

STANDARD E TB-Feron ELISA

STANDARD™ ETB-Feron ELISA

Bitte LESEN SIE DIE ANLEITUNG SORGFÄLTIG DURCH, BEVOR SIE DEN TEST DURCHFÜHREN

REF ETBF01G

STANDARD™**EINFÜHRUNG**

Die Tuberkulose (TBC) ist eine Infektionskrankheit, die durch Organismen des *Mycobacterium (M.) tuberculosis*-Komplex verursacht wird. Sie wird üblicherweise durch einen offenen Tuberkulose erkrankten Personen per Tröpfcheninfektion auf gesunde Personen übertragen. Nach einigen Wochen bis Monaten können bei frisch infizierten Personen Symptome der Tuberkulose auftreten. STANDARD E TB-Feron ELISA ist ein Bluttest, der die Diagnose einer Tuberkuloseinfektion unterstützen kann. Er wurde auf Basis der IGRA (Interferon Gamma Release Assay) Methode entwickelt. Eine IGRA kann in allen Fällen, in denen die CDC einen Tuberkulin-Hauttest (THT) zur Diagnose von Tuberkulose empfiehlt, als Alternative zum THT genutzt werden. Grundsätzlich ist eine IGRA immer dann bevorzugtes Mittel der Wahl, wenn eine Person eine BCG Impfung erhalten hat oder eine Antwort auf einen THT unwahrscheinlich ist.

VERWENDUNGSZWECK

STANDARD E TB-Feron ELISA ist ein diagnostischer *In-vitro* Test, der die rekombinanten Proteine ESAT-6, CFP-10 und TB7.7 nutzt, um Zellen in heparinisiertem Vollblut zu stimulieren. Das mit Hilfe eines ELISA (Enzym-linked Immunosorbent Assay) detektierte Interferon Gamma (IFN-γ) wird genutzt, um die Immunantwort auf die rekombinanten Tuberkulose-Antigene, welche mit einer *M. tuberculosis*-Infektion assoziiert sind, zu identifizieren. Es handelt sich um einen Sandwich-Test bei Verdacht auf eine *M. tuberculosis* Infektion (einschließlich akuter Erkrankung), der in Verbindung mit geeigneter Risikobewertung, radiologischer Testung und anderen medizinischen und diagnostischen Auswertungen zu nutzen ist.

TESTPRINZIP

Zur Messung des IFN-γ in Proben verwendet der TB-Feron Test die Sandwich-ELISA-Methode unter Verwendung eines spezifischen humanen IFN-γ-Antikörpers. Er wurde speziell für die Beurteilung der zellvermittelten Immunität durch die IFN-γ-Messung nach der Kultivierung von Heparin-behandeltem Vollblut mit stimulierenden Antigenen entwickelt. Interferon-γ ist ein Zytokin, das als spezifischer Marker in der zellvermittelten Immunantwort verwendet wird. Wenn Blut exogene oder endogene Antigene zugefügt werden, werden im Blut vorhandene Antigen-spezifische Effektor/Memory T-Lymphozyten schnell angeregt, IFN-γ zu produzieren. Die Möglichkeit Effektor-T-Lymphozyten mit spezifischen Antigenen zu stimulieren und IFN-γ im Plasma präzise zu messen, bildet die Grundlage der TB-Feron ELISA Technologie.

STANDARD E TB-Feron ELISA verwendet spezielle Blutentnahmeröhrchen, die Antigen-beschichtet sind. Die Inkubation des Blutes erfolgt für 16 - 24 Stunden in den Blutentnahmeröhrchen. Danach wird das Plasma gewonnen und auf Vorhandensein von IFN-γ getestet, das bei der Reaktion auf die Peptidantigene produziert wird.

