

Instrucciones de uso de QuantiFERON[®]-TB Gold Plus (QFT[®]-Plus)

Versión 1

 2 x 96 (n.º de cat. 622130)

 20 x 96 (n.º de cat. 622832)

Prueba de IFN- γ en sangre para medir las respuestas a los antígenos peptídicos ESAT-6 y CFP-10

Rx ONLY

IVD

Para uso de diagnóstico in vitro

REF

622130, 622832



www.qiagen.com



QIAGEN, 19300 Germantown Road, Germantown, MD 20874, EE. UU.

Teléfono: +1-800-426-8157

R11

Índice

Uso previsto	4
Resumen y explicación de la prueba	5
Principios del ensayo	9
Componentes y almacenamiento	11
Componentes para ELISA	11
Materiales necesarios pero no suministrados	12
Advertencias y precauciones	14
Advertencias	14
Precauciones	16
Almacenamiento y manipulación	19
Reactivos del kit ELISA	19
Reactivos reconstituidos sin utilizar	19
Instrucciones para realizar el ensayo ELISA	20
Tiempo necesario para la realización del ensayo	20
Fase 1: Después de la incubación de los tubos de recogida de sangre y extracción de plasma	20
Fase 2: ELISA PARA IFN-g	21
Cálculos e interpretación de la prueba	27
Generación de valores de curva estándar y muestra	27
Control de calidad de la prueba	29
Interpretación de los resultados	30
Limitaciones	33
Características del rendimiento	35
Estudios clínicos	35
Especificidad	35
Sensibilidad	37
Rendimiento en sujetos con factores de riesgo identificados para una infección por M. tuberculosis (individuos con riesgo mixto)	40
Valores esperados	44
Distribución de respuesta observada: desglose del riesgo	44

Características del rendimiento del ensayo	49
Información técnica	52
Resultados indeterminados	52
Muestras de plasma coaguladas	52
Muestras de plasma lipémico	52
Guía para la resolución de problemas	53
Apéndices	56
Apéndice A: Directrices de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de EE. UU.	56
Apéndice B: Resumen del procedimiento de la prueba ELISA	56
Referencias	58
Símbolos	67
Información de contacto	69
Historial de revisiones del documento	70

Uso previsto

QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus) es una prueba 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 interferon- γ (IFN- γ) mediante el ensayo de inmunoadsorción (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.

Resumen y explicación de la prueba

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. Una persona recién infectada puede enfermarse de tuberculosis en cuestión de semanas o meses, pero la mayoría de las personas infectadas permanecen sanas. 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 disponible para diagnosticar la LTBI era la prueba cutánea de la tuberculina (tuberculin skin test, TST). 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 sin estas afecciones, 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 a las vías respiratorias inferiores, pero que también puede afectar a otros sistemas de órganos. La tuberculosis se diagnostica a partir de signos físicos, radiológicos y micobacteriológicos.

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 QFT-Plus mide las respuestas de inmunidad celular (cell-mediated immune, CMI) 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 estos y otros antígenos micobacterianos. Este proceso de reconocimiento implica la generación y secreción de la citocina, IFN- γ . La detección y posterior cuantificación de IFN- γ constituyen la base de esta prueba.

La prueba cutánea 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 (p. ej., *M. kansasii*) también pueden producir resultados positivos. Son necesarios otros ensayos médicos y pruebas diagnósticas para confirmar o excluir una tuberculosis.

Los antígenos que utiliza el ensayo QFT-Plus son un combinado 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 generalmente no en personas no infectadas o vacunadas con BCG sin la enfermedad o riesgo de LTBI (1–32). 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, 23).

En la infección por *M. tuberculosis*, el papel 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 los linfocitos T CD8⁺ que intervienen en la defensa del sujeto frente a *M. tuberculosis* mediante la secreción de IFN- γ y otros factores solubles, que activan los macrófagos que suprimen el crecimiento de *M. tuberculosis*, matan las células infectadas o directamente lisan el complejo *M. tuberculosis* intracelular (33–35). Se han detectado linfocitos CD8⁺ específicos de *M. tuberculosis* productores de IFN- γ en sujetos con LTBI y con TB activa (36–39). 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 a *M. tuberculosis* (40–42). También se han detectado linfocitos T CD8⁺ específicos de *M. tuberculosis* productores de IFN- γ en sujetos con tuberculosis activa y coinfección por VIH (43, 44), así como en niños jóvenes con tuberculosis (45).

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 *M. tuberculosis*, ESAT-6 y CFP-10. Los tubos TB1 y TB2 contienen péptidos de ESAT-6 y CFP-10 diseñados para generar respuestas de inmunidad celular (CMI) a partir de linfocitos T cooperadores CD4⁺; el tubo TB2 contiene un conjunto adicional de péptidos cuya función es inducir respuestas de CMI a partir de linfocitos T citotóxicos CD8⁺.

Las pruebas de diagnóstico para *M. tuberculosis* mediante ensayos de liberación de interferón gamma deben seguir las directrices publicadas aplicables. El ensayo QFT-Plus se ha estudiado en adultos y niños identificados con mayor riesgo de infección por tuberculosis, incluidos individuos expuestos recientemente a personas con tuberculosis activa, personas portadoras del VIH o inmunodeprimidas por otro motivo, inmigrantes de países con carga elevada de tuberculosis y residentes o empleados de entornos concurridos de alto riesgo. (Consulte el apartado “Advertencias y precauciones” en la página 14 sobre el uso en caso de enfermedades concomitantes que pueden afectar la función inmunitaria). (46–84)

Los enlaces a las directrices más recientes de American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America/Centers for Disease Control and Prevention Clinical Practice Guidelines: Diagnosis of Tuberculosis in Adults and Children, así como otra información sobre pruebas de diagnóstico de la tuberculosis, están disponibles en [Tuberculosis \(TB\)](#).

Principios del ensayo

El ensayo QFT-Plus emplea tubos especializados de recogida de sangre que contienen antígenos peptídicos que simulan la actividad de las proteínas de *M. tuberculosis*, las cuales 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.

La prueba QFT-Plus se lleva a cabo en dos fases. En primer lugar, se recoge sangre total en cada uno de los QFT-Plus Blood Collection Tubes, que 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 heparina sódica 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 retira el plasma y se mide la cantidad 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 antirrattón) 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 de 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 de TB y en el tubo Mitogen.

Componentes y almacenamiento

Componentes para ELISA

Componentes para ELISA	Kit biplaca	Envase de referencia (laboratorio)
N.º de catálogo	622130	622832
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-g), liofilizado (contiene IFN-g 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' tetrametilbencidina)	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

* Consulte "Precauciones" en la página 16

Materiales necesarios pero no suministrados

QuantiFERON-TB Gold Plus Blood Collection Tubes. Consulte las *Instrucciones de uso de los QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes* (HB-3304).

Importante: Compruebe que todos los equipos utilizados en este procedimiento se han revisado y calibrado según las recomendaciones del fabricante.

- Incubador a $37\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1\text{ }^{\circ}\text{C}$ (con o sin CO_2)
- Pipetas calibradas de volumen variable para dispensación de $10\text{ }\mu\text{l}$ a $1000\text{ }\mu\text{l}$ con puntas desechables
- Pipeta multicanal calibrada capaz de dispensar de $50\text{ }\mu\text{l}$ a $100\text{ }\mu\text{l}$ con puntas desechables
- Agua desionizada o destilada, 2 litros
- **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)
- Centrifugadora capaz de centrifugar los tubos de sangre al menos a 2000 RCF (*g*)
- Agitador de microplacas capaz de alcanzar velocidades de entre 500 y 1000 rpm
- Lavador de microplacas (se recomienda un lavador 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
- Reloj temporizador

- Probeta graduada, 1 litro o 2 litros
- Depósitos de reactivos
- Tapa para la placa

Advertencias y precauciones

Solo para uso de diagnóstico in vitro.

Solo para uso prescriptivo. Según la normativa federal, la venta de este dispositivo debe hacerse únicamente bajo prescripción médica.

