans les 2 heures suivant le transfert du sang dans les tubes.

**Figure 3. Option de prélèvement sanguin : Prélèvement dans un tube contenant du lithium ou de l'héparine sodique et conservation entre  $2-8^{\circ}\text{C}$ .** Le temps total entre le prélèvement sanguin dans le tube contenant du lithium ou de l'héparine sodique et l'incubation à  $37^{\circ}\text{C}$  ne doit pas dépasser 53 heures.

# Consignes pour la méthode ELISA

## Temps nécessaire à la réalisation du test

Afin d'obtenir des résultats valides au test QFT-Plus, l'opérateur doit effectuer des tâches spécifiques dans le temps imparti. Avant de procéder au test, il est recommandé à l'opérateur de planifier soigneusement chaque étape afin de prévoir le temps nécessaire à chacune d'elles. Le temps nécessaire est estimé ci-après, la durée du test de plusieurs échantillons en lot est également indiquée.

Plaque ELISA :

- Environ 3 heures pour une plaque ELISA
- < 1 heure de travail
- Ajoutez 10 à 15 minutes pour chaque plaque supplémentaire

## Étape 1 : Post-incubation des tubes à prélèvement sanguin et prélèvement du plasma

Avant de prélever le plasma, vous devez incuber les échantillons dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes à 37 °C pendant 16 à 24 heures. L'incubateur ne nécessite ni CO<sub>2</sub> ni humidification. Voir la section « Protocole : Prélèvement des échantillons », à la page 17.

### Procédure

1. Après l'incubation des tubes à prélèvement sanguin à 37 °C ± 1 °C, vous pouvez conserver les tubes entre 4 et 27 °C pendant 3 jours maximum avant la centrifugation.
2. Après l'incubation des tubes à 37 °C ± 1 °C, le prélèvement du plasma est plus facile en centrifugeant les tubes pendant 15 minutes entre 2 000 et 3 000 RCF (g). Le gel séparateur permet de séparer les cellules du plasma. Si ce n'est pas le cas, les tubes doivent être de nouveau centrifugés.

3. Il est possible de prélever le plasma sans centrifugation mais il faut procéder avec une extrême précaution pour prélever le plasma sans perturber les cellules.
4. Le prélèvement des échantillons de plasma ne doit être effectué qu'à la pipette.  
**Important :** Après la centrifugation, évitez le pipetage répété ou le mélange du plasma avant le prélèvement. Veillez à tout moment à ne pas agiter la substance à la surface du gel.  
Vous pouvez charger directement les échantillons de plasma des tubes à prélèvement sanguin centrifugés sur la plaque QFT-Plus ELISA.  
Vous pouvez conserver les échantillons de plasma dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes centrifugés pendant un maximum de 28 jours à une température entre 2 et 8 °C. Vous pouvez aussi conserver les échantillons de plasma prélevés pendant un maximum de 28 jours à une température entre 2 et 8 °C. Les échantillons de plasma prélevés peuvent aussi être congelés à une température inférieure à -20 °C (de préférence à une température inférieure à -70 °C) pendant très longtemps.  
Pour des échantillons de test corrects, prélevez au moins 150 µl de plasma.

## Étape 2 : IFN- $\gamma$ avec la méthode ELISA

Consultez les sections « Contenu de la trousse » et « Matériel nécessaire mais non fourni », à la page 11 pour connaître le matériel nécessaire à la méthode ELISA.

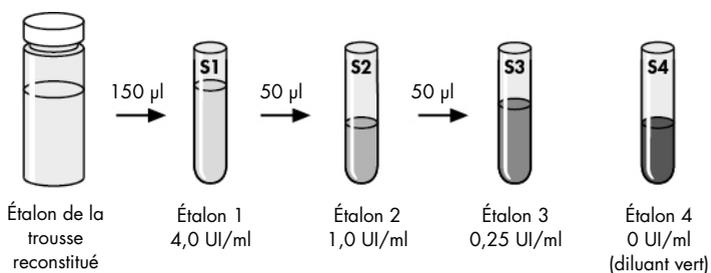
### Procédure

1. Tous les échantillons de plasma et les réactifs, sauf le conjugué concentré 100x, doivent être ramenés à température ambiante (22 °C  $\pm$  5 °C) avant utilisation. Laissez-les reposer au moins 60 minutes pour la saturation.
2. Retirez du support les bandes de plaques ELISA non nécessaires dans le cas présent, remettez-les dans le sachet en aluminium et replacez le tout au réfrigérateur.

3. Laissez au moins 1 bande pour les étalons QFT-Plus et suffisamment de bandes pour le nombre de sujets testés (voir Figure 5 pour connaître le format de plaque recommandé). Après utilisation, gardez le support et son couvercle pour les utiliser avec les bandes restantes.
- Reconstituez l'étalon d'IFN- $\gamma$  avec le volume d'eau déminéralisée ou distillée indiqué sur l'étiquette du flacon. Mélangez délicatement en évitant la formation de mousse puis assurez-vous que le contenu entier du flacon est parfaitement dissout. La reconstitution de l'étalon d'IFN- $\gamma$  au volume correct donne une solution d'une concentration de 8,0 UI/ml.
  - Avec l'étalon reconstitué, préparez une série de dilution de 4 concentrations d'IFN- $\gamma$  (voir Figure 4).
  - Une courbe étalon doit être générée avec les concentrations d'IFN- $\gamma$  suivantes : S1 (Étalon 1) contient 4,0 UI/ml, S2 (Étalon 2) contient 1,0 UI/ml, S3 (Étalon 3) contient 0,25 UI/ml et S4 (Étalon 4) contient 0 UI/ml (Diluant vert [Green Diluent, GD] uniquement).
  - Les étalons doivent être testés au moins en double.
  - Préparez des dilutions fraîches de l'étalon de la trousse pour chaque session ELISA.

#### Exemple de procédure pour les étalons en double

Exemple de procédure pour les étalons en double	
A	Étiquetez 4 tubes : S1, S2, S3, S4
B	Ajoutez 150 $\mu$ l de GD à S1, S2, S3, S4
C	Ajoutez 150 $\mu$ l de l'étalon de la trousse à S1 et mélangez bien
D	Transférez 50 $\mu$ l de S1 à S2 et mélangez bien
E	Transférez 50 $\mu$ l de S2 à S3 et mélangez bien
F	Le GD seul sert d'étalon zéro (S4)



**Figure 4. Préparation des séries de dilution pour la courbe étalon.**

4. Reconstituez le conjugué concentré 100x lyophilisé avec 0,3 ml d'eau déminéralisée ou distillée. Mélangez délicatement en évitant la formation de mousse puis assurez-vous que le contenu entier du flacon est parfaitement dissout.
  - a) Le conjugué prêt à l'emploi est préparé en diluant la quantité requise de conjugué concentré 100x reconstitué dans du diluant vert (Tableau 1).
  - b) Le conjugué prêt à l'emploi doit être utilisé dans les 6 heures suivant la préparation.
  - c) Remettez le conjugué concentré 100x non utilisé au frais entre 2 et 8 °C immédiatement après utilisation.

**Tableau 1. Préparation du conjugué (prêt à l'emploi)**

<b>Nombre de bandes</b>	<b>Volume de conjugué (concentré 100x)</b>	<b>Volume de diluant vert</b>
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. Pour les échantillons de plasma prélevés dans les tubes à prélèvement sanguin puis conservés (réfrigérés ou congelés), mélangez bien l'échantillon avant de l'ajouter au puits de la plaque ELISA.

**Important :** Si vous devez ajouter les échantillons de plasma directement à partir des QFT-Plus Blood Collection Tubes centrifugés, évitez de mélanger le plasma. Veillez à tout moment à ne pas agiter la substance à la surface du gel.

6. Ajoutez 50 µl de conjugué prêt à l'emploi fraîchement préparé dans chaque puits de la plaque ELISA.
7. Ajoutez 50 µl d'échantillon de plasma de test dans les puits qui conviennent (voir la disposition de plaque ELISA recommandée sur la Figure 5).
8. Enfin, ajoutez 50 µl de chaque étalon 1 à 4 dans les puits qui conviennent (voir la disposition de plaque ELISA recommandée sur la Figure 5). Les étalons doivent être testés au moins en double.

	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

**Figure 5. Disposition de plaque ELISA recommandée.** S1 (Étalon 1), S2 (Étalon 2), S3 (Étalon 3), S4 (Étalon 4). 1 N (Échantillon 1. Plasma de contrôle de valeur Nil), 1 TB1 (Échantillon 1. Plasma TB1), 1 TB2 (Échantillon 1. Plasma TB2), 1 M (Échantillon 1. Plasma Mitogen).

9. Couvrez la plaque ELISA et mélangez bien le conjugué et les échantillons de plasma/étalons à l'aide d'un agitateur de microplaques pendant 1 minute entre 500 et 1 000 tr/min. Évitez les éclaboussures.
10. Couvrez la plaque ELISA et incubez à température ambiante ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) pendant  $120 \pm 5$  minutes. La plaque ELISA ne doit pas être exposée à la lumière directe du soleil pendant l'incubation. En vous écartant de la plage de températures spécifiée, vous risquez d'obtenir des résultats incorrects.
11. Pendant l'incubation de la plaque ELISA, préparez le tampon de lavage prêt à l'emploi. Diluez une mesure de tampon de lavage concentré 20x avec 19 mesures d'eau déminéralisée ou distillée puis mélangez bien. Vous avez suffisamment de tampon de lavage concentré 20x pour préparer 2 litres de tampon de lavage prêt à l'emploi.
12. Une fois l'incubation de la plaque ELISA terminée, nettoyez les puits de la plaque ELISA avec 400 µl de tampon de lavage prêt à l'emploi. Effectuez au moins 6 fois l'étape de lavage. Il est recommandé d'utiliser un laveur automatique de plaques pour une manipulation plus sûre des échantillons de plasma.  
 Un lavage soigné est d'une grande importance dans la réalisation du test. Veillez à remplir chaque puits de tampon de lavage jusqu'en haut pour chaque cycle de lavage. Un trempage d'au moins 5 secondes entre chaque cycle est recommandé.  
 Un désinfectant de laboratoire régulier doit être ajouté au réservoir d'effluent, et les procédures établies pour la décontamination de matériel potentiellement infectieux doivent être respectées.