Der Test wird in 2 Schritten durchgeführt. Zunächst wird Vollblut in den Blutentnahmeröhrchen gesammelt. Pro Patient werden jeweils ein Nil-, ein TB- und ein Mitogen-Röhrchen verwendet. Das Mitogen-Röhrchen wird im Test als Positiv-Kontrolle verwendet. Zusätzlich dient das Mitogen-Röhrchen als Kontrolle für die korrekte Handhabung des Blutes sowie die korrekte Inkubation der Probe. Die Blutröhrchen sollen sobald wie möglich, aber spätestens 16 Stunden, nach Blutentnahme bei 37°C inkubiert werden. Nach 16 bis 24 Stunden Inkubationszeit werden die Blutröhrchen zentrifugiert, das Plasma wird gesammelt und die Menge des IFN-γ (IE/ml) im ELISA gemessen. Ein Testergebnis ist als positiv zu betrachten, wenn die IFN-γ-Reaktion im TB-Blutröhrchen deutlich über dem Ergebnis des Nil IFN-γ IU/ml Wertes liegt. Eine Reaktion unter 0,5 IE/ml auf Mitogen zeigt, dass die Reaktion unbestimbar ist, sofern auch im TB-Röhrchen ein negatives Ergebnis vorliegt. Dieses Ergebnis kann entstehen, wenn unzureichend Lymphozyten in der Probe vorhanden sind, die Lymphozyten durch unsachgemäße Handhabung eine verminderte Reaktion aufweisen oder die Röhrchen falsch gefüllt bzw. gemischt wurden. Die Nil Probe korrigiert den Hintergrund bezüglich heterophiler Antikörper Effekte oder unspezifischer IFN-γ Bildung. Der IFN-γ Wert des Nil Röhrchens wird vom IFN-γ Wert des TB-Röhrchens und dem IFN-γ Wert des Mitogen Röhrchens (sofern verwendet) abgezogen.

ZUR VERFÜGUNG GESTELLTE MATERIALIEN UND REAGENZIEN

Komponente	Zusammensetzung
Antikörper beschichtete Mikrotiterplatte	96 Kavitäten, mit monoklonalem anti-INF-γ-Antikörper beschichtet
STANDARDS	Rekombinantes humanes Interferon-γ
ELISA Verdünnungspuffer	Konservierungsmittel: Proclin 300
Waschlösung (20fach konzentriert)	Phosphatgepufferte Salzlösung
Amplifikationskonjugat	Konservierungsmittel: Proclin 300
Enzymkonjugat	Polysorbat 20
Substrat	Physiologische phosphatgepufferte Salzlösung Konz.
Stopplösung	Konservierungsmittel: Proclin 300
	Maus-Monoklonale Antikörper: Biotin Konjugat
	Konservierungsmittel: Proclin 300
	Streptavidin: Peroxidase-Konjugat
	Konservierungsmittel: Proclin 300
	Tetramethylbenzidine (TMB)
	Wasserstoffperoxidase
	1 N Schwefelsäure

BEREITGESTELLTE MATERIALIEN

STANDARD E TB-Feron ELISA	2 Platten/Kit	5 Platten/Kit	10 Platten/Kit
Antikörper beschichtete Mikrotiterplatten	2	5	10
STANDARDS	6	15	30
ELISA Verdünnungspuffer	1x 60 ml/Flasche	1x 150 ml/Flasche	1x 150 ml/Flasche
Waschlösung (20fach konzentriert)	1x 100 ml/Flasche	1x 250 ml/Flasche	2x 250 ml/Flasche
Amplifikationskonjugat	1x 150 µl/Tube	1x 400 µl/Tube	1x 800 µl/Tube
Enzymkonjugat	1x 150 µl/Tube	1x 400 µl/Tube	1x 800 µl/Tube
TMB-Substrat	1x 30 ml	1x 80 ml	2x 80 ml
Stopplösung	1x 30 ml	1x 80 ml	1x 200 ml
Adhesive Plattenabdeckung	4	10	20
Gebrauchsanweisung	1	1	1
STANDARD E TB-Feron Tubes (Separat erhältlich)	TB-Feron Tubes 100	TB-Feron Tubes 200	TB-Feron Tubes 300
Mitogen Röhrchen	100	N/A	100
TB Antigen Röhrchen	N/A	100	100
Nil Antigen Röhrchen	N/A	100	100