Advertencias

- Un resultado negativo del QFT-Plus no descarta la posibilidad de una infección por *M. tuberculosis* o de que se padezca tuberculosis: los resultados 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 enfermedades concomitantes que afectan la función inmunitaria, 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. 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 y 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 ácidosresistentes, 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, 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 las *Instrucciones de uso de QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes (HB-3304)*, para obtener información sobre la manipulación correcta de las muestras de sangre. Las demoras en la incubación pueden provocar resultados falsos negativos o indeterminados; asimismo, otros parámetros técnicos pueden afectar la capacidad para detectar una respuesta de IFN- γ significativa.
- Se desconoce el efecto del recuento de linfocitos en la confiabilidad de los resultados del QFT-Plus. Los recuentos de linfocitos pueden variar a lo largo del tiempo para cada persona y de una persona a otra. No se ha establecido el número mínimo de linfocitos necesarios para obtener un resultado de prueba confiable y también puede ser variable.
- Un resultado positivo del QFT-Plus puede sugerir y respaldar el diagnóstico de tuberculosis. ESAT-6 y CFP-10 están presentes en *M. tuberculosis*, pero las infecciones originadas por otras micobacterias, incluidas *M. kansasii*, *M. szulgai* y *M. marinum* también pueden producir resultados positivos. Además del QFT-Plus, se necesitan otras evaluaciones de diagnóstico (p. ej., frotis y cultivo de BAAR, radiografía de tórax) para confirmar la tuberculosis.

No se ha determinado el valor predictivo de un resultado negativo del QFT-Plus en personas inmunodeprimidas.

Precauciones

Siempre que trabaje con productos químicos, utilice una bata de laboratorio, guantes desechables y gafas de protección adecuados. Si desea obtener más información, consulte las hojas de datos sobre seguridad (Safety Data Sheets, SDS) correspondientes. Están disponibles en línea en un práctico formato PDF en www.qiagen.com/safety, donde puede encontrar, ver e imprimir la SDS de cada kit QIAGEN y componente del kit.

PRECAUCIÓN: Manipule la sangre humana como material potencialmente infeccioso.



Siga las directrices correspondientes 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.

QuantiFERON Enzyme Stopping Solution



Contiene: ácido sulfúrico. ¡Advertencia! Puede ser corrosivo para los metales. Causa irritación de la piel. Provoca irritación ocular grave. Usar guantes protectores/indumentaria protectora y protección para los ojos/la cara.

QuantiFERON Enzyme Substrate Solution

¡Advertencia! Causa irritación leve de la piel. Usar guantes protectores/indumentaria protectora y protección para los ojos/la cara.

QuantiFERON Green Diluent



Contiene: tartrazina. ¡Advertencia! Puede provocar una reacción alérgica en la piel. Usar guantes protectores/indumentaria protectora y protección para los ojos/la cara.

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 si se ingiere, se inhala o entra en contacto con la piel.
- Cualquier desviación con respecto a lo 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 desechar los viales de forma segura.

Recomendación: Use 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, el estándar de IFN- γ , el diluyente verde o el conjugado 100x concentrado de diferentes lotes del kit QFT-Plus. 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 indicada.
- 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 antes del uso.

Almacenamiento y manipulación

Consulte las *Instrucciones de uso* de los *QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes* (HB-3304) para obtener información detallada sobre el flujo de trabajo de recogida de sangre para la prueba QFT-Plus.

Reactivos del kit ELISA

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

Reactivos reconstituidos sin utilizar

- Para obtener instrucciones sobre cómo reconstituir los reactivos, consulte el apartado “Fase 2: ELISA PARA IFN-g” en la página 21.
- 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 debe utilizarse durante los 3 meses siguientes.

Fíjese en la fecha de reconstitución del conjugado.

- El conjugado listo para utilizar debe utilizarse en las 6 horas siguientes a su preparación.
- El tampón de lavado listo para utilizar puede almacenarse a temperatura ambiente (22 ± 5 °C) durante un máximo de 2 semanas.

Instrucciones para realizar el ensayo ELISA

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 realizar el ensayo, se recomienda planificar cuidadosamente cada etapa del ensayo para conceder un tiempo suficiente entre los pasos. 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.

Placa ELISA

- Aproximadamente 3 horas para una placa ELISA
- <1 hora de trabajo
- Añadir de 10 a 15 minutos para cada placa adicional

Fase 1: Después de la incubación de los tubos de recogida de sangre y extracción de plasma

Antes de extraer el plasma, las muestras en los QFT-Plus Blood Collection Tubes deben haberse incubado a 37 °C durante un periodo comprendido entre 16 y 24 horas. El incubador no requiere CO₂ ni humidificación.

Procedimiento

1. Una vez finalizada la incubación de los tubos de recogida de sangre a 37 ± 1 °C, los tubos pueden conservarse entre 4 y 27 °C durante un máximo de 3 días antes o después de centrifugarlos.

2. Después de la incubación de los tubos a 37 ± 1 °C, centrifúguelos durante 5-15 minutos a una velocidad comprendida entre 2000 y 3000 RCF (*g*) para extraer el plasma. El tapón de gel separará las células del plasma. Si esto no ocurre, vuelva a centrifugar los tubos.
3. Es posible extraer el plasma sin centrifugar, pero es necesario extremar la precaución al máximo para retirar el plasma sin alterar las células.
4. Las muestras de plasma solo se deben extraer con ayuda de una pipeta.

Importante: Después del centrifugado, evite pipetear el plasma hacia arriba y hacia abajo o mezclarlo por cualquier medio antes de extraerlo. Tenga cuidado en todo momento de no interferir con el material de la superficie del gel.

Las muestras de plasma pueden cargarse directamente desde los tubos de recogida de sangre centrifugados a la placa QFT-Plus 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. Las muestras de plasma extraído pueden almacenarse durante un máximo de 28 días a una temperatura comprendida entre 2 y 8 °C o almacenarse a temperaturas por debajo de -20 °C (preferiblemente a menos de -70 °C) durante períodos más largos.

Se necesita un volumen mínimo de 150 µl de plasma para garantizar la idoneidad de las muestras de la prueba.

Fase 2: ELISA PARA IFN- γ

Consulte los apartados “Componentes y almacenamiento” en la página 11 y “Materiales necesarios pero no suministrados” en la página 12, 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 100× concentrado, deben estar a temperatura ambiente (22 ± 5 °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 que se quieran diagnosticar (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.
 - a. 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.
 - b. Utilice el estándar reconstituido para preparar una serie de diluciones de 4 concentraciones de IFN- γ (consulte la Figura 1).
 - c. 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]).

- d. Los estándares deben analizarse al menos por duplicado.
- e. Prepare diluciones nuevas del estándar del kit para cada ensayo ELISA.

Tabla 1. Ejemplo de procedimiento para estándares duplicados

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

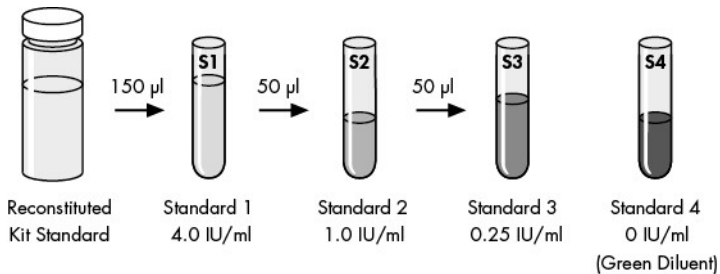


Figura 1. Preparación de la serie de diluciones de curva estándar.

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 asegúrese de que todo el contenido del vial se disuelva por completo.
 - a. El conjugado listo para usar se prepara diluyendo la cantidad necesaria de conjugado 100x concentrado reconstituido en diluyente verde (Tabla 2).

- b. El conjugado listo para usar debe utilizarse en las 6 horas siguientes a su preparación.
- c. Vuelva a guardar inmediatamente el conjugado 100x concentrado no utilizado a una temperatura de entre 2 y 8 °C.

Tabla 2. Preparación del conjugado (listo para usar)

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

- 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.

Importante: Si las muestras de plasma se añaden directamente desde los QFT-Plus Blood Collection Tubes centrifugados, evite mezclar el plasma. Tenga cuidado en todo momento de no interferir con 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. Distribución recomendada de muestras de 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 de ELISA y mezcle bien el conjugado y las muestras de plasma/estándares durante 1 minuto con un agitador de microplacas a 500- 1000 rpm. Evite las salpicaduras.
10. Tape la placa ELISA e incúbela a temperatura ambiente ($22 \pm 5^\circ\text{C}$) 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 20x concentrado 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 plasmás.

