



Marzo de 2023

Instrucciones de uso del QuantiFERON[®]-TB Gold Plus ELISA Kit



2 x 96 (622120)



20 x 96 (622822)

Versión 1



Para uso diagnóstico in vitro

Para uso con los QuantiFERON[®]-TB Gold Plus Blood Collection Tubes



622120, 622822



QIAGEN GmbH QIAGEN Strasse 1, 40724 Hilden, Alemania



1123669ES

Contenido

Uso previsto	5
Usuario previsto	5
Descripción y principio.....	6
Información sobre el patógeno.....	6
Resumen y explicación	7
Principios del ensayo	10
Materiales suministrados	12
Contenido del kit.....	12
Componentes del kit	13
Plataforma y software	13
Materiales necesarios pero no suministrados	14
Reactivos adicionales.....	14
Consumibles	14
Equipo	14
Advertencias y precauciones.....	15
Información de seguridad.....	15
Información para emergencias.....	16
Precauciones	17
Almacenamiento y manipulación de reactivos.....	19
Estabilidad en uso	19
Reactivos reconstituidos sin utilizar	19
Manipulación y almacenamiento de material de muestra	20

Protocolo: Realizar el ensayo ELISA	21
Resultados (cálculos)	27
Generación de valores de curva estándar y muestra.....	27
Control de calidad de la prueba	29
Interpretación de los resultados	31
Limitaciones	33
Características de rendimiento	34
Estudios clínicos	34
Sensibilidad.....	36
Valores esperados.....	44
Resumen de seguridad y rendimiento.....	50
Características del rendimiento del ensayo	51
Rendimiento analítico.....	51
Eliminación	64
Referencias	65
Guía de resolución de problemas.....	67
Símbolos	70
Apéndice A: Información técnica.....	73
Resultados indeterminados	73
Muestras de plasma coaguladas	73
Muestras de plasma lipémico.....	73
Apéndice B: Procedimiento de prueba ELISA abreviado.....	74
Información para pedidos	76
Historial de revisiones del documento	78

Uso previsto

QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT®-Plus) es un ensayo de diagnóstico *in vitro* que utiliza un combinado de péptidos que simula la actividad de las proteínas ESAT-6 y CFP-10 para estimular células en sangre total heparinizada. La detección de interferón- γ (IFN- γ) mediante el enzoinmunoanálisis de adsorción (ELISA) sirve para detectar reacciones *in vitro* a estos antígenos peptídicos vinculadas a la infección por *Mycobacterium tuberculosis*.

QFT-Plus es una prueba indirecta destinada a detectar la infección por *M. tuberculosis* (incluida la enfermedad) y está destinada a utilizarse conjuntamente con la evaluación de riesgos, radiografías y otras evaluaciones médicas y diagnósticas.

Usuario previsto

Este kit se ha diseñado para uso profesional.

El ensayo QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) está concebido para que lo use personal cualificado en entornos de laboratorio.

Descripción y principio

Información sobre el patógeno

La tuberculosis es una enfermedad transmisible causada por la infección de organismos del complejo *M. tuberculosis* (*M. tuberculosis*, *M. bovis*, *M. africanum*, *M. microti*, *M. canetti* y *M. caprae*), que normalmente se contagia a través de los núcleos en forma de gotitas que viajan por el aire procedentes de pacientes que padecen tuberculosis pulmonar. Un individuo puede enfermar de tuberculosis semanas o meses después del momento de la infección, aunque la mayoría permanecen sanos. La infección latente por tuberculosis (Latent tuberculosis infection, LTBI), una dolencia asintomática intransmisible, persiste en algunos individuos, que pueden llegar a sufrir tuberculosis meses o años más tarde. El principal objetivo del diagnóstico de la LTBI es buscar tratamientos preventivos para la tuberculosis. Durante más de 100 años, el único método para diagnosticar la LTBI era la prueba cutánea de la tuberculina (tuberculin skin test, TST) (4). La sensibilidad de la piel ante la tuberculina aparece entre 2 y 10 semanas después de la infección. Sin embargo, algunos individuos infectados, incluidos quienes padecen una larga lista de problemas médicos que entorpecen el mecanismo inmunitario, aunque también otros pacientes que no los sufren no reaccionan ante la tuberculina. A la inversa, existen individuos con pocas probabilidades de infectarse por *M. tuberculosis* que muestran sensibilidad ante la tuberculina y dan un resultado positivo en la prueba cutánea tras haber sido vacunados con el bacilo de Calmette-Guérin (BCG), haber sido infectados con micobacterias distintas del complejo *M. tuberculosis* o debido a otros factores indeterminados.

Es necesario distinguir la LTBI de la tuberculosis, una enfermedad de declaración obligatoria, que normalmente afecta a los pulmones y al tracto respiratorio inferior pero que también puede afectar a otros sistemas de órganos. La tuberculosis se diagnostica a partir de signos físicos, radiológicos, micobacteriológicos y datos extraídos de la anamnesis.

Resumen y explicación

La prueba QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) es la cuarta generación de tecnología de análisis QuantiFERON-TB que valora las respuestas celulares mediante la medición cuantitativa del IFN- γ en una muestra de sangre total. La prueba cualitativa QFT-Plus mide la respuesta inmunitaria celular (RIC) ante antígenos peptídicos que simulan ser proteínas micobacterianas. Estas proteínas, ESAT-6 y CFP-10, no aparecen en ninguna cepa de la BCG ni en la mayoría de las micobacterias no tuberculosas, a excepción de *M. kansasii*, *M. szulgai* y *M. marinum* (1). Las personas infectadas por organismos del complejo *M. tuberculosis* suelen tener en la sangre linfocitos capaces de reconocer a estos y otros antígenos micobacterianos. Este proceso de reconocimiento implica la generación y secreción de la citoquina, IFN- γ . La detección y posterior cuantificación de IFN- γ constituyen la base de esta prueba.

Las pruebas cutáneas de la tuberculina y las pruebas de ensayo de liberación de interferón γ (Interferon-gamma release assay, IGRA) son útiles, aunque no son suficientes para diagnosticar la infección por el complejo *M. tuberculosis* en pacientes enfermos: un resultado positivo puede respaldar el diagnóstico de tuberculosis; sin embargo, las infecciones originadas por otras micobacterias (por ejemplo, *M. kansasii*) también pueden producir resultados positivos. Son necesarias otras evaluaciones médicas y diagnósticas para confirmar o descartar una tuberculosis.

Los antígenos que utiliza el ensayo QFT-Plus son una combinación de péptidos que simulan la acción de las proteínas ESAT-6 y CFP-10. Numerosos estudios han demostrado que estos antígenos peptídicos estimulan la reacción al IFN- γ en los linfocitos T de personas infectadas por *M. tuberculosis*, pero no en personas no infectadas o vacunadas con BCG sin la enfermedad o con riesgo de LTBI (1,2,6,9). Sin embargo, los tratamientos médicos o las enfermedades que deterioran la función del sistema inmunitario pueden llegar a reducir la reacción al IFN- γ . Los pacientes con otro tipo de infecciones micobacterianas también podrían presentar reacción ante las proteínas ESAT-6 y CFP-10, puesto que los genes codificadores de dichas proteínas están presentes en *M. kansasii*, *M. szulgai* y *M. marinum* (1,3,7).

Esta población objeto de la pruebas para el análisis QFT-Plus consta de pacientes que padecen tuberculosis activa clínicamente confirmada y pacientes con riesgo de infección por tuberculosis o infección latente por tuberculosis (Latent tuberculosis infection, LTBI). No se aplican limitaciones de edad, género u otros.

En la infección por *Mycobacterium tuberculosis* (MTB), la función de los linfocitos T CD4⁺ es fundamental para el control inmunológico gracias a la secreción de citocinas IFN- γ . Las pruebas corroboran la importancia de las células T CD8⁺ que intervienen en la defensa del sujeto frente al complejo MTB mediante la secreción de IFN- γ y otros factores solubles, que activan los macrófagos que suprimen el crecimiento de MTB, matan las células infectadas o lisan directamente el complejo MTB intracelular. Se han detectado linfocitos CD8⁺ específicos de MTB productoras de IFN- γ en sujetos con LTBI y con TB activa. Además, se ha descrito un aumento en la frecuencia de detección de linfocitos T CD8⁺ específicos para ESAT-6 y CFP-10 en sujetos con tuberculosis activa en comparación con sujetos afectados por LTBI, lo que puede estar relacionado con una exposición reciente al complejo MTB (8,10-12). También se han detectado células T CD8⁺ específicas para MTB productoras de IFN- γ en sujetos con tuberculosis activa y coinfección por VIH (13, 14), así como en niños jóvenes con tuberculosis (15).

El ensayo QFT-Plus utiliza dos tubos diferentes de medición de antígeno de TB: el TB Antigen Tube 1 (TB1) y el TB Antigen Tube 2 (TB2). Ambos tubos contienen antígenos peptídicos de los antígenos asociados al complejo MTB, ESAT-6 y CFP-10. Los tubos TB1 y TB2 contienen péptidos de ESAT-6 y CFP-10 diseñados para generar respuestas RIC a partir de linfocitos T cooperadores CD4⁺; el tubo TB2 contiene un conjunto adicional de péptidos cuya función es inducir respuestas RIC a partir de linfocitos T citotóxicos CD8⁺.

Entre los factores de riesgo de infección por *M. tuberculosis*, se incluyen los factores predictivos médicos, epidemiológicos o los obtenidos a partir de datos extraídos de la anamnesis para la tuberculosis o la exposición a la tuberculosis. Consulte los consejos más recientes de la OMS <https://www.who.int/publications/i/item/who-consolidated-guidelines-on-tuberculosis-module-1-prevention-tuberculosis-preventive-treatment> para obtener recomendaciones detalladas sobre

el diagnóstico de la infección por *M. tuberculosis* (incluida la enfermedad) y la selección de individuos para el análisis (16). El ensayo QFT-Plus se ha probado en determinados grupos de pacientes indicados para la detección de la infección por TB de acuerdo con los consejos actuales de la OMS (16), incluidas personas que han obtenido resultados positivos en pruebas del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), contactos de pacientes que padecen TB reciente y personas que habitan en entornos muy concurridos, y que han estado expuestas a adultos con alto riesgo de TB (5).

Principios del ensayo

El ensayo cualitativo QFT-Plus emplea tubos especializados de recogida de sangre que contienen antígenos peptídicos que simulan la actividad de las proteínas de *M. tuberculosis*, que se utilizan para la recogida de sangre total. La sangre se extrae en los tubos y se incuba entre 16 y 24 horas. Posteriormente se retira y analiza el plasma para determinar si se ha producido IFN- γ como reacción a los antígenos peptídicos.

En primer lugar se recoge sangre total en cada uno de los QFT-Plus Blood Collection Tubes, entre los que se incluyen un tubo Nil, un tubo TB1, un tubo TB2 y un tubo Mitogen. De forma alternativa, puede extraer la sangre en un único tubo de recogida de sangre con heparina de litio o de sodio como anticoagulante y, a continuación, transferirla a los QFT-Plus Blood Collection Tubes.

Los QFT-Plus Blood Collection Tubes se agitan para mezclar el antígeno con la sangre y deben incubarse a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ lo antes posible durante las 16 horas posteriores a la recogida de sangre. Tras el periodo de incubación comprendido entre 16 y 24 horas, se centrifugan los tubos, se procesa el plasma y se mide la cantidad producida de interferón IFN- γ (UI/ml) mediante el método ELISA. El ensayo QFT-Plus ELISA utiliza estándar de IFN- γ humano recombinante que se ha analizado comparándolo con una preparación de IFN- γ de referencia (ref. de NIH: Gxg01-902-535). Los resultados de las muestras de la prueba se indican en Unidades internacionales por ml (UI/ml) relativas a una curva estándar preparada mediante el análisis de las diluciones del estándar suministrado con el kit.

Se sabe que los anticuerpos heterófilos (p. ej., humanos antirratorón) presentes en el suero o plasma de determinados sujetos causa interferencias con los inmunoensayos. El efecto de los anticuerpos heterófilos en el ensayo QFT-Plus ELISA se reduce al mínimo mediante la adición de suero de ratón normal al diluyente verde y el uso de fragmentos de anticuerpos monoclonales F(ab')₂ como el anticuerpo de captura IFN- γ recubierto en los pocillos de microplacas.

Se considera que el resultado del ensayo QFT-Plus es positivo si la producción de IFN- γ como reacción a cualquiera de los tubos de antígeno de TB es claramente superior al valor en UI/ml de Nil para IFN- γ . La muestra de plasma del tubo Mitogen sirve como control positivo de IFN- γ para cada muestra analizada. Una reacción baja al Mitogen (<0,5 UI/ml) indica un resultado indeterminado cuando la muestra de sangre también presenta una reacción negativa ante los antígenos TB. Este resultado puede producirse con un número insuficiente de linfocitos, con una menor actividad de los mismos provocada por una manipulación incorrecta de las muestras, con un llenado/mezclado del tubo Mitogen o con la incapacidad de los linfocitos del paciente de producir IFN- γ . Se pueden producir niveles elevados de IFN- γ en la muestra de Nil debido a la presencia de anticuerpos heterófilos o a la secreción intrínseca de IFN- γ . El tubo Nil ajusta el fondo (p. ej., niveles elevados de IFN- γ en circulación o la presencia de anticuerpos heterófilos). El nivel de IFN- γ en el tubo Nil se sustrae del nivel de IFN- γ en los tubos de antígeno TB y en el tubo Mitogen. El intervalo de medición del ensayo QFT-Plus ELISA es de hasta 10 UI/ml.