Erforderliche, ABER NICHT MITGELIEFERTE MATERIALIEN

- Heparin Blutentnahmeröhrchen
- Kalibrierte Mikropipette (10 µl und 1000 µl) mit Einwegspitzen
- Inkubator, der eine Temperatur von 37 ± 1 °C erreicht.
- Destilliertes oder entionisiertes Wasser
- Saugfähiges Papier oder Papiertücher
- Filtermikroplattenwaschgerät (automatisierter Plattenwaschgerät empfohlen)
- ELISA-Reader mit 450-nm-Filter (eine Referenzwellenlänge zwischen 620 nm und 650 nm)
- Timer
- Ablfallbehälter mit geeignetem frischen Desinfektionsmittel
- Persönliche Schutzausrüstung (PSA)

Vorsichtsmaßnahmen

- Für den Gebrauch in der *In vitro*-Diagnostik.
- Ikerische, lipämische, hämolytische oder kontaminierte Proben dürfen nicht verwendet werden.
- Verwenden Sie keine abgelaufenen Reagenzien.
- Mischen Sie keine Reagenzien unterschiedlicher Chargen.
- Die verbleibenden Kavitäten nach dem Gebrauch mit Trockenmittel im verschließbaren Beutel aufbewahren.
- Verwenden Sie saubere Glaswaren, die frei von Kontaminationen mit Metallionen oder oxidativen Substanzen sind.
- Beim Umgang mit Reagenzien persönliche Schutzausrüstung, wie beispielsweise (aber nicht ausschließlich) Handschuhe und Laborkittel tragen. Anschließend gründlich die Hände waschen.
- Entsorgen Sie alle für den Test verwendeten Proben und Materialien als biogefährliches Material.
- TMB ist anfällig für Verunreinigungen von Metallionen, daher erlauben Sie keinen Kontakt zwischen TMB und metallischen Oberflächen. Längere Lichteinstrahlung vermeiden.
- Natriumazid hemmt die Konjugataktivität. Für die Konjugatzugabe müssen saubere Pipettenspitzen genutzt werden, so dass Kontaminationen mit Natriumazid vermieden werden.

11. Verwenden Sie für jede Probe separate Einwegmaterialien, um Kreuzkontaminationen, die fehlerhafte Ergebnisse verursachen können, zu vermeiden.

Lagerung und Stabilität

[STANDARD E TB-Feron Tubes 100, 200, 300]

- TB-Feron Röhrchen 100, 200, 300 bei 2-8°C lagern.
- Dieser Testkit ist stabil bis zum auf der Packung und den einzelnen Reagenzien aufgedruckten Verfallsdatum.

[STANDARD E TB-Feron ELISA]

- Dieser Testkit ist stabil bis zum auf der Packung und den einzelnen Reagenzien aufgedruckten Verfallsdatum.
- Lagerung bei 2-8°C/36-46°F.

PROBENENTNAHME UND LAGERUNG

[Plasma]

- Sammeln Sie venöses Blut und inkubieren Sie das entnommene Blut in den Standard-E-TB-Feron Röhrchen. Zentrifugieren Sie das Blut für 15 Minuten bei RZB 1800-2499 g, um eine überstehende Plasmaprobe zu erhalten.
- Wenn Plasma in einem Röhrchen mit Antikoagulans bei 2-8°C gelagert wird, kann die Probe innerhalb von 1 Woche nach Blutabnahme für den Test verwendet werden. Wenn die Probe nach mehr als 1 Woche genutzt wird, können nicht-spezifische Reaktionen entstehen. Für eine längere Lagerung, muss die Lagerungstemperatur unter -20°C liegen.



- Die Kühlung und das Einfrieren von Blut sind nicht erlaubt.
- Heparin Röhrchen DÜRFEN NUR GENUTZT WERDEN, wenn Vollblut gesammelt wird. Blutentnahmeröhrchen mit anderen Gerinnungsmitteln (EDTA, Natriumcitrat, usw.) dürfen nicht verwendet werden.

Vorbereitung der Reagenzien

1. Rekonstituierte STANDARDS: Vor Verwendung 0,5 ml destilliertes oder entionisiertes Wasser pro STANDARD-Reaktionsgefäß hinzufügen. Die Konzentration der gelösten Standardlösung ist 16 IE/ml. STANDARDs NICHT wiederverwenden.

2. Vorbereitung des verdünnten Waschpuffers:
Der 20 X konzentrierte Waschpuffer muss vor Gebrauch 1:19 mit destilliertem/entionisiertem Wasser verdünnt werden. 50 ml Waschpuffer (20fach konzentriert) z.B. mit 950 ml destilliertem/entionisiertem Wasser mischen.