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 periodo 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 toquitos 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 una velocidad entre 500 y 1000 rpm con un agitador de microplacas.
14. Tape la placa ELISA e incúbela a temperatura ambiente (22 ± 5 °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.

Cálculos e interpretación de la prueba

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

El software evalúa el control de calidad del ensayo, genera una curva estándar y proporciona un resultado para cada sujeto, tal y como se describe en el apartado "Interpretación de los resultados" en la página 30. 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 software de QFT-Plus.

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 del mejor ajuste

de la curva estándar mediante un 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 3.

Tabla 3. Curva estándar

Estándar	UI/ml	Valores a y b de OD	Valor medio de OD	% de CV	$\log_{(e)}$ UI/ml	$\log_{(e)}$ 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 siguiente, se determina la validez del ensayo.

La curva estándar (Tabla 3) se usa para convertir las respuestas de OD del antígeno a Unidades Internacionales por mililitro (UI/ml).

Tabla 4. Cálculo de la muestra

Antígeno	Valor de OD	Log _(e) 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	4,15
TB2	1,356	0,305	1,634	5,12	5,07
Mitogen	1,783	0,578	1,981	7,25	7,20

Los valores de IFN- γ (en UI/ml) para los tubos de TB1, TB2 y Mitogen se corrigen 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 arriba, se considera que el análisis no es válido y es necesario 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

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 tuberculosis y la LTBI en **Tuberculosis (TB)**, proporcionado en la sección “Directrices de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de EE. UU.” a continuación.

Los resultados del QFT-Plus se interpretarán según los siguientes criterios (Tabla 5).

Tabla 5. 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
>8,0§	<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
	Cualquiera	Cualquiera	Cualquiera		

* Las reacciones al control positivo del Mitogen (y en ocasiones a los antígenos TB) pueden estar fuera del rango del lector de microplacas. Esto no afecta a los resultados de la prueba. El software QFT-Plus 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 ambas réplicas da positivo, el resultado de la prueba se considera positivo.

‡ Consulte el apartado “Guía para la resolución de problemas” en la página 53 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, el nivel de respuesta inmunitaria o la probabilidad de que la enfermedad entre en su fase activa. Es extraño obtener una respuesta positiva al antígeno de 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 de 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.

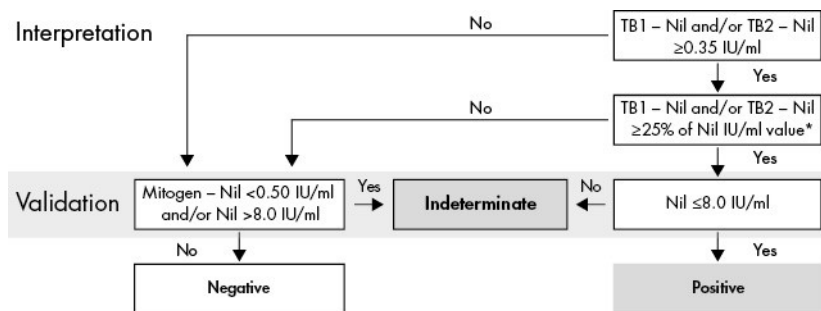


Figura 3. Interpretación de la prueba QFT-Plus. *Para que el valor TB1 menos Nil o TB2 menos Nil sea válido, $\geq 25\%$ del valor en IU/ml de Nil debe proceder del mismo tubo que el resultado original $\geq 0,35$ IU/ml.

Limitaciones

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

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, de datos extraídos de la anamnesis, etcétera.
- El diagnóstico de LTBI requiere que se descarte la tuberculosis mediante una evaluación médica, incluida una 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. Es probable que los valores predictivos negativos sean bajos para las personas de quienes se sospecha que tienen enfermedad por *M. tuberculosis* y no se debe confiar en ellos para descartar la enfermedad.

Los resultados no fiables o indeterminados pueden deberse a:

- Desviaciones con respecto al procedimiento descrito en el prospecto
- 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 QuantiFERON-TB Gold Plus (QFT-Plus) Blood Collection Tubes* (HB-3304).
- Muestras de sangre recogidas directamente en los QFT-Plus Blood Collection Tubes y almacenadas durante más de 16 horas a temperatura ambiente (17-25 °C).
- Muestras de sangre recogidas en tubos con heparina de litio o heparina sódica y almacenadas durante más de 12 horas a temperatura ambiente (17-25 °C) antes de transferirlas a los QFT-Plus Blood Collection Tubes.
- Muestras de sangre recogidas en tubos con heparina de litio o heparina sódica para refrigeración y almacenadas fuera de los intervalos de temperatura y tiempo.

Características del 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 de 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 la tasa positiva y negativa 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 por 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-Gold). Se proporciona un resumen de los datos de rendimiento de la especificidad clínica, desglosados según el centro de estudio y la región, en la Tabla 6. Los resultados del rendimiento se basan en el número total de análisis válidos. No se presentaron resultados indeterminados.

Tabla 6. Interpretación de los resultados de especificidad clínica de QFT-Plus

Centro	N	Positivo		Negativo		Indeterminado		Especificidad (IC del 95 %)	
		QFT-Gold	QFT-Plus	QFT-Gold	QFT-Plus	QFT-Gold	QFT-Plus	QFT-Gold	QFT-Plus
Estados Unidos									
(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 global del QFT-Plus fue del 97,27 % (713/733). La especificidad del QFT-Plus en Estados Unidos fue del 98,11 %, del 97,83 % en Japón y del 95,48 % en Australia. La especificidad del QFT-Gold en la región de Estados Unidos fue del 99,06 %, del 98,76 % en Japón y del 95,98 % en Australia. La especificidad global del QFT-Gold 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 7).

Tabla 7. Resultados del estudio sobre la especificidad del QFT-Plus según el tubo de antígeno de TB

Interpretación según el antígeno de TB-Nil

UI/ml en	TB1	TB2	QFT-Plus (positivo según TB1 o TB2)*	TB1 y TB2 positivos concordantes (análisis alternos)†
Positivo	10	18	20	8
Negativo	723	715	713	725
Indeterminado	0	0	0	0
Especificidad (IC del 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 basada 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-Gold frente al QFT-Plus en la cohorte del estudio de bajo riesgo y mostró un porcentaje de 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 se presentaron con signos y síntomas de *M. tuberculosis* activa confirmada mediante cultivo o PCR; tales sujetos no recibían tratamiento para TB o tenían ≤ 14 días de tratamiento antes de la recogida de sangre. El estudio se llevó a cabo en 7 centros independientes, incluidos tres centros en Estados Unidos, tres centros en Japón y un centro en Australia. Se comparó la prueba QFT-Plus con la prueba QFT-Gold. Se proporciona un resumen de los datos de rendimiento de la sensibilidad clínica, desglosados según el centro de estudio y la región, en la Tabla 8. Los resultados del rendimiento se basan en el número total de análisis válidos. La frecuencia de los resultados indeterminados para QFT-Gold y QFT-Plus fue de 2,3 % (10/434) y 2,5 % (11/434), respectivamente.

Tabla 8. Resumen del rendimiento del estudio sobre sensibilidad clínica desglosado según el centro

Centro	N	Positivo		Negativo		Indeterminado		Sensibilidad (IC del 95 %)	
		QFT-Gold	QFT-Plus	QFT-Gold	QFT-Plus	QFT-Gold	QFT-Plus	QFT-Gold	QFT-Plus
Estados Unidos									
(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)

Tabla 8. Resumen del rendimiento del estudio sobre sensibilidad clínica desglosado según el centro (continuación)

Centro	N	Positivo		Negativo		Indeterminado		Sensibilidad (IC del 95 %)	
		QFT-Gold	QFT-Plus	QFT-Gold	QFT-Plus	QFT-Gold	QFT-Plus	QFT-Gold	QFT-Plus
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)
(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 global del QFT-Plus fue del 94,09 % (398/423). La sensibilidad del QFT-Plus en Estados Unidos fue del 88,7 %, del 94,43 % en Japón y del 100,0 % en Australia. La sensibilidad del QFT-Gold en Estados Unidos fue del 88,7 %, del 95,63 % en Japón y del 96,43 % en Australia. La sensibilidad global del QFT-Gold 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 9).