- 
13. Tapotez la plaque ELISA face vers le bas sur un papier absorbant (peu pelucheux) pour éliminer les résidus de tampon de lavage. Ajoutez 100 µl de solution de substrat enzymatique dans chaque puits de la plaque, recouvrez la plaque puis mélangez bien pendant 1 minute à un régime entre 500 et 1 000 tr/min à l'aide de l'agitateur de microplaque.
  14. Couvrez la plaque ELISA et incubez à température ambiante ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ) pendant 30 minutes. La plaque ELISA ne doit pas être exposée à la lumière directe du soleil pendant l'incubation.
  15. Après 30 minutes d'incubation, ajoutez 50 µl de solution de blocage enzymatique dans chaque puits de la plaque dans le même ordre que pour la solution de substrat puis mélangez bien entre 500 et 1 000 tr/min à l'aide de l'agitateur de microplaques.
  16. Mesurez la densité optique (DO) des puits de la plaque ELISA dans les 5 minutes suivant le blocage de la réaction à l'aide d'un lecteur de microplaques équipé d'un filtre de 450 nm et d'un filtre de référence de 620 nm à 650 nm. Les valeurs de DO permettent de calculer les résultats.

# Calculs et interprétation du test

Le QFT-Plus Analysis Software peut être utilisé pour analyser les données brutes et calculer les résultats. Ce logiciel d'analyse est disponible sur [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Veillez à utiliser la toute dernière version du QFT-Plus Analysis Software.

Ce logiciel réalise un contrôle qualité du test, génère une courbe étalon et donne un résultat de test pour chaque sujet, comme détaillé dans la section « Interprétation des résultats », à la page 34. Il signale toutes les concentrations supérieures à 10 UI/ml comme « > 10 » car ces valeurs sont au-delà de la plage linéaire validée de la méthode ELISA.

Plutôt que d'utiliser le QFT-Plus Analysis Software, vous pouvez déterminer les résultats en appliquant la méthode ci-dessous.

## Génération de la courbe étalon et des valeurs des échantillons

Si vous n'utilisez pas le QFT-Plus Analysis Software

Il vous faut un tableur, comme Microsoft® Excel®, pour déterminer la courbe étalon et les valeurs UI/ml des échantillons.

Avec un tableur :

1. Déterminez les valeurs de DO moyennes des réplicats de l'étalon de la trousse sur chaque plaque.
2. Réalisez une courbe étalon  $\log_{(e)} - \log_{(e)}$  en traçant le  $\log_{(e)}$  de la DO moyenne (axe y) par rapport au  $\log_{(e)}$  de la concentration d'IFN- $\gamma$  des étalons en UI/ml (axe x), en omettant l'étalon zéro dans ces calculs. Calculez la ligne d'ajustement optimal pour la courbe étalon par analyse de régression.
3. Utilisez la courbe étalon pour déterminer la concentration d'IFN- $\gamma$  (UI/ml) pour chaque échantillon de plasma de test, en utilisant la valeur de DO de chaque échantillon.

4. Ces calculs peuvent être effectués à l'aide des ensembles logiciels disponibles avec les lecteurs de microplaques de même qu'avec des tableurs ou logiciels statistiques réguliers (comme Microsoft Excel). Il est recommandé d'utiliser ces logiciels pour calculer l'analyse de régression, le coefficient de variation (% CV) pour les étalons et le coefficient de corrélation ( $r$ ) de la courbe étalon.

## Calcul de l'échantillon

Si vous obtenez les résultats de DO suivants pour les étalons, les calculs utilisant  $-\log_{10}$  – doivent correspondre à ceux du Tableau 2.

**Tableau 2. Courbe étalon**

Étalon	UI/ml	Valeurs de DO a et b	DO moyenne	% CV	$\log_{10}$ UI/ml	$\log_{10}$ (DO) moyenne
Étalon 1	4	1,089, 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
Étalon 2	1	0,357, 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
Étalon 3	0,25	0,114, 0,136	0,125	SO	-1,386	-2,079
Étalon 4	0	0,034, 0,037	0,036	SO	SO	SO

L'équation de la courbe est  $y = 0,7885(X) - 0,9837$ , où  $m = 0,7885$  et  $c = -0,9837$ . Ces valeurs sont utilisées dans l'équation  $X = (Y-c)/m$  pour résoudre X. Selon la courbe étalon, le coefficient de corrélation ( $r$ ) calculé = 1,000.  
SO : sans objet.

D'après les critères indiqués dans la section « Contrôle qualité du test » à la page 33, le test est déterminé comme valide.

La courbe étalon (Tableau 2) permet de convertir les réponses DO aux antigènes en unités internationales (UI/ml).

**Tableau 3. Calcul de l'échantillon**

Antigène	Valeur de DO	Log <sub>(e)</sub> valeur de DO	X	e <sup>x</sup> (UI/ml)	Antigène – Valeur Nil (UI/ml)
Valeur Nil	0,037	-3,297	-2,934	0,05	–
TB1	1,161	0,149	1,437	4,21	4,15
TB2	1,356	0,305	1,634	5,12	5,07
Mitogen	1,783	0,578	1,981	7,25	7,20

Les valeurs d'IFN- $\gamma$  (en UI/ml) pour TB1, TB2 et Mitogen sont corrigées pour le bruit de fond en soustrayant la valeur UI/ml obtenue du contrôle de valeur Nil correspondant. Ces valeurs corrigées permettent l'interprétation des résultats du test.

## Contrôle qualité du test

La précision des résultats du test dépend de la génération d'une courbe étalon précise. Les résultats issus des étalons doivent donc être examinés avant d'interpréter les résultats des échantillons du test.

Pour que la méthode ELISA soit valide :

- La valeur de DO moyenne de l'étalon 1 doit être  $\geq 0,600$ .
- Le %CV des valeurs des réplicats de l'étalon 1 et de l'étalon 2 doit être  $\leq 15$  %.
- Les valeurs de DO des réplicats pour l'étalon 3 et l'étalon 4 ne doivent pas varier de plus de 0,040 unité de densité optique par rapport à leur moyenne.
- Le coefficient de corrélation ( $r$ ) calculé sur la base des valeurs d'absorbance moyennes des étalons doit être  $\geq 0,98$ .
- Si les critères ci-dessus ne sont pas respectés, l'analyse n'est pas valide et doit être répétée.
- La valeur de DO moyenne de l'étalon zéro (diluant vert) doit être  $\leq 0,150$ . Si la valeur de DO moyenne est  $> 0,150$ , la procédure de lavage de plaque doit être étudiée.

Le QFT-Plus Analysis Software calcule et indique ces paramètres de contrôle qualité.

---

Il incombe à chaque laboratoire de déterminer des types adaptés de contrôles ainsi que la fréquence des tests en accord avec les organismes d'agrément locaux, régionaux et nationaux ou autres. Vous devez envisager un contrôle qualité externe et d'autres procédures de validation.

Remarque : Les plasmas contenant de l'IFN- $\gamma$  recombiné ont montré des réductions allant jusqu'à 50 % en concentration une fois conservés entre 2 et 8 °C et à -20 °C. L'IFN- $\gamma$  recombiné n'est pas recommandé pour définir des normes de contrôle.

## Interprétation des résultats

**Important :** Le diagnostic ou l'exclusion de la tuberculose et l'évaluation de la probabilité d'ITL exigent une combinaison de résultats antérieurs, épidémiologiques, médicaux et diagnostiques qui doivent être pris en compte dans l'interprétation des résultats du QFT-Plus. Voir les directives générales sur le diagnostic et le traitement de la TB et de la LTBI sur le site <https://www.cdc.gov/tb/default.htm> dans la section « US Centers for Disease Control and Prevention CDC Guidelines » (Directives des Centres américains de contrôle et de prévention des maladies (CDC)) ci-dessous.

Les résultats du QFT-Plus sont interprétés selon les critères suivants (Tableau 4).

**Tableau 4. Interprétation des résultats du test QFT-Plus**

Valeur Nil (UI/ml)	TB1 moins Valeur Nil (UI/ml)	TB2 moins Valeur Nil (UI/ml)	Mitogen moins Valeur Nil (UI/ml)*	Résultat QFT-Plus	Signalement/Interprétation
≤ 8,0	≥ 0,35 et ≥ 25 % de la valeur Nil	Tous	Tous	Positif†	Infection à <i>M. tuberculosis</i> probable
	Tous	≥ 0,35 et ≥ 25 % de la valeur Nil			
	< 0,35 ou ≥ 0,35 et < 25 % de la valeur Nil	< 0,35 ou ≥ 0,35 et < 25 % de la valeur Nil	≥ 0,50	Négatif	Infection à <i>M. tuberculosis</i> improbable
	< 0,35 ou ≥ 0,35 et < 25 % de la valeur Nil	< 0,35 ou ≥ 0,35 et < 25 % de la valeur Nil	< 0,50	Indéterminé‡	La probabilité d'une infection à <i>M. tuberculosis</i> ne peut être déterminée
> 8,0§	Tous				

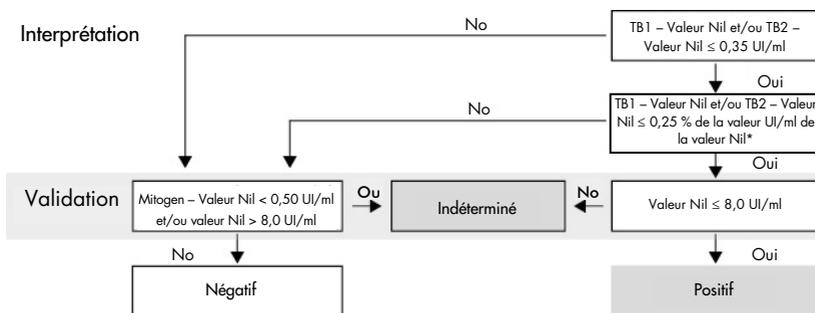
\* Les réponses au contrôle positif Mitogen (et occasionnellement au contrôle antigène TB) peuvent souvent être en dehors de la plage du lecteur de microplaques. Cela n'a aucun impact sur les résultats du test. Les valeurs > 10 UI/ml sont signalées par le logiciel QFT-Plus comme > 10 UI/ml.