Materiales suministrados

Contenido del kit

Componentes para ELISA N.º de catálogo	Kit biplaca 622120	Envase de referencia (laboratorio) 622822
Microplate Strips (Tiras para microplacas, 12 x 8 pocillos) revestidas con anticuerpos monoclonales murinos antihumano IFN- γ	2 conjuntos de tiras para microplaca, 12 x 8	20 conjuntos de tiras para microplaca, 12 x 8
IFN- γ Standard, (estándar de IFN- γ), liofilizado; contiene IFN- γ humano recombinante, caseína bovina, 0,01 % p/v de timerosal	1 x vial (8 UI/ml después de su reconstitución)	10 x viales (8 UI/ml después de su reconstitución)
Green Diluent (Diluyente verde); contiene caseína bovina, suero de ratón normal, 0,01 % p/v de timerosal	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Conjugate 100x Concentrate, (Conjugado 100x concentrado), liofilizado; IFN- γ HRP murino antihumano, contiene 0,01 % de timerosal)	1 x 0,3 ml (después de su reconstitución)	10 x 0,3 ml (después de su reconstitución)
Wash Buffer 20x Concentrate (Tampón de lavado 20x concentrado, pH 7,2, contiene 0,05 % v/v de ProClin® 300)	1 x 100 ml	10 x 100 ml
Enzyme Substrate Solution (Solución enzimática de sustrato, contiene H ₂ O ₂ , 3,3', 5,5' tetrametilbenzidina)	1 x 30 ml	10 x 30 ml
Enzyme Stopping Solution (Solución enzimática de parada); contiene 0,5 M H ₂ SO ₄	1 x 15 ml	10 x 15 ml
<i>Instrucciones de uso del QuantiFERON TB-Gold Plus ELISA Kit</i>	1	1

Componentes del kit

Controles y calibradores

El ensayo QFT-Plus ELISA utiliza estándar de IFN- γ humano recombinante que se ha analizado comparándolo con una preparación de IFN- γ de referencia (ref. de NIH: Gxg01-902-535).

Plataforma y software

El QFT-Plus Analysis Software es de uso opcional y se puede utilizar para analizar los datos sin procesar y calcular los resultados. Se puede descargar en www.qiagen.com.

Materiales necesarios pero no suministrados

Reactivos adicionales

- QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes
- Agua desionizada o destilada, 2 litros

Consumibles

- Tapa para placa de 96 pocillos
- Opcional: Microtubos de 1 ml con tapones en gradillas con formato de 96 pocillos o microplacas sin recubrimiento con sellos de plástico para el almacenamiento de plasma (22 pacientes/gradilla o placa)
- Depósitos de reactivos

Equipo*

- Incubador a $37\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ (con o sin CO_2)
- Pipetas calibradas de volumen variable para manejar entre $10\ \mu\text{l}$ y $1000\ \mu\text{l}$ con tiras desechables
- Pipeta multicanal calibrada capaz de dispensar $50\ \mu\text{l}$ y $100\ \mu\text{l}$ con puntas desechables
- Agitador de microplacas capaz de alcanzar velocidades de entre 500 y 1000 rpm
- Lavador de microplacas (se recomienda un lavador de placas automatizado para la manipulación segura de las muestras de plasma)
- Lector de microplacas con filtro de 450 nm y filtro de referencia de 620 nm a 650 nm
- Agitadora vorticial de velocidad variable
- Centrifugadora capaz de centrifugar los tubos de recogida de sangre al menos a 3000 RCF (g)
- Probeta graduada, 1 litro o 2 litros

* Antes de usar el producto, asegúrese de que los instrumentos se hayan verificado y calibrado siguiendo las recomendaciones del fabricante.

Advertencias y precauciones

Tenga en cuenta que puede ser necesario que tenga que consultar las normativas locales para conocer los requisitos de notificación, en relación con los sucesos graves que hayan ocurrido en relación con el dispositivo; al fabricante y/o su representante autorizado y a la autoridad sanitaria del país en el que resida el usuario y/o el paciente.

Para uso diagnóstico in vitro.

Información de seguridad

Siempre que trabaje con productos químicos, utilice una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección adecuados. Para obtener más información, consulte las hojas de datos sobre seguridad (Safety Data Sheets, SDS) correspondientes. Puede obtenerlas en línea en el práctico y compacto formato PDF en www.qiagen.com/safety, desde donde también podrá buscar, ver e imprimir las hojas de datos SDS de todos los kits y componentes de los kits QIAGEN.

- Los materiales de muestra y las muestras son potencialmente infecciosos. Deseche los residuos de muestras y ensayos conforme a los procedimientos de seguridad local.
- Un resultado negativo del QFT-Plus no descarta la posibilidad de una infección por *M. tuberculosis* o de que se padezca tuberculosis: los falsos negativos pueden deberse a la etapa de la infección en que se encuentre el paciente (p. ej., si la muestra se ha obtenido antes de que se desarrolle la respuesta inmunitaria celular), a una incorrecta manipulación de los tubos de recogida de sangre después de la venopunción, a una realización errónea del ensayo o a otras variables inmunológicas individuales, incluidas las que se relacionan con cualquier enfermedad concomitante. Los anticuerpos heterófilos o la producción de IFN- γ inespecífico de otras enfermedades inflamatorias pueden enmascarar respuestas específicas a los péptidos de ESAT-6 o CFP-10.


- Un resultado positivo del QFT-Plus tampoco debe considerarse como prueba única o definitiva de la existencia de una infección por *M. tuberculosis*. Llevar a cabo el ensayo de forma incorrecta puede producir resultados-falsos positivos del QFT-Plus.
- Después de obtener un resultado positivo para el QFT-Plus, deben realizarse otras evaluaciones médicas para comprobar la existencia de una tuberculosis activa (p. ej., frotis y cultivo de bacilos acidorresistentes, radiografía de tórax).
- Aunque las proteínas ESAT-6 y CFP-10 no están presentes en ninguna de las cepas de BCG ni en la mayoría de las micobacterias no tuberculosas conocidas, es posible que un resultado positivo del ensayo QFT-Plus se deba a una infección por *M. kansasii*, *M. szulgai* o *M. marinum*. Si se sospecha de la existencia de tales infecciones, deberán realizarse pruebas alternativas.
- Un resultado falso negativo del QFT-Plus puede deberse a la recogida de muestras de sangre incorrecta o a la manipulación inadecuada de muestras que repercute en la función de los linfocitos. Consulte el apartado "Protocolo: Realizar el ensayo ELISA" en la página 21, para obtener información sobre la manipulación correcta de las muestras de sangre. Las demoras en la incubación pueden provocar resultados falsos negativos o indeterminados y otros parámetros técnicos pueden afectar la capacidad para detectar una respuesta de IFN- γ significativa.

Información para emergencias

CHEMTREC

Fuera de EE. UU. y Canadá +1 703-527-3887

Precauciones

<p>PRECAUCIÓN</p> 	<p>Manipule la sangre humana como material potencialmente infeccioso.</p> <p>Siga las correspondientes directrices relativas a la manipulación de sangre. Elimine las muestras y los materiales que hayan estado en contacto con la sangre o los productos sanguíneos según la normativa federal, nacional y local.</p>
--	---

QuantifERON Enzyme Stopping Solution



Contiene: ácido sulfúrico. ¡Advertencia! Puede ser corrosivo para los metales. Provoca irritación cutánea. Provoca irritación ocular grave. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

QuantifERON Enzyme Substrate Solution

¡Advertencia! Causa irritación leve de la piel. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

QuantifERON Green Diluent



Contiene: tartrazina. ¡Advertencia! Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Llevar guantes/prendas/gafas/máscara de protección.

QuantifERON Wash Buffer 20x Concentrate

Nocivo para los organismos acuáticos, con efectos a largo plazo. Evitar su emisión en el medio ambiente.

Más información

Hojas de datos sobre seguridad: www.qiagen.com/safety

- Algunos reactivos del QFT-Plus incorporan timerosal a modo de conservante. Puede resultar tóxico ingerido, inhalado o en contacto con la piel.
- Cualquier desviación respecto al procedimiento indicado en las *Instrucciones de uso de QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus)* puede generar resultados erróneos. Lea las instrucciones atentamente antes de proceder.
- No utilice el kit si algún frasco de reactivo muestra signos de estar dañado o perder líquido.
- **Importante:** Inspeccione los viales antes de utilizarlos. No utilice viales de conjugado o de estándar de IFN- γ que muestren signos de daños o en los que el sello de goma no esté intacto. No utilice viales rotos. Adopte las precauciones de seguridad apropiadas para eliminar los viales de forma segura. Se recomienda usar un destaponador de viales para abrir los viales de conjugado o de estándar de IFN- γ a fin de minimizar el riesgo de lesiones producidas por las tapas metálicas de rosca.
- No mezcle ni utilice las tiras para microplacas, estándar de IFN- γ , diluyente verde o conjugado 100x concentrado de diferentes lotes del QFT-Plus Kit. Otros reactivos (tampón de lavado 20x concentrado, solución enzimática de sustrato y solución enzimática de parada) pueden intercambiarse entre kits siempre y cuando los reactivos no hayan caducado y se anote la información de los lotes.
- Elimine los reactivos no utilizados y las muestras biológicas de acuerdo con la normativa local, regional y nacional correspondiente.
- No utilice el QFT-Plus ELISA Kit después de la fecha de caducidad.
- Se deben seguir en todo momento los procedimientos de laboratorio correctos.
- Asegúrese de que el equipo del laboratorio (por ejemplo, el lavador y el lector de placas) haya sido calibrado y validado para el uso.

Almacenamiento y manipulación de reactivos

Debe prestar especial atención a las fechas de caducidad y condiciones de almacenamiento impresas en las cajas y etiquetas de todos los componentes. No utilice componentes caducados o mal almacenados.

Estabilidad en uso

- Guarde los reactivos del kit ELISA a una temperatura comprendida entre 2-8 °C.
- Proteja en todo momento la solución enzimática de sustrato de la luz directa del sol.

Reactivos reconstituidos sin utilizar

- Consulte el apartado “Protocolo: Realizar el ensayo ELISA” en la página 21 para obtener instrucciones sobre cómo reconstituir los reactivos.
- El estándar reconstituido del kit puede conservarse durante 3 meses como máximo si se almacena a una temperatura de entre 2-8 °C.

Fíjese en la fecha de reconstitución del estándar del kit.

- El conjugado 100x concentrado reconstituido debe volver a almacenarse a una temperatura comprendida entre 2-8 °C y también debe utilizarse durante los 3 meses siguientes.

Fíjese en la fecha de reconstitución del conjugado.

- El conjugado listo para el uso debe utilizarse en las 6 horas siguientes a su preparación.
- El tampón de lavado listo para el uso puede almacenarse a temperatura ambiente un máximo de 2 semanas.
- Las tiras para microplacas son de un solo uso únicamente. Las tiras que no se utilicen se pueden extraer del bastidor de placa y almacenar para su uso posterior.

Manipulación y almacenamiento de material de muestra

Consulte las *Instrucciones de uso de los QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes* (1123668) para obtener información detallada sobre el flujo de trabajo de recogida de sangre para la prueba QFT-Plus.

Protocolo: Realizar el ensayo ELISA

Cuestiones importantes antes de comenzar

Configuración (tiempo necesario para la realización del ensayo)

- Para obtener resultados válidos del ensayo QFT-Plus, el operador debe realizar tareas específicas dentro de los plazos establecidos. Antes de usar el ensayo, se recomienda que el operador planifique cuidadosamente cada etapa del ensayo para conceder la cantidad de tiempo adecuada para llevar a cabo cada etapa. A continuación se indica el tiempo necesario para llevar a cabo el ensayo, así como el tiempo necesario para analizar varias muestras si vienen en lotes.
 - Aproximadamente 3 horas para una placa ELISA
 - <1 hora de trabajo
 - Añadir de 10 a 15 minutos para cada placa adicional

ELISA para IFN- γ

- Consulte el apartado "Contenido del kit" en la página 12 y el apartado "Materiales necesarios pero no suministrados" en la página 14 para obtener información sobre los materiales necesarios para realizar el ensayo ELISA.

Procedimiento

1. Todas las muestras de plasma y los reactivos, excepto el conjugado 100x concentrado, deben estar a temperatura ambiente ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) antes de ser utilizados. Espere por lo menos 60 minutos para permitir el equilibrado.