Tabla 9. Resultados del estudio sobre la sensibilidad del QFT-Plus según el tubo de antígeno de TB

Interpretación según el antígeno de TB-Nil

UI/ml en	TB1	TB2	QFT-Plus (positivo según TB1 o 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)	–

* Se excluyen los valores indeterminados.

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

Rendimiento en sujetos con factores de riesgo identificados para una infección por *M. tuberculosis* (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, historial de tratamiento de TB activa o latente, exposición a casos de TB activa, estado de los profesionales sanitarios, etcétera) con las pruebas QFT-Gold y QFT-Plus. Los factores de riesgo se identificaron mediante un cuestionario estándar y los individuos no presentaron síntomas asociados con tuberculosis activa en el momento del reclutamiento. Los datos demográficos y los factores de riesgo se presentan en la Tabla 10. En esta población, 68/601 (11,3 %) sujetos dieron un resultado positivo en la prueba QFT-Plus, con un porcentaje de concordancia positiva (PCP) de 98,44 % y un porcentaje de

concordancia negativa (PCN) de 99,07 % (Tabla 11). En esta cohorte de 68 sujetos positivos 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 una cohorte mixta

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 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-Gold en sujetos con factores de riesgo conocidos de infección latente por TB

		QFT-Gold		
		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-Gold 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-Gold en sujetos del estudio vacunados con BCG.

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

		QFT-Gold		
		Positivo (+)	Negativo (-)	Total
QFT-Plus	Positivo (+)	69	4	73
	Negativo (-)	3	267	270
	Total	72	271	343*

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

- PCP = 95,8 % (69/72), IC del 95 % (88,5; 98,6)
- PCN = 98,5 % (267/271), IC del 95 % (96,3; 99,4)

Valores esperados

Distribución de respuesta observada: desglose del riesgo

En los estudios clínicos, se observaron varias respuestas del IFN- γ a los tubos de TB1, TB2 y de control (Nil y Mitogen) 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 por exposición a la tuberculosis y en los que es poco frecuente la tuberculosis activa (es decir, LTBI).

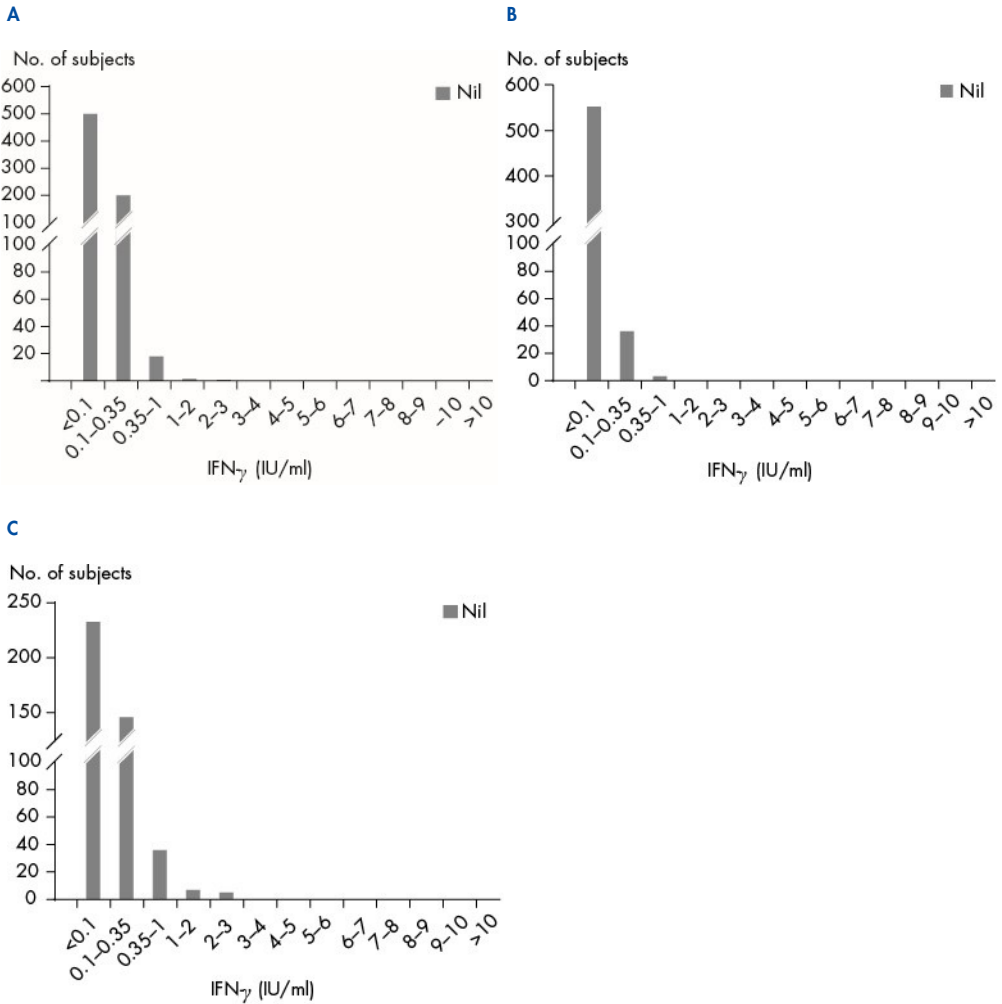


Figura 4. Distribución de Nil. **A)** Distribución de valores de Nil en la población de bajo riesgo (n = 733). **B)** Distribución de valores de Nil en la población de riesgo mixto (n = 601). **C)** Distribución de valores de Nil en la población con infección por *M. tuberculosis* confirmada mediante cultivo (n = 434).

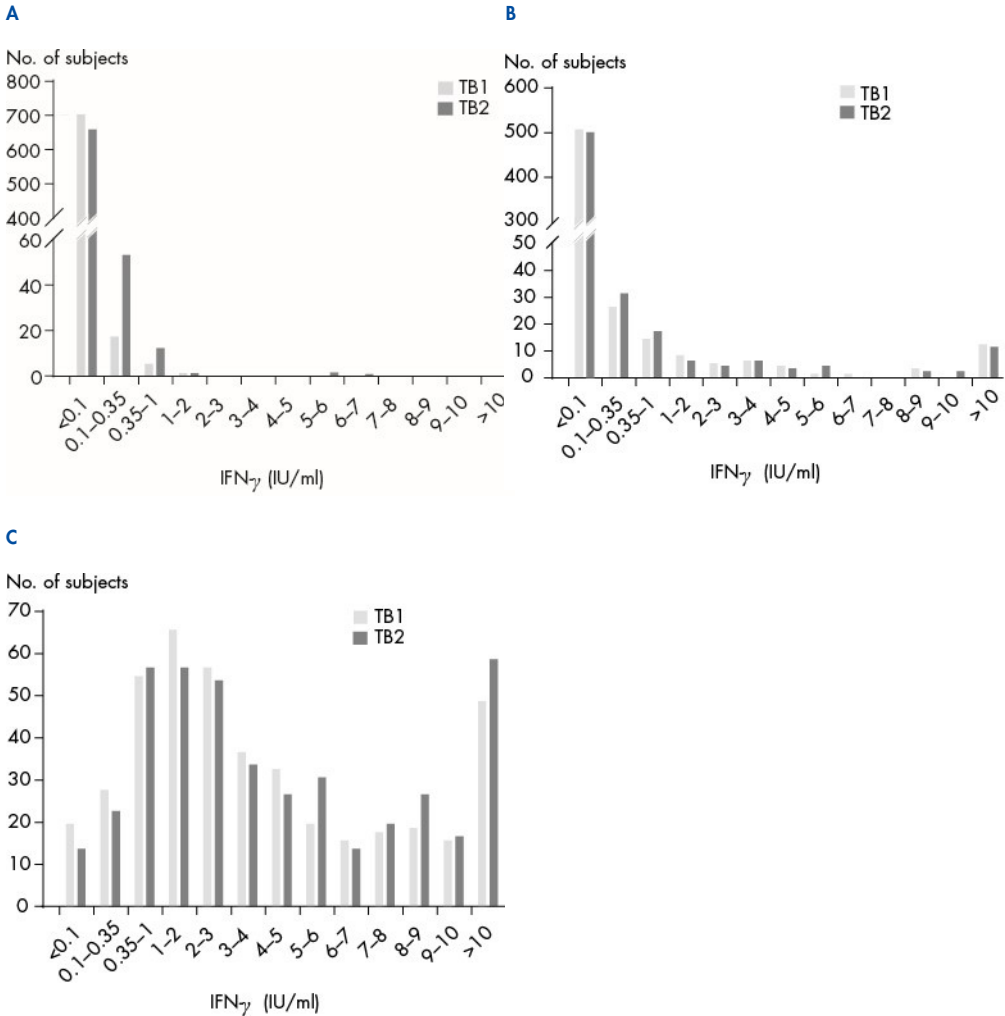


Figura 5. Distribución de TB1 y TB2 (sustracción de Nil). **A)** Distribución de valores de TB1 y TB2 (sustracción de Nil) en la población de bajo riesgo (n = 733). **B)** Distribución de valores de TB1 y TB2 (sustracción de Nil) en la población de riesgo mixto (n = 601). **B)** Distribución de valores de TB1 y TB2 (sustracción de Nil) en la población con infección por *M. tuberculosis* confirmada mediante cultivo (n = 434).