† Si l'infection à *M. tuberculosis* n'est pas suspectée, les résultats initialement positifs peuvent être confirmés en testant de nouveau les échantillons de plasma originaux en double avec la méthode QFT-Plus ELISA. Si le test répété d'un ou de plusieurs répliquats est positif, le résultat du test est considéré comme positif.

‡ Voir la section « Guide de dépannage » à la page 58 pour connaître les causes possibles.

§ Dans des études cliniques, moins de 0,25 % des sujets présentaient des taux d'IFN-γ > 8,0 UI/ml pour la valeur Nil.

L'importance du taux d'IFN-γ mesuré ne peut être mis en corrélation avec le stade ou degré de l'infection, le niveau de réponse immunitaire ou la probabilité d'une progression vers la maladie active. Une réponse à la TB positive chez les individus négatifs au Mitogen est rare mais a déjà été observée chez des patients souffrant de TB. Cela indique une réponse d'IFN-γ aux antigènes TB supérieure à la réponse au Mitogen, ce qui est possible puisque le taux de Mitogen ne stimule pas de façon maximale la production d'IFN-γ par les lymphocytes.



**Figure 6. Interprétation du test QFT-Plus.** \*Pour que le résultat de TB1 moins Valeur Nil ou TB2 moins Valeur Nil soit valide, le résultat  $\geq 25\%$  de la valeur UI/ml de la valeur Nil doit provenir du même tube que le résultat  $\geq 0,35$  UI/ml d'origine.

# Limitations

Les résultats du test QFT-Plus doivent être utilisés avec les antécédents épidémiologiques, l'état de santé actuel et d'autres évaluations diagnostiques de chaque individu.

Les individus dont les valeurs Nil sont supérieures à 8 UI/ml sont considérés comme « Indéterminés », car une réponse de plus de 25 % aux antigènes TB peut être hors de la plage de mesure du test.

- La valeur prédictive d'un résultat de test QFT-Plus positif dans le diagnostic d'une infection à *M. tuberculosis* dépend de la probabilité de l'infection, évaluée par les résultats antérieurs, épidémiologiques, diagnostiques et autres.
- Un diagnostic d'ITL implique que la tuberculose soit exclue par un examen médical comprenant une évaluation des tests médicaux et diagnostiques en cours pour la détection de la maladie.
- Il convient d'examiner un résultat négatif au regard des antécédents et des données médicales de l'individu en rapport avec la probabilité d'une infection à *M. tuberculosis* et le risque potentiel d'une progression vers une tuberculose, surtout chez les individus immunodéprimés. Les valeurs prédictives négatives peuvent être basses chez les individus susceptibles d'avoir une infection à *M. tuberculosis* ; elles ne doivent pas être un critère d'exclusion de la maladie.
- Les tubes à prélèvement sanguin réguliers et haute altitude ont été étalonnés pour une utilisation à des altitudes indiquées dans la section « Prélèvement et manipulation des échantillons », à la page 17. L'utilisation de ces tubes en dehors des plages d'altitudes recommandées peut entraîner le prélèvement d'un volume incorrect de sang et donner un diagnostic erroné. Si vous devez utiliser les tubes en dehors des plages d'altitudes spécifiées ou si les tubes ne sont pas remplis jusqu'au repère, il est recommandé de prélever le sang à l'aide d'une seringue, puis de le transférer directement dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes ou de prélever le sang dans un tube contenant du lithium ou de l'héparine sodique, puis de le transférer dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes (voir la section « Prélèvement sanguin dans un tube de prélèvement unique contenant du lithium ou de l'héparine sodique puis transfert dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes », à la page 20.

---

Vous pouvez obtenir des résultats non fiables ou indéterminés pour les raisons suivantes :

- Non-respect de la procédure décrite dans la notice
- Transport/manipulation incorrect(e) du prélèvement de sang
- Taux élevés d'IFN- $\gamma$  en circulation ou présence d'anticorps hétérophiles
- Délai trop long entre le prélèvement du prélèvement de sang et l'incubation :
  - Échantillons de sang prélevés directement dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes conservés plus de 16 heures à température ambiante (17 à 25 °C).
  - Échantillons de sang prélevés dans un tube contenant du lithium ou de l'héparine sodique conservés plus de 12 heures à température ambiante (17–25 °C) avant le transfert dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes.
  - Échantillons de sang prélevés dans un tube contenant du lithium ou de l'héparine sodique en vue d'une réfrigération et conservés en dehors des plages de températures et de temps indiquées dans la procédure Manipulation et conservation réfrigérée des tubes contenant du lithium ou de l'héparine sodique (page 21).

# Caractéristiques de performances

## Études cliniques

Dans la mesure où il n'existe aucun test normalisé parfaitement fiable pour confirmer ou infirmer le diagnostic d'ITL, une estimation de la sensibilité et de la spécificité pour le QFT-Plus est impossible en pratique. La spécificité du QFT-Plus a été estimée en évaluant les taux de faux positifs chez les individus présentant un faible risque (aucun facteur de risque connu) d'infection tuberculeuse. La sensibilité a été estimée en évaluant des groupes de sujets souffrant d'une TB active confirmée en culture. En outre, les performances du test ont été évaluées pour le taux positif et négatif dans une population de sujets sains présentant des facteurs de risque identifiés pour une infection tuberculeuse (population à risques divers).

## Spécificité

Une étude multicentrique évaluant la spécificité clinique du QFT-Plus a été réalisée sur 733 sujets considérés comme étant à faible risque d'infection à *M. tuberculosis* ou sans aucun facteur de risque d'exposition à une infection ou une maladie. Les données démographiques et les facteurs de risque pour l'exposition à la TB ont été déterminés à l'aide d'un questionnaire normalisé au moment du test. L'étude a été menée sur quatre sites indépendants, un aux États-Unis, deux au Japon et un en Australie. Le test QFT-Plus a été comparé au test QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT). Un résumé des caractéristiques de performances de la spécificité clinique, classées par site et région d'étude, est présenté dans le Tableau 5. Les résultats de performances sont basés sur le nombre total de tests valides. Il n'y a eu aucun résultat indéterminé.

**Tableau 5. Interprétation des résultats du test QFT-Plus**

Site	N	Positif		Négatif		Indéterminé		Spécificité (IC 95 %)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
<b>États-Unis</b>									
(N° 1) É.U-4	212	2	4	210	208	0	0	99,06 % (210/212) (96,63-99,74)	98,11 % (208/212) (95,25-99,26)
<b>Japon</b>									
(N° 2) JPN-3	106	1	2	105	104	0	0	99,06 % (105/106) (94,85-99,83)	98,11 % (104/106) (93,38-99,48)
(N° 3) JPN-1	216	3	5	213	211	0	0	98,61 % (213/216) (96,00-99,53)	97,69 % (211/216) (94,70-99,01)
Total Japon	322	4	7	318	315	0	0	98,76 % (318/322) (96,85-99,52)	97,83 % (315/322) (95,6- 98,9)
<b>Australie</b>									
(N° 4) AU-3	199	8	9	191	190	0	0	95,98 % (191/199) (92,27-97,95)	95,48 % (190/199) (91,63-97,60)

La spécificité du QFT-Plus aux États-Unis était de 98,11 %, de 97,83 % au Japon et de 95,48 % en Australie. La spécificité globale du QFT-Plus était de 97,27 % (713/733). La spécificité du QFT aux États-Unis était de 99,06 %, de 98,76 % au Japon et de 95,98 % en Australie. La spécificité globale du QFT était de 98,09 % (719/733).

Une analyse des résultats par type de tube antigène TB et combinaisons de ceux-ci est présentée pour donner un exemple des résultats prévus au sein d'une population à faible risque (Tableau 6).

**Tableau 6. Résultats d'une étude de spécificité QFT-Plus par tube antigène TB**

<b>Interprétation basée sur Antigène TB-Valeur Nil</b>				
<b>UI/ml dans</b>	<b>TB1</b>	<b>TB2</b>	<b>QFT-Plus (positif par TB1 et/ou TB2)*</b>	<b>Positif concordant TB1 et TB2 (analyse alternative)†</b>
Positif	10	18	20	8
Négatif	723	715	713	725
Indéterminé	0	0	0	0
Spécificité (IC 95 %)	-	-	97,3 % (713/733) (95,8-98,2)	-
Taux de négativité (IC 95 %)	98,6 % (723/733) (97,5-99,3)	97,5 % (715/733) (96,2-98,4)	-	98,9 % (725/733) (97,9-99,5)

\* Interprétation basée sur une valeur antigène TB – valeur Nil  $\geq 0,35$  UI/ml dans les deux tubes (TB1 et TB2) ou l'un des tubes TB pour correspondre aux critères d'interprétation du QFT-Plus (TB1 ou TB2) qui doit être déterminé positif.