3. Vorbereitung der Detektionslösung:
1) Bereiten Sie die Detektionslösung vor.

2) Das Amplifikationskonjugat und das Enzymkonjugat sollen 1:250 mit ELISA Verdünnungspuffer verdünnt werden, um die Detektionslösung zu erhalten.
[Beispiel: Bei 10 ml Detektionslösung: 40 µl Amplifikationskonjugat und 40 µl Enzymkonjugat zu 10 ml ELISA Verdünnungsmittel hinzufügen und gut mischen.]

Reagenz	Lagerung	Haltbarkeit
Verdünnung Waschpuffer	Raumtemperatur (15-25°C)	1 Woche
Detektionslösung	2-8°C	4 Stunden

Prüfverfahren

- Stellen Sie sicher, dass alle Reagenzien zu Testbeginn auf Raumtemperatur gebracht (15-25°C/59-77 °F) sind.
- Öffnen Sie die Reagenzien, einschließlich der STANDARD-Röhrchen erst, wenn sie auf Raumtemperatur gebracht (15-25°C/59-77 °F) sind.

Schritt 1: Inkubation der Blutprobe und Sammeln von Plasma

- STANDARD E TB-Feron ELISA soll die folgenden Blutröhrchen verwenden.

- 1) Mitogen Röhrchen (lila Verschluss)
- 2) TB Antigen Röhrchen (roter Verschluss)
- 3) Nil Antigen Röhrchen (grauer Verschluss)

2. Die TB-Feron Röhrchen vor der Anwendung für 15-30 Minuten bei Raumtemperatur (15-25°C/59-77°F) lagern und das Blut ohne Kaltluft überführen.

3. Nehmen Sie Blut vom Patienten ab und injizieren Sie jeweils 1 ml in jedes TB-Feron Blutröhrchen (Nil Antigen Röhrchen, TB Antigen Röhrchen und Mitogen Röhrchen).

- 1) Führen Sie nach Abschluss der Injektion für 2-3 Sekunden eine Nadel in das Röhrchen ein, um das richtige Volumen zu erhalten.
- 2) Die schwarze Linie auf der Seite der Blutentnahmeröhrchen kennzeichnet ein Volumen von 1,0 ml.
- 3) Bei Verwendung einer Schmetterlingsnadel muss eine Spülkanüle verwendet werden.
- 4) Wenn die Blutentnahmeröhrchen aufgrund eines Vakuums nicht bis zur schwarzen Linie gefüllt sind, öffnen Sie die Kappe und befüllen Sie sie mit zusätzlichem Blut bis zur schwarzen Linie.

4. Sobald das Röhrchen mit Blut gefüllt ist, schütteln Sie es zehnmal sanft oder verwenden Sie eine Rollenwippe, damit die gesamte Oberfläche des Röhrchens in Blut getaucht werden kann, so dass sich das Blut gut mit dem Antigen an der Röhrchenwand vermischt.

- Das BLUTENTNAHMERÖHRCHEN NICHT ÜBERMÄSIG SCHÜTTEN, um das Aufbrechen von Blutzellen zu verhindern. Da es sich um ein Experiment mit lebenden Lymphozyten handelt, sollte nur so stark geschüttelt werden, dass keine Zellschäden auftreten. Übermäßiges Schütteln kann zudem das Gel in den Blutentnahmeröhrchen zerstören und zu ungenauen Ergebnissen führen.

5. Inkubieren Sie die gut gemischten Blutentnahmeröhrchen bei 37°C für 16 bis 24 Stunden. Beim Inkubieren sollten die Röhrchen vertikal in ein Gestell eingesetzt werden.

* Wenn die Inkubation direkt nach der Blutentnahme schwierig ist, sollte das Blut bei Raumtemperatur (15-25°C/59-77 Grad °F) gelagert werden. Das Blut muss innerhalb von 16 Stunden nach der Entnahme in die TB-Feron Blutröhrchen überführt und inkubiert werden.