2. Retire las tiras de la placa ELISA innecesarias del bastidor, vuelva a cerrar la bolsita de aluminio y colóquela de nuevo en la nevera donde quedará almacenada hasta que se necesite.
3. Deje por lo menos 1 tira para los estándares del QFT-Plus y tiras suficientes para el número de sujetos a los que se quiera realizar un diagnóstico (consulte el formato de placa recomendado en la figura 2). A continuación, guarde el bastidor y la tapa para usarlos con el resto de las tiras.
 - 3a. Reconstituya el estándar de IFN- γ añadiendo el volumen de agua desionizada o destilada que se indica en la etiqueta del vial. Mezcle cuidadosamente para evitar la formación de espuma y asegúrese de que todo el contenido del vial se disuelva por completo. Después de reconstituir el estándar de IFN- γ con el volumen correcto se obtiene una solución con una concentración de 8,0 UI/ml.
 - 3b. Utilice el estándar reconstituido para preparar una serie de diluciones de 4 concentraciones de IFN- γ (consulte la figura 1).
 - 3c. Debe generarse una curva estándar con las siguientes concentraciones de IFN- γ :
 - S1 (estándar 1) contiene 4,0 UI/ml
 - S2 (estándar 2) contiene 1,0 UI/ml
 - S3 (estándar 3) contiene 0,25 UI/ml
 - S4 (estándar 4) contiene 0 UI/ml (solo diluyente verde [Green Diluent, GD]).
 - 3d. Los estándares deben analizarse al menos por duplicado.
 - 3e. Prepare diluciones nuevas del estándar del kit para cada ensayo ELISA.

Procedimiento

A	Marque los 4 tubos: S1, S2, S3, S4
B	Añada 150 μ l de GD a S1, S2, S3 y S4
C	Añada 150 μ l del estándar del kit a S1 y mezcle bien
D	Transfiera 50 μ l de S1 a S2 y mezcle bien
E	Transfiera 50 μ l de S2 a S3 y mezcle bien
F	El GD por sí solo sirve como estándar cero (S4)

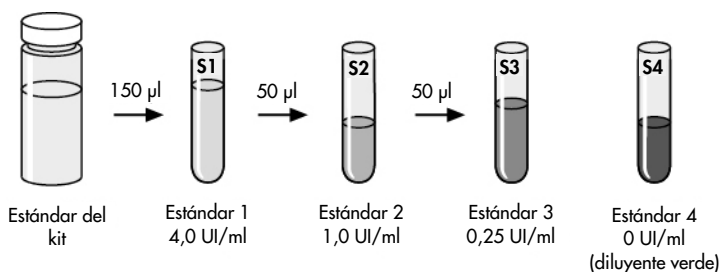


Figura 1. Preparación de la serie de diluciones de curva estándar.

4. Reconstituya el conjugado 100x concentrado liofilizado con 0,3 ml de agua desionizada o destilada. Mezcle cuidadosamente para evitar la formación de espuma y asegurarse de que todo el contenido del vial se disuelva por completo.
 - 4a. El conjugado listo para utilizar se prepara diluyendo la cantidad necesaria de conjugado 100x concentrado en diluyente verde (tabla 1).
 - 4b. El conjugado listo para el uso debe utilizarse en las 6 horas siguientes a su preparación.
 - 4c. Devuelva el conjugado 100x concentrado sin usar a una temperatura de 2 °C a 8 °C justo después del uso.

Tabla 1. Preparación del conjugado (listo para usar)

Número de tiras	Volumen del conjugado (Concentrado de 100x)	Volumen de diluyente verde
2	10 µl	1,0 ml
3	15 µl	1,5 ml
4	20 µl	2,0 ml
5	25 µl	2,5 ml
6	30 µl	3,0 ml
7	35 µl	3,5 ml
8	40 µl	4,0 ml
9	45 µl	4,5 ml
10	50 µl	5,0 ml
11	55 µl	5,5 ml
12	60 µl	6,0 ml

5. Mezcle bien las muestras de plasma procedente de los tubos de recogida de sangre que se hayan almacenado (refrigeradas o congeladas) antes de verterlas en el pocillo ELISA. Las muestras de plasma pueden almacenarse en QFT-Plus Blood Collection Tubes centrifugados durante un máximo de 28 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. O bien, las muestras de plasma extraído pueden almacenarse durante un máximo de 28 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C. Las muestras de plasma extraído también pueden almacenarse a temperaturas por debajo de -20 °C (preferiblemente a menos de -70 °C) durante períodos más largos.

Las muestras de plasma pueden cargarse o usarse directamente desde los tubos de recogida de sangre centrifugados a la placa QFT-Plus ELISA para su medición.

Importante: Si las muestras de plasma se transfieren directamente desde los QFT-Plus Blood Collection Tubes centrifugados, evite mezclar el plasma. Tenga cuidado en todo momento de no interferir en el material de la superficie del gel.

6. Añada 50 µl de conjugado recién preparado listo para usar a cada uno de los pocillos ELISA.
7. Añada 50 µl de muestra de plasma para analizar a los pocillos correspondientes (consulte la distribución recomendada de muestras de ELISA en la figura 2).
8. Por último, añada 50 µl de cada uno de los estándares 1 a 4 a los pocillos correspondientes (consulte la distribución recomendada de muestras de ELISA en la figura 2). Los estándares deben analizarse por duplicado como mínimo.

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

Figura 2. Diseño recomendado de la placa ELISA. S1 (estándar 1), S2 (estándar 2), S3 (estándar 3), S4 (estándar 4). 1N (muestra 1, plasma de control de Nil), 1 TB1 (muestra 1, plasma de TB1), 1 TB2 (muestra 1, plasma de TB2), 1M (muestra 1, plasma de Mitogen).

9. Tape la placa ELISA y mezcle bien el conjugado y las muestras de plasma/estándares durante 1 minuto en un agitador de microplacas a 500-1000 rpm. Evite las salpicaduras.
10. Tape la placa ELISA e incúbela a temperatura ambiente ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 120 ± 5 minutos. La placa ELISA no debe exponerse a la luz directa del sol durante la incubación. Una desviación respecto del rango de temperatura especificado puede dar lugar a resultados erróneos.
11. Durante la incubación de la placa ELISA prepare el tampón de lavado listo para utilizar. Diluya una parte de tampón de lavado concentrado 20x con 19 partes de agua desionizada o destilada y mezcle bien. Se incluye suficiente tampón de lavado 20x concentrado para preparar 2 litros de tampón de lavado listo para utilizar.

12. Cuando finalice la incubación de la placa ELISA, lave los pocillos de la placa con 400 µl de tampón de lavado listo para usar. Realice el paso de lavado 6 veces como mínimo. Por cuestiones de seguridad, se recomienda utilizar un lavador de placas automatizado al manipular muestras de plasmas.

Es muy importante lavar bien las placas para que el ensayo dé los resultados esperados. Asegúrese de que todos los pocillos están completamente llenos de tampón de lavado hasta el borde antes de iniciar cada ciclo de lavado. Se recomienda un período de remojo de al menos 5 segundos entre cada ciclo.

Añada desinfectante normal de laboratorio al depósito de evacuación y siga los procedimientos establecidos para descontaminar materiales potencialmente infecciosos.

13. Coloque la placa ELISA boca abajo sobre un paño absorbente sin pelusa y dé unos toquecitos para escurrir los restos de tampón de lavado que puedan quedar. Añada 100 µl de solución enzimática de sustrato a cada pocillo, tape la placa y mezcle bien durante 1 minuto a 500-1000 rpm con un agitador de microplacas.
14. Tape la placa ELISA e incúbela a temperatura ambiente ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$) durante 30 minutos. La placa ELISA no debe exponerse a la luz directa del sol durante la incubación.
15. Luego de 30 minutos de incubación, añada 50 µl de solución enzimática de parada a cada pocillo de la placa en el mismo orden en el que se añadió el sustrato y mezcle bien a una velocidad entre 500 y 1000 rpm con un agitador de microplacas.
16. Mida la densidad óptica (Optical Density, OD) de los pocillos ELISA en los 5 minutos siguientes a la detención de la reacción utilizando un lector de microplacas con un filtro de 450 nm y un filtro de referencia de 620 nm a 650 nm. Los valores de OD se utilizan para calcular los resultados.

Resultados (cálculos)

El QFT-Plus Analysis Software se utiliza para analizar los datos sin procesar y calcular los resultados. Se encuentra disponible en www.qiagen.com. Asegúrese de utilizar la versión más reciente del QFT-Plus Analysis Software.

El software evalúa la calidad del ensayo, genera una curva estándar y proporciona un resultado para cada sujeto, calculado tal y como se describe en el apartado "Interpretación de los resultados" en la página 31. El software informa acerca de todas las concentraciones superiores a 10 UI/ml como ">10", ya que dichos valores no corresponden al intervalo lineal validado de ELISA.

En lugar de utilizar QFT-Plus Analysis Software, pueden determinarse los resultados con el siguiente método.

Generación de valores de curva estándar y muestra

Cuando no se utiliza el QFT-Plus Analysis Software

La determinación de la curva estándar y la determinación de los valores de UI/ml de la muestra requieren un programa de hojas de cálculo, como Microsoft® Excel®, si no se usa el QFT-Plus Analysis Software.

Uso de un programa de hoja de cálculo

1. Determine los valores de OD medios de las réplicas del estándar del kit para cada placa.
2. Genere una curva estándar en escala $\log_{(e)}-\log_{(e)}$ mediante el trazado del $\log_{(e)}$ de la OD media (eje y) con relación al $\log_{(e)}$ de la concentración de IFN- γ en los estándares en UI/ml (eje x), sin incluir el estándar cero en el cálculo. Calcule la línea que mejor se adapte a la curva estándar mediante análisis de regresión.

- Utilice la curva estándar para determinar la concentración de IFN- γ (UI/ml) en cada una de las muestras de plasma de la prueba, utilizando para ello el valor de OD de cada muestra.
- Estos cálculos pueden realizarse con diversos paquetes de software que existen en el mercado para lectores de microplacas, así como con hojas de cálculos o programas estadísticos (como por ejemplo Microsoft Excel). Se recomienda usar estos paquetes para calcular el análisis de regresión, el coeficiente de variación (Coefficient of Variation, % CV) de los estándares y el coeficiente de correlación (r) de la curva estándar.

Cálculo de la muestra

Si se obtuvieron las siguientes lecturas de densidad óptica para los estándares, los cálculos en los que se utiliza $\log(e)$ deberían coincidir con los de la tabla 2.

Tabla 2. Curva estándar

Estándar	UI/ml	Valores a y b de OD	Valor medio de OD	%CV	\log_{10} UI/ml	\log_{10} Media (DO)
Estándar 1	4	1,089; 1,136	1,113	3,0	1,386	0,107
Estándar 2	1	0,357; 0,395	0,376	7,1	0,000	-0,978
Estándar 3	0,25	0,114; 0,136	0,125	NA	-1,386	-2,079
Estándar 4	0	0,034; 0,037	0,036	NA	NA	NA

La ecuación de la curva es $y = 0,7885(x) - 0,9837$, donde "m" = 0,7885 y "c" = -0,9837. Estos valores se usan en la ecuación $X = (Y-c)/m$ para resolver la X. Según la curva estándar, el coeficiente de correlación calculado (r) = 1,000. NA: No aplicable.

Si se emplea el criterio especificado en el apartado "Control de calidad de la prueba" en la página 29, se determina la validez del ensayo.

La curva estándar (tabla 2) se usa para convertir las respuestas de OD del antígeno a Unidades Internacionales (UI/ml).

Tabla 3. Cálculo de la muestra

Antígeno	Valor de OD	\log_{10} valor de OD	X	e^x (UI/ml)	Antígeno -Nil (UI/ml)
Nil	0,037	-3,297	-2,934	0,05	-
TB1	1,161	0,149	1,437	4,21	4,16
TB2	1,356	0,305	1,634	5,12	5,07
Mitogen	1,783	0,578	1,981	7,25	7,20

Se corrigen los valores de IFN- γ (en UI/ml) para TB1, TB2 y Mitogen para el fondo restando el valor de UI/ml obtenido para el control de Nil respectivo. Estos valores corregidos se usan para interpretar los resultados de la prueba.

Control de calidad de la prueba

La exactitud de los resultados de la prueba dependerá de la precisión de la curva estándar que se genere. Por consiguiente, deben revisarse los resultados extraídos de los estándares antes de interpretar los resultados correspondientes a las muestras analizadas.

Para que el ensayo ELISA se considere válido:

- El valor de OD medio para el estándar 1 debe ser $\geq 0,600$.
- El % CV de los valores de las réplicas del estándar 1 y el estándar 2 debe ser ≤ 15 %.
- Los valores OD de las réplicas del estándar 3 y del estándar 4 no deben alejarse en más de 0,040 unidades de densidad óptica de su media.
- El coeficiente de correlación (r) calculado a partir de los valores medios de absorbancia de los estándares debe ser $\geq 0,98$.
- Si no se cumplen los requisitos indicados, se considera que el análisis no es válido y es preciso repetirlo.
- El valor de OD medio para el estándar cero (diluyente verde) debería ser $\leq 0,150$. Si el valor de OD medio es $> 0,150$, debería revisarse el procedimiento de lavado de placas.

El QFT-Plus Analysis Software calcula y muestra los valores de estos parámetros de control de calidad.

Cada laboratorio debe determinar los tipos adecuados de materiales de control y la frecuencia de análisis de acuerdo con la normativa local, regional y nacional, u otros organismos de acreditación pertinentes. Deben considerarse los procedimientos de evaluación de calidad externa y validación alternativa.