† Analyse alternative fournie à titre informatif uniquement.

Chez les sujets à faible risque d'infection TB, un total de 20/733 sujets sont revenus à un résultat positif. Parmi eux, 8 sujets seulement sont revenus à une valeur  $> 0,35$  UI/ml dans les tubes TB1 et TB2. Une comparaison des tests QFT par rapport aux tests QFT-Plus a été réalisée sur une cohorte à faible risque, elle a démontré une concordance globale de 97,5 % (715/733) et une concordance négative de 98,3 % (707/719).

---

## Sensibilité

Même s'il n'existe pas de test normalisé parfaitement fiable pour l'ITL, la culture microbiologique de *M. tuberculosis* est une alternative convenable car l'infection TB est un précurseur logique à la maladie.

Une étude multicentrique évaluant la sensibilité clinique du QFT-Plus a été réalisée sur 434 sujets qui présentaient des signes et symptômes d'infection à *M. tuberculosis* active confirmée en culture et/ou la PCR (polymerase chain reaction, amplification en chaîne par polymérase) et n'étaient pas sous traitement anti-TB ou étaient à  $\leq 14$  jours de traitement avant le prélèvement sanguin. L'étude a été menée sur 7 sites indépendants, trois aux États-Unis, trois au Japon et un en Australie. Le test QFT-Plus a été comparé au test QuantiFERON-TB Gold in Tube (QFT). Un résumé des caractéristiques de performances de la sensibilité clinique, classées par site et région d'étude, est présenté dans le Tableau 7. Les résultats de performances sont basés sur le nombre total de tests valides. La fréquence des résultats indéterminés pour le QFT et le QFT-Plus était respectivement de 2,3 % (10/434) et 2,5 % (11/434).

**Tableau 7. Résumé des caractéristiques de performances de la sensibilité clinique classées par site et globales**

Site	N	Positif		Négatif		Indéterminé		Sensibilité (n/N) (IC 95 %)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
<b>États-Unis</b>									
(N° 1) É.U-5	15	13	13	2	2	0	0	86,67 % (13/15) (62,12-96,26)	86,67 % (13/15) (62,12-96,26)
(N° 2) É.U-1	33	29	29	4	4	0	0	87,88 % (29/33) (72,67-95,18)	87,88 % (29/33) (72,67-95,18)
(N° 3) É.U-4	5	5	5	0	0	0	0	100,0 % (5/5) (56,55-100,0)	100,0 % (5/5) (56,55-100,0)
Total États- Unis	53	47	47	6	6	0	0	88,7 % (47/53) (77,4-94,7)	88,7 % (47/53) (77,4-94,7)
<b>Japon</b>									
(N° 4) JPN-2	76	72	67	1	3	3	6	98,63 % (72/73) (92,64-99,76)	95,71 % (67/70) (88,14-98,53)
(N° 5) JPN-3	99	97	98	2	1	0	0	97,98 % (97/99) (92,93-99,44)	98,99 % (98/99) (94,50-99,82)
(N° 6) JPN-1	177	159	157	12	15	6	5	92,98 % (159/171) (88,14-95,94)	91,28 % (157/172) (86,11-94,64)
Total Japon	352	328	322	15	19	9	11	95,63 % (328/343) (92,91-97,33)	94,43 % (322/341) (91,5- 96,4)
<b>Australie</b>									
(N° 7) AU-2	29	27	29	1	0	1	0	96,43 % (27/28) (82,29-99,37)	100,0 % (29/29) (88,30-100,0)

L'analyse dans le tableau ci-dessus n'inclut pas les résultats indéterminés.

La sensibilité du QFT-Plus aux États-Unis était de 88,7 %, de 94,43 % au Japon et de 100,0 % en Australie. La sensibilité globale du QFT-Plus était de 94,09 % (398/423). La sensibilité du QFT aux États-Unis était de 88,7 %, de 95,63 % au Japon et de 96,43 % en Australie. La sensibilité globale du QFT était de 94,81 % (402/424).

Une analyse des résultats par type de tube antigène TB et combinaisons de tubes est présentée pour donner un exemple des résultats prévus au sein d'une population avec une infection TB confirmée (Tableau 8).

**Tableau 8. Résultats d'une étude de sensibilité QFT-Plus par tube antigène TB**

<b>Interprétation basée sur Antigène TB-Valeur Nil UI/ml dans</b>	<b>TB1</b>	<b>TB2</b>	<b>QFT-Plus (positif par TB1 et/ou TB2)</b>
Positif	388	397	398
Négatif	32	26	25
Indéterminé	14	11	11
Sensibilité* (IC 95 %)	–	–	94 % (398/423) (91,4-96,0)
Taux de positivité* (IC 95 %)	92,4 % (388/420) (89,4-94,6)	93,9 % (397/423) (91,1-95,8)	–

\* Hors valeurs indéterminées.

Une comparaison des tests QFT par rapport aux tests QFT-Plus a été réalisée sur une cohorte avec TB active confirmée en culture (cohorte d'une étude de sensibilité), elle a démontré une concordance globale de 95,9 % et une concordance positive de 97,3 % (391/402).

---

## Performances chez les sujets à risque identifié d'infection à MTB (population à risques divers)

Une cohorte de 601 individus à risques divers d'infection TB (p. ex. VIH positif, antécédents de traitement pour une TB active ou latente, contact avec des individus souffrant d'une TB active, personnel soignant, etc.) a été évaluée avec les tests QFT et QFT-Plus. Les facteurs de risque ont été identifiés grâce à une étude normalisée et les individus ne montraient aucun symptôme associé à une TB active au moment du recrutement. Les données démographiques et les facteurs de risque sont affichés dans le Tableau 9. Dans cette population, 68/601 sujets (11,3 %) ont obtenu un résultat positif au QFT-Plus, avec une concordance positive (positive percent agreement, PPA) et une concordance négative (negative percent agreement, NPA) de 98,44 % et 99,07 %, respectivement (Tableau 10). Dans cette cohorte de 68 sujets positifs au QFT-Plus, 62 sujets au total étaient positifs avec les tubes TB1 et TB2, 2 étaient positifs avec le TB1 seulement et 4 étaient positifs avec le TB2 seulement. Aucun résultat indéterminé (0/601) n'a été observé.

**Tableau 9. Données démographiques et facteurs associés au risque d'infection TB dans une cohorte à risques divers**

Total des sujets (601)		Nombre	Pourcentage
Genre	Homme	539	89,7 %
	Femme	62	10,3 %
Âge (ans)	Plage	18-70	–
	Moyenne	46,7	
Vacciné au BCG	Oui	15	2,5 %
	Non	586	97,5 %
Positif au VIH ou testé positif aux virus HTLV	Oui	12	2,0 %
	Non	589	98 %
Diagnostic antérieur de TB active	Oui	11	1,8 %
	Non	590	98,2 %
Intradermoréaction à la tuberculine (IDR)/Test de Mantoux positif pour la TB	Oui	47	7,8 %
	Non	554	92,2 %
Traitement antérieur pour une TB active ou latente	Oui	35	5,8 %
	Non	566	94,2 %
Séjour, travail ou bénévolat (> 1 mois) en prison	Oui	373	62,1 %
	Non	228	37,9 %
Séjour, travail ou bénévolat (> 1 mois) en centre pour sans-abri	Oui	525	87,4 %
	Non	76	12,6 %
Personnel soignant	Oui	8	1,3 %
	Non	593	98,7 %
Contact rapproché avec un individu ayant ou pouvant avoir une TB active	Oui	9	1,5 %
	Non	592	98,5 %

**Tableau 10. Résumé des performances du QFT-Plus comparativement au QFT chez les sujets à risque connu d'infection TB latente**

		QFT		Total
		Positif (+)	Négatif (-)	
QFT-Plus	Positif (+)	63	5*	68
	Négatif (-)	1*	532	533
	<b>Total</b>	64	537	601

\*Les 6 échantillons discordants affichaient des taux d'IFN- $\gamma$  des tubes antigènes TB proches du seuil du test.

La concordance positive (PPA) et la concordance négative (NPA) entre les résultats du QFT et du QFT-Plus étaient les suivantes :

- PPA : 98,44 % (63/64), IC 95 % (91,67, 99,72)
- NPA : 99,07 % (532/537), IC 95 % (97,84, 99,60)

Le Tableau 11 ci-dessous montre les performances du QFT-Plus comparées à celles du test QFT chez des sujets vaccinés au BCG.

**Tableau 11. Performances du QFT-Plus comparées à celles du test QFT chez des sujets vaccinés au BCG (données combinées des sujets d'étude pour la sensibilité, spécificité et ITL)**

		QFT		Total
		Positif (+)	Négatif (-)	
QFT-Plus	Positif (+)	66	5	71
	Négatif (-)	3	268	271
	<b>Total</b>	69	273	342*

\*Deux sujets de l'étude de sensibilité ont été exclus de l'analyse pour cause de résultats indéterminés.