- Wenn es schwierig ist, Blut in jedes TB-Feron Blutröhrchen zu injizieren, sammeln Sie das Blut in einem mit Heparin-füllten Blutentnahmeröhrchen. Sammeln Sie mindestens 3,5 ml Blut in einem Heparin-Röhrchen und schütteln Sie dieses leicht, um das Heparin aufzulösen. Dies verhindert die Blutgerinnung. Nach der Blutentnahme soll das Blut bei Raumtemperatur (15-25°C) gelagert werden. Innerhalb von 16 Stunden nach der Blutentnahme, 1 ml in jedes TB-Feron Blutröhrchen mit einer Pipette dosieren, gut mischen und inkubieren. Bei der Abgabe von Blut -nach dem Öffnen des Verschlusses des Blutentnahmeröhrchens- mit einer Pipette müssen sterile Spitzen verwendet werden, damit das Blut in einer aseptischen Weise dosiert werden kann.

6. Nach der Inkubation der Röhrchen bei 37°C, Plasma durch Zentrifugieren der Blutröhrchen für 15 Minuten bei 2200 bis 2300 g RZB sammeln.

- Wenn Plasma gesammelt wird, NICHT pipettieren oder im Blutröhrchen mischen oder das Gel mit der Pipettenspitze beschädigen.

Schritt 2: Humanes IFN-γ-ELISA

1. Vorbereitung der STANDARD Lösungen

- 1) Markieren Sie 4 leere

5. Waschen
 - 1) Waschen Sie jede Kavität 5mal mit 350 µl verdünntem Waschpuffer und saugen sie die gesamte Flüssigkeit aus den Kavitäten ab. Alternativ können die Kavitäten mit einem automatischen Waschgerät 5mal mit 350 µl verdünnten Waschpuffer gewaschen werden. Die Nutzung eines automatischen Waschgeräts wird empfohlen (vgl. Schritt 3).
6. TMB-Substrat Inkubation
 - 1) 100 µl TMB-Substrat in jede Kavität pipettieren.
 - 2) Im Dunkeln für 15 Minuten bei Raumtemperatur (15-25°C) inkubieren.
7. Stoppen der Reaktion
 - 1) 100 µl Stopplösung in der gleichen Reihenfolge in jede Kavität und mit etwa der gleichen Geschwindigkeit wie das TMB-Substrat in Schritt 6 pipettieren. Durch leichtes Schütteln mischen.
8. Messung
 - 1) Messen Sie die Absorptionswerte der Kavitäten bei 450 nm in einem ELISA-Reader (mit Referenzwellenlänge zwischen 620 nm und 650 nm) direkt nach dem Abstoppen der Probe, spätestens aber innerhalb von 30 Minuten.

INTERNE QUALITÄTSKONTROLLE

Die Genauigkeit der Ergebnisse ist von der Generierung einer exakten Standardkurve abhängig. Deswegen müssen die aus den Standards (S1, S2, S3, S4) abgeleiteten Ergebnisse geprüft werden, bevor die Proben-Ergebnisse interpretiert werden können.

1. Der Mittelwert des OD-Wertes für S1 muss höher als 0,600 sein.
2. Der Variationskoeffizient (VK) in % für die Replikate der OD-Werte für S1 und S2 muss 15% oder kleiner sein.
3. Die Differenz zwischen den einzelnen OD-Werten von S3 und S4 muss geringer als 0,040 sein.
4. Der Mittelwert des OD-Wertes für S4 muss 0,150 oder kleiner sein.
5. Der Korrelationskoeffizient (r) der Standardkurve, die sich aus den Mittelwerten ergibt, sollte 0,980 oder größer sein.

INTERPRETATION DER TESTERGEBNISSE

1. Prüfen Sie die Ergebnisse mit Hilfe der STANDARD-E ANALYSE SOFTWARE.
2. Ergebnisse der STANDARD-E ANALYSE SOFTWARE sollen nach den folgenden Kriterien beurteilt werden:



- Die Diagnose oder der Ausschluss von TBC und die Bewertung der Wahrscheinlichkeit einer latenten Tuberkulose Infektion (LTBI) erfordern eine Kombination aus epidemiologischen, historischen, medizinischen und diagnostischen Erkenntnissen, die bei der Interpretation der Ergebnisse des STANDARD E TB-Feron ELISA beachtet werden sollen.