Nota: Los plasmas a los que se les añadió IFN- γ recombinante han mostrado reducciones de hasta el 50 % en la concentración al almacenarlos a una temperatura de entre 2-8 °C y -20 °C. No se recomienda usar IFN- γ recombinante para establecer estándares de control.

Interpretación de los resultados

Los resultados del QFT-Plus se interpretarán según los siguientes criterios (tabla 4).

Importante: Para diagnosticar o descartar una tuberculosis, o para evaluar la probabilidad de una LTBI, es necesario recabar una serie de datos epidemiológicos, extraídos de la anamnesis, médicos y diagnósticos que habrá que tener en cuenta a la hora de interpretar los resultados del QFT-Plus. Consulte la orientación general sobre el diagnóstico y el tratamiento de la TB y la LTBI:

(<https://www.cdc.gov/tb/publications/guidelines/default.htm>).

Tabla 4. Interpretación de los resultados de la prueba QFT-Plus

Nil (UI/ml)	TB1 menos Nil (UI/ml)	TB2 menos Nil (UI/ml)	Mitogen menos Nil (UI/ml)*	Resultado de QFT-Plus	Informe/ Interpretación
≤8,0	≥0,35 y ≥25 % de Nil	Cualquiera	Cualquiera	Positivo [†]	Infección por <i>M. tuberculosis</i> probable
	Cualquiera	≥0,35 y ≥25 % de Nil			
	<0,35 o ≥0,35 y <25 % de Nil	<0,35 o ≥0,35 y <25 % de Nil	≥0,50	Negativo	Infección por <i>M. tuberculosis</i> improbable
	<0,35 o ≥0,35 y <25 % de Nil	<0,35 o ≥0,35 y <25 % de Nil	<0,50	Indeterminado [‡]	La probabilidad de infección por <i>M. tuberculosis</i> no se puede determinar
>8,0 [§]	Cualquiera				

* Las reacciones al control positivo del Mitogen (y en ocasiones al antígeno TB) pueden estar fuera del rango del lector de microplacas. Esto no afecta a los resultados de la prueba. El QFT-Plus Software notifica los valores >10 UI/ml como >10 UI/ml.

[†] Si no se sospecha una infección por *M. tuberculosis*, un resultado inicialmente positivo puede confirmarse volviendo a analizar por duplicado las muestras de plasma originales con el ensayo QFT-Plus ELISA. Si el análisis duplicado de una o de ambas réplicas da positivo, se considerará que el resultado del análisis es positivo.

[‡] Consulte el apartado "Guía de resolución de problemas", página 67 para conocer las posibles causas.

[§] En estudios clínicos, menos del 0,25 % de los sujetos presentaron niveles de IFN-γ de >8,0 UI/ml para el valor de Nil.

Es imposible establecer correlación alguna entre el nivel de IFN- γ medido y la fase o el grado de infección, de respuesta inmunitaria o la probabilidad de que la enfermedad entre en su fase activa. Es extraño obtener una respuesta positiva al antígeno TB en personas negativas al Mitogen, aunque se han dado casos en pacientes con tuberculosis. Esto indica que la respuesta del IFN- γ a los antígenos TB es superior que a la del Mitogen, lo que es factible porque el nivel de Mitogen no estimula al máximo los linfocitos para que produzcan IFN- γ .

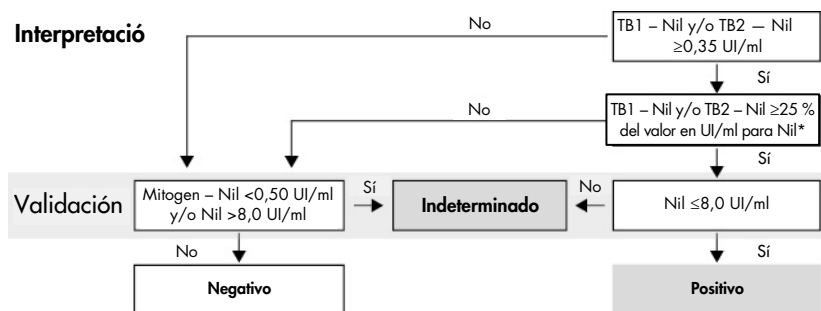


Figura 3. Interpretación de la prueba QFT-Plus. * Para que el valor TB1 menos Nil o TB2 menos Nil sea válido, $\geq 25\%$ del valor en UI/ml de Nil debe proceder del mismo tubo que el resultado original $\geq 0,35$ UI/ml.

Limitaciones

Los resultados del análisis QFT-Plus deben completarse con la historia epidemiológica del individuo, el estado físico actual y otras evaluaciones diagnósticas.

Los sujetos que presentan valores Nil superiores a 8 UI/ml se clasifican como “indeterminados” porque las reacciones a los antígenos de TB superiores en un 25 % se consideran fuera de los límites de medición del ensayo.

- El valor predictivo de un resultado de QFT-Plus positivo en el diagnóstico de la infección por *M. tuberculosis* depende de la probabilidad de infección, que se evalúa mediante hallazgos epidemiológicos, diagnósticos, extraídos de la anamnesis, etcétera.
- El diagnóstico de LTBI requiere que se descarte la tuberculosis a partir de un ensayo médico, incluyendo la evaluación de los análisis médicos y de diagnóstico actuales de la enfermedad según se indica.
- El resultado negativo debe considerarse junto con los datos extraídos de la anamnesis y médicos del sujeto relacionados con la probabilidad de contraer infección por *M. tuberculosis* y el posible riesgo de progresión de la tuberculosis, particularmente en sujetos con una función inmunitaria deteriorada.

Pueden darse resultados poco fiables o indeterminados si:

- Desviaciones respecto del procedimiento descrito en las instrucciones de uso
- Transporte/manipulación incorrectos de las muestras de sangre
- Niveles elevados de IFN- γ en circulación o presencia de anticuerpos heterófilos
- Se han superado los tiempos validados de la sangre desde la extracción de la muestra hasta la incubación. Consulte las *Instrucciones de uso de los QFT-Plus Blood Collection Tubes* (1123668).

Características de rendimiento

Estudios clínicos

Dado que no existe una prueba estándar definitiva para confirmar o descartar el diagnóstico de LTBI, no puede valorarse de forma práctica una estimación de la sensibilidad y la especificidad del ensayo QFT-Plus. La especificidad del QFT-Plus se ha determinado mediante aproximación a partir de la evaluación de las tasas de falsos positivos en personas con bajo riesgo (sin factores de riesgo conocidos) de infección por tuberculosis. La sensibilidad también se ha determinado mediante aproximación a partir de la evaluación de grupos de sujetos de estudio con tuberculosis activa confirmada mediante cultivo. Asimismo, el rendimiento del ensayo se ha evaluado para determinar las tasas de positivos y negativos en una población de individuos sanos con factores de riesgo identificados de infección por tuberculosis (una población con riesgo mixto).

Especificidad

Se realizó un estudio multicéntrico que evaluó la especificidad clínica del ensayo QFT-Plus formado por 733 sujetos de estudio considerados con bajo riesgo de infección por *M. tuberculosis*, o bien sin factores de riesgo de exposición a la infección o la enfermedad. Los datos demográficos y los factores de riesgo de exposición a la tuberculosis se determinaron mediante un cuestionario estándar en el momento de la prueba. El estudio se llevó a cabo en cuatro centros independientes, incluido uno en Estados Unidos, dos en Japón y uno en Australia. La prueba QFT-Plus se comparó con la prueba QuantiFERON-TB Gold-In-Tube (QFT). Se proporciona un resumen de los datos de rendimiento clínico de la especificidad, desglosados según el centro y la región, en la tabla 5. Los resultados del rendimiento se basan en el número total de análisis válidos. No se presentaron resultados indeterminados.

Tabla 5. Especificidad del QFT-Plus en una población de bajo riesgo

Centro	N	Positivo		Negativo		Indeterminado		Especificidad (IC 95%)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
Estados Unidos de América									
(N.º 1) USA-4	212	2	4	210	208	0	0	99,06 % (210/212) (96,63-99,74)	98,11 % (208/212) (95,25-99,26)
Japón									
(N.º 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.º 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 de Japón	322	4	7	318	315	0	0	98,76 % (318/322) (96,85-99,52)	97,83 % (315/322) (95,6-98,9)
Australia									
(N.º 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 especificidad del QFT-Plus fue del 98,11 % en EE. UU., del 97,83 % en Japón y del 95,48 % en Australia. La especificidad global del QFT-Plus fue del 97,27 % (713/733). La especificidad de QFT fue del 99,06 % en EE. UU., del 98,76 % en Japón y del 95,98 % en Australia. La especificidad global de QFT fue del 98,09 % (719/733):

Se muestra el desglose de los resultados según el tipo de tubo de antígeno de TB y las combinaciones del mismo con el fin de proporcionar un ejemplo de los resultados esperados en una población de bajo riesgo (tabla 6).

Tabla 6. Resultados del estudio sobre la especificidad del QFT-Plus según el TB Antigen Tube.

Interpretación según el antígeno de TB-Nil		QFT-Plus (positivo según TB1 o TB2)* TB1 y TB2 positivos concordantes (análisis alternos)†		
UI/ml en	TB1	TB2		
Positivo	10	18	20	8
Negativo	723	715	713	725
Indeterminado	0	0	0	0
Especificidad (IC 95%)	–	–	97,3 % (713/733) (95,8-98,2)	–
Tasa de negatividad (IC del 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)

* Interpretación con base en un valor de antígeno de TB – Nil $\geq 0,35$ UI/ml en ambos (TB1 y TB2) o cualquiera de los tubos de TB para ajustarse a los criterios de interpretación para que la prueba QFT-Plus (TB1 o TB2) se determine como positiva.

† El análisis alterno se proporciona únicamente con fines informativos.

En los sujetos con bajo riesgo de infección por TB, un total de 20/733 sujetos dieron un resultado positivo. De estos, únicamente 8 sujetos dieron un valor $>0,35$ UI/ml en los tubos TB1 y TB2. Se llevó a cabo una comparación de los ensayos QFT frente al QFT-Plus en la cohorte del estudio de bajo riesgo y mostró una concordancia general del 97,5 % (715/733) y un porcentaje de concordancia negativa del 98,3 % (707/719).

Sensibilidad

Mientras no exista una prueba estándar definitiva para el diagnóstico de LTBI, se acepta el método del cultivo microbiológico de *M. tuberculosis*, ya que la infección por TB es el precursor necesario para la enfermedad.

Se realizó un estudio multicéntrico que evaluó la sensibilidad clínica del QFT-Plus formado por 434 sujetos de estudio que presentaban signos y síntomas de *M. tuberculosis* activa confirmada mediante cultivo o PCR; tales sujetos no estaban en tratamiento para TB o llevaban ≤ 14 días de tratamiento antes de la recogida de sangre. El estudio se llevó a cabo en 7 centros independientes, incluyendo tres centros en Estados Unidos, tres centros en Japón y un centro en Australia. La prueba QFT-Plus se comparó con la prueba QuantiFERON-TB Gold in Tube (QFT). Se proporciona un resumen de los datos de rendimiento clínico de sensibilidad, desglosados según el centro de estudio y el país, en la tabla 7. Los resultados del rendimiento se basan en el número total de análisis válidos. La frecuencia de los resultados indeterminados para el QFT y el QFT-Plus fue del 2,3 % (10/434) y 2,5 % (11/434), respectivamente.

Tabla 7. Resumen del rendimiento clínico del estudio sobre sensibilidad desglosado según el centro, el país y en general

Centro	N	Positivo		Negativo		Indeterminado		Sensibilidad (IC del 95 %)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
Estados Unidos de América									
(N.º 1) USA-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.º 2) USA-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.º 3) USA-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 de Estados Unidos	53	47	47	6	6	0	0	88,7 % (47/53) (77,4-94,7)	88,7 % (47/53) (77,4-94,7)
Japón									
(N.º 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.º 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)

La tabla continúa en la página siguiente

La tabla de la página anterior continúa aquí

Tabla 7. Resumen del rendimiento clínico del estudio sobre sensibilidad desglosado según el centro, el país y en general (continuación)

Centro	N	Positivo		Negativo		Indeterminado		Sensibilidad (IC del 95 %)	
		QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus	QFT	QFT-Plus
(N.º 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 de Japón	352	328	322	15	19	9	11	95,63 % (328/343) (92,91- 97,33)	94,43 % (322/341) (91,5-96,4)
Australia									
(N.º 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)

El análisis de la tabla anterior no incluye resultados indeterminados.

La sensibilidad del QFT-Plus fue del 88,7 % en EE. UU., del 94,43 % en Japón y del 100,0 % en Australia. La sensibilidad global del QFT-Plus fue del 94,09 % (398/423). La sensibilidad del QFT fue del 88,7 % en EE. UU., del 95,63 % en Japón y del 96,43 % en Australia. La sensibilidad global del QFT fue del 94,81 % (402/424).

Se muestra el desglose de los resultados según el tipo de tubo de antígeno de TB y las combinaciones de tubos con el fin de proporcionar un ejemplo de los resultados esperados en una población con infección por TB confirmada (tabla 8).