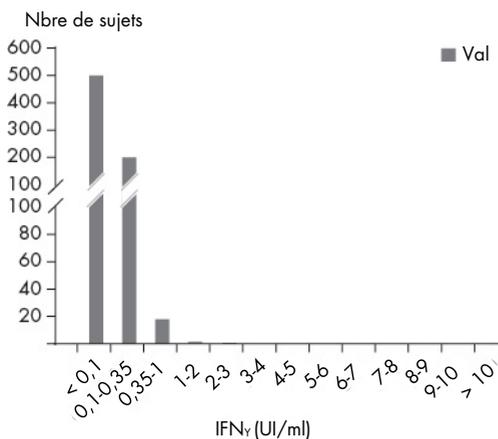
- PPA = 95,6 % (66/69), IC 95 % (87,98, 98,51)
- NPA = 98,2 % (268/273), IC 95 % (95,79, 99,22)

# Valeurs attendues

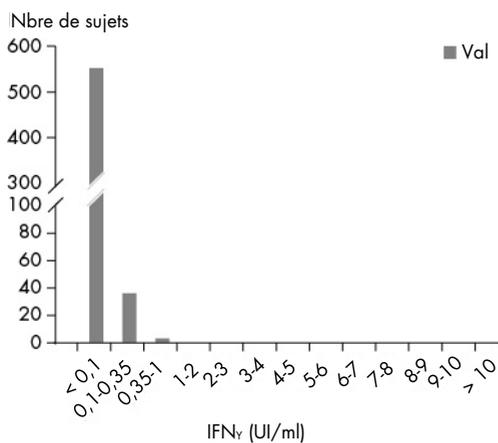
## Répartition des réponses observées — Classement des risques

Des réponses d'IFN- $\gamma$  aux tubes TB1, TB2 et de contrôle ont été obtenues dans des essais cliniques et classées par risque d'infection à *M. tuberculosis* (Figure 7 à Figure 10). Le groupe à risques divers comprend des sujets représentatifs d'une population générale, y compris des sujets avec et sans risques d'exposition à la TB et pour lesquels une TB active est peu probable (autrement dit une ITL).

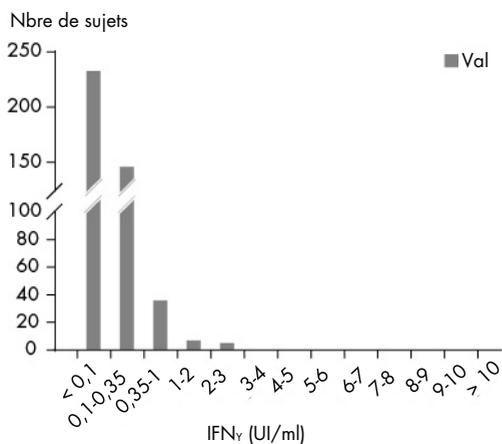
A



B

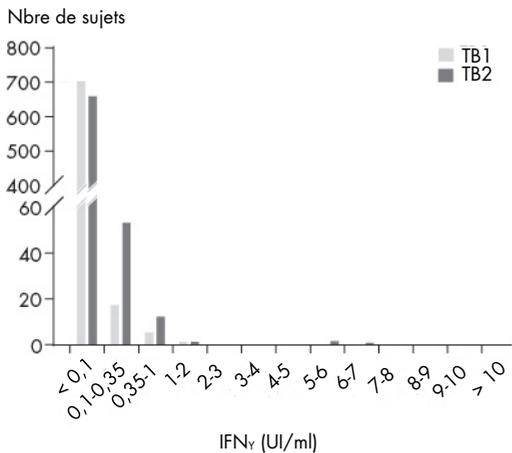


C

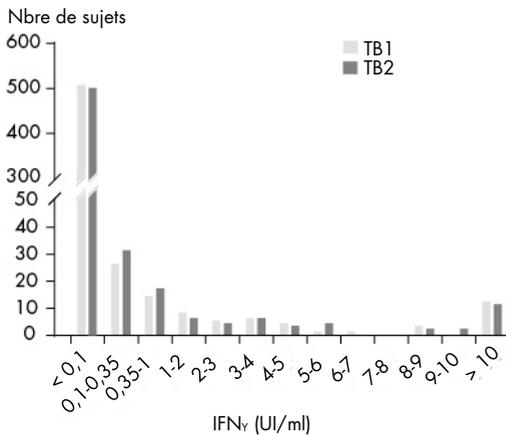


**Figure 7. Répartition de la valeur Nil.** **A** Répartition des valeurs Nil dans une population à faible risque (n = 744). **B** Répartition des valeurs Nil dans une population à risques divers (n = 601). **C** Répartition des valeurs Nil dans une population présentant une infection à *M. tuberculosis* confirmée en culture (n = 416).

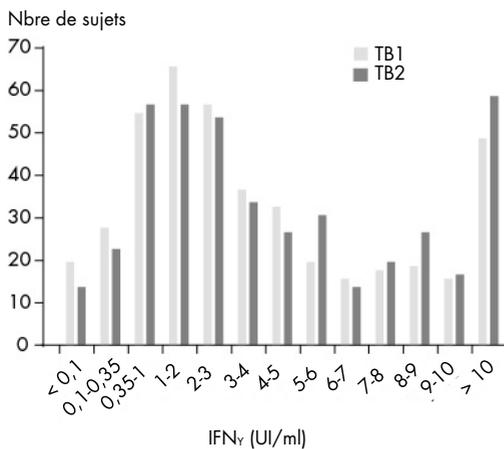
A



B

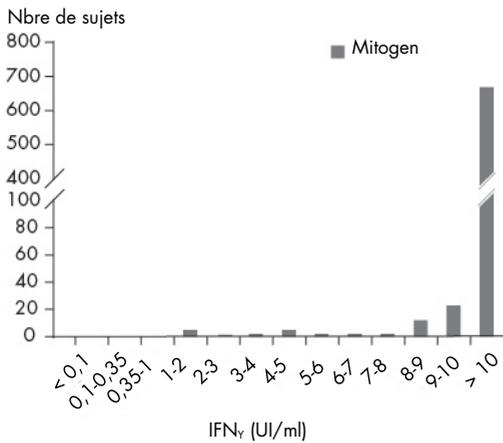


C

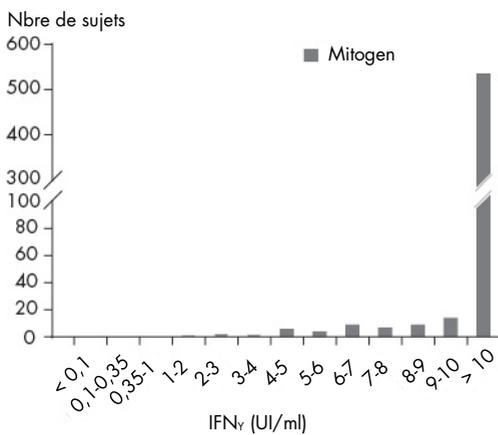


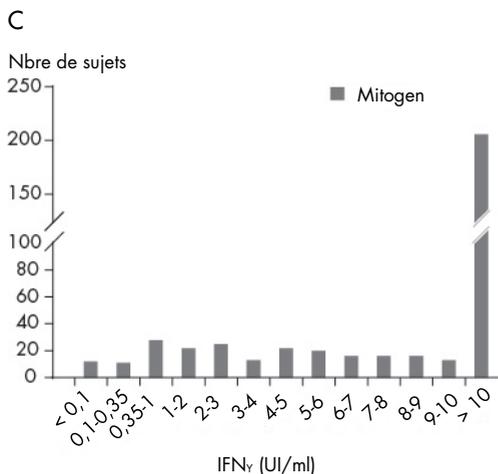
**Figure 8. Répartition de TB1 et TB2 (valeur Nil soustraite).** **A** Répartition des valeurs de TB1 et TB2 (valeur Nil soustraite) dans une population à faible risque (n = 744). **B** Répartition des valeurs de TB1 et TB2 (valeur Nil soustraite) dans une population à risques divers (n = 601). **C** Répartition des valeurs de TB1 et TB2 (valeur Nil soustraite) dans une population présentant une infection à *M. tuberculosis* confirmée en culture (n = 416).

A

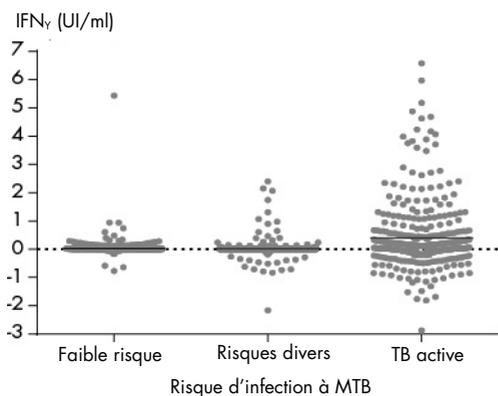


B





**Figure 9. Répartition du Mitogen (valeur Nil soustraite).** A Répartition des valeurs du Mitogen (valeur Nil soustraite) dans une population à faible risque (n = 744). B Répartition des valeurs du Mitogen (valeur Nil soustraite) dans une population à risques divers (n = 601). C Répartition des valeurs du Mitogen (valeur Nil soustraite) dans une population présentant une infection à *M. tuberculosis* confirmée en culture (n = 415).



**Figure 10. Différence observée entre les valeurs de TB1 et TB2 (valeur Nil soustraite), classée par risque.** Inclut les données issues de l'étude de cohorte à risques divers pour montrer les différences entre les cohortes à faible risque, à risque de TB active et à risques divers. Cette analyse des données intègre une cohorte à risques divers avec facteurs de risque connus. Ainsi, dans la cohorte à faible risque n = 733, dans la cohorte à risques divers n = 588 et dans la cohorte à risque de TB active n = 357. La différence quantitative en UI/ml pour chaque sujet a été obtenue en soustrayant la valeur de TB1 de la valeur de TB2.

## Caractéristiques des performances du test

Une étude a évalué la linéarité de la méthode QFT ELISA à l'aide d'une courbe étalon à 4 points. Deux panels comptant chacun 11 échantillons de plasma préparés ont été testés. Les échantillons étaient préparés avec des échantillons de plasma négatifs additionnés de 10 UI/ml de plasma concentré en IFN- $\gamma$  (groupe supérieur) ou de 1,5 UI/ml de plasma concentré en IFN- $\gamma$  (groupe inférieur) dans une série de dilutions.

Une analyse de régression linéaire pondérée de la moyenne calculée sur les réplicats par rapport aux valeurs attendues (d'après le facteur de dilution) a été réalisée pour les groupes supérieur et inférieur.