Tabelle 1. Bei Verwendung der Nil Antigen, TB Antigen und Mitogen Blutröhrenchen

Nil [IU/mL]	TB Antigen-Nil [IU/mL]	Mitogen - Nil [IU/mL] ¹	STANDARD E Ergebnis	Bericht/Interpretation
≤ 8.0	< 0.35	≥ 0.5	Negativ	<i>M. tuberculosis</i> -Infektion NICHT wahrscheinlich
	≥ 0.35 und $< 25\%$ des Nil-Wertes	≥ 0.5	Negativ	<i>M. tuberculosis</i> -Infektion wahrscheinlich
	≥ 0.35 und $\geq 25\%$ des Nil-Wertes	Jeder Wert	Positiv ²	<i>M. tuberculosis</i> -Infektion wahrscheinlich
	< 0.35	< 0.5	Unbestimmt	Ergebnisse sind unbestimmt für die Reaktionsfähigkeit des TB-Antigens.
> 8.0	≥ 0.35 und $< 25\%$ des Nil-Wertes	< 0.5	Unbestimmt	
	Jeder Wert	Jeder Wert	Unbestimmt	

¹ Reaktionen der Mitogen Positivkontrolle (und gelegentlich des TB-Antigens) außerhalb der Reichweite des Readers für Mikrotiterplatten können vorkommen. Dies beeinflusst die Testergebnisse nicht.

² Wenn eine *M. tuberculosis*-Infektion nicht vermutet wird, können erste positive Ergebnisse durch eine erneute Prüfung der ursprünglichen Plasmaproben bestätigt werden. Wenn die wiederholten Testergebnisse positiv sind, sollten Sie als positiv betrachtet werden.

Tabelle 2. Wenn nur Nil Antigen und TB Antigen verwendet werden

Nil [IU/mL]	TB Antigen - Nil [IU/mL]	STANDARD E Ergebnis	Bericht/Interpretation
≤ 8.0	< 0.35	Negativ	<i>M. tuberculosis</i> -Infektion NICHT wahrscheinlich
	≥ 0.35 und $< 25\%$ des Nil-Wertes	Negativ	<i>M. tuberculosis</i> -Infektion wahrscheinlich
	≥ 0.35 und $\geq 25\%$ des Nil-Wertes	Positiv	<i>M. tuberculosis</i> -Infektion wahrscheinlich
> 8.0	Jeder Wert	Unbestimmt	Ergebnisse sind unbestimmt für die Reaktionsfähigkeit des TB-Antigens.

3. Generierung der STANDARD Kurve (Falls die STANDARD-E ANALYSE SOFTWARE nicht verwendet wird)
 - 1) Messen Sie die mittleren OD-Werte der STANDARDS.
 - 2) Erstellen Sie eine log(e)-log(e) Standardkurve durch den log(e) Plot der OD-Mittelwerte (y-Achse) gegen den log(e) Wert (x-Achse) der IFN-γ-Konzentrationen der Standards. Entfernen Sie den Null-STANDARD (S4) aus diesen Berechnungen. Berechnen Sie die am besten geeignete Standardkurve durch eine Regressionsanalyse.
 - 3) Verwenden Sie die Standardkurve und den OD-Wert der Probe, um die IFN-γ-Konzentration (IE/ml) jeder Plasmaprobe abzulesen.
 - 4) Diese Berechnungen können auch über die mit dem Reader zur Verfügung gestellte Software, Standard-Kalkulationstabellen und statistischer Software (z.B.: Microsoft Excel) durchgeführt werden. Es wird empfohlen, dass diese Software-Pakete verwendet werden, um die Regressionsanalyse, den Variationskoeffizienten (% VK) für die Standards und die Korrelationskoeffizienten (r) der Eichkurve zu berechnen.