Tabla 8. Resultados del estudio sobre la sensibilidad del QFT-Plus según el TB Antigen Tube

Interpretación basada en antígenos de TB-Nil en UI/ml	Interpretación basada en antígenos de TB-Nil en UI/ml		QFT-Plus (positivo según TB1 o TB2)
	TB1	TB2	
Positivo	388	397	398
Negativo	32	26	25
Indeterminado	14	11	11
Sensibilidad* (IC del 95 %)	–	–	94 % (398/423) (91,4-96,0)
Tasa de positividad *(IC del 95 %)	92,4 % (388/420) (89,4-94,6)	93,9 % (397/423) (91,1-95,8)	–

* Descartando valores indeterminados.

Se evaluó una comparación de los ensayos QFT y QFT-Plus en la cohorte con TB activa confirmada por cultivo (cohortes del estudio de sensibilidad) y mostró una concordancia general de 95,9 % y un porcentaje de concordancia positiva del 97,3 % (391/402).

Tabla 9. Razones de verosimilitudes (CV) del QFT-Plus

Centro*	Sensibilidad	Especificidad	CV+	CV-
Australia	100,00 %	95,48 %	22,11	0,00
Japón	94,43 %	97,83 %	43,44	0,06
Estados Unidos de América	88,68 %	98,11 %	47,00	0,12

* Total

Rendimiento en sujetos con factores de riesgo identificados para una infección por MTB (individuos con riesgo mixto)

Se evaluó una cohorte de 601 individuos con factores de riesgo mixto de infección por TB (por ejemplo, positividad de VIH, antecedentes de tratamiento de TB activa o latente, exposición a casos de TB activa, estado de los profesionales sanitarios, etcétera) con las pruebas QFT y QFT-Plus. Los factores de riesgo se identificaron con un cuestionario normalizado y los sujetos no mostraron síntomas asociados a la TB activa en el momento de su selección. Se presentan datos demográficos y factores de riesgo en la tabla 10. En esta población, 68/601 (11,3 %) sujetos dieron un resultado positivo del QFT-Plus, con un porcentaje de concordancia positiva (PCP) y un porcentaje de concordancia negativa (PCN) de 98,44 % y 99,07 %, respectivamente (tabla 11). En esta cohorte de 68 sujetos con resultado positivo en el QFT-Plus, un total de 62 sujetos resultaron positivos mediante los tubos TB1 y TB2, 2 sujetos resultaron positivos mediante TB1 solamente y 4 sujetos resultaron positivos mediante TB2 solamente. No se observaron resultados indeterminados (0/601).

Tabla 10. Datos demográficos y factores asociados al riesgo de infección por TB en un cohorte mixto

Sujetos totales (601)		Número	Porcentaje
Sexo	Masculino	539	89,7 %
	Femenino	62	10,3 %
Edad (años)	Intervalo	18-70	–
	Media	46,7	–
Vacunados con BCG	Sí	15	2,5 %
	No	586	97,5 %
Infectados por VIH o positivos en virus HTLV	Sí	12	2,0 %
	No	589	98 %
Diagnosticados previamente con TB activa	Sí	11	1,8 %
	No	590	98,2 %
Positivo en la prueba cutánea de la tuberculina (Tuberculin Skin Test, TST)/prueba de Mantoux para TB	Sí	47	7,8 %
	No	554	92,2 %
Ha sido tratado alguna vez por TB activa o latente	Sí	35	5,8 %
	No	566	94,2 %
Ha vivido, trabajado o hecho labores voluntarias (>1 mes) en la cárcel	Sí	373	62,1 %
	No	228	37,9 %
Ha vivido trabajado o ha hecho labores voluntarias (>1 mes) en un albergue para personas sin hogar	Sí	525	87,4 %
	No	76	12,6 %
Profesional sanitario	Sí	8	1,3 %
	No	593	98,7 %
Contacto estrecho de alguien con TB activa o sospechoso de padecerla	Sí	9	1,5 %
	No	592	98,5 %

Tabla 11. Resumen de rendimiento del QFT-Plus frente al QFT en sujetos con factores de riesgo conocidos de infección latente por TB

		QFT		
		Positivo (+)	Negativo (-)	Total
QFT-Plus	Positivo (+)	63	5*	68
	Negativo (-)	1*	532	533
	Total	64	537	601

*Las 6 muestras discordantes tuvieron niveles de IFN- γ de tubos de antígeno de TB cercanos a los valores de corte del ensayo.

El porcentaje de concordancia positiva (PCP) y el porcentaje de concordancia negativa (PCN) entre los resultados del QFT y el QFT-Plus fueron los que se indican a continuación:

- PCP: 98,44 % (63/64), IC del 95 % (91,67; 99,72)
- PCN: 99,07 % (532/537), IC del 95 % (97,84; 99,60)

En la tabla 12 a continuación se ilustra el rendimiento del QFT-Plus en comparación con la prueba QFT en sujetos del estudio vacunados con BCG.

Tabla 12. Rendimiento del QFT-Plus en comparación con la prueba QFT en sujetos del estudio vacunados con BCG (datos combinados de sensibilidad, especificidad y sujetos del estudio con LTBI)

		QFT		
		Positivo (+)	Negativo (-)	Total
QFT-Plus	Positivo (+)	66	5	71
	Negativo (-)	3	268	271
	Total	69	273	342*

* Dos sujetos del estudio de sensibilidad se descartaron del análisis debido a los resultados indeterminados obtenidos

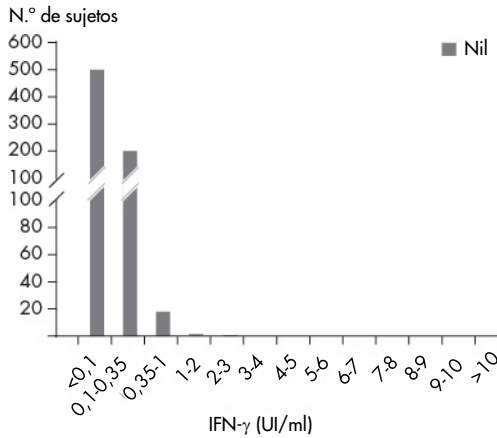
- PCP = 95,6 % (66/69), IC del 95 % (87,98; 98,51)
- PCN = 98,2 % (268/273), IC del 95 % (95,79; 99,22)

Valores esperados

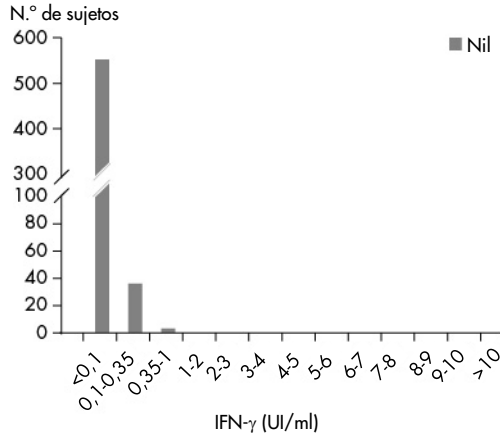
Distribuciones de respuesta observadas: desglose del riesgo

En los ensayos clínicos se observaron varias respuestas del IFN- γ a los tubos de TB1, TB2 y de control y se desglosó el riesgo de infección por *M. tuberculosis* (de la figura 4 a la figura 7). El grupo de riesgo mixto está formado por sujetos representativos de una población de ensayo general, formada por sujetos con y sin factores de riesgo de la exposición a la tuberculosis y en los que es poco frecuente la tuberculosis activa (es decir, LTBI).

A



B



C

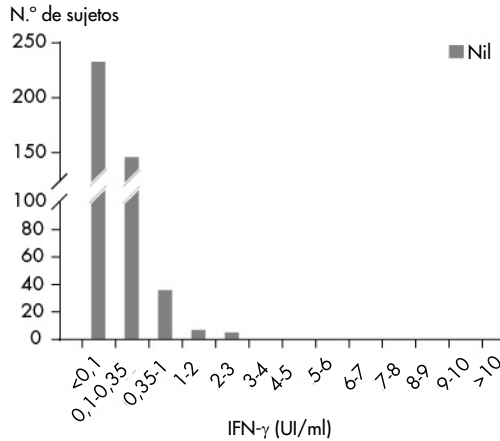
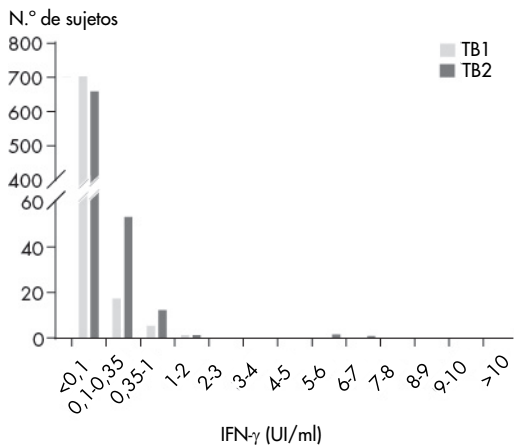
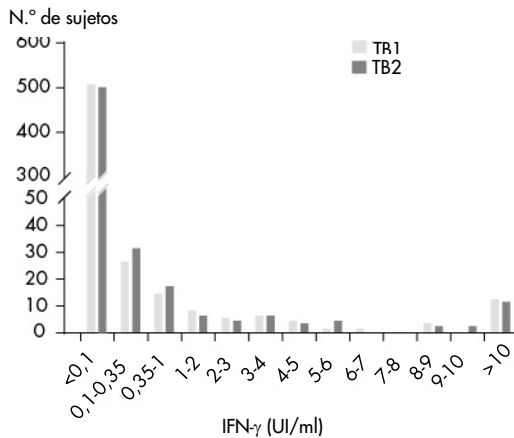


Figura 4. Distribución de Nil. A Distribución de valores de Nil en la población de bajo riesgo (n = 744). B Distribución de valores de Nil en la población de riesgo mixto (n = 601). C Distribución de valores de Nil en la población con infección por *M. tuberculosis* (n=416) confirmada mediante cultivo.

A



B



C

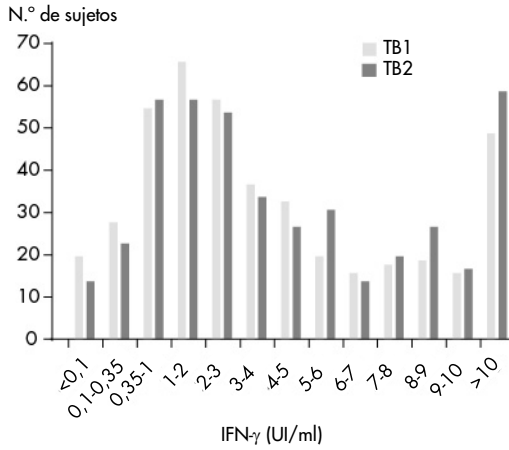
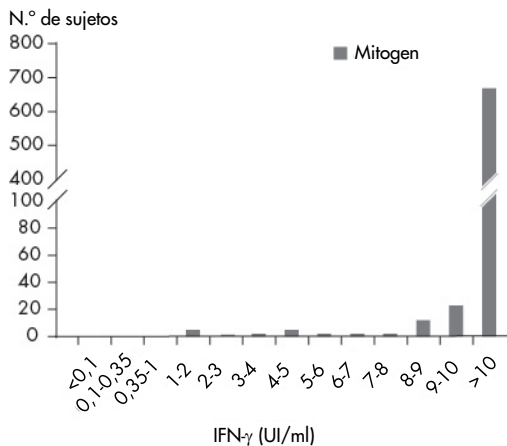
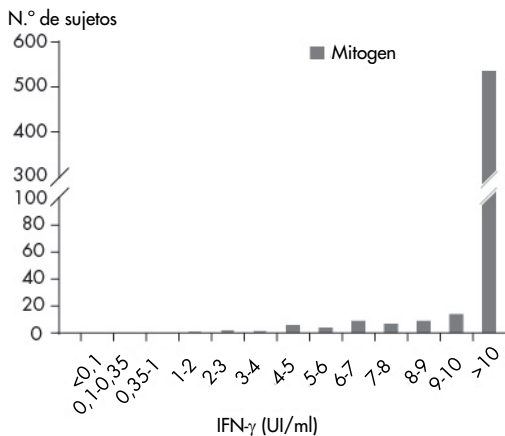


Figura 5. Distribución de TB1 y TB2 (sustracción de Nil). A Distribución de valores de TB1 y TB2 (sustracción de Nil) en la población de bajo riesgo (n = 744). B Distribución de valores de TB1 y TB2 (sustracción de Nil) en la población de riesgo mixto (n = 601). C Distribución de valores de TB1 y TB2 (sustracción de Nil) en la población con infección por *M. tuberculosis* (n=416) confirmada mediante cultivo.