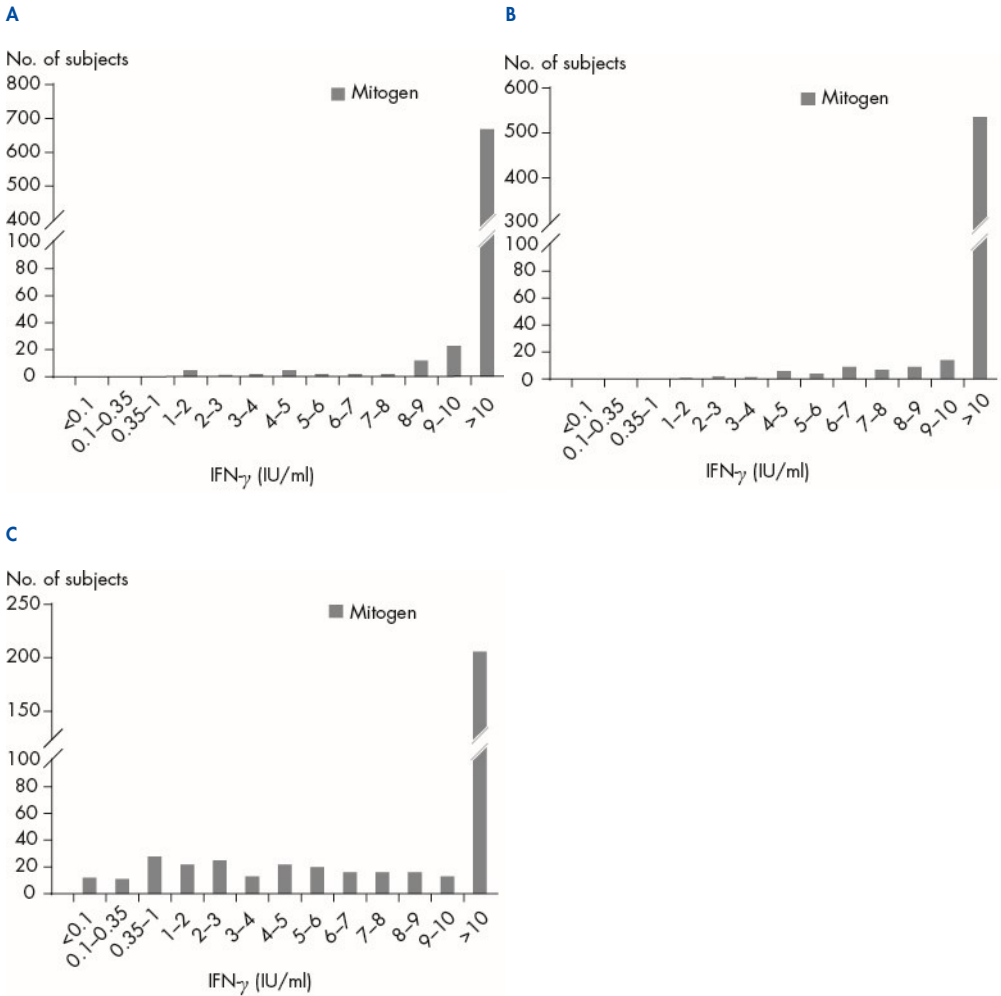


Figura 6. Distribución de Mitogen (sustracción de Nil). **A)** Distribución de valores de Mitogen (sustracción de Nil) en la población de bajo riesgo (n = 733). **B)** Distribución de valores de Mitogen (sustracción de Nil) en la población de riesgo mixto (n = 601). **B)** Distribución de valores de Mitogen (sustracción de Nil) en la población con infección por *M. tuberculosis* confirmada mediante cultivo (n = 434).

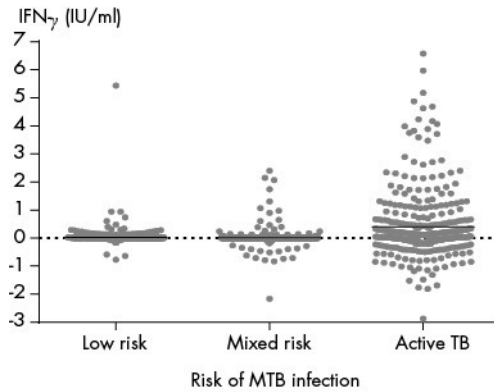


Figura 7. Diferencia observada entre valores de TB1 y TB2 (sustracción de Nil), desglosada por riesgo. Incluye datos del estudio de cohorte de riesgo mixto para mostrar las diferencias entre cohortes de bajo riesgo, riesgo mixto y TB activa. En este análisis de los datos se incluyó un cohorte de riesgo mixto con factores de riesgo conocidos. 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 IU/ml en cada sujeto se obtuvieron restando el valor de TB1 del valor de TB2.

Características del rendimiento del ensayo

Se realizó un estudio para evaluar la linealidad del ensayo QFT-Plus ELISA utilizando una curva estándar de 4 puntos. Se analizaron dos paneles de 11 muestras de plasma artificial cada uno. Las muestras artificiales se prepararon mediante las muestras de plasma negativas 10 UI/ml de muestra de plasma concentrado de IFN- γ (concentración elevada) o 1,5 UI/ml de muestra de plasma concentrado de IFN- γ (concentración baja) en una serie de diluciones.

Se realizó un análisis de regresión lineal ponderada del valor medio calculado entre réplicas frente a los valores esperados (según el factor de dilución) para las soluciones de concentración elevada y baja.

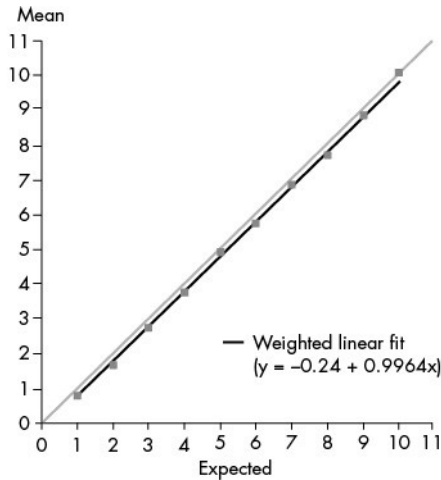


Figura 8. Ilustración del análisis de regresión del estudio de linealidad: media de solución de concentración elevada = $-0,24 + 0,9964 \cdot$ valor esperado.

El análisis de muestras de la solución de concentración elevada demostró linealidad en el intervalo de 0,79 UI/ml a 10 UI/ml con una desviación de la linealidad $\leq 6,1\%$.

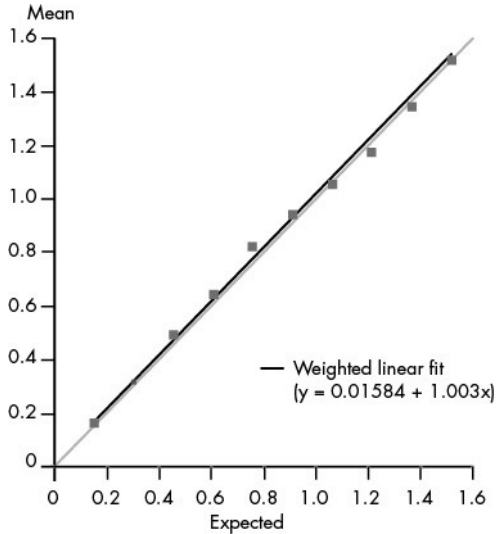


Figura 9. Ilustración del análisis de regresión del estudio de linealidad: media de solución de concentración baja = $0,016 + 1,003 \cdot \text{valor esperado}$.