Grenzen des Tests

1. Das Prüfverfahren, die Vorsichtsmaßnahmen und die Interpretation der Ergebnisabschnitte müssen bei der Durchführung dieses Test Kits genauestens eingehalten werden.
2. Die Prüfung kann mit Blut von Patienten mit klinischen Symptomen oder bei Verdacht auf Exposition durchgeführt werden.
3. Unzuverlässige oder unbestimmte Ergebnisse können auftreten durch:
 - 1) Übermäßige Mengen zirkulierendes IFN-γ oder das Vorhandensein von heterophilen Antikörpern.
 - 2) Die TB-Feron Blutröhrenchen müssen innerhalb von 16 Stunden nach Blutabnahme inkubiert werden.
4. Die Testergebnisse müssen mit anderen klinischen Daten verglichen werden, die dem Arzt zur Verfügung stehen.
5. Für mehr Genauigkeit bei der Bestimmung des Immunstatus werden zusätzliche Folgeuntersuchungen mit anderen Labormethoden empfohlen.

Literaturverzeichnis

1. Centers for Disease Control and Prevention. (2010) Updated guidelines for using interferon-gamma release assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection – United States. MMWR 59(RR05).
2. JY Lee et al. : Diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* infection using ex-vivo interferon-gamma assay, Tuberculosis and Respiratory Diseases Vol. 60. No. 5 (2006). Andersen, P. et al. (2000) Specific immune-based diagnosis of tuberculosis. Lancet 356, 1099.
3. 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.
4. 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.
5. Bochino, 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-TNFalpha treatment. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 27,907.
6. Brock, I. et al. (2006) Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the *M. tuberculosis* specific interferon-gamma test. Respir. Res. 7, 56.
7. 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.
8. Connell, T.G. et al. (2008) A three-way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB gold and T-Spot.TB in children. PLoS ONE 3, e2624. doi: 10.1371/journal.pone.0002624.
9. 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.
10. 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.
11. Diel, R. et al. (2008) Predictive value of a whole-blood IFN-γ assay for the development of active TB disease. Am. J. Respir. Crit. Care Med. 177, 1164.
12. Diel, R. et al. (2006) Tuberculosis contact investigation with a new, specific blood test in a lowincidence population containing a high proportion of BCG-vaccinated persons. Respir. Res. 7, 77.
13. 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.
14. Drobniowski, F. et al. (2007) Rates of latent tuberculosis in health care staff in Russia. PLoS Med. 4, e55.
15. Gerogianni, I. et al. (2008) Whole-blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection in an unselected Greek population. Respiriology 13, 270.
16. 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.

Symbole auf den Produktetiketten

The following symbols may have been used in the labeling of this product.

MW Ab	Mit Antikörpern beschichtete Mikrotiterplatte
STANDARDS	STANDARDS
ELISA DIL	ELISA Verdünnungspuffer
WASH BUF 20X	20X Waschpuffer
AMPL CONJ	Amplifikationskoniugat
CONJ	Enzymkonjugat

SUBS TMB

Substrat Wasserstoffperoxidase und Tetramethylbenzidin (TMB)

SOLN STOP

Stopplösung



Xi = Irritant

Produkt-Haftungsausschluss

Obwohl jede Vorkehrung getroffen wurde, um die Diagnosefähigkeit und Genauigkeit dieses Produkts zu gewährleisten, wird das Produkt außerhalb der Kontrolle des Herstellers und des Distributors verwendet und das Ergebnis kann dementsprechend von Umweltfaktoren und/oder Anwenderfehlern betroffen sein. Eine Person, die Gegenstand der Diagnose ist, sollte einen Arzt zur weiteren Bestätigung aufsuchen.

Warnung

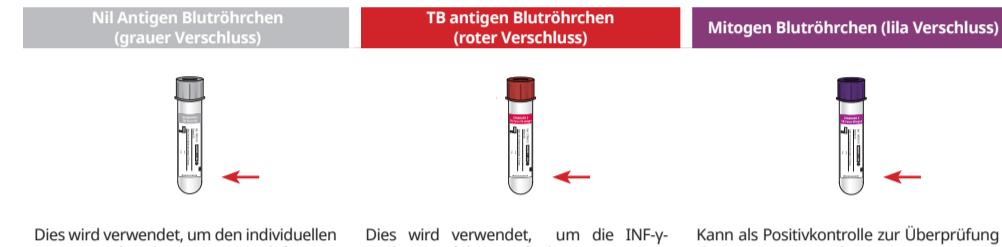
Die Hersteller und Distributoren des Produktes sind nicht für Verluste, Verbindlichkeiten, Forderungen, Kosten oder Schäden, ob direkte oder indirekte Folgeschäden, haftbar, die aus dem Einsatz dieses Produkts oder im Zusammenhang mit einer falschen Diagnose, ob positiv oder negativ, entstehen.