A



B



C

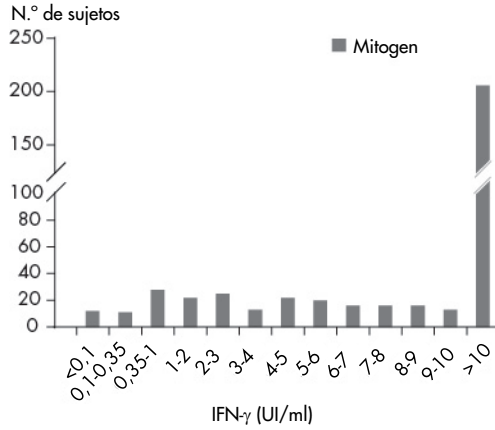


Figura 6. Distribución de Mitogen (sustracción de Nil). **A** Distribución de valores de Mitogen (sustracción de Nil) en la población de bajo riesgo (n = 744). **B** Distribución de valores de Mitogen (sustracción de Nil) en la población de riesgo mixto (n = 601). **C** Distribución de valores de Mitogen (sustracción de Nil) en la población con infección por *M. tuberculosis* (n=415) confirmada mediante cultivo.

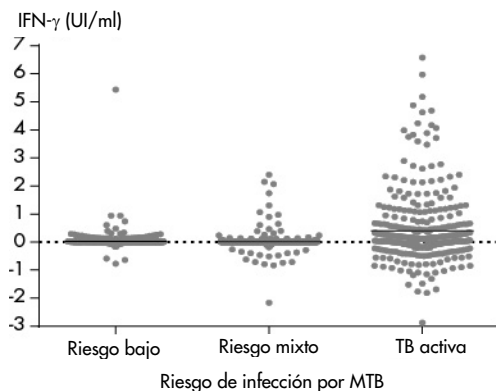


Figura 7. Diferencia observada entre valores de TB1 y TB2 (sustracción de Nil), desglosada por riesgo.

Incluye datos del estudio de cohorte de riesgo mixto para mostrar las diferencias entre cohortes de bajo riesgo, riesgo activo y riesgo mixto. En este análisis de los datos se incluyó un cohorte de riesgo mixto con factores de riesgo conocidos. Por tanto, del cohorte de riesgo bajo $n = 733$, del cohorte de riesgo mixto $n = 588$ y del cohorte de TB activa $n = 357$. Las diferencias cuantitativas en UI/ml en cada sujeto se obtuvieron restando el valor de TB1 del valor de TB2.

Resumen de seguridad y rendimiento

Puede consultar el resumen de seguridad y rendimiento en el sitio web de la base de datos europea sobre productos sanitarios (European Database on Medical Devices, EUDAMED).

Características del rendimiento del ensayo

Rendimiento analítico

Corte del ensayo

Se determinó el valor de corte del ensayo QFT-Plus con los datos de 216 sujetos que no presentaban factores de riesgo identificados de exposición a TB, que habían sido vacunados con BCG y se suponía que estaban libres de infección, y 118 sujetos con infección por *M. tuberculosis* confirmada mediante cultivo. Los datos de sensibilidad y especificidad se combinaron y se analizaron con el análisis de la curva ROC (Receiver Operator Characteristic). Los datos de sensibilidad y especificidad analizados con el análisis ROC demostraron que el valor de corte óptimo de ELISA era 0,35 UI/ml (consulte la figura 8).

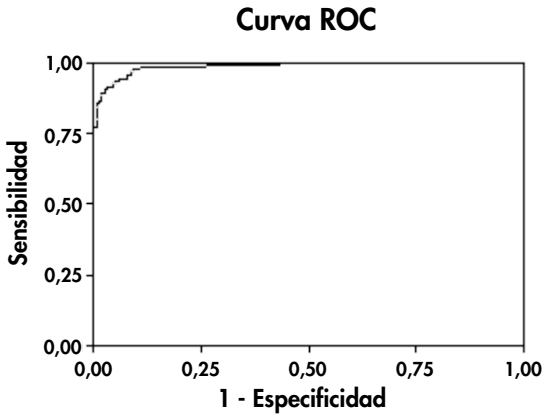


Figura 8. Curva ROC para la respuestas de ESAT-6 o CFP-10.

Tabla 13. Valores de sensibilidad y especificidad para el ensayo ELISA en distintos valores de corte

Valor de corte en UI/ml para IFN- γ	% de sensibilidad	IC del 95 %	% de especificidad	IC del 95 %	Sensibilidad + Especificidad
0,20	91,53	Del 84,97 % al 95,86 %	96,31	Del 92,87 % al 98,40 %	187,84
0,23	91,53	Del 84,97 % al 95,86 %	96,77	Del 93,47 % al 98,69 %	188,30
0,26	90,68	Del 83,93 % al 95,25 %	96,77	Del 93,47 % al 98,69 %	187,45
0,28	90,68	Del 83,93 % al 95,25 %	97,24	Del 94,08 % al 98,98 %	187,92
0,30	89,83	Del 82,91 % al 94,63 %	97,24	Del 94,08 % al 98,98 %	187,07
0,31	88,98	Del 81,90 % al 94,00 %	97,24	Del 94,08 % al 98,98 %	186,22
0,33	88,98	Del 81,90 % al 94,00 %	97,70	Del 94,71 % al 99,25 %	186,68
0,35	88,98	Del 81,90 % al 94,00 %	98,16	Del 95,35 % al 99,50 %	187,14
0,39	88,14	Del 80,90 % al 93,36 %	98,16	Del 95,35 % al 99,50 %	186,3
0,42	87,29	Del 79,90 % al 92,71 %	98,16	Del 95,35 % al 99,50 %	185,45
0,43	86,44	Del 78,92 % al 92,05 %	98,16	Del 95,35 % al 99,50 %	184,6
0,45	86,44	Del 78,92 % al 92,05 %	98,62	Del 96,01 % al 99,71 %	185,06

La tabla continúa en la página siguiente

La tabla de la página anterior continúa aquí

Tabla 13. Valores de sensibilidad y especificidad para el ensayo ELISA en distintos valores de corte

Valor de corte en UI/ml para IFN- γ	% de sensibilidad	IC del 95 %	% de especificidad	IC del 95 %	Sensibilidad + Especificidad
0,47	85,59	Del 77,94 % al 91,38 %	99,08	Del 96,71 % al 99,89 %	184,67
0,48	84,75	Del 76,97 % al 90,70 %	99,08	Del 96,71 % al 99,89 %	183,83
0,50	83,90	Del 76,00 % al 90,02 %	99,08	Del 96,71 % al 99,89 %	182,98

Linealidad

Se ha demostrado la linealidad del ensayo QFT-Plus ELISA mediante la colocación aleatoria de 5 réplicas de 11 grupos de plasma de concentraciones conocidas de IFN- γ en la placa ELISA. La línea de regresión lineal presenta una pendiente de $1,002 \pm 0,011$ y un coeficiente de correlación de 0,99 (figura 9).

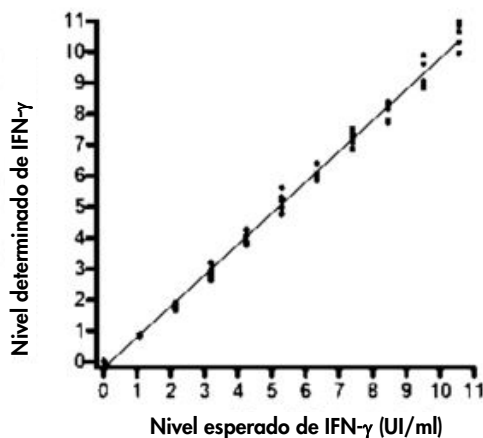


Figura 9. Ilustración del análisis de regresión del estudio de linealidad: media de solución de concentración elevada = $-0,24 + 0,9964 \cdot \text{valor esperado}$.

Reproducibilidad

Se realizó un estudio multicéntrico de reproducibilidad para evaluar el rendimiento del ensayo QFT-Plus en los centros de estudio con varios operadores. Este fue un estudio prospectivo en tres centros externos de análisis y un centro de recogida. Se registraron los sujetos de estudio con un total dividido en 32 positivos y 34 negativos (determinados mediante la prueba QFT). Los sujetos de estudio eran profesionales sanitarios de Estados Unidos. Los sujetos de estudio representaban a grupos con riesgo mixto de exposición a la TB debido a su profesión o por ser profesionales sanitarios nacidos en el extranjero y que provienen de una zona con una tasa de TB por encima de 50/100 000.

Se obtuvieron tres tubos de recogida de sangre con heparina de litio de cada sujeto del estudio en el centro de recogida. A continuación, los tubos de recogida de sangre con heparina de litio se transfirieron a cada uno de los tres centros de análisis donde se dividieron en alícuotas en dos conjuntos de QFT-Plus Blood Collection Tubes (QFT-Plus TB1, TB2, Mitogen y Nil) y posteriormente se analizaron según el procedimiento del ensayo QFT-Plus. En cada centro, un mínimo de dos operadores ejecutaron las dos pruebas por cada sujeto del estudio de forma independiente. Los operadores no conocían los resultados obtenidos por el otro operador ni conocían el resultado de la prueba del QFT del sujeto del estudio.

Se generaron seis resultados entre los tres centros de análisis por cada uno de los 66 sujetos del estudio, lo que dio como resultado un total de 396 puntos de datos. En la tabla 14 se proporciona un resumen de los resultados del resumen de reproducibilidad.

Tabla 14. Resumen de los resultados del estudio de reproducibilidad: % de concordancia de los resultados cualitativos dentro del centro entre los operadores; N = 66 muestras de pacientes

Centro 1: 2 operadores	Centro 2: 2 operadores	Centro 3: 3 operadores
64/66 = 96,97 %	64/66 = 96,97 %	59/66 = 89,39%
Concordancia de resultados cualitativos del conjunto de tubos 1 y el conjunto de tubos 2	Concordancia de resultados cualitativos del conjunto de tubos 1 y el conjunto de tubos 2	Concordancia de resultados cualitativos del conjunto de tubos 1 y el conjunto de tubos 2

El porcentaje de concordancia cualitativa en todos los centros de estudio es del 94,7 % (375/396). En este cálculo, el número total de los resultado de la prueba en concordancia (375) incluye las instancias donde hay una concordancia de los 6 resultados, concordancia de 5 de 6 resultados, concordancia de 4 de 6 resultados y concordancia de 3 de 6 resultados, combinados.

Repetibilidad entre lotes

Se llevó a cabo un estudio para determinar la variabilidad entre lotes de los QFT-Plus Blood Collection Tubes al compararse con los tubos de QFT. Se analizó un total de 30 sujetos (15 positivos en TB confirmados y 15 negativos en TB confirmados, determinados mediante la prueba QFT). En este estudio se incluyeron tres lotes por separado de QFT-Plus TB1, TB2 y QFT TB Blood Collection Tubes. Se analizaron tres réplicas por donante por lote de tubos de recogida de sangre. Los tubos de Nil y Mitogen se analizaron con una réplica cada uno.

Se extrajo sangre de cada sujeto en tubos de recogida de sangre con heparina de litio y, a continuación, se transfirió 1 ml de sangre a cada uno de los QFT-Plus y QFT Blood Collection Tubes y se analizaron de acuerdo con el procedimiento del ensayo. En cada grupo de muestra positiva y negativa, la varianza total de los resultados del QFT-Plus Tube no debe haber sido considerablemente superior a la varianza total de los resultados del QFT Tube. Esta varianza se determinó a partir del valor p proporcionado por la prueba de homogeneidad de varianza (HV) de Levene. Si el valor de p no fue significativo ($p > 0,05$) o la variación de los QFT-Plus TB Tubes fue menor que la del QFT TB Tube, quiere decir que hubo varianza entre los QFT-Plus y QFT TB Tubes.

Tabla 15. Comparación de varianzas entre QFT-Plus y QFT TB Blood Collection Tubes con el uso de la prueba de HV de Levene

Tipo de muestra	Diferencia	Efecto	Dependiente	Valor p	Significativo
Positivo	TB2 frente a QFT	Sub_tipo	Residual	0,0378	Sí
Positivo	TB2 frente a QFT	Sub_tipo	Residual	0,0540	No
Negativo	TB2 frente a QFT	Sub_tipo	Residual	0,1025	No
Negativo	TB2 frente a QFT	Sub_tipo	Residual	0,6344	No

La variación entre los QFT-Plus y QFT TB Blood Collection Tubes no fue significativa con la excepción del tubo QFT-Plus TB2 al analizarse con sujetos positivos. Al analizar la estimación de la desviación estándar, la variación obtenida en el tubo QFT-Plus TB2 fue inferior (0,06089) a la del tubo QFT TB (0,07641), como se muestra en la tabla 16. Por tanto, la varianza de los QFT-Plus TB1 y TB2 Blood Collection Tubes no fue mayor que la del QFT TB Blood Collection Tube.

Tabla 16. Desviación estándar de valores residuales e intervalo de confianza del 95 % de sujetos positivos

Tipo de muestra	Subtipo	Estimación de la desviación estándar	LCI del 95 %	LCS del 95 %
Positivo	QFT	0,07641	0,06826	0,08680
Positivo	TB1	0,06275	0,05605	0,07127
Positivo	TB2	0,06089	0,05439	0,06917

Repetibilidad intra lotes

Se llevó a cabo un estudio para evaluar la reproducibilidad entre lotes de los QFT-Plus Blood Collection Tubes comparando la concentración de IFN- γ de las réplicas de los QFT-Plus TB Blood Collection Tubes con sangre.