El análisis de muestras de la solución de concentración baja demostró linealidad en el intervalo de 0,17 UI/ml a 1,52 UI/ml con una desviación de la linealidad $\leq 6,2\%$.

Los datos combinados del estudio demostraron linealidad en el intervalo de 0,17 UI/ml a 10 UI/ml con una desviación $\leq 6,2\%$. Se observó que la desviación de la linealidad utilizando la curva estándar de 4 puntos era inferior al 7%.

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-Gold). Los sujetos de estudio eran profesionales sanitarios de Estados Unidos. Los sujetos de estudio representaban al grupo 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 (heparina Li) 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, al menos 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-Gold 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 13, se proporciona un resumen de los resultados del resumen de reproducibilidad.

Tabla 13. Muestras del resumen de resultados del estudio de reproducibilidad multicéntrico

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 global en los tres centros de estudio fue del 94,7 % (375/396). En este cálculo, el número total de los resultados de la prueba en concordancia (375) incluyeron las instancias donde había 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.

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, 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 utilizando 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.

Guía para la resolución de problemas

Esta guía para la resolución de problemas puede ayudarle a resolver cualquier problema que pueda surgir. Para obtener más información, consulte también la página de Preguntas frecuentes de nuestro centro de servicio técnico: www.qiagen.com/FAQ/FAQList.aspx (para obtener los datos de contacto, visite 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 remojar 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 con 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 este prospecto. |
| b. Error de pipeteo | 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 ± 5 °C). |
| d. Tiempo de incubación demasiado corto | El tiempo de incubación de la placa con el conjugado, los estándares y las muestras debe ser de 120 ± 5 minutos. La solución enzimática de sustrato debe incubarse en la placa durante 30 minutos. |
| e. Filtro de lectura de placas incorrecto | La placa debe leerse a 450 nm con un filtro de referencia de entre 620 y 650 nm. |
| f. Los reactivos están 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 μ l de tampón de lavado por pocillo. Puede que sean necesarios más de 6 ciclos de lavado. Deberá dejarse remojar durante 5 segundos como mínimo entre ciclo y ciclo. |
| b. Temperatura de incubación demasiado elevada | La incubación para ELISA debe realizarse a temperatura ambiente (22 ± 5 °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. |

Comentarios y sugerencias

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 remojar 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 realizado | 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. |

Apéndices

Apéndice A: Directrices de los Centros para el Control y la Prevención de Enfermedades (CDC) de EE. UU.

Las pruebas de diagnóstico para *Mycobacterium tuberculosis* mediante ensayos de liberación de interferón gamma deben seguir las pautas publicadas aplicables, incluso cuando se realizan pruebas en poblaciones como niños, mujeres embarazadas e individuos infectados por el VIH o, de otro modo, inmunodeprimidos. (Consulte también el apartado “Advertencias y precauciones” en la página 14 sobre el uso en caso de enfermedades concomitantes que afectan la función inmunitaria). Los enlaces a las directrices más recientes de American Thoracic Society/Infectious Diseases Society of America/Centers for Disease Control and Prevention Clinical Practice Guidelines: Diagnosis of Tuberculosis in Adults and Children, así como otra información sobre pruebas de diagnóstico de la tuberculosis, están disponibles en www.cdc.gov/tb/testing/index.html.

Apéndice B: Resumen del procedimiento de la prueba ELISA

1. Equilibre los componentes del análisis ELISA, salvo el conjugado 100x concentrado, a temperatura ambiente ($22 \pm 5^\circ\text{C}$) durante al menos 60 minutos.





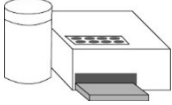



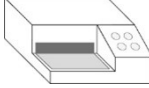

2. Reconstituya el estándar del kit hasta 8,0 UI/ml con agua desionizada o destilada. Prepare cuatro (4) diluciones de estándar.



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



4. Prepare el conjugado listo para utilizar en diluyente verde y añada 50 µl a todos los pocillos.

5. Añada 50 μ l de las muestras de plasma de análisis y 50 μ l de los estándares a los pocillos correspondientes. Mezcle con un agitador. 
6. Deje incubar durante 120 minutos a temperatura ambiente (22 ± 5 °C). 
7. Lave los pocillos al menos 6 veces con 400 μ l 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 (22 ± 5 °C). 
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 nm y 650 nm. 
12. Analice los resultados. 

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. Bartalesi, F. et al. (2009) QuantiFERON-TB Gold and TST are both useful for latent TB screening in autoimmune diseases. *Eur. Respir. J.* 33, 586.
4. Bocchino, M. et al. (2008) Performance of two commercial blood IFN-gamma release assays for the detection of *Mycobacterium tuberculosis* infection in patient candidates for anti-TNF-alpha treatment. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 27, 907.
5. Brock, I. et al. (2006) Latent tuberculosis in HIV positive, diagnosed by the *M. tuberculosis* specific interferon-gamma test. *Respir. Res.* 7, 56.
6. Chun, J.K. et al. (2008) The role of a whole blood interferon gamma assay for the detection of latent tuberculosis infection in Bacille Calmette-Guerin vaccinated children. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 62, 389.
7. Connell, T.G. et al. (2008) A three-way comparison of tuberculin skin testing, QuantiFERON-TB Gold and T-SPOT.TB in children. *PLoS ONE* 3, e2624.
8. Detjen, A.K. et al. (2007) Interferon-gamma release assays improve the diagnosis of tuberculosis and nontuberculous mycobacterial disease in children in a country with a low incidence of tuberculosis. *Clin. Infect. Dis.* 45, 322.
9. Diel, R. et al. (2009) Comparative performance of tuberculin skin test, QuantiFERON-TB Gold In Tube assay, and T-Spot.TB test in contact investigations for tuberculosis. *Chest* 135, 1010.

10. Diel, R. et al. (2008) Predictive value of a whole-blood IFN- γ assay for the development of active TB disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 177, 1164.
11. Diel, R. et al. (2006) Tuberculosis contact investigation with a new, specific blood test in a low-incidence population containing a high proportion of BCG-vaccinated persons. *Respir. Res.* 7, 77.
12. Dogra, S. et al. (2007) Comparison of a whole blood interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for the detection of tuberculosis infection in hospitalized children in rural India. *J. Infect.* 54, 267.
13. Drobniewski, F. et al. (2007) Rates of latent tuberculosis in health care staff in Russia. *PLoS Med.* 4, e55.
14. Gerogianni, I. et al. (2008) Whole-blood interferon-gamma assay for the diagnosis of tuberculosis infection in an unselected Greek population. *Respirology* 13, 270.
15. Harada, N. et al. (2008) Comparison of the sensitivity and specificity of two whole blood interferon-gamma assays for *M. tuberculosis* infection. *J. Infect.* 56, 348.
16. Higuchi, K. et al. (2009) Comparison of performance in two diagnostic methods for tuberculosis infection. *Med. Microbiol. Immunol.* 198, 33.
17. Kang, Y.A. et al. (2005) Discrepancy between the tuberculin skin test and the whole-blood interferon gamma assay for the diagnosis of latent tuberculosis infection in an intermediate tuberculosis-burden country. *JAMA* 293, 2756.
18. Katiyar, S. K. et al. (2008) Use of the QuantiFERON-TB Gold In-Tube test to monitor treatment efficacy in active pulmonary tuberculosis. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 12, 1146.
19. Kipfer, B. et al. (2008) Tuberculosis in a Swiss army training camp: contact investigation using an Interferon gamma release assay. *Swiss Med. Wkly.* 138, 267.