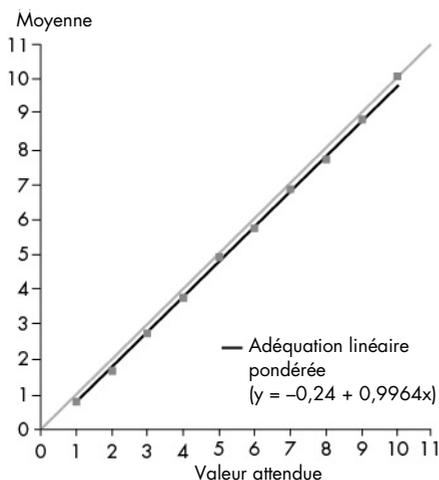
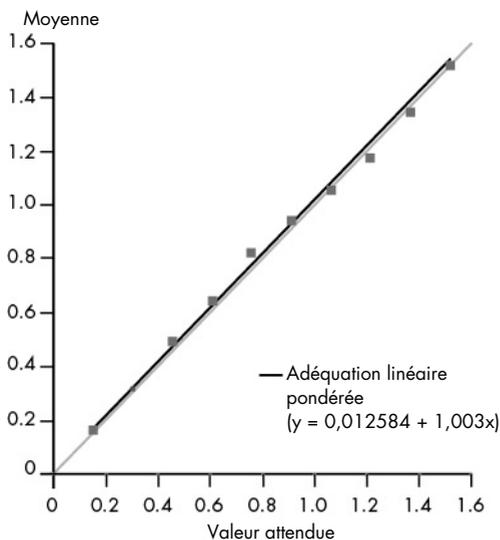


Figure 11. Illustration de l'analyse de régression linéaire – Moyenne groupe supérieur =  $-0,24 + 0,9964 \cdot \text{Valeur attendue}$ .

L'analyse des échantillons du groupe supérieur a révélé une linéarité sur la plage de 0,79 UI/ml à 10 UI/ml avec un écart de la linéarité  $\leq 6,1$  %.



**Figure 12. Illustration de l'analyse de régression linéaire – Moyenne groupe inférieur =  $0,016 + 1,003 \cdot \text{Valeur attendue}$**

L'analyse des échantillons du groupe inférieur a révélé une linéarité sur la plage de 0,17 UI/ml à 1,52 UI/ml avec un écart de la linéarité  $\leq 6,2 \%$ .

Les données de l'étude combinées ont révélé une linéarité sur la plage de 0,17 UI/ml à 10 UI/ml avec un écart  $\leq 6,2 \%$ . L'écart de la linéarité observé avec la courbe étalon à 4 points était inférieur à 7 %.

Une étude multicentrique de reproductibilité a été réalisée pour évaluer les performances du QFT-Plus sur les sites d'étude avec plusieurs opérateurs. Il s'agissait d'une étude prospective menée sur trois sites de test extérieurs et un site de prélèvement. Au total, 32 sujets positifs et 34 sujets négatifs (déterminés par le test QFT actuellement sur le marché) ont été intégrés. Les sujets d'étude étaient des membres du personnel soignant aux États-Unis. Les sujets représentaient un groupe à risques divers d'exposition à la TB compte tenu de leur activité ou parce qu'ils étaient nés dans une région où le taux de TB dépasse 50/100 000.

Trois tubes à prélèvement sanguin contenant de l'héparine de lithium ont été remplis auprès de chaque sujet sur le site de prélèvement. Les tubes à prélèvement sanguin contenant de l'héparine de lithium ont ensuite été transférés dans chacun des trois sites de test où ils ont été aliquotés en deux séries de QFT-Plus Blood Collection Tubes (QFT-Plus TB1, TB2, Mitogen et Nil) puis testés selon la procédure QFT-Plus. Sur chaque site, au moins deux opérateurs ont effectué indépendamment les deux tests par sujet d'étude. Chaque opérateur ignorait les résultats obtenus par l'autre opérateur ainsi que le résultat du test QFT du sujet d'étude.

Six résultats ont été générés sur les trois sites de test pour chacun des 66 sujets d'étude, donnant au total 396 points de données. Un résumé des résultats de l'étude de reproductibilité est présenté dans le Tableau 12.

**Tableau 12. Résumé des résultats de l'étude de reproductibilité – % de concordance des résultats qualitatifs par site entre les opérateurs ; N = 66 échantillons patient**

Site 1 – 2 opérateurs	Site 2 – 2 opérateurs	Site 3 – 3 opérateurs
64/66 = 96,97 %	64/66 = 96,97 %	59/66 = 89,39%
Concordance des résultats qualitatifs des ensembles de tubes 1 et 2	Concordance des résultats qualitatifs des ensembles de tubes 1 et 2	Concordance des résultats qualitatifs des ensembles de tubes 1 et 2

Le pourcentage de concordance des résultats qualitatifs sur tous les sites d'étude est de 94,7 % (375/396). Dans ce calcul, le nombre total de résultats de test en concordance (375) inclut les cas combinés de concordance des 6 résultats, de concordance de 5 résultats sur 6, de concordance de 4 résultats sur 6 et de concordance de 3 résultats sur 6.

---

# Renseignements techniques

## Résultats indéterminés

Les résultats indéterminés sont exceptionnels et peuvent être liés au statut immunologique de l'individu testé (5), il peuvent aussi être liés à un certain nombre de facteurs techniques (p. ex. une manipulation/conservation inadaptée des tubes à prélèvement sanguin, un lavage de la plaque ELISA incomplet) si le mode d'emploi ci-dessus n'est pas respecté.

Si vous suspectez des problèmes techniques liés à la conservation des réactifs, au prélèvement sanguin ou à la manipulation des échantillons de sang, répétez l'ensemble du test QFT-Plus avec de nouveaux prélèvements de sang. Vous pouvez répéter le test ELISA de plasmas stimulés si vous suspectez un lavage incorrect ou un autre type de non-respect de la procédure de test ELISA. Les médecins peuvent choisir de prélever un nouveau prélèvement ou de suivre d'autres procédures à leur convenance.

## Échantillons de plasma coagulé

Si des caillots de fibrine apparaissent avec la conservation de longue durée des échantillons de plasma, centrifugez les échantillons pour sédimenter la matière coagulée et faciliter le pipetage du plasma.

## Échantillons de plasma lipémique

Procédez avec soin en pipettant des échantillons lipémiques, les dépôts de lipides peuvent obstruer les embouts de pipettes.

# Guide de dépannage

Ce guide de dépannage peut vous aider à résoudre les problèmes qui pourraient se poser. Pour plus de renseignements, consultez également les renseignements techniques fournis sur [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com). Pour les coordonnées, consultez la couverture arrière.

## Commentaires et suggestions

---

### Dépannage ELISA

#### Développement de couleur non spécifique

- |  |  |
|--|--|
| a) Lavage incomplet de la plaque   | Lavez la plaque au moins 6 fois avec 400 µl/puits de tampon de lavage. Plus de 6 cycles de lavage peuvent être nécessaires selon le laveur utilisé. Un trempage d'au moins 5 secondes entre chaque cycle doit être respecté. |
| b) Contamination croisée des puits ELISA   | Veillez à limiter les risques lors du pipetage et du mélange des échantillons.   |
| c) Trousse/composants périmés  | Assurez-vous que la trousse est utilisée avant la date de péremption. Veillez à utiliser l'étalon reconstitué et le conjugué concentré 100x dans les trois mois suivant la date de reconstitution.                           |
| d) Solution de substrat enzymatique contaminée                                     | Éliminez le substrat en cas de coloration bleue. Veillez à utiliser des réservoirs à réactif propres.  |
| e) Mélange du plasma dans les QFT-Plus Blood Collection Tubes avant le prélèvement | Après la centrifugation, évitez le pipetage répété ou le mélange du plasma avant le prélèvement. Veillez à tout moment à ne pas agiter la substance à la surface du gel.   |

#### Lectures de faible densité optique pour les étalons

- |   |   |
|---|---|
| a) Erreur de dilution de l'étalon       | Assurez-vous que les dilutions de l'étalon de la trousse sont correctement préparées conformément à la présente notice.   |
| b) Erreur de pipetage                   | Assurez-vous que les pipettes sont étalonnées et utilisées conformément aux consignes du fabricant.   |
| c) Température d'incubation trop faible | L'incubation d'ELISA doit être effectuée à température ambiante ( $22\text{ °C} \pm 5\text{ °C}$ ).   |
| d) Période d'incubation trop courte     | L'incubation de la plaque avec le conjugué, les étalons et les échantillons doit durer $120 \pm 5$ minutes. La solution de substrat enzymatique doit être incubée sur la plaque pendant 30 minutes. |

### Commentaires et suggestions

- |  |  |
|--|--|
| e) Utilisation d'un filtre de lecteur de plaques incorrect | La plaque doit être lue à 450 nm avec un filtre de référence de 620 à 650 nm.  |
| f) Réactifs trop froids                                    | Tous les réactifs, excepté le conjugué concentré 100x, doivent être ramenés à température ambiante avant le début du test. Cela prend environ 1 heure.   |
| g) Trousse/composants périmés                              | Assurez-vous que la trousse est utilisée avant la date de péremption. Veillez à utiliser l'étalon reconstitué et le conjugué concentré 100x dans les 3 mois suivant la date de reconstitution. |

### Fond important

- |  |  |
|--|--|
| a) Lavage incomplet de la plaque               | Lavez la plaque au moins 6 fois avec 400 µl/puits de tampon de lavage. Plus de 6 cycles de lavage peuvent être nécessaires. Un trempage d'au moins 5 secondes entre chaque cycle doit être respecté. |
| b) Température d'incubation trop élevée        | L'incubation d'ELISA doit être effectuée à température ambiante (22 °C ± 5 °C).  |
| c) Trousse/composants périmés                  | Assurez-vous que la trousse est utilisée avant la date de péremption. Veillez à utiliser l'étalon reconstitué et le conjugué concentré 100x dans les trois mois suivant la date de reconstitution.   |
| d) Solution de substrat enzymatique contaminée | Éliminez le substrat en cas de coloration bleue. Veillez à utiliser des réservoirs à réactif propres.  |