Abgekürztes PRÜFVERFAHREN

Zum Messen des IFN-γ in Proben nutzt TB-Feron einen Sandwich-ELISA mit einem spezifischen humanen IFN-γ-Antikörper. Der Test ist speziell für die Beurteilung der zellvermittelten Immunität durch die Messung von IFN-γ nach der Kultivierung von heparinbehandeltem Vollblut mit stimulierendem Antigen konzipiert.

* Blut stimulierende Blutröhren

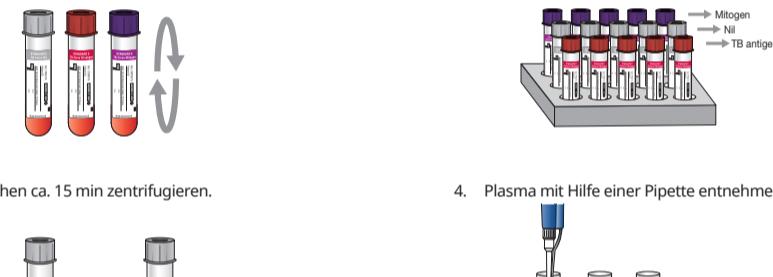
Der STANDARD E TB-Feron ELISA verwendet entweder Lithium/Heparin-Röhrchen zur Blutgerinnung oder SD-BIOSENSOR TB-Feron 3 Blutröhrenchen (Mitogen, TB Antigen, Nil Antigen), um akkurate Ergebnisse zu erzielen. Der TB-Feron ELISA erfordert 3 ml Vollblut - 1 ml Blut in jedem der 3 Blutröhrenchen.



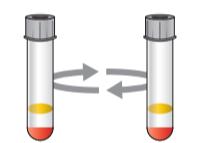
Dies wird verwendet, um den individuellen Hintergrund des INF-γ zu definieren (Negativkontrolle). Dies wird verwendet, um die INF-γ-Reaktion auf die spezifischen TB Antigene zu bewerten. Kann als Positivkontrolle zur Überprüfung des Immunstatus des Patienten genutzt werden.

Blutinkubation und Ernte

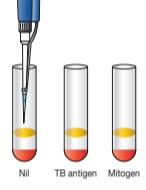
1. Die Blutentnahme in 3 Blutröhren (Nil Antigen, TB Antigen, Mitogen)
2. 16-24 Stunden bei 37 °C inkubieren



3. Röhrchen ca. 15 min zentrifugieren.

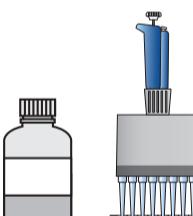


4. Plasma mit Hilfe einer Pipette entnehmen.

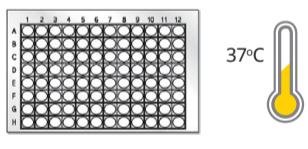


Humanes IFN-γ-ELISA

1. Vorbereitung der Probe (Standard, Plasma aus 3 Röhrchen)



2. IFN-γ-ELISA-Test



3. Optische Dichte (OD) messen



4. Berechnung und Test Interpretation



Autorisierte Vertreter MT Promedt Consulting GmbH
Altenhofstrasse 80 66386 St. Ingbert Germany. Phone: +49-6894-581020 | Fax: +49-6894-581021

Hergestellt von SD Biosensor, Inc.

Hauptsitz
C 4. & 5., daero Deogyeong - 1556 beon-Gil, yeongtong-gu, Suwon-Si, Gyeonggi-do, 16690, Republik Korea
Fertigungsstätte
74, Osongsaeengmyeong 4-ro, Osong-eup, Heungdeok-gu, Cheongju-Si, Chungcheongbuk-do, 28161, Republik Korea

Alle Anfragen bezüglich der Arbeitsanweisung sollen an Sales@sdbiosensor.com adressiert werden, oder kontaktieren Sie uns über durch www.sdbiosensor.com kontaktieren