20. Luetkemeyer, A. et al. (2007) Comparison of an interferon-gamma release assay with tuberculin skin testing in HIV-infected individuals. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 175, 737.
21. Mackensen, F. et al. (2008) QuantiFERON-TB Gold – a new test strengthening long-suspected tuberculous involvement in serpiginous-like choroiditis. *Am. J. Ophthalmol.* 146, 761.
22. Manuel, O. et al. (2007) Comparison of QuantiFERON-TB Gold with tuberculin skin test for detecting latent tuberculosis infection prior to liver transplantation. *Am. J. Transplant.* 7, 2797.
23. Matulis, G. et al. (2007) Detection of latent tuberculosis in immunosuppressed patients with autoimmune diseases performance of a *Mycobacterium tuberculosis* antigen specific IFN-gamma assay. *Ann. Rheum. Dis.* 67, 84.
24. Mirtskhulava, V. et al. (2008) Prevalence and risk factors for latent tuberculosis infection among health care workers in Georgia. *Int. J. Tuberc. Lung Dis.* 12, 513.
25. Nakaoka, H. et al. (2006) Risk for tuberculosis among children. *Emerg. Infect. Dis.* 12, 1383.
26. Pai, M. et al. (2005) *Mycobacterium tuberculosis* infection in health care workers in rural India: comparison of a whole-blood, interferon-gamma assay with tuberculin skin testing. *JAMA* 293, 2746.
27. Ponce, de Leon, D. et al. (2008) Comparison of an interferon-gamma assay with tuberculin skin testing for detection of tuberculosis (TB) infection in patients with rheumatoid arthritis in a TB-endemic population. *J. Rheumatol.* 35, 776.
28. Richeldi, L. et al. (2008) Prior tuberculin skin testing does not boost QuantiFERON-TB results in paediatric contacts. *Eur. Respir. J.* 32, 524.

29. Rothel, J.S., Andersen, P. (2005) Diagnosis of latent *Mycobacterium tuberculosis* infection: Is the demise of the Mantoux test imminent? *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 3, 981.
30. Schoepfer, A.M. et al. (2008) Comparison of interferon-gamma release assay versus tuberculin skin test for tuberculosis screening in inflammatory bowel disease. *Am. J. Gastroenterol.* 103, 2799.
31. Silverman, M.S. et al. (2007) Use of an interferon-gamma based assay to assess bladder cancer patients treated with intravesical BCG and exposed to tuberculosis. *Clin. Biochem.* 40, 913.
32. Stebler, A. et al. (2008) Whole-blood interferon-gamma release assay for baseline tuberculosis screening of healthcare workers at a Swiss university hospital. *Infect. Hospital de Control. Epidemiol.* 29, 681.
33. Turner, J. et al. (1996) Stimulation of human peripheral blood mononuclear cells with live *Mycobacterium bovis* BCG activates cytolytic CD8⁺ T cells in vitro. *Immunology* 87, 339.
34. Brookes, R.H. et al. (2003) CD8⁺ T cell-mediated suppression of intracellular *Mycobacterium tuberculosis* growth in activated human macrophages. *Eur. J. Immunol.* 33, 3293.
35. Stenger, S. et al. (1998) An antimicrobial activity of cytolytic T cells mediated by granulysin. *Science* 282, 121.
36. Lalvani, A. et al. (1998) Human cytolytic and interferon gamma-secreting CD8⁺ T lymphocytes specific for *Mycobacterium tuberculosis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 95, 270.
37. Lewinsohn, D.M. et al. (2001) Classically restricted human CD8⁺ T lymphocytes derived from *Mycobacterium tuberculosis*-infected cells: definition of antigenic specificity. *J. Immunol.* 166, 439.

38. Lewinsohn, D.A. et al. (2007) Immunodominant tuberculosis CD8 antigens preferentially restricted by HLA-B. *PLoS Pathol.* 3, 1240.
39. Barcellini, L. et al. (2016) First independent evaluation of QuantiFERON-TB Plus performance. *Eur. Respir. J.* 47, 1587.
40. Day, C.L. et al. (2011) Functional capacity of *Mycobacterium tuberculosis*-specific T cell responses in humans is associated with mycobacterial load. *J. Immunol.* 187, 2222.
41. Rozot, V. et al. (2013) *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD8+ T cells are functionally and phenotypically different between latent infection and active disease. *Eur. J. Immunol.* 43, 1568.
42. 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.
43. Chicchio, T. et al. (2014) Polyfunctional T-cells and effector memory phenotype are associated with active TB in HIV-infected patients. *J. Infect.* 69, 533.
44. Ongaya, A. et al. (2013) *Mycobacterium tuberculosis*-specific CD8+ T cell recall in convalescing TB subjects with HIV co-infection. *Tuberculosis* 93, S60.
45. Lanicioni, C. et al. (2012) CD8+ T cells provide an immunologic signature of tuberculosis in young children. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 185, 206.
46. Mazurek, G.H., et al.; IGRA Expert Committee; Centers for Disease Control and Prevention (CDC). (2010) Updated guidelines for using Interferon Gamma Release Assays to detect *Mycobacterium tuberculosis* infection – United States, 2010. *MMWR Recomm. Rep.* 59, 1.
47. Chiappini, E. et al. (2014). Interferon-gamma release assay sensitivity in children younger than 5 years is insufficient to replace the use of tuberculin skin test in western countries. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 33(12), 1291–1293.

48. Garazzino, S. et al. (2014). Performance of interferon- γ release assay for the diagnosis of active or latent tuberculosis in children in the first 2 years of age: a multicenter study of the Italian Society of Pediatric Infectious Diseases. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 33(9).
49. Rose, W. et al. (2014). Quantiferon gold-in-tube assay for TB screening in HIV infected children: Influence of Quantitative Values. *BMC Infectious Diseases*, 14:516.
50. Pavić, I. et al. (2015). Discordance between tuberculin skin test and interferon- γ release assay in children younger than 5 years who have been vaccinated with bacillus calmette-guérin. *Laboratory Medicine*, 46(3), 200–206.
51. Howley, M. M. et al. (2015). Evaluation of Quantiferon-TB gold in-tube and tuberculin skin tests among immigrant children being screened for latent tuberculosis infection. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 34(1), 35–39.
52. Rose, W. et al. (2014). Relating tuberculosis (TB) contact characteristics to quantiferon-tb-gold and tuberculin skin test results in the Toronto Pediatric TB Clinic. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 4(2), 96–103.
53. Grinsdale, J. A. et al. (2014). Interferon-gamma release assays and pediatric public health tuberculosis screening: The San Francisco Program Experience 2005 to 2008. *Journal of the Pediatric Infectious Diseases Society*, 5(2), 122–130.
54. Gudjónsdóttir, M. J. et al. (2016). Relation between BCG vaccine scar and an interferon-gamma release assay in immigrant children with “positive” tuberculin skin test (≥ 10 mm). *BMC Infectious Diseases*, 16(1):540.
55. Nejat, S. y Bennet, R. (2016). Interferon-gamma release assays can effectively screen migrants for the tuberculosis infection, but urgent, active cases need clinical recognition. *Acta Paediatrica*, 105(6), 671–675.
56. Dehority, W. et al. (2017). Comparison of the Quantiferon TB gold in-tube assay with tuberculin skin test for the diagnosis of latent tuberculosis infection among HIV-infected and uninfected children. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 36(12): e317-e321.









57. Marino, A. et al. (2017). Prebiologic therapy tuberculosis screening experience in a pediatric rheumatology center: TST and IGRA are both necessary. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 36(4), 440–441.
58. Petrucci, R. et al. (2017). Quantiferon-TB gold in-tube improves tuberculosis diagnosis in children. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 36(1), 44–49.
59. Hormi, M. et al. (2018). Performance of the quantiferon-TB gold assay among HIV-infected children with active tuberculosis in France. *Pediatric Infectious Disease Journal*, 37(4), 339–344.
60. Kay, A. W. et al. (2018). Interferon- γ release assay performance for tuberculosis in childhood. *Pediatrics*, 141(6):e20173918.
61. Stout, J.E. et al. (2018). Tuberculosis Epidemiologic Studies Consortium. Evaluating latent tuberculosis infection diagnostics using latent class analysis. *Thorax*, 73(11):1062-1070.
62. Chiappini, E. et al. (2019). QuantiFERON-TB Gold In-Tube test performance in a large pediatric population investigated for suspected tuberculosis infection. *Paediatr Respir Rev*. 32:36-47.
63. Debulpaep, S. et al. (2019). Contribution of QuantiFERON-TB Gold-in-Tube to the Diagnosis of *Mycobacterium tuberculosis* Infection in Young Children in a Low TB Prevalence Country. *Front Pediatr*. 18;7:291.
64. Lombardi, G. et al. (2019). QuantiFERON-TB Performs Better in Children, Including Infants, than in Adults with Active Tuberculosis: a Multicenter Study. *J Clin Microbiol*. 24;57(10):e01048-19.
65. Mastrolia, M.V. et al. (2019). Utility of tuberculin skin test and IGRA for tuberculosis screening in internationally adopted children: Retrospective analysis from a single center in Florence, Italy. *Travel Med Infect Dis*. 28:64-67.