### Courbe étalon non linéaire et variabilité des doubles

- |   |  |
|---|--|
| a) Lavage incomplet de la plaque  | Lavez la plaque au moins 6 fois avec 400 µl/puits de tampon de lavage. Plus de 6 cycles de lavage peuvent être nécessaires. Un trempage d'au moins 5 secondes entre chaque cycle doit être respecté. |
| b) Erreur de dilution de l'étalon   | Assurez-vous que les dilutions de l'étalon sont correctement préparées conformément à la présente notice.  |
| c) Mélange insuffisant  | Mélangez soigneusement les réactifs en les retournant ou en les vortexant doucement avant de les ajouter à la plaque.  |
| d) Technique de pipetage incohérente ou interruption pendant la mise en place du test | L'ajout des échantillons et des étalons doit s'effectuer de manière continue. Tous les réactifs doivent être préparés avant le début du test.  |

---

## Directives des Centres américains de contrôle et de prévention des maladies (CDC)

Les tests de diagnostic de *Mycobacterium tuberculosis* utilisant les dosages de détection de la production d'interféron gamma doivent suivre les directives publiées applicables, y compris lors de tests dans des populations telles que les enfants, les femmes enceintes et les personnes infectées par le VIH ou autrement immunodéprimées. (Voir également les AVERTISSEMENTS et PRÉCAUTIONS ci-dessus concernant l'utilisation en cas de comorbidité affectant la fonction immunitaire.) Liens vers la version la plus récente du document American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America/Centers for Disease Control and Prevention Clinical Practice Guidelines: Diagnosis of Tuberculosis in Adults and Children, ainsi qu'à d'autres informations concernant les tests de diagnostic de la tuberculose, sont disponibles à l'adresse <https://www.cdc.gov/tb/publications/guidelines/testing.htm>.

# Références

Une liste complète de références QFT se trouve dans la bibliothèque de références QuantiFERON, disponible sous : [www.gnowee.net](http://www.gnowee.net).

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.
8. Detjen, A.K. et al. (2007) Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis. *Clin. Infect. Dis.* 45, 322.

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

18. Katiyar, S. K. et al. (2008) Use of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test to monitor treatment efficacy in active pulmonary tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 12, 1146.
19. Kipfer, B. et al. (2008) Tuberculosis in a Swiss army training camp: contact investigation using an Interferon gamma release assay. *Swiss Med. Wkly.* 138, 267.
20. Luetkemeyer, A. et al. (2007) Comparison of an interferon-gamma release assay with tuberculin skin testing in HIV-infected individuals. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 175, 737.
21. Mackensen, F. et al. (2008) QuantiFERON-TB Gold – a new test strengthening long-suspected tuberculous involvement in serpiginous-like choroiditis. *Am. J. Ophthalmol.* 146, 761.
22. Manuel, O. et al. (2007) Comparison of QuantiFERON-TB Gold with tuberculin skin test for detecting latent tuberculosis infection prior to liver transplantation. *Am. J. Transplant.* 7, 2797.
23. Matulis, G. et al. (2007) Detection of latent tuberculosis in immunosuppressed patients with autoimmune diseases performance of a Mycobacterium tuberculosis antigen specific IFN-gamma assay. *Ann. Rheum. Dis.* 67, 84.
24. Mirtskhulava, V. et al. (2008) Prevalence and risk factors for latent tuberculosis infection among health care workers in Georgia. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 12, 513.
25. Nakaoka, H. et al. (2006) Risk for tuberculosis among children. *Emerg. 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., 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<sup>+</sup> T cells in vitro. *Immunology* 87, 339.
34. Brookes, R.H. et al. (2003) CD8<sup>+</sup> 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. Barcellini, L. et al. (2016) First independent evaluation of QuantiFERON-TB Plus performance. *Eur. Respir. J.* 47, 1587.
40. 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.
41. 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.
42. 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.
43. Chicchio, T. et al. (2014) Polyfunctional T-cells and effector memory phenotype are associated with active TB in HIV-infected patients. *J. Infect.* 69, 533.

44. Ongaya, A. et al. (2013) *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD8+ T cell recall in convalescing TB subjects with HIV co-infection. *Tuberculosis* 93, S60.
45. 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.
46. Mazurek, G.H., et al.; IGRA Expert Committee; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2010) Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection – United States, 2010. *MMWR Recomm. Rep.* 59, 1.
47. Chiappini, E. et al. (2014). Interferon-gamma release assay sensitivity in children younger than 5 years is insufficient to replace the use of tuberculin skin test in western countries. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 33(12), 1291–1293.
48. Garazzino, S. et al. (2014). Performance of interferon- $\gamma$  release assay for the diagnosis of active or latent tuberculosis in children in the first 2 years of age: a multicenter study of the Italian Society of Pediatric Infectious Diseases. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 33(9).
49. Rose, W. et al. (2014). Quantiferon gold-in-tube assay for TB screening in HIV infected children: Influence of Quantitative Values. *BMC Infectious Diseases*, 14:516.
50. Pavić, I. et al. (2015). Discordance between tuberculin skin test and interferon- $\gamma$  release assay in children younger than 5 years who have been vaccinated with bacillus calmette-guérin. *Laboratory Medicine*, 46(3), 200–206.
51. 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. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 34(1), 35–39.

- 
52. Rose, W. et al. (2014). Relating tuberculosis (TB) contact characteristics to quantiferon-tb-gold and tuberculin skin test results in the Toronto Pediatric TB Clinic. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 4(2), 96–103.
  53. Grinsdale, J. A. et al. (2014). Interferon-gamma release assays and pediatric public health tuberculosis screening: The San Francisco Program Experience 2005 to 2008. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 5(2), 122–130.
  54. Guðjónsdóttir, M. J. et al. (2016). Relation between BCG vaccine scar and an interferon-gamma release assay in immigrant children with “positive” tuberculin skin test ( $\geq 10$  mm). *BMC Infectious Diseases*, 16(1):540.
  55. Nejat, S. & Bennet, R. (2016). Interferon-gamma release assays can effectively screen migrants for the tuberculosis infection, but urgent, active cases need clinical recognition. *Acta Paediatrica*, 105(6), 671–675.
  56. Dehority, W. et al. (2017). Comparison of the Quantiferon TB gold in-tube assay with tuberculin skin test for the diagnosis of latent tuberculosis infection among HIV-infected and uninfected children. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 36(12): e317-e321.
  57. Marino, A. et al. (2017). Prebiologic therapy tuberculosis screening experience in a pediatric rheumatology center: TST and IGRA are both necessary. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 36(4), 440–441.
  58. Petrucci, R. et al. (2017). Quantiferon-TB gold in-tube improves tuberculosis diagnosis in children. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 36(1), 44–49.
  59. Hormi, M. et al. (2018). Performance of the quantiferon-TB gold assay among HIV-infected children with active tuberculosis in France. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 37(4), 339–344.

- 
60. Kay, A. W. et al. (2018). Interferon- $\gamma$  release assay performance for tuberculosis in childhood. *Pediatrics*, 141(6):e20173918.
  61. Stout, J.E. et al. (2018). Tuberculosis Epidemiologic Studies Consortium. Evaluating latent tuberculosis infection diagnostics using latent class analysis. *Thorax*, 73(11):1062-1070.
  62. Chiappini, E. et al. (2019). QuantiFERON-TB Gold In-Tube test performance in a large pediatric population investigated for suspected tuberculosis infection. *Paediatr Respir Rev*. 32:36-47.
  63. Debulpaep, S. et al. (2019). Contribution of QuantiFERON-TB Gold-in-Tube to the Diagnosis of Mycobacterium tuberculosis Infection in Young Children in a Low TB Prevalence Country. *Front Pediatr*. 18;7:291.
  64. Lombardi, G. et al. (2019). QuantiFERON-TB Performs Better in Children, Including Infants, than in Adults with Active Tuberculosis: a Multicenter Study. *J Clin Microbiol*. 24;57(10):e01048-19.
  65. Mastrolia, M.V. et al. (2019). Utility of tuberculin skin test and IGRA for tuberculosis screening in internationally adopted children: Retrospective analysis from a single center in Florence, Italy. *Travel Med Infect Dis*. 28:64-67.
  66. Venkatappa, T.K. et al. (2019). Comparing QuantiFERON-TB Gold Plus with Other Tests To Diagnose Mycobacterium tuberculosis Infection. *J Clin Microbiol*. 23;57(11):e00985-19.
  67. Ahmed, A. et al. (2020). Tuberculosis Epidemiologic Studies Consortium. Interferon- $\gamma$  Release Assays in Children <15 Years of Age. *Pediatrics*. 145(1):e20191930.