Se procesaron seis alícuotas de una muestra de sangre de los mismos sujetos con una infección por TB confirmada en 6 tubos de recogida de sangre repetidos de un lote de cada uno de los QFT-Plus Tubes (TB1 y TB2). El análisis se llevó a cabo en 13 sujetos. Se calculó el % de CV de cada donante y de todos los donantes con el fin de generar una media del % de CV, como se muestra en la tabla 17.

Tabla 17. % de CV para media, desviación estándar, mínimo, mediana y máximo en cada QFT-Plus TB Blood Collection Tube en sujetos con resultado positivo en TB

QFT-Plus Tube	Tamaño de la muestra	Media (% de CV)	Desviación estándar	Mínimo	Mediana	Máximo
TB1	13	13,31	6,88	4,17	12,87	29,56
TB2	13	13,04	7,48	4,86	10,75	29,44

Con los resultados se demostró que la media del % de CV de TB1 y TB2 fue ~13 % y esto coincidía con los criterios de aceptación ≤ 30 % y mostraba la repetibilidad entre lotes.

Límite de blanco (Limit of Blank, LoB)

Se evaluó el límite de blanco (Limit of Blank, LoB) del ensayo QFT-Plus. 3 operadores analizaron dos réplicas de cada una de las 14 muestras de plasma humano individuales normales (como los blancos) con 2 lotes de QFT-Plus ELISA en 3 días de análisis, un operador por cada día de análisis para un total de 84 réplicas de cada lote de kit ELISA.

Los valores de LoB (UI/ml) para los 2 lotes de kit ELISA se calcularon por separado, como se muestra en la tabla 18.

Tabla 18. Valores de LoB (UI/ml) para los 2 lotes del QFT-Plus ELISA Kit

QFT-Plus ELISA Kit	LoB estimado (UI/ml)
Kit 1	0,030
Kit 2	0,040

El valor de LoB más grande, 0,040 UI/ml, en ambos lotes del QFT-Plus ELISA Kit se notificó como el valor de LoB final.

Límite de detección (Limit of Detection, LoD)

Se evaluó el límite de detección (Limit of Detection, LoD) del ensayo QFT-Plus. Se generó un grupo de plasma humano negativo en TB al combinar 14 muestras de plasma individuales. Cada uno de los 3 operadores preparó una solución madre de referencia de IFN- γ en 1,0 UI/ml diluida en tampón. Se realizó una serie de diluciones de 8 concentraciones. El estudio se realizó durante 3 días y estuvo a cargo de 3 operadores alternados que usaron 2 lotes del QFT-Plus ELISA Kit. En cada día de análisis, se analizaron 5 réplicas de cada concentración dentro de cada conjunto de la serie de diluciones en serie para un total de 45 réplicas para cada dilución de concentración de IFN- γ por cada lote del QFT-Plus ELISA Kit.

El valor de LoD de cada uno de los lotes del QFT-Plus ELISA Kit analizados se calculó por separado, como se muestra en la tabla 19.

Tabla 19. Valores de LoD estimados (UI/ml) de los 2 lotes de QFT-Plus ELISA Kit

QFT-Plus ELISA Kit	Probabilidad	Estimación de concentración (UI/ml)	Límite de confianza inferior al 95 % para la estimación	Límite de confianza superior al 95 % para la estimación
Kit 1	0,95	0,063	0,060	0,067
Kit 2	0,95	0,065	0,060	0,073

El valor de LoD más grande calculado en ambos lotes de QFT-Plus ELISA Kit, 0,065 UI/ml, se notificó como el valor de LoD final.

Sustancias interferentes

Se llevó a cabo un estudio para determinar los efectos de las posibles sustancias interferentes en el rendimiento de la detección de QFT-Plus ELISA de IFN- γ . Las sustancias interferentes incluidas en este análisis fueron: triglicéridos (total), hemoglobina, proteína (suero total), bilirrubina (conjugada), bilirrubina (no conjugada), sulfato de abacavir, ciclosporina y prednisolona. Se prepararon cinco grupos de plasma con concentraciones conocidas de IFN- γ utilizando diferentes concentraciones de sustancias interferentes. El nivel de IFN- γ del grupo base se preparó previamente con una cantidad predeterminada de IFN- γ presente (aproximadamente 0,21; 0,45 y 1,4 UI/ml). Este grupo se usó posteriormente para preparar el grupo de sustancias interferentes. Las concentraciones interferentes analizadas fueron 0 mg/dl, 5 mg/dl, 10 mg/dl, 15 mg/dl y 20 mg/dl. Las concentraciones interferentes objetivo se basaron en los intervalos de referencia, los valores patológicos, los intervalos terapéuticos y los intervalos tóxicos, o en las recomendaciones del proveedor o los niveles clínicos generales. Se analizaron seis réplicas para cada nivel de concentración de muestra interferente.

Por cada concentración de las muestras, se realizó una prueba de la t de dos muestras, en la que se comparó la diferencia en \log_{10} (UI/ml) promedio del nivel de sustancia interferente principal en comparación con el control (es decir, nivel libre de sustancia interferente), como se muestra en la tabla 20 y la tabla 21. También se informó acerca de la diferencia estimada en la respuesta media, junto con los límites de confianza del 95 % bilateral correspondiente y el valor p.

Tabla 20. Log10 UI/ml: Tabla de resumen de la prueba de la t sobre las diferencias en las medias entre el nivel de control y de interferente principal de cada interferente y nivel de concentración de IFN- γ

Interferente	Nivel de interferente	Concentración de las muestras (UI/ml)	Varianzas	Diferencia media	Valor inferior del IC del 95 %	Valor superior del IC del 95 %	Valor p	Correcto
Triglicéridos	Alto	1,4	Igual	0,019	-0,040	0,077	0,491	Sí
		0,45	Igual	0,004	-0,022	0,030	0,732	Sí
		0,21	Igual	0,006	-0,035	0,047	0,759	Sí
Hemoglobina	Alto	1,4	Igual	-0,005	-0,42	0,032	0,784	Sí
		0,45	Igual	-0,000	-0,023	0,023	0,981	Sí
		0,21	Igual	0,000	-0,034	0,035	0,980	Sí
Proteína	Alto	1,4	Igual	0,004	-0,034	0,042	0,836	Sí
		0,45	Igual	0,001	-0,38	0,040	0,962	Sí
		0,21	Igual	-0,008	-0,076	0,060	0,809	Sí
Bilirrubina conjugada	Alto	1,4	Igual	-0,011	-0,057	0,034	0,589	Sí
		0,45	Igual	-0,002	-0,058	0,053	0,923	Sí
		0,21	Igual	-0,014	0,074	0,046	0,625	Sí
Bilirrubina no conjugada	Alto	1,4	Igual	-0,008	-0,041	0,026	0,614	Sí
		0,45	Igual	-0,000	-0,042	0,041	0,982	Sí
		0,21	Igual	-0,000	-0,048	0,048	0,989	Sí
Abacavir	Alto	1,4	Igual	0,008	-0,025	0,041	0,601	Sí
		0,45	Igual	0,012	-0,019	0,044	0,412	Sí
		0,21	Igual	-0,006	-0,052	0,040	0,770	Sí

La tabla continúa en la página siguiente

La tabla de la página anterior continúa aquí

Tabla 20. Log10 UI/ml: Tabla de resumen de la prueba de la t sobre las diferencias en las medias entre el nivel de control y de interferente principal de cada interferente y nivel de concentración de IFN- γ

Interferente	Nivel de interferente	Concentración de las muestras (UI/ml)	Varianzas	Diferencia media	Valor inferior del IC del 95 %	Valor superior del IC del 95 %	Valor p	Correcto
Ciclosporina	Alto	1,4	Igual	0,014	-0,020	0,047	0,383	Sí
		0,45	Igual	0,005	-0,035	0,045	0,773	Sí
		0,21	Igual	0,024	-0,008	0,056	0,131	Sí
Prednisolona	Alto	1,4	Igual	0,017	-0,017	0,050	0,293	Sí
		0,45	Igual	0,000	-0,036	0,036	0,979	Sí
		0,21	Igual	0,015	-0,035	0,065	0,524	Sí

Tabla 21. Log10 UI/ml: Tabla de resumen de la prueba de la t sobre las diferencias en las medias entre el nivel de control y de interferente de alto nivel de cada interferente y nivel de concentración de IFN- γ

Interferente	Nivel de interferente	Concentración de las muestras (UI/ml)	Varianzas	Diferencia media	Valor inferior del IC del 95 %	Valor superior del IC del 95 %	Valor p	Correcto
Triglicéridos	Alto	1,4	Igual	0,053	-0,004	0,110	0,063	Sí
		0,45	Igual	0,039	-0,021	0,058	<0,001	Sí
		0,21	Igual	0,034	-0,002	0,071	0,061	Sí
Hemoglobina	Alto	1,4	Igual	-0,001	-0,042	0,040	0,967	Sí
		0,45	Igual	0,016	-0,007	0,040	0,152	Sí
		0,21	Igual	0,014	-0,030	0,059	0,489	Sí
Proteína	Alto	1,4	Igual	-0,030	-0,071	0,011	0,136	Sí
		0,45	Igual	0,000	-0,046	0,046	0,992	Sí
		0,21	Igual	-0,045	-0,103	0,012	0,109	Sí
Bilirrubina conjugada	Alto	1,4	Igual	0,001	-0,046	0,048	0,961	Sí
		0,45	Igual	0,012	-0,043	0,067	0,639	Sí
		0,21	Igual	0,015	-0,044	0,074	0,586	Sí
Bilirrubina no conjugada	Alto	1,4	Igual	0,015	-0,011	0,042	0,231	Sí
		0,45	Igual	0,015	-0,023	0,052	0,411	Sí
		0,21	Igual	0,012	-0,033	0,057	0,566	Sí
Abacavir	Alto	1,4	Igual	0,013	-0,015	0,040	0,322	Sí
		0,45	Igual	0,015	-0,014	0,044	0,283	Sí
		0,21	Igual	0,008	-0,034	0,050	0,677	Sí

La tabla continúa en la página siguiente

La tabla de la página anterior continúa aquí

Tabla 21. Log₁₀ UI/ml: Tabla de resumen de la prueba de la t sobre las diferencias en las medias entre el nivel de control y de interferente de alto nivel de cada interferente y nivel de concentración de IFN- γ

Interferente	Nivel de interferente	Concentración de las muestras (UI/ml)	Varianzas	Diferencia media	Valor inferior del IC del 95 %	Valor superior del IC del 95 %	Valor p	Correcto
Ciclosporina	Alto	1,4	Igual	0,002	-0,019	0,024	0,816	Sí
		0,45	Igual	0,007	-0,030	0,043	0,682	Sí
		0,21	Igual	0,015	-0,007	0,038	0,155	Sí
Prednisolona	Alto	1,4	Igual	0,007	-0,016	0,030	0,518	Sí
		0,45	Igual	-0,001	-0,034	0,033	0,964	Sí
		0,21	Igual	0,021	-0,025	0,068	0,334	Sí

Los resultados no presentaron diferencias significativas entre el nivel de interferencia primaria y el control (nivel sin interferente) ni para el nivel de interferente alto, a excepción del nivel de concentración de 0,45 UI/ml de triglicérido. Se determinó que la diferencia media se encontraba dentro de ± 2 del intervalo de desviación estándar. Esto demuestra que la diferencia se encuentra dentro de la variabilidad esperada del ensayo y que el triglicérido no tuvo un efecto interferente en el ensayo QFT-Plus ELISA.

Eliminación

Siga las correspondientes directrices relativas a la manipulación de sangre. Elimine las muestras y los materiales que hayan estado en contacto con la sangre o los productos sanguíneos según la normativa federal, nacional y local.

Referencias

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. 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.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Lewinsohn, D.A. et al. (2007) Immunodominant tuberculosis CD8 antigens preferentially restricted by HLA-B. *PLoS Pathol.* 3, 1240.
8. Barcellini, L. et al. (2016) First independent evaluation of QuantiFERON-TB Plus performance. *Eur. Respir. J.* 47, 1587.
9. 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.

10. 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.
11. Nikolava, M. et al. (2013) Antigen-specific CD4- and CD8-positive signatures in different phases of Mycobacterium tuberculosis infection. Diagn. Microbiol. Infect. Dis. 75, 277.
12. 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.
13. Ongaya, A. et al. (2013) Mycobacterium tuberculosis-specific CD8+ T cell recall in convalescing TB subjects with HIV co-infection. Tuberculosis 93, S60.
14. 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.
15. 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.
16. WHO consolidated guidelines on tuberculosis: tuberculosis preventive treatment. Geneva: World Health Organization; 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Guía de resolución de problemas

Esta guía de resolución de problemas puede ayudarle a resolver cualquier problema que pueda surgir. Para recibir asistencia técnica y solicitar más información, visite nuestro Centro de servicio técnico en www.qiagen.com/Support (para obtener la información de contacto, visite el sitio web www.qiagen.com).