66. Venkatappa, T.K. et al. (2019). Comparing QuantiFERON-TB Gold Plus with Other Tests To Diagnose Mycobacterium tuberculosis Infection. *J Clin Microbiol.* 23;57(11):e00985-19.
67. Ahmed, A. et al. (2020). Tuberculosis Epidemiologic Studies Consortium. Interferon- γ Release Assays in Children <15 Years of Age. *Pediatrics.* 145(1):e20191930.
68. Velasco-Arnaiz, E. et al. (2020). Impact of Baseline Tuberculin Skin Test and Isoniazid Chemoprophylaxis on Subsequent QuantiFERON-TB Gold In-Tube Performance in Young Children Assessed After Tuberculosis Contact in Catalonia. *Pediatr Infect Dis J.* 39(2):e22-e25.
69. Buonseso, D. et al. (2020). Accuracy of QuantiFERON-TB Gold Plus Test for Diagnosis of Mycobacterium tuberculosis Infection in Children. *J Clin Microbiol.* 26;58(6):e00272-20.
70. Quintana-Ortega, C. et al. (2020). False-positive Results of QuantiFERON-Tb-Gold Assay in Children. *Pediatr Infect Dis J.* 39(7):620-623.
71. Worjolah, A. et al. (2011). Interferon gamma release assay compared with the tuberculin skin test for latent tuberculosis detection in pregnancy. *Obstet Gynecol.* 118(6):1363-70.
72. Lighter-Fisher, J. y Surette, A.M. (2012). Performance of an interferon-gamma release assay to diagnose latent tuberculosis infection during pregnancy. *Obstet Gynecol.* 119(6):1088-95.
73. Aichelburg, MC. et al. (2014). Reversion and conversion of interferon- γ release assay results in HIV-1-infected individuals. *J Infect Dis.* 209(5):729-33.
74. Aichelburg, MC. et al. (2014). The association of smoking with IGRA and TST results in HIV-1-infected subjects. *Int J Tuberc Lung Dis.* 18(6):709-16.
75. Pullar, ND. et al. (2014). Low prevalence of positive interferon-gamma tests in HIV-positive long-term immigrants in Norway. *Int J Tuberc Lung Dis.* 18(2):180-7.

76. Pullar, ND. et al. (2014). HIV patients with latent tuberculosis living in a low-endemic country do not develop active disease during a 2 year follow-up; a Norwegian prospective multicenter study. *BMC Infect Dis.* 14:667.
77. Sauzullo, I. et al. (2014). Interferon- γ release assay in HIV-infected patients with active tuberculosis: impact of antituberculous drugs on host immune response. *New Microbiol.* 37(2):153-61.
78. Sester, M. et al. (2014). Risk assessment of tuberculosis in immunocompromised patients. A TBNET study. *Am J Respir Crit Care Med.* 190(10):1168-76.
79. Bourgarit, A. et al. (2015). IGRAVIH Study Group. Latent Tuberculosis Infection Screening and 2-Year Outcome in Antiretroviral-Naive HIV-Infected Patients in a Low-Prevalence Country. *Ann Am Thorac Soc.* 12(8):1138-45.
80. Parrella, R. et al. (2015). Interferon gamma release assays and tuberculin skin test performance in different settings of HIV immunodeficiency. *In Vivo.* 29(1):137-40.
81. Kurti, Z. et al. (2015). Tuberculin Skin Test and Quantiferon in BCG Vaccinated, Immunosuppressed Patients with Moderate-to-Severe Inflammatory Bowel Disease. *J Gastrointestin Liver Dis.* 24(4):467-72.
82. Perifanou, D. et al. (2018). Screening for Latent Tuberculosis Infection in Patients with Autoimmune Diseases Before Initiating TNF- α Inhibitors Therapy. *Mater Sociomed.* 30(1):32-37.
83. Chiacchio, T. et al. (2019). Characterization of QuantiFERON-TB-Plus results in latent tuberculosis infected patients with or without immune-mediated inflammatory diseases. *J Infect.* 79(1):15-23.
84. Diamantopoulos, P.T. et al. (2017). Evaluation of the performance of tuberculin skin test and QuantiFERON-TB gold in tube test in patients with hematologic malignancies. *Infect Dis (Lond).* 49(7):545-548.

Símbolos

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

Símbolo requerido	Título/número del símbolo	Descripción
	Solo con prescripción médica/NA	Según la normativa federal, la venta de este dispositivo debe hacerse únicamente bajo prescripción médica*
	Fabricante/5.1.1	Indica el fabricante del producto sanitario**
	Fecha de caducidad/5.1.4	Indica la fecha después de la cual no debe utilizarse el producto sanitario**
	Código de lote/5.1.5	Indica el código de lote del fabricante para poder identificar el lote o partida**
	Número de catálogo/5.1.6	Indica el número de catálogo del fabricante para poder identificar el producto sanitario**
	Mantener alejado de la luz solar/5.3.2	Indica un producto sanitario que necesita protección contra fuentes de luz**
	Límite de temperatura/5.3.7	Indica los límites de temperatura a los que el producto sanitario puede exponerse de forma segura**
		Número mundial de artículo comercial

Símbolo requerido	Título/número del símbolo	Descripción
	Consultar las instrucciones de uso o consultar las instrucciones de uso electrónicas/5.4.3	Indica la necesidad de que el usuario consulte las instrucciones de uso**
	Precaución/5.4.4	Indica que es necesario tener precaución al operar el dispositivo o al controlarlo cerca de donde se encuentra el símbolo, o bien que la situación actual requiere que el operador sea prudente o tome medidas para evitar consecuencias indeseables**
	Producto sanitario para diagnóstico in vitro/5.5.1	Indica un producto sanitario que está destinado a ser utilizado como producto sanitario de diagnóstico in vitro**
	Contenido suficiente para <n> pruebas/5.5.5	Indica el número total de pruebas que se pueden realizar con el producto sanitario**
	Identificador único de dispositivo/5.7.10	Indica un operador que contiene información de identificador único de dispositivo**

* Normativa: 21 CFR 809.10 (a)(4)

** Normativa: ISO 15223-1: Productos sanitarios. Símbolos a utilizar con la información a suministrar por el fabricante

Información de contacto

Para recibir asistencia técnica y solicitar más información, visite nuestro centro de servicio técnico en www.qiagen.com/Support, llame al 1-800-362-7737 o póngase en contacto con uno de los departamentos del servicio técnico de QIAGEN o con los distribuidores locales (consulte la contraportada o visite www.qiagen.com).

Historial de revisiones del documento

En la siguiente tabla, se resumen los cambios importantes que incluye esta edición del QFT-Plus Package Insert:

Revisión	Descripción
R8, junio de 2022	Se actualizó la sección Componentes y almacenamiento para eliminar las referencias al prospecto (no estará en línea).
R9, enero de 2023	Se añadió el tubo con heparina sódica como tubo de recogida de sangre alternativo en la sección Recogida y manipulación del material de muestra.
R10, enero de 2025	Se añadió una aclaración en la sección Instrucciones para realizar el ensayo ELISA con respecto a la estabilidad antes o después del centrifugado durante un máximo de 3 días. Se actualizó el tiempo de centrifugación a 5-15 minutos.
R11, agosto de 2025	Se eliminó el flujo de trabajo del tubo de recogida de sangre, formato general.

Acuerdo de licencia limitada para la prueba QuantiFERON®-TB Gold Plus (QFT-Plus)

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 mismo 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 los han proporcionado 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 toda responsabilidad respecto 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 panel 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); Microsoft®, Excel® (Microsoft), ProClin® (Rohm and Haas Co.). No debe considerarse que los nombres registrados, las marcas comerciales, etc., que se utilizan en este documento no están protegidos por la ley.

08/2025 HB-3303-011 © 2025 QIAGEN, todos los derechos reservados.