- 
68. Velasco-Arnaiz, E. et al. (2020). Impact of Baseline Tuberculin Skin Test and Isoniazid Chemoprophylaxis on Subsequent Quantiferon-TB Gold In-Tube Performance in Young Children Assessed After Tuberculosis Contact in Catalonia. *Pediatr Infect Dis J.* 39(2):e22-e25.
  69. Buonsenso, D. et al. (2020). Accuracy of QuantiFERON-TB Gold Plus Test for Diagnosis of Mycobacterium tuberculosis Infection in Children. *J Clin Microbiol.* 26;58(6):e00272-20.
  70. Quintana-Ortega, C. et al. (2020). False-positive Results of QuantiFERON-Tb-Gold Assay in Children. *Pediatr Infect Dis J.* 39(7):620-623.
  71. Worjolah, A. et al. (2011). Interferon gamma release assay compared with the tuberculin skin test for latent tuberculosis detection in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 118(6):1363-70.
  72. Lighter-Fisher, J. & Surette, A.M. (2012). Performance of an interferon-gamma release assay to diagnose latent tuberculosis infection during pregnancy. *Obstet Gynecol.* 119(6):1088-95.
  73. Aichelburg, MC. et al. (2014). Reversion and conversion of interferon- $\gamma$  release assay results in HIV-1-infected individuals. *J Infect Dis.* 209(5):729-33.
  74. Aichelburg, MC. et al. (2014). The association of smoking with IGRA and TST results in HIV-1-infected subjects. *Int J Tuberc Lung Dis.* 18(6):709-16.
  75. Pullar, ND. et al. (2014). Low prevalence of positive interferon-gamma tests in HIV-positive long-term immigrants in Norway. *Int J Tuberc Lung Dis.* 18(2):180-7.
  76. Pullar, ND. et al. (2014). HIV patients with latent tuberculosis living in a low-endemic country do not develop active disease during a 2 year follow-up; a Norwegian prospective multicenter study. *BMC Infect Dis.* 14:667.

- 
77. Sauzullo, I. et al. (2014). Interferon- $\gamma$  release assay in HIV-infected patients with active tuberculosis: impact of antituberculous drugs on host immune response. *New Microbiol.* 37(2):153-61.
  78. Sester, M. et al. (2014). Risk assessment of tuberculosis in immunocompromised patients. A TBNET study. *Am J Respir Crit Care Med.* 190(10):1168-76.
  79. Bourgarit, A. et al. (2015). IGRAVIH Study Group. Latent Tuberculosis Infection Screening and 2-Year Outcome in Antiretroviral-Naive HIV-Infected Patients in a Low-Prevalence Country. *Ann Am Thorac Soc.* 12(8):1138-45.
  80. Parrella, R. et al. (2015). Interferon gamma release assays and tuberculin skin test performance in different settings of HIV immunodeficiency. *In Vivo.* 29(1):137-40.
  81. Kurti, Z. et al. (2015). Tuberculin Skin Test and Quantiferon in BCG Vaccinated, Immunosuppressed Patients with Moderate-to-Severe Inflammatory Bowel Disease. *J Gastrointestin Liver Dis.* 24(4):467-72.
  82. Perifanou, D. et al. (2018). Screening for Latent Tuberculosis Infection in Patients with Autoimmune Diseases Before Initiating TNF- $\alpha$  Inhibitors Therapy. *Mater Sociomed.* 30(1):32-37.
  83. Chiacchio, T. et al. (2019). Characterization of QuantiFERON-TB-Plus results in latent tuberculosis infected patients with or without immune-mediated inflammatory diseases. *J Infect.* 79(1):15-23.
  84. Diamantopoulos, P.T. et al. (2017). Evaluation of the performance of tuberculin skin test and Quantiferon-TB gold in tube test in patients with hematologic malignancies. *Infect Dis (Lond).* 49(7):545-548.

# Symboles

Les symboles suivants peuvent être apposés sur l'emballage ou les étiquettes :

Symbole	Définition du symbole
	Suffisant pour n préparations d'échantillons
	Utilisation prévue pour le diagnostic in vitro
	Numéro de lot
	Numéro de référence
	Code article international
	Date limite d'utilisation
	Limites de température
	Consulter le mode d'emploi
	Ne pas réutiliser
	Tenir à l'abri de la lumière du soleil

# Coordonnées

Pour toute assistance technique ou pour obtenir des renseignements, appelez-nous sans frais au 800-362-7737, consultez notre centre d'assistance technique sur [www.qiagen.com/contact](http://www.qiagen.com/contact) ou contactez l'un des services techniques de QIAGEN (voir la couverture arrière ou sur [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)).

## Résumé de la procédure de test ELISA

1. Laissez les composants ELISA, excepté le conjugué concentré 100x, revenir à température ambiante pendant au moins 60 minutes.



2. Reconstituez l'étalon de la trousse à 8,0 UI/ml avec de l'eau déminéralisée ou distillée. Préparez quatre (4) dilutions de l'étalon.



3. Reconstituez le conjugué concentré 100x lyophilisé avec de l'eau déminéralisée ou distillée.



4. Préparez le conjugué prêt à l'emploi dans du diluant vert puis ajoutez 50 µl à chaque puits.

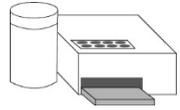


5. Ajoutez 50 µl d'échantillon de plasma de test et 50 µl d'étalon dans les puits qui conviennent. Mélangez à l'agitateur.

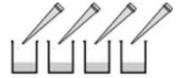
6. Incubez pendant 120 minutes à température ambiante.



7. Lavez les puits au moins 6 fois avec 400  $\mu$ l/puits de tampon de lavage.



8. Ajoutez 100  $\mu$ l de solution de substrat enzymatique dans les puits. Mélangez à l'agitateur.



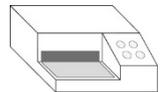
9. Incubez pendant 30 minutes à température ambiante.



10. Ajoutez 50  $\mu$ l de solution de blocage enzymatique dans tous les puits. Mélangez à l'agitateur.



11. Lisez les résultats à 450 nm avec un filtre de référence de 620 à 650 nm



12. Analysez les résultats.



# Modifications importantes

Les modifications importantes apportées à cette édition de la notice QF-TB Gold Plus sont résumées dans le tableau suivant :

Niveau et date de révision	Section	Page	Modification(s)
Rév. 09 2023/01	Prélèvement et manipulation des échantillons	21-24	Ajout d'un tube d'héparine sodique comme tube de prélèvement sanguin de substitution
Rév. 08 2022/06	Composants et conservation, composant de trousse/composants ELISA	10-11	Supprimer les références à la notice (qui sera désormais en ligne).
Rév. 07 2021/12	Matériel nécessaire, mais non fourni	12	Ajout d'un couvercle de plaque
	Prélèvement et manipulation des échantillons	20	Définition de la température ambiante entre 17–25 °C
	Limitations	36, 68	Suppression des restrictions relatives à diverses populations, telles que les personnes dont les fonctions immunitaires sont altérées, les personnes âgées de moins de 17 ans et les femmes enceintes, sur la base de l'approbation de la FDA.  Des références supplémentaires ont été ajoutées à la section « Référence ».
Rév. 06 2019/11	Matériel nécessaire, mais non fourni	12	Ajout d'un couvercle de plaque
	Prélèvement et manipulation des échantillons	20	Définition de la température ambiante entre 17–25 °C
Rév. 05 2019/04	Tableau 9	46	Données mises à jour.
	Divers	Divers	Mise à jour des conditions de conservation du tube contenant de l'héparine de lithium après le prélèvement sanguin.

Niveau et date de révision	Section	Page	Modification(s)
Rév. 04 2018/07	Composants et conservation	10	Ajout de numéros de référence correspondant aux nouvelles trousse de tubes
	Mise en garde	15	Nouveaux renseignements du système général harmonisé (SGH)
Rév. 03 2018/06	Mise en garde	15	Nouveaux renseignements du système général harmonisé (SGH)
Rév. 02 2017/08	Couverture	Première page	Remplacement du texte « sur prescription seulement » par le symbole.
	Renseignements supplémentaires	16	Suppression du symbole MAT. Ajout d'une remarque importante concernant les flacons endommagés et la sécurité des bouchons métalliques à rebord.
Rév. 01 2017/06	S.o.	S.o.	Révision originale.

Marques de commerce : QIAGEN®, Sample to Insight®, QFT®, QuantiFERON® (QIAGEN Group), Microsoft®, Excel® (Microsoft), ProClin® (Rohm and Haas Co.).

**Accord de licence limité pour QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) EUSA**

En utilisant ce produit, l'acheteur ou l'utilisateur accepte les conditions suivantes :

1. Le produit ne doit être utilisé que dans le respect des protocoles fournis et de la présente notice, et uniquement avec les composants contenus dans la trousse. QIAGEN n'accorde aucune licence sous sa propriété intellectuelle pour utiliser ou intégrer les composants fournis dans cette trousse avec tout autre composant non fourni dans cette trousse, exception faite de ce qui est indiqué dans les protocoles fournis avec le produit et la présente notice.
2. En dehors des licences expressément énoncées, QIAGEN n'offre aucune garantie indiquant que cette trousse et/ou son utilisation ne violent pas les droits de tiers.
3. Cette trousse et ses composants sont sous licence pour une utilisation unique, ils ne peuvent être réutilisés, réparés ou revendus sauf indication contraire de la part de QIAGEN.
4. QIAGEN rejette toutes les autres licences, expresses ou tacites, autres que celles expressément énoncées.
5. L'acheteur et l'utilisateur de la trousse s'engagent à ne pas prendre, ou autoriser quiconque à prendre, de quelconques mesures pouvant entraîner ou faciliter des actes interdits par les conditions précédentes. QIAGEN peut faire appliquer les interdictions du présent accord de licence limité par tout tribunal et pourra recouvrir tous ses frais de recherche et de justice, y compris les frais d'avocat, en cas d'action en application du présent accord ou de tous ses droits de propriété intellectuelle liés à la trousse et/ou à ses composants.

Pour consulter les mises à jour de la licence, voir [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com).

© 2023 QIAGEN, tous droits réservés

---

**Page intentionnellement laissée vierge**

---

**Page intentionnellement laissée vierge**

---

**Page intentionnellement laissée vierge**

---

Commandez sur [www.qiagen.com/shop](http://www.qiagen.com/shop) | Soutien technique [support.qiagen.com](http://support.qiagen.com) | Site Web [www.qiagen.com](http://www.qiagen.com)