Comentarios y sugerencias

Resolución de problemas para ELISA

Coloración indeterminada

- | | |
|---|---|
| a) Placa mal lavada | Lave la placa al menos 6 veces con 400 µl de tampón de lavado por pocillo. Puede que sean necesarios más de 6 ciclos de lavado dependiendo del lavador. Deberá dejarse escurrir durante 5 segundos como mínimo entre ciclo y ciclo. |
| b) Contaminación cruzada entre los pocillos de ELISA | Extreme la precaución durante el pipeteado y la mezcla de la muestra para minimizar el riesgo. |
| c) Kit o componentes caducados | Asegúrese de utilizar el kit antes de la fecha de caducidad. Compruebe que el estándar reconstituido y el conjugado concentrado 100x se utilizan durante los tres meses siguientes a la fecha de reconstitución. |
| d) La solución enzimática de sustrato está contaminada | Deseche el sustrato si presenta una coloración azul. Utilice depósitos de reactivos limpios. |
| e) Plasma mezclado en QFT-Plus Blood Collection Tubes antes de la extracción. | Después del centrifugado, no pipetee arriba y abajo ni mezcle el plasma de ninguna forma antes de la extracción. Tenga cuidado en todo momento de no interferir en el material de la superficie del gel. |

Comentarios y sugerencias

Valores bajos de densidad óptica para los estándares

- | | |
|---|---|
| a) Error de dilución del estándar | Asegúrese de preparar correctamente las diluciones del estándar del kit, siguiendo las instrucciones de uso. |
| b) Error de pipeteado | Compruebe que las pipetas estén calibradas y utilícelas según las instrucciones del fabricante. |
| c) Temperatura de incubación demasiado baja | La incubación para ELISA debe realizarse a temperatura ambiente ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$). |
| d) Tiempo de incubación demasiado corto | La incubación de la placa con el conjugado, los estándares y las muestras debe durar 120 ± 5 minutos. La solución enzimática de sustrato debe incubarse en la placa durante 30 minutos. |
| e) Filtro de lectura de placa incorrecto | La placa debe leerse a 450 nm con un filtro de referencia de entre 620 y 650 nm. |
| f) Reactivos demasiado fríos | Todos los reactivos, a excepción del conjugado 100x concentrado, deben estar a temperatura ambiente antes de empezar el ensayo. Este paso puede tardar 1 hora aproximadamente. |
| g) Kit o componentes caducados | Asegúrese de que el kit no esté caducado. Compruebe que el estándar reconstituido y el conjugado 100x concentrado se utilizan durante los 3 meses siguientes a la fecha de reconstitución. |

Fondo elevado

- | | |
|---------------------|--|
| a) Placa mal lavada | Lave la placa al menos 6 veces con 400 μl de tampón de lavado por pocillo. Puede que sean necesarios más de 6 ciclos de lavado. Deberá dejarse escurrir durante 5 segundos como mínimo entre ciclo y ciclo. |
|---------------------|--|

Comentarios y sugerencias

- | | |
|--|---|
| b) Temperatura de incubación demasiado elevada | La incubación para ELISA debe realizarse a temperatura ambiente ($22\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5\text{ }^{\circ}\text{C}$). |
| c) Kit o componentes caducados | Asegúrese de que el kit no haya caducado. Compruebe que el estándar reconstituido y el conjugado concentrado 100x se utilizan durante los tres meses siguientes a la fecha de reconstitución. |
| d) La solución enzimática de sustrato está contaminada | Deseche el sustrato si presenta una coloración azul. Utilice depósitos de reactivos limpios. |

Curva estándar no lineal y variabilidad entre duplicados

- | | |
|--|--|
| a) Placa mal lavada | Lave la placa al menos 6 veces con 400 μl de tampón de lavado por pocillo. Puede que sean necesarios más de 6 ciclos de lavado. Deberá dejarse escurrir durante 5 segundos como mínimo entre ciclo y ciclo. |
| b) Error de dilución del estándar | Asegúrese de preparar correctamente las diluciones del estándar, siguiendo las instrucciones de uso. |
| c) Mezclado mal hecho | Mezcle bien los reactivos mediante inversión o agitación vorticial suave antes de dispensarlos en la placa. |
| d) Técnica de pipeteado no fluida o interrupción durante la preparación del ensayo | Las muestras deben mezclarse con los estándares de forma fluida, sin interrupciones. Todos los reactivos deben estar preparados antes de comenzar el ensayo. |

Símbolos

En las instrucciones de uso o en el embalaje y en el etiquetado aparecen los siguientes símbolos:

Símbolo

Definición del símbolo



<N>

Contiene suficientes reactivos para <N> reacciones



Fecha de caducidad



Este producto cumple los requisitos del reglamento (UE) 2017/746 sobre los productos sanitarios para diagnóstico in vitro.

EC

REP

Representante autorizado en la Comunidad Europea/Unión Europea

IVD

Producto sanitario para diagnóstico in vitro

REF

Número de catálogo

LOT

Número de lote

MAT

Número de material (es decir, etiquetado de los componentes)

COMP

Componentes

CONT

Contenido

NUM

Número

GTIN

Número mundial de artículo comercial

R_n

"R" es la revisión de las Instrucciones de uso y "n" es el número de revisión

Símbolo

Definición del símbolo



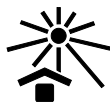
Limitación de temperatura



Fabricante



Consultar las instrucciones de uso



Proteger de la luz



Advertencia/precaución o Precauciones, consulte los documentos adjuntos.

An in vitro diagnostic test using a peptide cocktail simulating ESAT-6 and CFP-10 proteins to stimulate cells in heparinized whole blood.

Un ensayo de diagnóstico in vitro que utiliza un combinado de péptidos que simula la actividad de las proteínas ESAT-6 y CFP-10 para estimular células en sangre total heparinizada



Contiene material biológico de origen animal



Contiene material biológico de origen humano

Símbolo

Definición del símbolo

UDI

Identificador único de dispositivo

tartrazine

Contiene tartrazina

sulfuric acid

Contiene ácido sulfúrico

Apéndice A: Información técnica

Resultados indeterminados

Los resultados indeterminados son poco habituales y pueden estar relacionados con el estado inmunitario del individuo sometido al análisis (5), o bien con varios factores técnicos (p. ej. manipulación o almacenamiento inadecuados de los tubos de recogida de sangre, placa ELISA mal lavada) en caso de no seguir las instrucciones de uso indicadas.

Si existen sospechas de que se hayan producido fallos o errores técnicos durante el almacenamiento de reactivos o la recogida o manipulación de las muestras de sangre, repita toda la prueba QFT-Plus con muestras de sangre nuevas. Cuando el motivo puede deberse a que el material no se ha lavado bien o a que se han cometido errores de procedimiento, puede realizarse de nuevo la prueba ELISA con plasmas estimulados. Corresponde a los médicos optar por extraer una segunda muestra o realizar otro tipo de pruebas.

Muestras de plasma coaguladas

Si en las muestras de plasma almacenadas durante mucho tiempo apareciesen coágulos de fibrina, habrá que centrifugarlas para que se sedimenten los coágulos, lo que facilita su paso por la pipeta.

Muestras de plasma lipémico

Debe extremarse el cuidado al pipetear muestras lipémicas, ya que los depósitos grasos pueden obstruir la punta de las pipetas.

Apéndice B: Procedimiento de prueba ELISA abreviado

1. Equilibre los componentes del análisis ELISA, salvo el conjugado 100x concentrado, a temperatura ambiente durante al menos 60 minutos.

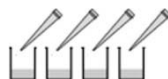


2. Reconstituya el estándar del kit hasta 8,0 UI/ml con agua desionizada o destilada. Prepare cuatro (4) diluciones de estándar.



3. Reconstituya el conjugado 100x concentrado liofilizado con agua desionizada o destilada.

4. Prepare conjugado listo para usar con diluyente verde y añada 50 µl a cada uno de los pocillos.



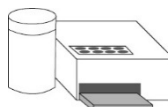
5. Añada 50 µl de las muestras de plasma de análisis y 50 µl de los patrones a los pocillos correspondientes. Mezcle con un agitador.



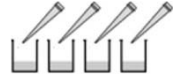
6. Deje incubar durante 120 minutos a temperatura ambiente.



7. Lave los pocillos al menos 6 veces con 400 µl de tampón de lavado por pocillo.



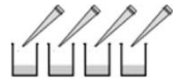
8. Añada 100 μ l de solución enzimática de sustrato a los pocillos. Mezcle con un agitador.



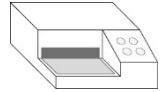
9. Deje incubar durante 30 minutos a temperatura ambiente.



10. Añada 50 μ l de solución enzimática de parada a todos los pocillos. Mezcle con un agitador.



11. Lea los resultados a 450 nm con un filtro de referencia de entre 620 y 650 nm.



12. Analice los resultados.



Información para pedidos

Producto	Contenido	N.º de cat.
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit	Kit ELISA biplaca	622120
QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Reference Lab Pack	Kit ELISA de 20 placas	622822
Related products		
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes	200 tubos (50 de cada uno: Nil, TB1, TB2 y Mitogen)	622526
QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 tubos (25 de cada uno: Nil, TB1, TB2 y Mitogen)	622423
QuantiFERON-TB Gold Plus Single Patient Pack	40 tubos (1 de cada uno: Nil, TB1, TB2 y Mitogen por paquete), paquete de 10	622222
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes	200 tubos (50 de cada uno: Nil, TB1, TB2 y Mitogen)	623526
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Blood Collection Tubes Dispenser Pack	100 tubos (50 de cada uno: Nil, TB1, TB2 y Mitogen)	623423
QuantiFERON-TB Gold Plus High Altitude Single Patient Pack	40 tubos (1 de cada uno: Nil, TB1, TB2 y Mitogen por paquete), paquete de 10	623222

Para obtener información actualizada sobre licencias y sobre exenciones de responsabilidad específicas del producto, consulte el documento de instrucciones de uso del kit de QIAGEN correspondiente. Las instrucciones de uso del kit de QIAGEN están disponibles en www.qiagen.com o pueden solicitarse al servicio técnico de QIAGEN o a su distribuidor local.

Historial de revisiones del documento

Fecha	Cambios
R2, junio de 2021	<p>Se ha incluido información sobre el envase de paciente individual.</p> <p>Se han revisado las tablas 10 y 11 para distinguir los datos de QFT-GIT frente a QFT-Plus</p> <p>Se ha actualizado la sección Descripción y principio para añadir información sobre la población del análisis y el rango de población.</p> <p>Se ha añadido la tabla 9 para agregar datos sobre el cociente de verosimilitudes del QFT-Plus</p>
R3, octubre 2021	<p>El número de catálogo se ha revertido a los números de catálogo originales.</p> <p>Se ha añadido la declaración de uso único de las tiras para microplaca en el contenido del kit.</p>
R4, marzo de 2023	Correcciones de formato

Esta página se ha dejado intencionadamente en blanco

Acuerdo de licencia limitada para el QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) ELISA Kit

La utilización de este producto implica por parte de cualquier comprador o usuario del producto la aceptación de los siguientes términos:

1. El producto puede utilizarse únicamente conforme a los protocolos suministrados con el producto y a estas instrucciones de uso y para su uso exclusivo con los componentes incluidos en el panel. QIAGEN no ofrece licencia alguna bajo ninguna de sus propiedades intelectuales para utilizar o incorporar los componentes suministrados en este panel con componentes no incluidos en el mismo, excepto según se describe en los protocolos proporcionados con el producto, estas instrucciones de uso y otros protocolos disponibles en www.qiagen.com. Algunos de estos protocolos adicionales han sido proporcionados por usuarios de QIAGEN para usuarios de QIAGEN. QIAGEN no ha probado ni optimizado estos protocolos en profundidad. Por ello, QIAGEN no los garantiza ni asegura que no infrinjan los derechos de terceros.
2. Aparte de las licencias expresamente especificadas, QIAGEN no garantiza que este panel ni su(s) uso(s) no infrinjan derechos de terceros.
3. Este panel y sus componentes tienen licencia para un solo uso y no se pueden reutilizar, reacondicionar ni revender.
4. QIAGEN renuncia específicamente a cualquier otra licencia, explícita o implícita, distinta de las licencias expresamente especificadas.
5. El comprador y el usuario del panel aceptan no realizar ni permitir a otros realizar ningún paso que pueda conducir a acciones prohibidas en las especificaciones anteriores o que pueda facilitarlas. QIAGEN se reserva el derecho de emprender acciones legales ante cualquier tribunal para el cumplimiento de las prohibiciones especificadas en este Acuerdo de licencia limitada y recuperará todos los gastos derivados de la investigación y de los gastos judiciales, incluidas las costas procesales, en cualquier acción emprendida para hacer cumplir este Acuerdo de licencia limitada o cualquier otro derecho de propiedad intelectual en relación con este kit y/o con sus componentes.

Para consultar los términos actualizados de la licencia, visite www.qiagen.com.

Marcas comerciales: QIAGEN®, Sample to Insight®, QuantiFERON® (QIAGEN Group) Proclin®. Los nombres registrados, las marcas comerciales, etc., utilizados en este documento, incluso cuando no aparecen marcados como tales, están protegidos por la legislación.

03/2023 L1123669 1123669ES © 2023 QIAGEN. Reservados todos los derechos.

Pedidos www.qiagen.com/shop | Servicio técnico support.qiagen.com | Sitio web www.qiagen.com